

· 基础研究 ·

针刺与艾灸对哮喘大鼠肺功能及
气道炎症的影响周竞颖¹ 来奕恬¹ 任 玲¹ 邱冉冉² 来要水³ 张国山¹ 刘 密¹

摘要 目的 观察针刺与艾灸改善哮喘大鼠肺功能及气道炎症的作用, 并比较疗效差异。方法 将 48 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、针刺组和艾灸组, 每组 12 只。采用卵清白蛋白致敏和雾化激发制备哮喘大鼠模型。造模成功后, 针刺组和艾灸组大鼠分别给予双侧“肺俞”穴针刺与艾灸干预 30 min, 每天 1 次, 连续 14 天。干预结束后, 使用肺功能测定仪测定大鼠肺功能 [最大呼气流量 (PEF)、肺阻力 (RL)、动态肺顺应性 (Cdyn)、呼出 25 % 肺活量时最大呼气流量 (FEF 25 %)、用力呼气量占用力肺活量比 (FEV/FVC)、最大呼气中期流量 (MMEF)]; 分别经 HE 和 Masson 染色后, 光镜下观察大鼠肺组织的病理形态学变化及胶原沉积程度; 运用酶联免疫吸附法检测各组大鼠肺组织中半胱氨酸白三烯 (LT)、白介素 (IL)-17、IL-4、IL-13、IL-33、IL-5、胸腺基质淋巴细胞生成素 (TSLP)、前列腺素 D2 (PGD2) 表达。结果 与正常组比较, 模型组 PEF、Cdyn、FEF 25 %、FEV/FVC、MMEF 下降, RL、胶原纤维沉积、肺组织中 LT、IL-17、IL-4、IL-13、TSLP、IL-33、PGD2、IL-5 表达增加 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较, 针刺组大鼠 FEF 25 %、FEV/FVC 增加, 胶原纤维沉积、肺组织 LT、IL-17、IL-4、IL-13、TSLP、IL-33、PGD2、IL-5 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$); 艾灸组大鼠 Cdyn、FEF 25 %、MMEF 增加, 胶原纤维沉积、肺组织 IL-17、IL-4、IL-13、TSLP、IL-33、IL-5 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与艾灸组比较, 针刺组大鼠肺组织中 LT、IL-13、PGD2、IL-5 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。结论 针刺与艾灸“肺俞”穴均能改善哮喘模型大鼠的肺组织损伤、肺功能及气道炎症; 且两者在改善肺功能和气道炎症的相关指标上存在一定差异性。

关键词 哮喘; 针刺; 艾灸; 肺功能; 气道炎症; 中医

Effects of Acupuncture and Moxibustion on Lung Function and Airway Inflammation in Asthmatic RatsZHOU Jing-ying¹, LAI Yi-tian¹, REN Ling¹, QIU Ran-ran², LAI Yao-shui³, ZHANG Guo-shan¹, and LIU Mi¹

1 College of Acupuncture-Moxibustion-Tuina and Rehabilitation, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha (410208); 2 Department of Obstetrics and Gynecology, The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha (410007); 3 Department of Chinese Medicine, Capital Medical University Electric Power Teaching Hospital, Beijing (100073)

ABSTRACT Objective To observe the effect of acupuncture and moxibustion on lung function and airway inflammation in asthma rats, and to compare and observe the difference in curative effect. **Methods** Totally 48 SD rats were randomly divided into normal group, model group, acupuncture group and moxibustion group, 12 rats in each group. Except the normal group, the asthma model was established by ovalbumin sensitization and aerosol challenge. After the model was established, rats in the acupuncture and moxibustion groups were treated with acupuncture and moxibustion at bilateral "Feishu" (BL 13) points for 30 min respectively, one time per day, the

基金项目: 湖南省自然科学基金项目 (No. 2021JJ30513); 湖南省教育厅科学研究项目 (No. 20B444); 国家自然科学基金项目 (No. 81603705); 中国博士后科学基金项目 (No. 2107M612567); 2021 年校级研究生培养质量工程项目 (No. 2021CX42)

作者单位: 1. 湖南中医药大学针灸推拿与康复学院 (长沙 410208); 2. 湖南中医药大学第一附属医院妇产科 (长沙 410007); 3. 首都医科大学电力教学医院中医科 (北京 100073)

通讯作者: 张国山, Tel: 0731-85381117, E-mail: tcmzgs@163.com

DOI: 10. 7661/j. cjm. 20220214.103

course was 14 consecutive days. After the end of the intervention, the pulmonary function of the rats was measured by pulmonary function analyzer, included peak expiratory flow (PEF), lung resistance (RL), dynamic lung compliance (Cdyn), forced expiratory flow 25% (FEF 25%), forced expiratory volume / forced vital capacity (FEV/FVC), maximal mid-expiratory flow (MMEF). The pathological changes and the degree of collagen deposition in the lung tissue of the rats were observed by light microscope after HE and Masson staining respectively. The levels of leukotrienes (LT), interleukin (IL)-17, IL-4, IL-13, IL-33, IL-5, thymic stromal lymphopoietin (TSLP) and prostaglandin D2 (PGD2) in the lung tissues of rats were measured by Elisa. **Results** Compared with the normal group, PEF, Cdyn, FEF 25%, FEV/FVC, MMEF decreased, RL, deposition of collagen fibers and lung tissue LT, IL-17, IL-4, IL-13, TSLP, IL-33, PGD2, IL-5 expression increased ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the model group, FEF 25% and FEV/FVC increased, deposition of collagen fibers, lung tissue LT, IL-17, IL-4, IL-13, TSLP, IL-33, PGD2 and IL-5 expression in the acupuncture group ($P<0.05$, $P<0.01$). The Cdyn, FEF 25% and MMEF increased, deposition of collagen fibers, lung tissue IL-17, IL-4, IL-13, TSLP, IL-33, IL-5 expression decreased in the moxibustion group ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the moxibustion group, lung tissue LT, IL-13, PGD2 and IL-5 expression decreased in the acupuncture group ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusions** Acupuncture and moxibustion "Feishu" (BL 13) acupoint could improve lung tissue damage, lung function and airway inflammation in asthmatic rats. Moreover, there are some differences in the dominant indicators of improving lung function and airway inflammation.

KEYWORDS asthma; acupuncture; moxibustion; lung function; airway inflammation; Chinese medicine

支气管哮喘简称哮喘,是一种慢性气道炎症性疾病,以呼吸道炎症细胞和细胞组分参与为主要特征^[1,2]。目前,我国哮喘患病率仍然呈现上升趋势,根据相关调查显示,20岁以上人群的哮喘患病率约为4.2%,预估我国哮喘患病总人数约为4 570万人^[3]。哮喘导致气道炎症和气道高反应性,轻中症哮喘治疗多以糖皮质激素等药物控制气道炎症,患者长期用药虽能改善过敏症状,但不良反应明显^[4,5]。针对重症哮喘可通过与胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)、白介素(interleukin, IL)-4、IL-13、IL-5等受体靶向结合的生物制剂抑制哮喘炎症发展,但也存在心脑血管意外等安全问题^[6]。

研究发现,针刺与艾灸治疗哮喘具有多靶点效应,均能够有效改善哮喘患者肺功能及气道炎症^[7-9]。针刺、艾灸作为中医学防治哮喘的常用方法,针刺长于解表宣肺、疏散风热,而艾灸善于活血散瘀、温补肺气,两者具有不同的治疗特点和相对特异性。针刺、艾灸作为两种不同的刺激方式会产生不同的生理变化,两者在治疗哮喘时可能存在着不同的治疗特点和效应优势。因此本研究选用哮喘大鼠模型,采用针刺和艾灸“肺俞”穴的方法,观察其对哮喘大鼠肺功能及相关炎症因子的影响,为比较针刺与艾灸“肺俞”穴治疗哮喘的效应差异提供更多的研究依据。

材料与方法

1 动物 SPF级SD大鼠48只,雌雄各半,7周龄,体重150~170 g,由湖南斯莱克景达实验动物

有限公司提供,生产许可证号:SCXK(湘)2019-0004,分笼饲养于湖南中医药大学实验动物中心,饲养温度20~25℃,湿度50%~70%。实验过程中对动物的操作和处理遵守《关于善待实验动物的指导性意见》的相关规定。本实验通过湖南中医药大学伦理委员会审查批准(No.LL2021032407)。

2 主要试剂与仪器 卵清白蛋白(美国Sigma公司,批号:A5503),氢氧化铝凝胶(Thermo Scientific 中国公司,批号:PI77161),IL-17、IL-4、IL-13、IL-33、IL-5、半胱氨酸白三烯(leukotrienes, LT)、TSLP、前列腺素D2(prostaglandin D2, PGD2)酶联免疫吸附试剂盒(武汉贝莱茵生物科技公司,货号:RA20117、RA20088、RA20034、RA21016、RA20487、RA20429、RA20062、RA20757)。SPECTRAMAX 多功能酶标仪(美国Devices Corporation 公司,型号:SpectraMax M3),小动物电子秤(上海佑科仪表有限公司,型号,YP1002),动物肺功能测定仪(北京拜安吉公司,型号:DSI BUXCO PFT),病理切片机(上海徕卡仪器有限公司,型号:RM2016),正置光学显微镜(日本NIKON,型号:Eclipse E200),自制雾化箱(60cm×60cm×40 cm),超声雾化吸入器(中国海尔公司,型号:YS-06),一次性毫针(0.3 mm×13 mm,北京中研太和有限公司),艾条(0.7 cm×12 cm,湖香艾生物科技有限公司)。

3 分组及造模 适应性喂养1周后,将48只SD大鼠用随机数字表法分为正常组、模型组、针刺

组和艾灸组, 每组 12 只。参考文献 [10, 11], 采用卵清白蛋白致敏并激发的方法制备哮喘大鼠模型。分别称取 5 g 卵清白蛋白与 50 g 氢氧化铝凝胶, 然后用 0.9% 的氯化钠溶液配置成容量为 500 mL 的混合液备用。实验第 1 天, 分别在大鼠双侧背部、腹股沟皮下各注射 0.2 mL 抗原液, 腹腔注射 0.8 mL 抗原液。实验第 8 天, 再以相同剂量和方法重复致敏。实验第 15 天开始, 除正常组外, 将其余各组大鼠放于自制的玻璃雾化缸中, 予以 1% 卵清白蛋白溶液雾化激发, 每次 20 min, 每天 1 次, 连续 1 周。雾化过程中进行观察, 若大鼠出现挠鼻抓面、烦躁不安、呼吸急促、腹式呼吸、口唇发绀等表现, 提示造模成功 [10, 11]。根据观察大鼠的行为和体征, 判定本实验各组大鼠模型均制备成功。

4 干预方法 正常组和模型组大鼠固定于鼠板上 30 min, 每天 1 次, 连续 14 天。造模成功后, 将针刺组大鼠固定于鼠板上针刺双侧“肺俞”穴 30 min; 将艾灸组大鼠固定于鼠板上艾灸双侧“肺俞”穴 30 min; 除正常组外 3 组大鼠上述干预结束 1 h 后, 分别予以 1% 卵清白蛋白溶液雾化 20 min, 每天 1 次, 连续 14 天。“肺俞”穴定位参照《实验针灸学》[12] 及拟人比照法选取。施灸时用艾灸架固定于施灸部位旁, 将定制的细艾条点燃后置于腧穴上方 3~5 cm 处 [13]。

5 观察指标及检测方法

5.1 行为学观察 每天观察并记录大鼠的精神状况、反应能力、活动度、摄食量、摄水量、大小便等一般行为学变化, 以及是否有挠鼻抓面、烦躁不安、呼吸急促、腹式呼吸、口唇发绀等哮喘急性发作样反应。

5.2 气道肺功能检测 干预结束后, 将实验大鼠用 10% 水合氯醛按 0.3 mL / 100 g 剂量腹腔注射麻醉后, 用小动物肺功能测定仪测定各组大鼠最大呼气流量 (peak expiratory flow, PEF)、肺阻力 (lung resistance, RL)、动态肺顺应性 (dynamic lung compliance, Cdyn)、呼出 25% 肺活量时最大呼气流量 (forced expiratory flow 25 %, FEF 25 %)、用力呼气量占用力肺活量比 (forced expiratory volume / forced vital capacity, FEV/FVC)、最大呼气中期流量 (maximal mid-expiratory flow, MMEF) 等指标, 用计算机肺功能分析软件分析肺功能。

5.3 肺组织病理学观察 气道肺功能检测结束后, 打开胸腔, 剪取部分右肺中段组织, 迅速将其浸入 4 % 多聚甲醛固定 24 h, 经乙醇脱水后, 置于 60 °C 蜡盒内浸蜡、包埋, 切片 (厚 4 μ m), 分别于

苏木素和伊红染液中染色、脱水、中性树脂固定、封片, 光镜下观察肺组织病理学改变。

5.4 肺组织胶原沉积观察 选取经固定、脱水、浸蜡包埋后的右肺中段组织, 切片 (厚度 4 μ m), 采用 Masson 法对胶原进行染色, 将肺组织进行抗原修复后, 用苏木素-氯化铁混合液避光染色 5 min 后, 滴加酸性乙醇分化液, 分化 5 s 后, 用 PBS 缓冲液漂洗 1 min, 滴加碱性氨水溶液进行返蓝 1 min, PBS 缓冲液漂洗 1 min, 滴加立春红染液染色 5 min, 滤纸吸去液体, 滴加磷钼酸溶液反应 1 min 后, 滤纸吸去液体, 滴加甲苯胺蓝染色液 1 min, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明、中性树脂封片。光镜下观察胶原纤维 (蓝色) 的分布情况, 并运用 Image J 图像处理软件分析各组胶原面积, 胶原沉积程度 = 胶原面积 / 组织总面积。

5.5 ELISA 检测肺组织中 LT、IL-17、IL-4、IL-13、TSLP、IL-33、PGD2、IL-5 表达 气道肺功能检测结束后, 剪取部分右肺中段组织, 剪碎组织后按重量 1:9 加入裂解液于匀浆器进行匀浆。裂解 30 min 后将裂解液移至 1.5 mL 离心管中, 在 4 °C 下 12 000 r/min 离心 5 min。取上清分装在 0.5 mL 离心管中并置于 -20 °C 保存。严格按照酶联免疫吸附试剂盒操作说明进行, 检测肺组织中 LT、IL-17、IL-4、IL-13、TSLP、IL-33、PGD2、IL-5 表达。

6 统计学方法 所有数据均使用 SPSS 20.0 统计软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 首先进行正态性、方差齐性检验, 满足正态性者, 组间比较采用 One-Way ANOVA, 方差齐时选择 LSD 法, 方差不齐时选择 Dunnett T3 法, 不满足正态性时选择秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠一般情况比较 整个实验过程中, 正常组大鼠精神状态良好, 反应灵敏, 毛发整齐、有光泽, 形体健壮, 呼吸节律整齐、均匀, 大小便正常, 口、鼻等部位无异常分泌物出现; 模型组大鼠在卵清白蛋白雾化激发后, 逐渐出现四肢抓挠口鼻、频繁点头、呼吸喘促、打喷嚏等哮喘发作样反应, 口、鼻部位可见白色黏性分泌物, 腹式呼吸明显, 腹肌收缩加深, 肛周可见浅色质稀粪便, 随着激发天数的增加, 大鼠出现精神萎靡或烦躁不安等异常表现, 毛色枯槁、无光泽; 针刺组和艾灸组大鼠在卵清白蛋白雾化激发后, 亦有上述反应, 但整体症状与模型组比较明显较轻。

2 各组大鼠肺功能比较 (表 1) 与正常组比较,

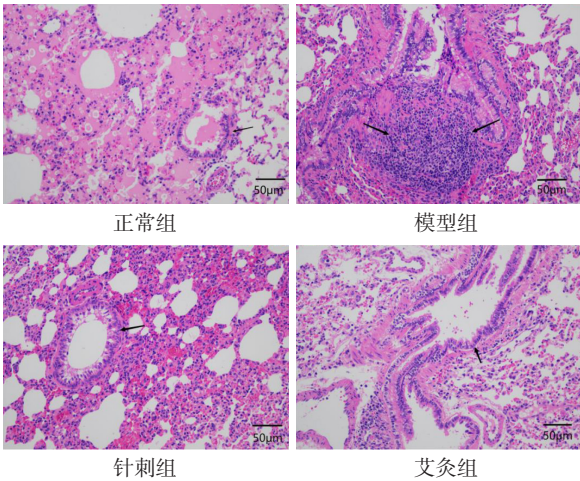
表 1 各组大鼠肺功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PEF (mL/s)	RL (cmH ₂ O*s/mL)	Cdyn (mL/cmH ₂ O)	FEF25 % (mL/s)	FEV/FVC (%)	MMEF (mL/s)
正常	6	10.91 ± 1.46	-1.56 ± 0.16	0.21 ± 0.06	5.76 ± 1.23	7.81 ± 1.20	10.29 ± 2.41
模型	6	5.97 ± 0.45*	-0.97 ± 0.17*	0.06 ± 0.02**	2.32 ± 0.25**	3.42 ± 0.44*	6.12 ± 1.44*
针刺	6	10.97 ± 3.41	-1.54 ± 0.34	0.13 ± 0.07	6.54 ± 3.17 [△]	8.53 ± 3.65 [△]	8.96 ± 1.62
艾灸	6	10.26 ± 2.32	-1.49 ± 0.32	0.18 ± 0.08 [△]	6.12 ± 2.44 [△]	6.22 ± 3.03	9.35 ± 2.45 [△]

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

模型组大鼠 PEF、Cdyn、FEF 25%、FEV/FVC、MMEF 下降 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), RL 升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 针刺组大鼠肺功能中 FEF 25%、FEV/FVC 升高 ($P < 0.05$); 艾灸组大鼠肺功能中 Cdyn、FEF 25%、MMEF 升高 ($P < 0.05$)。针刺组与艾灸组各指标比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 各组大鼠肺组织病理形态学比较 (图 1) 正常组大鼠肺组织结构正常, 肺泡壁结构完整, 支气管周围仅有少量炎症细胞浸润; 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织结构重度异常, 肺泡壁增厚, 肺重度实质化, 并可见支气管周围大量炎症细胞浸润; 与模型组比较, 针刺组和艾灸组大鼠肺泡壁增厚情况得以改善, 支气管周围和肺泡组织内部分炎症细胞减少。

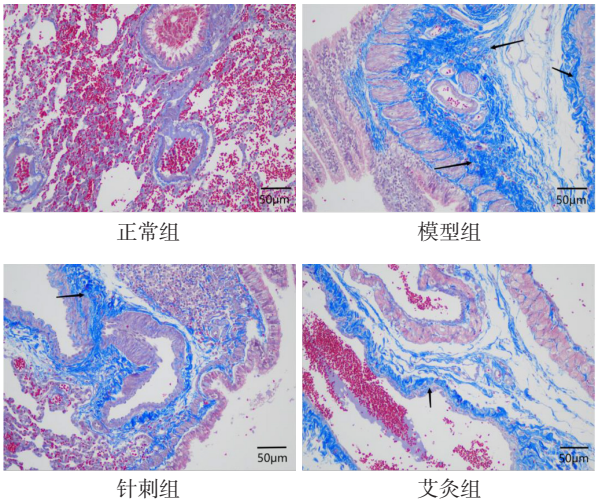


注: 箭头所示为肺组织炎症细胞浸润处

图 1 各组大鼠肺组织病理形态学比较 (HE, $\times 200$)

4 各组大鼠肺组织胶原沉积比较 (图 2, 表 2) 经 Masson 染色后, 胶原纤维呈蓝色, 肌纤维和红细胞呈红色。与正常组比较, 模型组大鼠肺组织胶原纤维沉积程度升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 针刺组与艾灸组大鼠肺组织胶原纤维沉积程度均降低 ($P < 0.01$); 针刺组与艾灸组大鼠比较, 胶原纤维沉积程度比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

5 各组大鼠肺组织炎症因子表达比较 (表



注: 箭头所示为肺组织胶原纤维沉积处

图 2 各组大鼠肺组织 Masson 染色后镜下观察比较 (Masson, $\times 200$)

表 2 各组大鼠肺组织胶原纤维沉积程度比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	胶原纤维沉积程度
正常	6	1.10 ± 0.56
模型	6	6.96 ± 0.45*
针刺	6	1.22 ± 0.89 [△]
艾灸	6	2.30 ± 2.16 [△]

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

3) 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织中 LT、IL-17、IL-4、IL-13、TSLP、IL-33、PGD2、IL-5 表达增加 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 针刺组大鼠肺组织中 LT、IL-17、IL-4、IL-13、TSLP、IL-33、PGD2、IL-5 表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 艾灸组大鼠肺组织中 IL-17、IL-4、IL-13、TSLP、IL-33、IL-5 表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与艾灸组比较, 针刺组大鼠肺组织中 LT、IL-13、PGD2、IL-5 表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

讨论

哮喘属于中医“哮证”“喘证”范畴, 中医学认为, 肺脏虚损是哮喘反复发作的根源。临床研究发现, 针灸“肺俞”穴可明显改善哮喘患者肺部炎症反应, 减轻哮喘的症状^[14, 15]。“肺俞”穴是肺脏之气输

表 3 各组大鼠肺组织中炎症因子相对表达量比较 (pg/g, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	LT	IL-17	IL-4	IL-13	TSLP	IL-33	PGD2	IL-5
正常	12	1 085.42 ± 252.25	70.8 ± 12.35	55.63 ± 18.38	15.34 ± 1.95	8.03 ± 2.10	32.16 ± 8.22	154.93 ± 33.38	48.71 ± 7.10
模型	12	2 889.43 ± 597.86*	122.22 ± 21.01*	102.16 ± 20.82*	34.22 ± 5.18*	15.9 ± 2.29*	57.35 ± 11.21*	275.66 ± 54.60*	83.31 ± 9.29*
针刺	12	1 820.53 ± 414.77 ^{△△}	88.05 ± 14.97 ^{△△}	63.68 ± 13.16 ^{△△}	21.81 ± 4.32 ^{△△}	11.75 ± 2.33 ^{△△}	40.04 ± 8.89 ^{△△}	174.82 ± 30.35 ^{△△}	54.33 ± 8.57 ^{△△}
艾灸	12	2 502.92 ± 231.92	96.09 ± 16.43 ^{△△}	78.15 ± 17.04 [△]	27.06 ± 4.43 ^{△△}	13.32 ± 1.59 [△]	42.33 ± 11.93 [△]	236.90 ± 37.7	69.07 ± 12.24 [△]

注:与正常组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$;与艾灸组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

注于背部的腧穴,与肺脏内外相应,具有调补肺气,补虚清热的作用。在针刺治疗哮喘临床选穴规律的研究中发现,肺俞是针刺治疗哮喘时使用频次最高的腧穴^[16, 17];本课题组在分析应用纯艾灸疗法治疗哮喘的临床选穴规律的研究中发现,肺俞仍是首选穴位^[18]。在中医学针灸理论中,针刺和艾灸属于两种不同的治疗方法,针刺是运用特定的施针手法,将针具刺入人体特定区域以达到治病效果,具有舒经活络、理筋止痛等作用;艾灸主要通过灸温对人体特定区域进行治疗,具有温经通脉、行气止痛等作用。由此可见,针刺、艾灸的启动机制存在明显差异。现代研究表明,针刺^[19]、艾灸^[20]均可改善哮喘。在针灸治疗效应的对比研究中还发现,艾灸具有更好的温热效应和增强免疫作用^[21],而针刺抗炎止痛作用更优^[22]。但对于哮喘这类与免疫反应及慢性炎症均密切相关的疾病来说,难以明确针刺和艾灸干预效应的具体优势和区别。故本研究选用“肺俞”穴进行针灸干预,分析针刺和艾灸哮喘大鼠“肺俞”穴对肺功能及炎症因子的影响,进一步对比针刺、艾灸治疗哮喘大鼠“肺俞”穴的效应优势和差异。

气道高反应性和可逆性气道阻塞是哮喘的主要特征,表现出气道对多种刺激物呈高敏感状态,支气管更易出现痉挛、黏液分泌、炎症反应及气道阻塞,因此全球哮喘防治倡议和我国哮喘诊断与防治指南都将肺功能作为检查和辅助诊断的重要手段^[23, 24]。肺功能是评估哮喘发作严重程度的客观参数,主要包括肺容积、肺通气以及肺顺应性等检测;肺容积检查反映患者呼吸气体量和呼吸功能^[25]。肺通气功能检查中 FEV1、FEV1/FVC 等指标可以判断患者是否存在阻塞性通气功能障碍,FEF25 %~75 %、MMEF 可以反映和判断大小气道阻塞的情况和部位^[26, 27],临床上使用 FEV1 和 PEF 来反映气道阻塞情况,以此作为哮喘诊断和分型判定的必备条件^[28, 29]。在呼吸周期中气流未阻断时测得 Cdyn 以及 RL,可反映肺组织的弹力、阻力以及胸腔的受压情况,从物理学方法分析呼吸运动,有助于全面了解哮喘的发病机制,但目前通过测定 Cdyn、RL 等物理学参数来评价针灸

治疗哮喘的报道仍较少^[30, 31]。由于大鼠与人的呼吸频率等指标有较大差异,加之动物不能配合,导致 FEV1、FEV1/FVC 等数据难以统计。因此本研究参考文献^[31]及动物肺功能仪参数设置等,测定大鼠呼气峰流量、肺动态顺应性、肺阻力等指标,作为哮喘造模以及针灸干预疗效的评价标准。本研究结果显示,与正常组比较,模型组 PEF、Cdyn、FEF 25%、FEV/FVC、MMEF、RL 的变化,表明模型组大鼠大小气道均有阻塞,存在阻塞性通气功能障碍,肺功能明显下降;针刺治疗后哮喘大鼠肺功能 FEV/FVC、FEF25 % 上调,艾灸后哮喘大鼠肺功能 Cdyn、MMEF、FEF25 % 也升高,表明针刺和艾灸治疗均可以改善哮喘大鼠气道阻塞和阻塞性通气功能障碍。

气道中淋巴细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞等多种炎症细胞聚集和浸润后,分泌多种炎症因子和炎症介质,它们之间相互作用,形成巨大的炎症反应网络,引起哮喘气道慢性炎症和气流受限。当机体接触到过敏原后,气道上皮细胞表达识别受体迅速活化产生 TSLP、IL-25、IL-33 等细胞因子,IL-33 可单独活化 2 型固有淋巴细胞 (type 2 innate lymphoid cells, ILC2s),而 IL-25 可能是通过刺激基质产生 IL-33 和 TSLP 使 ILC2s 激活,影响下游 Th2 细胞的活化^[32, 33],而后刺激 Th2 细胞分泌 IL-4、IL-13、IL-5 等细胞因子,IL-4 可以促进 B 淋巴细胞合成 IgE,IL-13 引起杯状细胞增生,黏液分泌和平滑肌细胞收缩,IL-5 促进气道嗜酸性粒细胞募集和迁移,进而诱导嗜酸性粒细胞、肥大细胞等炎症细胞的聚集和活化^[34]。活化的肥大细胞分泌 PGD2,进一步刺激 Th2 细胞释放,促进嗜酸性粒细胞趋化及脱颗粒激活形成气道炎症反应^[35, 36]。LT 由花生四烯酸代谢所产生,能够作用于气道嗜酸性粒细胞、平滑肌细胞和上皮细胞参与哮喘等呼吸道疾病,引起嗜酸性粒细胞在气道内聚集,引起平滑肌收缩以及气道上皮细胞损伤和增生^[37]。以中性粒细胞为主导的重症哮喘主要由 Th17 细胞分泌 IL-17,大量招募和活化中性粒细胞,使其释放弹性蛋白酶、氧自由基等^[38];进而刺激气道腺体分泌黏液,导致气道及肺组织损伤^[39, 40]。本实验结

果显示,模型组肺组织中 LT、IL-17、IL-4、IL-13、TSLP、IL-33、PGD2、IL-5 等含量明显高于正常组,提示哮喘模型大鼠肺组织呈高炎症反应,证实上述炎症因子与哮喘气道炎症反应有着密切的内在联系。与模型组比较,针刺、艾灸组哮喘大鼠气道炎症因子 IL-17、IL-4、IL-13、TSLP、IL-33、IL-5 的表达量均下降;与艾灸组比较,针刺组 LT、IL-13、PGD2、IL-5 表达量更低。由此可见,针刺和艾灸干预哮喘大鼠肺俞穴均能够降低哮喘气道炎症反应,且针刺组在降低气道炎症因子 LT、IL-13、PGD2、IL-5 的表达上更显著。

本研究结果显示,针刺和艾灸干预哮喘大鼠“肺俞”穴能够改善哮喘大鼠支气管周围炎症细胞浸润及胶原纤维沉积,对肺功能与肺组织炎症程度都有一定的调节作用,且针刺组在改善气道炎症因子 LT、IL-13、PGD2、IL-5 的含量效果更明显,艾灸能够有效调节哮喘大鼠肺动态顺应性,改善胸腔和气道的受阻情况。针刺与艾灸有不同的刺激特点,针刺属于机械性刺激,具有由点及线、由浅入深、靶点较小、范围较窄的刺激特点,而艾灸属温热性刺激,具有由点及面、由中散边、靶点较大、范围较广的刺激特点^[41]。哮喘责之于肺,本实验哮喘模型大鼠出现挠鼻抓面、呼吸急促、打喷嚏等肺部症状,提示其肺气不摄,肺虚受损;哮喘日久则易累及于脾,脾主四肢、肌肉,故而模型组大鼠出现四肢瘫软、行动迟滞等症状,又由于脾主运化水谷精微,大鼠还出现肛周浅质稀粪便等脾虚表现。针刺肺俞穴,可以快速调动全身气血,舒畅经络,宣肺益脾,而艾灸能够温通气血经脉,益肺补脾。因此,笔者推测针刺与艾灸改善哮喘大鼠肺功能和气道炎症情况存在差异,可能与两种干预方法的效应特点以及哮喘病证结合的动物模型有关,未来仍需进一步研究。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] Boulet LP, Reddel HK, Bateman E, et al. The global initiative for asthma (GINA): 25 years later[J]. Eur Respir J, 2019, 54 (2): 1900598.
- [2] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南(2020年版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2020, 43 (12): 1023-1048.
- [3] Huang K, Yang T, Xu J, et al. Prevalence, risk factors, and management of asthma in China: a national cross-sectional study[J]. Lancet, 2019, 394 (10196): 407-418.
- [4] 李为强, 郑晔, 姜晓峰. 气道上皮细胞在过敏性哮喘固有免疫反应中的作用研究进展[J/OL]. 中国免疫学杂志: 1-17[2022-10-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1126.R.20210708.1847.006.html>
- [5] 宋平, 石绍顺. 中西医治疗哮喘研究进展[J]. 实用中医内科杂志, 2021, 35 (2): 135-142.
- [6] Grayson MH, Feldman S, Prince BT, et al. Advances in asthma in 2017: mechanisms, biologics, and genetics[J]. J Allergy Clin Immunol, 2018, 142 (5): 1423-1436.
- [7] 韩健, 芦珊珊, 肖俊艳, 等. 针刺治疗支气管哮喘急性发作的多靶点效应研究[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33 (8): 3713-3715.
- [8] 付钰, 刘寨华, 王宝凯, 等. 针刺从肺肠论治对支气管哮喘患者肺功能的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2014, 20 (3): 364-367.
- [9] 白璐, 陈晖, 张璇. 基于“热证可灸”探讨艾灸对支气管哮喘发作期热哮证患者肺功能及血清炎症因子的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2021, 16 (10): 1783-1786, 1792.
- [10] 陈向华, 何海明. 艾灸“肺俞”“肾俞”对哮喘大鼠外周血 T 细胞及血清白介素的影响[J]. 针刺研究, 2017, 42 (2): 159-162.
- [11] Wang X, Gao Y, Yang Q, et al. Pingchuanning decoction attenuates airway inflammation by suppressing autophagy via phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin signaling pathway in rat models of asthma[J]. J Cell Biochem, 2019, 120 (3): 3833-3844.
- [12] 李忠仁主编. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 255-257.
- [13] 刘磊, 王敏君, 吴立斌, 等. 不同艾条直径和施灸距离对大鼠穴区皮肤表面温度的影响[J]. 针刺研究, 2020, 45 (5): 396-401.
- [14] 张智龙, 吉学群, 薛莉, 等. 针刺治疗支气管哮喘急性发作期临床观察[J]. 中国针灸, 2005, 25 (3): 14-16.
- [15] 王品, 冯文杰, 杨环玮. 电针灸疗法联合微波照射治疗支气管哮喘急性发作期临床观察[J]. 中国中医急症, 2015, 24 (11): 2020-2022.
- [16] 张垚, 杨继, 王强. 基于数据挖掘的支气管哮喘针刺组方选穴规律研究[J]. 山东中医杂志, 2020, 39 (3):

- 240–245.
- [17] 魏玉婷, 严兴科, 曹朝霞, 等. 基于肺功能评价的针灸干预哮喘选穴规律探讨 [J]. 上海针灸杂志, 2017, 36 (11): 1376–1380.
- [18] 张国山, 邱冉冉, 潘江, 等. 基于文献分析艾灸治疗哮喘的临床选穴规律 [J]. 湖南中医药大学学报, 2018, 38 (11): 1278–1282.
- [19] 韩君萍, 李双, 赵叶, 等. 针刺对支气管哮喘大鼠肺组织 c-fos 蛋白表达的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35 (11): 2892–2895.
- [20] 陈铭, 康佩芝, 董亚琴 ATP 及 P2X7 受体在三伏灸治疗支气管哮喘的作用机制研究 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2018, 16 (10): 91–94.
- [21] 张国山, 刘密, 邱冉冉, 等. 艾灸与针刺调节功能性消化不良大鼠胃肠动力障碍的对比研究 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27 (11): 2796–2798.
- [22] Goldman N, Chen M, Fujita T, et al. Adenosine A1 receptors mediate local anti-nociceptive effects of acupuncture [J]. Nat Neurosci, 2010, 13 (7): 883–888.
- [23] 刘传合, 李硕, 邵明军. 支气管哮喘患儿肺功能改变的特征 [J]. 中国实用儿科杂志, 2021, 36 (6): 412–416.
- [24] Reddel HK, Bacharier LB, Bateman ED, et al. Global Initiative for Asthma Strategy 2021: executive summary and rationale for key changes [J]. Eur Respir J, 2021, 59 (1): 2102730.
- [25] 李金英. 肺功能检查在儿童哮喘中的应用研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2010.
- [26] 谢宜俐. 持续小气道阻塞的哮喘儿童的小气道功能指标与 FEV1/FVC 相关性研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2021.
- [27] 韩振. 支气管哮喘小气道功能评价研究 [D]. 江苏: 苏州大学, 2020.
- [28] 吴海花, 王芳, 卢祥林. 34 例支气管哮喘缓解期肺功能的改变 [J]. 实用医技杂志, 2007, 14 (13): 1808.
- [29] Maltby S, Gibson PG, Powell H, et al. Omalizumab treatment response in a population with severe allergic asthma and overlapping COPD [J]. Chest, 2017, 151 (1): 78–89.
- [30] 韩玉霞, 杨晓旭, 张瑞娟. 持续气道正压通气对阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者气道阻力及肺动态顺应性的影响 [J]. 宁夏医学杂志, 2021, 43 (12): 1087–1090.
- [31] 蔡木禹, 林朝仙, 饶理强, 等. 四磨汤对过敏性哮喘豚鼠肺动态顺应性和气道阻力影响的实验研究 [J]. 中国医药导报, 2012, 9 (24): 5–7.
- [32] Halim TY, Steer CA, Mathä L, et al. Group 2 innate lymphoid cells are critical for the initiation of adaptive T helper 2 cell-mediated allergic lung inflammation [J]. Immunity, 2014, 40 (3): 425–435.
- [33] Gregory LG, Jones CP, Walker SA, et al. IL-25 drives remodelling in allergic airways disease induced by house dust mite [J]. Thorax, 2013, 68 (1): 82–90.
- [34] 刘春涛, 王曾礼, 冯玉麟, 等. 哮喘动物模型气道中白细胞介素 5 和 10 的动态变化及其意义 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2000, 23 (4): 239–242.
- [35] Walsh GM. Recent developments in the use of biologics targeting IL-5, IL-4, or IL-13 in severe refractory asthma [J]. Expert Rev Respir Med, 2018, 12 (11): 957–963.
- [36] Wawrzyniak P, Wawrzyniak M, Wanke K, et al. Regulation of bronchial epithelial barrier integrity by type 2 cytokines and histone deacetylases in asthmatic patients [J]. J Allergy Clin Immunol, 2017, 139 (1): 93–103.
- [37] Yoshihara S, Kikuchi Y, Saitou M, et al. Efficacy of a leukotriene receptor antagonist for pediatric cedar pollen allergy complicated by asthma [J]. Exp Ther Med, 2017, 14 (4): 3233–3238.
- [38] 李亭亭, 柯越海, 程洪强. 中性粒细胞在哮喘中作用的研究进展 [J]. 浙江大学学报 (医学版), 2016, 45 (5): 544–549.
- [39] Bowatte G, Lodge CJ, Knibbs LD, et al. Traffic-related air pollution exposure is associated with allergic sensitization, asthma, and poor lung function in middle age [J]. J Allergy Clin Immunol, 2017, 139 (1): 122–129.
- [40] Hammad H, Lambrecht BN. The basic immunology of asthma [J]. Cell, 2021, 184 (6): 1469–1485.
- [41] 方园, 范丽红, 黄河, 等. 艾灸与针刺疗法的差异分析 [J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40 (9): 1070–1076.

(收稿: 2022-11-10 在线: 2023-03-29)

责任编辑: 邱禹