

参苓白术散对 COPD 大鼠下丘脑及胃组织 Ghrelin, Obestatin 的影响

孙杰^{1,2*}, 王东晓¹, 桑凯¹

(1. 甘肃中医药大学, 兰州 730000; 2. 甘肃中医药大学附属医院, 兰州 730020)

[摘要] **目的:**观察参苓白术散干预对肺脾两虚型慢性阻塞性肺疾病(COPD)模型大鼠生长激素释放肽(Ghrelin),肥胖抑制素(Obestatin)蛋白表达的影响,基于 Ghrelin/Obestatin 信号调节通路从分子水平探讨培土生金法治疗 COPD 的作用机制和科学内涵。**方法:**60 只 SPF 级 Wistar 大鼠随机分为空白组、肺脾两虚模型组、参苓白术散组(根据药物干预时间不同,分为 28,35,42 d 组),每组 12 只。采用病证结合造模法复制肺脾两虚型 COPD 大鼠,空白组大鼠吸入空气+气管内注射等量生理盐水+灌服等量生理盐水;模型组及参苓白术散组采用烟熏+气管内滴注脂多糖+灌服冰冷番泻叶浸液建立肺脾两虚型 COPD 大鼠模型;参苓白术散组给予参苓白术散灌胃,分别于药物干预第 28,35,42 天处死大鼠,利用免疫组化法及蛋白免疫印迹法测定大鼠下丘脑组织及胃组织中 Ghrelin,Obestatin 蛋白表达变化。**结果:**与空白组比较,肺脾两虚模型组大鼠下丘脑及胃组织中 Ghrelin,Obestatin 蛋白表达及积分吸光度均显著降低($P < 0.01$);与肺脾两虚模型组比较,参苓白术散组(28,35,42 天)大鼠胃、下丘脑组织 Ghrelin,Obestatin 蛋白表达及积分吸光度均有不同程度升高($P < 0.05$)。**结论:**参苓白术散可调节肺脾两虚型 COPD 模型大鼠能量代谢,改善其营养不良状况,其机制可能通过调节 Ghrelin,Obestatin 动态平衡从而维持机体能量稳态来实现。

[关键词] 参苓白术散;慢性阻塞性肺疾病;肺脾两虚型;生长激素释放肽;肥胖抑制素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)01-0085-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018010085

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170926.1117.050.html>

[网络出版时间] 2017-09-26 11:17

Effect of Shenling Baizhusan on Expression of Ghrelin and Obestatin in Hypothalamus and Gastric Tissue of COPD Rats

SUN Jie^{1,2*}, WANG Dong-xiao¹, SANG Kai¹

(1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China;

2. Affiliated Hospital of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730020, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss the effect of Shenling Baizhusan on Ghrelin and Obestatin protein expression of in the rat models with chronic obstructive pulmonary disease (COPD), and investigate its mechanism and scientific connotation in treating COPD based on the Ghrelin/Obestatin signal regulating pathway from the molecular level. **Method:** The 60 SPF Wistar rats were randomly divided into blank control group, lung and spleen deficiency model group and Shenling Baizhusan groups (28 days group, 35 days group and 42 days group according to different drug intervention time), 12 in each group. Lung and spleen deficiency COPD rat models were established by using the disease and syndrome combination method. In blank control group, the rats inhaled air, intratracheally injected with the same amount of normal saline, and orally took the same amount of normal saline. The rats in model group and Shenling Baizhusan groups were treated with smoking + intratracheal

[收稿日期] 20170424(020)

[基金项目] 国家自然科学基金地区项目(81360539);甘肃省财政厅科研业务费项目(2013-9);兰州市科技局项目(2012-1-56)

[通信作者] *孙杰,博士,主任医师,从事中西医结合呼吸病教学与临床工作, Tel:13359413306, E-mail:245518228@qq.com

lipopolysaccharide + oral administration of ice and cold senna leaf infusion to build pulmonary and spleen deficiency type COPD rat model. Shenling Baizhusan was given by intragastric administration, and the rats were sacrificed at 28, 35, 42 days after drug intervention. Immunohistochemistry and Western blot were used to detect the expression changes of Ghrelin and Obestatin in hypothalamus and gastric tissues of rats. **Result:** As compared with normal blank group, the Ghrelin and Obestatin protein expression and integral absorbance in stomach and hypothalamus were significantly decreased in model group ($P < 0.01$). As compared with model group, the Ghrelin and Obestatin protein expression and integral absorbance in stomach and hypothalamus were increased in different degrees in Shenling Baizhusan groups ($P < 0.05$). **Conclusion:** The Shenling Baizhusan can regulate the energy metabolism of the lung and spleen deficiency type COPD rats and improve the malnutrition condition. Its mechanism may be associated with the regulation of Ghrelin and Obestatin dynamic balance to maintain body energy homeostasis.

[Key words] Shenling Baizhusan; chronic obstructive pulmonary disease (COPD); deficiency of both lung and spleen model; Ghrelin; Obestatin

慢性阻塞型肺疾病 (COPD) 是一种常见的, 可预防和治疗的疾病, 其特点是持续的呼吸道症状和气流受限, 通常与气道、肺泡接触到大量有害颗粒或气体有关^[1]。COPD 发展过程中常合并复杂的肺外表现和并发症因素^[2], 营养不良作为 COPD 常见并发症, 其患病率为 25% ~ 40%^[3], 是影响 COPD 预后的独立危险因素, 是导致患者死亡率高的原因之一^[4]。生长激素释放肽 (Ghrelin) 是一种新型的脑肠肽, 具有促进生长激素 (GH) 释放, 促进食欲和脂肪沉积、增加体重, 增强胃肠动力, 参与调节能量平衡等多种生理作用^[5]。肥胖抑制素 (Obestatin) 与 Ghrelin 来源于同一基因蛋白, 与不同受体结合后发挥完全相反的作用, 可以抑制食欲, 减少食物摄入, 延缓胃排空, 抑制空肠运动, 发挥降低体重的作用^[6]。Ghrelin 与 Obestatin 能够通过与中枢食欲调节网络相互作用, 具有调节摄食, 影响胃肠功能、控制体重的作用, 二者功能的动态平衡可能是机体调控能量代谢与体重平衡的一个重要机制^[7]。

传统中医学中并没有“COPD”的病名, 但是根据其临床表现及病变过程来看, 其属于中医学“咳嗽、喘证、肺胀”等范畴。本团队前期研究认为脾气虚是 COPD 合并营养不良的关键环节, 肺脾两虚是 COPD 营养不良发病中的主要病机。临床研究表明培土生金法治疗 COPD 稳定期患者, 可以有效改善患者肺功能, 改善营养不良状况, 减少患者急性加重及住院次数^[8-10], 同时, 实验研究也显示培土生金法可显著改善大鼠肺功能, 减轻肺组织病理学损伤程度, 对 COPD 大鼠具有一定的保护作用^[11]。本研究应用参苓白术散治疗干预肺脾两虚型 COPD 大鼠模型, 以期通过效应指标表达差异分析, 揭示参苓白术

散治疗 COPD 的作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 Wistar 大鼠 60 只, 雌雄各半, 体重 (200 ± 20) g, 由甘肃中医药大学科研实验中心提供, 合格证号 SCXK (甘) 2015-0002, 动物实验设施使用证编号 SYXK (甘) 2015-0005。动物实验室为 SPF 级, 环境温度 (23 ± 3) °C, 相对湿度 30% ~ 40%。经甘肃中医药大学实验动物伦理委员会批准, 批号 2013-004。

1.2 试剂 脂多糖 (LPS, 美国 Sigma 公司, 批号 044M4004V); 兰州牌香烟 (兰州卷烟厂, 焦油量 14 mg, 烟气烟碱量 1.1 mg, 烟气一氧化碳量 14 mg); 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔免疫球蛋白 (Ig) G (北京中山金桥生物技术有限公司, 批号 109525); 高效 RIPA 裂解液, SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司, 批号分别为 P0010, P1200); Ghrelin, Obestatin 兔多克隆抗体 (美国 Abcam 公司, 批号分别为 GR228900-1, GR222621-1); 内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 抗体 (美国 Immuno 公司, 批号 B4501)。

1.3 仪器 PN 000A3747 型 Hallowell EMC 气管插管工具箱 (美国 Braintree Scientific 公司); GYD-CHT 型气溶胶烟雾染毒系统 (美国 CH Technologies 公司); Mini Protean Tetra Cell and Mini Trans-blot cell 型凝胶电泳转印系统, 041BR 109973 型电泳仪, ChemiDoc 型凝胶成像分析系统, Universal Hood II 型医学图像分析系统 (美国 Bio-Rad 公司); CJ-2S 型超净工作台 (天津泰斯特仪器有限公司); PRO200 型组织匀浆器 (美国 Bio-Gen 公司)。

1.4 药物 番泻叶购于甘肃中医药大学附属医院

门诊中药房,由甘肃中医药大学附属医院主任药师杨锡仓鉴定为豆科植物狭叶番泻 *Cassia angustifolia* 的小叶,番泻叶浸泡 12 h,绞汁过滤,装入烧杯,置于 40 ℃ 恒温水浴箱,浓缩至含生药 1 g·mL⁻¹,4 ℃ 冰箱保存;参苓白术散由人参、炒白术、茯苓、甘草、薏苡仁、莲子、砂仁、白扁豆、桔梗、山药,按原方比例配伍组成,实验选用免煎颗粒,由广东一方制药有限公司生产,批号均为 0503014。

2 方法

2.1 造模方法 参照文献[12-13]采用烟熏+气管内滴注脂多糖+灌服冰冷番泻叶浸液建立肺脾两虚型 COPD 大鼠模型。第 1, 14 天,经口气管滴注 LPS,大鼠麻醉后,四肢宽松固定于鼠板。暴露口腔,将喉镜插入口中并于吸气相迅速将气管插管插入气道,将气管套管拔出,向气管内注入 LPS 1 mg·kg⁻¹。为使 LPS 充分分布于肺组织,向气管内推注空气 0.5 mL(1~2 次),拔出针管并轻拍大鼠胸背部。第 2~28, 35, 42 天(滴注 LPS 当天不烟熏,空白组呼吸空气),每日将大鼠放于气溶胶染毒箱内,持续烟熏 30 min,每日 2 次。烟熏结束后,将大鼠置于鼠笼常规饲养。自造模第 7 天起在熏烟前半小时给予冰冷番泻叶浸液 10 g·kg⁻¹,按 10 mL·kg⁻¹,连续灌胃至造模结束。

2.2 分组与给药方法 60 只大鼠适应性喂养 7 d 后,随机分为空白组、肺脾两虚模型组、参苓白术散组(根据药物干预时间不同,分为 28, 35, 42 d 组),每组 12 只。实验药物用量按体表面积比率换算,大鼠用量为 14.67 g·kg⁻¹[14]。治疗组给予参苓白术散灌胃治疗,空白组及模型组给予等量生理盐水灌胃。每日 1 次,连续灌胃干预至 28, 35, 42 d(参苓白术散与番泻叶灌胃时间间隔 > 4 h;为避免药物间药效相互干扰,时间间隔应超过大鼠胃排空时间)。

2.3 标本采集与处理 分别于第 28, 35, 42 天末将大鼠取血处死,取大鼠下丘脑、胃组织,部分组织用 4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋,以备切片链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶(SP)法检测 Ghrelin 与 Obestatin 蛋白表达;一部分组织以预冷的 0.85% 氯化钠溶液冲洗净,剪取适量置于冻存管,液氮中冻存备用,利用蛋白免疫印迹法检测 Ghrelin, Obestatin 蛋白表达水平。

2.4 指标检测

2.4.1 大鼠一般情况 观察各组大鼠皮毛光泽度、饮食情况、体重变化、活动度、精神状态、粪便、咳嗽、气喘和口鼻呼吸道分泌物等情况。

2.4.2 免疫组化法检测相关蛋白表达 分别取大鼠下丘脑、胃组织,用 4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋,切片。采用 SABC 法进行免疫组化染色,切片常规脱蜡至水,0.3% H₂O₂ 室温 25 min 灭活内源性酶,微波炉加热修复。用 5% BSA 封闭液室温封闭 20 min,加入一抗(Ghrelin 1:500, Obestatin 1:100) 4 ℃ 冰箱过夜,滴加生物素化山羊抗兔 IgG,37 ℃ 反应 20 min,滴加试剂 SABC 37 ℃ 反应 20 min,以上各步骤均用 PBS 漂洗 3 次,DAB 显色后苏木精染深细胞核,常规脱水、透明、封片,光学显微镜下观察染色情况。选用 Image-Pro Plus 6.0 软件检测,每张切片选取 5 个视野,免疫阳性呈棕黄色,分别读取每个视野阳性表达区域的积分吸光度 IA, IA 越大,表示阳性表达量越高,蛋白表达越强。

2.4.3 蛋白免疫印迹法检测相关蛋白表达 分别称取胃、下丘脑组织提取蛋白 100 mg,放入匀浆器内,加入裂解液 1 000 μL,然后研磨使组织块溶解,裂解液无沉淀,冰上裂解 30 min。14 000 r·min⁻¹ 离心 20 min,取上清为细胞总蛋白。BCA 法进行蛋白定量,于 6%~12% SDS-PAGE 行组织蛋白电泳,转于 PVDF 膜上,根据目的蛋白选择相应的条带,5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h,洗膜后加入稀释后的一抗(GAPDH 1:1 500; Ghrelin 1:500; Obestatin 1:600) 4 ℃ 孵育过夜,二抗反应。全自动凝胶成像系统成像保存,结果用 Image J 图像分析软件分析灰度值,目的蛋白灰度值/内参灰度值以校正误差,将算得的样品目的蛋白相对含量进行统计分析。

2.5 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件处理,符合正态分布且方差齐性的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,方差齐用 LSD 法检验,方差不齐用 Dunnett 法,进行均数间两两比较, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 参苓白术散对大鼠一般情况的影响 空白组大鼠发育良好,反应灵敏,精神状况好,皮毛亮泽,纳食正常,体重渐增;肺脾两虚模型组大鼠形体消瘦,皮毛枯槁无泽或有脱落、可见竖毛,精神不振,反应迟钝,少食,扎堆蜷缩拱背,易打喷嚏,呼吸急促,咳嗽,偶可闻及气道痰鸣音,口鼻分泌物增多,体重明显下降,腹泻便溏,粪质稀薄;与肺脾两虚模型组比较,各参苓白术散组大鼠症状均有不同程度减轻,精神状况较好,皮毛略欠润泽,口鼻分泌物减少,活动尚灵活,饮水摄食量尚可,呼吸稍平稳,偶有咳喘,体重略轻。

3.2 参苓白术散对大鼠胃、下丘脑组织 Ghrelin, Obestatin 蛋白表达的影响 淡黄至棕黄色或棕褐色颗粒表示为免疫阳性细胞表达。与空白组比较,肺脾两虚模型组大鼠下丘脑、胃组织中 Ghrelin,

Obestatin 蛋白表达均显著降低 ($P < 0.01$); 与肺脾两虚模型组比较,参苓白术散各组 Ghrelin, Obestatin 蛋白表达均呈不同程度升高 ($P < 0.05$)。见表 1, 图 1~4。

表 1 参苓白术散对大鼠胃、下丘脑组织 Ghrelin, Obestatin 蛋白表达 IA 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of Shenling Baizhusan on Ghrelin and Obestatin protein expression IA in gastric and hypothalamus of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间/d	n	胃		下丘脑	
			Ghrelin	Obestatin	Ghrelin	Obestatin
空白	42	12	0.449 ± 0.012	0.313 ± 0.021	0.221 ± 0.019	0.243 ± 0.015
肺脾两虚模型	42	10	0.348 ± 0.014 ¹⁾	0.258 ± 0.013 ¹⁾	0.166 ± 0.011 ¹⁾	0.172 ± 0.015 ¹⁾
参苓白术	28	11	0.411 ± 0.013 ²⁾	0.282 ± 0.015 ²⁾	0.193 ± 0.012 ²⁾	0.215 ± 0.013 ²⁾
	35	11	0.426 ± 0.016 ²⁾	0.291 ± 0.012 ²⁾	0.196 ± 0.014 ²⁾	0.226 ± 0.018 ²⁾
	42	10	0.438 ± 0.011 ²⁾	0.298 ± 0.017 ²⁾	0.218 ± 0.017 ²⁾	0.238 ± 0.014 ²⁾

注:参苓白术散组用药剂量均为 $14.67 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与肺脾两虚模型组比较²⁾ $P < 0.05$ (表 2 同)。

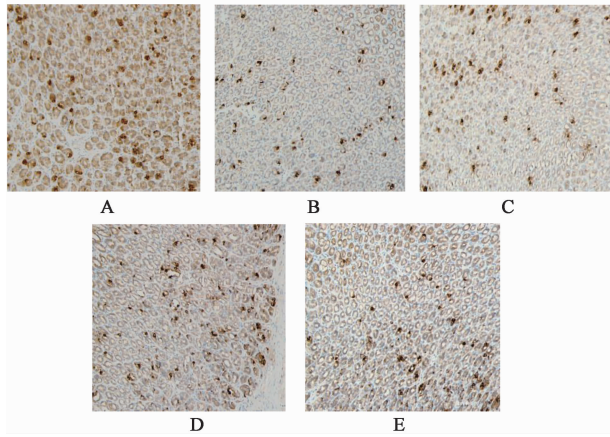


图 1 参苓白术散对大鼠胃组织 Obestatin 蛋白表达的影响 (免疫组化, $\times 400$)

图 1 参苓白术散对大鼠胃组织 Obestatin 蛋白表达的影响 (免疫组化, $\times 400$)

Fig. 1 Effect of Shenling Baizhusan on Obestatin protein expression in gastric tissues of rats (IHC, $\times 400$)

3.3 参苓白术散对大鼠胃、下丘脑组织 Ghrelin, Obestatin 蛋白表达的影响 与空白组比较,肺脾两虚模型组大鼠胃、下丘脑组织 Ghrelin, Obestatin 蛋白表达均显著下降 ($P < 0.01$); 与肺脾两虚模型组比较,各参苓白术散组大鼠胃、下丘脑组织 Ghrelin, Obestatin 蛋白表达均明显升高 ($P < 0.05$)。见表 2, 图 5。

4 讨论

Ghrelin 与 Obestatin 作为体内调节摄食与能量稳态控制^[15]的重要胃肠激素,和 COPD 合并营养不良的发病有密切关系。研究显示 COPD 患者血中 Ghrelin 的含量水平能够反映其营养不良的状态,而

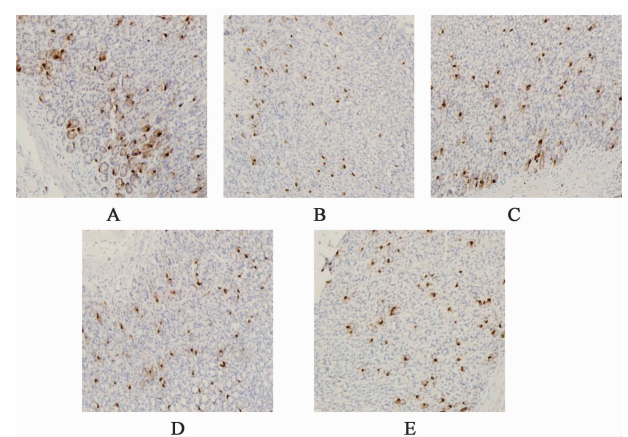


图 2 参苓白术散对大鼠胃组织 Ghrelin 蛋白表达的影响 (免疫组化, $\times 400$)

Fig. 2 Effect of Shenling Baizhusan on Ghrelin protein expression in gastric tissues of rats (IHC, $\times 400$)

且可能通过影响患者的营养状况参与 COPD 的发病^[16]。陆昊等^[17]研究发现 Ghrelin 可能通过影响机体的能量代谢而参与了 COPD 急性加重期合并营养不良的发生与发展。同时, LEI 等^[18]对 32 名体质质量指数 (BMI) $< 20 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$ 的 COPD 患者与 22 例正常组进行对照研究后发现, COPD 患者中的循环 Obestatin 水平高于正常组,与系统炎症有关。另外, Ghrelin, Obestatin 与细胞因子之间有着密切关系,而其中有些细胞因子已证明参与了 COPD 合并营养不良的发生发展。首先, TNF- α 是最早证明与营养不良相关的因子,国内外许多研究证实 TNF- α 参与了 COPD 营养不良的发病过程,影响着疾病的预后^[19-20], 而 Ghrelin, Obestatin 与 TNF- α 存在正相关^[16, 21], TNF- α 的过度表达可导致炎症加剧,引起

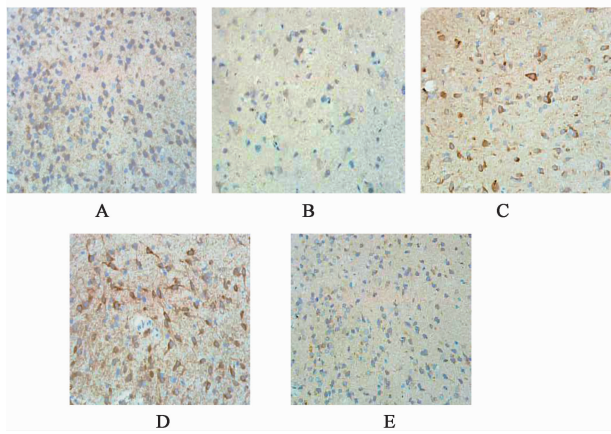


图 3 参苓白术散对大鼠下丘脑组织 Ghrelin 蛋白表达的影响(免疫组化, ×400)

Fig. 3 Effect of Shenling Baizhusan on Ghrelin protein expression in hypothalamus of rats(IHC, × 400)

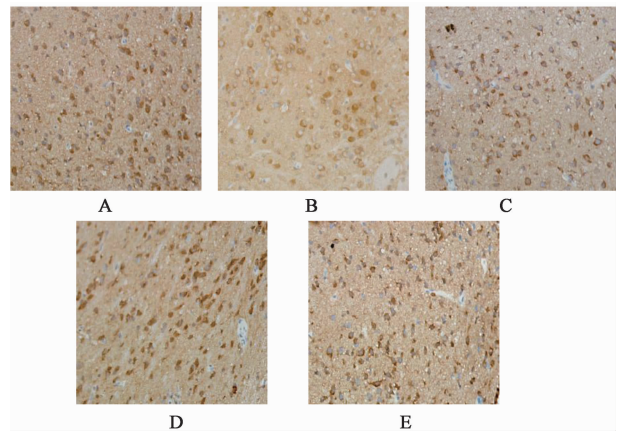


图 4 参苓白术散对大鼠下丘脑组织 Obestatin 蛋白表达的影响(免疫组化, ×400)

Fig. 4 Effect of Shenling Baizhusan on Obestatin protein expression in hypothalamus of rats(IHC, × 400)

表 2 参苓白术散对大鼠胃、下丘脑组织 Ghrelin, Obestatin 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of Shenling Baizhusan on Ghrelin and Obestatin protein levels in gastric and hypothalamus of rats($\bar{x} \pm s$)

组别	时间/d	n	胃		下丘脑	
			Ghrelin/GAPDH	Obestatin/GAPDH	Ghrelin/GAPDH	Obestatin/GAPDH
空白	42	12	1.194 ± 0.081	0.601 ± 0.108	1.454 ± 0.041	1.494 ± 0.091
肺脾两虚模型	42	10	0.359 ± 0.055 ¹⁾	0.406 ± 0.094 ¹⁾	0.671 ± 0.102 ¹⁾	0.787 ± 0.089 ¹⁾
参苓白术	28	11	0.835 ± 0.092 ²⁾	0.648 ± 0.108 ²⁾	0.947 ± 0.112 ²⁾	1.664 ± 0.099 ²⁾
	35	11	0.785 ± 0.063 ²⁾	0.627 ± 0.061 ²⁾	1.273 ± 0.097 ²⁾	1.588 ± 0.079 ²⁾
	42	10	1.165 ± 0.074 ²⁾	0.678 ± 0.077 ²⁾	1.323 ± 0.046 ²⁾	1.637 ± 0.051 ²⁾

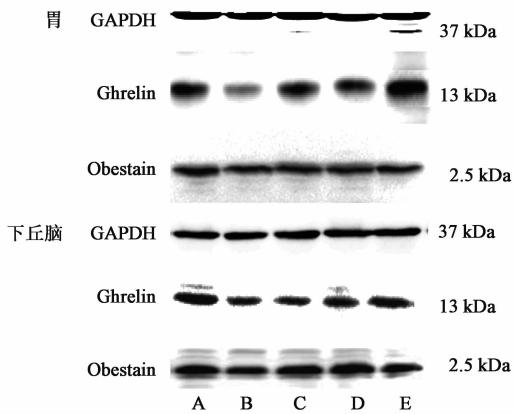


图 5 参苓白术散对大鼠胃、下丘脑组织 Ghrelin, Obestatin 蛋白表达的影响

Fig. 5 Effect of Shenling Baizhusan on Ghrelin and Obestatin protein levels in gastric and hypothalamus of rats

患者产热增加、厌食及高代谢状况,加重 COPD 患者营养不良程度^[22]。其次,IL-6 是一种生物活性广泛的细胞因子,可直接参与炎症反应和损伤过程。研究显示 COPD 营养不良组患者血清中 IL-6 水平在统计学上更高,明显高于非营养不良组及正常体重组^[23-24],IL-6 参与了 COPD 营养不良的发生,并且

Ghrelin 与体质量指数之间存在着正相关的关系^[24],可见,当机体中炎症因子过高引发 COPD 营养不良时,Ghrelin 随着患者的体重指数下降,从而在体内形成一个恶性循环,加剧营养不良状况。本研究结果显示,与正常组比较,肺脾两虚模型组大鼠胃、下丘脑组织 Ghrelin 与 Obestatin 蛋白水平均有下降,这与临床上相关研究结果相符,说明 Ghrelin, Obestatin 在体内调节摄食与能量稳态控制作用在 COPD 合并营养不良中起着关键作用。

根据中医五行理论“培土生金”原理,肺在五行属金,脾属土,脾胃与肺在生理上是母子相生关系,肺生理功能的正常发挥依赖脾运化的水谷精微。病理上,脾胃与肺存在“母病及子”或“子病犯母”的关系,导致痰浊、瘀血内生,肺气壅塞,出现咳痰、喘促、纳呆乏力、神疲便溏等脾肺气虚的症状^[25]。COPD 稳定期的病机特点是脾肺气虚、痰瘀交阻,虚实交杂。按照“虚则补其母”的治疗原则,应用“培土生金法”,即通过补脾益气的方法达到补益肺气、脾肺同补的目的,从而达到治疗肺病的效果^[26]。本研究根据脾肺相生的母子关系,选用参苓白术散治疗肺脾两虚型 COPD 模型大鼠,全方有补肺健脾,培土

生金,兼以渗湿浊,行气滞之功,是治疗脾虚湿盛证及体现培土生金法的常用方剂。实验结果显示,与肺脾两虚模型组比较,参苓白术散组大鼠胃、下丘脑组织 Ghrelin, Obestatin 蛋白有不同程度升高,提示培土生金法可上调 Ghrelin, Obestatin 蛋白表达水平,调节肺脾两虚型 COPD 大鼠模型能量代谢,改善其营养状态。

本研究显示,参苓白术散组 Ghrelin 与 Obestatin 水平有不同程度升高,咳嗽、短气、进食量、腹泻、体重增长幅度等均有明显改善,提示培土生金法可以调节肺脾两虚型 COPD 模型大鼠能量代谢,改善其营养不良状况,其机制可能是通过调节 Ghrelin, Obestatin 的动态平衡从而维持机体能量稳态来实现的。

[参考文献]

[1] Vogelmeier C F, Criner G J, Martinez F J, et al. Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive lung disease 2017 report[J]. *Am J Respir Crit Care*, 2017, 195(5):557-582.

[2] Couillard A, Muir J F, Veale D. COPD recent findings: impact on clinical practice[J]. *COPD*, 2010, 7(3):204-213.

[3] Grau C T, López M J, Vila G B. Guidelines for specialized nutritional and metabolic support in the critically-ill patient: update. Consensus SEMICYUC-SENPE: respiratory failure[J]. *Nutr Hosp*, 2011, 26(Suppl 1):37-40.

[4] Battaglia S, Spatafora M, Paglino G, et al. Ageing and COPD affect different domains of nutritional status: the ECCE study[J]. *Eur Respir J*, 2011, 37(6):1340-1345.

[5] 王业,文富强. Ghrelin 的生理功能以及在 COPD 中研究现状[J]. *临床肺科杂志*, 2013, 18(2):322-324.

[6] ZHANG J V, REN P G, Avsian-Kretschmer O, et al. Obestatin, a peptide encoded by the Ghrelin gene, opposes Ghrelin's effects on food intake[J]. *Science*, 2005, 310(5750):996-999.

[7] 唐胜球,江青艳,张永亮,等. 脑肠肽 Ghrelin 与 Obestatin 的研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2007, 15(31):3324-3331.

[8] 李航,黄慧婷,詹少锋,等. 培土生金法治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期疗效的 Meta 分析[J]. *广州中医药大学学报*, 2017, 34(1):132-139.

[9] 刘森雄,余春芳,余燕. 培土生金化痰方对慢性阻塞性肺疾病稳定期血清细胞因子和人体测量学的影响[J]. *新中医*, 2010, 42(8):28-29.

[10] 刘志刚,李泽庚,杨程,等. 培土生金法对慢性阻塞性肺疾病稳定期患者低体重指数及预后的影响[J]. *辽宁中医杂志*, 2010, 37(10):1877-1878.

[11] 姜辉,李泽庚,张家富,等. 芪白平肺胶囊对慢性阻塞性肺病大鼠基质金属蛋白酶-9 及其抑制剂表达的影

响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2014, 30(1):17-19.

[12] 宋一平,崔德健,茅培英,等. 慢性阻塞性肺疾病大鼠模型的建立及药物干预的影响[J]. *中华内科杂志*, 2000, 139,(8):556-557.

[13] 张伟,宫静,张靖轩,等. 一种肺脾两虚型慢阻肺动物模型的建立[J]. *辽宁中医杂志*, 2009, 36(1):142-143.

[14] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社,2002:202-204.

[15] Bewick G A, Kent A, Campbell D, et al. Mice with hyperghrelinemia are hyperphagic and Glucose intolerant and have reduced leptin sensitivity[J]. *Diabetes*, 2009, 58(4):840-846.

[16] 徐志松,包子予,王志英,等. 慢性阻塞性肺疾病患者生长激素释放肽、生长激素、生长激素释放激素的变化及其临床意义[J]. *中华内科杂志*, 2012, 51(7):536-539.

[17] 陆昊,王春,林勇. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者营养状态与血浆生长激素释放肽水平的研究[J]. *临床荟萃*, 2010, 25(19):1684-1687.

[18] LEI Y, LIANG Y S, CHEN Y F, et al. Increased circulating Obestatin in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Multidiscip Respir Med*, 2014, 9(1):5.

[19] LIU J, LIAO Q, TANG W, et al. Effects of tumor necrosis factor- α on nutritional status and proteolysis of respiratory muscles in rats with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J South Med Univ*, 2012, 32(4):548-552.

[20] 孔祥龙. 稳定期 COPD 患者的 IL-18、TNF- α 与营养状况及预后指标的相关性研究[D]. 长沙:中南大学湘雅二医院,2012.

[21] Chavoshan B, Fournier M, Lewis M I, et al. Testosterone and resistance training effects on muscle nitric oxide synthase isoforms in COPD men[J]. *Respir Med*, 2012, 106(2):269-275.

[22] van Helvoort H A, Heijdra Y E, Thijs H M, et al. Exercise induced systemic effects in muscle-wasted patients with COPD[J]. *Med Sci Sports Exerc*, 2006, 38(9):1543-1545.

[23] 荣蓉,蔡孝楨,周寅川,等. 慢性阻塞性肺疾病不同营养状况患者白介素-6 检测结果分析[J]. *内科*, 2015, 10(2):205-206.

[24] Deveci Y, Deveci F, Ilhan N, et al. Serum Ghrelin, IL-6 and TNF- α levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Tuberk Toraks*, 2010, 58(2):162-172.

[25] 袁燕芳,金桂兰,张建忠. “培土生金法”治疗慢性阻塞性肺疾病理论初探及应用浅析[J]. *内蒙古中医药*, 2015, 34(11):159.

[26] 程正良,王胜. “培土生金法”在慢性阻塞性肺疾病治疗中的应用[J]. *中医药临床杂志*, 2015, 27(8):1057-1060.

[责任编辑 张丰丰]