

# 芪白平肺颗粒对慢性阻塞性肺疾病动物模型的疗效观察

常秀娟, 孙晓萍, 周军, 李威, 李雪峰, 王振中, 萧伟\*

(江苏康缘药业股份有限公司 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏连云港 222001)

**[摘要]** 目的:考察芪白平肺颗粒(QBPF)对脂多糖(LPS)合烟熏致大鼠慢性阻塞性肺疾病(COPD)的治疗作用及其机制研究。方法:正常组于第1,14天气道内注入生理盐水,4周后检测;COPD组于实验第1,14天经气道内注入脂多糖(LPS) 200  $\mu\text{g}/\text{只}$ ,香烟烟雾暴露  $2\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ ,共4周,观察受试药QBPF剂量(4.4,2.2,1.1  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )组和氨茶碱(0.054  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )组灌胃给药后对肺功能和血清白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1),肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ),白细胞介素-6(IL-6),干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )含量及肺组织形态学的影响。结果:与正常组比较,模型组最大肺活量(FVC),0.3 s呼气量(FEV 0.3),0.3 s呼气量/最大肺活量(FEV 0.3/FVC),呼吸峰流速(PEF)显著下降( $P < 0.01$ );血清IL-1 $\beta$ ,IL-6,IFN- $\gamma$ ,TNF- $\alpha$ 含量明显升高,IL-10水平降低( $P < 0.01$ );与模型组比较,芪白平肺颗粒高、中剂量组与氨茶碱组FVC,FEV 0.3,FEV 0.3/FVC,PEF较模型组有明显改善( $P < 0.05$ , $P < 0.01$ );芪白平肺颗粒血清IL-1 $\beta$ 和IL-6,IFN- $\gamma$ ,TNF- $\alpha$ 含量明显降低,IL-10水平升高( $P < 0.05$ , $P < 0.01$ )。结论:QBPF可改善肺功能,减轻肺组织病理变化,减少炎症因子,这可能是治疗慢性阻塞性肺疾病的重要机制。

**[关键词]** 芪白平肺颗粒;慢性阻塞性肺疾病;白细胞介素-1 $\beta$ ;肿瘤坏死因子- $\alpha$ ;白细胞介素-6;白细胞介素-10;干扰素- $\gamma$

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)02-0087-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016020087

## Observation of Curative Effect of Qibai Pingfei Granules on Rats with Chronic Obstructive Pulmonary Disease

CHANG Xiu-juan, SUN Xiao-ping, ZHOU Jun, LI Wei, LI Xue-feng, WANG Zhen-zhong, XIAO Wei\*  
(Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., State Key Laboratory of  
New Technology for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of Qibai Pingfei (QBPF) capsule on chronic obstructive pulmonary disease (COPD) rats induced by lipopolysaccharides (LPS) and cigarette smoke, in order to determine its mechanism. **Method:** Normal rats of control group were bred for 4 weeks in normal circumstance before test and instilled intratracheally with normal saline once at day 1 and day 14. Rats of COPD group were exposed to cigarette smoke  $2\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$  for 4 weeks and intratracheally instilled with 200  $\mu\text{g}$  LPS once at day 1 and day 14. All COPD rats were divided randomly into five groups. Each group was orally administrated with QBPF granules 4.4, 2.2, 1.1  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  and aminophylline 0.054  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  respectively, while model group was administrated with solvent. After 4 weeks, lung function was recorded after administration, level of serum interleukin-1 (IL-1 $\beta$ ), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-6 (IL-6), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) and lung tissue morphology were observed. **Result:** Compared with normal group, lung function indexes such as forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in 0.3 second (FEV 0.3), FEV 0.3/FVC, peak expiratory flow (PEF) decreased significantly ( $P < 0.01$ ); serum levels of IL-1 $\beta$ , and IL-6, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  significantly increased ( $P < 0.01$ ). Compared with model group, lung function indexes such as FVC, FEV 0.3, FEV 0.3/FVC, PEF rose significantly in the middle and high dose of QBPF group and aminophylline group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Compared with model

**[收稿日期]** 20150507(013)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09402203)

**[第一作者]** 常秀娟, 硕士, 中级工程师, 从事药理学研究, Tel:0518-81152299, E-mail:cxj045@163.com

**[通讯作者]** \* 萧伟, 博士, 研究员级高级工程师, 从事中药新药的研究与开发, Tel:0518-81152337/13905136437, E-mail:wzhzh-nj@163.net

group, QBPF granules group showed significant decrease in Serum levels of IL-1 $\beta$ , and IL-6, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  but increase in level of IL-10 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** QBPF granules can improve lung function, reduce the pathological changes of lung tissue. Its inflammatory reduction factors may be an important mechanism for treatment of chronic obstructive pulmonary disease.

[**Key words**] Qibai Pingfei granules; chronic obstructive pulmonary disease; interleukin-1; tumor necrosis factor- $\alpha$ ; interleukin-6; interleukin-10; interferon- $\gamma$

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种具有气流受限特征的疾病, 与肺部对香烟烟雾等有害气体或有害颗粒的异常炎症反应及慢性缺氧有关<sup>[1]</sup>。COPD 的发病率逐年上升, 目前居全球死亡原因的第 4 位, 世界卫生组织公布, 至 2020 年 COPD 将位居世界疾病经济负担的第 5 位<sup>[2-3]</sup>, COPD 已成为一个重要的公共卫生问题。芪白平肺在前期 200 例临床研究中, 从临床积分均可以看出, 使用该方治疗 COPD 痰瘀阻肺证从各方面均优于对照组, 而前期动物实验结果也表明芪白平肺颗粒 (QBPF) 可改善大鼠肺功能<sup>[4]</sup>, 说明该方治疗 COPD 疗效确切。在此基础上本文通过烟熏合脂多糖气道滴入的方法建立 SD 大鼠 COPD 模型, 观察芪白平肺颗粒治疗对 COPD 炎症反应及呼吸功能的影响, 并探讨可能的作用机制。

## 1 材料

**1.1 药物** 芪白平肺颗粒 (江苏康缘药业股份有限公司, 批号 140302), 3 g/袋, 由人参 167 g, 黄芪 556 g, 川芎, 薤白, 五味子, 葶苈子, 地龙均为 333 g 制成 1 000 g, 处方工艺为药材提取后, 提取液减压浓缩至稠膏, 稠膏进行减压干燥, 干膏粉碎后加入适量辅料进行制粒, 控制人参皂苷 Re/Rg<sub>1</sub>/Rb<sub>1</sub> 和黄芪甲苷; 氨茶碱片 (南京白敬宇制药有限责任公司, 批号 130601)。

**1.2 动物** 清洁级雄性 SD 大鼠 50 只, 体重 180 ~ 200 g, 上海西普而-必凯实验动物有限公司, 合格证号 SCXK (沪) 2008-0016。

**1.3 试剂和仪器** 红旗渠香烟 (河南中烟工业有限责任公司, 焦油量 11 mg, 烟气烟碱量 0.7 mg), 脂多糖 (LPS, Biolopped Sigma 公司, 批号 L2660), Bio-Plex Pro Reagent Kit (批号 171-304070), PowerLab 16/35 型生物信号采集系统 (澳大利亚 ADInstruments 公司), ALC-V8 型动物呼吸机 (上海奥尔科特生物科技有限公司), Bio-plex200 悬浮芯片系统 (美国 Bio-Rad 公司), DX45 型显微镜 (日本奥林帕斯)。

## 2 方法

**2.1 分组与造模**<sup>[5-7]</sup> 60 只 SD 大鼠随机分为正常

组、模型组、氨茶碱 (0.054 g·kg<sup>-1</sup>) 组, 芪白平肺颗粒高、中、低剂量 (按生药量计为 4.4, 2.2, 1.1 g·kg<sup>-1</sup>) 组。于第 1, 14 天 10% 水合氯醛 ip 麻醉大鼠, 颈部正中切口 2 cm, 分离气管, 微量注射器由气管向肺方向滴注 LPS (无菌生理盐水配制成 1 g·L<sup>-1</sup>, 200 g/200 L), 第 2 ~ 30 天 (第 14 天除外) 将大鼠放入香烟烟雾中熏 1 h/次, 2 次/d, 复制 COPD 模型。正常组于第 1, 14 天同法气管滴注生理盐水不烟熏。芪白平肺颗粒各剂量组和氨茶碱组第 1 天起按 10 mL·kg<sup>-1</sup> 剂量 ig 给药, 1 次/d, 共 30 d。末次给药 30 min 后取材。

## 2.2 检测指标

**2.2.1 肺功能检测** 将大鼠用 10% 水合氯醛 (0.35 g·kg<sup>-1</sup>) 麻醉, 纵行切开颈部皮肤, 暴露气管, 在环状软骨下切一个倒“T”型切口, 插入连接有三通开关的气管插管, 一端连接动物呼吸机, 一端连接信号采集系统测量呼吸指标。测定第 0.3 s 用力呼气容量 (FEV 0.3), 用力肺活量 (FVC), FEV 0.3/FVC, 呼气峰流速 (PEF) 等参数值。

**2.2.2 血清细胞因子** 测定 IL-1 $\beta$  和 IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  测完肺功能大鼠迅速打开腹腔, 腹主动脉取血, 4 °C 低温离心 (3 000 r·min<sup>-1</sup>), 取上清液 -70 °C 冻存, 按试剂盒说明方法检测。

**2.2.3 肺组织形态学** 检查各组动物处死后, 迅速打开胸腔, 取出右肺中叶放入 10% 甲醛中固定, 常规苏木素和伊红 (HE) 染色, 光镜下观察各组大鼠肺脏病理学变化。根据炎症病变评分: 根据病变由轻到重的程度, 依次定量为轻微或极少量“0.5 分”, 轻度或少量“1 分”, 中度或较多“2 分”, 重度或多量“3 分”, 极重度或大量“4 分”, 无明显病变为“0 分”。

**2.3 统计方法** 应用 SPSS 17.0 处理数据, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 量反应资料采用单因素方差分析检验法,  $P < 0.05$  为有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 芪白平肺颗粒对 COPD 大鼠肺功能的影响** 模型组 FVC, FEV 0.3, FEV 0.3/FVC, PEF 较正常组明

显下降 ( $P < 0.01$ ), 表明造模成功。芪白平肺颗粒高、中剂量组与氨茶碱组 FVC, FEV 0.3, FEV 0.3/

FVC, PEF 较模型组有明显改善 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 芪白平肺颗粒对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺功能的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effect of QBPF granule on pulmonary function in COPD rat ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	FVC/mL	FEV 0.3/mL	FEV 0.3/FVC/%	PEF/ $mL \cdot s^{-1}$
正常	-	4.5 ± 1.1	4.0 ± 2.0	94 ± 52	1.1 ± 0.2
模型	-	2.3 ± 0.3 <sup>2)</sup>	1.1 ± 0.7 <sup>2)</sup>	47 ± 32 <sup>1)</sup>	0.8 ± 0.1 <sup>2)</sup>
氨茶碱	0.054	3.9 ± 1.0 <sup>4)</sup>	3.2 ± 1.4 <sup>4)</sup>	90 ± 47 <sup>3)</sup>	1.1 ± 0.12 <sup>4)</sup>
芪白平肺	4.4	3.8 ± 0.4 <sup>4)</sup>	3.0 ± 1.1 <sup>4)</sup>	80 ± 31 <sup>3)</sup>	1.1 ± 0.1 <sup>4)</sup>
	2.2	3.8 ± 1.1 <sup>4)</sup>	2.9 ± 1.4 <sup>4)</sup>	77 ± 27 <sup>3)</sup>	1.0 ± 0.2 <sup>4)</sup>
	1.1	2.9 ± 0.6 <sup>4)</sup>	1.8 ± 1.4	62 ± 50	1.0 ± 0.1 <sup>4)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

3.2 芪白平肺颗粒对 COPD 大鼠血清 IL-1 $\beta$  和 IL-6, IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  含量的影响 与正常组相比,模型组血清 IL-1 $\beta$  和 IL-6, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  含量明显升高 ( $P < 0.01$ ), IL-10 水平降低 ( $P < 0.01$ )。

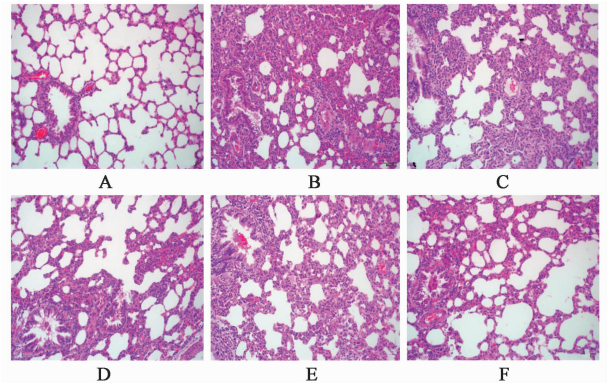
芪白平肺颗粒高剂量组、中剂量组和氨茶碱组与模型组比较有明显改善 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 说明芪白平肺颗粒具有降低细胞因子含量作用。见表 2。

表 2 芪白平肺颗粒对慢性阻塞性肺疾病大鼠细胞因子的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effect of QBPF granule on cytokine level in rats with COPD ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	IL-1 $\beta$	IL-6	IL-10	TNF- $\alpha$	IFN- $\gamma$
正常	-	288.8 ± 179.5	145.7 ± 86.9	704.0 ± 182.5	50.1 ± 27.6	62.7 ± 48.8
模型	-	732.1 ± 167.6 <sup>2)</sup>	311.2 ± 131.2 <sup>2)</sup>	362.1 ± 235.4 <sup>2)</sup>	103.5 ± 50.6 <sup>2)</sup>	192.6 ± 54.3 <sup>2)</sup>
氨茶碱	0.054	520.0 ± 109.6 <sup>4)</sup>	196.4 ± 46.2 <sup>3)</sup>	562.5 ± 109.6 <sup>3)</sup>	57.0 ± 31.8 <sup>3)</sup>	115.5 ± 29.6 <sup>4)</sup>
芪白平肺	4.4	508.5 ± 164.6 <sup>4)</sup>	171.5 ± 97.9 <sup>3)</sup>	568.9 ± 68.6 <sup>3)</sup>	59.7 ± 40.9 <sup>3)</sup>	119.5 ± 53.4 <sup>4)</sup>
	2.2	518.0 ± 203.2 <sup>3)</sup>	181.2 ± 94.3 <sup>3)</sup>	540.9 ± 174.5	58.0 ± 40.9 <sup>3)</sup>	108.4 ± 72.2 <sup>4)</sup>
	1.1	593.2 ± 240.6	268.0 ± 136.6	499.2 ± 195.0	65.0 ± 27.7 <sup>3)</sup>	165.3 ± 75.0

3.3 芪白平肺颗粒对 COPD 大鼠肺组织形态学的影响 模型组大鼠肺泡壁充血、有炎细胞浸润,肺泡腔内无渗出物。少数大鼠杯状细胞数量增加致黏液分泌增多。芪白平肺颗粒有减轻肺部炎症和肺气肿的作用,其中高剂量组效果最好,与模型组相比有统计学显著性差异 ( $P < 0.05$ )。见图 1,表 3。



A. 正常组; B. 模型组; C. 氨茶碱 0.054  $g \cdot kg^{-1}$  组; D~F. 芪白平肺高、中、低剂量 (4.4, 2.2, 1.1  $g \cdot kg^{-1}$ ) 组

图 1 芪白平肺颗粒对 COPD 大鼠肺组织的影响 (HE,  $\times 200$ )

Fig.1 Effect of QBPF granule on lung tissue in COPD rat (HE,  $\times 200$ )

表 3 芪白平肺颗粒治疗慢性阻塞性肺疾病大鼠肺病理评分 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Effect of QBPF granule on pathology of COPD rats ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	肺组织形态学综合评分/分
正常	-	0.90 ± 0.74
模型	-	3.67 ± 1.08 <sup>2)</sup>
氨茶碱	0.054	2.00 ± 1.15 <sup>3)</sup>
芪白平肺	4.4	2.40 ± 0.92 <sup>3)</sup>
	2.2	2.83 ± 0.98
	1.1	2.57 ± 1.30

#### 4 讨论

COPD 是以不完全可逆的气流受限为特征,呈进行性发展的疾病。西医虽对 COPD 急性期有较好

的治疗措施和疗效,但对于治疗并延长 COPD 稳定期却无好的措施<sup>[8]</sup>,因此,有必要从中医中药中寻找有效的治疗方法<sup>[9]</sup>。芪白平肺颗粒是根据国医大师晁恩祥临床经验方演化而来,由黄芪、人参、川芎、薤白、葶苈子等组成。方中黄芪甘温而入脾肺经,大补脾肺之气,人参补元气、益脾肺,合为君药,

共奏益气温阳之功;川芎活血行气,使瘀去血行,薤白理气通阳,葶苈子泻肺平喘,行水消肿,三者共为臣药;本方适应证为慢性阻塞性肺疾病肺肾气虚、痰瘀阻肺证,主要表现为咳嗽咯痰,喘促气短,畏寒肢冷,下肢浮肿,舌质紫暗,舌苔薄白,脉细涩或沉细。

中华医学会呼吸分会在《慢性阻塞性肺疾病诊治指南》中把肺功能测定作为诊断 COPD 的一项金标准<sup>[10]</sup>。目前,临床上 COPD 的诊断是以 FEV<sub>1</sub> 和 FEV<sub>1</sub>/FVC 降低来确定的<sup>[11]</sup>。本实验模型组大鼠 FEV<sub>1</sub> 0.3,FEV<sub>1</sub>/FVC 等较正常组明显下降,表明造模成功。肺功能检测结果表明芪白平肺颗粒高、中剂量组 FVC,FEV<sub>1</sub> 0.3,FEV<sub>1</sub>/FVC,PEF 较模型组有明显改善,表明芪白平肺颗粒可显著改善肺功能,有效提高大鼠 COPD 生活质量。

COPD 是一种复杂的慢性炎症性疾病,很多炎症细胞介入疾病进程,和 COPD 相关的细胞因子包括 TNF- $\alpha$ ,IFN- $\gamma$ ,IL-1 $\beta$ ,IL-6 等<sup>[12]</sup>。TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  是重要的前炎性介质因子,刺激分泌炎性介质,激活凝血系统,抑制纤溶,增加炎性渗出和中性粒细胞溶酶体酶释放及氧自由基产生,促进单核巨噬细胞释放 IL-1,IL-6,IL-8,TNF- $\alpha$  等,这些功能促使炎症的发生与发展。TNF- $\alpha$  促进 COPD 的发展,且与 COPD 患者的静息能量消耗增加,恶液质形成和预后不良有关,在 COPD 的发病过程中,TNF- $\alpha$  的过度表达导致了炎症反应的慢性化及肺组织损伤加重<sup>[13]</sup>。IL-6 作为一种促炎因子,血浆中浓度与 COPD 的发生、发展及严重程度密切相关,COPD 患者急性加重期痰液、血液及支气管肺泡灌洗液中 IL-6 水平明显增加<sup>[14]</sup>。IL-6,TNF- $\alpha$  等能增加胶原蛋白凝聚,抑制细胞外基质的分解、刺激成纤维细胞的增殖等,从而引起 COPD 气道纤维结缔组织形成和平滑肌增生,参与 COPD 气道重构的调节<sup>[15]</sup>。IL-10 作为抑炎因子在 COPD 也起到了关键的作用<sup>[16]</sup>。本研究结果表明芪白平肺颗粒可降低血清炎性细胞因子 IL-1 $\beta$  和 IL-6,TNF- $\alpha$  等含量,提高抑炎因子 IL-10 水平,表明其具有抗炎作用并改善了 COPD 模型大鼠肺功能以及组织学病理指标,提高 COPD 模型大鼠生存症状。

#### [参考文献]

[1] 吕倩,王昌明,蒋明,等. HIF-1 $\alpha$  和 VEGF 在大鼠 COPD 中的表达及与肺血管重构的关系研究[J]. 中国药理学通报,2012,28(6):772-777.

[2] 刘炜,葛正行,李波. 慢性阻塞性肺疾病患者中医体质分布特点及其与证候的关系研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(20):3587-3590.

[3] 符子艺,刘小虹,任吉祥,等. 痰热清注射液治疗慢性阻塞性肺疾病合并呼吸衰竭的 Meta 分析[J]. 中草药,2014,45(6):889-894.

[4] 李泽庚,王传博,彭波,等. 芪白平肺胶囊对慢阻肺痰瘀阻肺证模型大鼠肺功能的影响[J]. 上海中医药大学学报,2009,23(6):51-53.

[5] 于绍帅,季宇彬,王振伟,等. 噻托溴铵对慢性阻塞性肺疾病大鼠呼吸功能和病变进程的改善作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(5):190-194.

[6] Vernooy J H, Dentener M A, Suylen R J, et al. Long-term intratracheal lipopolysaccharide exposure in mice results in chronic lung inflammation and persistent pathology[J]. Am J Respir Cell Mol Biol,2002,26(1):152-159.

[7] Takeuchi Y, Takahashi M, Fuchikami J. Vulnerability of gastric mucosa to prednisolone in rats chronically exposed to cigarette smoke[J]. J Pharmacol Sci,2008,106(4):585-592.

[8] 赵甫成. 益气健脾补肾活血方对 COPD 稳定期患者 FEV<sub>1</sub> 的影响[J]. 中国当代医药,2010,17(13):101-102.

[9] 江芳超,阎玥,杨璐,等. 中药治疗对 COPD 稳定期生命质量影响的多中心随机对照研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(22):3203-3206.

[10] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南[J]. 中华结核和呼吸杂志,2007,30(1):8-17.

[11] 蔡柏蔷,李龙芸. 协和呼吸病学[M]. 北京:中国协和医科大学出版社,2005:282-283.

[12] Barnes P J. Mediators of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Pharmacol Rev,2004,56(4):515-548.

[13] 颜碧清,楼天正,徐俊龙,等. COPD 患者急性发作期血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8 变化及意义[J]. 浙江中西医结合杂志,2004,14(6):343-344.

[14] Barczyk A, Pierzchala W, Kon O M, et al. Cytokine production by bronchoalveolar lavage T lymphocytes in chronic obstructive pulmonary disease[J]. J Allergy Clin Immunol,2006,117(6):1484-1492.

[15] 陆晶晶,郑永华,尹琦,等. 白介素 6、白介素 17 与慢性阻塞性肺疾病相关性研究[J]. 临床肺科杂志,2010,15(7):940-941.

[16] Wouters E F. Local and systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Proc Am Thorac Soc,2005,2(1):26-33.

[责任编辑 聂淑琴]