

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.01.015

捏脊法对脾虚哮喘大鼠肠道菌群和肺部炎症的影响

熊英^{*}, 沈楚楚¹, 樊璞¹, 周瑞鹏¹, 陈骁¹, 奚人杰²

(1. 南京中医药大学第二临床医学院, 江苏省南京市仙林大道 138 号, 210023; 2. 昆山市中医院)

摘要 目的 探讨捏脊法治疗脾虚哮喘的可能作用机制。方法 44 只 SD 大鼠随机分为正常对照组 8 只, 哮喘组、脾虚哮喘组和捏脊脾虚哮喘组各 12 只。哮喘组以卵蛋白 (OVA) 致敏和激发方法建立大鼠哮喘模型, 脾虚哮喘组和捏脊脾虚哮喘组在小承气汤灌胃致脾虚基础上以 OVA 致敏和激发方法建立大鼠脾虚哮喘模型, 正常对照组与哮喘组以自来水 1.5 ml/100 g 灌胃, 轻抚大鼠头部和轻持鼠尾根部而不做捏脊; 脾虚哮喘组轻抚大鼠头部和轻持鼠尾根部而不做捏脊; 捏脊脾虚哮喘组给予捏脊法干预。以粪便涂片革兰染色法检测肠道菌群状况, 以 HE 染色观察肺组织病理学情况, 并测定肺泡灌洗液中炎症细胞总数和嗜酸性粒细胞比例。结果 第 44、51、62 天时, 各组大鼠体重、杆菌/球菌、阳性杆菌/细菌总数差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。哮喘造模后 18、42 h, 与正常对照组比较, 哮喘组、脾虚哮喘组和捏脊脾虚哮喘组炎症细胞总数、嗜酸性粒细胞比例均明显升高, 且脾虚哮喘组显著高于哮喘组和捏脊脾虚哮喘组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与本组哮喘造模后 18 h 比较, 哮喘造模后 42 h 时哮喘组、捏脊脾虚哮喘组炎症细胞总数和嗜酸性粒细胞比例均显著下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 捏脊法能有效改善脾虚哮喘大鼠的肠道菌群紊乱及炎症状态, 这可能是其防治脾虚哮喘的重要机制之一。

关键词 脾虚; 哮喘; 捏脊; 肠道菌群; 肺部炎症

哮喘是儿童最常见的呼吸道疾病, 是由多种细胞和细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病^[1-3]。研究证明, 肠道菌群与哮喘等过敏性疾病的发生密切相关^[4]。肠道菌群紊乱会引起肠道通透性增加, 使许多正常情况下被限制进入体内的大分子等抗原出现在血液中造成过敏反应, 而后者被证明与湿疹、荨麻疹、过敏性鼻炎和哮喘等过敏性疾病有关; 肠道菌群的平衡有益于增加 B 细胞产生 IgA 抗体, 调节抗原呈递细胞的发育, 并在肠道内外的 CD4⁺T 细胞的发育中发挥重要作用^[5-9]。中医学认为, 痰饮内伏是哮喘发生的内因, 脾为生痰之源, 为肺之母, 小儿又脾常虚, 所以脾虚被认为是儿童哮喘的重要病理特点之一^[6-7]。研究证明, 脾虚证者也存在肠道菌群失调^[8-9]。捏脊法善健脾, 能明显改善胃肠的消化吸收功能, 是中医防治儿童哮喘的常用手法^[10-11]。本实验在脾虚基础上建立

卵蛋白 (OVA) 哮喘模型, 观察捏脊法对脾虚哮喘大鼠肠道菌群以及肺部炎症的影响, 并探讨相关机制。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 46 只, 2~3 周龄, 体重 (44.72 ± 3.26) g, 由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供, 实验动物许可证号: SCXK (沪) 2007-0005。

1.2 药物

小承气汤, 组成: 厚朴、枳实、大黄按重量 3:3:2 组方, 冷水浸泡 30 min, 常规煎煮 2 次, 合并药液, 浓缩至 1 g/ml。药材由南京中医药大学国医堂门诊部提供。

1.3 主要试剂及仪器

OVA (Sigma 公司, 货号 A5503); 革兰染色液 (安徽省巢湖市弘慈医疗器械有限公司, 批号 20160229); 瑞氏-姬姆萨复合染液 (Keygen 公司, 货号 KGA227); HE 染色液 (南京建成科技有限公司, 批号 20160607); Al (OH)₃ 凝胶 (西安赫特

基金项目: 国家中医药管理局重点学科 (中医推拿学) 开放课题 (TN-BZ2013-02); 南京中医药大学第二临床医学院自主设置课题 (RLZZ201601)

* 通讯作者: christmas44th@aliyun.com, (025) 85811663

生物科技有限公司, 货号 BF040); 曙红 Y (国药集团化学试剂有限公司, 批号 20160513); 25% 乌拉坦 (Sigma, St. Louis, MO, USA, 批号 U2500)。402AI 雾化器, 江苏鱼跃器械有限公司; 801 型显微镜, 日本 Nikon 公司。

1.4 动物模型的建立

1.4.1 脾虚模型的建立 参考文献 [2] 方法建立脾虚模型。以小承气汤隔日灌胃 1 次, 每次 1.5 ml/100 g, 喂药当日禁食, 饮水不限, 次日喂饲不限, 喂养 44 天。造模后参考大鼠脾虚证动物模型的评估标准 [3] 进行评价: 1) 体重下降、消瘦; 2) 食量减少、水量增多; 3) 肛温略升高; 4) 大便不调; 5) 倦怠、少动, 或易激惹、咬斗; 6) 背毛欠光泽。

1.4.2 哮喘模型的建立 参考文献 [4] 采用 OVA 致敏和激发方法建立哮喘模型。第 8、45、52 天腹腔注射 OVA/Al (OH)₃ 混合液 1.5 ml [内含 OVA 1 mg, Al (OH)₃ 凝胶 1.5 ml] 致敏, 第 59 天开始定时给予 1% OVA 雾化器喷雾激发, 每次 30 min, 连续 3 天。当激发时大鼠出现呼吸喘促、点头、腹肌抽动等呼吸困难症状, 提示哮喘模型造模成功 [5]。

1.5 动物分组及处理方法

将 46 只大鼠按照随机数字表法分成正常对照组 8 只、哮喘组 12 只及脾虚哮喘组和捏脊脾虚哮喘组各 13 只。正常对照组以自来水 1.5 ml/100 g 灌胃, 轻抚大鼠头部和轻持鼠尾根部而不做捏脊, 并以生理盐水代替 OVA 进行致敏与激发。哮喘组以自来水 1.5 ml/100 g 灌胃, 轻抚大鼠头部和轻持鼠尾根部而不做捏脊, 并以 OVA 致敏与激发进行哮喘造模。脾虚哮喘组以小承气汤灌胃进行脾虚造模, 轻抚大鼠头部和轻持鼠尾根部而不做捏脊, 并以 OVA 致敏与激发进行哮喘造模。捏脊脾虚哮喘组以小承气汤灌胃进行脾虚造模, 同时给予捏脊法干预, 并以 OVA 致敏与激发进行哮喘造模。捏脊法干预从实验第 10 天始, 持续到哮喘造模 OVA 激发前的第 58 天, 其中 OVA 致敏前为每周一、三、五、日各操作 1 次, OVA 致敏期间每日操作 1 次。

捏脊法操作: 一助手以一只手轻抚按大鼠头部, 另一手轻持鼠尾根部, 将大鼠固定。操作者先以一手四指腹面轻抚大鼠脊柱中央背部皮肤, 从大椎至脊中线尾根部, 共 3 遍; 而后以双手拇指紧靠, 轻轻对称提起大鼠背部沿中线两侧的皮肤, 以指腹相对用力, 从脊中线尾根部一直捏至大椎穴处, 共 7 遍; 接着用双手拇指食指捏背部中线两侧

皮肤, 从尾根部至大椎穴捏三提一, 重点在肺俞、脾俞穴, 共 3 遍, 力量以大鼠不尖叫且较平静为度。操作中涉及的穴位按《实验针灸学》[4] 选取。

实验过程中脾虚哮喘组和捏脊脾虚哮喘组各有 1 只大鼠死亡。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 体重 实验第 44、51、62 天观察大鼠体重。

1.6.2 肠道菌群 实验第 44、51、62 天分别采集大鼠粪便, 放入无菌收集盒并置入冰盒中。参考文献 [5], 2 h 内进行快速薄层涂片、固定、改良革兰染色, 显微镜下待检。每份标本选取代表性视野计数 400 个细菌, 计算杆菌/球菌及阳性杆菌/细菌总数。

1.6.3 肺组织病理学 OVA 末次激发后 18 h, 每组大鼠采用随机数字表法选取 6 只, 25% 乌拉坦 5 ml/kg 腹腔注射麻醉大鼠, 迅速开胸, 结扎并取出右肺上叶, 用 4% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋后切片, HE 染色, 显微镜下观察。

1.6.4 炎症细胞总数和嗜酸性粒细胞比例 OVA 末次激发后 18 h, 每组采用随机数字表法选取 6 只取样; 末次激发后 42 h, 除正常对照组外的各组剩下 6 只取样。25% 乌拉坦腹腔注射麻醉大鼠, 开胸结扎右肺叶后, 将灌胃针连接于注射器, 将 2.5 ml 生理盐水缓慢注入气管和左侧肺中, 立即缓慢抽回, 再将所得液体缓缓注回肺内, 如此反复 3 次, 最后 1 次边回抽边将注射器缓缓拔出, 将灌洗液盛入塑料离心管, 置于冰盒中, 此为第 1 次灌洗, 然后重复 3 次上述操作。取灌洗液 0.1 ml 用细胞计数板计数炎症细胞总数, 而后以 4℃、2000 r/min 离心 10 min, 取细胞沉渣涂片, 采用瑞氏-姬姆萨法染色, 在显微镜下计数 100 个细胞数中嗜酸性粒细胞数目, 计算百分比。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 18.0 软件处理数据, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组不同时间点的变化趋势比较采用重复测量方差分析, 各组不同时间点的两两比较, 方差齐采用 LSD 法, 不齐则为 Dunnett's *T*₃。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠不同时间点体重比较

表 1 示, 各组体重有随时间变化的趋势 ($F = 612.534, P < 0.01$); 时间和分组的交互作用有统计学意义 ($F = 9.985, P < 0.01$)。各组不同时间

表 1 各组大鼠不同时间点体重比较 (g, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	第 44 天	第 51 天	第 62 天
正常对照组	8	331.00 ± 16.82	363.36 ± 25.13	380.41 ± 24.12
哮喘组	12	334.06 ± 10.72	349.51 ± 10.50	362.08 ± 10.22*
脾虚哮喘组	12	234.85 ± 15.24**△	251.73 ± 17.95**△	270.20 ± 16.33**△
捏脊脾虚哮喘组	12	247.02 ± 14.04**△▲	268.38 ± 18.57**△▲	290.22 ± 17.64**△▲▲

注: 与正常对照组同时间比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与哮喘组同时间比较, △ $P < 0.01$; 与脾虚哮喘组同时间比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$

表 2 各组大鼠不同时间点肠道菌群平衡状况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	杆菌/球菌			阳性杆菌/细菌总数 (×100%)		
		第 44 天	第 51 天	第 62 天	第 44 天	第 51 天	第 62 天
正常对照组	8	14.34 ± 3.20	14.67 ± 2.31	14.45 ± 2.54	49.25 ± 1.63	48.63 ± 2.13	48.13 ± 1.55
哮喘组	12	14.43 ± 3.99	12.18 ± 2.61*	10.05 ± 2.03**	48.48 ± 2.19	46.25 ± 2.09*	41.50 ± 2.43**
脾虚哮喘组	12	7.66 ± 1.40**△	7.03 ± 1.52**△	6.20 ± 1.47**△	39.07 ± 2.70**△	36.25 ± 2.90**△	32.67 ± 3.60**△
捏脊脾虚哮喘组	12	10.53 ± 2.62**△▲	10.22 ± 2.41**△▲	8.53 ± 1.75**△▲	44.20 ± 3.43**△▲	44.58 ± 2.50**△▲	40.08 ± 2.19**△▲

注: 与正常对照组同时间比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与哮喘组同时间比较, △ $P < 0.01$; 与脾虚哮喘组同时间比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$

点体重的整体比较差异均有统计学意义 ($F = 124.325$, $P < 0.01$)。第 44、51、62 天时, 各组体重差异有统计学意义 ($F = 155.776$, $P < 0.01$; $F = 103.867$, $P < 0.01$; $F = 104.605$, $P < 0.01$); 与正常对照组和哮喘组比较, 脾虚哮喘组、捏脊脾虚哮喘组体重差异均有统计学意义; 与脾虚哮喘组比较, 捏脊脾虚哮喘组体重差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.2 各组大鼠不同时间点肠道菌群平衡状况比较

表 2 示, 各组肠道菌群中杆菌/球菌有随时间变化的趋势 ($F = 7.259$, $P < 0.01$); 时间和分组的交互作用无统计学意义 ($F = 1.650$, $P > 0.05$)。各组不同时间点杆菌/球菌的整体比较差异均有统计学意义 ($F = 51.955$, $P < 0.01$)。第 44、51、62 天时, 各组杆菌/球菌比较差异有统计学意义 ($F = 13.773$, $P < 0.01$; $F = 20.867$, $P < 0.01$; $F = 30.661$, $P < 0.01$); 与正常对照组比较, 脾虚哮喘组、捏脊脾虚哮喘组杆菌/球菌差异均有统计学意义; 与哮喘组比较, 脾虚哮喘组杆菌/球菌差异均有统计学意义; 与脾虚哮喘组比较, 捏脊脾虚哮喘组杆菌/球菌差异均有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各组肠道菌群中阳性杆菌/细菌总数有随时间变化的趋势 ($F = 60.975$, $P < 0.01$); 时间和分组的交互作用有统计学意义 ($F = 5.214$, $P < 0.01$)。各组不同时间点的整体比较差异均有统计学意义 ($F = 76.538$, $P < 0.01$)。第 44、51、62 天时, 各组阳性杆菌/细菌总数差异有统计学意义 ($F = 34.177$, $P < 0.01$; $F = 52.258$, $P < 0.01$; $F =$

57.675, $P < 0.01$); 与正常对照组比较, 脾虚哮喘组、捏脊脾虚哮喘组阳性杆菌/细菌总数差异均有统计学意义; 与哮喘组比较, 脾虚哮喘组阳性杆菌/细菌总数差异有统计学意义; 与脾虚哮喘组比较, 捏脊脾虚哮喘组阳性杆菌/细菌总数差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.3 各组大鼠肺组织病理学情况

图 1 示, 正常对照组支气管管壁和伴行动脉周围有少许炎性细胞浸润, 支气管管腔光滑, 无炎性分泌物。哮喘组气道壁变粗, 气道平滑肌增厚, 支气管管壁和伴行动脉周围有较多的炎性细胞浸润,

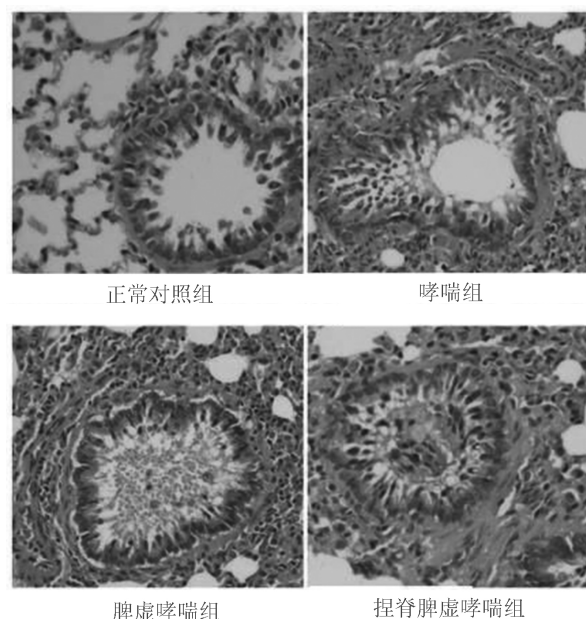


图 1 各组大鼠卵蛋白激发结束后 18 h 肺组织 HE 染色 (×200)

表 3 各组大鼠肺泡灌洗液中炎症细胞总数和嗜酸性粒细胞比例比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	炎症细胞总数 ($\times 10^5 / \text{ml}$)		嗜酸性粒细胞比例 (%)	
		哮喘造模后 18 h	哮喘造模后 42 h	哮喘造模后 18 h	哮喘造模后 42 h
正常对照组	6	12.37 $\pm$ 2.88	—	1.57 $\pm$ 0.49	—
哮喘组	6	24.48 $\pm$ 2.45*	21.69 $\pm$ 2.52*#	6.18 $\pm$ 0.78*	5.31 $\pm$ 0.47*#
脾虚哮喘组	6	28.04 $\pm$ 2.64* $\Delta\Delta$	26.15 $\pm$ 1.46* $\Delta\Delta$	7.77 $\pm$ 0.41* $\Delta\Delta$	6.96 $\pm$ 0.58* $\Delta\Delta$ #
捏脊脾虚哮喘组	6	25.01 $\pm$ 1.96* Δ	21.38 $\pm$ 1.24* $\Delta\Delta$ ##	6.38 $\pm$ 0.67* $\Delta\Delta$	5.15 $\pm$ 0.67* $\Delta\Delta$ ##

注: 与正常对照组同时间比较, * $P < 0.01$; 与哮喘组同时间比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与脾虚哮喘组同时间比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与本组哮喘造模后 18 h 比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

杯状细胞增生, 气道腔内可见炎性分泌物。脾虚哮喘组炎性细胞浸润更显著, 支气管管壁显著增厚, 炎性分泌物增多。捏脊脾虚哮喘组的病理变化与哮喘组相似, 支气管管壁厚度及周围炎性浸润程度较之脾虚哮喘组明显减轻。

2.4 各组大鼠不同时间 BALF 中炎症细胞总数与嗜酸性粒细胞比例比较

表 3 示, 哮喘造模后 18、42 h, 与正常对照组比较, 哮喘组、脾虚哮喘组和捏脊脾虚哮喘组炎症细胞总数、嗜酸性粒细胞比例均明显升高, 脾虚哮喘组显著高于哮喘组和捏脊脾虚哮喘组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与本组哮喘造模后 18 h 比较, 哮喘造模后 42 h 时哮喘组、捏脊脾虚哮喘组炎症细胞总数和嗜酸性粒细胞比例均显著下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 脾虚哮喘组的炎症细胞总数下降不明显 ($P > 0.05$), 嗜酸性粒细胞比例显著下降 ($P < 0.05$)。

3 讨论

通过新鲜粪便标本直接涂片、革兰染色, 观察杆菌与球菌比值可以作为判断肠道菌群失调与否的重要指标^[6-17]。肠腔内寄居着的双歧杆菌、乳杆菌等革兰阳性杆菌可以阻挡或抑制条件致病菌或致病菌侵袭肠黏膜, 拮抗其生长^[18]。因此, 进行杆菌/球菌和阳性杆菌/细菌总数的对比观察是判断肠道菌群平衡状况简便有效的方法。

本研究结果显示, 脾虚导致体重增长明显减缓的同时, 也导致了肠道菌群的失衡, 这与临床和动物实验研究结果是一致的^[8-9]。肠道菌群失调可导致革兰阴性细菌胞壁成分的脂多糖与上皮 Toll 样受体 4 (TLR4) 接触机会增加, 诱导下游炎症因子基因的转录和翻译, 加重肠道的损伤^[19]。研究显示, 脾虚动物模型和患者多存在慢性炎症^[9]。结合本研究结果推测, 脾虚的慢性炎症状态可能与肠道菌群失调相关。

本研究结果还显示, 哮喘造模导致的肠道菌群失调始于 OVA 的致敏过程, 脾虚所致肠道菌群紊乱进一步加重 OVA 致敏过程中的肠道菌群紊乱,

致使哮喘时的肺部炎症和肠道菌群紊乱程度加重, 同时还有减缓炎症消退的趋势。这一结果与过敏性疾病患儿的肠道菌群构成和正常儿童有着明显差异, 生命早期肠道菌群的紊乱甚至先于过敏性疾病发生^[20]的观点是吻合的。

OVA 致敏激发导致哮喘是哮喘动物模型中最常用的一种, 停止 OVA 吸入后的肺部炎症反应通常会在 1~2 周内自动缓解, 但临床上大多数哮喘患者的气道炎症是不能完全缓解的^[21]。结合本研究结果, 脾虚存在的肠道菌群失调及延缓炎症的消退可能与哮喘的慢性炎症状态相关, 这也为脾虚是儿童哮喘的重要病机这一观点提供了一定的科学依据。

捏脊法是以中医基础理论为指导, 运用提、拿、捏、推手法刺激人体背部皮肤从而防治疾病的一种外治方法。捏脊法主要循督脉和足太阳膀胱经操作, 有调阴阳、培元气、和脏腑的作用^[22], 尤善健脾, 能明显改善胃肠的消化吸收功能^[14]。本研究结果显示, 捏脊法能较好地改善脾虚症状, 使脾虚大鼠体重明显上升, 改善肠道菌群的紊乱; 尤其在 OVA 致敏激发期间, 捏脊法有助于脾虚肠道菌群状况的稳定, 使遭遇哮喘后的肠道菌群紊乱及肺部炎症程度均明显减轻, 而且有促进炎症消退的趋势, 这可能是捏脊法防治儿童哮喘的重要机制。

综上所述, 脾虚所致的肠道菌群紊乱可能是加重儿童哮喘和导致哮喘慢性炎症状态的重要病机之一, 捏脊法可以有效改善脾虚症状, 改善肠道菌群的紊乱, 减轻哮喘时肺部的炎症程度。

参考文献

- [1] BANASIAK NC. Understanding the relationship between asthma and sleep in the pediatric population [J]. J Pediatr Health Care, 2016, 30(6): 546-550.
- [2] 宾博平, 李明忠, 殷丽, 等. 防哮喘早期干预对哮喘小鼠嗜酸性粒细胞和气道炎症的影响 [J]. 中医杂志, 2012, 53(1): 48-51, 67.
- [3] 王涛, 胡旭, 吴晓丽, 等. 肠道共生微生物与免疫 [J]. 中国微生物学杂志, 2015, 27(8): 980-986.
- [4] 唐素萍. 儿童食物过敏与其相关性疾病 [J]. 中国实用

- 儿科杂志, 2015, 30(1): 29-32.
- [5] 龚臣, 邓静敏. Th17/Treg 在支气管哮喘发病机制中的作用及研究进展 [J]. 中华哮喘杂志, 2013, 7(3): 41-45.
- [6] 吴兆利, 刘自力, 张庆荣. 脾虚证对哮喘大鼠嗜酸细胞凋亡及相关基因表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(7): 1959-1962.
- [7] 张洁, 陈小华, 耿少怡, 等. 略谈小儿哮喘从脾论治 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2007, 9(6): 5-6.
- [8] 彭颖, 李晓波. 脾虚证与肠道微生态 [J]. 世界华人消化杂志, 2012, 20(34): 3287-3291.
- [9] 吴秀, 周联, 罗霞, 等. 四君子汤多糖对脾虚小鼠肠道菌群及免疫功能的影响 [J]. 中药药理与临床, 2014, 30(2): 12-14.
- [10] 黎士荻, 王兴桂, 吴高鑫. 捏脊疗法对幼龄脾虚大鼠胃肠运动及 SP 的影响 [J]. 贵阳中医学院学报, 2017, 39(1): 20-23.
- [11] 雷俊娜, 沈西, 谢涛云, 等. 简易捏脊疗法治疗儿童哮喘多中心临床研究 [J]. 新中医, 2015, 47(8): 260-261.
- [12] 刘友章, 王昌俊, 周均亮, 等. 长期脾虚模型大鼠细胞线粒体的研究 [J]. 中医药学刊, 2006, 24(3): 391-394.
- [13] 革丽莎, 李昌崇, 张维溪, 等. 地塞米松对急性哮喘大鼠肺组织 15-脂氧合酶表达的影响 [J]. 中国当代儿科杂志, 2011, 13(3): 227-230.
- [14] 余曙光, 郭义. 实验针灸学 [M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2014: 146.
- [15] 张秀荣. 肠道菌群涂片检查图谱 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2000: 1-40, 15-20.
- [16] 姜秀菊, 廖卫, 史志红, 等. 粪便 pH 和涂片检查肠道菌群失调的研究及意义 [J]. 中国微生态学杂志, 2007, 19(5): 455-458.
- [17] 廖卫, 张敏, 孙政敏, 等. 新鲜粪便 pH 和涂片检查小儿肠道菌群失调 [J]. 中国微生态学杂志, 2007, 19(1): 71-72.
- [18] 罗涵, 郭平, 周其全. TLR4/NF- κ B 在低氧暴露下大鼠肠道粘膜屏障功能损伤及细菌移位中的作用研究 [J]. 中国微生态学杂志, 2013, 25(4): 455-458.
- [19] 韩钦芮, 符秀琼, 禹志领, 等. 肿瘤微环境的脾虚本质探讨 [J]. 中医杂志, 2014, 55(4): 292-294, 298.
- [20] 程译文, 凌宗欣. 肠道菌群与婴幼儿过敏性疾病 [J]. 中国微生态学杂志, 2016, 28(3): 352-355.
- [21] LEVY BD. Resolvin D1 and resolvin E1 promote the resolution of allergic airway inflammation via shared and distinct molecular counter-regulatory pathways [J]. Front Immunol, 2012, 3: 390. doi: 10.3389/fimmu.2012.00390.
- [22] 蒋龙龙, 刘昱材, 李学超, 等. 捏脊疗法作用机制及作用特点探讨 [J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(8): 2852-2856.

Effect of Chiropractic Method on Intestinal Flora and Pulmonary Inflammation in Asthmatic Rats with Spleen Deficiency

XIONG Ying¹, SHEN Chuchu¹, FAN Pu¹, ZHOU Ruipeng¹, CHEN Xiao¹, XI Renjie²

(1. Second Clinical School, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023; 2. Chinese Medicine Hospital of Kunshan)

ABSTRACT Objective To explore the potential mechanism of chiropractic method in treating asthma of spleen deficiency type. **Methods** Forty-four Sprague-Dawley rats were randomized into control group (n = 8), and asthma group, spleen deficiency asthma group and chiropractic spleen deficiency asthma group (n = 12 in each). Asthma model in the asthma group was built by OVA sensitization and stimulation; while spleen deficiency asthma model in the spleen deficiency asthma group and chiropractic spleen deficiency asthma group was built with OVA sensitization and stimulation on the basis of spleen deficiency caused by oral administration of *Xiao Chengqi Decoction* (小承气汤). The control group and the asthma group were simply given oral tap water (1.5 ml/100 g), with head soft touch and tail held lightly without chiropractic; the spleen deficiency asthma group was treated with the head soft touch and the tail held lightly without chiropractic; chiropractic spleen deficiency asthma group was given chiropractic. Intestinal flora was detected by gram staining after fecal smear. The histopathology of lung tissue was observed and the total number of inflammatory cells and the proportion of eosinophils in alveolar lavage fluid were measured by HE staining. **Results** There were significant differences in the body weight, ratio of bacillus to cocci, and ratio of positive bacillus to total number of bacteria among groups on the 44th, 51st and 62nd day ($P < 0.01$). At the 18th and 42nd hour after modeling, compared with those in the control group, the number of inflammatory cells and the proportion of eosinophils were significantly higher in asthma group, spleen deficiency asthma group and chiropractic spleen deficiency asthma group, and those in the spleen deficiency asthma group were significantly higher than those in the asthma group and chiropractic spleen deficiency asthma group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). At the 42nd hour after modeling, the number of inflammatory cells and the proportion of eosinophils in the asthma group and chiropractic spleen deficiency asthma group significantly decreased compared with those at the 18th hour ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** Chiropractic method could effectively improve the intestinal flora disturbance status in spleen deficiency, helping to reduce the inflammation in the asthma of spleen deficiency type, which may be one of the important mechanisms of prevention and treatment of asthma of spleen deficiency type.

Keywords spleen deficiency; asthma; chiropractic; intestinal flora; pulmonary inflammation

(收稿日期: 2017-05-04; 修回日期: 2017-07-14)

编辑: 王利芬