

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.03.005

降气化痰推拿法对慢性哮喘幼鼠气道重塑及血清 NO 水平的影响*

徐境阳 王 娟[△] 雷 华 周 伟 王 军

(新疆医科大学第一附属医院针灸推拿科 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要 目的:探究降气化痰推拿法对慢性哮喘幼鼠的治疗效果,为优化临床中小儿慢性哮喘治疗方案积累理论基础。**方法:**选取 40 只 SPF 级 3 周 SD 雌性小鼠,随机数字表法为对照组、模型组、药物组和推拿组,每组各 10 只。模型组、药物组和推拿制备慢性哮喘模型后,药物组使用地塞米松治疗,对照组注射等量生理盐水,推拿组在药物组基础上加入降气化痰推拿手法治疗,模型组不进行干预。比较各组幼鼠肺组织 HE 染色结果、支气管肺泡灌洗液(BALF)中炎性细胞水平和 Th17/Treg 细胞比例,并检测肺组织中 Treg 与 Th17 相关基因表达量。**结果:**与模型组比较,药物组和推拿组的支气管周围组织的炎性浸润较轻,肺泡壁及支气管壁的结构较为完整,气道可见少量杯状细胞增生,气道壁总厚度和气道平滑肌厚度增加较少,且推拿组大鼠的组织炎性浸润程度、气道壁总厚度和气道平滑肌厚度均低于药物组($P<0.05$);炎性细胞水平方面,对照组幼鼠的 BALF 细胞总数较低,白细胞分类中单核细胞数最多。模型组幼鼠的 BALF 中细胞总数明显增高,且白细胞分类中以中性粒细胞、嗜酸性粒细胞为主,白细胞总数和嗜酸性细胞总数明显高于对照组($P<0.05$);与模型组相比,药物组和推拿组的细胞总数及中性粒细胞和嗜酸性粒细胞的比例明显较低,但仍明显高于对照组,且药物治疗组高于推拿组($P<0.05$);与对照组相比,其余各组幼鼠的 BALF 中 Th17 比例明显增高, Treg 比例降低, Th17/Treg 比值增高($P<0.05$);与模型组相比,药物组和推拿组的 Th17 比例、Th17/Treg 降低,且推拿组低于药物组, Treg 比例升高,且推拿组高于药物组($P<0.05$);与对照组对比,其余各组幼鼠的 IL-6、IL-10、IL-23、TGF- β mRNA 表达水平均升高,与模型组相比,药物组与推拿组幼鼠表达水平均有所降低,且推拿组低于药物组($P<0.05$);与对照组相比,其余各组幼鼠的 NO、IgE 水平升高,与模型组相比,药物组和推拿组的 NO、IgE 水平降低,且推拿组低于药物组($P<0.05$)。**结论:**降气化痰推拿法可通过调节 Th17/Treg 比例及相关炎性因子基因表达和白细胞类型,调控血清 NO、IgE 水平和炎症反应水平,进而改善气道重塑,发挥治疗作用。

关键词:哮喘;降气化痰;炎症反应;Th17/Treg;NO;支气管肺泡灌洗液

中图分类号:R562.25;R242 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2024)03-423-05

Effect of Qi-descending and Phlegm-resolving Massage on Airway Remodeling and Serum NO Level in Young Rats with Chronic Asthma*

XU Jing-yang, WANG Xian[△], LEI Hua, ZHOU Wei, WANG Jun

(Department of Acupuncture and Massage, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830000, China)

ABSTRACT Objective: To explore the therapeutic effect of qi-descending and phlegm-resolving massage on young mice with chronic asthma, and to accumulate theoretical basis for optimizing clinical treatment of chronic asthma in children. **Methods:** 40 SPF grade 3-week SD female mice were selected and divided into control group, model group, drug group and massage group with 10 mice in each group by random number table method. After the model group, the drug group and the massage group were modeled as chronic asthma model, the drug group was treated with dexamethasone, the control group was injected with the same amount of normal saline, the massage group was added to the drug group on the basis of qi-descending and phlegm-resolving massage treatment, and the model group did not intervene. The results of HE staining, inflammatory cell level and Th17/Treg cell ratio in Bronchoalveolar Lavage Fluid (BALF) were compared in lung tissues of all groups, and the expression levels of Treg and TH17-related genes in lung tissues were detected. **Results:** Compared with the model group, the inflammatory infiltration of peribronchial tissue and massage group is light, the structure of the alveolar wall and bronchial wall is relatively complete, a small amount of goblet cell hyperplasia in the airway, the airway wall thickness and airway smooth muscle thickness increased less, and the tissue inflammatory infiltration, the total thickness and airway smooth muscle thickness are lower than the drug group ($P<0.05$); Regarding the inflammatory cell levels, the control pups had a lower total number of BALF cells and the highest number of monocytes in the leukocyte classification. The total number of cells in the BALF of the model group was significantly higher, and neutrophils and eosinophils were mainly included in the leukocyte classification, and the total number of leukocytes and eosinophils were significantly higher than that of the control group ($P<0.05$); Compared with the model

* 基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金青年项目(2021D01C350)

作者简介:徐境阳(1988-),女,硕士研究生,主治医师,研究方向:小儿推拿治疗呼吸系统疾病、消化系统疾病, E-mail: yangytr865@163.com

△ 通讯作者:王娟(1989-),女,本科,主治医师,研究方向:推拿专业小儿推拿方向, E-mail: yangytr865@163.com

(收稿日期:2023-09-07 接受日期:2023-09-30)

group, the total number of cells and the proportion of neutrophils and eosinophils were significantly lower in the drug group and the massage group, but still significantly higher than the control group, and the drug treatment group was higher than the massage group ($P<0.05$); Compared with the control group, the proportion of Th 17, the proportion of Treg decreased and the ratio of Th 17 / Treg increased in the BALF ($P<0.05$); Compared with the model group, the proportion of Th 17 and Th 17 / Treg decreased in the drug group and the massage group, and the Treg ratio was lower than the drug group, and the Treg ratio was higher than the massage group ($P<0.05$); Compared with the control group, the expression levels of IL-6, IL-10, IL-23 and TGF- β mRNA in the other groups were increased, and compared with the model group, the expression levels of the drug group and the massage group were reduced, and the massage group was lower than the drug group ($P<0.05$); Compared with the control group, NO and IgE levels were increased, NO and IgE levels were decreased in the drug group and the massage group compared with the model group, and the massage group was lower than the drug group ($P<0.05$). **Conclusion:** Qi-descending and phlegm-resolving massage, thus improving airway remodeling and playing a therapeutic role by regulating Th17/Treg ratio, expression of related inflammatory factors and types of white blood cells, the serum levels of NO, IgE, and inflammatory response.

Key words: Chronic Asthma; Qi-descending and phlegm-resolving; Inflammatory response; Th17/Treg; NO; BALF

Chinese Library Classification(CLC): R562.25; R242 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2024)03-423-05

前言

支气管哮喘(Bronchial Asthma, BA)又称哮喘,多以反复发作的喘息、气促、咳嗽胸闷为主要临床表现,是儿童时期最常见的慢性呼吸系统疾病之一^[1]。近年研究表明,哮喘以气道重塑和气道炎症为主要病理特征,其发病原因主要以环境危害引起的气道损伤和过敏原暴露为主,还包含早期生活时间及机械应力,继而引起肺功能下降、持续性气流受限和气道高反应等病理学改变^[2,3]。我国约有五成哮喘患者在儿童期发病。流行病学调查结果显示,我国哮喘患儿发病率约为3%,且呈逐年升高趋势^[4]。中医学将哮喘归为“哮证”、“喘证”的范畴,认为此病病位在肺、脾、肾,肺为肾之母,二者与气机调畅密切相关,一脏致病多相互累及^[5]。肺宣发失调而致气机壅塞,津液阻于脉络而成痰瘀,因此当以降气化痰为主要治则。小儿推拿是以经络腧穴学说为理论基础,通过特定的推拿手法对患儿进行治疗,以达到调理气血、平衡阴阳的作用,因其安全、无创、有效的特性逐渐应用于儿科临床治疗中^[6]。本研究通过构建慢性哮喘动物模型,探究降气化痰推拿法对哮喘疾病的治疗效果,现将研究过程报道如下。

1 材料与方 法

1.1 主要试验材料

1.1.1 实验动物 选取40只SPF级3周SD雌性小鼠,质量(40 \pm 5)g,购买于重庆医科大学实验动物中心,进行适应性饲养,温度(24 \pm 1) $^{\circ}$ C,相对湿度为40~50%,保持12h/12h的光/暗周期。

1.1.2 主要实验试剂与仪器 鸡卵清蛋白(OVA)(美国Sigma公司),氢氧化铝(西陇科学公司)苏木素染液、伊红染色液(美国博士德生物公司),Masson染色套装(美国Servicebio公司),二甲苯、无水乙醇(国药化学试剂公司)。超声雾化器(上海鱼跃公司),低温高速离心机(德国Eppendorf公司),光学显微镜(日本Olympus公司),组织切片机、组织摊片机(上海徕卡仪器公司),组织包埋机(武汉俊杰电子公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 造模及激发方法 在适应性饲养1周后,选用随机数字

表法将40只小鼠随机分为对照组、模型组、药物组和推拿组,每组各10只。

选用腹腔注射OVA致敏联合雾化诱发法建立哮喘动物模型,在实验的第1、8天,腹腔注射0.5mL10%OVA溶液(每毫升含100mgOVA及100mg氢氧化铝干粉),于双侧腹股沟皮下各注射0.25mL致敏。模型组、药物组和推拿组依照上述方法造模,对照组幼鼠注射等量生理盐水。

在实验第15天开始,除对照组外,将各组大鼠固定30min后,使用1%OVA溶液进行雾化激发,每次30min,持续雾化激发4周,制备慢性哮喘模型。在激发过程中,幼鼠出现气促、喘息、鼻部瘙痒、打喷嚏、活动减少精神差等症状,即视为哮喘模型制备成功。对照组幼鼠使用灯亮的生理盐水进行雾化。

1.2.2 干预方法 在造模成功后第15天起,药物治疗组大鼠使用地塞米松以1mg/(kg·d)剂量进行腹腔内注射。

推拿组幼鼠在药物组治疗方法基础上,加用降气化痰推拿法,依照《实验针灸学》中相关取穴标准,选择肺俞、脾俞、肾俞、膻中穴进行推拿手法治疗。其中,肺俞位于第3胸椎下两旁肋间,脾俞位于第11胸椎下两旁,肾俞位于第2腰椎下两旁,膻中位于前正中线上两乳之间,与第四、五肋间齐平。每次治疗10min,每日1次。

模型组幼鼠和对照组幼鼠注射与药物组大鼠等量的生理盐水。

各组均连续干预4周。

1.3 样本采集

肺泡灌洗液收集:切开幼鼠胸颈部皮肤,充分暴露肺组织和气道,在上段气道出做横向切口,气管插管固定后将右侧支气管结扎,使用10mL生理盐水灌洗支气管肺泡,重复三次。灌洗的总回收率>80%即为合格。每只幼鼠收集支气管肺泡灌洗液(BALF)10mL,1500rpm离心10min后收集上清液保存于-80 $^{\circ}$ C中备用。

肺组织及血清收集:各组幼鼠在干预结束后,禁食不禁水20h,第二天对所有幼鼠进行称重并记录,选用10%水合氯醛溶液(3mL/kg)腹腔注射麻醉后,固定在操作台。使用75%乙醇擦拭腹部消毒后,选用手术剪剖开幼鼠腹部皮肤和肌层,推开

脏器后暴露腹主动脉,使用真空采血器采集腹主动脉血,以4℃、3500 rpm 离心 10 min 后取上层清液备用。随后剪开胸骨暴露肺脏,取左肺中叶完全浸没于4%多聚甲醛溶液中固定。在不损伤肺组织的前提下,将右肺组织分离并保存于-80℃中备用。

1.4 实验指标

1.4.1 苏木素-伊红(HE)染色 肺组织固定后取出,自肺门处水平向切取3 mm 厚度的肺组织在流水中冲洗1~2 h 后,脱水、浸蜡、包埋框中、制成4 μm 切片并烤片。

烤片后进行HE染色。在光镜下(200×)观察切片,比较各组幼鼠肺组织病理学改变情况。如气道结构、管壁和基底膜以及上皮损伤情况。同时每个切片选取5个完整细支气管的横断截面,直径<200 μm。使用Image Pro Plus 6.0 图像分析系统测量支气管基底膜周长(Pbm, μm)、气道壁总面积(Wat, μm²)、平滑肌面积(Wam, μm²),以 Wat/Pbm(μm²/μm)、Wam/Pbm(μm²/μm)分别表示气道壁厚度和气道平滑肌厚度。

1.4.2 BALF 中炎性细胞水平检测 将收集的BALF混匀后,取100 μL涂在计数板中,进行白细胞计数。同时将剩余BALF置于离心机中,以1000 rpm 离心后弃去上清液,重悬沉淀。取10 μL细胞沉淀涂片,进行Giemsa染色。400×镜下观察并计数嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞数量。

1.4.3 BALF 中 Th17/Treg 细胞比例检测 将BALF离心后收集的细胞沉淀重选后,经一系列操作后充分裂解红细胞。随后离心后弃上清,加入500 μL PBS混匀后,使用流式细胞仪对样本中的Th17/Treg细胞比例进行检测。

1.4.4 肺组织中 Treg 与 Th17 相关基因表达量检测 取50 g肺组织样品置于离心管中,加入1 mL TRIzol Reagent 后充分研磨并置于-20℃保存,处理RNA,使用RT-PCR反应试剂盒在PCR仪中进行反应。采用ABI 7500 荧光定量PCR仪软件进行数据分析,以GADPH作为内参,2^{-ΔΔCT}法计算mRNA相对表达。引物设计如下:

GADPH: 5'-CATGGCCTTCCGTGTTTCCTA-3', 3'-CCTGCT-TCACCACCTTCTTGAT-5';

IL-6: 5'-GCTACCAAACCTGGATATAAATCAGGA-3', 3'-CAGGTAGCTATGGTACTCCAGAA-5';

IL-10: 5'-CTGAGGCGCTGTCATCGATT-3', 3'-AGGTCCTGGACTCCAGCAGA-5';

IL-23: 5'-AATGCTATGGCTGTTGCCCTC-3', 3'-CGGATCCTTTGCAAGCAGAAC-3';

TGF-β: 5'-GTGTGGAGCAACATGTGGAACCTCTA-3', 3'-T-TGGTTCAGCCACTGCCGTA-5'。

1.4.5 血清一氧化氮、免疫球蛋白 E 水平检测 使用ELISA法对各组幼鼠血清一氧化氮(NO)和免疫球蛋白E(IgE)水平进行检测。操作方法遵循试剂盒说明书进行。

1.5 统计学方法

选用SPSS 22.0 对数据进行统计学分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组样本间比较选择单因素方差分析法(One-Way ANOVA),方差齐时采用LSD-t法,方差不齐采用Dunnett's 检验。以P<0.05表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组幼鼠肺组织 HE 染色结果比较

结果显示,对照组幼鼠的肺组织形态无异常改变,肺泡壁和支气管壁结构完整、清晰,管腔通常且黏膜上皮完整、无脱落,无明显炎症反应发生。与对照组相比,其他各组大鼠的气道及周围组织可见明显炎性细胞浸润和管壁总厚度、气道平滑肌厚度增加,其中以模型组病理改变最明显,气管及周围组织可见明显嗜酸性粒细胞浸润,肺间质可见炎性细胞浸润,气道可见上皮细胞及杯状细胞增生,黏膜上皮发生脱落。

与模型组比较,药物组和推拿组的支气管周围组织的炎症浸润较轻,肺泡壁及支气管壁的结构较为完整,气道可见少量杯状细胞增生,气道壁总厚度和气道平滑肌厚度增加较少,且推拿组大鼠的组织炎症浸润程度、气道壁总厚度和气道平滑肌厚度均低于药物组(P<0.05)。详见表1。

表1 各组幼鼠气道壁厚度和气道平滑肌厚度比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of airway wall thickness and airway smooth muscle thickness in each group ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Airway wall thickness(μm ² /μm)	Airway smooth muscle thickness(μm ² /μm)
Control group	10	13.30± 2.63	4.70± 0.67
Model group	10	24.20± 2.62 ^a	7.00± 0.67 ^a
Drug group	10	20.10± 2.02 ^{ab}	6.70± 0.95 ^{ab}
Massage group	10	17.10± 1.37 ^{abc}	5.70± 1.16 ^{abc}

Note: compared with the Control group, ^aP<0.05, compared with the Model group, ^bP<0.05, compared with the Drug group, ^cP<0.05, the same below.

2.2 各组幼鼠 BALF 中炎性细胞水平比较

结果表明,对照组幼鼠的BALF细胞总数较低,白细胞分类中单核细胞书最多。模型组幼鼠的BALF中细胞总数明显增高,且白细胞分类中以中性粒细胞、嗜酸性粒细胞为主,白细胞总数和嗜酸性细胞总数明显高于对照组;与模型组相比,药物组和推拿组的细胞总数及中性粒细胞和嗜酸性粒细胞的比例明显较低,但仍明显高于对照组,且药物治疗组高于推拿组

(P<0.05)。详见表2。

2.3 各组幼鼠 BALF 中 Th17/Treg 水平比较

结果表明,与对照组相比,其余各组幼鼠的BALF中Th17比例明显增高,Treg比例降低,Th17/Treg比值增高;与模型组相比,药物组和推拿组的Th17比例、Th17/Treg降低,且推拿组低于药物组,Treg比例升高,且推拿组高于药物组(P<0.05)。详见表3。

表 2 各组幼鼠 BALF 中炎性细胞水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of inflammatory cell levels in BALF in each group ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	TCS ($\times 10^4/\text{mL}$)	Leukocyte classification count percentage (%)		
			Eosinophile granulocyte	Neutrophile granulocyte	Lymphocyte
Control group	10	21.50 \pm 3.06	2.10 \pm 0.32	4.80 \pm 1.23	14.60 \pm 2.37
Model group	10	76.70 \pm 4.22 ^a	23.90 \pm 2.28 ^a	27.00 \pm 4.45 ^a	25.80 \pm 6.25 ^a
Drug group	10	62.60 \pm 4.74 ^{ab}	18.10 \pm 2.13 ^{ab}	24.30 \pm 2.63 ^{ab}	20.20 \pm 2.30 ^{ab}
Massage group	10	52.60 \pm 3.81 ^{abc}	13.80 \pm 2.30 ^{abc}	19.70 \pm 2.11 ^{abc}	19.10 \pm 2.96 ^{abc}

表 3 各组幼鼠 BALF 中 Th17/Treg 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of Th17/Treg levels in BALF of young rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Th17(%)	Treg(%)	Th17/Treg
Control group	10	0.63 \pm 0.19	3.40 \pm 0.19	0.19 \pm 0.01
Model group	10	1.50 \pm 0.24 ^a	1.60 \pm 0.19 ^a	0.96 \pm 0.22 ^a
Drug group	10	1.20 \pm 0.13 ^{ab}	1.84 \pm 0.23 ^{ab}	0.67 \pm 0.13 ^{ab}
Massage group	10	0.92 \pm 0.18 ^{abc}	2.77 \pm 0.11 ^{abc}	0.33 \pm 0.07 ^{abc}

2.4 各组幼鼠肺组织中 IL-6、IL-10、IL-23、TGF- β mRNA 表达水平比较

结果表明,与对照组对比,其余各组幼鼠的 IL-6、IL-10、

IL-23、TGF- β mRNA 表达水平均升高,与模型组相比,药物组与推拿组幼鼠的 IL-6、IL-10、IL-23、TGF- β mRNA 表达水平均有所降低,且推拿组低于药物组($P < 0.05$)。详见表 4。

表 4 各组幼鼠肺组织中 IL-6、IL-10、IL-23、TGF- β mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of mRNA expression levels of IL-6, IL-10, IL-23 and TGF- β in lung tissue of each group ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	IL-6	IL-10	IL-23	TGF- β
Control group	10	0.007 \pm 0.001	0.0006 \pm 0.0001	0.004 \pm 0.001	0.054 \pm 0.008
Model group	10	0.059 \pm 0.011 ^a	0.0042 \pm 0.0014 ^a	0.020 \pm 0.004 ^a	0.160 \pm 0.021 ^a
Drug group	10	0.033 \pm 0.006 ^{ab}	0.0024 \pm 0.0002 ^{ab}	0.015 \pm 0.001 ^{ab}	0.112 \pm 0.015 ^{ab}
Massage group	10	0.020 \pm 0.004 ^{abc}	0.0014 \pm 0.0002 ^{abc}	0.009 \pm 0.001 ^{abc}	0.090 \pm 0.028 ^{abc}

2.5 各组幼鼠血清 NO、IgE 水平比较

结果表明,与对照组相比,其余各组幼鼠的 NO、IgE 水平

升高,与模型组相比,药物组和推拿组的 NO、IgE 水平降低,且推拿组低于药物组($P < 0.05$)。详见表 5。

表 5 各组幼鼠血清 NO、IgE 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of serum NO and IgE levels in each group ($\mu\text{g}/\text{mL}$, $\bar{x} \pm s$)

Groups	n	NO	IgE
Control group	10	9.12 \pm 0.70	3.48 \pm 0.98
Model group	10	26.32 \pm 2.99 ^a	7.95 \pm 0.89 ^a
Drug group	10	18.51 \pm 2.09 ^{ab}	6.70 \pm 0.85 ^{ab}
Massage group	10	14.88 \pm 1.90 ^{abc}	5.21 \pm 1.14 ^{abc}

3 讨论

哮喘是儿童常见的慢性呼吸系统疾病,可由环境、遗传等多种因素导致,以反复发作的喘促、胸闷气喘为主要表现症状,常在夜间或临床发作,对患儿的睡眠及学习产生严重影响,甚至影响儿童的生长发育^[7]。现阶段临床中常通过抗炎和支气管扩张药物进行治疗,如糖皮质激素、 β 受体激动剂及其他药物

雾化吸入的方式进行治疗^[8]。慢性哮喘患儿需长期用药,虽能控制哮喘发作,但长期服药易引起不良反应和并发症,且易对患儿的免疫功能产生影响^[9]。

依据哮喘的发病特点,中医学将其归为"哮证"的范畴,外感时邪、饮食偏嗜及脏腑内伤等,导致痰邪结于气道而发喘鸣。肺、脾、肾失司,水湿运输无力聚而化痰。《证治汇补》中对哮证的病机记载为"内有壅塞之气,外有非时之感,膈有胶固之

痰,三者相合闭聚气道”。肺为气之主,肺失宣降则气机失调而致气逆,肾为水下之源且为肺之子脏,二者生病常相互累及,故气机失司而致水气失运凝结成痰,故从肺肾论治哮喘证成为医家公认的治^[9]。小儿推拿是中医外治法的重要组成,通过辨证论治选择特定穴位并施以相应推拿手法进行治疗,通过揉、推、捏的手法刺激经络,推动气血循行,进而达到调和阴阳、温补气血的效果。同时由于推拿手法便于操作、无副作用等优势,患儿及家长更易接受。黄广等^[10,11]基于慢性持续期哮喘患儿穴位推拿手法治疗后,患儿肺功能和临床体征明显改善,黎笑红等^[12]基于缓解期哮喘患儿补脾益肺推拿手法治疗后,患儿的哮喘症状明显改善,治疗有效率明显增加,并且缩短了治疗时间,均取得了良好的效果。本研究中选取肺俞、脾俞、肾俞和膻中穴,膻中为气海,宗气聚集之处,具有调畅气机之效。肺俞与肺脏对应,是肺气转输的穴位,可以调节肺脏气机和功能,具有行气理肺的作用。脾为气血生化之源,刺激脾俞可调节水液运化和输布。肾主水,为先天之本,具有纳气的作用,刺激肾俞可以纳气平喘、温煦肾阳。多穴合用,共奏降气止逆、健肾补脾、降气化痰的功效。IgE 是介导哮喘发生的主要因子之一,可激活肥大细胞和嗜碱性粒细胞,加速炎症介质的释放,加重气道炎症反应^[13]。NO 由一氧化氮合成酶催化生产,在低水平状态下可以是支气管平滑肌松弛,但在病理条件下,NO 的水平升高后可以与氧气反应生成亚硝酸盐,引起细胞毒性作用,引起气道充血水肿并加重气道阻塞。哮喘患者的炎症状态下,嗜酸性粒细胞加剧 NO 的释放,同时 NO 又调节嗜酸性粒细胞,抑制其凋亡^[14,15]。本研究中,经降气化痰推拿手法治疗后,推拿组幼鼠的 NO、IgE 水平明显低于模型组和药物治疗组,提示降气化痰推拿法可有效的降低炎症反应水平,改善哮喘的病理状态。近年研究发现,多个免疫及炎症相关通路均介导了哮喘的发生,其中 T 淋巴细胞介导的免疫反应发挥了关键作用。其中哮喘不仅与经典通路 Th1/Th2 平衡相关,与 Th17/Treg 平衡调控也密切相关^[15,16]。Th17 和 Treg 同属 T 细胞亚群,具有拮抗作用,其中 Treg 主要通过抑制免疫效应细胞进而维持免疫稳态,主要分泌 IL-10、TGF- β 等细胞因子。Th17 细胞是重要的促炎细胞,具有较强的促炎作用,可以通过诱导 IL-6、IL-8、IL-22 等炎症因子的分泌,加重局部的炎症反应水平,诱导支气管上皮细胞和平滑肌细胞的活化^[18,19]。其中 IL-6 和 TGF- β 是主要影响 Th17/Treg 比例的细胞因子,TGF- β 可独立促进 T 细胞分化为 Treg,也可与 IL-6 共同作用促进 Th17 分化,同时 IL-23 也是调节 Th17 稳态的主要因子^[20,22]。本研究通过给予降气化痰推拿法治疗后发现,推拿组幼鼠的 Th17/Treg 比例和稳态调节相关因子 IL-6、IL-10、IL-23、TGF- β 的基因表达水平均低于模型组和对照组,且 BALF 中细胞总数和嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞的比例也均低于模型组和药物组,同时 HE 染色结果提示推拿组幼鼠的炎症浸润程度和气道壁总厚度、气道平滑肌厚度均低于模型组和药物组,提示降气化痰推拿治疗法可通过调节相关炎症因子基因的表达,调控 Th17/Treg 稳态,减轻组织的炎症反应水平并改善气道重塑,进而发挥治疗作用^[23-25]。

综上所述,降气化痰推拿法可通过调节 Th17/Treg 稳态及相关炎症因子基因表达,调控血清 NO、IgE 水平和炎症反应水平,进而改善气道重塑,发挥治疗作用。

参考文献(References)

- [1] Marques L, Vale N. Salbutamol in the Management of Asthma: A Review[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(22): 14207.
- [2] Liu F, Liu YR, Liu L. Effect of exercise rehabilitation on exercise capacity and quality of life in children with bronchial asthma: a systematic review [J]. *Chin J Contemp Pediat*, 2021, 23 (10): 1050-1057.
- [3] Hassoun D, Rose L, Blanc FX, et al. Bronchial smooth muscle cell in asthma: where does it fit? [J]. *BMJ Open Respir Res*, 2022, 9(1): e001351.
- [4] 陈珊,蒋红宇,吴轶颖,等.血清 25-羟维生素 D₃ 和 T 淋巴细胞亚群与儿童哮喘发病风险和控制水平的关系 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2023, 33(5): 572-575.
- [5] 周竞颖,来奕恬,任玲,等.针刺与艾灸对哮喘大鼠肺功能及气道炎症的影响[J].*中国中西医结合杂志*, 2023, 43(4): 469-475.
- [6] 韦姜飞,熊英.小儿推拿对 29 例支气管哮喘缓解期肺脾气虚证患儿脾虚证候及过敏体质的影响[J].*中医儿科杂志*, 2023, 19(3): 86-89.
- [7] 李真真,李世懿,于利萍,等.哮喘儿童睡眠障碍与家庭功能的现状调查及相关性分析[J].*中国儿童保健杂志*, 2023, 31(8): 846-850.
- [8] Amison RT, Page CP. Novel pharmacological therapies for the treatment of bronchial asthma[J]. *Minerva Med*, 2022, 113(1): 31-50.
- [9] 何丽婷,潘家华.儿童哮喘管理与哮喘控制水平的临床研究[J].*中国当代儿科杂志*, 2023, 25(1): 73-79.
- [10] 王文亮,李红,徐甘霖,等.P13K/AKT-miR-126 通路在儿童支气管哮喘缓解期的作用与中医证型关系[J].*辽宁中医药大学学报*, 2023, 25(5): 5-8.
- [11] 黄广. 小儿穴位推拿疗法治疗慢性持续期小儿支气管哮喘的疗效及对肺功能的影响研究[J].*按摩与康复医学*, 2020, 11(17): 31-33.
- [12] 黎笑红,黄巍,谭杰武.补脾益肺推拿手法治疗小儿哮喘缓解期的临床效果[J].*内蒙古中医药*, 2022, 41(3): 111-113.
- [13] Xu S, Panettieri RA Jr, Jude J. Metabolomics in asthma: A platform for discovery[J]. *Mol Aspects Med*, 2022, 85(10): 100990.
- [14] Novosad J, Krčmová I. Evolution of our view on the IgE molecule role in bronchial asthma and the clinical effect of its modulation by omalizumab: Where do we stand today? [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2020, 34(10): 2058738420942386.
- [15] Hammad H, Lambrecht BN. The basic immunology of asthma [J]. *Cell*, 2021, 184(6): 1469-1485.
- [16] Al Heialy S, Ramakrishnan RK, Hamid Q. Recent advances in the immunopathogenesis of severe asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2022, 149(2): 455-465.
- [17] Asayama K, Kobayashi T, D'Alessandro-Gabazza CN, et al. Protein S protects against allergic bronchial asthma by modulating Th1/Th2 balance[J]. *Allergy*, 2020, 75(9): 2267-2278.
- [18] 缪鑫霞,蒋雯,孔令军,等.支气管哮喘合并肺炎支原体感染患儿 Th17/Treg 细胞失衡及支原体 23S rRNA 基因突变情况[J].*中华医院感染学杂志*, 2022, 32(08): 1229-1233.
- [19] He H, Cao L, Wang Z, et al. Sinomenine Relieves Airway Remodeling By Inhibiting Epithelial-Mesenchymal Transition Through Downregulating TGF- β 1 and Smad3 Expression In Vitro and In Vivo[J]. *Front Immunol*, 2021, 12(5): 736479.
- [20] Varricchi G, Modestino L, Poto R, et al. Neutrophil extracellular traps and neutrophil-derived mediators as possible biomarkers in bronchial asthma[J]. *Clin Exp Med*, 2022, 22(2): 285-300.

- Anticoagulant Therapy on the Serum hs-CRP, IL-6, and TNF- α Levels and Activity of Daily Living in Patients with Acute Cerebral Infarction[J]. *J Healthc Eng*, 2022, 2022: 8603146.
- [19] Zhang ZH, Zhang XC, Ni GX. Thrombolysis combined with acupuncture therapy for acute cerebral infarction: a Meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Acup Res*, 2021, 46(5): 431-438.
- [20] 王慧, 雷寿清, 杜小正, 等. "脑肠同调"法针刺治疗急性脑梗死及对IL-17,hs-CRP和TMAO水平的影响[J]. *中国针灸*, 2022, 42(8): 853-856.
- [21] 王雅惠, 王丽平, 陆梦馨, 等. 基于"形神同调"理论浅析手足十二针在中风病治疗中的临床应用[J]. *中医杂志*, 2022, 63(4): 327-331.
- [22] Wang Y, Xing J, Li Y, et al. Effect and safety of acupuncture on cerebrovascular reserve in patients with acute cerebral infarction: A protocol for systematic review and meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(28): e26636.
- [23] Deng KF, Li X, Lu HL, et al. Effect of acupuncture on pain and cerebral hemodynamics in patients with migraine: a randomized controlled trial[J]. *Chin Acup Moxib*, 2021, 41(2): 115-120.
- [24] Cui J, Jia H. Xingnao Kaiqiao Acupuncture Combined with Butylphthalide Sodium Chloride Injection in the Treatment of Acute Cerebral Infarction and Its Effect on the Levels of Serum Malondialdehyde, Superoxide Dismutase, and Glutathione Peroxidase [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 18(3): 5990203.
- [25] Song YY, Zhang XC, Zhang JY, et al. Effect of Xingnao Kaiqiao acupuncture on safety of rt-PA intravenous thrombolysis in patients with cerebral infarction: a randomized controlled trial [J]. *Chin Acup Moxib*, 2022, 42(9): 961-965.
- [26] Li MH, Lu H, Du YH, et al. Acupotomy combined with Xingnao Kaiqiao acupuncture therapy in treatment of sensory impairment in the recovery stage of cerebral infarction: a randomized controlled trial [J]. *Chin Acup Moxib*, 2021, 41(1): 9-12.
- [27] Zhao N, Zhang H, Liu T, et al. Neuromodulatory Effect of Sensorimotor Network Functional Connectivity of Temporal Three-Needle Therapy for Ischemic Stroke Patients with Motor Dysfunction: Study Protocol for a Randomized, Patient-Assessor Blind, Controlled, Neuroimaging Trial [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 11(2): 8820324.
- [28] Song Z, Huang Q, Guo Y, et al. Xingnao Kaiqiao Acupuncture Method Combined with Temporal Three-Needle in the Treatment of Acute Ischemic Stroke: A Randomized Controlled Trial [J]. *Comput Intell Neurosci*, 2022, 18(5): 8145374.
- [29] 杨文晴, 冉利梅, 周谊霞, 等. 脑血流动力学指标与臂踝脉搏传导速度在脑卒中风险人群中的相关性研究 [J]. *现代预防医学*, 2019, 46(6): 1123-1126.
- [30] 张应魏, 容琼文, 贝宁, 等. 血塞通注射液联合依达拉奉对老年急性脑梗死的临床疗效及对血流动力学的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40(16): 3376-3380.

(上接第 427 页)

- [21] Fahy JV. Type 2 inflammation in asthma--present in most, absent in many[J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(1): 57-65.
- [22] Gupta S, Lodha R, Kabra SK. Asthma, GERD and Obesity: Triangle of Inflammation[J]. *Indian J Pediatr*, 2018, 85(10): 887-892.
- [23] Enweasor C, Flayer CH, Haczku A. Ozone-Induced Oxidative Stress, Neutrophilic Airway Inflammation, and Glucocorticoid Resistance in Asthma[J]. *Front Immunol*, 2021, 12(2): 631092.
- [24] Kabata H, Artis D. Neuro-immune crosstalk and allergic inflammation[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(4): 1475-1482.
- [25] Denton E, Naughton MT, Hew M. Sleep Duration, Inflammation, and Asthma Control: Important Bedfellows [J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2023, 11(4): 1211-1212.