

扶正剔邪搜络方对肺纤维化大鼠肺功能的影响

练毅刚¹ 张立山¹ 吴华阳¹ 闫玉琴¹ 王 晨²

周绍忠¹ 关秋红¹ 李德莹¹ 苏惠萍^{1*}

(1. 北京中医药大学东直门医院, 北京市东直门内海运仓 5 号, 100700; 2. 北京市怀柔区第一医院)

基金项目: 北京市自然科学基金资助项目(7102096)

* 通讯作者: suhuiping@126.com, (010)84013357

[摘要] 目的 研究扶正剔邪搜络方对肺纤维化大鼠不同时相肺功能的影响。方法 将 128 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、扶正剔邪搜络组、泼尼松组, 每组 32 只。气管内注射博来霉素(0.25 ml/100 g)建立肺纤维化模型, 假手术组注射等体积生理盐水。造模 24 h 后, 扶正剔邪搜络组给予扶正剔邪搜络方 0.74 g/(kg·d), 泼尼松组给予 5 mg/(kg·d), 假手术组和模型组给予等体积生理盐水。给药后第 7、14、28、45 天, 观察各组大鼠肺组织病理结果及吸气阻力(Ri)、肺顺应性(CI)、用力肺活量(FVC)、第 0.2 秒末呼出容积(FEV0.2)、呼出气量为 25%~75% 肺活量时平均流量(FEF25-75%)变化。结果 模型组第 7 天肺间质有不同程度炎症, 第 14 天肺间质胶原纤维明显增多, 第 28 天肺纤维区较 14 天增大、增多, 第 45 天现“蜂窝肺”改变。扶正剔邪搜络组和泼尼松组肺炎与纤维化程度均轻于模型组。与模型组同时间比较, 扶正剔邪搜络组第 14 天时 CI、FVC 均明显升高($P<0.01$), 第 28 天时 Ri、CI、FVC、FEV0.2、FEF25-75% 差异有统计学意义($P<0.01$), 第 45 天时 Ri、CI、FEV0.2、FEF25-75% 差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与泼尼松组同时间比较, 扶正剔邪搜络组 45 天时 Ri 明显降低($P<0.01$), CI 明显升高($P<0.01$)。结论 扶正剔邪搜络方可改善肺纤维化大鼠肺功能, 早期介入并维持一定疗程作用最明显。

[关键词] 扶正剔邪搜络方; 肺纤维化; 肺功能

Effect of Fuzheng Tixie Souluo Formula on Lung Function in Rats with Pulmonary Fibrosis

LIAN Yigang¹, ZHANG Lishan¹, WU Huayang¹, YAN Yuqin¹, WANG Chen², ZHOU Shaozhong¹, GUAN Qiuhong¹, LI Deying¹, SU Huiping¹

(1. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700; 2. First Hospital of Huairou District, Beijing)

ABSTRACT Objective To study the effect of Fuzheng Tixie Souluo Formula (Right-Supporting, Evil-Dispelling and Network Vessels-Tracking Formula, FTSF) on the lung function in rats with pulmonary fibrosis. **Methods** Totally 128 SD rats were randomized into sham operation group, model group, FTSF group and Prednisone group, with 32 in each. The pulmonary fibrosis models were established with intratracheal injection of bleomycin 0.25 ml/100 g. The sham operation group was injected with equal volume of normal saline. The FTSF group and Prednisone group was given 0.74g/(kg·d) FTSF and 5mg/(kg·d) Prednisone respectively, and the sham operation group and model group were given equal volume of normal saline 24 hours after modeling. The lung pathology results, inspiratory resistance (Ri), lung compliance (CI), forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in 0.2 second (FEV0.2) and forced expiratory flow between 25% and 75% of FVC (FEF25-75%) were observed on the 7th, 14th, 28th and 45th day after administration. **Results** There were varying degrees of inflammation in pulmonary interstitial on the 7th day, significantly increased collagen fibers on the 14th day, increased pulmonary fibrosis area on the 28th day and honeycomb lung on the 45th day in the model group. Comparing with the model group, the degrees of alveolitis and fibrosis in the FTSF group and Prednisone group were slighter. Comparing with the model group, the CI and FVC was significantly increased on the 14th day in FTSF group ($P<0.01$). There were significant differences between the model group and FTSF group in Ri, CI, FVC, FEV0.2 and FEF25-75% on the 28th day ($P<0.01$) and Ri, CI, FEV0.2 and FEF25-75% on the 45th day ($P<0.05$ or $P<0.01$). Comparing with Prednisone group, Ri was significantly decrease ($P<0.01$) and CI was significantly increased in FTSF group ($P<0.01$). **Conclusion** FTSF can improve the lung function in rats with pulmonary fibrosis, especially when early intervention and maintaining a certain course of treatment.

Keywords Right-Supporting, Evil-Dispelling and Network Vessels-Tracking Formula; pulmonary fibrosis; lung function

肺间质纤维化病程是由肺泡炎发展到肺纤维化的过程^[1], 我们据此也针对性提出肺间质纤维化由

气络病到血络病的发展过程^[2]。总结多年临床经验, 自拟扶正剔邪搜络方, 通过研究其对肺纤维化大

鼠不同时相肺功能的作用,为中医临床治疗肺间质纤维化的方法、时机及疗程提供实验依据并初步探讨作用机理。

1 材料与方法

1.1 动物

健康清洁级 SD 大鼠 128 只,雄性,体重(200±20)g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物许可证号:SCXK(京)2006-0009。

1.2 药物

扶正剔邪搜络方组成:人参 12g,麦冬 15g,五味子 10g,浙贝母 12g,皂角刺 6g,水蛭 6g,地龙 10g,全蝎 3g。由北京康仁堂药业有限公司制备成 7.440g/袋的颗粒剂,批号:100829;注射用盐酸博来霉素 15mg/瓶,由日本化药株式会社提供,批号:Y91450;醋酸泼尼松龙,0.125g/支,由浙江仙琚制药股份有限公司提供,批号:100514。

1.3 仪器

Res3020 动物呼吸机、AniRes2005 动物肺功能分析系统,均为北京贝兰博科技有限公司产品。

1.4 模型建立与分组

128 只大鼠按随机数字表法分为假手术组、模型组、泼尼松组、扶正剔邪搜络组,每组 32 只。参考文献[3]建立肺纤维化大鼠模型,大鼠腹腔注射 10%水合氯醛(0.35ml/100g)麻醉固定,将光源照射大鼠咽喉部,提起舌头,从大鼠口腔,水平插入 18 号套管针,到达咽喉部时压低针尾,使针头抬高 15~30°角,插入气管拔出针芯。将棉球薄片置于套管针外口,若棉球薄片随呼吸前后摆动,说明套管针已经插入气管。向气管插管内快速注射 0.2%博来霉素溶液,用量为 5mg/kg,即 0.25ml/100g,假手术组注射等体积生理盐水后向气管内快速推注 0.3ml 空气,立即将大鼠直立旋转,使药液在双肺内均匀分布。动物清醒后随意进食;病理结果显示,第 7 天时肺泡炎明显,第 14 天肺泡炎减轻,肺间质纤维化开始形成,第 28 天时肺间质纤维化已成为主要病变,说明模型建立成功。

1.5 给药方法

造模 24h 后,扶正剔邪搜络组给予扶正剔邪搜络方颗粒剂 0.74g/(kg·d),以去离子水配制成混悬液;泼尼松组给予醋酸泼尼松龙 5mg/(kg·d);模型组和假手术组给予等体积生理盐水,每日 1 次,各组均连续灌胃 45 天。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 肺功能检测 在给药第 7、14、28、45 天,按随机数字表法每组取 8 只。因大鼠麻醉插管后与呼吸机配合原因,致第 7 天扶正剔邪搜络组、泼尼松组为 7 只,第 45 天假手术组、泼尼松组为 7 只。于末次给药后 1h 采用 10%水合氯醛 0.35ml/100g 体重腹腔注射麻醉,于颈部正中行气管切开,插入气管导管,连接动物肺功能分析系统,测算出各组大鼠吸气阻力(Ri)、肺顺应性(CI)、用力肺活量(FVC)、第 0.2 秒末呼出容积(FEV0.2)、呼出气量为 25%~75%肺活量时平均流量(FEF25-75%)。

1.6.2 病理学检测 肺功能检测后,摘取肺脏,4%多聚甲醛固定液固定左肺,常规脱水,石蜡包埋,切片厚 5μm,行 HE 染色及 Masson 染色。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析,计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 各组大鼠不同时间肺组织病理观察

假手术组在 7、14、28、45 天肺泡间隔未见明显炎症细胞浸润。模型组在第 7 天肺间质有不同程度的炎症,Masson 染色个别可见少量胶原纤维;第 14 天间质有明显炎症,但程度较 7 天减轻,肺间质胶原纤维沉积明显增多,Masson 染色见斑片状胶原纤维;第 28 天肺组织炎症病变较 14 天程度明显减轻,肺泡正常结构消失,纤维化区较 14 天组增大、增多,Masson 染色见条索样胶原纤维;第 45 天肺组织炎症病变明显减轻;大部分肺组织正常结构消失,病变区大量胶原纤维沉积,严重病变处由厚层胶原纤维分隔形成大小不等的分房囊性结构,即“蜂窝肺”改变,Masson 染色见多量致密胶原纤维。扶正剔邪搜络组和泼尼松组肺肺炎及纤维化程度均轻于模型组。

2.2 各组大鼠不同时间肺功能比较

表 1 示,与假手术组比较,第 7、14、28、45 天时模型组 Ri 均明显升高($P < 0.01$);与模型组比较,第 28、45 天时扶正剔邪搜络组 Ri 均明显改善($P < 0.01$);第 45 天时扶正剔邪搜络组 Ri 明显低于泼尼松组($P < 0.01$)。与假手术组比较,第 7、14、28、45 天时模型组 CI 均明显降低($P < 0.01$);与模型组比较,第 14、28、45 天扶正剔邪搜络组 CI 均明显改善($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);第 45 天时扶正剔邪搜络组 CI 明显高于泼尼松组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与

表 1 各组大鼠不同时间肺功能比较($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	鼠数	Ri (cmH ₂ O/ml·s)	Cl(ml/cmH ₂ O)	FVC(ml)	FEV _{0.2} (ml)	FEF ₂₅₋₇₅ %(ml)
假手术组	7 天	8	0.81±0.24**	0.085±0.025**	6.16±0.43	4.62±0.50	28.60±4.37
模型组		8	1.72±0.89	0.032±0.011	5.67±0.68	4.37±0.31	27.72±1.69
扶正剔邪搜络组		7	1.32±0.43	0.050±0.024	5.27±0.55	3.96±0.49	25.39±3.62
泼尼松组		7	1.51±0.15	0.039±0.007	4.90±0.94	3.80±0.75	24.38±5.29
假手术组	14 天	8	0.73±0.13**	0.100±0.016**	7.30±0.59**	5.35±0.28**	32.91±2.48**
模型组		8	1.67±0.63	0.032±0.010	5.15±1.50	3.59±0.63	22.96±3.79
扶正剔邪搜络组		8	1.17±0.98	0.070±0.031**	7.47±1.09**	4.20±1.05	24.77±7.31
泼尼松组		8	1.31±0.42	0.047±0.026	6.51±1.25*	4.21±0.71	26.25±4.09
假手术组	28 天	8	0.73±0.11**	0.096±0.017**	7.46±0.83*	5.64±0.29**	35.23±2.08**
模型组		8	1.29±0.30	0.058±0.007	6.48±0.82	4.45±0.27	24.52±8.99
扶正剔邪搜络组		8	0.74±0.11**	0.094±0.014**	7.75±0.95**	5.52±0.30**	34.13±1.69**
泼尼松组		8	0.80±0.12**	0.087±0.012**	7.06±0.90	5.03±0.93*	30.62±7.08*
假手术组	45 天	7	0.68±0.24**	0.111±0.033**	7.93±1.20	5.57±0.45**	33.53±3.13*
模型组		8	1.11±0.21	0.068±0.013	7.23±0.87	4.84±0.56	28.29±5.12
扶正剔邪搜络组		8	0.65±0.08**△	0.099±0.021*△	7.55±0.55	5.54±0.46**	33.52±3.28*
泼尼松组		7	0.99±0.22	0.064±0.018	8.11±0.60	5.59±0.37**	34.51±2.91**

注:与模型组同时点比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与泼尼松组同时点比较,△ $P<0.01$

假手术组比较,第 14、28 天时模型组 FVC 均明显降低($P<0.05$);与模型组比较,第 14、28 天时扶正剔邪搜络组 FVC 均明显改善($P<0.05$)。与假手术组比较,第 14、28、45 天时模型组 FEV_{0.2} 均明显降低($P<0.01$);与模型组比较,第 28、45 天时扶正剔邪搜络组 FEV_{0.2} 均明显提高($P<0.01$)。与假手术组比较,第 14、28、45 天时模型组 FEF₂₅₋₇₅% 均明显降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$);与模型组比较,第 28、45 天时扶正剔邪搜络组 FEF₂₅₋₇₅% 均明显升高($P<0.05$)。

3 讨论

间质性肺疾病发病机制尚未完全阐明,但不同病种的肺间质纤维化都从肺泡炎开始,在发展和修复过程中导致肺纤维化。近年来发病率有所上升,作为主要治疗药物的糖皮质激素,仅对 20% 的肺纤维化患者有效^[4],这就对中医中药治疗提出更高要求。

中医所言络脉有广义、狭义之分,广义的络包括经络之络与脉络之络,即络脉和脉络,经络之络是对经脉支横旁出的分支部分的统称,脉络之络系指血脉分支部分^[5]。肺泡炎期(急性期)起病急,病症以炎症渗出为主,中医辨证多以实证为主,病在络脉,属气分,而间质纤维化期(慢性迁延期),病程迁延,正多已虚,病入脉络,属血分^[5-6]。叶天士在《临证指南医案》所云:“初为气结在经,久则血伤入络”,指出病初起伤在气分、在经及别出的络脉,日久迁延不愈则伤在血分、伤在血络。故提出“肺泡炎期向纤维化期的发展过程正是气络病向血络病的发展过程”

假说,拟扶正剔邪搜络方,以人参、麦冬、五味子三药共用,益气养阴润燥治疗正虚^[7],而络病之瘀与一般意义“瘀”不尽相同,表现为病变部位更为深伏,病变更加复杂,其特点是干结难破,非普通草木类活血药物能够胜任,故选用水蛭、地龙、全蝎虫类药直入血分,搜剔络脉,使络痹易开,结邪易去,其中辛味药物全蝎、皂角刺的应用,乃宗叶天士“络以辛为泄”之法借以宣通络脉,开其壅塞。

本实验观察到模型组肺组织病理表现与文献报道肺间质纤维化模型一致^[8-9],证明大鼠肺纤维化造模成功;与假手术组相比模型组各项肺功能指标下降($P<0.05$),符合限制性通气功能障碍特点。扶正剔邪搜络方可改善肺纤维化大鼠肺功能,其中 Ri、Cl、FEF₂₅₋₇₅%、FEV_{0.2},第 28、45 天改善最显著,提示长期用药疗效更好,并且第 45 天时扶正剔邪搜络方组改善 Ri、Cl 明显优于泼尼松组。肺顺应性 Cl 指每单位压力所产生的容积变化,近年来已成为观察大鼠肺纤维化、反映限制性通气功能障碍最重要指标^[7],而扶正剔邪搜络组大鼠 Cl 在第 7 天就已经出现改善,提示早期用药的重要性。本实验也观察到模型组 FEV_{0.2}、FVC 与假手术组相比降低,但 FVC 并未呈现比 FEV_{0.2} 更加显著的下降,所以 FEV_{0.2}/FVC 未见进行性升高,这点与人限制性通气功能障碍不符,可能与样本量小有关。而扶正剔邪搜络方改善肺纤维化大鼠肺功能的机制及药物作用靶点有待进一步研究。

(下转第 885 页)

例 2:患者,女,70 岁。2011 年 5 月 22 日初诊。主诉:咳喘胸憋 3 个月伴间断性发热。2011 年 2 月感冒后出现咳喘胸憋伴有发热,当地医院予静脉滴注抗生素略有缓解,同年 4 月再次出现咳嗽,发热住院。肺 CT 检查示:双肺多发密度影,考虑间质性肺炎,肺纤维化,肺功能示:肺功能正常,小气道功能正常,肺储备功能下降,血气分析:血碳酸氢盐下降,血浆及全血二氧化碳浓度下降,血二氧化碳结合率(CO_2CP) 20 mmol/L ,ANA 着丝点型 1:320,抗着丝点抗体(ACA)阳性(+++),心脏彩超提示:节段性室壁运动减低,左室舒张功能减低,主动脉瓣老年退行性改变。住院时予静脉滴注地塞米松,症状缓解。刻下:脸色黑黄晦暗,可疑色素沉着,气短胸憋,动辄尤重,咽痒,时有咳嗽,咳声低微,痰不多,口干,口中黏,时吐白沫,舌头疼,舌质暗红呈镜面,苔少,脉沉细无力。既往有脑动脉硬化史,帕金森综合征史,长期服维脑路通、多巴胺等药。西医诊断:硬皮病 Crest 综合征待排除,肺间质纤维化。中医诊断:肺痹,肺痿。辨证属气阴两虚,瘀血阻络证。以益气养阴为治则,予生脉散加味,7 剂。嘱其将强的松片 40 mg 改为 20 mg,每日 1 次。5 月 30 日二诊:服药后无明显变化,气短,口中吐黏沫,舌质暗、苔白润,治则改为升阳举陷,以升陷汤合金匱肾气丸合生脉饮加减。三诊微调诸药。四诊:气喘胸憋现象明显缓解。患者 2012 年 6 月 20 日高分辨体层摄影术 X 线计算机(HRCT)片较 2012 年 4 月 18 日比较肺纤维化减轻,舌质从暗红逐渐转为淡红。面部色素沉着明显减轻,至今仍在治疗中。

例 3:患者,男,56 岁。2011 年 5 月 30 日初诊。主诉:四肢多关节疼痛 6 年,气喘胸憋 2 年加重 1

年。患者 6 年前出现四肢多关节肿痛,以小关节为主,经当地医院诊为类风湿关节炎,予甲氨喋呤等药,至 2006 年症状完全缓解遂停药。2008 年出现面部红色丘疹红斑,肌肉疼痛无力,在外院确诊为皮肌炎,服强的松、环磷酰胺等药。2010 年开始出现气短进行性加重,胸 HRCT 提示肺间质纤维化,肺功能检测提示肺限制性通气功能,小气道功能减低。就诊时每次服硫唑嘌呤片 50 mg,每日 2 次。HRCT 与 2010 年比较,肺间质纤维化加重并伴有肺部感染。刻下:短气难以接续,上午必须卧床,午后可坐起,大便后有气脱之势。气息低微,面色_就白,舌淡嫩裂纹,手足厥逆,胃脘灼热。舌暗花剥间浊腻苔。中医诊断:痹证,肺痹,肺痿;西医诊断:类风湿关节炎,重叠综合征,肺间质纤维化。证属大气下陷证。治以温阳举陷兼益气养阴。以升陷汤加减,方略。2012 年 6 月 20 日再诊,气力明显增加,能够自如表达,上楼气喘明显减轻,目前在进一步诊治中。

参考文献

- [1] Firestein GS, Budd RC, Harris ED, et al. 凯利风湿病学[M]. 施桂英主审,栗占国,唐福林主译. 8 版. 北京:北京大学医学出版社,2011.
- [2] 张锡纯. 医学衷中参西录[M]. 石家庄:河北科学技术出版社,1985:155-158.
- [3] 刘力红,孙永章. 扶阳论坛[M]. 北京:中国中医药出版社,2009:25.
- [4] 方药中,许家松. 黄帝内经素问运气七篇讲解[M]. 北京:人民卫生出版社,2007:20.

(收稿日期:2012-09-05;修回日期:2012-11-19)

[编辑:洪 涛]

(上接第 875 页)

参考文献

- [1] 施毅,陈正堂. 现代呼吸病治疗学[M]. 北京:人民军医出版社,2002:427.
- [2] 蒋宁,武维屏. 中医络病学说与肺间质纤维化病机关系初探[J]. 中国中医基础医学杂志,2003,9(5):341-346.
- [3] 张伟,鲁香凤. 气管插管快速灌注博莱霉素复制大鼠肺间质纤维化模型[J]. 中西医结合学报,2008,6(1):60-67.
- [4] 滕云,杨斌,周积德,等. 款冬花挥发油对肺纤维化大鼠肺功能及肺组织羟脯氨酸含量的影响[J]. 中国临床研究,2012,25(7):632-634.
- [5] 崔红生,邱冬梅,武维屏. 肺间质纤维化从络病辨治探析[J]. 中医杂志,2003,44(12):916-917.

- [6] 武维屏,赵兰才. 肺间质纤维化中医证治探析[J]. 中医杂志,2002,43(5):325-326.
- [7] 武维屏,任传云. 肺间质纤维化中医辨治思路[J]. 中医杂志,2005,46(2):139-141.
- [8] 段斐,孔璐,牛建昭,等. 鳖甲软肝方治疗大鼠 IPF 的病理学观察[J]. 中华实用中西医杂志,2004,4(17):2833.
- [9] Thall RS, Barton RW, Damato DA, et al. Differential cellular analysis of bronchoalveolar lavage fluid obtained at various stages during the development of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in the rat[J]. Am Rev Respir Dis, 1982, 126(3):488-492.

(收稿日期:2012-11-28;修回日期:2013-03-15)

[编辑:洪 涛]