

滋阴清热活血方联合激素对系统性红斑狼疮肾纤维化干预机制的研究*

林 丽¹, 徐锐煌¹, 吴 招¹, 邹楠婷¹, 杨 翔², 李 宁¹, 王洪云³, 万春平^{1△}

(1. 云南中医药大学, 云南 昆明 650500; 2. 楚雄州中医医院, 云南 楚雄 675099;
3. 保山中医药高等专科学校, 云南 保山 678000)

摘要: **目的** 研究滋阴清热活血方联合激素对 MRL/lpr 狼疮小鼠肾纤维化的影响, 揭示该方抗狼疮肾纤维化效应机制。**方法** 将 MRL/lpr 自发性狼疮小鼠按尿蛋白水平平均分为 5 组: 模型组、醋酸泼尼松组、滋阴清热活血方组、滋阴清热活血方加激素全量组、滋阴清热活血方加激素半量组。药物干预 4 周后, H&E 染色和 Masson 染色分别检测狼疮小鼠肾组织病理学改变和肾纤维变化情况; 免疫荧光法检测肾脏 IgG 免疫复合物沉积; Western blot 法测定模型肾脏 Smad4 和 Smad7 蛋白表达水平。**结果** 与模型组比较, 各治疗组小鼠肾脏病理损伤显著减少; Masson 染色结果显示, 与模型组比较, 滋阴清热活血方组和醋酸泼尼松组胶原沉积减少; 与滋阴清热活血方组比较, 滋阴清热活血方加激素全量组和滋阴清热活血方加激素半剂量组胶原沉积面积均减少。免疫荧光染色检测结果显示, 与模型组比较, 滋阴清热活血方组和醋酸泼尼松组肾脏免疫复合物沉积减弱; 与滋阴清热活血方组比较, 滋阴清热活血方加激素全量和半量组肾脏 IgG 免疫复合物荧光显著减少。与模型组比较, 滋阴清热活血方组、滋阴清热活血方加激素全量组和激素半剂量组肾脏 Smad4 蛋白显著下降; 滋阴清热活血方组、滋阴清热活血方加激素全量组和激素半剂量组肾脏 Smad7 显著增加, 其中, 中药联合激素的 2 组尤为显著。**结论** 滋阴清热活血方联合激素对 MRL/lpr 小鼠肾组织肾纤维化具有较好的改善作用, 其作用机制可能与抑制 Smad4 表达、上调 Smad7 蛋白表达有关, 该研究为临床滋阴清热活血方联合激素治疗系统红斑狼疮肾纤维化提供了生物学依据。

关键词: 滋阴清热活血方; 狼疮性肾炎; Smad4; Smad7; 肾脏纤维化; 中医药; 干预机制

中图分类号: R285.5; R259 文献标志码: A 文章编号: 1000-2723(2022)06-0076-08

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2022.06.016

Study on the Intervention Mechanism of Ziyinqingrehuoxue Formula Combined with Glucocorticoid Against Renal Fibrosis in Systemic Lupus Erythematosus

LIN Li¹, XU Ruihuang¹, WU Zhao¹, ZOU Nanting¹, YANG Xiang²,
LI Ning¹, WANG Hongyun³, WAN Chunping¹

(1. Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China;
2. Chuxiong Prefecture Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chuxiong 675099, China;
3. Baoshan College of Traditional Chinese Medicine, Baoshan 678000, China)

ABSTRACT: Objective To investigate therapeutic potential of ziyinqingrehuoxue formula (ZYQRHXF) combined the glucocorticoid in MRL/lpr lupus mice, and to reveal the mechanism of ZYQRHXF on anti-lupus renal fibrosis. **Methods** Mice with MRL/lpr spontaneous lupus were divided into 5 groups according to the level of proteinuria, glucocorticoid group, ZYQRHXF group, ZYQRHXF and glucocorticoid full volume group and ZYQRHXF and half-dose group, respectively. After

收稿日期: 2022-11-08

* 基金项目: 云南省科技厅-云南中医药大学应用基础研究联合专项资金项目[2018FF001(-037)]; 云南省教育厅治疗痹症中医中药工程研究中心资助项目(云教发[2022]70号)

第一作者简介: 林丽(1963-), 女, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 自身免疫病及常见疾病的证治规律研究。

△通信作者: 万春平, E-mail: wanchunping1012@163.com

4 weeks of drug intervention, histopathological damage of kidney and the deposition of IgG immune complexes were assessed by H&E staining and immunofluorescence, respectively. Kidney fibrosis was detected by Masson staining; the protein expression levels of Smad4 and Smad7 in the kidneys were detected by Western blot. **Results** Compared with the model group, the pathological damage of kidney in treatment group mice was significantly reduced; Masson staining results showed that collagen deposited were significantly decreased in prednisone acetate group, ZYQRHXF and Glucocorticoid full volume group and ZYQRHXF half-dose group when compared to the model group and ZYQRHXF group. The deposition of renal IgG immune complex were reduced in the ZYQRHXF and glucocorticoid full volume group and half-dose group. Compared with the model group, Smad4 protein was decreased significantly in the ZYQRHXF group, glucocorticoid full volume group and half-dose group. While Smad7 in the ZYQRHXF group, glucocorticoid full volume group and half-dose group was dramatic increased, especially in both the traditional Chinese medicine combined the glucocorticoid groups. **Conclusion** The ZYQRHXF combined the glucocorticoid could ameliorated renal fibrosis in MRL/lpr mice. Its mechanism of action was related to the inhibition of Smad4 expression and the up-regulation of Smad7 protein expression. This study provides a biological basis for clinical treatment of ZYQRHXF in renal fibrosis of lupus erythematosus.

KEY WORDS: Ziyinqingrehuoxue formula; lupus nephritis; Smad4; Smad7; kidney fibrosis; traditional Chinese medicine; intervention mechanism

狼疮性肾炎(lupus nephritis, LN)是我国常见的继发性肾脏病,以肾小球、血管、肾小管及其间质损害为其病变特征,可因急性或慢性进展为肾脏纤维化,严重可致肾功能衰竭,约有20%的LN患者可在5年内发展为终末期肾病^[1]。因此,积极控制狼疮活动、延缓LN病变发展进程、防止肾脏纤维化的发生具有重要的临床意义。

课题组前期研究表明,滋阴清热活血方能显著减少狼疮小鼠尿蛋白含量,明显改善肾脏病理损伤,降低肾组织VEGF含量,从而起到保护肾脏的作用^[2]。然而中药复方滋阴清热活血方对MRL/lpr狼疮小鼠肾组织纤维化的影响尚未明确,值得进一步研究。

激素仍是西医治疗系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)的主要药物,虽疗效显著,但毒副作用较为常见,如长期或大剂量使用会引起病毒、细菌感染和高血糖、骨质疏松、股骨头坏死等一系列副作用和并发症,严重者可导致患者死亡^[3]。本研究通过构建自发性MRL/lpr系统性红斑狼疮模型,研究滋阴清热活血方联合激素对MRL/lpr狼疮小鼠肾组织纤维化的影响,揭示该方抗狼疮肾纤维化效应机制,为滋阴清热活血方联合激素治疗肾纤维化提供生物学基础。

1 材料与仪器

1.1 实验动物 自发性MRL/lpr系统性红斑狼疮小鼠,7~8周龄,体质量20~22 g,雌性,由斯贝福(北京)生物技术有限公司提供,许可证号:scxk(京)2019-0010。饲养于昆明医科大学动物实验中心SPF级动

物房,温度 $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$,湿度 $55\% \pm 5\%$,12 h光暗循环,实验动物适应性养殖1周后使用。饲料和水均经过高温消毒杀菌处理,动物自由啃食。所有实验操作均按照实验动物有关条例严格进行。实验方案通过昆明医科大学动物实验伦理委员会审查。

1.2 药物及试剂 中药复方“滋阴清热活血方”由生地、知母、丹参、川芎、墨旱莲、黄柏等组成。中药饮片常规浸泡煎煮,过滤去杂质后,将药液装入旋蒸仪进行蒸馏水分处理,制成浸膏(1 g浸膏相当于2.8 g生药),置于冰箱 4°C 冷藏备用。醋酸泼尼松片购于浙江仙琚制药股份有限公司,产品批号201056。Smad4、Smad7蛋白抗体购于北京博奥森生物技术有限公司;ECL显色液购于北京普利莱基因技术有限公司;BCA蛋白定量试剂盒、RIPA裂解液、SDS-PAGE蛋白上样缓冲液($5\times$)购于上海碧云天生物技术有限公司;牛血清白蛋白(BSA)、丽春红染色液购于北京索莱宝科技有限公司;内参一抗: β -actin抗体购于北京中杉金桥生物技术有限公司;检测二抗:HRP标记通用型二抗购自美国CST公司;蛋白酶抑制剂cocktail、Phostop磷酸化蛋白酶抑制剂购自Roche;PVDF膜(0.45 m)、PVDF膜(0.22 m)均购自Millipore公司。

1.3 主要仪器 BRE05旋蒸仪购自佛山予华仪器科技有限公司;离心机购自德国Thermo Scientific Hearers;超低温冰箱(-80°C)由Thermo公司提供;低温离心机HITACH由CF-16RX公司提供;水浴锅由SANYO公司提供;紫外分光光度计由IMPLEN公司提供;垂直电泳槽、湿式转膜槽由BIO-RAD公司提

供;凝胶成像仪由 Tanon 公司提供。LEICA DM LS2 正置显微镜购自德国莱卡仪器有限公司;BM-IX 生物组织包埋机、CS-IV 型摊片烤片机、RS-18 生物组织全自动染色机购自湖北孝感医用仪器有限公司;Epoch 连续波长酶标仪购自美国 Bio-Tek 公司;自动荧光免疫分析仪购自上海速创诊断产品有限公司。

2 实验方法及评价

2.1 动物分组与给药 MRL/lpr 为系统性红斑狼疮自发小鼠模型,12周发病,16周疾病发病达高峰^[4]。于是在饲养11周后,根据尿蛋白浓度,平均分为5组,即模型组、激素(醋酸泼尼松)组、中药(滋阴清热活血方)组、中药加激素全量组、中药加激素半量组,10只/组。其中,激素组、中药组分别予醋酸泼尼松6 mg/kg 和滋阴清热活血方37.5 g/kg;中药加激素全量组和中药加激素半量组分别予醋酸泼尼松6 mg/kg、3 mg/kg 基础上,予滋阴清热活血方37.5 g/kg灌胃;模型组予等体积的生理盐水灌胃。1次/d,连续灌胃4周。小鼠给药剂量依据实验动物与人用药量的换算公式计算得出。

2.2 标本采集与指标检测

2.2.1 H&E 染色检测肾组织病理 将固定的肾组织依次经过75%、85%、95%、100%浓度梯度乙醇进行脱水处理,二甲苯透明,石蜡包埋,切成4 μm 薄片。苏木素-伊红(H&E)染色,封片,光学显微镜下观察肾脏组织病理损伤程度。

2.2.2 肾脏组织 Masson 染色检测肾纤维化 将肾组织常规脱蜡至水,37℃ Bouin 液中煤染2h,流水冲洗,依次经天青石蓝、Mayer 苏木素滴染,酸性乙醇分化,丽春红品红、钼磷酸处理、苯胺蓝染色,分色,脱水,脱色,封片,光学显微镜下观察。

2.2.3 免疫荧光检测肾组织免疫复合物沉积 将取出的肾组织 OCT 包埋,于冰冻切片机制片,丙酮固定15 min,BSA 封闭,PBST 置于摇床上洗5次后,滴加 Goat anti mouse IgG 抗体,室温避光1h,封片,荧光拍照。

2.2.4 蛋白免疫印迹法检测肾脏 Smad4、Smad7 的蛋白表达水平 运用 BCA 蛋白定量试剂盒对肾组织蛋白进行定量分析后,滴入上样缓冲液,100℃水浴15 min 让蛋白变性。按顺序对十二烷基磺酸钠-聚丙烯

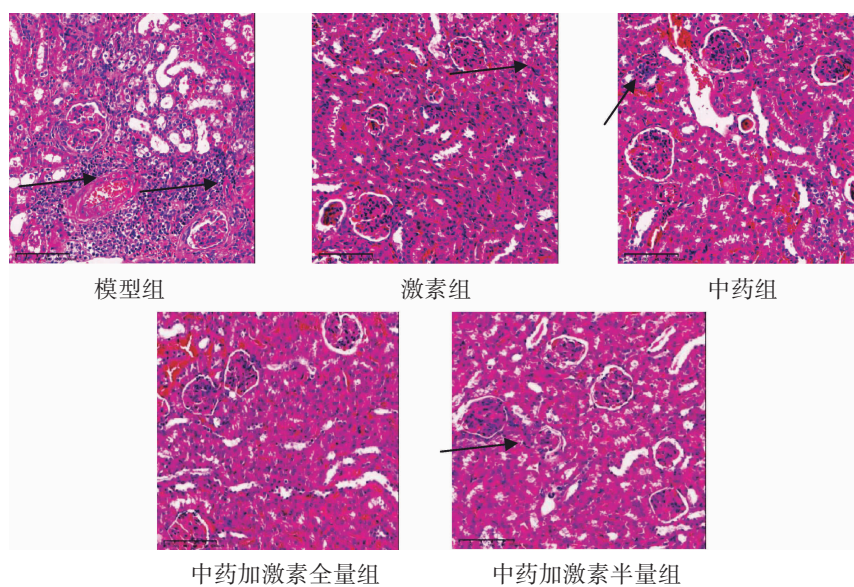
酰胺(SDS-PAGE)凝胶电泳进行蛋白分离;在280 mA、65 min 条件下,移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜;室温下用5%牛血清白蛋白封闭 PVDF 膜1h;稀释一抗(1:1 000)后,置于4℃冰箱孵育过夜,TBST 漂洗,5 min/次,共3次;稀释二抗(1:2 000)后,在室温下孵育120 min,TBST 漂洗,方法同一抗。以 GAPDH 为内参,用 ECL 试剂盒显影成像,测定条带灰度值采用 Image J 软件,通过计算目的条带与内参的灰度比值对 Smad4、Smad7 蛋白表达水平进行分析。

2.3 统计学分析 数据利用 SPSS 22.0 软件进行数据处理及统计分析,计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析(ANOVA)统计,全部数据均满足正态分布,采用最小显著性差异法(LSD)检验和 *t* 检验进行组间比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

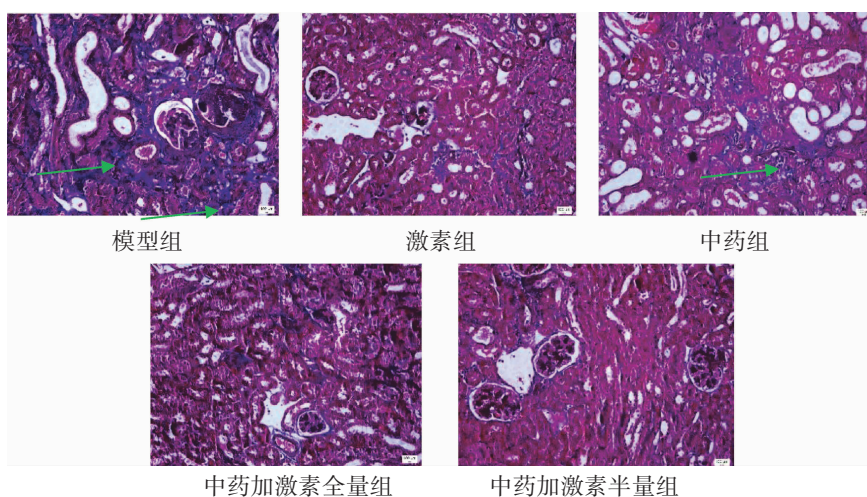
3.1 滋阴清热活血方联合激素对 MRL/lpr 小鼠肾组织病理变化的影响 H&E 染色结果显示,模型组肾小球萎缩或增生,大小不均匀,形态多不正常,肾小管上皮细胞空泡变性或坏死,部分肾小管为透明管型,间质水肿扩张明显,可见大量出血,炎性细胞浸润明显。与模型组比较,激素组肾小球大小不一,部分肾小球充血扩张,有少量肾小管为透明管型,间质有少量炎性细胞浸润;滋阴清热活血方组肾皮质有少量肾小球萎缩,间质有少量血管轻微充血扩张,肾脏病理较激素组轻;滋阴清热活血方加激素全量组肾小球结构比较完整,未见明显炎症、水肿,偶见轻微出血;滋阴清热活血方加激素半量组肾小球萎缩,肾小球内可见少量玻璃样变性,肾间质内有少量血管充血,病理情况略优于中药组,但次于中药加激素全量组。见图1。

3.2 滋阴清热活血方联合激素对 MRL/lpr 小鼠肾组织胶原沉积的影响 Masson 三色染色是评估肾脏纤维化程度的常用方法。为明确滋阴清热活血方对系统性红斑狼疮模型肾组织纤维化的影响,我们进一步采用 Masson 染色法检测肾组织胶原沉积。结果显示,模型组出现大面积蓝染区,滋阴清热活血干预后,胶原沉积减少;与模型组和中药组比较,激素组、滋阴清热活血方加激素全量组和滋阴清热活血方加激素半量组胶原沉积均有减少。见图2。



注:HE 染色 200 ×

图 1 滋阴清热活血方对 MRL/lpr 狼疮小鼠的肾脏病理变化的影响



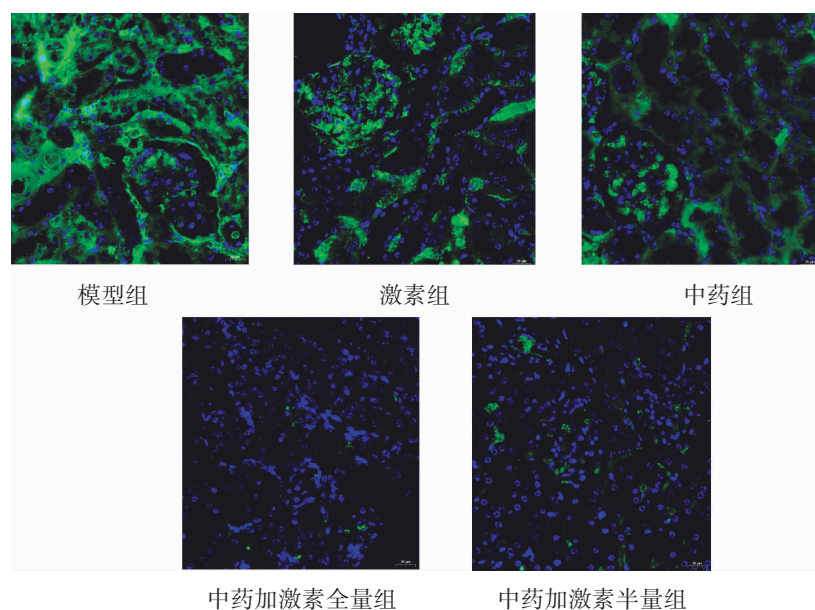
注:Masson 染色 200 ×

图 2 滋阴清热活血方对 MRL/lpr 小鼠肾组织纤维化的影响

3.3 滋阴清热活血方联合激素对 MRL/lpr 小鼠肾脏 IgG 沉积的影响 免疫荧光观察肾组织 IgG 免疫复合物沉积结果显示,模型组大部分肾小球毛细血管襻可见片状沉积的大量 IgG,以致几乎整个肾小球都受累,且荧光强度高,并可见荧光染色强阳性的肾小球;而各个治疗组肾组织 IgG 沉积均有不同程度减少,荧光强度减弱,荧光面积缩小,仅少部分肾小球可见荧光染色阳性。与模型组比较,滋阴清热活血方加激素全量组肾脏的 IgG 荧光面积缩小、荧光强度减弱尤为明显,其次为滋阴清热活血方加激素半量组和中药组,激素组肾脏的 IgG 荧光面积略有缩小、荧光强度

略有减弱。与激素组比较,滋阴清热活血方组、滋阴清热活血方加激素全量组和滋阴清热活血方加激素半量组肾脏的 IgG 荧光面积明显缩小、荧光强度明显减弱。见图 3。

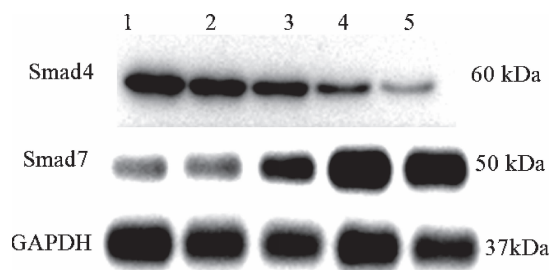
3.4 滋阴清热活血方联合激素对 MRL/lpr 小鼠肾组织 Smad4 和 Smad7 蛋白表达的影响 蛋白印迹杂交检测结果显示,与模型组比较,滋阴清热活血方组、滋阴清热活血方加激素全量组和滋阴清热活血方加激素半剂量组肾组织 Smad4 蛋白下降,其中滋阴清热活血方加激素全量组和滋阴清热活血方加激素半剂量组下调尤为明显。Smad7 蛋白检测结果显示,与模



注:FITC 染色 400×

图 3 滋阴清热活血方对 MRL/lpr 小鼠肾脏 IgG 沉积的影响

型比较,滋阴清热活血方组、滋阴清热活血方加激素全量组和滋阴清热活血方加激素半剂量组显著上调,其中以滋阴清热活血方联合激素 2 组增加更为显著。见图 4。



注:图中 1 为模型组,2 为激素组,3 为中药组,4 为中药加激素全量组,5 为中药加激素半量组。

图 4 滋阴清热活血方对 MRL/lpr 小鼠肾组织 Smad4、Smad7 蛋白表达的影响

4 讨论

中医传统古籍中无狼疮肾的病名记载,也无“肾纤维化”这一说法,而从该病患者常见临床表现看,可归属中医“虚劳”“水肿”等病证。对该病病机的认识,有研究认为,肾脏纤维化是慢性肾脏疾病中一个漫长的形成过程,该病迁延难治,据中医学“因虚致实”“久病必瘀”之理论,人体正气因病久而渐致虚损,体内邪毒瘀浊渐盛,积而不散,虚实夹杂,从而形成以正气虚

损为本,瘀毒内结为标的基本病机^[5-8]。肾脏纤维化与中医所说的“肾脏多虚”“内结为瘀”的理论相符合。大量实验与临床研究也证实,活血、补益为主的中药和中药复方可以通过不同途径调控肾脏纤维化的进程^[9-13]。

本研究通过观察自拟中药复方“滋阴清热活血方”对狼疮肾发生发展起重要作用的 Smad4、Smad7 蛋白表达水平等指标的影响,探讨该方对防治肾纤维化的肾保护作用及其机制。滋阴清热活血方继承了全国名中医孟如教授的学术经验,并在宏观辨证与微观辨证相结合的基础上,经长期临床实践创制而成。由于 LN 患者素有禀赋不足,肾阴亏虚,易感邪热外袭,内外合邪,致肾阴进一步耗损,虚热内生火,致热壅血瘀,故而发病;从微观看,有形的“肾纤维化”“肾小球萎缩”“肾小球出血情况”以及“肾脏细胞炎性浸润”等病理变化均属中医的“瘀”与“热”,该病的发展过程符合中医学“久病必虚”“久病必瘀”“瘀久化热”的病机理论。故认为其基本病机可为肾阴亏虚、瘀热互结,因此,滋阴补肾、清热活血应为基本治法。滋阴清热活血方的组方中,生地黄、女贞子、墨旱莲滋补肝肾,川芎活血行气,牡丹皮凉血活血,丹参、鸡血藤活血祛瘀,知母、黄柏清热泻火,大蓟凉血祛瘀,全方共奏滋阴补肾、清热活血、凉血祛瘀之功效。结合现代中药药

理研究成果看,方中的生地黄能扩张血管,降低毛细血管通透性,抑制血管内皮炎症,具有免疫抑制作用^[14];川芎具有显著增加肾血流量,抑制肾小球纤维化,减少尿蛋白排泄,防治急性肾功能衰竭等作用^[14];丹参能改善肾功能、保护缺血性肾损伤^[15],与川芎合用能协同发挥改善肾功能作用;黄柏能抑制细胞免疫反应^[14];牡丹皮有显著抑制炎症作用,能抑制血小板聚集,具有抗血栓、调节免疫功能^[15]等作用。诸药合用的结果,均有利于本病的改善。

现代医学认为,肾脏纤维化既是各型LN进展到终末期的共同病理表现,也是患者病情的重要反映指标^[1]。国内外研究表明,Smads信号通路的功能失调在肾脏纤维化的发生发展中起着中心作用^[16-17],其中Smad4和Smad7与之关系较为密切^[18];而转化生长因子 β 1(TGF- β 1)及其下游的Smad信号转导在肾纤维化过程中起着至关重要的作用^[19]。大量研究还表明,Smad4和Smad7等是TGF- β 1信号转导的重要下游信号分子^[20],Smad4是TGF- β 1介导纤维化和炎症的关键调节因子,通过与Smad3和Smad7的相互作用,从而影响它们在肾组织炎症和纤维化中的转录活性^[21]。Smad4为通用型Smad蛋白,而Smad7为抑制型Smad蛋白,TGF- β 1/Smad信号通路是TGF- β 经典途径调控肾纤维化进展的重要方式^[22]。Smad7对TGF- β 1/Smad信号通路具有负调节作用,在肾脏的高表达可以延缓肾脏纤维化的进程^[23]。

本研究结果显示,滋阴清热活血方联合激素能够减轻小鼠肾小球萎缩,改善肾小球间质水肿,缓解肾小球出血情况,对肾脏细胞炎症浸润有较好的治疗作用。说明滋阴清热活血方联合激素对MRL/lpr小鼠肾组织肾纤维化具有较好的改善作用。进一步的机制研究发现,滋阴清热活血方联合激素显著抑制肾组织Smad4蛋白表达,上调Smad7蛋白表达。提示其抗LN肾纤维化的作用机制与调控Smads信号通路的功能失调有关。该研究为临床滋阴清热活血方联合激素治疗系统红斑狼疮肾纤维化提供了生物学依据。

参考文献:

- [1] 葛均波,徐永健. 内科学[M]. 8版. 北京:人民卫生出版社,2013:488-490.
- [2] 徐锐煌,林丽,万春平,等. 滋阴清热活血方对MRL/lpr狼

疮小鼠的肾脏保护作用及其机制研究[J]. 云南中医学院学报,2021,44(5):1-6.

- [3] 徐晨婷,余毅,李海昌,等. 解毒祛瘀滋肾方加减对激素治疗系统性红斑狼疮不同阶段的增效减毒作用[J]. 云南中医学院学报,2016,39(3):68-71.
- [4] HOU L F, HE S J, LI X, et al. Oral administration of artemisinin analog SM934 ameliorates lupus syndromes in MRL/lpr mice by inhibiting Th1 and Th17 cell responses [J]. Arthritis and Rheumatism, 2011, 63(8):2445-2455.
- [5] 赵海,晏子友. 浅议肾间质纤维化的病因病机[J]. 山西中医,2006,22(2):62-63.
- [6] 张全乐,张红霞. 基于“阴阳互根、互用”理论探究难治性肾病综合征中医证治[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2014,15(3):273-275.
- [7] 李钦,范强,高博,等. 肾间质纤维化发病机制研究现状分析[J]. 卫生职业教育,2017,35(4):155-158.
- [8] 刘道刚,曾敏,高洪燕,等. 生、熟地黄缓解肾间质纤维化的作用及其机制研究[J]. 中药材,2015,38(12):2507-2510.
- [9] 韩达妮,李伟,姚燕,等. 活血通络方对缺血性肾病早期大鼠肾组织及单核细胞趋化蛋白1表达的影响[J]. 中国医药,2014,9(10):1485-1489.
- [10] 沈金峰,黄伟,谢娟,等. 中药复方抗肾纤维化的动物实验研究概况[J]. 中医临床研究,2017,9(26):138-140.
- [11] 杨旭,韩聪,李伟. 补益活血清泄方药防治肾纤维化机制研究进展[J]. 实用中医药杂志,2021,37(7):1269-1272.
- [12] 程婉红,熊维建. 中医药控制肾纤维化以延缓慢性肾脏病进展作用机制的研究进展[J]. 中医药临床杂志,2022,34(2):381-384.
- [13] 张明昊,高一盈,赵盈盈,等. 复方丹参片通过调控TGF- β 1/Smad通路及基质金属蛋白酶水平对肾纤维化大鼠的作用机制研究[J]. 中药新药与临床药理,2022,33(3):300-306.
- [14] 郑虎占,董泽宏,余靖. 中药现代研究与应用[M]. 北京:学苑出版社,1997:654-656,1758-1766,4056.
- [15] 钟赣生. 中药学[M]. 4版. 北京:中国中医药出版社,2016:501,263.
- [16] HALL M C, YOUNG D A, WATERS J G, et al. The comparative role of activator protein1 and Smad factors in the regulating of TIMP-1 and MMP-1 gene expression by transforming growth factor- β 1[J]. J Biol Chem, 2003, 278(12):10304-10313.

(下转第86页)

子、枇杷叶润燥敛肺平喘止咳,在 CVA 临床治疗中取得较好的疗效。考虑到本病大多虚实夹杂,扶正祛邪是基本的治疗原则,历代医家在病位上均强调五脏均可致咳,不离肺也不止于肺,本病在发展过程中涉及多个病位相互兼夹。性质上,邪实的问题多考虑寒、热、痰、气滞、瘀血;正虚考虑气虚、阳虚、阴虚。因此,临证中在协定基础方上应当随证加减,保证临床疗效。

综上所述,本次实验研究证实麻杏止嗽散可明显提高 CVA 模型小鼠血清 IFN- γ 的水平,降低血清 IL-8 的水平,从而扭转机体内环境平衡,并在一定剂量范围内呈现剂量与效果的依赖关系。其作为治疗 CVA 的一种治疗方案,值得推广应用。目前,对 CVA 的发生机制解释研究尚有不足,推测炎症因子及中性粒细胞水平增加与重症哮喘及难治性哮喘有密切的关系。从实验中我们发现高剂量组相比于低剂量组的麻杏止嗽散,更有利于症状的改善以及气道炎症的控制,更有效缓解感染后的呛咳发作。麻杏止嗽散能有效抑制或阻断 CVA 的早期发病过程,具有减轻气道高反应、气道细胞炎症及免疫调节等作用,可能是中药复方治疗 CVA 的机制之一,同时,也对中医宣肺理气、清热解毒治疗 CVA 提供了新的科研思路和方法。

参考文献:

[1] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 咳嗽的诊断与治疗指南(2021)[J]. 中华结核和呼吸杂志,2022,45(1):

(上接第 81 页)

- [17] VITA R, LOPEZ S, ESTEBAN, et al. Angiotensin II activates the Smad pathway in vascular smooth muscle cells by a transforming growth factor- β -independent mechanism[J]. *Circulation*, 2005, 111(19):2509-2517.
- [18] 秦燕萍,王美美. Smad4、Smad7 在慢性 GVHD 狼疮肾炎模型小鼠肾组织的异常表达[J]. 东南大学学报(医学版),2007,26(2):107-111.
- [19] MENG X M, NIKOLIC-PATERSON D J, LAN H Y. TGF- β : the master regulator of fibrosis[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2016, 12(6):325-338.
- [20] 杨萍芬,牛艳芬. TGF- β 1/Smad 信号通路在组织纤维化

13-46.

- [2] 田永巍,蒋强,李宁,等. 125I 粒子植入联合 TACE 治疗原发性肝癌的效果及对患者 IL-8 和 IFN- γ 水平的影响[J]. *实用癌症杂志*, 2022, 37(3):451-454.
- [3] NISHITSUJI M, FUJIMURA M, ORIBE Y, et al. A guinea pig model for cough variant asthma and role of tachykinins [J]. *Exp Lung Res*, 2004, 30(8):723-737.
- [4] FUSSBROICH D, COLAS R A, EICKMEIER O, et al. A combination of LCPUFA ameliorates airway inflammation in asthmatic mice by promoting pro-resolving effects and reducing adverse effects of EPA [J]. *Mucosal Immunol*, 2020, 13(3):481-492.
- [5] 黄晓洁,魏刚,张龙,等. 麻杏石甘汤的药理作用和临床应用研究进展[J]. *广东药学院学报*, 2014, 30(1):110-114.
- [6] 陈丽君,阚红星,丁然,等. 基于网络药理学研究止嗽散治疗咳嗽变异性哮喘的分子机制[J]. *安徽中医药大学学报*, 2021, 40(6):63-68.
- [7] CHOI J H, HWANG Y P, LEE H S, et al. Inhibitory effect of Platycodi Radix on ovalbumin-induced airway inflammation in a murine model of asthma[J]. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47(6):1272-1279.
- [8] MAHAJAN S G, MEHTA A A. Suppression of ovalbumin-induced Th2-driven airway inflammation by β -sitosterol in a guinea pig model of asthma[J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 650(1):458-464.
- [9] YANG N, PATIL S, ZHUGE J, et al. Glycyrrhiza uralensis flavonoids present in anti-asthma formula, ASHMITM, inhibit memory Th2 responses in vitro and in vivo[J]. *Phytother Res*, 2013, 27(9):1381-1391.
- 中的研究进展[J]. *国际药学研究杂志*, 2019, 46(10):738-744.
- [21] CHEN L, YANG T, LU D W, et al. Central role of dysregulation of TGF- β /Smad in CKD progression and potential targets of its treatment[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 101:670-681.
- [22] 孙倩,李姗姗,杨少宁,等. 中医药靶向 TGF- β 1/Smad 信号通路防治肾纤维化研究进展[J/OL]. *中药药理与临床*: 1-14 [2022-10-10]. DOI:10.13412/j.cnki.zyyl.202203.003.
- [23] MENG X M, TANG P M K, LI J, et al. TGF- β /Smad signaling in renal fibrosis[J]. *Front Physiol*, 2015, 6:82.