

· 论著 · COPD 研究 ·

中西医结合治疗对慢性阻塞性肺疾病痰热证急性加重 - 稳定期大鼠免疫因子的影响研究



扫描二维码
查看原文

李晓俊^{1, 2}, 李亚^{1, 2, 3}, 卞晴晴^{1, 2}, 轩银霜^{1, 2}, 沈婷婷^{1, 2}, 李素云^{1, 2, 3*}

【摘要】 背景 慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 患者的分泌型免疫球蛋白 A (sIgA) 缺损及肺组织 T 淋巴细胞聚集导致的免疫失衡, 会影响 COPD 的发生和发展。人体胃肠道与呼吸道具有典型的黏膜结构, 通过共同免疫系统相联系。**目的** 观察中西医结合治疗 COPD 痰热证急性加重 - 稳定期大鼠对部分免疫因子的影响。**方法** 2019 年 9 月至 2020 年 12 月选取 SPF 级 SD 大鼠 60 只, 采用 EXCEL RAND 函数法将 60 只大鼠随机分为对照组、COPD 稳定期 (COPD) 组、COPD 急性加重期 (AECOPD) 组、西药组、中西医结合组。采用香烟烟雾及热暴露联合鼻腔内滴注脂多糖溶液方法制备 COPD 痰热证急性加重 - 稳定期大鼠模型。急性加重期干预 8 d, 西药组给予盐酸莫西沙星片 $0.027 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 和硫酸沙丁胺醇片 $0.41 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 中西医结合组给予通塞颗粒 $7.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、盐酸莫西沙星片 $0.027 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 和硫酸沙丁胺醇片 $0.41 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$; 稳定期干预 14 d, 西药组给予硫酸沙丁胺醇片 $0.41 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 中西医结合组给予补肺益肾方 $4.42 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 和硫酸沙丁胺醇片 $0.41 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$; 对照组、COPD 组及 AECOPD 组全程灌胃 0.9% 氯化钠溶液 2 ml/d。干预结束后检测用力肺活量 (FVC)、第 0.3 秒用力呼气容积 (FEV_{0.3})、FEV_{0.3}/FVC, 肺、肠组织的分泌型免疫球蛋白 (sIgA), CD₃⁺ 和 CD₄⁺ 表达水平。**结果** FVC、FEV_{0.3}、FEV_{0.3}/FVC、肺肠 sIgA 及肺 CD₃⁺ 表达水平, COPD 组低于对照组 ($P < 0.05$), AECOPD 组低于 COPD 组 ($P < 0.05$), 西药组、中西医结合组高于 AECOPD 组 ($P < 0.05$), 中西医结合组高于西药组 ($P < 0.05$)。**结论** 中西医结合治疗可能通过提高大鼠肺组织和肠组织的 sIgA 和 CD₃⁺、CD₄⁺ 的表达水平, 修复肺组织和肠组织的免疫屏障功能, 从而为 COPD 的中医药防治提供参考依据。

【关键词】 肺疾病, 慢性阻塞性; 痰热证; 中西医结合疗法; 免疫因子类; 大鼠

【中图分类号】 R 563.9 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2021.01.044

李晓俊, 李亚, 卞晴晴, 等. 中西医结合治疗对慢性阻塞性肺疾病痰热证急性加重 - 稳定期大鼠免疫因子的影响研究 [J]. 中国全科医学, 2022, 25 (2): 197-205. [www.chinagp.net]

LI X J, LI Y, BIAN Q Q, et al. Effect of integrated Chinese and Western Medicine treatment on immune factors in a rat model with phlegm-heat syndrome in acute exacerbation-stable stage of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Chinese General Practice, 2022, 25 (2): 197-205.

Effect of Integrated Chinese and Western Medicine Treatment on Immune Factors in a Rat Model with Phlegm-heat Syndrome in Acute Exacerbation-stable Stage of Chronic Obstructive Pulmonary Disease LI Xiaojun^{1, 2}, LI Ya^{1, 2, 3}, BIAN Qingqing^{1, 2}, XUAN Yinshuang^{1, 2}, SHEN Tingting^{1, 2}, LI Suyun^{1, 2, 3*}

1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China

2. Henan Key Laboratory of Chinese Medicine for Respiratory Disease, Zhengzhou 450000, China

3. Chinese Medicine Pharmacology (Respiratory) Laboratory, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

*Corresponding author: LI Suyun, Professor, Doctoral supervisor; E-mail: suyunli2000@126.com

【Abstract】 **Background** Secretory immunoglobulin A (sIgA) deficiency and immune imbalance caused by T lymphocyte aggregation in lung tissue are associated with the development of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Human gastrointestinal and respiratory tracts have a typical mucosal structure, which are connected with the common mucosal immune system. **Objective** To examine the responses of some immune factors to integrated Chinese and Western Medicine treatment in a rat model with phlegm-heat syndrome during the acute exacerbation to stable stage of COPD. **Methods** A study

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81874433); 中医药传承与创新“百千万”人才工程 (岐黄工程) 项目岐黄学者 ([2018] 284 号); 2019 年度中原千人计划 - 中原学者 (202101510002)

1. 450008 河南省郑州市, 河南中医药大学 2. 450000 河南省郑州市, 河南省呼吸病防治中医药重点实验室 3. 450000 河南省郑州市, 河南中医药大学第一附属医院中药药理 (呼吸) 实验室

*通信作者: 李素云, 教授, 博士生导师; E-mail: suyunli2000@126.com

本文数字出版日期: 2021-11-25

was implemented between September 2019 and December 2020. Sixty SPF Sprague–Dawley rats were selected, and divided into five groups using the RAND function in Excel: control, COPD, acute exacerbation of COPD (AECOPD), Western Medicine, and integrated Chinese and Western Medicine. Except the control group, other groups were exposed to cigarette smoke and heat, and received intranasal administration of lipopolysaccharide to develop COPD in acute exacerbation to stable stage with phlegm–heat syndrome. The intervention in the acute exacerbation stage lasted for 8 days, during which Western Medicine group received intragastric administration of solution containing moxifloxacin hydrochloride tablets ($0.027\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) and salbutamol sulfate tablets ($0.41\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), integrated Chinese and Western Medicine group received intragastric administration of solution containing Tongsai granules ($7.2\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), moxifloxacin hydrochloride tablets ($0.027\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), and salbutamol sulfate tablets ($0.41\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), the other three groups received intragastric administration of isotonic (0.9%) sodium chloride 2 ml per day. Subsequently, the intervention in the stable period lasted for 14 days, during which western medicine group received intragastric administration of salbutamol sulfate tablets $0.41\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, and the integrated Chinese and Western Medicine group received intragastric administration of Bufeiyishen formula $4.42\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ and salbutamol sulfate tablets $0.41\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. The other three groups received intragastric administration of isotonic (0.9%) sodium chloride 2 ml per day. The forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume during the first 300 milliseconds (FEV_{0.3}), FEV_{0.3}/FVC ratio, and sIgA, as well as CD₃⁺ and CD₄⁺, in the lung and gut were detected after the interventions. **Results** The FVC, FEV_{0.3}, FEV_{0.3}/FVC ratio, sIgA in the lung and gut, as well as expression level of CD₃⁺ in the lung, showed a trend of successive decrease across control group, COPD group, and AECOPD group ($P < 0.05$). The above-mentioned parameters were lower in AECOPD group than those of Western Medicine group or integrated Chinese and Western Medicine group ($P < 0.05$). And they were lower in Western Medicine group than those of integrated Chinese and Western Medicine group ($P < 0.05$). **Conclusion** Integrated Chinese and Western Medicine treatment may improve immunity of the rat model via repairing the immune barrier function of the lung and gut by increasing the expression of sIgA, CD₃⁺, and CD₄⁺ in the lung and gut, which provides evidence for the prevention and treatment of COPD with Chinese medicine.

【Key words】 Pulmonary disease, chronic obstructive; Phlegm heat syndrome; Integrated Chinese traditional and Western Medicine therapy; Immunologic factors; Rats

慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 急性加重期 (AECOPD) 是 COPD 管理中的重要事件, 严重影响患者的健康状况、疾病进展和住院/再入院率^[1]。COPD 患者气道表面普遍存在分泌型免疫球蛋白 A (sIgA) 缺损^[2], 与气流阻塞的严重程度相关^[3-4]。sIgA 介导宿主保护和病原体中和^[5], 位于免疫系统抵御病原体的第一道防线。人体胃肠道与呼吸道具有典型的黏膜结构, 均能分泌大量 sIgA, 并通过归巢迁移及共同免疫系统相联系, 成为肺与大肠相关性的重要基础^[6]。COPD 患者肺间质及实质等组织活检^[7] 发现大量 T 淋巴细胞聚集现象, 表现为 CD₈⁺ 细胞数量增加, CD₃⁺ 和 CD₄⁺ 细胞数量基本不变或稍降, CD₄⁺/CD₈⁺ 下降, 导致免疫失衡^[8], 是 COPD 发生和发展的关键因素^[9-10]。中西医结合治疗 COPD 可以显著改善患者症状、减少并发症、改善肺通气功能、降低致残率等^[11-12], 但中西医结合治疗 COPD 痰热证急性加重-稳定期对肺组织和肠组织的 sIgA、CD₃⁺ 及 CD₄⁺ 的影响缺乏相关证据。本研究通过观察中西医结合治疗对 COPD 痰热证急性加重-稳定期大鼠的用力肺活量 (FVC)、第 0.3 秒用力呼气容积 (FEV_{0.3})、FEV_{0.3}/FVC 以及肺、肠组织的 sIgA、CD₃⁺ 和 CD₄⁺ 水平产生的影响, 明确中西医结合治疗对肺组织和肠组织的免疫屏障功能的修复作用, 以期 COPD 的中医药诊治提供新思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物 2019 年 9 月至 2020 年 12 月选取 SPF 级 SD 大鼠 60 只, 雌雄各半, 体质量 (200 ± 20) g, 购于济南朋悦实验动物繁育中心 [许可证号: SCXK (鲁) 2019-0003]。

1.2 香烟 红旗渠牌过滤嘴香烟, 硬金红, 烤烟型, 焦油量 10 mg, 烟碱量 1 mg, 烟气一氧化碳含量 12 mg, 河南中烟工业有限责任公司生产。

1.3 药物 脂多糖 (LPS, 100 mg, Sigma, USA, 使用前用 0.9% 氯化钠溶液溶解为 1 mg/ml)。0.9% 氯化钠溶液 (500 ml/瓶, 河南竹林众生制药股份有限公司)。通塞颗粒 (TSG, 药物组成为葶苈子 15 g、地龙 15 g、赤芍 12 g、川贝母 10 g、生晒参 10 g、麦冬 15 g、炙麻黄 9 g、制大黄 6 g、石菖蒲 10 g, 由河南中医药大学药学院中药制剂实验室鉴定提供, 专利号: ZL201010183177.1)。补肺益肾方 (BYG, 药物组成为黄芪 15 g、党参 9 g、枸杞子 12 g、浙贝母 9 g、山茱萸 12 g 等, 制成流浸膏备用, 含生药量 1.848 g/ml, 由河南中医药大学药学院中药制剂实验室鉴定提供, 专利号: ZL201110117578.1)。盐酸莫西沙星片 (MXF, $0.4\text{ g} \times 3\text{ s}$, 拜复乐, 拜耳医药保健有限公司, 国药准字 J20150015)。硫酸沙丁胺醇片 (STL, $2\text{ mg} \times 100\text{ s}$, 金坛, 江苏亚邦爱普森药业有限公司, 国药准字

H32024535)。

1.4 试剂和仪器 大鼠酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒和大鼠 sIgA (E-EL-R0875c) 购于武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司, 苏木素伊红(HE)染色试剂盒购于北京索莱宝科技有限公司, 石蜡块、二甲苯溶液、无水乙醇和中性树脂购于国药集团, 兔抗大鼠多克隆抗体 CD₃ (E-AB-40132) 购于武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司, 兔抗大鼠多克隆抗体 CD₄ (K006374P) 购于北京索莱宝科技有限公司, 链霉亲和素-碱性磷酸酶(SABC-AP)免疫组化染色试剂盒(SA1055)购于武汉博士德生物工程有限公司。WBP无束缚小动物全身体积描记仪和Fine Pointe™ series PFT检测系统购于美国帝思葛贸易有限公司, 烘箱购于上海新苗医疗设备有限公司, BS210S电子天平购于德国赛多利斯集团, LDZ5-2离心机购于美国赛默飞世尔科技有限公司, RM2145自动切片机购于德国徕卡显微系统贸易有限公司, YT-7F8生物组织摊烤片机和YB-6LF生物组织石蜡包埋机购于湖北省孝感市亚光医用电子技术有限公司, PM-10AD光学显微镜及图像采集系统购于日本奥林巴斯销售服务有限公司, IVC-II动物饲养笼具购于江苏省苏州市冯氏实验动物设备有限公司。

1.5 实验方法 大鼠适应性饲养7 d, 室温(25±1)℃, 湿度(50%±10%), 换气量(15±5)次/h, 氨浓度≤14 mg/m³, 噪声≤60 db。12 h昼夜交替照明, 自由饮纯水、饲料。采用EXCEL RAND函数法将60只大鼠随机分为对照组、COPD稳定期(COPD)组、AECOPD组、西药组、中西医结合组。每日观察并记录大鼠一般情况, 包括皮毛色泽, 活动度, 灵敏度, 进食、进水量等。本实验已通过河南中医药大学第一附属医院伦理委员会审批(批号: YFYDW2018015)。

1.6 模型制备

1.6.1 预实验 采用梯度浓度LPS溶液鼻腔内滴注联合香烟烟雾暴露法制备COPD稳定期-急性加重期模型, 热暴露法模拟痰热证。80只大鼠随机分为对照组、LPS 0.5 mg组、LPS 1.0 mg组、LPS 2.0 mg组, 每组20只。第0周、第4周、第8周、第12周和模拟急性加重前, 检测肺功能并分析数据; 第8周、第12周结束时, 分批取材观察肺组织病理。除对照组、COPD组外, 第13周第1天起, 半数模型大鼠进行热暴露并持续9 d, 模拟痰热证。第13周第6天, 将热暴露的大鼠鼻腔内一次性滴注浓度加倍的LPS模拟急性加重期。第13周第5天起, 每日检测所有大鼠肛温, 隔日尾静脉采血, 检测血常规各指标, 血清C反应蛋白(CRP)和血清淀粉样蛋白A(SAA)表达水平至炎症指标恢复至接近COPD稳定期水平。

综合肺组织病理、肛温、CRP和SAA, LPS 1.0 mg

组大鼠于第8周末已成功建立COPD稳定期大鼠模型, LPS溶液浓度适宜, 大鼠死亡率低。确定COPD稳定期大鼠模型的建立周期为8周, LPS鼻腔内滴注的最佳浓度为1 mg/kg体质量, COPD痰热证急性加重期的LPS最佳浓度为2 mg/kg体质量, 急性加重持续时间为6~8 d。该模型的炎症特点、肺功能、肺形态学具有稳定性, 适宜用于后续研究。

1.6.2 实验模型 COPD稳定期模型: 除对照组外, 其余组别给予LPS溶液以1 mg/kg体质量经鼻腔滴入, 2次/周, 持续8周^[13]; 对照组大鼠滴入等体积0.9%氯化钠溶液。除对照组外, 其余组别均进行香烟烟雾暴露, 采用有机玻璃熏烟箱, 体积189 L, 烟雾浓度(3 000±500) ppm, 30 min/次, 2次/d, 间隔≥3 h, 持续8周; 对照组大鼠置于通风良好的室内。经鼻腔滴入LPS溶液当天, 不进行香烟烟雾暴露。模型成功标准依据预实验及文献[14]。

COPD痰热证急性加重期模型: 除对照组、COPD组外, 于造模第9周第1天起, 将半数模型大鼠置于烘箱进行热暴露, 温度(38±1)℃, 湿度50%, 风速1 m/s, 30 min/次, 2次/d, 间隔≥3 h, 持续9 d模拟痰热证^[14]。实验第9周第6天给予热暴露的大鼠鼻腔滴入LPS溶液2 mg/kg体质量模拟急性加重期。急性加重当天, 不进行热暴露。

1.7 药物干预 西药组、中西医结合组于造模第9周第7天分别灌胃相应药物, 急性加重期灌胃持续8 d、稳定期灌胃持续14 d^[14], 对照组、COPD组及AECOPD组全程灌胃0.9%氯化钠溶液, 各组药物干预计划见表1。药物剂量采用等效剂量系数换算公式计算。 $D_{大鼠} = D_{人} \times (HI_{大鼠}/HI_{人}) \times (W_{人}/W_{大鼠})^{2/3}$ 。注: D为剂量, HI为体型系数, W为体质量。各药物灌胃剂量: 通塞颗粒为7.2 g·kg⁻¹·d⁻¹, 补肺益肾方为4.42 g·kg⁻¹·d⁻¹, 盐酸莫西沙星片为0.027 g·kg⁻¹·d⁻¹, 硫酸沙丁胺醇片为0.41 mg·kg⁻¹·d⁻¹; 每周称量一次大鼠体质量, 以调整灌胃用量。

1.8 取材与指标检测 药物干预结束后取材, 取材前大鼠禁食12 h, 自由饮水。采用3%戊巴比妥钠(2.5 ml/kg)腹腔麻醉, 气管插管, 检测肺功能, 随后腹主动脉采血并取材。

1.8.1 体质量 每周称量大鼠体质量(g)。

1.8.2 肺功能造模 第0、1、4、8周和急性加重前分别使用WBP无束缚小动物全身体积描记仪检测潮气量(TV)、呼气峰流速(PEF)、50%潮气量呼气流量(EF₅₀); 取材前使用Fine Pointe™ series PFT检测FVC、FEV_{0.3}, 计算FEV_{0.3}/FVC。

1.8.3 肺、肠组织CD₃⁺和CD₄⁺表达水平 取左肺经左主支气管恒压灌注10%中性甲醛溶液2 h, 然后置于新

表 1 各组药物干预计划
Table 1 Intervention plans of five groups of rats

组别	急性加重期 (8 d)				稳定期 (14 d)		
	NS	TSG	MXF	STL	NS	BY	STL
对照组	+	-	-	-	+	-	-
COPD 组	+	-	-	-	+	-	-
AECOPD 组	+	-	-	-	+	-	-
西药组	-	-	+	+	-	-	+
中西医结合组	-	+	+	+	-	+	+

注: COPD=慢性阻塞性肺疾病, COPD 组=COPD 稳定期组, AECOPD 组=COPD 急性加重期组, TSG=通塞颗粒, BY=补肺益肾方, NS=0.9% 氯化钠溶液, MXF=盐酸莫西沙星, STL=硫酸沙丁胺醇

鲜配制的 10% 中性甲醛固定液中固定 72 h。从肛门向上截取 5 cm 肠组织, 清除其内容物, 0.9% 氯化钠溶液洗 2 次, 置于新鲜配制的 10% 中性甲醛固定液中固定 72 h。分别切取 3 mm 组织, 石蜡包埋, 4 μm 切片, 常规 HE 染色。采用免疫组化试剂盒检测 CD₃⁺ 和 CD₄⁺ 表达。
1.8.4 肺、肠组织 sIgA 表达水平 分别取右肺下叶 100 mg 组织和 100 mg 肠组织, 用无菌剪剪碎, 按 1:9 比例加入 0.9% 氯化钠溶液, 放置于组织破碎机 10 min 进行充分匀浆, 3 000 rpm 离心 10 min (*r*=5 cm), 收集上清液。ELISA 试剂盒检测 sIgA 表达水平。

1.8.5 显微镜观察 每张切片取 6 个视野 (200 ×), 采用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件 (USA), 以棕黄色区域光密度值 (IOD) 的平均值统计阳性结果。

1.9 统计学方法 采用 GraphPad Prism 7.0 软件进行统计并作图。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 方差齐时采用 Tukey's 法进行多重检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

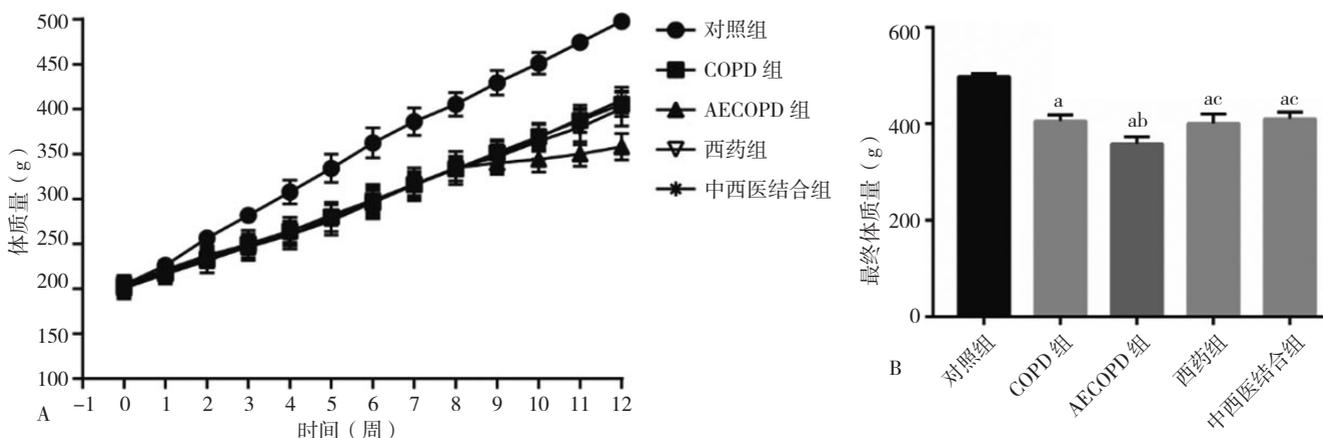
2.1 一般情况 对照组大鼠皮毛光滑, 活动度正常,

反应灵敏, 进食量、进水量如常, 粪便呈颗粒状; 其余组别大鼠皮毛光泽度下降, 皮毛色泽偏黄, 活动明显减少、敏捷度下降、出现蜷缩现象, 进食量、进水量减少, 粪便稀溏不成形。药物治疗后的大鼠进食量、进水量增加, 中西医结合组大鼠的粪便逐渐形成颗粒状。对照组、COPD 组无大鼠死亡, 其他组均出现 2~3 只大鼠死亡, 尸检可见死亡大鼠胸腔出现不同程度的肺淤血、肺体积增大, 腹腔出现不同程度的粘连、血性积液。

2.2 体质量 各组大鼠体质量随周龄增长, 其他组别体质量全程低于对照组。第 9 周急性加重后, AECOPD 组持续低增长, 见图 1A。干预结束后, 五组体质量比较, 差异有统计学意义 ($F=88.74, P<0.05$)。COPD 组体质量低于对照组, 差异有统计学意义 ($q=16.320, P<0.05$); AECOPD 组体质量低于 COPD 组, 差异有统计学意义 ($q=8.925, P<0.05$); 西药组、中西医结合组体质量高于 AECOPD 组, 差异有统计学意义 ($q_{西药组}=9.026, q_{中西医结合组}=10.430, P<0.05$); 西药组、中西医结合组体质量比较, 差异无统计学意义 ($q=1.912, P>0.05$), 见图 1B。

2.3 肺功能 第 0~8 周, 对照组大鼠的 TV、PEF、EF₅₀ 随时间增长, 其他组别 TV、PEF、EF₅₀ 全程低于对照组, 见图 2A~C。第 8 周结束时, COPD 组、AECOPD 组、西药组、中西医结合组的 TV、PEF、EF₅₀ 低于对照组, 差异有统计学意义 ($F_{TV}=17.00, F_{PEF}=43.69, F_{EF50}=13.54, P<0.05$); COPD 组、AECOPD 组、西药组、中西医结合组 TV、PEF、EF₅₀ 比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 见图 2D~F。

药物干预结束时, 五组大鼠的 FEV_{0.3} 比较, 差异有统计学意义 ($F=155.70, P<0.05$)。COPD 组 FEV_{0.3} 低于对照组, 差异有统计学意义 ($q=20.070, P<0.05$);



注: A 表示第 0~12 周各组大鼠体质量增长趋势, B 表示干预结束后各组大鼠最终体质量水平; N=9~12 只; 与对照组比较, **P*<0.05; 与 COPD 组比较, ¹*P*<0.05; 与 AECOPD 组比较, ²*P*<0.05; COPD=慢性阻塞性肺疾病, AECOPD=慢性阻塞性肺疾病急性加重期

图 1 各组大鼠体质量变化
Figure 1 Body weight change of rats in each group

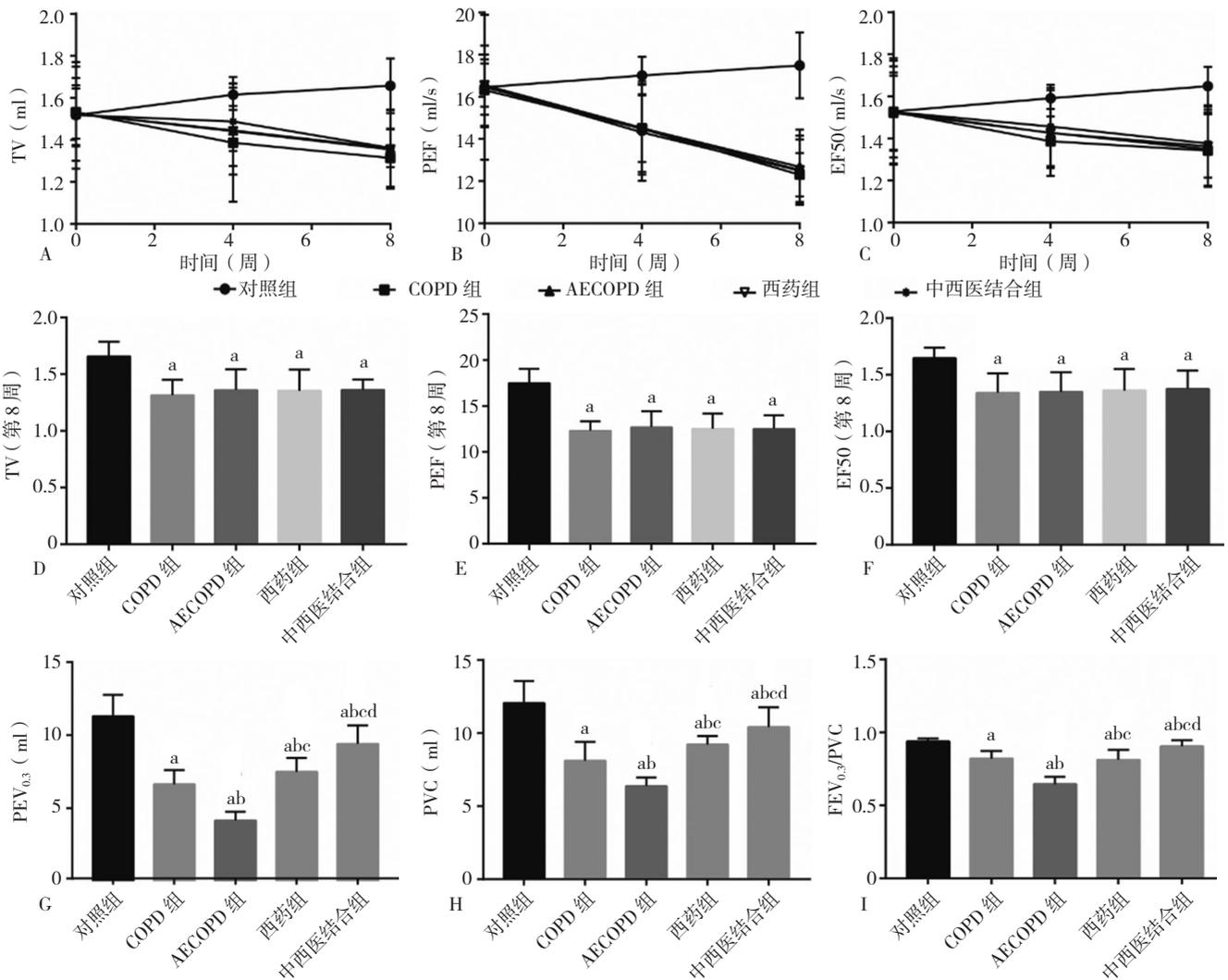
AECOPD 组 FEV_{0.3} 低于 COPD 组, 差异有统计学意义 ($q=11.310, P<0.05$); 西药组、中西医结合组 FEV_{0.3} 高于 AECOPD 组, 差异有统计学意义 ($q_{西药组}=16.750, q_{中西医结合组}=24.890, P<0.05$); 中西医结合组 FEV_{0.3} 高于西药组, 差异有统计学意义 ($q=9.272, P<0.05$), 见图 2G。

药物干预结束时五组大鼠 FVC 比较, 差异有统计学意义 ($F=83.73, P<0.05$)。COPD 组 FVC 低于对照组, 差异有统计学意义 ($q=16.190, P<0.05$); AECOPD 组 FVC 低于 COPD 组, 差异有统计学意义 ($q=7.336, P<0.05$); 西药组、中西医结合组 FVC 高于 AECOPD 组, 差异有统计学意义 ($q_{西药组}=13.040, q_{中西医结合组}=17.640, P<0.05$); 中西医结合组 FVC 高于西药组, 差异有统

计学意义 ($q=5.597, P<0.05$), 见图 2H。

药物干预结束时五组大鼠 FEV_{0.3}/FVC 比较, 差异有统计学意义 ($F=123.00, P<0.05$)。COPD 组 FEV_{0.3}/FVC 低于对照组, 差异有统计学意义 ($q=10.560, P<0.05$); AECOPD 组 FEV_{0.3}/FVC 低于 COPD 组, 差异有统计学意义 ($q=16.630, P<0.05$); 西药组、中西医结合组 FEV_{0.3}/FVC 高于 AECOPD 组, 差异有统计学意义 ($q_{西药组}=17.400, q_{中西医结合组}=25.500, P<0.05$); 中西医结合组 FEV_{0.3}/FVC 高于西药组, 差异有统计学意义 ($q=9.275, P<0.05$), 见图 2I。

2.4 肺组织和肠组织 sIgA 表达水平 五组大鼠的肺组织 sIgA 表达水平比较, 差异有统计学意义 ($F=700.20, P<0.05$)。COPD 组大鼠肺组织 sIgA 表达水平低于对照组,



注: A~C 表示第 0~8 周 TV、PEF、EF50 变化趋势, D~F 表示第 8 周结束时 TV、PEF、EF50 差异, G~I 表示干预结束时 FVC、FEV_{0.3}、FEV_{0.3}/FVC 水平; 与对照组比较, ^a $P<0.05$; 与 COPD 组比较, ^b $P<0.05$; 与 AECOPD 组比较, ^c $P<0.05$; 与西药组比较, ^d $P<0.05$; FVC=用力肺活量, FEV_{0.3}=第 0.3 秒用力呼气容积

图 2 各组大鼠肺功能变化比较
Figure 2 Changes of lung function of rats in each group

差异有统计学意义 ($q=50.030, P<0.05$)；AECOPD 组肺组织 sIgA 表达水平低于 COPD 组，差异有统计学意义 ($q=19.260, P<0.05$)；西药组、中西医结合组肺组织 sIgA 表达水平高于 AECOPD 组，差异有统计学意义 ($q_{西药组}=10.580, q_{中西医结合组}=16.000, P<0.05$)；中西医结合组肺组织 sIgA 表达水平高于西药组，差异有统计学意义 ($q=5.072, P<0.05$)，见图 3A。

五组大鼠的肠组织 sIgA 表达水平比较，差异有统计学意义 ($F=1113.00, P<0.05$)。COPD 组大鼠肠组织 sIgA 表达水平低于对照组，差异有统计学意义 ($q=43.460, P<0.05$)；AECOPD 组肠组织 sIgA 表达水平低于 COPD 组，差异有统计学意义 ($q=49.970, P<0.05$)；西药组、中西医结合组肠组织 sIgA 表达水平高于 AECOPD 组，差异有统计学意义 ($q_{西药组}=26.470, q_{中西医结合组}=34.530, P<0.05$)；中西医结合组肠组织 sIgA 表达水平高于西药组，差异有统计学意义 ($q=9.359, P<0.05$)，见图 3B。

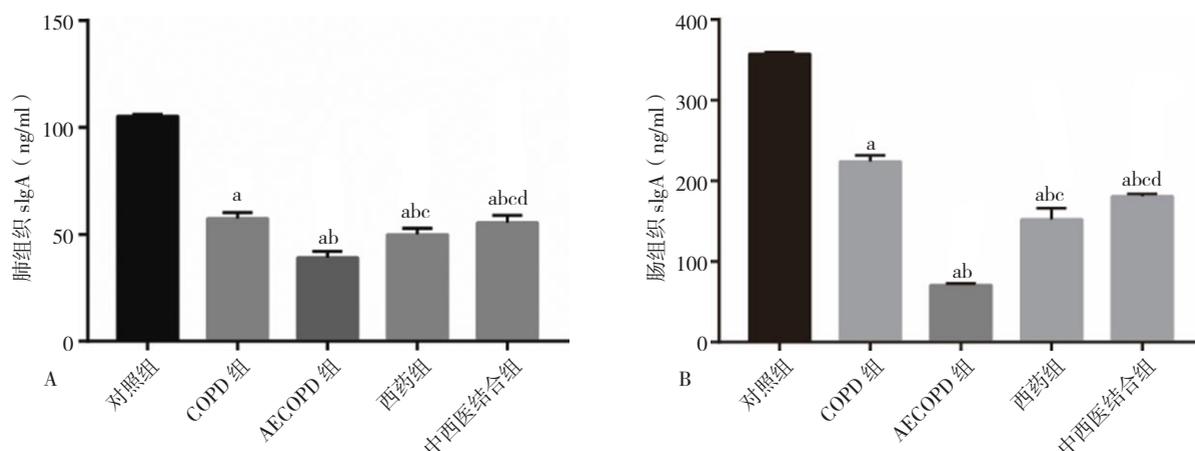
2.5 肺组织 CD₃⁺ 和 CD₄⁺ 表达水平 五组大鼠的肺组织 CD₃⁺ 表达水平比较，差异有统计学意义 ($F=96.39, P<0.05$)。COPD 组大鼠肺组织 CD₃⁺ 表达水平低于对照组，差异有统计学意义 ($q=15.700, P<0.05$)；AECOPD 组肺组织 CD₃⁺ 表达水平低于 COPD 组，差异有统计学意义 ($q=12.980, P<0.05$)；西药组、中西医结合组肺组织 CD₃⁺ 表达水平高于 AECOPD 组，差异有统计学意义 ($q_{西药组}=12.690, q_{中西医结合组}=16.120, P<0.05$)；中西医结合组肺组织 CD₃⁺ 表达水平高于西药组，差异有统计学意义 ($q=5.654, P<0.05$)，见图 4A，图 4C~G。

五组大鼠的肺组织 CD₄⁺ 表达水平比较，差异有

统计学意义 ($F=418.80, P<0.05$)。COPD 组大鼠肺组织 CD₄⁺ 表达水平低于对照组，差异有统计学意义 ($q=34.140, P<0.05$)；AECOPD 组肺组织 CD₄⁺ 表达水平低于 COPD 组，差异有统计学意义 ($q=23.150, P<0.05$)；西药组、中西医结合组肺组织 CD₄⁺ 表达水平高于 AECOPD 组，差异有统计学意义 ($q_{西药组}=12.760, q_{中西医结合组}=16.160, P<0.05$)；西药组、中西医结合组肺组织 CD₄⁺ 表达水平比较，差异无统计学意义 ($q=3.776, P>0.05$)，见图 4B，图 4H~L。

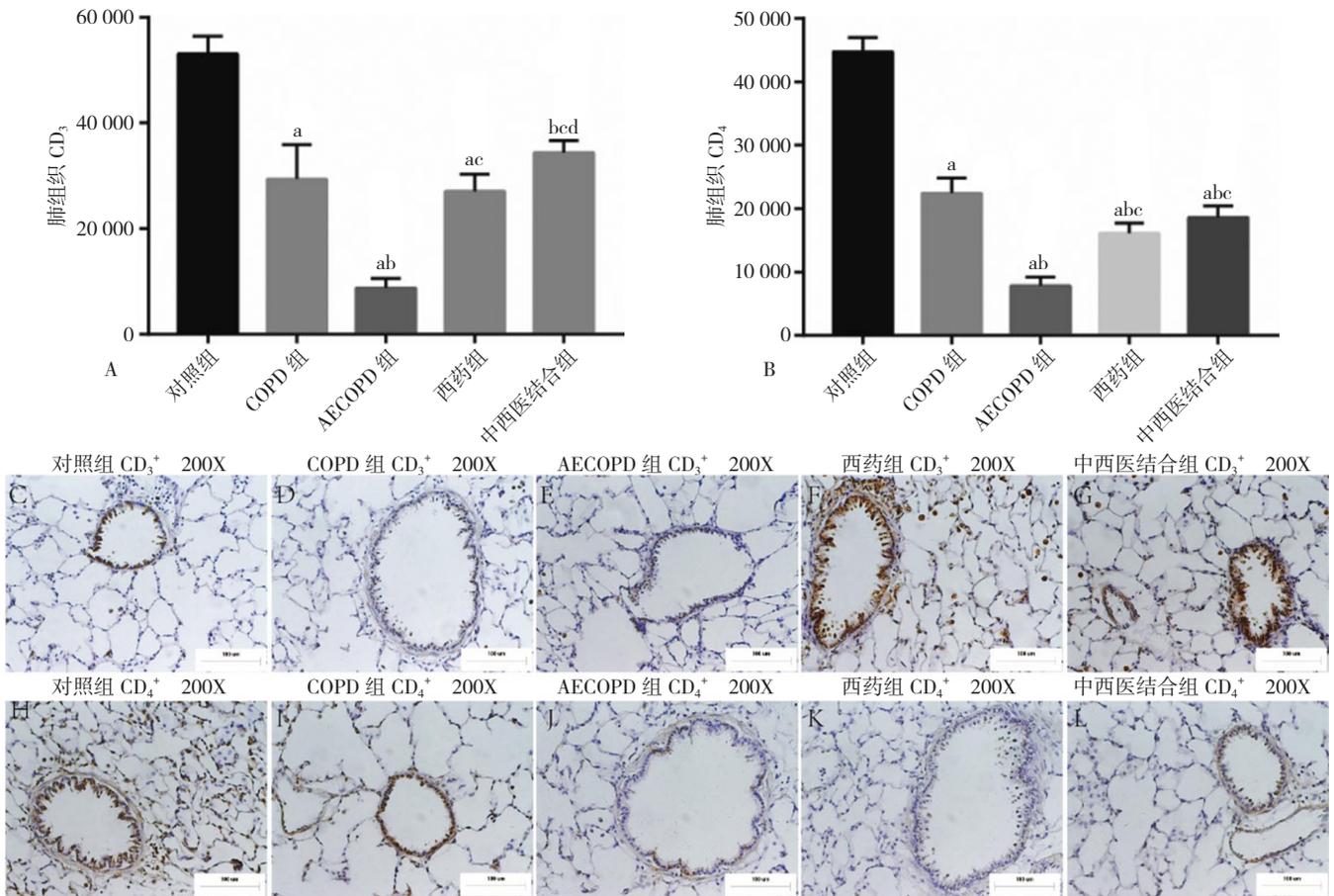
2.6 肠组织 CD₃⁺ 和 CD₄⁺ 表达水平 五组大鼠的肠组织 CD₃⁺ 表达水平比较，差异有统计学意义 ($F=174.10, P<0.05$)。COPD 组大鼠肠组织 CD₃⁺ 表达水平低于对照组，差异有统计学意义 ($q=23.510, P<0.05$)；AECOPD 组肠组织 CD₃⁺ 表达水平低于 COPD 组，差异有统计学意义 ($q=13.910, P<0.05$)；西药组、中西医结合组肠组织 CD₃⁺ 表达水平高于 AECOPD 组，差异有统计学意义 ($q_{西药组}=8.498, q_{中西医结合组}=11.460, P<0.05$)；西药组、中西医结合组肠组织 CD₃⁺ 表达水平比较，差异无统计学意义 ($q=3.288, P>0.05$)，见图 5A，图 5C~G。

五组大鼠的肠组织 CD₄⁺ 表达水平比较，差异有统计学意义 ($F=90.66, P<0.05$)。COPD 组大鼠肠组织 CD₄⁺ 表达水平低于对照组，差异有统计学意义 ($q=18.800, P<0.05$)；AECOPD 组肠组织 CD₄⁺ 表达水平低于 COPD 组，差异有统计学意义 ($q=11.320, P<0.05$)；西药组、中西医结合组肠组织 CD₄⁺ 表达水平高于 AECOPD 组，差异有统计学意义 ($q_{西药组}=10.430, q_{中西医结合组}=13.240, P<0.05$)；西药组、中西医结合组肠组织 CD₄⁺ 表达水平比较，差异无统计学意义 ($q=3.348,$



注：A 表示各组肺组织 sIgA 表达水平比较情况，B 表示各组肠组织 sIgA 表达水平比较情况；与对照组比较，^a $P<0.05$ ；与 COPD 组比较，^b $P<0.05$ ；与 AECOPD 组比较，^c $P<0.05$ ；与西药组比较，^d $P<0.05$

图 3 各组大鼠 sIgA 表达水平比较
Figure 3 Expression of sIgA in rats of each group



注: A 表示 C~G 肺组织 CD₃⁺ 表达水平, B 表示 H~L 肺组织 CD₄⁺ 表达水平, C~L 表示 HE 染色结果; 与对照组比较, **P*<0.05; 与 COPD 组比较, ^b*P*<0.05; 与 AECOPD 组比较, ^c*P*<0.05; 与西药组比较, ^d*P*<0.05

图 4 各组大鼠肺组织 CD₃⁺ 和 CD₄⁺ 表达水平比较

Figure 4 Expression of CD₃⁺ and CD₄⁺ in lung tissue of rats in each group

P>0.05), 见图 5B, 图 5H~L。

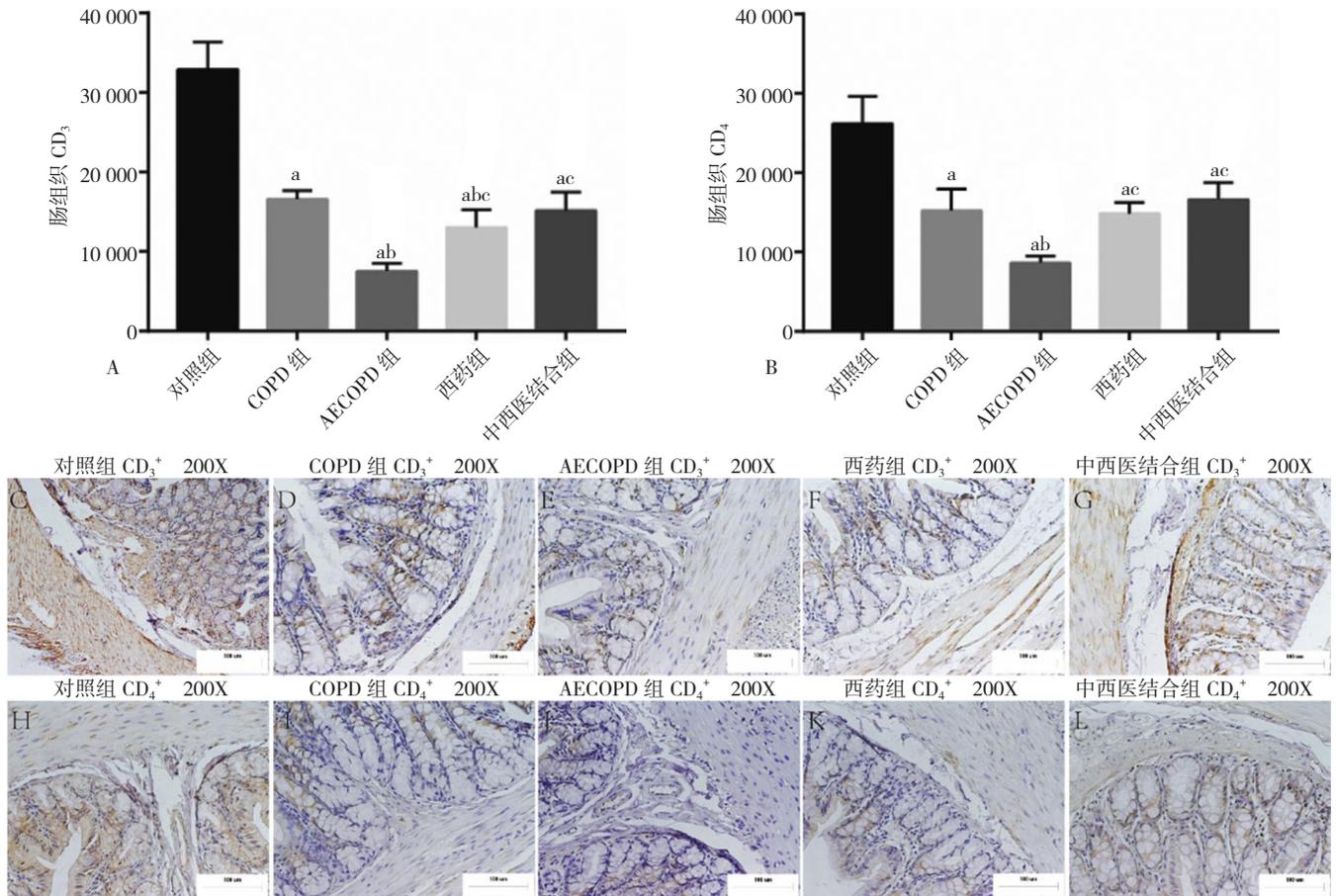
3 讨论

本实验的模型组大鼠皮毛光泽度下降, 皮毛色泽偏黄, 表现出活动明显减少、敏捷度下降、蜷缩现象, 进食量、进水量减少, 体质量增长速度缓慢, 粪便稀溏不成形。药物治疗后的大鼠进食量、进水量增加, 体质量较 AECOPD 组大鼠显著增长, 粪便逐渐形成颗粒状。临床重度和极重度 COPD 的常见症状包括腹胀便溏、形体消瘦、倦怠无力等^[15-16], 对判断预后具有重要价值^[17]。肌肉量降低的 COPD 患者, 在院内死亡率、住院天数、住院费用方面显著高于非肌肉量降低的患者^[18]。以上研究结果提示, 中西医结合治疗 COPD 痰热证急性加重-稳定期大鼠, 能够通过提高大鼠的进食、进水量, 促进大鼠体质量增长, 通过改善粪便状态, 缓解大鼠腹泻表现, 从而改善大鼠的生存质量。

本实验于第 8 周结束后, 模型组大鼠的 TV、PEF、EF₅₀ 显著低于对照组; 取材前, AECOPD 组大鼠的 FVC、FEV_{0.3} 和 FEV_{0.3}/FVC 显著低于西药组和中西医结合组, 且中西医结合组疗效更显著。COPD 的特点是持

续的呼吸道症状和气流受限, 临床中的肺功能检测是对气流限制最具重复性和客观性的测量方法^[1]。本实验中, 模型大鼠的肺功能相关指标降低与临床研究肺功能的变化一致, 提示中西医结合治疗 COPD 痰热证急性加重-稳定期, 能够通过提高肺功能从而改善大鼠的呼吸功能。

本实验中, AECOPD 组大鼠肺组织和肠组织中的 sIgA 表达水平显著低于对照组, 药物治疗可使肺组织和肠组织中 sIgA 表达水平升高, 中西医结合治疗组的 sIgA 表达水平升高更显著。COPD 患者气道表面普遍存在 sIgA 表达缺损^[2], 与慢性细菌侵袭、中性粒细胞炎症及 COPD 气流阻塞的严重程度相关^[3-4]。当呼吸道感染时, 病原微生物入侵并黏附于上皮, 刺激黏膜局部产生免疫应答, 并通过黏膜免疫归巢迁移的途径影响传变到肠道, 使肺和肠道的 sIgA 的合成与分泌减少, 黏膜局部抗感染能力较弱, 又增加肺部病变。慢性炎症与免疫机制相互交织, 相互促进, 形成恶性循环^[19]。中西医结合治疗 COPD 痰热证急性加重-稳定期大鼠, 能够显著升高大鼠肺组织和肠组织中的 sIgA 表达水平, 从而改善肺组织和肠组织的免疫屏障功能。



注: A 表示 C~G 肠组织 CD₃⁺ 表达水平, B 表示 H~L 肠组织 CD₄⁺ 表达水平, C~L 表示 HE 染色结果; 与对照组比较, ^a*P*<0.05; 与 COPD 组比较, ^b*P*<0.05; 与 AECOPD 组比较, ^c*P*<0.05; 与西药组比较, ^d*P*<0.05

图 5 各组大鼠肠组织 CD₃⁺ 和 CD₄⁺ 表达水平比较
Figure 5 Expression of CD₃⁺ and CD₄⁺ in intestinal tissue of rats in each group

本实验显示, 各模型组大鼠肺、肠组织 CD₃⁺ 和 CD₄⁺ 表达水平显著低于对照组, 西药组、中西医结合组大鼠肺组织和肠组织的 CD₃⁺ 和 CD₄⁺ 表达水平显著高于 AECOPD 组, 中西医结合组肺组织 CD₃⁺ 表达水平升高更显著。COPD 患者肺间质及实质等组织活检^[7] 发现了大量 T 淋巴细胞和巨噬细胞聚集现象, 主要炎症表现为 CD₈⁺ 细胞数量增加, CD₃⁺ 和 CD₄⁺ 细胞数量基本不变或稍降, CD₄⁺/CD₈⁺ 下降, 导致免疫失衡^[8]。文献报道的 COPD 患者外周血和支气管肺泡灌洗液中 T 淋巴细胞亚群异常, 气道中性粒细胞、巨噬细胞和 CD₈⁺ T 淋巴细胞增多, 即使停止吸烟后, T 淋巴细胞介导的异常肺内炎症仍持续存在, 是 COPD 发生和发展的关键因素^[9-10]。本研究结果与临床研究表现一致, 提示中西医结合治疗 COPD 痰热证急性加重 - 稳定期, 可能通过改善大鼠 T 淋巴细胞的表达, 提高免疫水平、延缓 COPD 疾病进程。

综上所述, 本研究采用中西医结合治疗 COPD 痰热证急性加重 - 稳定期大鼠, 上调了肺组织和肠组织 sIgA、CD₃⁺ 和 CD₄⁺ 的表达水平, 表明了通塞颗粒 / 补肺

益肾方联合西药治疗 COPD 急性加重 - 稳定期大鼠可能通过提高大鼠肺组织和肠组织 sIgA、CD₃⁺ 和 CD₄⁺ 的表达水平, 修复肺组织和肠组织的免疫屏障功能, 提高大鼠免疫力。由于缺乏中西医结合治疗对 COPD 痰热证急性加重 - 稳定期肺、肠组织 sIgA、CD₃⁺ 和 CD₄⁺ 表达水平影响的相关证据, 本研究填补了该研究领域的空白, 为中医药防治 COPD 的深入研究提供参考依据。

作者贡献: 李晓俊、李亚进行研究设计与实施、资料收集整理、撰写论文并对文章负责; 卞晴晴、轩银霜、沈婷婷参与动物饲养、干预、取材、实验数据记录; 李素云进行质量控制。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] GOLD Science committee. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease 2021 [EB/OL]. [2021-01-11]. <https://goldcopd.org/>.
- [2] LADJEMI M Z, MARTIN C, LECOCQ M, et al. Increased IgA expression in lung lymphoid follicles in severe chronic obstructive

- pulmonary disease [J] . *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 199 (5) : 592-602. DOI: 10.1164/rccm.201802-03520C.
- [3] POLOSUKHIN V V, RICHMOND B W, DU R H, et al. Secretory IgA deficiency in individual small airways is associated with persistent inflammation and remodeling [J] . *Am J Respir Crit Care Med*, 2017, 195 (8) : 1010-1021. DOI: 10.1164/rccm.201604-07590C.
- [4] POLOSUKHIN V V, CATES J M, LAWSON W E, et al. Bronchial secretory immunoglobulin a deficiency correlates with airway inflammation and progression of chronic obstructive pulmonary disease [J] . *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 184 (3) : 317-327. DOI: 10.1164/rccm.201010-16290C.
- [5] KUMAR N, ARTHUR C P, CIFERRI C, et al. Structure of the secretory immunoglobulin A core [J] . *Science*, 2020, 367 (6481) : 1008-1014. DOI: 10.1126/science.aaz5807.
- [6] 郑海涛, 范奕熲, 袁海霞, 等. 基于中医“肺与大肠相表里”理论的肠道菌群对机体免疫的影响 [J] . *时珍国医国药*, 2018, 29 (5) : 1170-1172. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2018.05.049.
- ZHENG H T, FAN Y M, YUAN H X, et al. Effects of intestinal flora on immune function base on the theory of “superficies-interior relationship between lung and large intestine” of traditional Chinese medicine [J] . *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2018, 29 (5) : 1170-1172. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2018.05.049.
- [7] 钱文君, 王佩芳, 徐慧, 等. 慢性阻塞性肺疾病病人外周血 T 淋巴细胞的检测及意义 [J] . *中国老年学杂志*, 2014, 34 (16) : 4501-4502. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.
- QIAN W J, WANG P F, XU H, et al. Detection and significance of peripheral blood T lymphocytes in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J] . *Chinese Journal of Gerontology*, 2014, 34 (16) : 4501-4502. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.
- [8] URBONIENE D, BABUSYTE A, LÖTVALL J, et al. Distribution of $\gamma \delta$ and other T-lymphocyte subsets in patients with chronic obstructive pulmonary disease and asthma [J] . *Respir Med*, 2013, 107 (3) : 413-423. DOI: 10.1016/j.rmed.2012.11.012.
- [9] YURDAKUL A S, TACI HOCA N, CIMEN F, et al. Airway inflammation and lymphocyte subset analysis in patients with chronic obstructive pulmonary disease and healthy smokers [J] . *Tuberk Toraks*, 2006, 54 (2) : 122-127. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16924567/>.
- [10] KIM W D, KIM W S, KOH Y, et al. Abnormal peripheral blood T-lymphocyte subsets in a subgroup of patients with COPD [J] . *Chest*, 2002, 122 (2) : 437-444. DOI: 10.1378/chest.122.2.437.
- [11] 李建生, 王至婉, 余学庆, 等. 中药治疗 COPD 急性加重期的系统评价 [J] . *天津中医药*, 2008, 25 (5) : 428-432.
- LI J S, WANG Z W, YU X Q, et al. Systemic evaluation of TCM for COPD in the acute stage of exacerbation [J] . *Tianjin J Tradit Chin Med*, 2008, 25 (5) : 428-432.
- [12] 朱立成, 朱文娟, 尚云飞. 中西医结合治疗慢性阻塞性肺疾病并呼吸衰竭疗效及安全性的 Meta 分析 [J] . *现代中西医结合杂志*, 2009, 18 (31) : 3789-3791, 3794. DOI: 10.3969/j.issn.1008-8849.2009.31.001.
- ZHU L C, ZHU W J, SHANG Y F. Efficacy and safety of integrated Chinese-Western medicine therapy for COPD combined with respiratory failure: a Meta-analysis [J] . *Mod J Integr Tradit Chin West Med*, 2009, 18 (31) : 3789-3791, 3794. DOI: 10.3969/j.issn.1008-8849.2009.31.001.
- [13] LI Y, LI S Y, LI J S, et al. A rat model for stable chronic obstructive pulmonary disease induced by cigarette smoke inhalation and repetitive bacterial infection [J] . *Biol Pharm Bull*, 2012, 35 (10) : 1752-1760. DOI: 10.1248/bpb.b12-00407.
- [14] LU X F, LI Y, LI J S, et al. Sequential treatments with Tongsai and bufeiyishen granules reduce inflammation and improve pulmonary function in acute exacerbation-risk window of chronic obstructive pulmonary disease in rats [J] . *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 2016: 1359105. DOI: 10.1155/2016/1359105.
- [15] ATTAWAY A H, WELCH N, HATIPOGLU U, et al. Muscle loss contributes to higher morbidity and mortality in COPD: an analysis of national trends [J] . *Respirology*, 2021, 26 (1) : 62-71. DOI: 10.1111/resp.13877.
- [16] 武琰娇, 张娜娜, 柏少锋. 异丙托溴铵联合乙酰半胱氨酸对慢性阻塞性肺疾病患者血浆与诱导痰巨噬细胞刺激蛋白表达及肺功能影响 [J] . *临床军医杂志*, 2019, 47 (3) : 281-283. DOI: 10.16680/j.1671-3826.2019.03.20.
- [17] RUTTEN E P, CALVERLEY P M, CASABURI R, et al. Changes in body composition in patients with chronic obstructive pulmonary disease: do they influence patient-related outcomes? [J] . *Ann Nutr Metab*, 2013, 63 (3) : 239-247. DOI: 10.1159/000353211.
- [18] SCHOLS A M, SOETERS P B, DINGEMANS A M, et al. Prevalence and characteristics of nutritional depletion in patients with stable COPD eligible for pulmonary rehabilitation [J] . *Am Rev Respir Dis*, 1993, 147 (5) : 1151-1156. DOI: 10.1164/ajrccm/147.5.1151.
- [19] 韦佳, 付秀华. 慢性炎症及免疫机制在慢阻肺发生发展中的作用 [J] . *世界最新医学信息文摘*, 2018, 18 (16) : 90-91. DOI: 10.19613/j.cnki.1671-3141.2018.16.039.
- WEI J, FU X H. The role of chronic inflammation and immune mechanism in the occurrence and development of COPD [J] . *World Latest Medicine Information*, 2018, 18 (16) : 90-91. DOI: 10.19613/j.cnki.1671-3141.2018.16.039.
- (收稿日期: 2021-09-14; 修回日期: 2021-11-14)
(本文编辑: 崔莎)