

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.07.013

# 补肺健脾方含药血清对香烟烟雾提取物诱导 L6 细胞中 ROS、MnSOD 和 CAT 表达的影响

户元元<sup>1</sup>, 李亚<sup>1,2</sup>, 李素云<sup>1,2\*</sup>, 冯素香<sup>1</sup>, 刘学芳<sup>1</sup>, 董浩然<sup>1</sup>

(1. 呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心, 河南省郑州市郑东新区金水东路 156 号, 450046; 2. 河南中医药大学第一附属医院)

**摘要** 目的 探讨补肺健脾方治疗慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 骨骼肌功能障碍的可能作用机制。方法 50 只大鼠分为空白对照组、补肺健脾方组各 25 只。空白对照组大鼠给予生理盐水 2 ml/只灌胃, 补肺健脾方组给予补肺健脾方悬乳液 4.51 g/(kg·d) 的 10 倍剂量灌胃, 每日 1 次。于第 7 日灌胃后 1 h 腹主动脉取血制备含药血清。正常培养的 L6 细胞分为正常组 (10% 空白对照组血清)、模型组 [10% 空白对照组血清 + 10% 香烟烟雾提取物 (CSE)]、补肺健脾组 (10% 补肺健脾方组血清 + 10% CSE)、西药组 [10% 空白对照组血清 + 10% CSE + 5 mmol/L 抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸 (NAC)]、补肺健脾 + 西药组 (10% 补肺健脾方组血清 + 10% CSE + 5 mmol/L NAC) 分别加入相应药物后, 培养 24 h。检测各组细胞中活性氧 (ROS) 水平及锰超氧化物歧化酶 (MnSOD)、过氧化氢酶 (CAT) mRNA 和蛋白表达。结果 模型组细胞中 ROS 水平、MnSOD 和 CAT mRNA 和蛋白表达较正常组明显升高 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 补肺健脾组、西药组和补肺健脾 + 西药组 ROS 水平、MnSOD mRNA 和蛋白及补肺健脾组 CAT mRNA 的表达较模型组降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。与补肺健脾组比较, 西药组和补肺健脾 + 西药组 MnSOD 和 CAT mRNA 表达下降更为明显 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。结论 补肺健脾方和 NAC 均能降低 L6 细胞中 ROS 水平, 减轻氧化应激, 且两者联合运用效果更佳, 这可能是其改善 COPD 骨骼肌功能障碍的机制之一。

**关键词** 慢性阻塞性肺疾病; 补肺健脾方; 骨骼肌功能障碍; 氧化应激; 活性氧; 锰超氧化物歧化酶; 过氧化氢酶

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 以持续性呼吸道症状和气流受限为特点, 常与有毒颗粒或气体的显著暴露引起的气道和/或肺泡异常有关<sup>[1]</sup>。骨骼肌功能障碍作为 COPD 最常见的肺外并发症之一, 常发生在疾病早期, 约 1/3 的 COPD 患者骨骼肌肌力可下降 25%<sup>[2]</sup>, 呼吸肌功能障碍普遍存在<sup>[3]</sup>, 这是导致 COPD 患者呼吸困难, 肺功能下降, 活动受限, 病情恶化的重要因素之一。吸烟是 COPD 的主要致病因素, 可导致吸烟者红细胞过氧化氢酶 (CAT) 活性和总抗氧化能力下降, 骨骼肌出现氧化损伤和功能障碍<sup>[4-6]</sup>。我们前期研究表明, 中药补肺健脾方能抑制 COPD 模型大鼠骨骼肌炎性反应和细胞凋亡, 改善骨骼肌萎缩<sup>[7-8]</sup>, 增加肺组织超氧化物歧

化酶 3 (SOD3) 的基因表达<sup>[9]</sup>。本研究以大鼠成肌细胞 (L6) 为研究对象, 观察补肺健脾方对 10% 香烟烟雾提取物 (CSE) 诱导的 L6 细胞锰超氧化物歧化酶 (MnSOD) 和 CAT 的影响, 探讨补肺健脾方改善骨骼肌功能障碍的可能作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物和细胞

雄性 SPF 级 SD 大鼠 50 只, 鼠龄 6~8 周, 体重 (200 ± 20) g, 由河南省实验动物中心提供, 实验动物合格证号: SCXK 豫 2015-0005。大鼠成肌细胞 (L6), 购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库 (编号: 41603602)。

### 1.2 药物

补肺健脾方组成: 党参 15 g, 黄芪 15 g, 白术 12 g, 茯苓 12 g, 川贝母 9 g, 地龙 12 g, 陈皮 9 g 等, 浸膏由河南中医药大学药学院药物分析实验室

基金项目: 国家自然科学基金 (81573947)

\* 通讯作者: lisuyun2000@126.com, 13938415502

提供, 1 g 提取物相当于生药量 2.1 g, 加水制成 1 g/ml 的悬乳液。

### 1.3 主要试剂和仪器

红旗渠牌过滤嘴香烟, 由河南中烟工业有限责任公司提供 (烤烟型, 焦油量 14 mg, 烟气烟碱量 1.2 mg, 烟气一氧化碳 15 mg); NaOH (天津市永大化学试剂有限公司, 批号: 20121029); 浓盐酸 (双双化工有限公司, 批号: 20121003); 抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸 (NAC, 批号: S162301), Selleck Chemicals 公司; DMEM 培养基 (批号: 20180816)、活性氧 (ROS) 检测试剂盒 (货号: CA1410)、总 RNA 提取试剂盒 (货号: R1200)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (货号: PC0020)、细胞裂解液 (批号: 20170622)、SDS-PAGE 凝胶 (批号: 20180613), 均由北京索莱宝科技有限公司提供; mRNA 逆转录试剂盒 (货号: R211-01/02)、扩增试剂盒 (货号: Q711-02/03), 由南京诺唯赞生物科技有限公司提供; 一抗 (货号: 10494-1-AP, Proteintech 公司); MnSOD 二抗 (货号: 41801) 和 CAT 二抗 (货号: 42795), 由 GeneTex 公司提供。

紫外分光光度计 (Thermo 公司, 1510 型); 激光扫描共聚焦显微镜 (ZEISS 公司, LSM 700 型); 7500 Real time PCR 仪器 (ABI 公司, Massachusetts 型); 凝胶成像系统 (Bio-Rad 公司, 版本 5.2.1.62311)。

### 1.4 含药血清的制备

采用 Excel 2013 中 RAND 函数生成随机数将大鼠分为空白对照组、补肺健脾方组, 每组 25 只。空白对照组大鼠给予生理盐水 2 ml/只灌胃, 补肺健脾方组给予补肺健脾方悬乳液 4.51 g/(kg·d) 的 10 倍剂量连续灌胃 7 天, 每天 1 次, 于第 7 天灌胃后 1 h, 腹主动脉抽血, 无菌分离血清, 高温灭活后, -70 °C 保存备用。

### 1.5 CSE 的制备

根据 Sheridan 等<sup>[4]</sup>报道的方法, 采用 1 支去过滤嘴红旗渠香烟由负压吸引装置连续抽吸, 烟雾导入 20 ml 无血清的 DMEM 培养基中制成悬液, 同时用 1 mol/L NaOH 和 37.5% 浓盐酸调 pH 值至 7.4, 紫外分光光度计测得 OD 值 (每次制备均需重新测量, 误差在  $\pm 0.05$ ), 经 0.22  $\mu$ m 的滤器过滤除菌, 得到的悬液定义为 100% CSE, 作用细胞浓度为 10% CSE。

### 1.6 实验分组与处理

正常培养的 L6 细胞按  $2 \times 10^5$  个/孔接种于 6

孔板, 培养 24 h 后, 细胞分为正常组 (10% 空白对照组血清)、模型组 (10% 空白对照组血清 + 10% CSE)、补肺健脾组 (10% 补肺健脾方组血清 + 10% CSE)、西药组 (10% 空白对照组血清 + 10% CSE + 5 mmol/L NAC)、补肺健脾 + 西药组 (10% 补肺健脾方组血清 + 10% CSE + 5 mmol/L NAC), 每孔加入液体总体积为 2 ml, 分别加入相应药物后, 余用 DMEM 培养液补充。37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 h, 开始检测指标。

### 1.7 观察指标及方法

1.7.1 ROS 水平检测 按照 ROS 检测试剂盒说明书进行操作, 采用激光共聚焦显微镜观察拍照, 运用 Image-ProPlus 6.0 软件分析图片, 以每组荧光强度代表 ROS 水平。

1.7.2 MnSOD 和 CAT mRNA 表达 采用 qPCR 技术测定, mRNA 提取严格按照总 RNA 提取试剂盒说明进行。引物由安徽通用生物系统有限公司提供, 引物序列如下: MnSOD: 上游 GCCTCAGCAAT-GTTGTGTCG, 下游 ATTGTTACGTAGGTGCGCT, 192bp; CAT: 上游 TCACCTGAAGGACCCTGACA, 下游 TCCATCTGGAATCCCTCGG, 103bp; GAPDH: 上游 ACAGCAACAGGGTGGTGGAC, 下游 TTT-GAGGGTGCAGCGAAGCTT, 253bp。参照第一链 cDNA 合成、扩增试剂盒说明进行逆转录和扩增反应。根据公式  $2^{-\Delta\Delta CT}$  计算 mRNA 相对表达量。

1.7.3 MnSOD 和 CAT 蛋白表达 采用 Western blot 技术测定, 每孔加入 150  $\mu$ l 细胞裂解液, 摇床摇晃 20 min, 收集细胞和裂解液, 离心后取上清, BCA 法检测蛋白浓度。10% SDS-PAGE 凝胶进行电泳分离后, 半干转膜法转膜, 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 一抗 4 °C 孵育过夜, 辣根过氧化物标记二抗孵育 1 h, 洗涤, ECL 化学发光液孵育, 凝胶成像系统扫描并定量分析条带光密度值。

### 1.8 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件, 计量数据以均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间比较采用单因素方差分析。检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 各组细胞中 ROS 水平比较

表 1 示, 模型组 ROS 水平较正常组显著升高 ( $P < 0.01$ ), 补肺健脾组、西药组、补肺健脾 + 西药组 ROS 水平较模型组明显减少 ( $P < 0.01$ ), 而各给药组组间比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表 1 各组细胞 ROS 水平比较 (积分光密度,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别         | 样本数 | ROS                            |
|------------|-----|--------------------------------|
| 正常组        | 3   | 2170.00 ± 716.20               |
| 模型组        | 3   | 10999.18 ± 1619.47*            |
| 补肺健脾组      | 3   | 5186.27 ± 613.05 <sup>△</sup>  |
| 西药组        | 3   | 3463.87 ± 1802.54 <sup>△</sup> |
| 补肺健脾 + 西药组 | 3   | 3321.92 ± 2008.62 <sup>△</sup> |

注: ROS, 活性氧; 与正常组比较, \*  $P < 0.01$ ; 与模型组比较,  $\Delta P < 0.01$ 。

## 2.2 各组细胞中 MnSOD 和 CAT mRNA 表达比较

表 2 示, 与正常组比较, 模型组 MnSOD 和 CAT mRNA 表达明显增加 ( $P < 0.01$ ); 补肺健脾组、西药组、补肺健脾 + 西药组 MnSOD 和 CAT mRNA 表达较模型组显著下降 ( $P < 0.01$ ), 但补肺健脾组 MnSOD 和 CAT mRNA 仍高于正常组, 西药组和补肺健脾 + 西药组 CAT mRNA 仍高于正常组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 与补肺健脾组比较, 西药组和补肺健脾 + 西药组 MnSOD 和 CAT mRNA 表达下降更为明显 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

表 2 各组细胞内 MnSOD 和 CAT mRNA 表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别         | 样本数 | MnSOD                      | CAT                        |
|------------|-----|----------------------------|----------------------------|
| 正常组        | 3   | 1.00 ± 0.00                | 1.00 ± 0.00                |
| 模型组        | 3   | 2.33 ± 0.21**              | 3.47 ± 0.18**              |
| 补肺健脾组      | 3   | 1.56 ± 0.21** <sup>△</sup> | 2.80 ± 0.28** <sup>△</sup> |
| 西药组        | 3   | 1.12 ± 0.11 <sup>△</sup>   | 1.50 ± 0.08* <sup>△</sup>  |
| 补肺健脾 + 西药组 | 3   | 0.98 ± 0.19 <sup>△</sup>   | 1.44 ± 0.12* <sup>△</sup>  |

注: MnSOD, 锰超氧化物歧化酶; CAT, 过氧化氢酶; 与正常组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与模型组比较,  $\Delta P < 0.01$ ; 与补肺健脾组比较,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

## 2.3 各组细胞中 MnSOD 和 CAT 蛋白表达比较

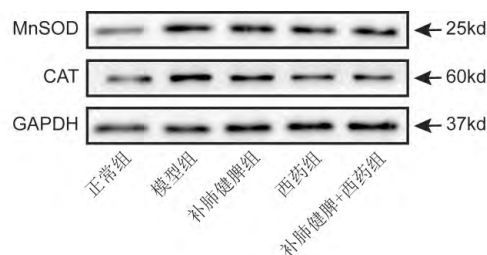
表 3 示, 模型组 MnSOD 和 CAT 蛋白表达较正常组明显增加 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 补肺健脾组、西药组、补肺健脾 + 西药组 MnSOD 蛋白表达较模型组下降, 西药组和补肺健脾 + 西药组 CAT 蛋白表达较模型组下降 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

表 3 各组细胞内 MnSOD 和 CAT 蛋白表达比较 (1/GAPDH,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别         | 样本数 | MnSOD                     | CAT                      |
|------------|-----|---------------------------|--------------------------|
| 正常组        | 3   | 0.38 ± 0.04               | 0.27 ± 0.05              |
| 模型组        | 3   | 1.12 ± 0.12**             | 0.61 ± 0.08*             |
| 补肺健脾组      | 3   | 0.69 ± 0.11* <sup>△</sup> | 0.45 ± 0.18              |
| 西药组        | 3   | 0.61 ± 0.16 <sup>△</sup>  | 0.35 ± 0.13 <sup>△</sup> |
| 补肺健脾 + 西药组 | 3   | 0.50 ± 0.09 <sup>△</sup>  | 0.31 ± 0.04 <sup>△</sup> |

注: MnSOD, 锰超氧化物歧化酶; CAT, 过氧化氢酶; 与正常组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与模型组比较,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

补肺健脾组 MnSOD 蛋白表达亦高于正常组 ( $P < 0.05$ )。各组细胞中 MnSOD 和 CAT 蛋白电泳图见图 1。



注: MnSOD, 锰超氧化物歧化酶; CAT, 过氧化氢酶

图 1 各组细胞中 MnSOD 和 CAT 蛋白电泳图

## 3 讨论

骨骼肌萎缩属中医学“痿证”的范畴,《医宗金鉴》曰“五痿皆因肺热生,阳明无病不能成”,可见骨骼肌萎缩的发生多与肺脾有关。COPD 属肺系疾病,肺属金,脾属土,土可生金,肺脾本为母子,则肺病可及脾,又因脾主肌肉,则脾病而肌肉痿。论其之治,当补肺健脾。本研究所用补肺健脾方有补肺健脾、培土生金、化痰止咳、降气平喘的功效。团队前期临床研究表明,补肺健脾方能明显改善 I ~ III 级的 COPD 稳定期患者肺功能,提高患者运动能力<sup>[1]</sup>。动物实验也表明,补肺健脾方能减少细胞凋亡,改善 COPD 模型大鼠骨骼肌萎缩<sup>[7-8]</sup>。

在香烟烟雾中含有高浓度的 ROS,可作为外源性 ROS 引起细胞氧化应激,使线粒体复合物 I 和 III 活性下降,氧化磷酸化反应受到抑制,内源性 ROS 大量产生,继而损伤线粒体 DNA、蛋白质、脂质,造成线粒体功能障碍、形成恶性循环<sup>[2]</sup>。ROS 不仅可以导致骨骼肌细胞线粒体功能障碍、肌肉收缩力下降<sup>[3-4]</sup>,还能引起骨骼肌细胞胰岛素抵抗<sup>[5]</sup>,损伤骨骼肌细胞的 DNA、蛋白质、脂质,造成氧化损伤<sup>[6]</sup>。NAC 是一种应用广泛的抗氧化剂,能有效清除 ROS,抑制氧化应激<sup>[7]</sup>。本研究结果显示,10% CSE 可诱导 L6 细胞产生大量的 ROS,而补肺健脾方和 NAC 均能减少细胞内 ROS 含量,且两者联合运用效果最好,表明补肺健脾方能降低细胞内 ROS 水平,抑制氧化应激。

MnSOD 和 CAT 是两个重要的抗氧化酶。Jiang 等<sup>[8]</sup>用大豆球蛋白诱导幼建鲤氧化应激,随着氧化产物的增加, MnSOD 的 mRNA 表达升高。Lu 等<sup>[9]</sup>对 COPD 患者进行随机双盲临床研究,发现服用抗氧化药物的患者 SOD 浓度及 CAT 活性较服

用安慰剂的患者明显降低。本研究结果显示, 10% CSE 可引起 L6 细胞内抗氧化酶 MnSOD 和 CAT mRNA 和蛋白表达升高, 这可能是细胞在应激状态下启动的一种适应性机制以抵抗氧化应激。而在补肺健脾方和抗氧化剂 NAC 的作用下, MnSOD 和 CAT mRNA 和蛋白表达也随之下降。

因此, 补肺健脾方能降低细胞内 ROS 水平, 抑制氧化应激, 这可能是其改善 COPD 骨骼肌功能障碍的机制之一。

## 参考文献

- [1] FANG L, GAO P, BAO H, et al. Chronic obstructive pulmonary disease in China: a nationwide prevalence study [J]. *Lancet Respir Med*, 2018, 6(6): 421-430.
- [2] BARREIRO E, BUSTAMANTE V, CEJUDO P, et al. Guidelines for the evaluation and treatment of muscle dysfunction in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Arch Bronconeumol*, 2015, 51(8): 384-395.
- [3] CHARUSUSIN N, DACHA S, GOSSELINK R, et al. Respiratory muscle function and exercise limitation in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a review [J]. *Expert Rev Respir Med*, 2018, 12(1): 67-79.
- [4] SOLAK I, CETINKAYA CD, GEDERET YT, et al. Effects of smoking on thiol/disulfide homeostasis [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(8): 2477-2482.
- [5] BOUKHENOUNA S, WILSON MA, BAHMED K, et al. Reactive oxygen species in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018; 5730395. doi: 10.1155/2018/5730395.
- [6] NEVES CD, LACERDA AC, LAGE VK, et al. Oxidative stress and skeletal muscle dysfunction are present in healthy smokers [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2016, 49(11): e5512.
- [7] 毛静, 王丽丽, 李亚, 等. 补肺健脾方对 COPD 大鼠骨骼肌 TNF- $\alpha$ 、Caspase-8 及 Caspase-3 的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(6): 2373-2377.
- [8] 毛静, 李亚, 李素云, 等. 补肺健脾方调控 TNF- $\alpha$ /TNFR/NF- $\kappa$ B 通路对 COPD 大鼠骨骼肌炎症反应的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(5): 1863-1867.
- [9] 田燕歌, 李亚, 李建生, 等. 调补肺肾三法对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺组织氧化应激的影响和远后效应 [J]. *中华中医药杂志*, 2014, 29(2): 621-624.
- [10] SHERIDAN JA, ZAGO M, NAIR P, et al. Decreased expression of the NF- $\kappa$ B family member RelB in lung fibroblasts from Smokers with and without COPD potentiates cigarette smoke-induced COX-2 expression [J]. *Respir Res*, 2015, 16: 54. doi: 10.1186/s12931-015-0214-6.
- [11] LI SY, LI JS, WANG MH, et al. Effects of comprehensive therapy based on traditional Chinese medicine patterns in stable chronic obstructive pulmonary disease: a four-center, openlabel, randomized, controlled study [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2012, 12: 197. doi: 10.1186/1472-6882-12-197.
- [12] VALDIVIESO AG, DUGOUR AV, SOTOMAYOR V, et al. N-acetyl cysteine reverts the proinflammatory state induced by cigarette smoke extract in lung Calu-3 cells [J]. *Redox Biol*, 2018, 16: 294-302. doi: 10.1016/j.redox.2018.03.006.
- [13] JAISWAL N, MAURYA CK, ARHA D, et al. Fructose induces mitochondrial dysfunction and triggers apoptosis in skeletal muscle cells by provoking oxidative stress [J]. *Apoptosis*, 2015, 20(7): 930-947.
- [14] SUTHAM W, SRIPETCHWANDEE J, MINTA W, et al. Ovariectomy and obesity have equal impact in causing mitochondrial dysfunction and impaired skeletal muscle contraction in rats [J]. *Menopause*, 2018, 25(12): 1448-1458.
- [15] MAURYA CK, ARHA D, RAI AK, et al. NOD2 activation induces oxidative stress contributing to mitochondrial dysfunction and insulin resistance in skeletal muscle cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, 89: 158-169. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.07.154.
- [16] 罗勇, 潘俊, 程意, 等. 慢性阻塞性肺疾病大鼠模型骨骼肌组织氧化应激损伤的研究 [J]. *临床肺科杂志*, 2017, 22(2): 254-258.
- [17] DONG Y, LI Y, SUN Y, et al. Bufei Jianpi granules improve skeletal muscle and mitochondrial dysfunction in rats with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2015, 15: 51. doi: 10.1186/s12906-015-0559-x.
- [18] JIANG WD, HU K, ZHANG JX, et al. Soyabean glycinin depresses intestinal growth and function in juvenile Jian carp (Cyprinus carpio var Jian): protective effects of glutamine [J]. *Br J Nutr*, 2015, 114(10): 1569-1583.
- [19] LU MC, YANG MD, LI PC, et al. Effect of oligomeric proanthocyanidin on the antioxidant status and lung function of patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *In Vivo*, 2018, 32(4): 753-758.

# Effects of Serum Containing *Bufei Jianpi Recipe* (补肺健脾方) on Expression of ROS, MnSOD and CAT in L6 Cells Induced by Cigarette Smoke Extract

HU Yuanyuan<sup>1</sup>, LI Ya<sup>1,2</sup>, LI Suyun<sup>1,2</sup>, FENG Suxiang<sup>1</sup>, LIU Xuefang<sup>1</sup>, DONG Haoran<sup>1</sup>

(1. Collaborative Innovation Center for Respiratory Diseases and New Drug Development in Henan Province, Zhengzhou 450046; 2. First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine)

**ABSTRACT Objective** To investigate the possible mechanism of *Bufei Jianpi Recipe* (补肺健脾方) in the treatment of skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Methods** Fifty rats were divided into blank control group and *Bufei Jianpi Recipe* group, with 25 rats in each group. Rats in the blank control group were given normal saline 2 ml/rat by gavage, and the *Bufei Jianpi Recipe* group was given 10 times *Bufei Jianpi Recipe* suspension 4.51 g/(kg · d) by gavage, once a day. On the 7th day, 1 hour after intragastric administration, blood was taken from the abdominal aorta to prepare drug-containing serum. Normal cultured L6 cells were divided into normal group (10% blank control serum), model group [10% blank control group serum + 10% cigarette smoke extract (CSE)], the *Bufei Jianpi Recipe* group (10% *Bufei Jianpi Recipe* serum + 10% CSE), the western medicine group [10% blank control group serum + 10% CSE + 5 mmol/L antioxidant N-acetylcysteine (NAC)], the *Bufei Jianpi Recipe* + western medicine group (10% *Bufei Jianpi Recipe* serum + 10% CSE + 5 mmol/L NAC) were added to the corresponding drugs and cultured for 24 h. The levels of reactive oxygen species (ROS), manganese superoxide dismutase (MnSOD) and catalase (CAT) mRNA and protein were detected in each group. **Results**

The levels of ROS, MnSOD and CAT mRNA and protein in the model group were significantly higher than those in the normal group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). The levels of ROS, MnSOD mRNA and protein in the *Bufei Jianpi Recipe* group, the western medicine group and *Bufei Jianpi Recipe* + western medicine group, and the expression of CAT mRNA in the *Bufei Jianpi Recipe* group were decreased than those in the model group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). Compared with the *Bufei Jianpi Recipe* group, the expression of MnSOD and CAT mRNA in the western medicine group and the *Bufei Jianpi Recipe* + western medicine group decreased more significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). **Conclusion** Both *Bufei Jianpi Recipe* and NAC can reduce ROS levels in L6 cells and reduce oxidative stress, and the combined use achieves better effects, which may be one of the mechanisms to improve skeletal muscle dysfunction in COPD.

**Keywords** chronic obstructive pulmonary disease; *Bufei Jianpi Recipe* (补肺健脾方); skeletal muscle dysfunction; oxidative stress; reactive oxygen species; manganese superoxide dismutase; catalase

(收稿日期: 2018-08-06; 修回日期: 2018-12-20)

编辑: 邓 媛