

引用:张晶,吴晓晨,张家旺,等.全真一气汤对肾气虚型哮喘大鼠转录因子 FOXP3/ROR γ t 及 Th17/Treg 免疫失衡的影响[J].现代中医药,2023,43(6):96-102.

全真一气汤对肾气虚型哮喘大鼠转录因子 FOXP3/ROR γ t 及 Th17/Treg 免疫失衡的影响^{*}

张晶^{1**} 吴晓晨¹ 张家旺¹ 谢雨婕¹ 钟华胜²

(1. 福建中医药大学附属第二人民医院,福建 福州 350003;2. 龙岩市上杭县医院,福建 上杭 364200)

摘要:目的 观察全真一气汤对肾气虚型哮喘大鼠 Th17/Treg 及相关细胞因子(IL-6、IL-17、IL-10、IL-35)和转录因子维甲酸相关孤独核受体- γ t(Orphan nuclear receptor gamma t, ROR γ t)、叉头状转录因子(forkhead transcription factor P3, FOXP3)的影响,探讨全真一气汤调控哮喘气道炎症的机制。方法 将 24 只 SD 雄性大鼠随机分为空白组、模型组、全真一气汤低剂量治疗组($8.33\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)和全真一气汤高剂量治疗组($33.32\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),每组 6 只。模型组与低、高剂量治疗组予卵蛋白 1mg、氢氧化铝凝胶 10 mg 的混悬液 1 mL 致敏,1%的卵清蛋白超声雾化吸入以激发哮喘,进行惊恐刺激,负重游泳直至力竭等进行肾气虚型哮喘大鼠造模,造模成功后开始药物干预。空白组和模型组予生理盐水 3 mL 灌服,治疗组按低、高剂量予全真一气汤 3 mL 灌服,每日 1 次,连服 30 d。实时荧光定量聚合酶链式反应(Real time Quantitative PCR, qRT-PCR)检测各组大鼠肺组织中 FOXP3、ROR γ t mRNA 水平,流式细胞术检测外周血 Th17、Treg 细胞百分比,酶联免疫吸附实验(Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA)检测血清 IL-6、IL-17、IL-10、IL-35 细胞因子含量。结果 与空白组相比,模型组血 Th17 细胞比例、血清 IL-6、IL-17 含量及相关肺组织中 ROR γ t mRNA 和蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$),模型组 Treg 细胞比例、血清 IL-10、IL-35 含量及相关肺组织中 FOXP3 mRNA 和蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$);与模型组相比,全真一气汤低、高剂量组血 Th17 细胞百分比、血清 IL-6、IL-17 含量及肺组织 ROR γ t mRNA 和蛋白的表达明显减少($P < 0.05$),高剂量组血 Treg 细胞百分比显著升高($P < 0.05$),但全真一气汤低剂量组血 Treg 细胞百分比无显著变化($P > 0.05$),高剂量组血清 IL-10 含量增加($P < 0.05$),全真一气汤低剂量组 IL-10 含量亦增加,但差异无统计学意义($P > 0.05$),两组血清 IL-35 含量、FOXP3 mRNA 及蛋白的表达同时明显升高($P < 0.05$);与全真一气汤低剂量组相比,高剂量组 Th17 细胞百分比明显降低($P > 0.05$),IL-17 亦降低($P > 0.05$),IL-6 含量及 ROR γ t 表达减少($P < 0.05$),高剂量组 IL-35 含量及 Treg 相关的 FOXP3 表达增加($P < 0.05$)。结论 全真一气汤低剂量组、全真一气汤高剂量组全真一气汤均可降低 Th17 细胞及相关促炎因子 IL-6、IL-17 的含量,抑制 ROR γ t 的表达;高剂量组可以升高 Treg 细胞百分比,而全真一气汤低剂量组对 Treg 细胞百分比影响则不明显,但都可以上调 FOXP3 的表达,促进相关抑炎因子 IL-10、IL-35 分泌。

关键词:全真一气汤;支气管哮喘;辅助型 T 细胞 17/调节性 T 细胞;维甲酸相关孤独核受体- γ t;叉头状转录因子;细胞因子

中图分类号:R256.12 文献标识码:A

文章编号:1672-0571(2023)06-0096-07

DOI:10.13424/j.cnki.mtcm.2023.06.020

支气管哮喘(bronchial asthma, BA)是由多种免疫细胞和细胞因子参与的变态反应性疾病,临

床表现为顽固性的喘憋和气流受限,甚至发生窒息休克,影响着全球近 3.34 亿人群的健康水

* 基金项目:福建省自然科学基金面上项目(2020J01245)

** 作者简介:张晶,副主任医师。研究方向:中西医结合治疗呼吸系统疾病。E-mail:aaa2004yan@163.com

平^[1]。哮喘是免疫系统和环境致敏原共同驱动的结果,免疫病理学认为,CD4 + T 淋巴细胞的不稳定分化和细胞因子的异常分泌介导哮喘气道炎症的发生和进展^[2]。用于促炎的 Th17 细胞和用于抑炎的 Treg 细胞是 CD4 + T 细胞的主要效应亚群,二者在功能上相互拮抗,Th17/Treg 免疫失衡增加哮喘发病的风险^[3-4]。

ROR γ t 是 Th17 特异性分化的关键转录因子^[5],FOXP3 则是外周 Treg 成熟和功能维持的特异性转录因子^[6]。ROR γ t 和 FOXP3 通过调控 Th17/Treg 发挥抗哮喘作用。前期的临床及实验研究已证实全真一气汤对肾气虚型哮喘气道炎症及肺功能(FEV1%、FEV1/FVC)有一定的改善作用^[7-8]。本实验用全真一气汤干预肾气虚型哮喘大鼠,综合 Th17/Treg 细胞及细胞因子含量和 ROR γ t、FOXP3 mRNA 及蛋白的表达结果,从而探讨全真一气汤防治哮喘的免疫调节机制。

1 仪器与材料

1.1 仪器 YS-06 医用压缩空气式雾化器(上海海尔医疗科技有限公司);Microfuge-22R 微量冷冻离心机(贝克曼);DW-HL340 超低温冷冻储存箱(中科美菱);7300 型荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司);ChemiDoc Touch 化学发光成像系统(美国 BIO-RAD 公司);POWER PAC 200 蛋白垂直电泳仪(美国 BIO-RAD 公司);Becton Dickinson 流式细胞仪(FACSCalbur)。

1.2 干预药物 全真一气汤(熟地黄 15 g,麦冬 15 g,淡附子 6 g,生晒参 15 g,白术 6 g,牛膝 15 g,五味子 6 g)按体重换算为大鼠剂量,于福建中医药大学附属第二人民医院中药房加工成生药含量 0.5 g · mL⁻¹ 的溶液,封存备用。

1.3 主要试剂 卵清蛋白(批号:M0228A)、氢氧化铝凝胶(批号:O1004A)、RIPA 强裂解液(批号:MA0151)均产自美仑生物技术有限公司;RNA 提取试剂(RNAiso Plus)(北京智杰方远科技有限公司,批号:9109);qPCR 预混液(批号:E096-01B)、逆转录试剂盒(批号:E047-01A)均产自苏州近岸蛋白质科技股份有限公司;BCA 蛋白定量分析试剂盒(上海研卉生物科技有限公司,批号:23227);FOXP3 抗体(批号:22228 -1-AP)、ROR γ 抗体(批

号:13205-1-AP)、GAPDH 抗体(批号:60004-I-Ig)、辣根酶标记山羊抗鼠 IgG(批号:SA00001-1)均产自 Proteintech 中国公司;IL-17A PE 流式抗体(批号:AM01I704-100)、CD4 APC 流式抗体(批号:AR00405-100)、CD25 FITC 流式抗体(批号:AR02501-100)均产自联科生物技术有限公司;FOXP3 PE 流式抗体(上海玉博生物科技有限公司,批号:12-5773-82);大鼠 IL-6、IL-17、IL-35、IL-10 ELISA 试剂盒(酶免生物,批号:MM0190R2、MM-0088R2、MM-0856R2、MM-0195R2)。

1.4 实验动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 24 只,体质量为(200 ± 5)g,购自杭州医学院动物实验中心,许可证号码:SCXK(浙)2019-0002。

2 方法

2.1 动物模型制备与分组 将大鼠安置于福州市仓山区瑞科医药健康产业园 2 座动物实验中心,随机分为空白组、肾气虚型哮喘模型组和全真一气汤低剂量治疗组、高剂量治疗组,每组 6 只大鼠,以专用饲料和饮用水喂养 7 d。依据孟鹏飞等^[9-11]的报道进行哮喘模型的制备:除空白组外,各组大鼠实验第一天腹腔注射含有卵蛋白 1 mg、氢氧化铝凝胶 10 mg 的混悬液 1 mL 致敏,第 8 d 同法再次致敏。第 15 日起将致敏后大鼠安置于适宜大小的玻璃罩中,每日给予 1% 的卵清蛋白超声雾化吸入 1 次以激发哮喘,连续激发直至处死。同时参照郑小伟等^[10]的方法进行肾气虚型模型的制备:实验第一天开始,在安静环境中对模型组及全真一气汤高低剂量组大鼠进行惊恐刺激,即播放猫叫声磁带(10 min/次)、梅花针叩刺模拟猫抓鼠情景(20 次 · min⁻¹),再将其置于水槽中(水深 50 cm、水温 20 ℃)负重游泳直至力竭,以大鼠鼻尖没入水面 10s 为度,日 1 次,共 14 d。大鼠呼吸急促,口唇发绀,纳食减少,体重增幅不显或反降,毛枯色黯,或伴烦躁不安,搔抓耳鼻,嗜睡蜷卧,活动迟缓等,听诊肺部可闻及哮鸣音,提示造模成功,可纳入研究。

2.2 药物干预 取出生药含量 0.5 g · mL⁻¹ 的全真一气汤(生晒参 15 g,麦冬 15 g,熟地黄 15 g,淡附子 6 g,白术 6 g,牛膝 15 g,五味子 6 g)备用。中药组每次给药前用电子秤称重,记录每只大鼠体

重,并按体重和剂量标准(全真一气汤低剂量治疗组:8.33 g·kg⁻¹、高剂量治疗组:33.32 g·kg⁻¹,相当于临床剂量的 0.5 倍、2 倍)换算成相应服药浓度,然后进行生理盐水稀释。全真一气汤高低剂量组每日予全真一气汤 3 mL 灌胃,正常组与模型组每日予生理盐水 3 mL 灌服,共 30 d。

2.3 肺组织取材及血标本采集 第 34 d 开始取材,用乌拉坦腹腔注射麻醉,将大鼠仰卧置于托盘中进行解剖,暴露胸腹,找到腹主动脉采血 10 mL,采血后剥除心脏,分离肺脏,取 30 mg 肺组织保存于-80℃冷冻箱。

2.4 ELISA 法检测 IL-6、IL-17、IL-10、IL-35 细胞因子含量 血标本室温下静置 30 min,设置 3000 r·min⁻¹离心 20 min,取上清液,严格参照 ELISA 试剂盒说明书检测 IL-6、IL-17、IL-10、IL-35 细胞因子含量。

2.5 流式细胞术检测 Th17、Treg 细胞百分比 流式细胞术检测大鼠全血中 Th17 细胞:在每管含 200 μL 血液的离心管内加入 IL-17A、CD4 流式抗体各 5 μL,混匀避光孵育 15 min;加入 2 mL 的裂解液,1500 r·min⁻¹离心 5 min,弃上清,缓冲液洗两次;每管加入 400 μL 缓冲液重悬细胞沉淀,上机检测。流式细胞术检测大鼠全血中 Treg 细胞:在每管含 200 μL 血液的离心管内加入 CD4 APC、CD25 FITC 各 5 μL,混匀避光孵育 15 min;加入 2 mL 的裂解液,1500 r·min⁻¹离心 5 min,弃上清,缓冲液洗两次;加入 400 μL 破膜固定液,1500 r·min⁻¹离心 5 min,弃上清,缓冲液洗两次;加入 196 μL 的缓冲液和 5 μL 的 FOXP3 PE,同样离心、弃上清、缓冲液清洗后,每管加入 400 μL 缓冲液重悬细胞沉淀,上机检测。

2.6 实时荧光定量 PCR (Real-time PCR) 检测 RORγt 和 FOXP3 mRNA 的表达 采用 RNAiso Plus 试剂提取肺组织细胞混悬液的总 RNA,进行逆转录合成 cDNA。反应体系:总体积 20 μL,其中 qPCR 预混液 10 μL, cDNA 2 μL,上下游引物各 0.4 μL,双蒸水 (ddH₂O) 6.8 μL,校正染料 (Dye I) 0.4 μL。RORγt 和 FOXP3 引物均由福州尚亚生物有限公司合成,引物序列见表 1。反应条件:

先给予 95℃ 1min,后予 95℃ 20 s、56℃ 20 s、72℃ 30 s,共 40 个循环。以上过程重复 3 次。利用荧光定量 PCR 仪收集荧光信号。计算 RORγt 和 FOXP3 基因的相对表达定量。

表 1 引物序列

基因	序列(5'-3')
GAPDH	上游:ATCAACGGGAAACCCATC
	下游:GAAGACGCCAGTAGACTCCA
FOXP3	上游:ACCTGGAAGAATGCCATCCG
	下游:GTTGGCTCCTCTTCTTGCGA
RORγt	上游:CAGTGAATGTGGCTACTC
	下游:AAC TTGACAGCATCTCTGGAC

2.7 统计学方法 应用 SPSS 26.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,满足正态分布的多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较若方差齐采用 LSD 法,方差不齐则采用 Dunnett's *t*₃ 法;偏态分布则用多样本秩和检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠血清 IL-6、IL-17、IL-10、IL-35 细胞因子含量 结果见表 2。与空白组相比,模型组血清 IL-6、IL-17 含量明显增加 (*P* < 0.05),血清 IL-10、IL-35 的含量明显减少 (*P* < 0.05);与模型组相比,全真一气汤低剂量、高剂量组中血清 IL-6、IL-17 的含量明显减少 (*P* < 0.05),高剂量组血清 IL-10 含量增加 (*P* < 0.05),全真一气汤低剂量组 IL-10 含量亦增加,但差异无统计学意义 (*P* > 0.05),两组血清 IL-35 含量均增加 (*P* < 0.05);与全真一气汤低剂量组相比,全真一气汤高剂量组血清 IL-17 含量减少 (*P* > 0.05),血清 IL-6 含量明显减少 (*P* < 0.05),血清 IL-35 的含量明显升高 (*P* < 0.05)。

3.2 各组大鼠血 Th17 和 Treg 细胞百分比的比较 结果见表 3 及图 1、2。与空白组相比,模型组及全真一气汤低剂量治疗组、全真一气汤高剂量治疗组血 Th17 细胞百分比均明显升高 (*P* < 0.05);与模型组相比,全真一气汤低剂量治疗组和全真一气汤高剂量治疗组血 Th17 细胞百分比显著降低 (*P* < 0.05);与全真一气汤低剂量治疗组相比,全真一气汤高剂量治疗组血 Th17 细胞百分比降低,

但差异无统计学意义($P>0.05$)。

与空白组相比,模型组及全真一气汤低剂量治疗组、全真一气汤高剂量治疗组血 Treg 细胞百分比显著降低($P<0.05$);与模型组相比,全真一气汤低剂量治疗组血 Treg 细胞百分比无变化

($P>0.05$),高剂量治疗组血 Treg 细胞百分比显著升高($P<0.05$);与全真一气汤低剂量治疗组相比,高剂量治疗组血 Treg 细胞百分比明显升高($P<0.05$)。

表 2 各组大鼠血清 IL-6、IL-17、IL-10、IL-35 细胞因子含量比较($\bar{x}\pm s,\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)					
组别	<i>n</i>	IL-6	IL-17	IL-35	IL-10
空白组	6	5.110±1.840	1.310±0.317	14.500±1.047	8.467±1.079
模型组	6	13.776±1.313	3.655±0.429	1.989±0.815	5.015±1.206
全真一气汤低剂量组	6	10.918±0.896	2.702±0.413	3.530±1.020	6.800±0.383
全真一气汤高剂量组	6	8.658±0.738	2.534±0.297	5.487±0.935	7.060±0.255

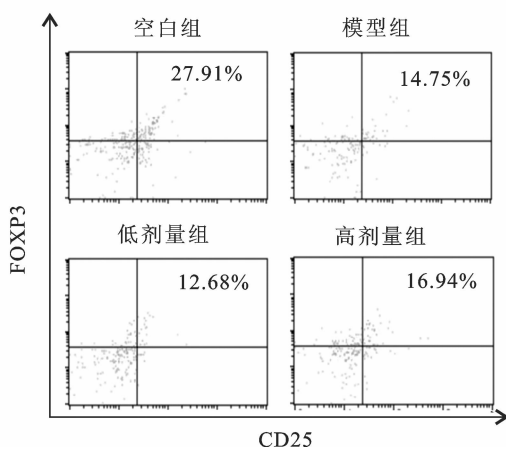
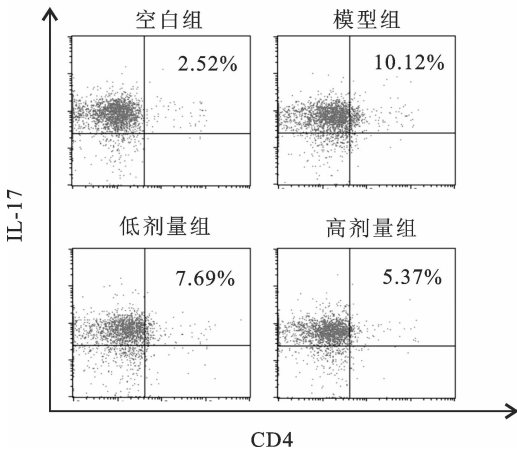
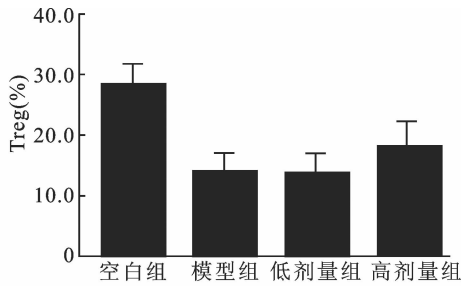
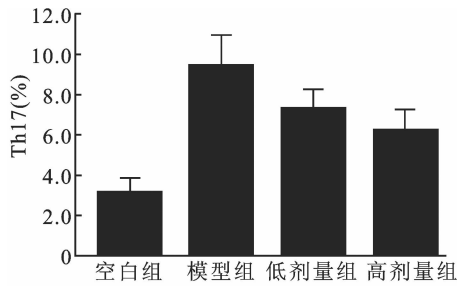


图 1 各组 Th17 细胞流式检测图

图 2 各组 Treg 细胞流式检测图

表 3 各组大鼠血 Th17 和 Treg 细胞比例比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	<i>n</i>	Th17	Treg
空白组	6	3.165±0.680	28.505±2.854
模型组	6	9.507±1.349	13.923±2.894
全真一气汤低剂量组	6	7.380±0.853	13.957±2.918
全真一气汤高剂量组	6	6.282±0.948	18.248±3.863

汤低、高剂量治疗组肺组织中 ROR γ tmRNA 表达水平明显降低($P<0.05$),FOXP3 mRNA 表达水平显著升高($P<0.05$),且呈量效关系。

表 4 组大鼠肺组织 ROR γ t mRNA、FOXP3 mRNA 相对表达量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	ROR γ t	FOXP3
空白组	6	1.000±0.086	1.000±0.079
模型组	6	3.011±0.560	0.012±0.010
全真一气汤低剂量组	6	2.300±0.066	0.604±0.013
全真一气汤高剂量组	6	1.770±0.098	0.793±0.031

3.3 各组大鼠肺组织中 ROR γ tmRNA 和 FOXP3 mRNA 表达的影响 结果见表 4 及图 3。与空白组相比,模型组肺组织中 ROR γ t 的 mRNA 表达水平显著升高($P<0.05$),FOXP3 的 mRNA 表达水平明显降低($P<0.05$);与模型组相比,全真一气

3.4 各组大鼠肺组织中 ROR γ 和 FOXP3 蛋白表

达的影响 结果见表 5 及图 4。与空白组相比,模型组肺组织中 ROP γ t 的蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$),FOXP3 的蛋白表达水平明显降低 ($P<0.05$);与模型组相比,全真一气汤低、高剂量治疗组肺组织中 ROP γ t 的蛋白表达水平明显降低 ($P<0.05$),FOXP3 的蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$),且呈量效关系。

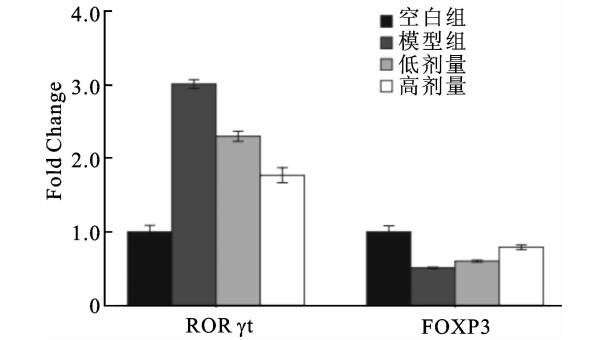


图 3 各组大鼠肺组织 ROR γ t mRNA 和 FOXP3 mRNA 表达量比较

表 5 各组大鼠肺组织 ROR γ t 和 FOXP3 蛋白表达水平($\bar{x}\pm s$)

组别	n	ROR γ t	FOXP3
空白组	6	0.487 \pm 0.070	0.880 \pm 0.037
模型组	6	1.010 \pm 0.285 *	0.371 \pm 0.057 *
全真一气汤低剂量组	6	0.751 \pm 0.050 * Δ	0.557 \pm 0.051 * Δ
全真一气汤高剂量组	6	0.654 \pm 0.083 * $\Delta\blacktriangle$	0.720 \pm 0.059 * $\Delta\blacktriangle$

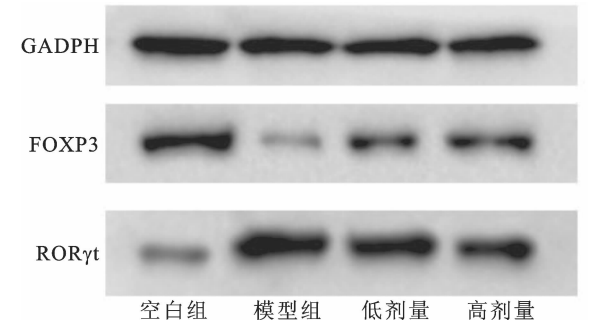


图 4 各组大鼠肺组织 FOXP3 和 ROR γ t 蛋白表达水平比较

4 讨论

哮喘本质上是由环境、药食、运动等致敏原引起的免疫紊乱性疾病,与免疫细胞的激活和炎症介质的释放有关,其特征表现为气道黏膜损伤、管壁充血水肿、平滑肌增殖及收缩亢进等,气道免疫-炎症机制被认为是哮喘发病的驱动机制^[11]。哮喘中的免疫应答具有高度异质性,如 Th1、Th2、Th17、

Treg 等 CD4⁺T 淋巴细胞等不同亚群,一部分产生炎症介质对抗、驱逐抗原性异物,但同时对外周气道组织具有一定破坏性,一部分则分泌抑炎因子促进组织修复和负向免疫。促炎系统和抑炎系统的活跃度对哮喘的易感性^[12]、严重程度^[13]和症状持续时间^[14]均有影响,只有二者保持相对平衡的状态,才能在清除外界致敏原的同时避免过度的免疫病理损害,维持肺内环境稳定^[15]。

Th17/Treg 免疫失衡补充了经典 Th1/Th2 模式的不足是目前普遍认同的哮喘发病的核心机制^[2]。Th17 细胞以分泌 IL-17 为主要生物学特征,IL-17 具有强烈的致炎作用,是哮喘发生的主要效应因子。它能直接刺激气管平滑肌收缩,诱发气道高反应性^[16],并且 IL-17 通过诱导巨噬细胞、上皮细胞以及成纤维细胞中的趋化因子 CXCL8 间接促进中性粒细胞招募从而参与哮喘气道炎症的形成^[17]。Bonser LR 等^[18]发现 IL-17 能上调支气管上皮细胞表达气道黏液蛋白(Muc5ac 和 Muc5b35),引起杯状细胞增生,气道重构和气道动力学改变,最终发展为难治性哮喘。G. J. Zijlstra 等^[19]的研究证实 Th17/IL-17 高表达型的中性粒细胞性哮喘具有类固醇耐药性。IL-17 通过上调糖皮质激素受体 β (glucocorticoid recePtor,GR- β),拮抗类固醇与糖皮质激素受体 α (glucocorticoid recePtor,GR- α)结合发挥抗炎作用^[20],导致哮喘迁延难愈。ROR γ t 是 Th17/IL-17 的上游调控因子,可通过 JAK/STAT 信号通路,生成磷酸化的信号传导及转录激活蛋白(PhosPhorylation of signal transducer and activator of transcriPtion,P-STAT)并进入细胞核启动基因,使初始 CD4⁺T 细胞分化为成熟的 Th17 细胞^[21]。Treg 细胞通过特异性分泌 IL-10、IL-35、转化生长因子 β (TGF- β)等,抑制 T 细胞的增殖和活化,从而控制亢进的免疫应答来实现免疫稳态^[22]。具有免疫抑制活性的 Treg 细胞有来自胸腺的天然调节性 T 细胞(nTreg)和外周诱导产生的适应性调节 T 细胞(iTreg)^[23]。FOXP3 是 iTreg 的特异性转录因子,可高效诱导 iTreg 细胞的分化。FOXP3 高表达的 Treg 细胞可以抑制促炎因子、趋化因子的合成以及与受体的结合,减轻哮喘气道炎症和高反应性^[24]。Treg 水平紊乱参与哮

喘发生和进展,其负性免疫作用有助于及时止损,避免气道结构和肺功能的不可逆损害^[25]。

哮喘归属于中医“哮病”范畴,《素问·脉解篇》云:“阴气在下,阳气在上,诸阳气浮,无所依从,故呕咳上气喘也。”指出阴阳失调是哮喘的主要病机。正常情况下,哮喘患者机体尚处于“阴平阳秘”的自和状态,一旦接触易感因子,机体阴阳平衡的状态被打破,肺脾肾津液代谢失常,痰饮内潜,随气上升,即导致哮喘的发生。传统医学认为哮喘免疫自稳的内涵即阴阳平衡,机体的免疫应答对应正气抗邪的能力,刺激哮喘发生的变应原和产生炎症因子指代六淫邪气和脏腑阴阳失衡的病代谢产物^[26-27],林亿引全元起《素问训解》中的注释:“淫气者,阴阳之乱气。”阴阳协调,正气充盛,则免疫系统稳定、机体抗病力强,哮喘能免于发作或立即控制;阳气偏亢,则免疫反应过度、攻击自身成分,哮喘进一步加重;正气虚弱或长期使用激素,则免疫低下,卫阳不固,哮喘迁延难愈。因此,扶正祛邪,平调阴阳是哮喘的主要治疗原则。

全真一气汤为平调阴阳代表方,收录于明清医家冯兆张《冯氏锦囊秘录·杂症大小合参卷二十》^[28]。冯氏认为一身之阴阳起源于肾,肾为水脏,内寓真火,为水中含阳之象,肾阴借助肾阳温煦、蒸腾的特性,可源源不断地化生元气,补充正气,故拟该方,其思想蕴含易学命门之理^[29],后世常用其治疗下焦脾肾不足,而上焦心肺有火的久病咳喘。方中附子、生晒参温补命门以壮真阳,熟地、麦冬填精益髓以复真阴,全此一息真阴真阳,则阳气生发不止,阴气引而不绝,“五脏之阴气非此不能滋,五脏之阳气非此不能发”,肾中阴阳平衡才能达到“阴平阳秘”的健康状态;白术合参附有借相火温脾阳之意,肾阳蒸化之津液,随中焦土气斡旋,上蒸肺叶,下输膀胱,灌溉四旁。这也吸收了朱震亨“实脾土、燥脾湿”的治痰思想;牛膝引火下行,五味子温润酸收,二者同用,使水火相济,气摄丹田,防止相火偏亢,真阴失守之上气;全方于阴中求阳,脾肾同调,使正气化源充足以提高机体免疫力。

结果显示:全真一气汤低剂量治疗组及高剂

量治疗组均可减少 Th17 细胞百分比及相关促炎因子,抑制 ROR γ t 的表达;高剂量治疗组可以升高 Treg 细胞百分比,而全真一气汤低剂量治疗组对 Treg 细胞百分比升高则不明显,但都可以上调 FOXP3 的表达,增加抑炎因子的分泌。该结果提示全真一气汤能有效重建 Th17/Treg 免疫平衡,减少气道炎症,其机制可能与特异性转录因子 ROR γ t、FOXP3 的表达有关。全真一气汤低剂量治疗组升高 Treg 细胞百分比不明显,考虑与剂量有关,后续动物实验继续调整剂量。

综上所述,全真一气汤除了可以通过平调阴阳,扶助正气,提高机体免疫力抵御外邪,并有很好的抗气道炎症,改善哮喘气道炎症的作用。

参考文献

[1] Papi A, Brightling C, Pedersen SE, et al. Asthma [J]. The Lancet, 2018, 391 (10122): 783-800.

[2] Zou XL, Chen ZG, Zhang TT, et al. Th17/Treg homeostasis, but not Th1/Th2 homeostasis, is implicated in exacerbation of human bronchial asthma [J]. Therapeutics and Clinical Risk Management, 2018, 14: 1627-1636.

[3] Zhou YM, Zhao HH, Wang TS, et al. Anti-inflammatory and anti-asthmatic effects of TMDCT decoction in eosinophilic asthma through treg/Th17 balance [J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 819728.

[4] Li CC, Sheng AQ, Jia XX, et al. Th17/Treg dysregulation in allergic asthmatic children is associated with elevated Notch expression [J]. The Journal of Asthma: Official Journal of the Association for the Care of Asthma, 2018, 55 (1): 1-7.

[5] Lamb D, De Sousa D, Quast K, et al. ROR γ t inhibitors block both IL-17 and IL-22 conferring a potential advantage over anti-IL-17 alone to treat severe asthma [J]. Respiratory Research, 2021, 22 (1): 158.

[6] Chen TT, Hou XX, Ni YM, et al. The imbalance of FOXP3/GATA3 in regulatory T cells from the peripheral blood of asthmatic patients [J]. Journal of Immunology Research, 2018, 2018: 3096183.

[7] 张晶, 陈志斌, 王春娥, 等. 基于气道炎症调控的全真一气汤干预肾气虚型哮喘大鼠的机制研究 [J]. 中国中医急症, 2019, 28 (8): 1354-1357.

[8] 张晶, 严桂珍. 全真一气汤治疗肾气虚型支气管哮喘缓解期 32 例疗效观察 [J]. 福建中医药, 2016, 47 (3): 40-

- 42.
- [9] 孟鹏飞,吕岳. 简述用卵蛋白制作大鼠哮喘模型的要点[J]. 甘肃中医学院学报,2011,28(2):27-29.
- [10] 郑小伟,宋红,王颖,等. 肾气虚哮喘模型及中西药联合干预的实验研究[J]. 浙江中医杂志,2012,47(2):129-131.
- [11] 胡健,张至强,曾时杰,等. 三拗汤治疗支气管哮喘的研究进展[J]. 陕西中医药大学学报,2017,40(6):130-133.
- [12] 周进进,王娟,李晓娜. 哮喘儿童 IL-17A rs2275913 基因多态性的临床意义[J]. 中国妇幼保健研究,2021,32(10):1436-1440.
- [13] Wang LL, Wan HY, Tang W, et al. Critical roles of adenosine A2A receptor in regulating the balance of Treg/Th17 cells in allergic asthma [J]. The Clinical Respiratory Journal,2018,12(1):149-157.
- [14] Ding FX, Fu Z, Liu B. Lipopolysaccharide exposure alleviates asthma in mice by regulating Th1/Th2 and treg/Th17 balance[J]. Medical Science Monitor; International Medical Journal of Experimental and Clinical Research, 2018,24:3220-3229.
- [15] 雷艳青,陈波. 六味地黄丸联合西药对支气管哮喘患者免疫功能的影响[J]. 陕西中医,2017,38(4):461-462.
- [16] Kudo M, Melton AC, Chen C, et al. IL-17A produced by $\alpha\beta$ T cells drives airway hyper-responsiveness in mice and enhances mouse and human airway smooth muscle contraction[J]. Nature Medicine,2012,18(4):547-554.
- [17] Annunziato F, Cosmi L, Liotta F, et al. Defining the human T helper 17 cell phenotype[J]. Trends in Immunology,2012,33(10):505-512.
- [18] Bonser LR, Erle DJ. Airway mucus and asthma; the role of MUC5AC and MUC5B[J]. Journal of Clinical Medicine, 2017,6(12):112.
- [19] Suzuki Y, Maazi H, Sankaranarayanan I, et al. Lack of autophagy induces steroid-resistant airway inflammation [J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology,2016,137(5):1382-1389. e9.
- [20] Al Heialy S, Gaudet M, Ramakrishnan RK, et al. Contribution of IL-17 in steroid hyporesponsiveness in obese asthmatics through dysregulation of glucocorticoid receptors α and B [J]. Frontiers in Immunology, 2020,11:1724.
- [21] Yu Q, Shi YJ, Shu C, et al. Andrographolide inhibition of Th17-regulated cytokines and JAK1/STAT3 signaling in OVA-stimulated asthma in mice [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: ECAM, 2021,2021:6862073.
- [22] Fasching P, Stradner M, Graninger W, et al. Therapeutic potential of targeting the Th17/treg axis in autoimmune disorders[J]. Molecules,2017,22(1):134.
- [23] Xin L, Gao JJ, Ge XH, et al. Increased pro-inflammatory cytokine-secreting regulatory T cells are correlated with the plasticity of T helper cell differentiation and reflect disease status in asthma[J]. Respiratory Medicine,2018,143:129-138.
- [24] Shaaban R, Zureik M, Soussan D, et al. Rhinitis and onset of asthma; a longitudinal population-based study[J]. The Lancet,2008,372(9643):1049-1057.
- [25] Ming MY, Luo ZX, Lv SQ, et al. Inactivated Mycobacterium phlei inhalation ameliorates allergic asthma through modulating the balance of CD4 + CD25 + regulatory T and Th17 cells in mice[J]. Iranian Journal of Basic Medical Sciences,2016,19(9):953-959.
- [26] 叶峥嵘,孟淑华. 对中医药免疫研究的思考[J]. 陕西中医药大学学报,2017,40(5):10-12,18.
- [27] 吴芳,张宏方. 中医平衡系统与西医免疫—监视—肿瘤平衡理论的探讨[J]. 现代中医药,2014,34(6):62-64. [知网]
- [28] 冯兆张. 冯氏锦囊秘录[M]. 田思胜,校注. 北京:中国中医药出版社,1996:526.
- [29] 李信翰,张建伟. 中国古代医易学说探究[J]. 现代中医药,2018,38(1):58-62,65.

(修回日期:2023-06-14 编辑:杨芳艳)