

# 千金苇茎汤对香烟烟雾暴露模型大鼠肺组织Th17/Treg分化及其相关细胞因子表达的影响

王庆学<sup>1</sup>, 欧阳宇晨<sup>2</sup>, 卞尧尧<sup>3</sup>, 刘怀全<sup>1</sup>, 张孟之<sup>1</sup>, 于海洋<sup>1</sup>, 李文<sup>1\*</sup>

(1. 贵州中医药大学, 贵阳 550025; 2. 遵义市中医院, 贵州遵义 563000;

3. 南京中医药大学, 南京 210000)

**[摘要]** **目的:**观察千金苇茎汤对香烟烟雾暴露模型大鼠肺组织辅助性T细胞17(Th17)/调节性T细胞(Treg)分化及其相关细胞因子表达的影响。**方法:**雄性大鼠60只,随机分为正常组,烟雾模型组,乙酰半胱氨酸组、千金苇茎汤高、中、低剂量组,共6组,每组10只。香烟烟雾造模30d后,药物分别干预30d,后处死各组大鼠并取组织;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测维甲酸相关孤儿受体(ROR- $\gamma$ t),叉头状/翼状螺旋转录因子3(Foxp3) mRNA表达,酶联免疫吸附测定(ELISA)检测肺组织白细胞介素-17(IL-17),IL-6,IL-10,转化生长因子- $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )含量,苏木素-伊红(HE)染色切片观察肺组织病理,流式细胞术检测Treg(Foxp3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>)比例,Th17(CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>)比例,Treg/Th17。**结果:**与正常组比较,模型组ROR- $\gamma$ t mRNA表达显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,千金苇茎汤高、中、低剂量组干预后都能够降低其表达( $P<0.05$ , $P<0.01$ );与正常组比较,模型组Foxp3 mRNA表达明显降低( $P<0.05$ ),与模型组比较,千金苇茎汤中低剂量组干预后表达明显升高( $P<0.05$ )。与正常组比较,模型组IL-17,IL-6含量明显升高,IL-10,TGF- $\beta_1$ 含量明显降低( $P<0.05$ , $P<0.01$ );与模型组比较,千金苇茎汤高、中、低剂量组干预后能够降低肺组织IL-17,IL-6含量,同时升高IL-10的含量( $P<0.05$ ),与Real-time PCR检测的结果趋势一致。流式细胞术检测显示,千金苇茎汤中、低剂量组干预后Th17(CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>)比例降低,Treg/Th17增加( $P<0.05$ , $P<0.01$ )。**结论:**千金苇茎汤能调节Treg/Th17,使Th17/Treg达到平衡状态。

**[关键词]** 千金苇茎汤; 吸烟; 辅助性T细胞17(Th17); 调节性T细胞(Treg)

**[中图分类号]** R2-0;R22;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)21-0028-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20201873

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200730.1345.002.html>

**[网络出版日期]** 2020-7-30 14:57

## Observation of Effect of Qianjin Weijingtang on Differentiation of Th17/Treg and Expressions of Related Cytokines in Lung Tissues of Model Rats Exposed to Cigarette Smoke

WANG Qing-xue<sup>1</sup>, OUYANG Yu-chen<sup>2</sup>, BIAN Yao-yao<sup>3</sup>, LIU Huai-quan<sup>1</sup>, ZHANG Meng-zhi<sup>1</sup>,  
YU Hai-yang<sup>1</sup>, LI Wen<sup>1\*</sup>

(1. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Guiyang 550025, China;

2. Zunyi Hospital of TCM, Zunyi 563000, China;

3. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China)

**[Abstract]** **Objective:** The present study was to observe the effect of Qianjin Weijingtang on the differentiation of helper T cells 17 (Th17)/T regulatory cell (Treg) and the expressions of related cytokines in the lung tissues of the model rats exposed to cigarette smoke. **Method:** Totally 60 male rats were randomly assigned into six groups (control group, model group, acetylcysteine group and Qianjin Weijingtang high,

**[收稿日期]** 20200327(017)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81760841);贵州省科技厅项目(黔科合J字[2012]2086号);贵州省教育厅自然科学研究项目(黔教合KY字[2017]172)

**[第一作者]** 王庆学,硕士,从事中医基础理论相关研究,Tel:0851-88233039,E-mail:957784686@qq.com

**[通信作者]** \*李文,副教授,从事中西医结合证候物质基础研究,E-mail:aladdin64@163.com

moddle and low dose groups), with 10 rats in each group. After 30 day's modeling and 30 day's intervention, rats were killed peacefully with their tissues collected. Real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR) was used to detect the expression of retinoic acid associated orphan receptor (ROR- $\gamma$ t) and forkhead/pterygoid helix transcription factor 3 (Foxp3) mRNA, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to check the concentration of interleukin-17(IL-17), IL-6, IL-10 and transforming growth factor- $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ ). Htoxylin eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes of lung tissues, while flow cytometry was used to detect Treg(Foxp3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>), Th17(CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>) and Treg/Th17 ratio. **Result:** As compared with the control group, the ROR- $\gamma$ t mRNA expression in model group was higher( $P<0.01$ ). As compared with the model group, various doses of Qianjin Weijingtang down-regulated the expression( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). As compared with the control group, the expression of the Foxp3 mRNA was down-regulated in model group( $P<0.05$ ), but was up-regulated in Qianjin Weijingtang middle and low dose groups( $P<0.05$ ). Compared with the control group, the concentration of IL-17 and IL-6 in the model group were significantly increased, while the concentration of IL-10 and TGF- $\beta_1$  in the model group were significantly decreased( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). As compared with the model group, intervention with various doses of Qianjin Weijingtang could help to decrease the concentration of IL-17 and IL-6 in lung tissues, and increase the concentration of IL-10( $P<0.05$ ), which were consistent with those of Real-time PCR results. Flow cytometry examination showed that the Th17 (CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>) proportion decreased and Treg/Th17 ratio increased after Qianjin Weijing Tang middle and low dose intervention( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). **Conclusion:** Qianjin Weijingtang could regulate Treg/Th17 ratio and help to achieve Th17/Treg balance.

**[Key words]** Qianjin Weijingtang; cigarette smoking; helper T cells 17 (Th17); T regulatory cell (Treg)

烟草是目前全球范围内重要的公共卫生问题<sup>[1]</sup>。目前我国烟草控制非常严峻,吸烟人数众多,年轻人占比高,且不断上涨<sup>[2]</sup>。吸烟可导致多种组织器官的危害,肺部面临的问题相对更加严峻。其中包括二手烟,每年我国有10万人因香烟烟雾导致死亡<sup>[3]</sup>。因此,缓解香烟烟雾肺损伤的药物具有相当的经济价值和社会意义。我国古人较早就认识到了烟草的危害,认为其“火气熏灼”“久服肺焦”<sup>[4]</sup>。而千金苇茎汤出自《备急千金要方》,由苇茎、瓜子仁、薏苡仁、桃仁4味药组成,具有多种活性成分<sup>[5]</sup>,是中医经典的清热解毒,清肺化痰的名方,符合烟毒伤肺的治则治法。香烟烟雾可以导致T细胞17(Th17)/调节性T细胞(Treg)平衡失调已被证实<sup>[6-7]</sup>,同时Th7/Treg平衡失调在许多呼吸系统疾病中都有体现<sup>[8-9]</sup>。从临床研究来看,千金苇茎汤对于Th17/Treg失衡的呼吸系统疾病具有不错的疗效<sup>[10-12]</sup>,课题组前期研究也发现千金苇茎汤和Th17/Treg平衡具有一定相关性<sup>[13]</sup>。因此,本文在前期实验及文献研究基础上,拟采用千金苇茎汤,通过观察Th17/Treg细胞平衡及相关细胞因子表达的变化,探讨千金苇茎汤的分子机制。

## 1 材料

**1.1 动物** 雄性健康SD大鼠60只,7周龄,体质量(60±10)g,由南京中医药大学实验动物中心(伦理批号101810A043)提供,上海西普尔-必凯实验动物有限公司生产,合格证号SCXK(沪)2018-0006。

**1.2 药物的制备** 瓜子仁、薏苡仁、桃仁购于江苏省中医院,芦苇购自网店,药材经南京中医药大学药学院中药鉴定教研室南京中医药大学中药鉴定教研室吴德康教授鉴定为道地药材。乙酰半胱氨酸片(富露施,海南赞邦制药有限公司,批号D1118B01)。生药先在砂锅中加入适量水浸泡30 min,武火煎煮至沸腾,文火浓缩。千金苇茎汤临床患者用量大致为芦苇15 g,瓜子仁15 g,薏苡仁8 g,桃仁6 g。参照《动物中人体剂量换算遵循的原则》<sup>[14]</sup>,按照质量比例,芦苇-瓜子仁-薏苡仁-桃仁30:30:15:12的比例进行配置,低剂量将水煎液浓缩成每毫升含生药0.5 g的浓缩液,中剂量将水煎液浓缩成每毫升含生药1 g的浓缩液,高剂量将水煎液浓缩成每毫升含生药2 g的浓缩液,置于冰箱保存,用时取定量浓缩液。乙酰半胱氨酸组每日用乙酰半胱氨酸片(0.2 g/片)配成10 mL(质量浓度为20 g·L<sup>-1</sup>)。

**1.3 试剂** RNA提取液(武汉 Servicebio 公司,货号 G3013);三氯甲烷,异丙醇,无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司,货号分别为 10006818, 80109218, 10009218); HyPure TMMolecular Biology Grade Water(美国 HyClone 公司,货号 SH30538.02); RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit(美国 Thermo 公司,货号 #K1622); FastStart Universal SYBR Green Master(Rox)(瑞士 Roche 公司,货号 04913914001);大鼠白细胞介素-(IL)-10, IL-6, IL-17, 转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒,小鼠 IL-10 ELISA 试剂盒(南京金益柏生物科技有限公司,货号分别为 JEB-13734, JEB-13729, JEB-13564, JEB-13611, JEB-12260);苏木素,伊红(珠海贝索生物技术有限公司,货号分别为 BA-4097, BA-4099);流式耗材 IL-17-PE, CD4-FITC, CD25, Foxp3(美国 eBioscience 公司,货号分别为 11-0040-82, 11-0040-82, 12-0390-82, 35-5773-82);trizol(武汉谷歌生物科技有限公司,批号 G3013)。

**1.4 仪器** TissueLyser LT 型匀浆仪(德国 Qiagen 公司);D3024R 型台式高速冷冻型微量离心机[大龙兴创实验仪器(北京)有限公司];Stepone plus 型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(美国 ABI 公司);SW-CJ-1FD 型超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司);NanoDrop2000 型微量分光光度计(美国 Thermo 公司);Infinite F50 型酶标仪(瑞士 Tecan 公司);Nikon Ti 型荧光显微镜(日本尼康公司);RM2245 型石蜡切片机(德国 Leica 公司);FACS Calibur 型流式细胞仪(美国 Becton-Dickinson 公司)。

## 2 方法

**2.1 动物分组、给药与造模** SD 大鼠适应性喂养 1 周后,随机分组为 6 组,正常组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、模型组+乙酰半胱氨酸组、模型组+千金苇茎汤低剂量组、模型组+中剂量组、模型组+高剂量组。烟雾暴露模型大鼠的建立,SD 雄性大鼠参考文献方法大鼠被动吸烟。每次点燃 2 支香烟放入,燃烧 10 min,休息 5 min 后再放入 2 支香烟,上下午各吸烟 20 支,中间间隔时间不少于 4 h,每周吸烟 6 d。用数字测氧仪监测烟熏箱中的氧浓度,根据监测结果开放通气孔的数目,使烟熏箱中的氧浓度保持 20%~21%。正常组大鼠饲养在无烟环境中。到达干预时间 4 周。用 3% 戊巴比妥钠( $45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )腹腔注射麻醉,处死后取肺组织,部分 10% 甲醛固定,

做相关检测。部分存液氮。模型组及空白组灌服相应体积的生理盐水。参照人和动物间按体表面积折算的等效剂量比值,按单位体质量的剂量来算,大鼠的等效剂量相当于人的 6.3 倍。60 kg 患者每日生药剂量为 44 g,患者每 kg 体质量为 0.73 生药。大鼠等效剂量是人的 6.3 倍,也就是 4.62 g(大鼠每 kg 体质量为 4.629 生药)。体质量为 220 g 的大鼠给生药为 1.016 g,这也是中剂量组的剂量值。因此每日根据千金苇茎汤低剂量组( $2.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),中剂量组( $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),高剂量组( $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),乙酰半胱氨酸组( $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),及实际体质量,折算灌胃量,每日灌胃 1 次。

**2.2 Real-time PCR 检测 ROR- $\gamma$ t, Foxp3 mRNA 的表达** PCR 反应条件为预变性( $95 \text{ }^\circ\text{C}$  10 min),循环(40 次, $95 \text{ }^\circ\text{C}$  15 s,  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  60 s),熔解曲线( $60 \text{ }^\circ\text{C}$   $95 \text{ }^\circ\text{C}$ , 每 15 s 升温  $0.3 \text{ }^\circ\text{C}$ )。引物由金斯瑞(GenScript)提供。以 Real-time PCR 检测 ROR- $\gamma$ t 和 Foxp3 的 mRNA 水平。收集诱导 3 d 的细胞,trizol 裂解细胞提取总 RNA,按照反转录试剂盒合成 cDNA。再按照荧光定量试剂盒操作步骤<sup>[15]</sup>,在 ABI Stepone plus 仪器上检测,采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算 ROR- $\gamma$ t, Foxp3 mRNA 的相对表达量。引物序列设计由美国 Genscrip 公司合成完成,引物序列见表 1。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequence of PCR

引物	序列(5'-3')	长度/bp
GAPDH	上游 CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG	138
	下游 GGTGGAAGAATGGGAGTTGCT	
ROR- $\gamma$ t	上游 ACAGGGAGCCAAGTTCTCAGT	190
	下游 TCTTGACGGGGTAACTGGCT	
Foxp3	上游 CCCATCCCCAGGAGTCTTG	183
	下游 ATGTCACGGGGATCAGTACCA	

**2.3 ELISA 检测 IL-17, IL-6, IL-10 和 TGF- $\beta$ 1 含量** 收集诱导 3 d 的培养上清,按照 ELISA 试剂盒说明书进行操作,全自动酶标仪检测吸光度 A,根据标准曲线获得样品检测目标的浓度。

**2.4 苏木素-伊红(HE)染色观察大鼠肺组织病理学变化** 按照 HE 染色操作规范,石蜡切片脱蜡至水,苏木素染细胞核,伊红染细胞质,脱水封片,显微镜镜检,图像采集分析依次进行。

**2.5 流式细胞检测细胞表型**  $1\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min 收集细胞,用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤细胞

2次,离心去除上清,加入PBS 90 μL重悬细胞;固定液室温孵育 10 min;加入破膜剂混匀后 37 °C 孵育 10 min 通透细胞;按抗体说明书加入适量抗体混匀后,37 °C 避光孵育 30 min;加入 PBS 400 μL 后用流式细胞仪检测细胞表型。

**2.6 统计学分析** 实验采取完全随机设计,以 GraphPad Prism 7.0 软件进行分析,计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,组间比较采用 Tukey's multiple comparisons test,以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对香烟烟雾模型大鼠肺组织 ROR- $\gamma$ t 和 Foxp3 mRNA 表达的影响** 与正常组比较,模型组 ROR- $\gamma$ t mRNA 表达显著升高, Foxp3 mRNA 表达明显降低 ( $P < 0.05, P < 0.01$ );与模型组比较,千金苇茎汤高、中、低剂量组明显降低 ROR- $\gamma$ t mRNA 表达,明显升高 Foxp3 mRNA 表达 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 2。

**3.2 对香烟烟雾模型大鼠肺组织 IL-17, IL-6, IL-10, TGF- $\beta_1$  含量的影响** 与正常组比较,模型组 IL-17, IL-6 含量明显升高 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), IL-10,

表 2 千金苇茎汤对香烟烟雾模型大鼠肺组织 ROR- $\gamma$ t 和 Foxp3 mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 2 Effect of Qianjin Weijingtang on expression of ROR- $\gamma$ t and Foxp3 mRNA in lung tissue of cigarette smoke model rats ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	ROR- $\gamma$ t	Foxp3
正常	-	0.75±0.26	3.16±0.69
香烟烟雾模型	-	3.04±0.21 <sup>2)</sup>	0.75±0.37 <sup>1)</sup>
乙酰半胱氨酸	0.1	2.09±0.54	0.93±0.50
千金苇茎汤	10	0.85±0.30 <sup>4)</sup>	2.06±0.52 <sup>3)</sup>
	5	1.46±0.43 <sup>3)</sup>	1.55±0.72 <sup>3)</sup>
	2.5	1.38±0.45 <sup>3)</sup>	1.53±0.37 <sup>3)</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 3,4同)。

TGF- $\beta_1$  含量明显降低 ( $P < 0.05$ );与模型组比较,千金苇茎汤高、中、低剂量组明显降低 IL-17 含量,千金苇茎汤高、中剂量组明显降低 IL-6 含量,千金苇茎汤低剂量组明显升高 IL-10 含量 ( $P < 0.05$ ),千金苇茎汤各组对 TGF- $\beta_1$  含量影响差异无统计学意义。见表 3。

表 3 千金苇茎汤对香烟烟雾模型大鼠肺组织 IL-17, IL-6, IL-10, TGF- $\beta_1$  含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 3 Effect of Qianjin Weijingtang on content of IL-17, IL-6, IL-10, TGF- $\beta_1$  in lung tissue of cigarette smoke model rats ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IL-17	IL-6	IL-10	TGF- $\beta_1$
正常	-	19.55±5.02	39.55±7.47	59.67±7.63	153.27±13.03
香烟烟雾模型	-	88.93±12.55 <sup>2)</sup>	80.45±9.50 <sup>1)</sup>	33.83±7.87 <sup>1)</sup>	107.37±10.36 <sup>1)</sup>
乙酰半胱氨酸	0.1	84.95±10.94	70.88±7.37	49.37±7.02 <sup>3)</sup>	143.19±11.53 <sup>3)</sup>
千金苇茎汤	10	46.87±19.77 <sup>3)</sup>	54.14±5.30 <sup>3)</sup>	37.38±5.22	108.38±14.74
	5	49.91±8.27 <sup>3)</sup>	58.59±6.80 <sup>3)</sup>	32.72±9.65	127.60±10.65
	2.5	52.35±8.05 <sup>3)</sup>	70.92±10.25	53.16±7.43 <sup>3)</sup>	120.12±16.55

**3.3 对香烟烟雾模型大鼠肺组织病理学的影响** 正常组肺泡腔未见异常物质,肺泡壁(肺泡间隔)细胞层次正常。烟雾模型组间质区域可见慢性炎症细胞浸润,肺泡壁(肺泡间隔)细胞层次增加,显著增厚。支气管壁结构欠完整,管腔内可见少量渗出。泡间隔可见轻微充血。阳性药组支气管壁完整性尚可,管腔内可见微量渗出,间质区可见慢性炎症细胞。千金苇茎汤各组表现比较近似:千金苇茎汤高剂量组肺泡腔未见异常物质,肺泡壁(肺泡间隔)细胞层次增加,略增厚。千金苇茎汤中剂量组肺泡壁及肺泡腔未见明显异常,肺泡壁(肺泡间隔)细胞层次增加,肺泡间隔可见轻微充血。千金苇茎汤低剂量组肺泡腔未见异常物质,肺泡壁(肺

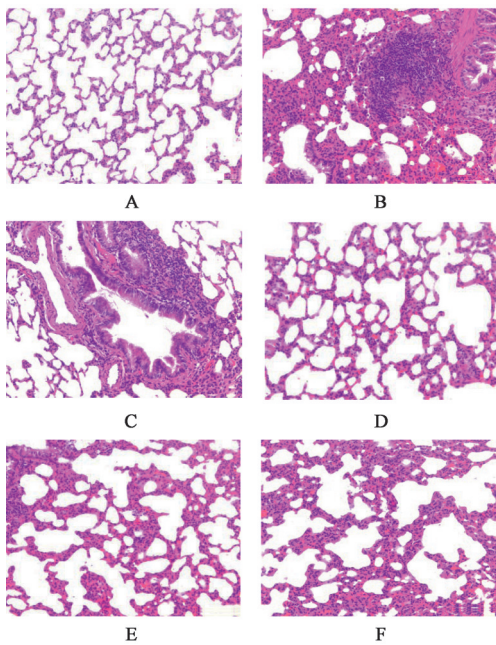
泡间隔)细胞层次增加,显著增厚。肺泡间隔可见轻微充血。见图 1。

**3.4 对香烟烟雾模型大鼠肺组织 Treg (Foxp3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>), Th17 (CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>), Treg/Th17 表达的影响**

与正常组比较,模型组 Th17 (CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>) 比例显著升高 ( $P < 0.01$ );与模型组比较,千金苇茎汤中、低剂量组干预后 Th17 (CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>) 比例显著降低 ( $P < 0.01$ )。Treg (Foxp3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>) 比例各组之间均差异无统计学意义。而千金苇茎汤高、中剂量组干预使 Treg/Th17 明显增加 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 4。

### 4 讨论

吸食烟草在我国具有较长的历史,国内吸烟者众,且有年轻化的趋势<sup>[16]</sup>。烟草对人体造成多个组



A. 正常组; B. 香烟烟雾模型组; C. 乙酰半胱氨酸组; D. 千金苇茎汤高剂量组; E. 千金苇茎汤中剂量组; F. 千金苇茎汤低剂量组

图1 千金苇茎汤对香烟烟雾模型大鼠肺组织病理学的影响(HE, ×200)

Fig. 1 Effect of Qianjin Weijingtang on pulmonary histopathology in lung tissue of cigarette smoke model rats(HE, ×200)

表4 千金苇茎汤对香烟烟雾模型大鼠肺组织 Treg(Foxp3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>), Th17(CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>), Treg/Th17 表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 4 Effect of Qianjin Weijingtang on content of Treg (Foxp3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>), Th17(CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>), Treg/Th17 in lung tissue of cigarette smoke model rats( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	剂量/ g·kg <sup>-1</sup>	Treg(FOXP3 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> )/%	Th-17(CD4 <sup>+</sup> IL-17 <sup>+</sup> )/%	Treg/Th17
正常	-	8.26±3.19	1.99±1.76	5.62±3.25
烟雾模型	-	14.36±2.20	21.26±3.95 <sup>2)</sup>	0.70±0.22 <sup>2)</sup>
乙酰半胱氨酸	0.1	12.01±2.03	16.16±3.51	0.75±0.10
千金苇茎汤	10	19.17±1.03	6.22±2.09 <sup>4)</sup>	3.32±1.11 <sup>4)</sup>
	5	15.75±2.44	9.57±1.58 <sup>4)</sup>	1.71±0.51 <sup>3)</sup>
	2.5	13.38±2.24	15.73±2.28	0.86±0.14

织系统不可逆的损伤,而呼吸系统首当其冲。烟毒伤肺,肺热叶焦是烟草造成肺部损伤的基本病机。千金苇茎汤由苇茎、瓜瓣、薏苡仁、桃仁组成,有清肺化痰,逐瘀排脓之功效。方中君药苇茎,甘寒轻浮,善清肺热。瓜瓣清热利湿,化痰排脓,肃降肺气,与苇茎配合而为臣;薏苡仁甘淡平和,清上利下,淡渗利湿;桃仁活血化瘀,可助消痈,二药可为佐使。方仅四药,组方简洁,结构合理,药性平和,共具清热化痰之效。

Th17是CD4辅助T细胞亚群中的一种,很早就

被证实参与人体免疫反应、炎症反应以及感染进程等病理生理过程<sup>[17]</sup>,IL-17,IL-6等炎症因子皆可以由Th17细胞分泌,在人体免疫传递以及炎症反应的过程中起到重要作用<sup>[6,18]</sup>,而Th17细胞的分化产生主要的过程由人体内的ROR- $\gamma$ t蛋白复合体调节控制,ROR- $\gamma$ t和Th17的比例相关性极高<sup>[19]</sup>,常用以佐证Th17的比例。与Th17相反,Treg是免疫系统内的一种具有调节协调作用的T细胞亚群,分泌IL-10,TGF- $\beta$ 。Th17与Treg之间的相对平衡对人体免疫系统的正常运转起到重要作用<sup>[20]</sup>。千金苇茎汤被报道能够降低重症肺炎患者IL-6及IL-17水平,同时提高IL-4,IL-10及TGF- $\beta$ 水平<sup>[12]</sup>,改善吸烟相关疾病的症状以及延长发作时间<sup>[21]</sup>。

本实验研究结果显示,与正常组比较,模型组ROR- $\gamma$ t mRNA表达明显上升,千金苇茎汤高、中、低各剂量组干预后都能够下调其表达;与正常组比较,模型组Foxp3 mRNA表达下调,而千金苇茎汤中低剂量组干预后表达上调。说明千金苇茎汤在两种转录因子的平衡中起到了一定的干预作用。在相关细胞因子的检测中,与模型组比较,千金苇茎汤高、中、低剂量组干预后能够降低IL-17,IL-6含量,同时降低IL-10的含量,与PCR的结果趋势一致。流式细胞检测显示,千金苇茎汤中、低剂量组干预后Th17(CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>)比例降低,千金苇茎汤高、中剂量组干预使Treg/Th17有所增加,使Th17/Treg达到平衡状态。

#### [参考文献]

- [1] MACKENBACH J P, DAMHUIS R A, BEEN J V. The effects of smoking on health: growth of knowledge reveals even grimmer picture [J]. Ned Tijdschr Geneesk, 2017, 160(12): D869.
- [2] HERRERA A M, CORVALÁN M P. Adolescents and smoking [J]. Rev Chil Pediatr, 2017, 88(6): 697-698.
- [3] MAKATE M, WHETTON S, TAIT R J, et al. Tobacco cost of illness studies: a systematic review [J]. Nicotine Tob Res, 2020, 22(4): 458-465.
- [4] 张雪亮. 祖国医学对烟草的认识 [J]. 中国健康教育杂志, 1991, 7(2): 21-22.
- [5] 陈瑞琳, 王真. 千金苇茎汤之运用略述 [J]. 浙江中医药大学学报, 2012, 36(2): 228-229.
- [6] MA J, LIU Y, LI Y, et al. Differential role of all-trans retinoic acid in promoting the development of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> regulatory T cells [J]. J Leukoc Biol, 2014, 95(2): 275-283.
- [7] QIU F, LIANG C L, LIU H, et al. Impacts of cigarette

- smoking on immune responsiveness: up and down or upside down?[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(1):268-284.
- [ 8 ] BASKARA I, KERBRAT S, DAGOUASSAT M, et al. Cigarette smoking induces human CCR6<sup>+</sup>Th17 lymphocytes senescence and VEGF-A secretion [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):6488.
- [ 9 ] SMYTH L J, STARKEY C VESTBO J, et al. CD4-regulatory cells in COPD patients[J]. *Chest*, 2007, 132(1):156-163.
- [10] 陈芙蓉,陈健君,徐仲卿. 胸腺肽 $\alpha$ 1对重症肺炎患者Th17/Treg平衡的影响及其分子机制研究[J]. *医学分子生物学杂志*, 2016, 13(4):212-217.
- [11] 宋天云,惠萍,范发才,等. 千金苇茎汤合定喘汤治疗支气管扩张合并哮喘临床观察[J]. *中国中医急症*, 2014, 23(11):2077-2078.
- [12] 林桂仪,张莹. 千金苇茎汤加味联合西医治疗对接受机械通气的重症肺炎患者呼吸力学、Th17与Treg细胞因子失衡及动脉血气分析指标的影响[J]. *河北中医*, 2018, 40(4):520-526.
- [13] 李文,高洁,柴艺汇,等. Th17/Treg细胞平衡:千金苇茎汤治疗COPD的潜在靶点[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2018, 20(10):103-106.
- [14] 邓文龙. 动物中人体剂量换算遵循的原则[J]. *中药药理与临床*, 2016, 32(3):196-197.
- [15] 许琰,丛喆,魏强. 实时荧光定量PCR的研究进展及应用[J]. *中国实验动物学报*, 2007, 15(2):155-158.
- [16] WANG M, LUO X, XU S, et al. Trends in smoking prevalence and implication for chronic diseases in China: serial national cross-sectional surveys from 2003 to 2013 [J]. *Lancet Respir Med*, 2019, 7(1):35-45.
- [17] DAI X, YANG D, BAO J, et al. Er Miao San, a traditional Chinese herbal formula, attenuates complete Freund's adjuvant-induced arthritis in rats by regulating Th17/Treg cells [J]. *Pharm Biol*, 2020, 58(1):157-164.
- [18] 孔鹏飞,魏先鹏,唐学贵. 桃花汤合补中益气汤加减对克罗恩病Th1和Th17细胞因子的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(24):54-59.
- [19] 王成阳,刘向国,彭青和,等. Foxp3/Treg与ROR $\gamma$ t/Th17细胞失衡在慢性阻塞性肺疾病大鼠中的作用[J]. *中华危重病急救医学*, 2014, 26(12):860-864.
- [20] LANEN, ROBINS A, CORNE J, et al. Regulation in chronic obstructive pulmonary disease: the role of regulatory T-cells and Th17 cells[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2010, 119(2):75-86.
- [21] 安云凤,崔红,朱仁英. 千金苇茎汤加减治疗老年人慢阻肺45例[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(9):295.

[责任编辑 周冰冰]