

• 实验研究 •

安肺益肾方对慢性阻塞性肺疾病
模型大鼠肺功能的影响吴建军^{1*} 姜良铎² 鲁香凤² 张晓梅³ 张 伟⁴ 庞宝森⁵

(1. 北京中医药大学第三附属医院, 北京市朝阳区安外小关街 51 号, 100029; 2. 北京中医药大学东直门医院;

3. 北京中医药大学东方医院; 4. 首都医科大学附属北京地坛医院;

5. 首都医科大学附属北京朝阳医院北京呼吸疾病研究所)

* 通讯作者: awusi59@163.com, (010)52075411

[摘要] 目的 观察安肺益肾方对慢性阻塞性肺疾病(COPD)大鼠肺功能和肺组织损伤的干预作用。方法 健康 Wistar 大鼠 72 只, 采用随机数字表法分为安肺益肾方大、中、小剂量组、氨茶碱组、模型组、正常对照组, 每组 12 只, 除正常对照组外, 其余各组大鼠采用熏香烟加气管注入内毒素法建立 COPD 大鼠模型。造模成功后, 安肺益肾方大、中、小剂量组分别给予生药 2.4、1.2、0.6g/kg; 氨茶碱组给药 15mg/kg; 模型组和正常对照组灌胃等量 0.5% 羧甲基纤维素溶液; 每天灌胃 1 次, 连续 4 周。各组随机取 8 只大鼠, 测定肺功能, 包括第 0.2s 用力呼气量(FEV_{0.2})、第 0.2s 用力呼气量与用力肺活量比值(FEV_{0.2}/FVC)及呼气阻力(Re)、吸气阻力(Ri); 取大鼠右肺 HE 染色, 观察各组大鼠肺组织病理变化。结果 与正常对照组比较, 模型组 FEV_{0.2}/FVC、FEV_{0.2} 显著降低, Re、Ri 显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较, 安肺益肾方大、中、小剂量组、氨茶碱组均能显著提高 FEV_{0.2}/FVC, 降低 Re($P < 0.01$); 安肺益肾方大剂量组提高 FEV_{0.2} ($P < 0.05$); 安肺益肾方中剂量组提高 FEV_{0.2}, 降低 Re($P < 0.01$); 安肺益肾方中剂量组 FEV_{0.2}/FVC 高于安肺益肾方大、小剂量组, FEV_{0.2} 高于小剂量组($P < 0.05$), Re、Ri 低于安肺益肾方大、小剂量组。安肺益肾方能减轻 COPD 模型大鼠肺组织病理炎症性浸润, 减少肺大泡的形成。结论 安肺益肾方能改善 COPD 模型大鼠的肺功能, 改善模型大鼠肺组织损伤。

[关键词] 安肺益肾方; 慢性阻塞性肺疾病; 肺功能

Effect of Anfei Yishen Formula on Lung Function in Rats with Chronic Obstructive Pulmonary Disease

WU Jianjun¹, JIANG Liangduo², LU Xiangfeng², ZHANG Xiaomei³, ZHANG Wei⁴, PANG Baosen⁵

(1. The Third Affiliated Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029; 2. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine; 3. Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine; 4. Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University; 5. Beijing Chaoyang Hospital, Capital Medical University)

ABSTRACT **Objective** To observe the effect of Anfei Yishen Formula Lung-Quitting Kidney-Boosting Formula on pulmonary function and tissue injury in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) rats. **Methods** Seventy-two healthy Wistar rats were randomized into Formula large, medium and small-dose groups, aminophylline group, model group and normal control group, with 12 in each. The COPD models were induced by intratracheal instillation of lipopolysaccharide and passive smoking. The rats in Formula large, medium and small-dose groups were intragastrically administered with Anfei Yishen Formula (crude drug 2.4g/kg, 1.2g/kg and 0.6g/kg respectively). The rats in aminophylline group were administered with 15mg/kg of aminophylline. The rats in model group and normal control group were administered with 0.5% of sodium carboxymethyl cellulose. The intragastric administration lasted for four weeks. Eight rats in each group were randomly selected to detect the pulmonary function such as forced expiratory volume in 0.2s (FEV_{0.2}), FEV_{0.2}-to-forced vital capacity (FVC) ratio (FEV_{0.2}/FVC, %), expiratory resistance (Re) and inspiratory resistance (Ri). The pathological changes in lung tissue of the rats were observed under HE staining. **Results** Comparing with the normal control group, FEV_{0.2} and FEV_{0.2}/FVC significantly decreased and Re and Ri significantly increased in the model group ($P < 0.01$). Comparing with the model group, FEV_{0.2}/FVC significantly increased and Re significantly decreased in Formula large, medium and small-dose groups ($P < 0.01$). FEV_{0.2} significantly increased in Formula large group ($P < 0.05$). FEV_{0.2} significantly increased and Re significantly decreased in Formula medium group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). FEV_{0.2}/FVC was higher and Re and Ri were lower in the Formula middle-dose group than in large and small dose group and the level of FEV_{0.2} was higher than that of the small-dose group. Anfei Yishen Formula could relieve the pathological inflammatory infiltration and reduce the formation of bullae in COPD rat lung tissue. **Conclusion** Anfei Yishen Formula could improve the lung function of COPD model rats and improve the lung tissue damage.

Yishen Formula could improve the pulmonary function and relieve the pathological changes of lung tissue in COPD rats.

Keywords Anfei Yishen Formula (Lung-Quieting Kidney-Boosting Formula); chronic obstructive pulmonary disease; lung function

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种重要的慢性呼吸系统疾病,患病人数多,病死率高,且呈缓慢进行性发展,严重影响患者的劳动能力和生活质量。安肺益肾方是姜良铎教授治疗 COPD 的经验方。本研究通过建立 COPD 大鼠模型,观察安肺益肾方对模型大鼠肺功能和肺组织病理的影响,探讨其对 COPD 的预防及治疗作用,为临床的进一步研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

Wistar 雄性健康大鼠,清洁级,体重 250~300g,由中国药品生物制品检定所实验中心提供,许可证号:京动许字(2000)第 017 号。

1.2 主要试剂及仪器

0.5%羧甲基纤维素(CMC,中国医药上海化学试剂站提供,批号:970926),内毒素(LPS, Sigma 公司,批号:12029),大前门牌香烟(上海烟草公司),小动物肺功能仪(北京悦宏达责任有限公司)。

1.3 药物

安肺益肾方由冬虫夏草菌丝粉、黄芪、红景天、银杏、瓜蒌、海蛤壳、麻黄等 8 味中药组成,加工制成颗粒剂,由北京师范大学教育部资源药物工程研究中心提供,每克颗粒剂含生药 3.56g。氨茶碱(北京紫竹药业有限公司,批号:20050111)。

1.4 分组与给药

将 72 只大鼠采用随机数字表法分 6 组,即安肺益肾方大、中、小剂量组、模型组、氨茶碱组、正常对照组,每组 12 只。除正常对照组外,其余各组建立 COPD 大鼠模型,安肺益肾方大、中、小剂量组分别给予生药 2.4、1.2、0.6g/kg,分别为临床用药量的 2、1、0.5 倍,用 0.5%CMC 配制;氨茶碱组的给药剂量为 15mg/kg,为临床用药量的 1 倍,用生理盐水

配制。模型组和正常对照组给予 0.5%CMC。各组给药体积均为 1ml/100g,每天灌胃 1 次,连续 4 周。

1.5 造模方法

采用熏香烟加气管注入 LPS 法制造 COPD 模型大鼠^[1-2]。除正常对照组呼吸正常空气外,其余各组大鼠每天在染毒箱内被动吸烟 12 支×1 次,每次 30min。在实验开始第 1 天和第 14 天,各组大鼠均用 10%水合氯醛麻醉,除正常对照组气道内缓慢滴入 200μl 生理盐水外,其余各组大鼠气道内缓慢注入 200μl LPS 水溶液(1mg/ml),当日不予被动吸烟。连续熏烟 4 周后,建立动物模型。

1.6 肺功能检测

4 周后,各组采用随机数字表法选取 8 只大鼠。用小动物肺功能仪测定大鼠第 0.2s 用力呼气量(FEV_{0.2}),第 0.2s 用力呼气量与用力肺活量比值(FEV_{0.2}/FVC),及呼气阻力(Re)、吸气阻力(Ri)。

1.7 肺组织病理观察

断颈法处死大鼠,取右肺,4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,HE 染色,每张切片随机选取上中下左右 5 个视野,观察各组大鼠肺组织病理变化。

1.8 统计学方法

采用 SPSS 13.0 进行统计分析,计量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较用单因素方差分析。

2 结果

2.1 各组大鼠肺功能指标比较

表 1 示,与正常对照组比较,模型组 FEV_{0.2}/FVC、FEV_{0.2}显著降低($P < 0.01$),Re、Ri 显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,安肺益肾方中剂量组 FEV_{0.2}/FVC、FEV_{0.2}显著升高($P < 0.01$),Re、Ri 显著降低($P < 0.01$);安肺益肾方大剂量组 FEV_{0.2}/FVC、FEV_{0.2}显著升高,Re 显著降低($P < 0.05$ 或

表 1 各组大鼠肺功能指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	FEV _{0.2} /FVC(%)	FEV _{0.2} (ml)	Re[cmH ₂ O/(ml·s)]	Ri[cmH ₂ O/(ml·s)]
正常对照组	8	83.91±3.92	6.74±0.30	1.56±0.28	2.40±0.38
模型组	8	69.47±4.15 [△]	6.22±0.37 [△]	2.49±0.35 [△]	3.08±0.42 [△]
氨茶碱组	8	80.21±2.53 ^{**}	6.59±0.50	1.63±0.32 ^{**}	2.42±0.37 ^{**}
安肺益肾方大剂量组	8	76.84±3.80 ^{**▲}	6.69±0.44 [*]	1.84±0.34 ^{**▲}	2.94±0.35 [▲]
安肺益肾方中剂量组	8	80.31±1.62 ^{**▲}	6.73±0.33 ^{**}	1.74±0.31 ^{**▲}	2.44±0.35 ^{**}
安肺益肾方小剂量组	8	76.51±3.70 ^{**▲}	6.54±0.28 [▲]	2.23±0.32 ^{**▲▲}	2.87±0.46 [▲]

注:与正常对照组比较,△ $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与中剂量组比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$

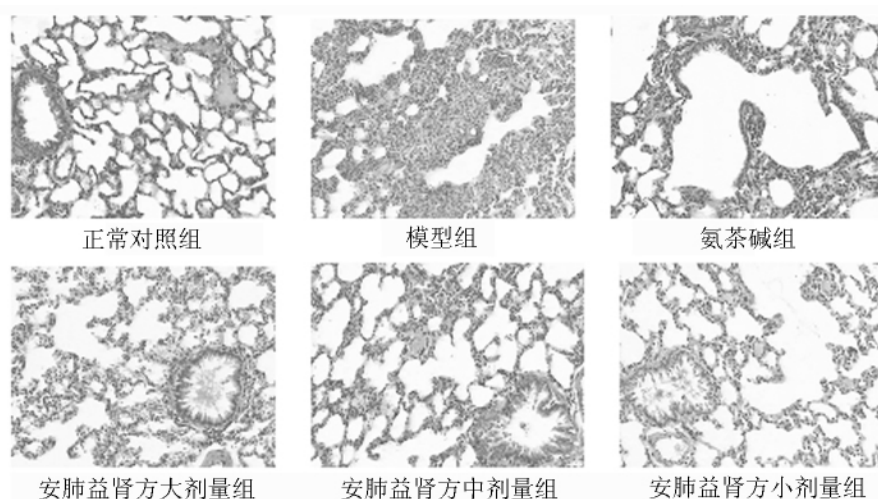


图 1 各组大鼠肺组织病理学变化(HE 染色, $\times 100$)

$P < 0.01$), R_i 无明显变化 ($P > 0.05$); 安肺益肾方小剂量组 $FEV_{0.2}/FVC$ 显著升高, Re 显著降低 ($P < 0.01$), $FEV_{0.2}$ 、 R_i 无明显变化 ($P > 0.05$); 氨茶碱组 $FEV_{0.2}/FVC$ 显著升高, Re 、 R_i 显著降低 ($P < 0.01$), $FEV_{0.2}$ 无明显变化 ($P > 0.05$)。安肺益肾方中剂量组 $FEV_{0.2}/FVC$ 高于安肺益肾方大、小剂量组 ($P < 0.05$), $FEV_{0.2}$ 高于安肺益肾方小剂量组 ($P < 0.05$), Re 、 R_i 低于安肺益肾方大、小剂量组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 说明安肺益肾方中剂量组在改善模型大鼠肺功能方面优于安肺益肾方大、小剂量组。

2.2 各组大鼠肺组织病理学变化

图 1 示, 正常对照组大鼠肺组织结构正常, 各级支气管壁及肺泡间隔未见明显炎性细胞浸润, 支气管腔及肺泡腔内未见炎性渗出物。模型组大鼠肺泡壁和间质内淋巴细胞、浆细胞和少量中性及嗜酸性粒细胞浸润, 肺泡间隔明显增宽, 未见肉芽肿性炎, 局部可见代偿性肺气肿。部分支气管扩张, 管腔内可见少量上皮细胞脱落及炎性渗出物。个别小支气管壁不完整, 上皮细胞脱落, 支气管周围可见炎性细胞浸润。氨茶碱组大鼠局部肺泡间质炎症较重, 肺泡间隔明显增宽, 未见上皮样肉芽肿, 少部分支气管扩张, 管腔内可见少量上皮细胞脱落及炎性渗出物, 支气管周围可见炎细胞浸润。安肺益肾方大剂量组大鼠局部肺泡间质炎症较重, 肺泡间隔增宽, 可见多灶上皮样肉芽肿形成。小支气管壁完整, 管腔内可见少量上皮细胞脱落及炎性渗出物。安肺益肾方中剂量组大鼠肺泡炎症减轻, 偶见小灶性上皮样肉芽肿, 小支气管壁完整, 管腔内可见少量上皮细胞脱落及炎性渗出物。安肺益肾方小剂量组大鼠肺泡炎症

明显减轻, 未见上皮样肉芽肿, 局部肺泡萎陷, 可见肺气肿。小支气管壁完整, 管腔内可见少量上皮细胞脱落及炎性渗出物, 支气管周围可见炎细胞浸润。

3 讨论

COPD 属于中医学的“咳嗽”、“喘病”、“肺胀”等范畴。其病理性质多属本虚标实, 本虚以肺、脾、肾虚为主^[3]。在治疗上, 既往研究多集中在补肺健脾益气方面。而喘证、肺胀是多种肺系疾患反复发作、日久不愈所致, 喘咳反复发作, 日久肺气为之亏虚, 肺虚及肾, 肺不主气, 肾不纳气, 可致气喘日益加重, 吸入困难, 呼吸短促难续, 动则更甚。故其治疗方面, 当重肺肾。

安肺益肾方是姜良铎教授治疗 COPD 的经验方。由冬虫夏草菌丝粉、黄芪、红景天、银杏、瓜蒌、海蛤壳、麻黄等 8 味中药组成。冬虫夏草、黄芪二药味甘能补, 冬虫夏草入肺肾经, 黄芪入脾肺经, 共成补肺益肾之功; 红景天能补能通, 配伍冬虫夏草、黄芪能补气活血; 银杏可敛肺定喘, 与冬虫夏草、黄芪配伍, 三药合用, 气阴兼顾, 补敛结合, 标本同治, 共奏益气敛肺之功; 瓜蒌、海蛤壳可清热化痰; 麻黄可宣肺平喘, 银杏性涩而收, 能敛肺定喘, 二者同用, 一散一收, 使肺气宣肃有度。全方具有安肺益肾、益气活血、化痰通络的作用。

本研究采用熏香烟加气管注入 LPS 法制造 COPD 大鼠模型, 用小动物肺功能仪测定大鼠肺功能, 发现模型组大鼠 $FEV_{0.2}/FVC$, $FEV_{0.2}$ 显著下降, Re 、 R_i 显著升高, 表明模型大鼠有通气阻塞现象, 这种肺功能的异常表现与临床 COPD 患者肺功能改变相近。给药后安肺益肾方能提高 $FEV_{0.2}/$

(下转第 1498 页)

利经脉等治法。传统中医多从脾胃亏虚、肝肾不足、肺热津伤、湿热等方面论治,《素问·痿论》就提出“治痿者独取阳明”的治疗原则。本病一般多属虚证,故治疗以滋养精血为主,根据不同的病因,采用清肺生津,或补养心脾,或补益肝肾等法,但湿热不攘一症,又多属虚中实证,当予清化湿热;湿热伤阴,又宜清润化湿法治之。

对治疗肌萎缩的药物归经分析显示,所用药物归经涉及12脏腑,药物归经前3位从高到低依次是肝、脾、肾,共占56.29%,本病在临床上往往涉及肝、脾、肾三脏,而肝为肌萎缩病理变化的核心之脏,肝肾亏损,亦可阴损及阳,肝血亏虚,失其濡养只能,可致筋目失养的病变,故治疗本病的重点在肝上,从而制定出补益肝肾为主的疗法。《素问·痿论》说:“脾主身之肌肉”。全身的肌肉有赖于脾胃运化的水谷精微及津液的滋养,若脾失健运,传输无力,则四肢的营养缺乏,可见倦怠无力,甚至痿废不用,故补脾益气、健运生清是治疗肌萎缩的主要治法。

治疗肌萎缩的中药性味主要是甘味、辛味和苦味,共占83.98%。甘味排第1位,占38.03%,甘味药具有补益、和中、调和药性的作用。肌萎缩的主要病机是肝肾精亏,甘味药能补、能和、能缓,能补阴阳气血不足,能滋养补虚,从而能调节阴阳的平衡。辛味药居第2位,占23.02%,辛味药具有发散、行气、行血的作用,多用于治表证及气血阻滞之证。经络是气血运行的通道,痿证日久,影响气血的正常运

行,经络瘀滞,使筋脉更失其濡养,用辛味药可使血脉畅通、气血运行。排第3位是苦味药,占22.92%,苦能泄、能燥、能坚,肺热伤津、湿热浸淫是肌萎缩的重要病机,需要苦味药泄之。治疗肌萎缩的中药药性主要是温、平、微温,共占70.37%。《三因极一病证方论·五痿叙论》明确指出:“内脏精血虚耗,营卫失度……使皮毛、筋骨、肌肉痿弱无力以运动。”《黄帝内经·生气通天论》曰:“阳气者,精则养神,柔则养筋。”可见阳虚不能温润五脏、筋脉,五脏阳虚,阴阳互根,精血无以化,经脉无阳气,温煦则收引无以用,故治痿的根本在于重养,而文献中温补药多以补气、补血和补阳为主,主要是调养脏腑,补益气血阴阳,故温补是治疗肌萎缩的重要方法。

参考文献

- [1]周仲瑛. 中医内科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:783.
- [2]司富春. 失眠中医证型和方药分析[J]. 世界中西医结合杂志,2007,2(9):520-522.
- [3]朱文锋. 中医诊断学[M]. 北京:中国中医药出版社,2007:172-203.
- [4]高学敏. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社,2007:51-523.
- [5]赵国平. 中医药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,2005:3091.

(收稿日期:2012-03-26;修回日期:2012-07-02)

[编辑:侯建春]

(上接第1494页)

FVC、FEV_{0.2},降低Re、Ri,可有效改善模型大鼠肺功能;并且安肺益肾方中剂量组效果优于安肺益肾方大、小剂量组。

COPD患者肺组织的病理表现主要是:支气管黏液腺增生,浆液腺管的黏液腺化生,腺管扩张;杯状细胞增生;灶状、鳞状细胞化生,气道平滑肌肥大。慢性支气管炎黏液腺扩大为非特异性。呼吸性细支气管显示明显的单核细胞炎症。膜性细支气管(直径<2mm)有不同程度的黏液栓,杯状细胞化生、炎症;平滑肌增生及纤维化,管腔狭窄而扭曲。以上改变以及因肺气肿而引起的气道外部附着的肺泡丧失使气道横切面减少。我们采用熏香烟加气管注入内毒素法建立COPD大鼠模型,其肺组织病理变化与COPD患者病理变化相似。给药后,安肺益肾方中

剂量组大鼠肺组织的炎症浸润减轻,肺大泡形成减少,明显优于安肺益肾方大剂量组、小剂量组和氨茶碱组。同时也发现安肺益肾方大剂量组对大鼠肺组织有不利的影响,如上皮样肉芽肿形成,可能与药物的剂量有相关,需要进一步研究来证实。

参考文献

- [1]庞宝森,李远红,张洪玉. 慢性阻塞性肺疾病动物模型的研究进展[J]. 心肺血管病杂志,2005,24(1):45-46.
- [2]庞宝森,李远红,张洪玉. 慢性阻塞性肺疾病动物模型的研究进展(续)[J]. 心肺血管病杂志,2005,24(2):117-119.
- [3]中华中医药学会内科分会肺系病专业委员会. 慢性阻塞性肺疾病中医诊疗指南(2011版)[J]. 中医杂志,2012,53(1):80-84.

(收稿日期:2012-01-07;修回日期:2012-06-25)

[编辑:洪涛]