

浅谈隔药饼灸对慢性支气管炎大鼠 Eotaxin、IL-5 的影响

王宇菲 刘远翔 喻立 杨婧 陈艳^(通讯作者)

(长沙医学院 湖南长沙 410219)

【摘要】目的 探究隔药饼灸干预对慢性支气管炎大鼠 Eotaxin、IL-5 的影响。方法 根据干预方法的不同,将48只大鼠分为对照组、模型组、药物隔饼灸治疗组和核酪口服液治疗组。选用改良烟熏法建立大鼠慢性支气管炎模型,干预后,给药组连续灌胃给药14d;对肺组织病理切片观察,比较各组大鼠血清中 Eotaxin、IL-5 水平。结果 与空白组比较,模型组 Eotaxin、IL-5 水平增高显著 ($P < 0.01$)。与模型组比较,隔药饼灸组与核酪口服液组 Eotaxin、IL-5 均显著降低,但以隔药饼灸组最为明显 ($P < 0.01$)。结论 隔药饼灸可通过减少 Eotaxin、IL-5 水平以改善炎症反应环境治疗慢性支气管炎。

【关键词】隔药饼灸;慢性支气管炎;大鼠

【中图分类号】R562

Effect of moxibustion on Eotaxin and IL-5 in chronic bronchitis rats
Wang Yufei Liu YuanXiang Yu Li Yang Jing Chen Yan^(Corresponding author)
(Changsha Medical College Changsha, Hunan 410219)

[Abstract] Objective: To explore the effect of moxibustion intervention on Eotaxin and IL-5 in rats with chronic bronchitis. Methods According to the different intervention methods, 48 rats were divided into control group, model group, drug group of moxibustion treatment group and nuclear cheese oral liquid treatment group. A modified smoking method was used to establish rat chronic bronchitis model. After intervention, the treatment group was administered by gavage for 14d and compare the levels of Eotaxin and IL-5 in the serum of each group. Results Compared with the blank group, the Eotaxin and IL-5 levels increased significantly in the model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, Eotaxin and IL-5 were significantly reduced in the moxibustion group and nucleic acid oral liquid group, but the moxibustion group was the most obvious ($P < 0.01$). Conclusion The moxibustion can treat chronic bronchitis by reducing Eotaxin and IL-5 levels.

[Key words] decoction-cake moxibustion; Chronic bronchitis; rat

慢性支气管炎 (CB), 通常称为慢支, 是一种以长期咳嗽和咳痰为主要症状的呼吸系统疾病, 这些症状持续超过三个月, 并在两年内反复发作^[1]。在中医理论中, CB 可归类为“咳嗽”和“喘证”。尽管 CB 的具体病因尚未完全明确, 但炎症反应已被确认为其发展的核心机制, 伴随的黏液高分泌、气道表面脱水和气道重塑是炎症反应的次生现象^[2]。在嗜酸性粒细胞 (EOS) 成熟、激活及分化的过程中, 这些细胞与内皮细胞的发生相互作用继而引发气道上皮的损伤, 并促使炎症细胞的积累。在 EOS 的调控过程中, 多种细胞因子扮演着重要角色, 其中白细胞介素-5 (IL-5) 是一个主要的激活因子。此外, Eotaxin 作为一种趋化因子, 其通过与 EOS 表面的 C-C 趋化因子受体 3 (CCR3) 结合, 引导 EOS 向炎症部位移动。本研究探讨了隔药饼灸对慢性支气管炎大鼠模型中 Eotaxin 和 IL-5 水平的影响, 并试图揭示其潜在的治疗机制。隔药饼灸是一种传统的中医疗法, 涉及将中药研磨成粉末, 加入少量调和剂制成药饼, 并通过这种药饼进行艾柱灸的间接灸法。通过这种方法, 研究旨在为慢性支气管炎的治疗提供新的视角和可能的疗法。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 实验动物

选用 48 只健康、无特定病原体 (SPF) 级别的 SD 大鼠, 体重 180 ~ 220g, 雌雄各半。上述动物由长沙医学院动物实

验中心提供 (动物合格证编号 SYXK<湘>2022-0013), 分笼饲养于长沙医学院实验动物中心, 饲养温度 20 ~ 25℃, 湿度 50% ~ 70%。所有操作均符合长沙医学院实验动物伦理要求, 批准文号 D2023016。

1.1.2 药物

选用白芥子、延胡索、细辛、甘遂 (中药购于长沙医学院第一附属医院) 以 2: 2: 1: 1 的比例制成药粉, 粉碎后过 200 目筛, 装瓶备用。用鲜生姜汁调和后做成直径 2cm 的药饼。制成厚约 2 ~ 4mm、直径 1 ± 0.2 cm 的药饼。

1.1.3 仪器与试剂

主要仪器 BCD-318AT 型卧式冷冻箱;

主要试剂包括 艾柱选用“神灸 300 灸”, 产于苏州东方艾绒厂; 香烟 (批号); 脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS); 核酪口服液 (口服液溶剂, 10ml/支, 上海中华药业有限公司, 批号 230702; Eotaxin、IL-5 试剂盒 (均由武汉赛维尔生物有限公司提供)。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备

将 48 只大鼠随机分配至四个不同的组别, 每个组别包含 12 只大鼠, 分别为空白组、模型组、隔药饼灸组和核酪口服液组。参考相关文献^[3], 选用脂多糖联合烟熏法建立 CB 模型 SD 大鼠放置于特质的烟室 (50cm × 55cm × 50cm), 顶部留 4 个通气孔 (1cm × 1cm), 进行烟熏每日 2 次, 每次 30min, 两次烟熏间隔 4h, 连续 1 个月。其中第 1 天、14 天不做烟熏处理, 采用 LPS 滴鼻 3mg/kg。

1.2.2 选穴与施灸操作

(1) 选穴: I组 肺俞、风门; II组 大椎、定喘。定位参照十四五规划教材《实验针灸学》;

(2) 施灸操作: 在模型建立后的第一天, 使用 100g/L 的硫化钠溶液对大鼠的施灸区域进行去毛处理。去毛结束后选定穴位, 待穴位确定后将药饼放置于上方并用胶带固定, 然后再点燃的艾柱放置于药饼上, 艾柱燃尽后进行更换并重复上述操作。每个穴位连续进行 6 次灸疗 (每次约 20min), 每天执行一次。I 组和 II 组穴位反复交替进行灸疗, 时长为两周, 实验过程中, 除进行实验操作的大鼠以外的老鼠均捆绑束缚于鼠板上。

1.3 取材及指标检测

在实验过程中, 研究人员将细致监测大鼠的整体状况, 包括体重、皮毛外观和活力等指标。实验完毕后, 大鼠需禁食 12h 但可自由饮水, 随后通过腹腔注射 2% 戊巴比妥钠溶液 (2ml/Kg) 来进行麻醉。在麻醉状态下, 通过腹主动脉采集 5ml 的抗凝血样本, 并将样本在 4℃ 环境下静置 60 分钟。之后, 以 3000r/min 的速度离心 10min, 以分离出血清。最后, 将分离出的上清液储存于 -30℃ 的环境中以备后续分析, 待测;

大鼠支气管及肺组织的病理学变化, 在对大鼠处死后, 随即尽心解剖, 摘取大鼠的支气管及肺组织, 然后进行相关处理, 并经 HE 染色后使用显微镜进行观察。

血清中相关指标测定 取 -20℃ 保存的血清, 采用酶联免疫吸附测定 (ELISA) 法检测血清中 Eotaxin、IL-5 的水平。

1.4 统计分析

使用 SPSS22.0 分析 Eotaxin、IL-5 检测数据, 计量资料使用 t 检验, 组间比较使用单因素方差分析, 两两比较使用 t 检法, 用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

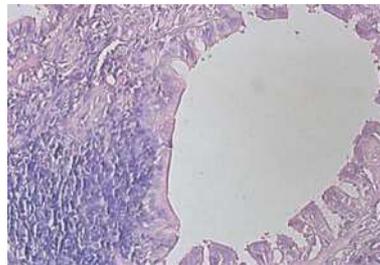
2.1 行为学观察结果

实验过程中, 空白组的大鼠精神状态良好、正常的饮食和反应敏捷, 皮毛光滑且有光泽, 排泄正常, 实验期间没有出现死亡现象。模型组大鼠摄食减少, 偏好安静, 活动减少, 特别是在模型建立后的第七天, 这些大鼠开始从口鼻排出少量分泌物, 并伴有咳嗽、喘息和急促呼吸等病理症状。隔药饼灸组大鼠造模后症状同模型组, 在经过艾灸治疗后, 咳嗽和呼吸困难症状显著改善, 分泌物减少, 活动频率有所增加。核酪口服液组大鼠经干预后, 健康状况呈现出向好的转变趋势。

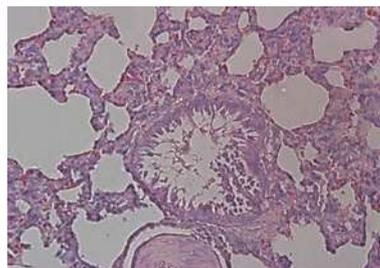
2.2 病理形态学观察结果

在显微镜下检查了四组大鼠的支气管肺部组织病理变化: 对照组的大鼠其肺泡与支气管均保持正常状态, 未见炎症细胞的侵入; 气管黏膜层也未出现炎症细胞的聚集 (图 1①)。模型组的大鼠则表现出明显的肺泡扩张现象, 并伴有炎症细胞的浸润, 同时观察到肺泡壁有所增厚, 气管壁周边及其黏膜层亦可见炎症细胞的分布, 此外, 在支气管腔内部还检测到了脱落的细胞 (图 1②)。隔药饼灸组大鼠支

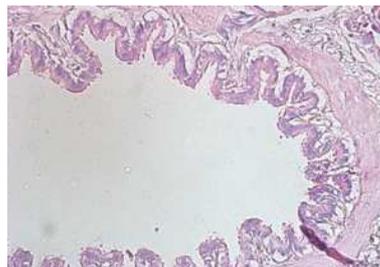
气管与肺泡结构大致保持正常状态, 仅见气管壁有轻微的充血和水肿现象, 且炎症细胞的数量显著减少。(图 1③)。核酪口服液组大鼠的肺泡及支气管正常, 管壁完整管腔无细胞脱落, 提示经核酪口服液治疗后, 支气管炎症性反应环境减轻 (图 1④)。



②



③



④

2.3 各组大鼠干预后血清 Eotaxin、IL-5 水平比较

与空白组比较, 模型组 Eotaxin、IL-5 水平增高显著 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 隔药饼灸组与核酪口服液组 Eotaxin、IL-5 均显著降低, 但以隔药饼灸组最为明显 ($P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠干预后血清 Eotaxin、IL-5 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Eotaxin (1×10^9 个)	IL-5 (pg/mL)
空白组 (n=12)	0.12 ± 0.04	5.89 ± 3.23
模型组 (n=12)	0.23 ± 0.05	11.47 ± 4.95
隔药饼灸组 (n=12)	0.12 ± 0.04 [#]	5.51 ± 4.78 [#]
核酪口服液组 (n=12)	0.17 ± 0.08 [#]	6.32 ± 1.82 [#]

注 *表示与对照组比较显示差异显著, #表示与模型组比较显示差异显著,

3 讨论

慢性支气管炎 (CB) 是一种慢性呼吸道疾病, 主要表现为持续的咳嗽和痰液分泌。这种疾病的病理基础是气道的炎症反应, 这种反应不仅能造成气道损伤, 还可能引发气道

结构的变化。在这一过程中, Eotaxin 与 IL-5 发挥着关键作用。作为 C-C 趋化因子的一种, Eotaxin 能够引导嗜酸性粒细胞向炎症部位聚集, 进而参与到炎症反应和细胞损害之中^[2]。而 IL-5 通过增强嗜酸性粒细胞的招募和激活, 建立了一个正向反馈机制, 从而加重了气道的炎症状态^[3]。CB 的成因可能包括遗传、环境和免疫因素, 这些因素激活炎症通路, 引发症状。了解 Eotaxin 和 IL-5 的作用对于制定治疗策略和改善预后至关重要。

研究显示, 隔药饼灸组大鼠的行为学状态及支气管肺组织结构改善程度均优于其它组, 究其原因可归为以下几点, 第一, 慢性支气管炎的特征是持续的气道炎症, 其中 Eotaxin 和 IL-5 在气道炎症和免疫细胞激活中扮演关键角色^[2-4]。Eotaxin 作为一种 C-C 趋化因子, 能够特异性地吸引嗜酸性粒细胞, 而 IL-5 则促进这些细胞的募集、成熟和活化^[5]。隔药饼灸通过降低这些炎症因子的水平, 减轻气道炎症, 从而缓解咳嗽、呼吸困难等症状。第二, 隔药饼灸结合了中药和艾灸的疗效, 利用艾灸的热力和光辐效应促进血液循环和代谢, 加速支气管粘膜及局部炎症的病理产物吸收与消散^[6]。此外, 艾灸还能通过神经-体液-内分泌免疫调节系统, 降低 Eotaxin 水平, 抑制其在靶组织的集聚, 提高免疫能力, 抑制炎症损伤^[7]。第三, 在穴位选择上, "肺俞"、"风门"、"大椎"、"定喘"等穴位的艾灸可以扶正祛邪、宣肺平喘, 这些穴位具有宣肺解表、行阳散寒、止咳平喘的功效。研究表明^[8], 这些穴位的艾灸可以减轻气道的 Eotaxin 浸润, 控制哮喘的炎症反应。第四, 药饼方选的白芥子散具有豁痰利气的作用, 能够降低血清中的 IgE、TNF- α 、IFN- γ 和 IL-4 水平, 减少气道炎症, 调节免疫功能^[10]。隔药饼灸的

温热效应和药物渗透作用共同作用于机体, 达到温通经脉、调和气血的效果, 且操作简便, 疗效明显。综上所述, 隔药饼灸通过降低炎症因子、调节免疫反应、促进局部炎症吸收和改善气道炎症, 从而有效控制慢性支气管炎的症状, 改善大鼠的呼吸状况。

研究还显示, 与空白组比较, 模型组大鼠 Eotaxin、IL-5 水平相对较高。与模型组比较, 隔药饼灸组与核酪口服液组大鼠 Eotaxin、IL-5 水平相对较低, 但以隔药饼灸组最为明显。综合来看, 在 CB 的发展中, 炎症扮演着关键角色, 而特定的炎症标志物如 Eotaxin 和 IL-5 在这一过程中尤为关键。Eotaxin 作为一种特定的嗜酸性粒细胞吸引因子, 在 CB 的启动和进展中发挥着显著作用。同时, IL-5 作为一种促炎细胞因子, 它的作用在于增强嗜酸性粒细胞的吸引、活化以及在气道中的积累, 从而加剧了炎症反应。实验中观察到, 模型组大鼠血清中 Eotaxin 和 IL-5 水平的上升, 这一现象可能指示了炎症活动的加剧^[9]。穴位隔药饼灸和核酪口服液治疗能够降低大鼠血清中的 Eotaxin 和 IL-5 水平, 这可能是因为隔药饼灸结合了中药和艾灸的疗效, 通过温热效应和药物渗透作用, 促进血液循环, 增强代谢能力, 加速支气管粘膜及局部炎症的病理产物吸收与消散^[6]。此外, 隔药饼灸可能通过神经-体液-内分泌免疫调节系统, 降低 Eotaxin 在靶组织的集聚, 提高免疫能力, 抑制炎症损伤^[7]。核酪口服液可能通过调节免疫功能, 减少气道炎症的产生。综上所述, 隔药饼灸和核酪口服液通过降低 Eotaxin 和 IL-5 水平, 减轻气道炎症, 为慢性支气管炎的治疗提供了新的策略。这些治疗方法的效果可能与它们的抗炎和免疫调节作用有关, 但具体的作用机制仍需进一步研究以阐明。

参考文献:

- [1] 姜艺楠, 李秀敏, 樊帅珂, 等. 基于中西医临床病证特点的慢性支气管炎动物模型分析[J]. 中药药理与临床, 2021, 37(04): 200-204.
- [2] 程越, 邱志新, 李为民. 慢性支气管炎发病机制研究进展[J]. 华西医学, 2017, 32(04): 606-611.
- [3] 王瑛. 气道滴入加烟熏法建立慢性支气管炎大鼠模型的实验研究[J]. 实用医药杂志, 2011, 28(7): 633-635.
- [4] Singh D, Bassi M, Balzano D, Lucci G, Emirova A, Anna Nandeuil M, Jellema G, Afolabi EK, Leaker B, Kornmann O, Michael Beeh K, Watz H, Govoni M. COPD patients with chronic bronchitis and higher sputum eosinophil counts show increased type-2 and PDE4 gene expression in sputum. J Cell Mol Med. 2021 Jan; 25(2): 905-918.
- [5] Brown JR, Kleimberg J, Marini M, Sun G, Bellini A, Mattoli S. Kinetics of eotaxin expression and its relationship to eosinophil accumulation and activation in bronchial biopsies and bronchoalveolar lavage (BAL) of asthmatic patients after allergen inhalation. Clin Exp Immunol. 1998; 114(2): 137-146.
- [6] 吴舒康, 赵中亭, 张丽娟, 等. 艾灸治疗慢性支气管炎的效应与机制研究进展[J]. 中医药临床杂志, 2022, 34(05): 977-980.
- [7] 张瑞雪, 黄震, 张庆萍, 等. 艾灸结合桂附煎和汤对过敏性痤疮患者特禀质转化积分及血清总 IgE 和血中嗜酸性粒细胞的影响[J]. 针刺研究, 2021, 46(09): 789-793.
- [8] 郑洁, 邵素菊, 何竹青. 针灸“肺俞”“大椎”“风门”对哮喘模型大鼠肺组织中嗜酸性粒细胞凋亡的影响[J]. 中医药信息, 2021, 38(01): 38-42.
- [9] 范磊, 王宇, 尹磊森, 等. 定喘穴穴名与定位源流考[J]. 上海针灸杂志, 2015, 34(02): 167-170.
- [10] 王艳宏, 樊建, 栾宁, 等. 白芥子散及其拆方对过敏性哮喘大鼠 Ig-E、IL-4、IFN- γ 和 TNF- α 的影响[J]. 中国药理学杂志, 2019, 54(18): 1491-1496.

作者简介: 王宇菲(2003-), 女, 汉族, 湖北省武汉市, 本科在读, 研究方向为慢性支气管炎的防治。

基金项目: 项目编号为湘教通〔2023〕237号-4094。