

· 基础研究 ·

抗复感颗粒对肺炎幼龄大鼠的干预作用及机制研究

蒋桂¹ 邹敏² 陈媛³ 梁亮^{3,4} 冯玉清⁵ 李熠毅³ 运晨霞^{3,4}

摘要 **目的** 探讨抗复感颗粒对肺炎幼龄大鼠的干预作用及机制。**方法** 将 50 只大鼠随机分为正常组、模型组、头孢曲松组、抗复感颗粒组、抗复感颗粒加头孢曲松联合用药（简称联合用药）组，每组 10 只。运用肺炎链球菌经气管滴注构建制备幼龄大鼠肺炎模型。抗复感颗粒组给予 20 g / (kg·d) 抗复感颗粒灌胃及 0.05 mL 生理盐水肌肉注射；联合用药组给予抗复感颗粒 20 g / (kg·d) 灌胃及肌肉注射头孢曲松 100 mg / (kg·d)；头孢曲松组给予 0.6 mL/d 生理盐水灌胃及肌肉注射头孢曲松 100 mg / (kg·d)；正常组、模型组均给予等量生理盐水灌胃及肌肉注射。连续给药 5 天后，观察大鼠一般情况；瑞氏-姬姆萨染色对肺泡灌洗液（BALF）中细胞的总数及分类细胞数计数；HE 染色观察肺及大肠组织炎症细胞浸润；qRT-PCR 法检测大鼠肺组织中肿瘤坏死因子（TNF- α ）、IL-6 mRNA 表达水平；系列生化法检测大鼠大便肠球菌、双歧杆菌、大肠杆菌、乳酸杆菌的变化。**结果** 与模型组比较，各药物干预组肺组织炎症细胞浸润明显改善；抗复感颗粒组肠道轻度炎症细胞浸润，联合用药组肠道无明显异常。与正常组比较，模型组大鼠体重减轻（ $P < 0.05$ ），白细胞总数升高，其中中性粒细胞和淋巴细胞所占比例均升高（ $P < 0.01$ ），巨噬细胞比例降低（ $P < 0.01$ ）；肺组织 TNF- α 、IL-6 mRNA 水平升高（ $P < 0.01$ ）；肠道中肠球菌、大肠杆菌数增高，乳酸杆菌降低（ $P < 0.01$ ）。与模型组比较，各药物干预组白细胞总数、中性粒细胞及淋巴细胞比例均降低，巨噬细胞比例增高（ $P < 0.01$ ），TNF- α 、IL-6 mRNA 水平降低（ $P < 0.01$ ）；抗复感颗粒组、联合用药组大鼠体重增加，肠道中肠球菌、大肠杆菌数降低，乳酸杆菌增多（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ）。联合用药组较头孢曲松组及抗复感颗粒组白细胞总数下降（ $P < 0.01$ ），联合用药组较抗复感颗粒组乳酸杆菌减少（ $P < 0.01$ ）。**结论** 抗复感颗粒可改善肺炎幼龄大鼠肺组织炎症，降低肺组织炎症细胞因子 IL-6、TNF- α mRNA 水平，且不引起肠道微生物的紊乱。

关键词 抗复感颗粒；细菌性肺炎；细胞因子；肠道菌群

Intervention Effect and Mechanism of Kangfugan Granule on Immature Rats with Pneumonia

JIANG Gui¹, ZOU Min², CHEN Yuan³, LIANG Liang^{3, 4}, FENG Yu-qing⁵, LI Yi-yi³, and YUN Chen-xia^{3, 4} 1 Clinical Laboratory, Guangxi Liuzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Liuzhou Zhuang Medicine Hospital, Guangxi (545001); 2 Department of Pediatrics, Guangxi International Zhuang Medicine Hospital, Nanning (530028); 3 School of Basic Medical Sciences, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning (530200); 4 Guangxi Key Laboratory of Translational Medicine for Treating High-Incidence Infectious Diseases with Integrative Medicine, Nanning (530200); 5 Clinical Laboratory, RuiKang Hospital Affiliated to Guangxi, University of Traditional Chinese Medicine, Nanning (530011)

ABSTRACT Objective To investigate the effect and mechanism of Kangfugan granules (KFG) on immature rats with pneumonia. **Methods** Totally 50 immature rats were randomly divided into the normal group, model group, ceftriaxone (CRO) group, KFG group and KFG+CRO group, 10 in each group. The pneumonia model

基金项目：国家自然科学基金资助项目（No. 31660632）；大学生创新创业训练计划项目（No. 201610600022）

作者单位：1. 广西柳州市中医医院（柳州市壮医医院）检验科（广西 545001）；2. 广西国际壮医医院儿科（南宁 530028）；3. 广西中医药大学基础医学院（南宁 530200）；4. 广西高发传染病中西医结合转化医学重点实验室（南宁 530200）；5. 广西中医药大学附属瑞康医院检验科（南宁 530011）

通讯作者：运晨霞，Tel: 0771-4953137, E-mail: yunchenxia@foxmail.com

DOI: 10. 7661/j. cjm. 20210602. 053

of immature rats were established by tracheal infusion of *Streptococcus pneumoniae*. Rats in KFG group were given $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ KFG by gastrogavage and 0.05 mL normal saline (NS) by intramuscular injection; the combination group were given $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ KFG by gastrogavage and 100 mg/ $\text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ceftriaxone by intramuscular injection; the ceftriaxone group were given 0.6 mL/d NS by gastrogavage and 100 mg/ $\text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ceftriaxone by intramuscular injection; the normal group and model group were given the equal amount of NS by gastrogavage and intramuscular injection. After 5 days of continuous administration, the general conditions of rats were observed. The total number of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) cells was counted and differential cells counts were quantified. The infiltration of inflammatory cell in lung and intestine tissues were observed by HE staining. The mRNA expression levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) in lung tissues were detected by quantitative real-time PCR. The changes of *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Escherichia coli* and *Lactobacillus* in feces were detected by serial biochemical methods.

Results Compared with model group, the inflammatory cell infiltration in lung tissue was significantly improved in each intervention group. A small amount of inflammatory cell infiltration was observed in the intestinal tract in KFG group, while no obvious changes of that in lung tissue in KFG+CRO group. Compared with normal group, the weight of rats decreased ($P < 0.05$), the total number of leukocytes, the proportion of neutrophils and lymphocytes increased, the proportion of macrophages decreased in the model group ($P < 0.01$), the mRNA levels of TNF- α and IL-6 increased ($P < 0.01$), the number of *Enterococcus* and *Escherichia coli* in intestinal increased, the number of *Lactobacillus* decreased (all $P < 0.01$). Compared with the model group, the total number of leukocytes, the proportion of neutrophils and lymphocytes decreased, the proportion of macrophages increased (all $P < 0.01$), the mRNA levels of TNF- α and IL-6 decreased ($P < 0.01$) in each intervention group. The weight of rats increased, the number of *Enterococcus* and *Escherichia coli* decreased, the number of *Lactobacillus* increased in KFG group and KFG+CRO group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with KFG+CRO group, the total number of leukocytes decreased in CRO group and KFG group ($P < 0.01$), the number of *Lactobacillus* decreased in KFG group ($P < 0.01$).

Conclusion KFG could improve lung inflammation in immature rats with pneumonia, reduce the mRNA levels of IL-6 and TNF- α in lung tissue, without causing the disorder of intestinal microecology.

KEYWORDS Kangfugan Granule; bacterial pneumonia; cytokine; intestinal flora

小儿细菌性肺炎是儿科常见病和高发病之一,长期使用抗生素会导致患儿易发生肠道内的微生态失衡,出现感染后肠道功能紊乱的表现,易引起再次感染^[1, 2]。据统计,25%~73.9%的肺炎患儿在肺炎发生同时、或治疗过程中、或好转后发生腹泻^[3]。针对这种情况西医主要采用微生态调节剂—即益生菌进行治疗^[4],然而益生菌是一种生理性细菌,口服易受胃酸影响,在肠道内不易定植;此外益生菌在与广谱抗生素同时使用时也会影响其疗效,特别是在机体免疫力低下的情况下使用还有很多不确定性。因此在治疗小儿细菌性肺炎过程中如何合理使用抗生素及在治疗中维持小儿正常的体内微生态的环境已成为儿科临床关注的热点。

“肺与大肠相表里”是中医学藏象学说的重要内容之一,肺和大肠不仅在脏腑、经络等方面相互联系,且在疾病的发展变化过程中相互影响。肺病状态下可导致肠道菌群变化,肠病也可影响肺部菌群的变化^[5]。肺炎患儿使用抗生素后容易出现腹泻也许跟肺与大肠相表里的理论有关^[6]。抗复感颗粒是以四君子汤合并玉屏风散作为基础方加减组成,主要由黄芪、陈皮、

何首乌等 8 味中药组成,具有健脾、益气、固表的功效^[7]。本研究通过采用肺炎链球菌感染幼龄大鼠制备肺炎模型,根据“肺与大肠相表里”理论,从肺部炎症及肠道菌群两个方面探讨抗复感颗粒的作用机制,为抗复感颗粒在临床中的进一步推广应用提供客观实验依据。

材料与方法

1 动物及菌株 健康清洁级 50 日龄 Wistar 大鼠 50 只,体重 (90 ± 10) g,雌雄各半,由广西医科大学实验动物科学部提供,动物合格(许可)证号:SCXK(桂)2014-0002。大鼠饲养于广西中医药大学科学实验中心实验动物房,温度 (20 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 (55 ± 15) %。肺炎链球菌标准菌株(CMCC31203),由广西中医药大学瑞康临床检验中心提供,培养于含 Muller-Hinton 琼脂平皿中,使用时用无菌生理盐水稀释至终浓度为 5×10^9 CFU/mL 待用。本研究经广西中医药大学实验动物福利伦理委员会审查(No:DW20160511-067)。

2 药物 抗复感颗粒(组成:黄芪 30 g 党参 25 g 白术 15 g 陈皮 10 g 浮小麦 15 g 鸡内金 15 g 麦冬 15 g 何首乌 15 g, 批号: 20161104, 广西中医药大学第一附属医院制剂室制备)。

3 主要试剂及仪器 主要试剂: 总 RNA 提取试剂盒(批号: U8921)及 FastQuant cDNA 试剂盒(批号: U9116)均购自天根生化科技有限公司; SYBR Green qRT-PCR 试剂盒(批号: F-415XL)购自 ThermoFisher 公司; 肠道菌群鉴定用培养基有 SS 平板(批号: CBLR-170106D)、哥伦比亚血平板(批号: BAP-170612D)均购自广州市迪景微生物科技有限公司。主要仪器: 生物安全柜(BSL-3, MH40-EA3); raytoRT6000 型全自动酶标仪、全自动微生物鉴定及药敏分(ACT60 美国梅里埃); 梯度 PCR 仪(Bio-Rad T100 美国伯乐公司); UV-1700 紫外分光光度计(日本岛津公司); ABI 7300 实时荧光定量 PCR 仪(美国 ThermoFisher 公司)。

4 动物分组及模型制备 Wistar 大鼠按随机数字表法分为正常组、模型组、头孢曲松组、抗复感颗粒组、抗复感颗粒加头孢曲松联合用药(简称联合用药组), 每组 10 只。除正常组外, 其余各组幼龄大鼠均进行肺炎模型制备。幼鼠肺炎模型制备^[8]: 腹腔注射 10% 水合氯醛 0.35 mL/100 g 麻醉幼龄大鼠。用皮筋和胶布把麻醉好的大鼠的四肢和牙齿固定于固定台上用止血钳拉出大鼠的舌, 固定于外, 经上中切牙点悬吊。用一接注射器的钝圆针头经鼻插入气管, 分别滴入 20 μ L 约含有 1×10^7 CFU 肺炎链球菌进行模型构建, 正常组直接滴入 20 μ L 无菌生理盐水。滴入菌液的同时密切观察大鼠的呼吸情况, 出现窒息立刻给予牵拉前肢、挤压心脏处理, 造模过程中无动物死亡。

5 干预方法 各组于接种后的第 2 天开始, 每日晨 8:00 开始给药。给药剂量根据动物每千克体重占人体表面积比值计算, 动物用药剂量相当于成人用药量 10 倍^[9]。抗复感颗粒组灌胃抗复感颗粒 20 g/(kg·d) 及肌注生理盐水 0.05 mL/d; 联合用药组灌胃抗复感颗粒 20 g/(kg·d) 及肌注头孢曲松 100 mg/(kg·d); 头孢曲松组肺炎幼鼠灌胃生理盐水 0.6 mL/d 及肌注头孢曲松 100 mg/(kg·d); 正常组、模型组均灌胃生理盐水 0.6 mL/d 及肌肉注射生理盐水 0.05 mL/d; 连续给药 5 天。

6 标本采集 各组大鼠分别在治疗前 1 天及治疗后第 4 天留新鲜大便, 用于肠道菌群检测; 其余标本于末次给药后的 24 h 内进行采集: 大鼠麻醉、仰卧位固定, 分离颈部皮肤暴露气管, 结扎右主支气

管, 左肺用预冷无菌 PBS 行支气管肺泡灌洗, 获取肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF), 4 $^{\circ}$ C 离心(1 000 r/min \times 10 min), 收集沉淀细胞用于白细胞计数; 处死肺炎幼鼠, 无菌取右肺及大肠组织各两份做病理检查; 无菌取大鼠左肺, 匀浆、提取总 RNA, 用于肺组织 IL-6、TNF- α 等细胞因子的 mRNA 水平检测。

7 检测指标及方法

7.1 大鼠一般情况和体重变化 一般情况包括外观、行为、呼吸、大便状态等; 于造模前和给药后第 4 天以电子天平称量大鼠体重并记录。

7.2 BALF 中白细胞总数及分类计数 取离心后 BALF 沉淀 20 μ L 加至血细胞计数板, 测定白细胞总数; 再取 50 μ L 做细胞涂片, 瑞氏-姬姆萨染色, 计数 200 个细胞分别计算巨噬细胞、中性粒细胞、淋巴细胞的数量。

7.3 大鼠右肺及大肠组织病理观察 取大鼠右肺及大肠组织石蜡包埋切片, 4~6 μ m, HE 染色, 光学显微镜下观察组织形态、气道上皮及肠道上皮的损伤、气管及血管周围炎症细胞浸润情况。

7.4 qRT-PCR 法检测大鼠肺组织 IL-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) mRNA 表达水平 大鼠肺组织总 RNA 提取及鉴定, 逆转录合成 cDNA (按照试剂盒说明书进行); 后续 qRT-PCR 采用 SYBR green 法检测: 反应体系为 20 μ L, 反应混合物由 1 μ L 10 倍稀释第一链 cDNA、10 μ L 2 \times SYBR green 荧光染料, 0.8 μ L 5 μ mol/L 正向和反向引物, 和 7.4 μ L 无 Rnase 水。反应条件: 扩增条件为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 52 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 40s, 40 个循环。所有目的基因的 Ct 值均减去内参 GAPDH 的 Ct 值, 然后用循环阈值 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) 方法衡量相对 mRNA 水平。具体引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因		引物序列 (5'-3')	产物长度 (bp)
GAPDH	正向	AGACAGCCGCATCTTCTTGT	207
	反向	CTTGCCGTGGGTAGAGTCAT	
IL-6	正向	TCTCTCCGCAAGAGACTTCCA	128
	反向	ATACTGGTCTGTTGTGGGTGG	
TNF- α	正向	ACCACGCTCTTCTGTCTACTG	169
	反向	CTTGGTGGTTGTCTACGAC	

7.5 系列生化法检测大鼠大便肠球菌 双歧杆菌、大肠杆菌、乳酸杆菌的变化 大鼠大便直接接种到厌氧菌培养包做厌氧菌(双歧杆菌、乳酸杆菌、大

肠杆菌、肠球菌)培养,同时做需氧菌培养检测。

8 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,所有数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 示,多组间比较采用单因方差分析,方差齐的两两比较采用 LSD 检验,方差不齐,采用 Dunnett's T3 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠一般状况(表 2) 正常组大鼠眼神发亮、被毛浓密有光泽、姿态、呼吸正常。模型组大鼠出现精神萎靡、毛发枯槁易脱、弓背、呼吸急促、浮便、消瘦等症状,说明肺炎幼龄大鼠出现了肺脾气虚证候表现。经药物干预后各给药组大鼠症状有所减轻,抗复感颗粒组和联合用药组外观明显好于模型组。造模前各组大鼠体重差异无统计学意义($P > 0.05$)。造模后,与正常组比较,模型组大鼠体重减轻($P < 0.05$);与模型组比较,抗复感颗粒组和

联合用药组大鼠体重增加($P < 0.05$)。

2 各组大鼠 BALF 中白细胞总数及分类计数比较(表 3) 与正常组比较,模型组白细胞总数升高,其中中性粒细胞和淋巴细胞所占比例升高,巨噬细胞比例降低($P < 0.01$);与模型组比较,各给药组白细胞总数、中性粒细胞及淋巴细胞比例均降低,巨噬细胞比例增高($P < 0.01$)。联合用药组较头孢曲松组和抗复感颗粒组白细胞总数下降明显($P < 0.01$),巨噬细胞、淋巴细胞和中性粒细胞所占比例与其他干预组之间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 各组大鼠肺、肠组织的炎症比较(图 1) 各组幼龄大鼠肺组织病理观察:正常组可见肺泡结构完整,肺泡壁厚薄均匀;模型组可见肺泡组织间灶性淋巴细胞浸润伴纤维组织增生,局灶肺泡壁增厚;与模型组比较,头孢曲松组、抗复感颗粒组、联合用药组的肺泡结构完整,肺泡壁厚薄均匀,肺间质少见炎细胞浸润。

各组幼龄大鼠肠组织病理观察:模型组可见固有黏膜淋巴细胞浸润,腺体损伤;与模型组比较,头孢曲松组、抗复感颗粒组、联合用药组肠壁结构完整,头孢曲松组有炎症细胞浸润;抗复感颗粒组有轻度炎症细胞浸润;联合用药组肠道无明显异常。

4 各组大鼠肺组织 TNF- α 、IL-6 mRNA 表达水平比较(图 2) 与正常组比较,模型组 TNF- α 、IL-6 mRNA 水平明显升高($P < 0.01$);与模型组比

表 2 各组大鼠造模前后体重比较 (g, $\bar{x} \pm s$)

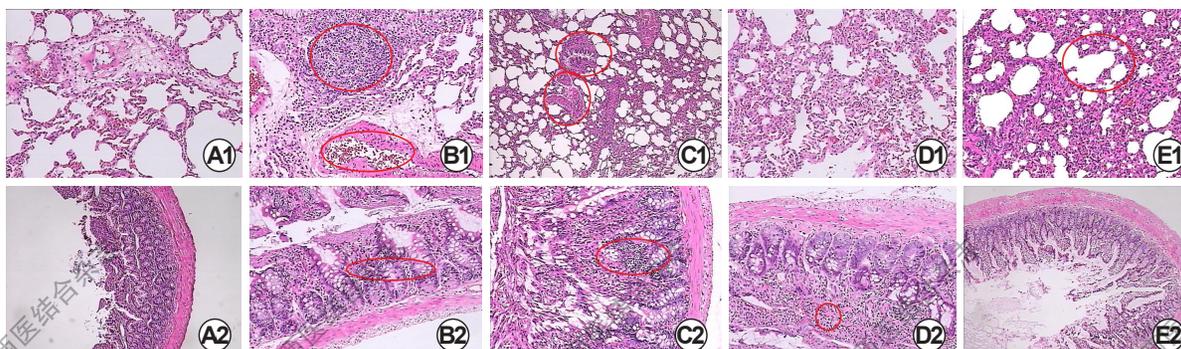
组别	n	造模前	造模后
正常	10	90.34 ± 1.27	100.56 ± 1.51
模型	10	90.60 ± 0.78	91.62 ± 1.13*
头孢曲松	10	90.98 ± 0.78	91.82 ± 1.18
抗复感颗粒	10	90.51 ± 0.59	100.46 ± 1.08 Δ
联合用药	10	90.58 ± 0.67	101.03 ± 1.39 Δ

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

表 3 各组大鼠 BALF 中白细胞总数及分类计数比较 ($\bar{x} \pm s$)

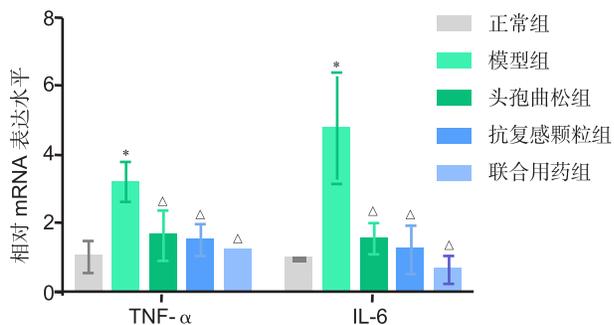
组别	n	白细胞总数 ($\times 10^4/\text{mL}$)	分类 (%)		
			巨噬细胞	淋巴细胞	中性粒细胞
正常	10	6.23 ± 0.10	78.90 ± 3.49	17.05 ± 3.18	4.05 ± 1.30
模型	10	20.34 ± 1.53*	32.75 ± 3.19*	32.80 ± 3.76*	34.45 ± 4.91*
头孢曲松	10	7.51 ± 0.38 Δ Δ	68.60 ± 3.73 Δ	26.45 ± 2.64 Δ	4.95 ± 1.80 Δ
抗复感颗粒	10	7.72 ± 0.53 Δ Δ	67.15 ± 3.88 Δ	28.20 ± 4.32 Δ	4.70 ± 1.38 Δ
联合用药	10	6.52 ± 0.18 Δ	69.55 ± 3.31 Δ	25.85 ± 3.46 Δ	4.60 ± 0.97 Δ

注:与正常组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.01$;与联合用药组比较, $\Delta P < 0.01$



注: A~E 分别为正常组、模型组、头孢曲松组、抗复感颗粒组、联合用药组; 1 为肺组织; 2 为肠组织; 红色圈注所指区域即为炎症区域

图 1 各组大鼠肺、大肠组织病理观察 (HE, $\times 100$)



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

图 2 各组大鼠肺组织 TNF- α 、IL-6 mRNA 表达水平比较

较,各药物干预组 TNF- α 、IL-6 mRNA 水平均降低 ($P < 0.01$);各药物干预组间 TNF- α 、IL-6 mRNA 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

4 各组大鼠肠道菌群定量比较(表 4)与正常组比较,模型组肠道中肠球菌、大肠杆菌增高,乳酸杆菌降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,头孢曲松组各种细菌的数量差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),抗复感颗粒组及联合用药组肠道中肠球菌、大肠杆菌数降低,乳酸杆菌增多 ($P < 0.01$);联合用药组较抗复感颗粒组乳酸杆菌减少 ($P < 0.01$)。各组之间双歧杆菌的数量变化差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 4 各组大鼠肠道菌群定量检测 (lg CFU/g, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	肠球菌	双歧杆菌	大肠杆菌	乳酸杆菌
正常	10	6.77 ± 0.54	7.38 ± 0.37	7.43 ± 0.29	9.61 ± 0.23
模型	10	8.89 ± 0.23*	6.95 ± 0.58	8.55 ± 0.17*	7.91 ± 0.32*
头孢曲松	10	8.95 ± 0.29	6.93 ± 0.57	8.52 ± 0.17	7.93 ± 0.33
抗复感颗粒	10	6.64 ± 0.23 Δ	6.93 ± 0.59	7.49 ± 0.27 Δ	8.86 ± 0.29 Δ \blacktriangle
联合用药	10	7.01 ± 0.34 Δ	6.90 ± 0.27	7.53 ± 0.23 Δ	8.42 ± 0.23 Δ

注:与正常组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.01$;与联合用药组比较, $\blacktriangle P < 0.01$

讨 论

小儿细菌性肺炎是一种呼吸道疾病,但会引起继发性腹泻,具有较高的发病率及病死率。多因素分析显示小儿的发病年龄、临床使用抗生素的情况、抗生素使用的时间、侵入性操作以及临床联合使用抗生素均是导致腹泻主要影响因素^[10,11]。细菌性肺炎的发生不仅与病原体的致病性有关,还与宿主的免疫反应有关。幼儿的免疫功能比较弱,肠道的免疫功能尚未发育完善,极易受到疾病及抗生素的影响,出现继发性的腹泻^[12]。因此剖析药物对宿主免疫反应的机制及肠道微生物的种类有助于开发除抗生素之外的细菌性肺炎辅助性治疗药物。

王秀娟^[13]治疗小儿肺炎继发性腹泻病采用常规药物联合中药醒脾养儿颗粒,获得较好疗效;李风峰等^[14]对肺炎继发腹泻患儿采用中药喜炎平注射液联合微生态制剂进行治疗,可以改善患儿的临床症状,减少腹泻发生。本研究采用具有健脾、益气、固表功效的抗复感颗粒,方中黄芪益气固表、党参健脾益气为君药;白术健脾燥湿,陈皮理气调中燥湿,可助党参益气,助黄芪固表,共为臣药;佐以浮小麦益气固表,鸡内金健脾消食,麦冬养阴润肺、益胃生津,何首乌补肝肾,益精血,通便解毒,诸药合用,共奏健脾益气固表之功。前期经临床应用证实,抗复感颗粒可缓解呼吸道感染患儿的临床症状及免疫状态,在防治小儿反复呼吸道感染方面取得较好疗效^[15]。本研究在造模过程中模型组幼龄大鼠出现精神萎靡、毛发枯槁易脱、弓背、呼吸急促、浮便、消瘦等症状,说明肺炎幼龄大鼠出现了近似肺脾气虚证候表现,经药物干预后各给药组小鼠症状有所减轻,抗复感颗粒组和联合用药组大鼠外观明显好于模型组,且大鼠体重明显高于模型组。本研究进一步从肺部炎症及肠道菌群两个方面探讨抗复感颗粒的作用机制。

免疫细胞在肺部的浸润及受刺激后产生的炎症性细胞因子在细菌性肺炎的发生中起到了重要的作用。研究表明,T淋巴细胞、单核细胞及巨噬细胞活化后产生的前炎症细胞因子 IL-6、TNF- α 参与了细菌性肺炎的发生、发展和预后。IL-6 在炎症反应中的主要表现为对多种细胞的促炎作用和诱导肝组织产生急性反应蛋白^[16];研究表明,IL-6 参与了支气管肺炎患儿炎症反应,且与疾病感染的严重程度呈现正相关^[17]。TNF- α 是参与肠道损伤和细菌移位的主要细胞因子,适量的 TNF- α 对机体有保护作用,而过量的 TNF- α 可对机体组织造成损伤,主要通过诱导单核细胞及血管内皮细胞等分泌大量的 IL-1 β 和 IL-6 以放大细胞因子介导的炎症作用^[18]。本研究结果显示抗复感颗粒能有效降低幼龄大鼠肺泡支气管灌洗液中白细胞总数及改善细菌性肺炎的肺部的病理变化,肺间质少见炎细胞浸润,同时研究发现抗复感颗粒亦能降低肺组织 IL-6、TNF- α mRNA 的转录水平。表明抗复感颗粒可改善肺炎幼龄大鼠肺组织炎症。

抗生素相关性腹泻是临床使用抗生素时常见的一种不良反应,其发生率因人群及抗生素种类的不同^[19]。近几年由于抗生素滥用造成的新生儿肠道菌群失调有很多报道^[20],抗生素的使用,肠道菌群会发生失衡,双歧杆菌、乳酸杆菌等有益菌的比例降低,影响了患儿的健康。临床常用口服益生菌,如双

歧杆菌、乳酸杆菌等的制剂来恢复肠道正常菌群^[21], 肠道菌群组成的变化与肺部疾病之间存在联系, 最新研究已经证实了肠道菌群在急性呼吸窘迫综合征发病中的关键作用^[22]。所以确保肠道菌群的稳定性、建立良好肠道微环境, 不但能够有效改善患儿腹泻、腹痛等症状^[23], 对呼吸系统疾病的恢复也有益处。在对肠道菌群影响的研究中, 本研究选取了肠道常见肠球菌、大肠杆菌、双歧杆菌、乳酸杆菌作为观察对象, 结果表明肺炎链球菌感染的模型组、头孢曲松组大鼠肠道乳酸杆菌和双歧杆菌数量减少, 肠球菌和大肠杆菌数量增多, 继而可能引起菌群失调, 使肠道微生态环境失衡; 而抗复感颗粒能有效降低头孢曲松对肠道菌群的影响, 抑制肠球菌、大肠杆菌数量、促进乳酸杆菌增多, 减少肠道菌群失衡的发生。

综上, 抗复感颗粒不仅抑制肺炎幼龄大鼠肺组织炎症, 降低肺组织炎性细胞因子水平, 而且不引起肠道微生态的紊乱, 本研究结果为更好的发挥中药在防治小儿细菌性肺炎中减少并发症、及抗生素引起的微生态变化, 减少复发或复感儿对疾病易感性等优势作用提供实验依据。

利益冲突: 无。

参 考 文 献

- [1] 陈树霞. 小儿肺炎继发腹泻相关因素分析及微生态制剂的预防作用分析[J]. 系统医学, 2019, 4(24): 100-102.
- [2] 江维. 小儿肺炎继发腹泻影响因素探讨及预防措施[J]. 中国现代药物应用, 2020, 14(16): 52-54.
- [3] 刘惠瑾, 黄春霞, 牛艳慧. 中西药结合治疗婴幼儿支气管肺炎抗生素相关性腹泻的临床疗效观察[J]. 中成药, 2017, 39(5): 1103-1105.
- [4] 宣勤. 新生儿肺炎继发腹泻防治中应用益生菌的临床效果分析[J]. 临床医药文献电子杂志, 2017, 4(103): 20243-20246.
- [5] 郑旭锐, 杨宇, 郑秀丽, 等. 从肺肠微生态变化研究肺与大肠的相关性[J]. 中医杂志, 2011, 52(10): 865-867.
- [6] 吴国琳, 余国友, 卢雯雯. 肠道微生态的中医本质探讨[J]. 中华中医药学刊 2015, (11): 2586-2588.
- [7] 龚敏阳, 伍小燕, 莫小林, 等. 抗复感颗粒的质量标准考察[J]. 北方药学, 2016, 13(7): 4-5, 10.
- [8] 张君田, 杜冠华主编. 现代药理实验方法[M]. 第2版. 北京: 协和医科大学和中国医科大学联合出版社, 2012: 1420-1421.
- [9] Nair AB, Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human[J]. J Basic Clin Pharmacy, 2016, 7(2): 27-31.
- [10] 段柏青. 小儿肺炎继发性腹泻发生的影响因素分析[J]. 山东医学高等专科学校学报, 2020, 42(6): 464-466.
- [11] 方秀兰, 李小霞, 林燕. 小儿肺炎继发性腹泻危险因素分析及综合护理[J]. 皖南医学院学报, 2016, 35(3): 297-300.
- [12] 陈红琴, 徐俊杰. 肠道菌群变化对肠道免疫的影响及与小儿迁延性、慢性腹泻的关系[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(7): 1690-1692.
- [13] 王秀娟. 醒脾养儿颗粒治疗小儿肺炎继发性腹泻的效果[J]. 中国城乡企业卫生, 2020, 35(1): 98-99.
- [14] 李风峰, 孟朋民, 吕建东, 等. 喜炎平注射液联合布拉氏酵母菌散剂治疗肺炎继发腹泻患儿疗效观察[J]. 河北医药, 2020, 42(5): 761-763.
- [15] 李伟伟, 南俊国, 吴要伟, 等. 抗复感合剂 I 号对婴幼儿肺炎肠道厌氧菌群影响研究[J]. 亚太传统医药, 2012, 8(8): 52-55.
- [16] 高延秋, 张华, 刘敏, 等. 重症肺炎患者外周血 IL-6 和 IL-18 水平的检测[J]. 郑州大学学报(医学版), 2015, 50(4): 555-558.
- [17] 陈棉, 王伟杰, 谢维维, 等. 支气管肺炎患儿 IL-6、IL-8、CRP 等感染标志物的变化及临床意义分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(18): 4207-4209.
- [18] 周燕萍, 邱明义, 胡作为, 等. 沙参麦冬汤对放射性肺炎大鼠血浆 IL-6, TNF- α , TGF- β 1 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(16): 165-168.
- [19] Corkiewicz G. Nosocomial and antibiotic-associated diarrhea caused by organisms other than clostridium difficile[J]. Int J Antimicrob Agents, 2009, 33(Suppl 1): S37-S41.
- [20] 卢蓉, 马科. 双歧杆菌乳杆菌三联活菌片联合头孢唑肟钠治疗新生儿抗生素相关性腹泻的疗效[J]. 医学综述, 2016, 22(22): 4552-4555.
- [21] Goldenberg JZ, Lytvyn L, Steurich J, et al. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea[J]. Cochrane Datab Syst Rev, 2015, 22(12): 356-361.
- [22] Vignesh R, Chinnambedu R, Zaw H, et al. Could perturbation of gut microbiota possibly exacerbate the severity of COVID-19 via cytokine storm?[J]. Front Immunol, 2021, 11: 607734.
- [23] 邓小云, 王海涛. 小儿肠道外感染性疾病应用抗生素后肠道菌群失调的相关研究[J]. 中外医疗, 2018, 37(31): 91-92, 95.

(收稿: 2019-11-08 在线: 2021-10-08)

责任编辑: 白 霞