

## 还贝止咳方对肺炎链球菌致大鼠肺热的治疗作用

李媛<sup>1,2</sup>, 张雯霞<sup>1,2</sup>, 刘聪<sup>2</sup>, 王玉娥<sup>2</sup>, 杨伟晗<sup>2</sup>, 苗雨露<sup>2</sup>, 赵怀舟<sup>2</sup>, 康永<sup>2</sup>, 倪艳<sup>2\*</sup>

1. 山西中医药大学, 太原 030619

2. 山西省中医药研究院, 太原 030012

**摘要:** **目的** 观察还贝止咳方对肺炎链球菌致肺热模型大鼠的胸腺、脾脏指数, 炎性细胞及炎性因子的影响。**方法** SD幼年大鼠随机分为对照组、模型组、头孢呋辛酯片组、小儿肺热咳喘颗粒组及还贝止咳方的低、中、高剂量组, 采用鼻腔滴入肺炎链球菌的方法建立大鼠肺热模型, 造模前后监测大鼠体温, 评价大鼠肺热模型; 采用流式细胞仪及全血分析仪检测大鼠全血中的炎性细胞; 采用酶联免疫技术检测大鼠肺灌洗液(BALF)中的白细胞介素(IL-4、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-10)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、血清免疫球蛋白E(IgE)水平; 完整剥离大鼠脾脏和胸腺, 检测脾脏指数和胸腺指数。**结果** 与对照组比较, 模型组大鼠的体温明显升高( $P < 0.01$ ), 说明造模成功。与模型组比较, 还贝止咳方低、中、高剂量组大鼠体温均显著降低( $P < 0.05, 0.01$ ), 全血中的白细胞、嗜酸性粒细胞数目、Th/Ts比值均显著降低( $P < 0.05, 0.01$ ), CD<sup>3+</sup>CD<sup>4+</sup>、CD<sup>3+</sup>CD<sup>8+</sup>细胞比例显著上升( $P < 0.05, 0.01$ ); BALF中的IL-10、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-4、TNF- $\alpha$ 的水平明显降低( $P < 0.05, 0.01$ ); 且对IL-1 $\beta$ 及TNF- $\alpha$ 的下调作用优于阳性对照药; 脾脏指数明显升高( $P < 0.05, 0.01$ )。**结论** 还贝止咳方对细菌性大鼠肺热模型具有一定的治疗作用, 主要通过调节大鼠的免疫功能, 减轻炎性反应发挥作用。

**关键词:** 还贝止咳方; 肺炎链球菌; 肺热; 炎性因子; 免疫

中图分类号: R962.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2018)05-0788-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.05.012

## Effect of huanbeizhike recipe on lung heat model induced by *Streptococcus pneumoniae* in rats

LI Yuan<sup>1,2</sup>, ZHANG Wenxia<sup>1,2</sup>, LIU Cong<sup>2</sup>, WANG Yu'e<sup>2</sup>, YANG Weihang<sup>2</sup>, MIAO Yulu<sup>2</sup>, ZHAO Huaizhou<sup>2</sup>, KANG yong<sup>2</sup>, NI Yan<sup>2</sup>

1. Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030619, China

2. Shanxi Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030012, China

**Abstract: Objective** To observe the effect of Huanbei Zhike Recipe on thymus, spleen index, inflammatory cells, and inflammatory cytokines in lung heat model rats induced by *Streptococcus pneumoniae*. **Methods** SD young rats were randomly divided into control group, model group, Cefuroxime Axetil Tablets group, children's lung hot cough and asthma granule group and Huanbeizhike recipe lower, middle and high dose group. The rat lung heat model was established by the nasal drip of *Streptococcus pneumoniae*. The body temperature of the rats was monitored before and after modeling to evaluate the rat model of pulmonary hyperthermia. The flow cytometry and whole blood analyzer were used to detect the inflammatory cells in rat whole blood. The secretion levels of IL-10, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-4, TNF- $\alpha$  and IgE in rat lung lavage fluid (BALF) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The spleen and thymus were stripped completely, and spleen index and thymus index were detected. **Results** The body temperature of model group was significantly increased ( $P < 0.01$ ), indicating successful modeling. Compared with the model group, the body temperature, leukocyte, neutrophil number and Th/Ts ratio in the whole blood of Huanbeizhike recipe low, medium and high dose groups were significantly decreased and CD<sup>3+</sup>CD<sup>4+</sup> and CD<sup>3+</sup>CD<sup>8+</sup> increased significantly ( $P < 0.05$  and  $0.01$ ). The levels of IL-10, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-4 and TNF- $\alpha$  of BALF were significantly decreased ( $P < 0.05$  and  $0.01$ ) of Huanbeizhike recipe, and the down-regulation effect of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  was better than that of positive control. The spleen index of Huanbeizhike recipe

收稿日期: 2017-12-08

基金项目: 山西省重点研发计划(201603D321028)

第一作者: 李媛(1992-), 女, 在读硕士, 研究方向为中药制剂新技术新方法研究。Tel: 18234046955 E-mail: 18234046955@163.com

\*通信作者: 倪艳(1965-), 女, 主任药师。研究方向为中药化学及药效物质基础研究。Tel: 0351-4668016 E-mail: niyan\_01@hotmail.com

was significantly increased ( $P < 0.05$  and  $0.01$ ). **Conclusion** Huanbeizhike Recipe has a certain therapeutic effect on the bacterial rat pneumonia model, mainly through the regulation of the immune function of rats to reduce the inflammatory effect.

**Keywords:** Huanbeizhike Recipe; *Streptococcus pneumoniae*; lung heat; inflammatory factors; immunization

还贝止咳方来源于儿科肺热咳嗽的临床经验方,可用于治疗咳嗽变异性哮喘、喘息性支气管炎等。小儿肺热咳嗽是临床常见的呼吸道疾病,治疗难度大,易复发,若不及时治疗,病情加重,对患儿的神经、消化系统等均会造成影响<sup>[1]</sup>。研究表明,革兰阳性菌为导致细菌性肺炎最主要的病原菌,肺炎链球菌最为常见<sup>[2]</sup>。当机体的抵抗力下降,呼吸系统防御功能受损,该菌就可能侵入支气管及末梢肺组织,引起支气管肺炎。在临床上,小儿肺热咳嗽具有发热、咳嗽、喘息,同时伴有精神萎靡、食欲下降、气促,呼吸困难等症状<sup>[3]</sup>。近年来,临床上,西医治疗主要是使用抗生素类药物,使得细菌的耐药性也大幅度提升,导致以往敏感的抗菌药疗效下降。而中医认为小儿肺热咳嗽是由风携诸邪致痰多而引发,使小儿免疫功能下降,最终引起支气管炎等肺热症状,因此将山西省中医院的儿科经验方——还贝止咳方作为研究对象,通过还贝止咳方对肺热大鼠模型进行干预,检测其炎性细胞及炎性因子,探讨其作用机制。

## 1 材料

### 1.1 还贝止咳方的制备

还贝止咳方由还阳参、平贝母、苦杏仁、黄芩、地龙、枳壳、紫苏子、僵蚕、桃仁、乌梅、甘草11味药组成,还阳参采于山西省大同市山阴县,经检验符合2017版山西地方标准,其余药味均购于山西省中医院,经检验均符合《中国药典》2015年版。还贝止咳方提取物中含绿原酸( $0.32 \pm 0.08$ ) mg/g、总黄酮( $25.05 \pm 2.1$ ) mg/g,出膏率( $25.23 \pm 1.4$ )%。由山西省中医药研究院方剂研究所制成干膏,配成0.6、1.2、2.4 g生药/mL供大鼠实验用。

### 1.2 药物及主要试剂

头孢呋辛酯片(天心制药股份有限公司,批号161007),儿童一般用量为0.26 g,每天2次;小儿肺热咳喘颗粒(海南葫芦娃制药有限公司,批号160236),7岁以上小儿一次服用8 g,每天3次;还贝止咳方主要针对于3~15岁的儿童,其平均体质量约为26 kg,按体质量每天2.9 g(生药)/kg。

生理盐水(四川科伦药业股份有限公司,批号N14111704-2);白细胞介素(IL)-4、IL-1 $\beta$ 、肿瘤

坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、IL-6、IL-10、血清免疫球蛋白E (IgE) (货号170711-002a、170711-007a、170711-102a、170711-004a、170711-003a、170711-117a,欣博盛生物科技有限公司); Anti-Rat CD4、Anti-Rat CD8和Anti-Rat CD3 (货号46-0040、12-0084、11-0030,美国eBioscience公司)。

肺炎链球菌[CMCC (B) 31001,北京北纳创联生物技术研究院,批号16091813]。

### 1.3 主要仪器

DH-520全自动血液分析仪(加斯戴克医疗器械有限公司); Cytomics FC 500贝克曼流式细胞仪(美国Beckman Coulter有限公司); Bio Tek Synergy H1全功能微孔板检测仪(美国Bio Tek公司); SE402F奥豪斯电子天平(奥豪斯仪器上海有限公司)。

### 1.4 动物

SD种幼年大鼠100只,雌雄各半,体质量50~60 g,购自中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心,许可证号SCXK(军)2012-0004。

## 2 方法

### 2.1 肺炎链球菌混悬液的制备

将肺炎链球菌接种在血琼脂平板培养基,4℃冰箱保存。使用前,在无菌超净台上用无菌棉棒将细菌挑出,用无菌生理盐水稀释至适当浓度并检测600 nm吸光度( $A_{600\text{ nm}}$ )值为0.938。

### 2.2 肺炎链球菌致大鼠肺热模型的制备<sup>[4-5]</sup>及分组给药

幼年大鼠100只,雌雄各半,适应环境1周后,每天早晚监测体温,连续监测3 d。选择体温浮动小于0.5℃的大鼠纳入实验,随机分为对照组、模型组。模型组大鼠用乙醚吸入轻度麻醉后,给予 $A_{600\text{ nm}}$ 值为0.938肺炎链球菌菌液(0.5 mL/kg),用带有4号半针头的注射器(1 mL规格)将菌液缓缓滴入大鼠鼻腔,给菌速度为0.05 mL/min,每隔12 h给菌1次,使大鼠保持直立约20 s,连续3次。对照组鼻腔给予等体积生理盐水,操作同模型组。造模大鼠随机分为6组,模型组、头孢呋辛酯片(阳性西药,0.16 g/kg)组、小儿肺热咳喘颗粒(阳性中药,7.4 g/kg)组和还贝止咳方低、中、高剂量(6、12、24

g/kg) 组, 给药体积 1 mL/100 g, 每天 ig 1 次给药, 对照组给予等体积纯净水, 连续给药 7 d。

### 2.3 指标检测

**2.3.1 大鼠体温** 造模前 3 d, 每天早晚测定大鼠体温, 选择体温浮动小于 0.5 °C 的大鼠纳入实验, 同时也将其平均值作为基础体温; 鼻腔滴入肺炎链球菌后第 1 天, 检测体温变化, 即为造模后体温; 给药期间, 隔天检测各组体温变化。

**2.3.2 白细胞、嗜酸性粒细胞及 CD<sup>3+</sup>CD<sup>4+</sup>、CD<sup>3+</sup>CD<sup>8+</sup> 细胞水平检测** 末次给药 1 h 后, 大鼠 ip 7.5 mL/kg 的 20% 乌拉坦溶液, 采用腹主动脉取血法, 取血 5 mL, 放入抗凝管中, 摇匀, 流式细胞仪及全血分析仪检测其白细胞、嗜酸性粒细胞及 CD<sup>3+</sup>CD<sup>4+</sup>、CD<sup>3+</sup>CD<sup>8+</sup> 细胞数目。

**2.3.3 大鼠 BALF 中的 IL-4、IL-6、IL-10、IL-1β、TNF-α 及 IgE 水平** 于颈部正中切开暴露器官, 插入磨圆的 5 mL 注射器针头, 用 4 mL 生理盐水慢慢注入气管内, 反复抽吸几次, 将洗液抽出, 回收洗

液约 2 mL, 置于 5 mL EP 管中。将洗液静置 1 h 后, 3 000 r/min 离心 15 min, 收集上清液, 即得 BALF。采用酶联免疫吸附测定法检测 BALF 中的 IL-4、IL-6、IL-10、IL-1β、TNF-α 及 IgE 含量。

**2.3.4 脾脏及胸腺指数** 完整剥离大鼠的脾脏和胸腺, 立即用电子天平测定其质量, 计算脾脏指数和胸腺指数<sup>[6]</sup>。

### 2.4 数据统计

数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 统计分析采用 SPSS 22.0 软件进行, 两两比较采用 *t* 检验、组间比较采用方差分析。

## 3 结果

### 3.1 体温检测结果

造模前大鼠的体温相对较低; 鼻腔滴入肺炎链球菌后, 与对照组比较, 模型大鼠的体温明显上升, 差异显著 ( $P < 0.01$ ), 说明造模成功; 给药 3、7 d 后, 还贝止咳方低、中、高剂量组体温均明显降低, 与模型组比较, 差异显著 ( $P < 0.05、0.01$ )。见表 1。

表 1 大鼠体温变化 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Temperature changes in rats ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	体温/°C			
		造模前	造模后	给药 3 d 后	给药 7 d 后
对照	—	34.96±0.95	34.93±1.32	35.41±0.35	35.38±0.32
模型	—	35.09±1.42	36.32±0.62**	36.41±0.31**	36.40±0.63**
头孢呋辛酯片	0.16	34.76±0.83	35.97±0.54**	35.90±0.44 <sup>#</sup>	35.71±0.50 <sup>##</sup>
小儿肺热咳嗽颗粒	7.4	35.29±1.76	36.43±0.73**	36.13±0.49	35.88±0.62 <sup>#</sup>
还贝止咳方	6	34.95±1.41	36.23±0.63**	35.61±0.43 <sup>##</sup>	35.79±0.34 <sup>#</sup>
	12	35.22±1.07	36.22±0.50**	35.89±0.44 <sup>#</sup>	35.77±0.73 <sup>#</sup>
	24	34.93±1.32	36.51±0.44**	35.71±0.54 <sup>##</sup>	35.72±0.52 <sup>##</sup>

与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>##</sup> $P < 0.01$

<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs model group

### 3.2 白细胞、嗜酸性粒细胞及 CD<sup>3+</sup>CD<sup>4+</sup>、CD<sup>3+</sup>CD<sup>8+</sup> 细胞数目检测

白细胞、嗜酸性粒细胞结果见表 2。与对照组比较, 模型组大鼠全血中的白细胞、嗜酸性粒细胞数目显著升高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 说明造模成功; 与模型组比较, 给药组大鼠全血中的白细胞、嗜酸性粒细胞数目显著降低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05、0.01$ ); 各给药组之间无统计学差异。

CD<sup>3+</sup>CD<sup>4+</sup>、CD<sup>3+</sup>CD<sup>8+</sup> 细胞的检测结果见表 3。与对照组比较, 模型组 CD<sup>3+</sup>CD<sup>4+</sup>、CD<sup>3+</sup>CD<sup>8+</sup> 细胞比例均显著降低 ( $P < 0.01$ ), 且 Th/Ts (CD<sup>4+</sup>/CD<sup>8+</sup>) 比值显著上升 ( $P < 0.01$ ), 表明肺炎链球菌致大鼠

表 2 还贝止咳方对肺炎链球菌致大鼠肺热模型白细胞及嗜酸性粒细胞计数结果的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Results of leukocyte and eosinophil count in lung heat rat model caused by *Streptococcus pneumoniae* for each group ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	白细胞/(10 <sup>9</sup> ·L <sup>-1</sup> )	嗜酸性粒细胞/(10 <sup>9</sup> ·L <sup>-1</sup> )
对照	—	3.98±1.21	26.42±16.07
模型	—	5.64±2.07*	48.25±7.44*
头孢呋辛酯片	0.16	3.26±1.65 <sup>##</sup>	26.39±14.08 <sup>#</sup>
小儿肺热咳嗽颗粒	7.4	3.19±2.12 <sup>##</sup>	29.84±12.06 <sup>#</sup>
还贝止咳方	6	3.91±1.61 <sup>#</sup>	29.14±8.56 <sup>#</sup>
	12	3.25±0.98 <sup>##</sup>	29.48±18.10 <sup>#</sup>
	24	3.60±0.80 <sup>##</sup>	23.66±6.57 <sup>#</sup>

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>##</sup> $P < 0.01$

<sup>\*</sup> $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs model group

表3 还贝止咳方对肺炎链球菌致大鼠肺热模型全血中 CD<sup>3+</sup>CD<sup>4+</sup>、CD<sup>3+</sup>CD<sup>8+</sup>细胞水平的影响 (  $\bar{x} \pm s, n = 10$  )  
Table 3 Results of CD<sup>3+</sup>CD<sup>4+</sup>, and CD<sup>3+</sup>CD<sup>8+</sup> of whole blood in lung heat rat model caused by *Streptococcus pneumoniae* for each group (  $\bar{x} \pm s, n = 10$  )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	CD4 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> /%	CD8 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> /%	Th/Ts
对照	—	36.40±5.044	23.85±3.690	1.389±0.333
模型	—	29.38±3.667**	17.430±3.694**	1.968±0.487**
头孢呋辛酯片	0.16	33.97±3.021 <sup>#</sup>	23.260±5.605 <sup>##</sup>	1.345±0.262 <sup>##</sup>
小儿肺热咳喘颗粒	7.4	35.56±5.254 <sup>##</sup>	20.33±3.234	1.599±0.241 <sup>#</sup>
还贝止咳方	6	30.24±6.853	21.410±6.046	1.323±0.383 <sup>##</sup>
	12	32.97±5.885	21.850±4.960 <sup>#</sup>	1.393±0.241 <sup>##</sup>
	24	34.66±3.718 <sup>#</sup>	24.38±6.103 <sup>##</sup>	1.360±0.360 <sup>##</sup>

与对照组比较: \*\*P<0.01; 与模型组比较: <sup>#</sup>P<0.05 <sup>##</sup>P<0.01

\*\*P<0.01 vs control group; <sup>#</sup>P<0.05 <sup>##</sup>P<0.01 vs model group

肺热模型破坏了大鼠体内免疫细胞的相对平衡; 与模型组比较, 头孢呋辛酯片、小儿肺热咳喘颗粒、还贝止咳方高剂量组 CD<sup>3+</sup>CD<sup>4+</sup>, 头孢呋辛酯片、还贝止咳方中、高剂量组 CD<sup>3+</sup>CD<sup>8+</sup>细胞比例均显著上升 (P<0.05、0.01); 所有给药组的 Th/Ts 比值均显著下降 (P<0.05、0.01), 其中还贝止咳方低、中、高剂量组及头孢呋辛酯片组的比值较接近对照组, 可见还贝止咳方低、中、高剂量组对肺炎所导致免疫失衡的调节作用优于小儿肺热咳喘颗粒, 与头孢呋辛酯片的疗效相当。

### 3.3 BALF 中炎症因子检测

结果见表 4。与对照组比较, 模型组 BALF 中的 IL-10、IL-1β、IL-6、IL-4、TNF-α 的含量显著升

高 (P<0.05), 说明造模成功; 与模型组比较, 还贝止咳方低、中、高剂量组的 IL-1β、IL-6、IL-4、TNF-α 的水平明显降低, 低、中剂量组的 IL-10 水平显著降低, 差异具有统计学意义 (P<0.05), 高剂量组 IL-10 的水平具有下降趋势, 但差异无统计学意义。与头孢呋辛酯片组比较, 止咳方低、中、高剂量组的 IL-1β 水平呈降低趋势; 与小儿肺热咳喘颗粒组比较, 还贝止咳方低、中、高剂量组的 TNF-α 水平均呈降低趋势, 但差异无统计学意义。各组之间 IgE 的含量无明显差异。结果显示, 止咳方低、中、高剂量组对 IL-10、IL-1β、IL-6、IL-4、TNF-α 的水平均有明显的下调趋势, 且对 IL-1β 及 TNF-α 的水平下调作用优于阳性对照药。

表4 各组大鼠 BALF 中 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 等炎症因子表达水平的比较 (  $\bar{x} \pm s, n = 10$  )

Table 4 Expression levels of inflammatory factors (IL-1β, IL-6, TNF-α and so on) of BALF in lung heat rat model induced by *Streptococcus pneumoniae* for each group (  $\bar{x} \pm s, n = 10$  )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	IL-10/(ng·mL <sup>-1</sup> )	IL-1β/(ng·mL <sup>-1</sup> )	IL-6/(ng·mL <sup>-1</sup> )	IL-4/(ng·mL <sup>-1</sup> )	TNF-α/(ng·mL <sup>-1</sup> )	IgE/(ng·mL <sup>-1</sup> )
对照	—	26.990±8.596	84.957±30.971	30.822±15.770	80.368±19.367	104.939±36.839	18.042±3.535
模型	—	41.55±25.762*	135.493±65.312*	56.724±43.774*	120.643±67.131*	155.794±82.020*	20.440±7.563
头孢呋辛酯片	0.16	25.383±10.699 <sup>#</sup>	92.904±30.325 <sup>#</sup>	22.638±16.074 <sup>#</sup>	64.086±19.209 <sup>##</sup>	79.647±27.980 <sup>##</sup>	30.031±36.898
小儿肺热咳喘颗粒	7.4	25.967±12.067 <sup>#</sup>	89.064±49.640 <sup>#</sup>	29.379±32.859 <sup>#</sup>	74.822±40.754 <sup>##</sup>	102.573±54.068 <sup>#</sup>	20.440±12.575
还贝止咳方	6	22.550±7.028 <sup>##</sup>	68.707±24.648 <sup>##</sup>	27.296±11.660 <sup>#</sup>	63.127±20.131 <sup>##</sup>	94.385±21.958 <sup>##</sup>	19.321±12.299
	12	20.633±10.333 <sup>##</sup>	46.654±27.143 <sup>##</sup>	19.186±18.772 <sup>#</sup>	47.215±14.728 <sup>##</sup>	71.187±32.848 <sup>##</sup>	11.968±10.366
	24	34.467±12.121	62.368±28.336 <sup>##</sup>	26.913±16.420 <sup>#</sup>	65.044±27.459 <sup>##</sup>	76.918±33.456 <sup>##</sup>	23.157±14.704

与对照组比较: \*P<0.05; 与模型组比较: <sup>#</sup>P<0.05 <sup>##</sup>P<0.01

\*P<0.05 vs control group; <sup>#</sup>P<0.05 <sup>##</sup>P<0.01 vs model group

### 3.4 脏器指数检测

结果见表 5。与对照组比较,模型组的胸腺及脾脏指数显著降低 ( $P < 0.01$ );与模型组比较,给药组的脾脏指数均明显升高 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ),还贝止咳方的低、中、高剂量的上调水平趋于对照组,优于阳性对照药;各给药组的胸腺指数较模型组均有升高趋势,但无统计学差异。

表5 还贝止咳方对肺炎链球菌大鼠胸腺及脾脏指数的影响  
( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 5 Effects of thymus and spleen index in lung heat rat model caused by *Streptococcus pneumoniae* for each group ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ (g·kg <sup>-1</sup> )	胸腺指数/ (g·10 <sup>-2</sup> g <sup>-1</sup> )	脾脏指数/ (g·10 <sup>-2</sup> g <sup>-1</sup> )
对照	—	0.215±0.050	0.201±0.041
模型	—	0.168±0.019**	0.171±0.008**
头孢呋辛酯片	0.16	0.191±0.008	0.191±0.008 <sup>#</sup>
小儿肺热咳嗽颗粒	7.4	0.172±0.040	0.193±0.023 <sup>#</sup>
还贝止咳方	6	0.161±0.028	0.203±0.019 <sup>###</sup>
	12	0.179±0.027	0.192±0.019 <sup>#</sup>
	24	0.174±0.031	0.201±0.023 <sup>###</sup>

与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>###</sup> $P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>###</sup> $P < 0.01$  vs model group

## 4 讨论

临床上,细菌性肺炎是最常见的肺炎,也是最常见的感染性疾病之一,发病急骤,并有高热、咳嗽、寒战、铁锈色痰及胸痛等症状<sup>[7]</sup>,与温病临床常见证候类型肺热证相吻合。肺热证是温病临床常见的证候类型,主要由邪热壅肺、肺失宣降所致,四时皆有,而以冬春两季多发,基本特征为发热咳嗽、咯痰、胸闷胸痛、舌红苔黄、脉数等,相当于现代医学的急性肺炎、急性支气管炎等急性肺部感染疾病<sup>[8]</sup>。建立肺热证动物模型的方法有病毒性和细菌性,造模途径多采用鼻腔滴入法。温病学认为温邪侵袭人体具有从鼻而入的特点,且该方法也符合“温邪上受,口鼻而入”的中医理论<sup>[9]</sup>。因此,本实验将培养的肺炎链球菌滴入大鼠鼻腔,造模后短期内就可导致肺部的炎性病变,从而形成肺热证动物模型。造模前后对大鼠的体温进行检测,造模后大鼠的体温明显升高,活动减少,精神萎靡,毛糙,舌质红绛而干,尿少色黄,大便干燥且颜色较黑,呼吸时有轻微的喘鸣音,喘气粗重,个别大鼠

鼻周有粘性分泌物,偶有咳嗽,与肺热证的临床宏观体征表现基本相一致,说明造模成功。

胸腺是 T 淋巴细胞转化和成熟的重要场所,是中枢免疫器官;脾脏是机体最大的外周免疫器官,有大量的淋巴细胞和巨噬细胞,是机体细胞免疫和体液免疫的中心,胸腺指数与脾脏指数的高低变化可以反映机体免疫功能的状况<sup>[10]</sup>。本研究结果显示,还贝止咳方低、中、高剂量组能显著提高模型大鼠脾脏指数,胸腺指数也有上调的趋势,说明其能够增强模型大鼠的机体免疫功能。

研究表明,支气管肺炎患儿的免疫系统存在功能紊乱的现象,如细胞因子分泌异常、T 细胞亚群功能失调、体液免疫紊乱等<sup>[11]</sup>。方中还阳参、平贝母为君药,现代药理研究显示,还阳参和平贝母具有止咳、平喘、抗炎及抗菌等功效;方中黄芩、枳壳、桃仁等均含黄酮类成分,黄酮类成分具有抗菌、抗病毒、抗炎、抗过敏及免疫调节等作用,临床上用于治疗小儿肺炎具有显著疗效<sup>[12]</sup>。实验结果显示,Th 细胞功能减退、Ts 细胞功能亢进、Th/Ts 比值下降,T 细胞亚群功能低下且失调,从而导致机体细胞免疫功能紊乱,笔者认为,这是小儿支气管肺炎重要发病因素之一,同时也是引起机体体液免疫功能紊乱的重要因素。

T 淋巴细胞是体内重要的免疫细胞,分为 CD<sup>3+</sup>、CD<sup>3+</sup>CD<sup>4+</sup>和 CD<sup>3+</sup>CD<sup>8+</sup>亚群。CD<sup>3+</sup>CD<sup>4+</sup>细胞又称辅助性/诱导性 T 淋巴细胞(Th),Th 细胞通过释放多种细胞因子辅助 B 细胞和效应 T 细胞活化,促进体液和细胞免疫,从而调节机体的免疫功能<sup>[13]</sup>。Th 细胞存在 2 个亚群,Th1 细胞主要分泌 IFN- $\gamma$ 、IL-2 和 TNF- $\alpha$  炎性因子,Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-5、IL-6 和 IL-10 等炎症因子,激活 B 淋巴细胞合成 IgE 和 IgG。实验结果表明,模型组的 IL-4、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  和 IL-10 的含量均升高,可见 T 细胞亚群的分泌异常,细胞因子失衡使细胞免疫应答受抑制,影响机体对细胞内病原体清除,从而导致机体被感染,显示模型复制成功;还贝止咳方低、中、高剂量组均使 Th 细胞分泌炎症因子有显著的下调趋势,而对 B 淋巴细胞分泌的 IgE 无显著影响。文献研究显示<sup>[14]</sup>支气管肺炎的 Th 细胞受损,导致 B 淋巴细胞产生抗体的能力相对减弱,从而 IgA、IgG 的含量下降,对 IgE、IgM 含量的影响还需进一步研究,本实验结果与文献报道一致。综上所述,还贝止咳方具有减轻炎性作用、调节机体免疫的作用。

## 参考文献

- [1] 彭永红, 陈 蕾. 小儿清热止咳糖浆治疗小儿肺炎临床研究 [J]. 中医学报, 2016, 46(11): 3135-3136.
- [2] 庞 丹, 孙巧英, 伊 乐. 儿童支气管肺炎常见致病菌及耐药性临床分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2016(2): 221-223.
- [3] 王丽英, 其 刚. 宣肺清热化痰法治疗小儿肺炎喘嗽临床研究 [J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(6): 1505- 1507.
- [4] 刘聿迪, 柳长凤, 卢 江, 等. 基于"以药测证"评价大鼠细菌性肺热证候模型 [J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(9): 32-34.
- [5] 卢 江, 柳长凤, 刘聿迪, 等. 基于代谢组学技术的肺热证候模型评价方法研究 [J]. 中国基层医药, 2010, 17(1): 1-3.
- [6] 王朝兰, 刘向国, 方正清, 等. 补肺汤对 COPD 肺气虚证模型大鼠胸腺指数和脾脏指数的影响 [J]. 甘肃中医学院学报, 2011, 3: 1-4
- [7] 苗同艳. 肺炎的中医证候及中医药对肺炎链球菌感染大鼠的炎症因子水平影响的研究 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2015.
- [8] 陈贵廷. 最新国内外疾病诊疗标准 [M]. 北京: 学苑出版社 1991: 639.
- [9] 张登本. 中医学基础 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 247.
- [10] 刘 颖, 敬 岳, 郭丽丽, 等. 固本止咳中药对 COPD 模型小鼠脾、胸腺指数及 Th1/Th2 失衡的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2015(2): 504-506.
- [11] 程小丽, 陈 葳, 杨玉琮, 等. 支气管肺炎患儿机体免疫功能变化的分析 [J]. 免疫学杂志, 2012(6): 506-509.
- [12] 徐殿红, 陈永杰, 肖洪涛, 等. 黄芩中总黄酮药理作用与质量控制的研究进展 [J]. 医学信息, 2015, 28(19): 359.
- [13] Brown D M, Román E, Swain S L. CD4 T cell response to influenza infection [J]. Semin Immunol, 2004, 16 (3): 171- 177.
- [14] 程小丽, 陈 葳, 杨玉琮, 等. 支气管肺炎患儿机体免疫功能变化的分析 [J]. 免疫学杂志, 2012(6): 506-509.