

## · 基础研究 ·

补肺阳方对慢性阻塞性肺疾病肺阳虚证大鼠  
T 淋巴细胞及血清免疫球蛋白亚型的影响李 笑<sup>1</sup> 贾新华<sup>2</sup> 韩晓春<sup>3</sup> 邵雨萌<sup>4</sup>

**摘要** 目的 探讨补肺阳方改善慢性阻塞性肺疾病(COPD)免疫失衡的作用机制。方法 60 只 Wistar 大鼠随机分为空白对照组、模型组、补肺阳方高、中、低浓度组、胸腺肽组,每组 10 只。采用烟熏加气管滴注脂多糖及二次造模的方法建立大鼠 COPD 肺阳虚证模型,解剖胸腺、脾脏,计算胸腺指数、脾脏指数;流式细胞仪检测脾脏及血清 T 淋巴细胞 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 表达率,并计算 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 比值;采用酶联免疫法测定大鼠血清 IgA、IgM、IgG 水平。结果 模型组大鼠支气管、肺组织形态符合 COPD,补肺阳方可改善其形态结构;与空白组比较,模型组大鼠脾脏指数变化不明显( $P>0.05$ ),胸腺指数低于空白组( $P<0.05$ ),各治疗组与模型组比较差异无统计学意义( $P<0.05$ );模型组大鼠脾脏 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 值低于空白对照组( $P<0.05$ ),除低剂量组外,其余治疗各组 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 值均高于模型组( $P<0.05$ ),外周血 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值变化各组间比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );模型组大鼠血清 IgA、IgM、IgG 水平均低于空白对照组( $P<0.01$ ),治疗各组 IgA、IgM 和 IgG 水平均较模型组升高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。结论 补肺阳方能通过提高模型大鼠 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值、血清中 IgA、IgM、IgG 水平,调节机体体液免疫和细胞免疫,从而改善 COPD 免疫失衡状态。

**关键词** 慢性阻塞性肺疾病;肺阳虚证;补肺阳方;T 淋巴细胞亚型;免疫球蛋白

**Effects of Bufeyang Recipe on the Subsets of T Lymphocytes and Serum Immunoglobulins of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Rats with Fei Yang Deficiency Syndrome**

LI Xiao<sup>1</sup>, JIA Xin-hua<sup>2</sup>, HAN Xiao-chun<sup>3</sup>, and SHAO Yu-meng<sup>4</sup> 1 College of Traditional Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan (250355); 2 Lung Disease Department, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan (250014); 3 Institute of Health, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan (250355); 4 Development and Planning Department, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan (250355)

**ABSTRACT Objective** To observe the effects of Bufeyang Recipe (BR) on immunologic function of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) rats with Fei yang deficiency syndrome (LYDS). **Methods** Totally 60 Wistar rats were randomly divided into the blank control group, the model group, high, middle, low dose BR groups, and thymosin positive control group, 10 in each group. COPD rat with LYDS model was established by cigarette smoke exposure and intratracheal instillation of lipopolysaccharide (LPS). After the dissection of the thymus and spleen, thymus index and spleen index were calculated. Contents of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> in spleen and serum were detected by flow cytometry, and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio was calculated. The serum levels of immunoglobulin IgA, IgG and IgM were determined by ELISA. **Results** The morphologies of bronchus and lung tissue were in line with those of COPD. BR ameliorated these morphological structures. Compared with the blank control group, no obvious changes were seen in

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81503547);山东省自然科学基金资助项目(No. ZR2015HQ032);山东中医药大学科研创新团队项目(No. 2018-10)

作者单位:1. 山东中医药大学中医学院(济南 250355);2. 山东中医药大学附属医院肺病科(济南 250014);3. 山东中医药大学健康学院(济南 250355);4. 山东中医药大学发展规划处(济南 250355)

通讯作者:邵雨萌, Tel: 0531-89628662, E-mail: sym\_81@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20190819.304

spleen index of the model group ( $P>0.05$ ). But thymus index was lower in the model group than in the blank control group ( $P<0.05$ ). No statistical difference existed between each treatment group and the model group ( $P>0.05$ ). The ratio of spleen  $CD4^+/CD8^+$  was significantly lower in model group than in the blank control group ( $P<0.05$ ), and the ratio of  $CD4^+/CD8^+$  in all treatment groups except low dose BR group were significantly higher than the model group ( $P<0.05$ ). No statistical difference in peripheral  $CD4^+/CD8^+$  existed among all treatment groups ( $P>0.05$ ). Serum IgA, IgG, and IgM levels were lower in the model group than in the blank control group ( $P<0.01$ ). Serum IgA, IgG, and IgM levels were lower in all treatment groups than in the model group ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). **Conclusion** BR ameliorated immune disturbance by elevating  $CD4^+/CD8^+$  and serum levels of IgA, IgG, and IgM, regulating humoral immunity and cell immunity.

**KEYWORDS** chronic obstructive pulmonary disease; Fei yang deficiency syndrome; Bufei yang Recipe; T lymphocyte subset; immunoglobulin

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种常见的呼吸系统疾病,特征是持续存在的气流受限。气流受限呈进行性加重,伴有气道和肺对有害颗粒和气体产生的慢性炎症反应增强<sup>[1]</sup>。近年来,研究发现 COPD 与机体免疫失衡密切相关,甚至有学者提出 COPD 可能本身就是一种具有自身免疫性质的疾病<sup>[2]</sup>。根据 COPD 临床表现和病程演变,中医学将其归属于“咳嗽”“哮证”“喘证”“肺胀”等范畴。根据前期的文献梳理,肺阳虚为 COPD 稳定期的常见证型,笔者通过对古今肺阳虚的研究及数据挖掘创立了补肺阳方<sup>[3]</sup>,本研究探讨补肺阳方对 COPD 肺阳虚证大鼠 T 淋巴细胞及血清免疫球蛋白亚型的影响,从而探讨中药纠正 COPD 免疫失衡状态的作用机制。

## 材料与方

1 动物 SPF 级健康雄性 Wistar 大鼠 60 只 [北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证编号:SCXK(京)2016-0011],体重(200±20)g,自由摄食饮水,按照昼夜节律自然照明,IVC 独立送回风净化笼饲养,室温 22~26℃,相对湿度 40%~70%RH,适应性饲养 1 周。本实验均按照山东中医药大学发布的相关实验动物管理准则和规定进行。本实验方案由山东中医药大学伦理委员会审查和批准(No. SDUTCM20160605001)。

2 药物 胸腺肽肠溶片(哈高科白天鹅药业集团有限公司,批号:160305),溶于纯净水配成浓度为 1 g/mL 的混悬液。补肺阳方由干姜 9 g 桂枝 9 g 生麻黄 9 g 杏仁 9 g 半夏 6 g 陈皮 9 g 细辛 3 g 茯苓 9 g 五味子 6 g 炙甘草 3 g 组成,购于山东中医药大学附属医院,干姜、桂枝、陈皮、细辛提取

挥发油,其余药物浓煎后兑入,浓缩成 2、1、0.5 g/mL 高、中、低浓度。

3 试剂与仪器 指定品牌香烟;脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS),美国 Sigma 公司;戊巴比妥钠, Gomanly 公司; IgA、IgM、IgG 试剂盒, RapiBio Lag (RB) 进口分装,购于上海研辉生物科技有限公司,货号 CK-E30440R、CK-E30442R、CK-E30443R; 酶标仪:芬兰 (Labsystems Multiskan MS) 352 型;洗板机:芬兰 (Thermo Labsystems) AC8;离心机:微量高速离心机(国产),TG16W;培养箱:隔水式恒温培养箱(国产)GNP-9080 型。CD4 抗体:550057, BD; CD8 抗体:559976, BD; CD3 抗体:4289855, eBioscience;流式细胞仪:Verse, BD。

4 动物分组与 COPD 肺阳虚证大鼠模型建立 健康雄性 Wistar 大鼠 60 只随机分为 6 组:空白对照组、补肺阳方高剂量治疗组(简称补肺阳方高剂量组)、补肺阳方中剂量治疗组(简称补肺阳方中剂量组)、补肺阳方低剂量治疗组(简称补肺阳方低剂量组)及胸腺肽治疗组(简称胸腺肽组)。每组 10 只。

采用改良法建立大鼠 COPD 肺阳虚证模型<sup>[4]</sup>:(1)在室温环境中,第 1、14 天大鼠麻醉后气管内滴脂多糖:将大鼠逐一称重,腹腔注射浓度为 2% 戊巴比妥钠溶液 40 mg/kg,待大鼠麻醉后,将其固定于解剖台上,头低位暴露声门,将 16 号静脉套管针沿气管走行快速插入气管,拔出针芯,接 1 mL 注射器,迅速注入溶于注射用生理盐水的浓度为 1 mg/mL 的脂多糖 0.2 mL (200 μg),将大鼠直立,左右旋转,使脂多糖在肺内均匀分布。(2)第 2~28 天给予大鼠香烟烟熏,持续时间大约 1.5 h,滴脂多糖当天不烟熏。被动吸烟方法:将大鼠放入自制的有机玻璃染毒箱 (120 cm×100 cm×50 cm) 内,香烟烟丝放入金属

调料盒内点燃,将调料盒放入 2 000 mL 集气瓶中,使用手动打气筒打气促进烟丝燃烧,并将烟雾压入染毒箱内进行大鼠被动吸烟染毒。(3)参考温慧萍造模方法<sup>[5]</sup>建立肺阳虚证模型。每日烟熏后常温游泳 10 min/d,冰水 (0±2)℃ 游泳 5 min/d,自由饮用冰水 (0±2)℃。以上处理,每天 1 次,连续 28 天。造模结束后,正常进水进食 2 周,使大鼠病情达到稳定。至此造模结束。

5 药物干预 从第 7 周开始,补肺阳方高剂量组灌服补肺阳方 12.6 g/kg、中剂量组灌服补肺阳方 6.3 g/kg,低剂量组灌服补肺阳方 3.15 g/kg,连续 3 周。实验动物用药量根据人和动物间按体表面积折算的等效剂量比值表计算,大鼠用量为人的 6.3 倍,补肺阳方临床用量为 72 g/70 kg,经计算,大鼠给药量为 6.3 g/kg,以此为中剂量组,相当于等剂量成人临床用量;12.6 g/kg 为高剂量组,相当于临床用量的 2 倍;3.15 g/kg 为低剂量组,相当于临床用量的 0.5 倍。胸腺肽组每天灌服胸腺肽混悬液 5.4 mg/kg,模型组灌服生理盐水,每天 3 mL,连续 3 周。空白对照组自由饮水进食,不做特殊处理。

6 检测指标及方法 观察大鼠食欲、体重、活动等一般情况。给药结束后 2% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,剖腹快速从下腔静脉抽取血液,迅速注入抗凝管和促凝管中,12 h 内用流式细胞仪检测血 T 淋巴细胞 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 表达率,并计算 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值;静置离心后取血清,用 ELISA 试剂盒测定 IgA、IgM、IgG 水平。称重胸腺、脾脏:暴露胸腺及脾脏,剥离后立即电子天平称重。并计算胸腺指数、脾脏指数,公式如下:胸腺(脾脏)指数(g/100 g)=100×胸腺(或脾脏)重量/体重。将脾脏研磨离心,收集 T 淋巴细胞制成细胞悬液,上流式细胞仪检测 T 淋巴细胞 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>。将固定的肺组织行常规石蜡包埋、切片 HE 染色,镜下观察肺组织的病理改变,并从 7 个方面进行评分<sup>[6]</sup>:(1)气道阻塞;(2)气道上皮糜烂脱落;(3)气道上皮杯状化生;(4)气道上皮鳞状化生;(5)气道壁炎症细胞浸润;(6)气道壁纤维结缔组织增生;(7)气道壁平滑肌增生。以上每项从无明显改变到严重改变分别用 0~4 分表示,各项评分合计为一个视野的病理评分。

7 统计学处理 采用 SPSS 21.0 统计分析软件,各组数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,符合正态分布用 One-Way ANOVA 方差分析,组间两两比较采用 LSD 法,不同组别连续变量采用两组间方差检验,两样本 t 检验, P<0.05 为差异有统计学意义。

## 结 果

1 动物一般情况(图 1) 空白对照组大鼠活泼好动,毛发有光泽,体重逐渐增加,饮水摄食正常,呼吸平稳,无咳嗽咳痰。造模过程中因麻醉意外模型组、补肺阳方高剂量组及胸腺肽组各死亡 2 只,其余组各死亡 1 只。造模后各组出现符合肺阳虚的症状<sup>[7]</sup>:毛色晦暗,集结成缕,活动量减少,拱背蜷卧,口鼻潮湿,有明显的鼻鸣咳嗽声音,时有喉中痰鸣音,食量减少,与空白对照组比较体重增幅较小(P<0.05)。治疗后各组症状逐渐减轻,精神状态、饮食、活动情况均趋向正常。

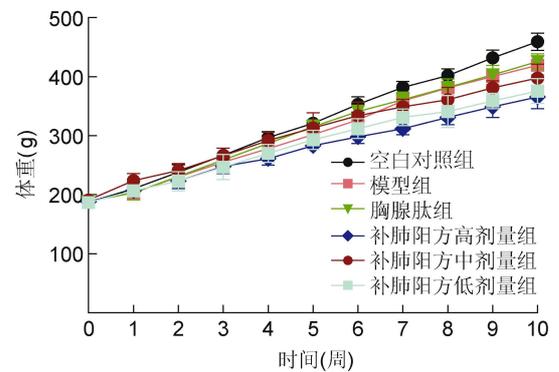
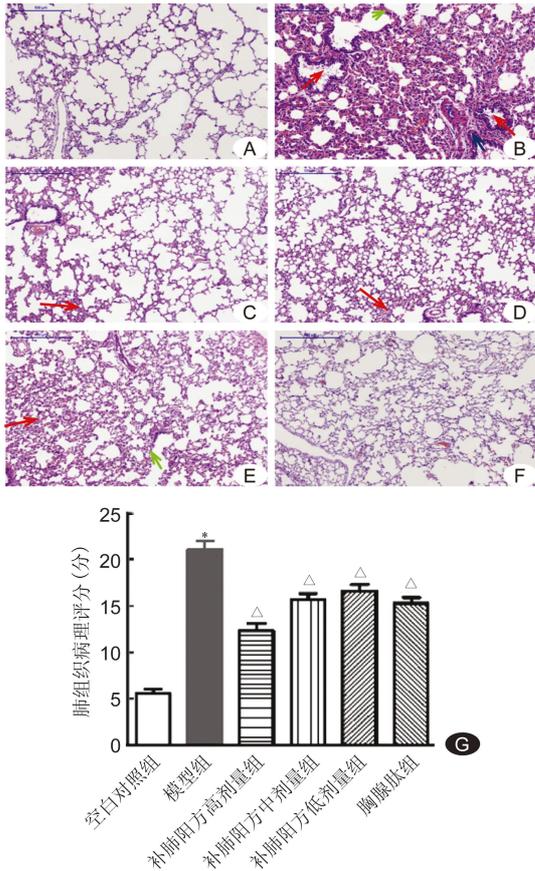


图 1 各组动物体重曲线

2 各组肺组织病理改变及病理学评分比较(图 2) 空白对照组中、小支气管黏膜上皮细胞排列整齐,偶见细胞变性坏死脱落,炎性细胞浸润,纤毛无损伤脱落;肺泡结构完整,肺泡隔无充血水肿,肺泡腔无扩大,且未见明显渗出。模型组小气道上皮细胞变性坏死脱落,气道黏膜充血水肿,管腔内可见较多炎性渗出物,杯状细胞增多以及黏膜上皮局灶性增生及中气道鳞状上皮化生;肺内细支气管、终末细支气管管腔及周围表现出不同程度的淋巴细胞浸润,色素沉着,管腔狭窄;肺泡管、肺泡囊及肺泡明显扩大,间隔变薄、断裂,肺泡壁多处断裂,部分肺泡互相融合形成肺大泡。以上表现均符合 COPD 的病理改变一致,说明造模成功,同时淋巴细胞数量的增多提示免疫功能出现一定改变。与模型组比较,各治疗组支气管黏膜结构和肺组织结构有不同程度改善,慢性炎性细胞浸润减轻,纤毛增加、粘连和倒伏情况减轻,杯状细胞和肺大泡减少。病理学评分显示,与空白对照组比较,模型组病理评分升高(P<0.01);与模型组比较,各治疗组病理评分降低(P<0.01)。

3 各组胸腺指数及脾脏指数比较(表 1) 脾脏指数各组间比较差异均无统计学意义(P>0.05)。模型组胸腺指数低于空白对照组(P<0.05);与模型组比较,各治疗组胸腺指数并无明显回升(P>0.05)。



注:A 为空白对照组;B 为模型组;C 为补肺阳方高剂量组;D 为补肺阳方中剂量组;E 为补肺阳方低剂量组;F 为胸腺肽组;G 为肺组织病理学评分。绿色箭头为气道上皮细胞变性坏死脱落;蓝色箭头为鳞状上皮化生;红色箭头为肺内细支气管、终末细支气管管腔及周围表现出不同程度的淋巴细胞浸润;与空白对照组比较, \*  $P < 0.01$ ;与模型组比较,  $\Delta P < 0.01$

图 2 各组肺组织病理改变及病理学评分比较 (HE 染色,  $\times 10$ )

表 1 各组大鼠脾脏指数、胸腺指数比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	脾脏指数	胸腺指数
空白对照	10	0.26 ± 0.03	0.23 ± 0.05
模型	8	0.31 ± 0.08	0.13 ± 0.02*
补肺阳方高剂量	8	0.31 ± 0.05	0.11 ± 0.02
补肺阳方中剂量	9	0.30 ± 0.04	0.12 ± 0.05
补肺阳方低剂量	9	0.31 ± 0.05	0.11 ± 0.01
胸腺肽	8	0.29 ± 0.06	0.11 ± 0.02

注:与空白对照组比较, \*  $P < 0.05$

表 3 各组大鼠 IgA、IgM、IgG 水平比较 ( $\mu\text{g/mL}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	IgA	IgM	IgG
空白对照	10	222.01 ± 20.51	1 021.24 ± 58.71	9.32 ± 0.74
模型	8	98.42 ± 14.60*	794.69 ± 80.25*	4.74 ± 0.66*
补肺阳方高剂量	8	211.49 ± 15.01 $\Delta\Delta\Delta\blacktriangle$	1 006.45 ± 61.44 $\Delta\Delta$	8.81 ± 0.78 $\Delta\Delta\Delta\blacktriangle$
补肺阳方中剂量	9	168.72 ± 10.03 $\Delta\Delta\blacktriangle$	942.66 ± 48.50 $\Delta\Delta$	7.11 ± 0.40 $\Delta\Delta\blacktriangle$
补肺阳方低剂量	9	143.13 ± 10.96 $\Delta\Delta\blacktriangle$	870.16 ± 48.93 $\Delta\blacktriangle$	6.26 ± 0.46 $\Delta\Delta\blacktriangle$
胸腺肽	8	185.52 ± 9.60 $\Delta\Delta$	952.49 ± 47.24 $\Delta\Delta$	7.73 ± 0.31 $\Delta\Delta$

注:与空白对照组比较, \*  $P < 0.01$ ;与模型组比较,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ;与胸腺肽组比较,  $\blacktriangle P < 0.05$ ,  $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$

4 各组淋巴细胞  $CD4^+/CD8^+$  比值比较(图 3, 表 2) 脾脏  $CD4^+/CD8^+$  比值模型组低于空白对照组 ( $P < 0.05$ ), 补肺阳方低剂量组与模型组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 其余治疗组均高于模型组 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。外周血  $CD4^+/CD8^+$  比值模型组低于空白对照组 ( $P < 0.05$ ), 各治疗组与模型组比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 各治疗组间比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表 2 各组大鼠脾脏及外周血  $CD4^+/CD8^+$  比值比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

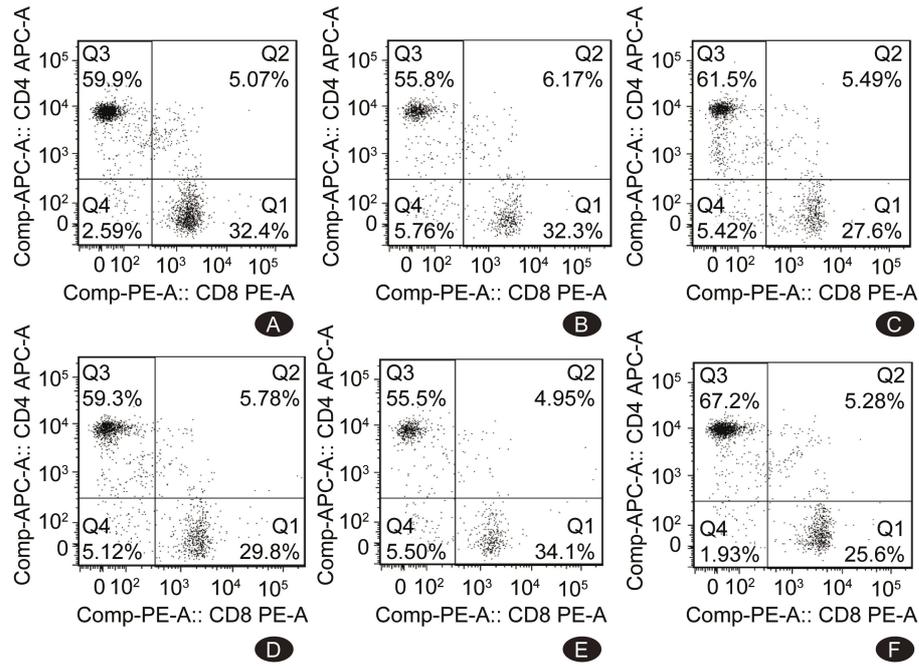
组别	n	脾脏 $CD4^+/CD8^+$	外周血 $CD4^+/CD8^+$
空白对照	10	1.97 ± 0.43	3.10 ± 1.02
模型	8	1.47 ± 0.22*	2.41 ± 0.38*
补肺阳方高剂量	8	1.93 ± 0.23 $\Delta$	2.28 ± 0.18
补肺阳方中剂量	9	1.88 ± 0.22 $\Delta$	2.72 ± 0.45
补肺阳方低剂量	9	1.83 ± 0.36	2.39 ± 0.19
胸腺肽	8	2.16 ± 0.09 $\Delta\Delta$	2.71 ± 0.28

注:与空白对照组比较, \*  $P < 0.05$ ;与模型组比较,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$

5 各组免疫球蛋白含量比较(表 3) 与空白对照组比较, 模型组 IgA、IgM、IgG 均降低 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 各治疗组 IgA、IgM、IgG 均一定程度升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); IgA 含量补肺阳方高剂量组高于胸腺肽组 ( $P < 0.01$ ), 其余治疗组均低于胸腺肽组 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); IgM 含量补肺阳方低剂量组与胸腺肽组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 其余各治疗组间比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); IgG 含量补肺阳方高、低剂量组与胸腺肽组比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。

### 讨 论

在中医学理论体系中, 阳虚是“阳气亏损, 失却温煦推动, 脏腑机能衰退”的一类证候<sup>[8]</sup>。国内学者观察到阳虚证存在包括 T 淋巴细胞亚群在内的免疫功能的降低<sup>[9,10]</sup>。本项目组前期对肺阳理论进行了系统梳理, 从中医学基础理论的角度论述了肺阳的存在及其生理功能、病理变化<sup>[11]</sup>。有学者研究发现, 肺阳虚证是



注:A 为空白对照组;B 为模型组;C 为补肺阳方高剂量组;D 为补肺阳方中剂量组;E 为补肺阳方低剂量组;F 为胸腺肽组

图 3 各组脾脏 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 流式散点图(部分)

COPD 稳定期常见证型,约占 77.65%<sup>[12]</sup>。现代学者用温补肺阳的方法辨治慢阻肺等疾病,取得较好疗效<sup>[13]</sup>。本项目组通过前期对肺阳虚证的系统理论研究及数据挖掘,创制了治疗肺阳虚的方剂——补肺阳方,并提出从温肺阳、补肺虚,温肺阳、散表邪,温肺阳、祛痰瘀,温肺阳、防变证等几个方面治疗 COPD 肺阳虚证的原则<sup>[3]</sup>。组方中以桂枝为君药,温通经脉,通阳扶卫。干姜、生麻黄、半夏为臣药,温肺散寒化饮,兼助桂枝解表驱邪。方以细辛、杏仁、陈皮、茯苓、五味子为佐药,细辛辛散温通,配伍麻黄、桂枝,可发散风寒,配伍干姜可温肺化饮;配伍味苦降泄之杏仁,以肃降肺气,止咳平喘;陈皮理气健脾,燥湿化痰,茯苓利水渗湿,健脾宁心,以祛阳虚之痰,二药标本兼顾;而肺阳虚症,素体本虚,纯用辛温发散之药,恐耗气伤正,温燥伤津,故配伍味酸收敛,甘温而润之五味子,以上敛肺气,下滋肾阴。炙甘草为使药,益气和中,配伍五味子,以酸甘化阴,亦可缓和桂枝、麻黄辛散太过,调和辛散敛收。全方配伍严谨,散中有收,开中有合,且标本兼顾。

胸腺指数与脾脏指数是反映机体胸腺和脾脏免疫功能的重要指征之一,其数值高低的变化可以反映机体免疫功能的状况<sup>[14]</sup>。本研究结果显示 COPD 肺阳虚证模型大鼠的胸腺指数低于空白对照组,提示 COPD 肺阳虚证存在明显的免疫失衡。但本实验结

果显示补肺阳方各剂量组与模型组比较均无差异,此结果可能与实验造模时间不足,胸腺正处于代偿期等因素有关。造模后各组脾脏指数与空白对照组比较无差异,且造模后脾脏指数呈升高趋势,可能与造模后免疫功能下降,引起脾脏功能亢进有关,由于造模时间较短,尚不足以引起器官质量的显著变化。

CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>可直接反映宿主 T 细胞亚群的紊乱状态,且在一定程度上可间接了解机体免疫功能的情况<sup>[15]</sup>。王鹏等<sup>[16]</sup>采用烟熏法制作肺气虚模型,叠加寒冷刺激制作肺阳虚模型,并灌服“温阳补肺汤”观察疗效。研究证实,肺阳虚组大鼠外周血 T 淋巴细胞转化率和呼吸道 sIgA 下降较肺气虚组明显,说明肺阳虚大鼠免疫功能更为低下。本研究结果显示, COPD 肺阳虚证大鼠 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值低于正常大鼠,表明 COPD 肺阳虚证大鼠免疫功能下降明显,而给予补肺阳方之后,大鼠 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值明显上升,提示补肺阳方可能通过改善大鼠免疫功能治疗 COPD 肺阳虚证。本方中陈皮为佐药,药理学研究亦证实,陈皮中含有的皂苷类物质可影响 T 淋巴细胞的功能<sup>[17]</sup>。本研究中脾脏 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值变化较为显著而外周血 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 变化不显著,考虑除去实验误差的因素外,可能为脾脏为淋巴细胞聚集地,淋巴细胞数值相对固定,而外周血液循环中淋巴细胞受许多因素影响,不同时间表达会由差异,数值不太稳定有关。

在 COPD 发病过程中, IgA、IgM、IgG 发挥着重要作用。IgA 是黏膜局部免疫的重要因素, IgM 属于一种细胞毒素抗体, 在机体的早期防御中起着重要的作用, 而 IgG 是血清中最主要的免疫球蛋白, 能够促进单核巨噬细胞的吞噬作用。Ladjemi MZ<sup>[18]</sup> 研究表明, IgA 在 COPD 患者数量减少。Zhong Y 等<sup>[19]</sup> 发现使用玉屏风散治疗 COPD, 能增加血清免疫球蛋白 IgA 和 IgG 水平。补肺阳方以桂枝为君药, 温通经脉, 通阳扶卫; 现代药理学证实本方中茯苓含有的多糖类物质能增强小鼠特异性细胞免疫功能, 同时, 茯苓对小鼠的特异性体液免疫作用不明显<sup>[20]</sup>。本实验研究结果表明, 补肺阳方高、中、低剂量组均可以提高 COPD 肺阳虚证大鼠 IgA、IgM、IgG 含量, 中、高剂量组的作用与胸腺肽大致相当, 说明补肺阳方对 COPD 肺阳虚证大鼠的免疫球蛋白具有调节作用, 能促进 IgA、IgM、IgG 的产生, 从而通过调节机体体液免疫达到纠正 COPD 免疫失衡的作用。综上所述, 本实验研究结果表明, 补肺阳方高、中、低剂量组均可以提高 COPD 肺阳虚证大鼠 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、IgA、IgM、IgG 含量, 中、高剂量组的作用与胸腺肽大致相当, 说明补肺阳方对 COPD 肺阳虚证大鼠的体液免疫和细胞免疫均具有调节作用, 从而纠正 COPD 肺阳虚证的免疫失衡。

虽然本研究观察到了部分免疫学指标的变化, 但对于肺阳虚证的研究仍未探及本质层次。而补肺阳方为何会引起免疫学指标变化及通过何种途径引起此类变化尚未得到证实, 有待进一步的研究。

利益冲突: 无。

#### 参 考 文 献

- [1] 何权瀛. 2015 年修订版慢性阻塞性肺疾病全球防治倡议简介[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2015, 14(2): 125-127.
- [2] Peters M, Peters K. Regulation of lung immunity by dendritic cells: Implications for asthma, chronic obstructive pulmonary disease and infectious disease [J]. *Innate Immun*, 2019, 25(8): 326-336.
- [3] 邵雨萌. 论肺阳[D]. 济南: 山东中医药大学, 2012: 1-39.
- [4] Cervilha DAB, Ito JT, Lourenço JD, et al. The Th17/Treg cytokine imbalance in chronic obstructive pulmonary disease exacerbation in an animal model of cigarette smoke exposure and lipopolysaccharide challenge association [J]. *Sci Reports*, 2019, 9(1): 1921.
- [5] 温慧萍, 陈素红, 吕圭源, 等. 多因素复合造模法致肺阳虚大鼠模型的研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2010, 34(2): 163-166.
- [6] Cosi M, Ghezzi H, Hogg JC, et al. The relations between structural changes in small airways and pulmonary-function tests [J]. *New Engl J Med*, 1978, 298(23): 1277-1281.
- [7] 文小敏, 王鹏, 刘青, 等. “肺阳虚”动物模型的探索[J]. 中国中医基础医学杂志, 1998, 4(4): 46-48.
- [8] 国家技术监督局. 中华人民共和国国家标准·中医临床诊疗术语证候部分[M]. 北京: 中国标准出版社, 1997: 2.
- [9] 蒋朱秀, 郑小伟, 江劲, 等. 金匱肾气丸联合穴位敷贴对支气管哮喘临床缓解期肾阳虚证患者免疫功能的影响[J]. 中医杂志, 2016, 57(11): 938-941.
- [10] 韦玮, 唐汉庆, 李晓华, 等. 附子理中汤对脾阳虚证大鼠免疫细胞因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(21): 179-182.
- [11] 邵雨萌, 张伟. 肺阳理论研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育, 2011, 9(24): 139-140.
- [12] 樊亚巍. 洪广祥温肺阳治疗慢性阻塞性肺病的经验[J]. 湖南中医药导报, 1994, 1(1): 14-15.
- [13] 冯毅, 阚竞, 宫金燕, 等. 王鹏教授从肺阳虚证论治慢性阻塞性肺疾病验案介绍[J]. 新中医, 2014, 46(9): 200-201.
- [14] 刘茜, 刘向国, 武松. 肺气肿肺气虚证模型大鼠脾脏指数、胸腺指数变化的实验研究[J]. 甘肃中医学院学报, 2006, 23(1): 20-22.
- [15] Woodland DL. Cell-mediated immunity to respiratory virus infections [J]. *Current Immunol*, 2003, 15(4): 430-435.
- [16] 王鹏, 文小敏, 赵鸿云. 肺阳虚证的实验研究[J]. 湖北中医杂志, 1998, 20(4): 53-55.
- [17] Liu L, Hu L, Yao Z, et al. Mucosal immunomodulatory evaluation and chemical profile elucidation of a classical traditional Chinese formula, Buzhong Yiqi Tang [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 228: 188-199.
- [18] Ladjemi MZ, 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.
- [19] Zhong Y, Wang X, Xu G, et al. Modified Yuping-feng Formula for the treatment of stable chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review of randomized controlled trials [J]. *Afr J Tradit Complement Alternat Med*, 2013, 11(1): 1-14.
- [20] 段超, 许刚豪, 王冬冬, 等. 茯苓发酵液多糖含量分析及其抗氧化性能研究[J]. 日用化学品科学, 2016, 39(2): 31-34.

(收稿: 2019-02-01 在线: 2020-03-20)

责任编辑: 李焕荣  
英文责编: 张晶晶