

## 吴医银翘防疫方对慢性脂多糖诱导肺损伤小鼠肺黏膜

### 免疫及其相关因子的影响

王斐<sup>1,2</sup>, 张露蓉<sup>1,2</sup>, 梁国强<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>南京中医药大学附属苏州市中医医院 江苏苏州

<sup>2</sup>苏州市吴门医派验方评价与转化重点实验室 江苏苏州

**【摘要】目的** 研究吴医银翘防疫方对脂多糖 (LPS) 诱导的慢性肺损伤小鼠肺黏膜免疫及其相关细胞因子变化的影响。**方法** 采用从鼻腔向呼吸道内反复 (第 1 天、29 天和 57 天) 滴入 LPS (30 $\mu$ g/6 $\mu$ L) 的方法建立慢性肺损伤小鼠动物模型, 将小鼠随机分为对照组、模型组、吴医银翘防疫方低 (5.0g 生药/kg)、中 (10.0g 生药/kg)、高 (20.0g 生药/kg) 剂量组。造模成功后各组对应给予授试物 3 周后麻醉处死动物, 摘取肺组织和肺黏膜组织; HE 染色观察肺组织病理改变; ELISA 法测定肺黏膜组织 IL-4、IL-6、TGF- $\beta$  水平和 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  水平; Western blot 法和免疫组化法分别检测肺黏膜组织中 IgA、pIgR 蛋白表达和 Ang II、ACE 和 ACE2 蛋白分布与强度变化。**结果** 与对照组相比, 模型组小鼠的肺脏组织肺泡萎缩、间隔变宽和充血水肿, 以及伴随大量的炎性浸润情况等, 且病理组织学损伤评分明显升高 ( $P < 0.05$ ); 模型组小鼠肺脏黏膜组织 IgA、pIgR 蛋白表达明显升高 ( $P < 0.05$ ), IgA 相关细胞因子 IL-4、IL-6、TGF- $\beta$  水平及 pIgR 相关细胞因子 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  水平均显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 且模型组小鼠肺黏膜组织 Ang II、ACE、ACE2 蛋白染色分布平均光密度强度值 (IOD/area) 均显著性高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 吴医银翘防疫方以剂量依赖性减轻了肺损伤小鼠肺组织破坏程度 ( $P < 0.05$ ), 各剂量组明显抑制肺损伤小鼠肺黏膜组织中 IgA、pIgR 蛋白表达下降和 IL-6、IFN- $\gamma$  水平的升高 ( $P$  均  $< 0.05$ ); 其中吴医银翘防疫方的高剂量能明显抑制肺损伤小鼠肺黏膜组织中 IL-4、TGF- $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平的升高 ( $P$  均  $< 0.05$ )。另外发现吴医银翘防疫方以剂量依赖性抑制肺损伤小鼠肺黏膜组织中 Ang II、ACE 和 ACE2 蛋白染色分布增强及其平均光密度强度升高, 与模型组相比, 中、高剂量组具有显著性差异 ( $P$  均  $< 0.05$ )。**结论** 吴医银翘防疫方通过调控肺组织损伤黏膜免疫屏障低下相关 IgA 和 pIgR 的表达及其相关的炎症因子 IL-4、IL-6、TGF- $\beta$  和 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  水平, 抑制肺黏膜中 Ang II、ACE、ACE2 活性过度表达, 从而调节肺黏膜免疫功能改善 LPS 诱导的肺黏膜损伤程度。

**【关键词】** 吴医银翘防疫方; 肺黏膜损伤; 呼吸道黏膜免疫; 小鼠; 脂多糖

**【基金项目】** 苏州市科技计划项目 (编号: SKY2022206); 苏州第九批姑苏卫生重点人才项目 (编号: GSWS2023015); 2024 年苏州市吴门医派验方评价与转化重点实验室项目 (编号: szs2024031)

**【收稿日期】** 2024 年 8 月 22 日

**【出刊日期】** 2024 年 9 月 25 日

**【DOI】** 10.12208/j.ircm.20241047

### Effects of Wuyi Yinqiao Fangyi Prescription on lung mucosal immunity and related factors in mice with chronic LPS-induced lung injury

Fie Wang<sup>1,2</sup>, Lulong Zhang<sup>1,2</sup>, Guoqiang Liang<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Suzhou Hospital of Chinese Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Suzhou, Jiangsu

<sup>2</sup>Suzhou Wumen Medical School Key Laboratory of Prescription Evaluation and Transformation, Suzhou, Jiangsu

**【Abstract】Objective** To study the effects of Wuyiyinqiao Jianguo Prescription on lung mucosal immunity

作者简介: 王斐 (1979-) 女, 硕士, 研究员, 硕导, 主要从事中医经方、名方及吴门医派时方、验方药效物质基础及其配伍规律研究;

\*通讯作者: 梁国强, 男, 副主任中药师, 硕导

and related cytokines in mice with LPS induced chronic lung injury. **Methods** A mouse model of chronic lung injury was established by repeated infusion of LPS (30 $\mu$ g/6 $\mu$ L) from nasal cavity to respiratory tract (day 1, day 29 and day 57). The mice were randomly divided into control group, model group, low (5.0g crude drug /kg), medium (10.0g crude drug /kg) and high (20.0g crude drug /kg) dose groups. After successful modeling, the animals were anesthetized and killed after 3 weeks after receiving the test material, and the lung tissue and pulmonary mucosal tissue were extracted. HE staining was used to observe the pathological changes of lung tissue. The levels of IL-4, IL-6, TGF- $\beta$ , IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  in lung mucosa were determined by ELISA. The expression of IgA and pIgR proteins and the distribution and intensity of Ang II, ACE and ACE2 proteins in lung mucosa were detected by Western blot and immunohistochemistry, respectively. **Results** Compared with the control group, the pulmonary alveolar atrophy, septum widening, hyperemia and edema, and a large number of inflammatory infiltrates were observed in the model group, and the histopathological injury score was significantly increased ( $P < 0.05$ ). The expressions of IgA and pIgR proteins in lung mucosal tissues of mice in model group were significantly increased ( $P < 0.05$ ), and the levels of IgA related cytokines IL-4, IL-6, TGF- $\beta$  and pIgR-related cytokines IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  were significantly higher than those in control group ( $P < 0.05$ ). The mean optical density intensity (IOD/area) of Ang II, ACE and ACE2 protein staining distribution in lung mucosal tissue of mice in model group was significantly higher than that in control group ( $P < 0.05$ ). Compared with model group, Wuyiyinqiao Jiangjian formula reduced the damage degree of lung tissue in mice with lung injury in a dose-dependent manner ( $P < 0.05$ ), and inhibited the decreased expression of IgA and pIgR protein and the increased levels of IL-6 and IFN- $\gamma$  in lung mucosal tissue of mice with lung injury significantly in each dose group ( $P < 0.05$ ). The elevated levels of IL-4, TGF- $\beta$  and TNF- $\alpha$  in lung mucosal tissue of mice with lung injury were significantly inhibited by the high dose of WuyiYinjujian prescription ( $P < 0.05$ ). In addition, it was found that Wuyiyinqiao Jianguo prescription inhibited the enhancement of Ang II, ACE and ACE2 protein staining distribution and the increase of average optical density intensity in lung mucosal tissues of mice with lung injury in a dose-dependent way. Compared with model group, there were significant differences between medium and high dose groups ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** By regulating the expression of IgA and pIgR, as well as the levels of IL-4, IL-6, TGF- $\beta$ , IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ , WuyiYinjujian prescription can inhibit the overexpression of Ang II, ACE and ACE2 activity in lung mucosa. In this way, the lung mucosal immune function can be regulated to improve the degree of lung mucosal injury induced by LPS.

**【Keywords】** Wuyi Yinqiao Fangyi prescription; Lung mucosal injury; Respiratory mucosal immunity; Mice; lipopolysaccharide

呼吸道感染性疾病是威胁人类健康的多发病和常见病。呼吸道黏膜免疫功能是机体防御外来有害物质如病毒、细菌等入侵的第一道防线,而肺黏膜免疫机能是保护呼吸系统免受病原体、毒素和机械损伤的侵害最重要的防御屏障。疫苗和抗生素、激素等西药即时能够体现一定的效用,但是长远来讲很难避免病毒变异、耐药和毒副作用<sup>[1]</sup>带来的“问题”。基于传统中医药防治呼吸道感染性疾病长期积累的“理法方药”有效经验,机体呼吸道黏膜免疫功能是中医理论“正气”的主要表现和抗感染的主体,而中医药治疗众多感染性疾病的特色和优势即是维护机体之正气,提高机体的免疫机能,主要通过调

节黏膜局部紊乱的免疫功能状态起到增强整体免疫机能和修复能力,对于抗呼吸道感染性疾病起到积极的作用<sup>[2]</sup>。

吴医银翘防疫方为苏州市中医医院吴门医派专家组充分运用吴门医派温病学说理论和临证经验,基于吴门医派验方和经方(银翘散、玉屏风散和藿香正气散)所拟定的经验方<sup>[3,4]</sup>。前期临床和基础研究已经表明吴医银翘防疫方辅助治疗病毒性上呼吸道感染可促进发热等症状及体征缓解,提高治愈率,其机制可能主要与调节炎症因子和干预血管紧张素转换酶(ACE)/ACE2信号通路增强上呼吸道黏膜免疫功能相关<sup>[5,6]</sup>。脂多糖(LPS)是革兰氏阴性细菌

细胞外壁中的一种成分,它是诱发炎症最主要的病原分子之一,被广泛应用于建立急性和慢性炎症的实验模型<sup>[7]</sup>,近年亦有报道 LPS 诱导的慢性肺损伤模型-小鼠唾液中 SIgA 以及口腔及咽喉部黏膜组织中和肺组织中免疫球蛋白 A (IgA) 与多聚免疫球蛋白受体 (pIgR) 蛋白表达异常降低<sup>[8]</sup>。基于以上前期基础和新近研究报道,本研究笔者进一步从改善呼吸道黏膜免疫功能低下的角度,以从鼻腔向呼吸道内反复滴入 LPS 的方法建立的经典慢性肺损伤小鼠动物模型为研究对象,探究了吴医银翘防疫方对肺黏膜中 IgA、pIgR 及相关因子和与病毒传染密切相关 ACE2 的调节作用,为其对抗呼吸道感染性疾病的潜在效能而深入阐明黏膜免疫调节机制提供新的思路,以期为吴医银翘防疫方的综合利用及新的医院制剂或新药的开发与转化提供理论基础。

## 1 仪器与材料

### 1.1 主要仪器

酶标仪 (Infinite F50): 瑞士帝肯公司。离心机 (Sorvall ST 40): 赛默飞公司。培养箱 (DHG-9240): 上海一恒科学仪器有限公司。恒温烘箱: 上海恒一科学仪器有限公司; 电泳仪 (mini protean 3 cell): BIO-RAD 公司。电转仪 (TE77XP): HOEFER 公司。成像系统 (5200): Tanon 公司。石蜡切片机 (SQ2125)、摊片机 (PPTHK-21B): 徕克公司。正置显微镜 (CX41): OLYMPUS 公司; 数码相机 (D5100): NIKON 公司。

### 1.2 主要材料

实验动物: 40 只 SPF 级雌性 ICR 雄性小鼠,体重  $20\text{g} \pm 2\text{g}$ , 购于昭衍(苏州)新药研究中心有限公司,生产许可证号: SCXK(苏)2018-0006; 实验小鼠饲养和实验于领致生物科技(昆山)有限公司标准动物实验室条件下,使用许可证号: SYXK(苏)2023-0083; 动物实验设计经南京中医药大学附属苏州市中医医院伦理委员会审批(批号: 2022 伦动批 052)。吴医银翘防疫方(金银花,连翘,藿香,生黄芪,焦白术,防风,桔梗,白扁豆,生甘草): 方中中药饮片由苏州市中医医院药学部鉴定和提供,并由苏州市吴门医派验方评价与转化重点实验室根据实验要求制备不同浓度的水提液。脂多糖(LPS): 购自北京百奥莱博科技有限公司,货号: QN0166。小鼠白介素 4 (IL-4)、小鼠白介素 6 (IL-6)、转

化生长因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ )、小鼠  $\gamma$  干扰素 (IFN- $\gamma$ ) 和肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ELISA 试剂盒: 购自上海邦奕生物公司,依次货号: BYE30064、BYE30044、BYE30584、BYE30038 和 BYE30030。苏木素-伊红 (HE) 和广谱二抗: 鸿泉生物科技有限公司产品。IgA (1: 1000)、pIgR (1: 500) 和血管紧张素 II (Ang II) (1: 100)、ACE (1: 100)、ACE2 (1: 100) 抗体: 购自 Gene Tex 公司,依次货号: GTX17720、GTX54608 和 GTX85629、GTX54938、GTX101395。 $\beta$ -actin (1: 1000) 抗体: 购自 Abcam 公司,货号: Ab8227。其他试剂均为市售分析纯。

## 2 方法

### 2.1 LPS 诱导的肺损伤模型小鼠模型建立及分组给药

40 只 ICR 雌性小鼠,适应性饲养 1 周后随机分为 5 组: 正常组、模型组和吴门医派银翘防疫方低、中、高剂量组,每组 8 只。除对照组外,其余各组参考文献<sup>[9]</sup>并适当改良,采用从鼻腔向呼吸道内反复滴入 LPS 的方法建立慢性肺损伤小鼠动物模型: 第 1、29 和 57 天分别从鼻腔向小鼠呼吸道内滴入 LPS 溶液 ( $30\mu\text{g}/6\mu\text{L}$ ), 剂量为  $1.5\text{mg}/\text{kg}$ 。

模型组: 成功造模后,从第 13 周起,灌胃给予蒸馏水,  $10\text{ml}/\text{天}/\text{kg}$ , 连续 3 周。吴医银翘防疫方低、中、高剂量组: 造模操作同模型对照组,从第 13 周起,灌胃给予吴医银翘防疫方水提液(低浓度:  $0.5\text{g}$  生药/ $\text{mL}$ 、中浓度:  $1.0\text{g}$  生药/ $\text{mL}$ 、高浓度:  $2.0\text{g}$  生药/ $\text{mL}$ ),  $10\text{mL}/\text{天}/\text{kg}$ , 即吴医银翘防疫方(低剂量:  $5.0\text{g}$  生药/ $\text{kg}$ 、中剂量:  $10.0\text{g}$  生药/ $\text{kg}$ 、高剂量:  $20.0\text{g}$  生药/ $\text{kg}$ ), 连续 3 周。对照组: 分别于第 1 天、29 天和 57 天分别从鼻腔向小鼠呼吸道内滴入生理盐水 ( $6\mu\text{L}/\text{只}$ ), 其余时间正常饲养。自第 13 周起,灌胃给予生理盐水,  $10\text{ml}/\text{天}/\text{kg}$ , 连续 3 周。期间监测小鼠的一般体征观察。末次给药后 1h 麻醉处死小鼠,取小鼠肺脏组织及肺黏膜组织,一部分于  $1.5\text{mL}$  EP 管中,  $-80^\circ\text{C}$  保存; 一部分甲醛固定,室温保存。

### 2.2 IgA 的蛋白表达及其相关细胞因子的测定

取各组小鼠肺黏膜组织,采用 Western Blot 技术检测目标组织中 IgA 蛋白表达情况,并采用 ELISA 法对应检测各组肺黏膜组织中 IgA 相关细胞因子 IL-4、IL-6 和 TGF- $\beta$  水平。

### 2.3 pIgR 的蛋白表达及其相关细胞因子的测定

取各组小鼠肺黏膜组织, 采用 Western Blot 技术检测目标组织中 pIgR 蛋白表达情况, 并采用 ELISA 法对应检测各组肺黏膜组织中 pIgR 相关细胞因子 IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$  水平。

#### 2.4 病理组织学观察以及 Ang II、ACE2 和 ACE 蛋白分布与强度变化检测

取各组经甲醛固定的肺脏组织和肺黏膜组织, 采用苏木精-伊红染色法 (HE) 法进行病理组织学观察肺脏组织病理损伤情况 (包括肺泡结构, 肺水肿, 炎症细胞浸润程度等)。根据病理损伤严重程度进行评分<sup>[10]</sup>: 无损伤为 0 分, 轻度损伤为 1 分、中度损伤为 2 分、重度损伤为 3 分, 计算各组评分平均值。并采用免疫组化法 (IHC) 染色观察肺黏膜组织中 Ang II、ACE2 和 ACE 蛋白染色分布, 并计算平均光密度强度值 (IOD/area)。

#### 2.5 数据统计分析

实验数据用 GraphPad prism 软件进行统计学分析, 结果以均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 先进行 Dunnett 分析, 如其他组间需要进行比较再进行 Tukey 分析, 以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

### 3 结果

#### 3.1 一般体征观察

实验小鼠适应性喂养期间, 饮食正常、活动频繁、精神矍铄、毛色光泽且没有扎堆现象。经过分组及造模进程中, 相对于空白组, 其它组实验小鼠逐渐出现食欲欠佳、活动消极、精神萎靡、毛色晦暗、扎堆聚集以及呼吸喘促和身体颤抖的现象。经过不同剂量吴医银翘防疫方以灌胃给药治疗 3 周 (对照组和模型组以生理盐水灌胃) 后, 模型组小鼠身体颤抖状况略有减轻, 其他情况均未有改善, 吴医银翘防疫方以剂量依赖性明显改善了以上的一般情况。主要的表现为呼吸喘促、身体颤抖和精神萎靡状况有所减轻, 但是仍然偶尔有食欲欠佳和扎堆聚集的情况。

#### 3.2 吴医银翘防疫方对肺黏膜 IgA 蛋白表达及其相关细胞因子水平的影响

见图 1, 实验结束后, 相对于空白组, 模型组小鼠肺黏膜组织中 IgA 蛋白表达明显降低及相关细胞因子 IL-4、IL-6 和 TGF- $\beta$  水平均明显升高 ( $P$  均  $< 0.05$ )。以不同剂量吴医银翘防疫方以灌胃干预肺损

伤小鼠 3 周后, 发现吴医银翘防疫方各剂量组明显抑制肺损伤小鼠肺黏膜组织中 IgA 蛋白表达下降和 IL-6 水平的升高 ( $P$  均  $< 0.05$ ); 且吴医银翘防疫方的高剂量能明显抑制肺损伤小鼠肺黏膜组织中 IL-4 和 TGF- $\beta$  水平的升高 ( $P$  均  $< 0.05$ )。

#### 3.3 吴医银翘防疫方对肺黏膜 pIgR 的蛋白表达及其相关细胞因子水平的影响

见图 2, 实验结束后, 相对于空白组, 模型组小鼠肺黏膜组织中 pIgR 蛋白表达明显降低且相关细胞因子 IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$  水平均明显升高 ( $P$  均  $< 0.05$ )。以不同剂量吴医银翘防疫方以灌胃干预肺损伤小鼠 3 周后, 发现吴医银翘防疫方各剂量组明显抑制肺损伤小鼠肺黏膜组织中 pIgR 蛋白表达降低和 IFN- $\gamma$  水平的升高 ( $P$  均  $< 0.05$ ); 且吴医银翘防疫方的中、高剂量能明显抑制肺损伤小鼠肺黏膜组织中 TNF- $\alpha$  水平的升高 ( $P < 0.05$ )。

#### 3.4 吴医银翘防疫方对肺损伤小鼠肺组织病理学改变以及肺黏膜组织 Ang II、ACE 和 ACE2 分布与强度变化的影响

见图 3, 实验结束后, 相对于空白组, 模型组小鼠肺组织结构发生一定程度的破坏, 主要变现为肺泡萎缩、间隔变宽和充血水肿, 以及伴随大量的炎性浸润情况等, 且病理组织学损伤评分明显升高 ( $P < 0.05$ )。

以不同剂量吴医银翘防疫方以灌胃干预肺损伤小鼠 3 周后, 发现吴医银翘防疫方以剂量依赖性减轻了肺损伤小鼠肺组织破坏程度。主要体现为肺泡间隔厚度缩小、充血水肿缓解和炎性浸润减少, 且吴医银翘防疫方的高剂量能明显抑制肺损伤小鼠肺组织病理损伤评分的升高 ( $P < 0.05$ )。

见图 4-6, 实验结束后, 相对于空白组, 模型组小鼠肺黏膜组织中 Ang II、ACE 和 ACE2 蛋白染色分布均增强, 且其平均光密度强度均明显升高 ( $P$  均  $< 0.05$ )。

以不同剂量吴医银翘防疫方以灌胃干预肺损伤小鼠 3 周后, 发现吴医银翘防疫方以剂量依赖性抑制肺损伤小鼠肺黏膜组织中 Ang II、ACE 和 ACE2 蛋白染色分布增强及其平均光密度强度升高。与模型组比较, 吴医银翘防疫方的中、高剂量能明显抑制肺损伤小鼠肺黏膜组织中 Ang II、ACE 和 ACE2 平均光密度强度升高 ( $P$  均  $< 0.05$ )。

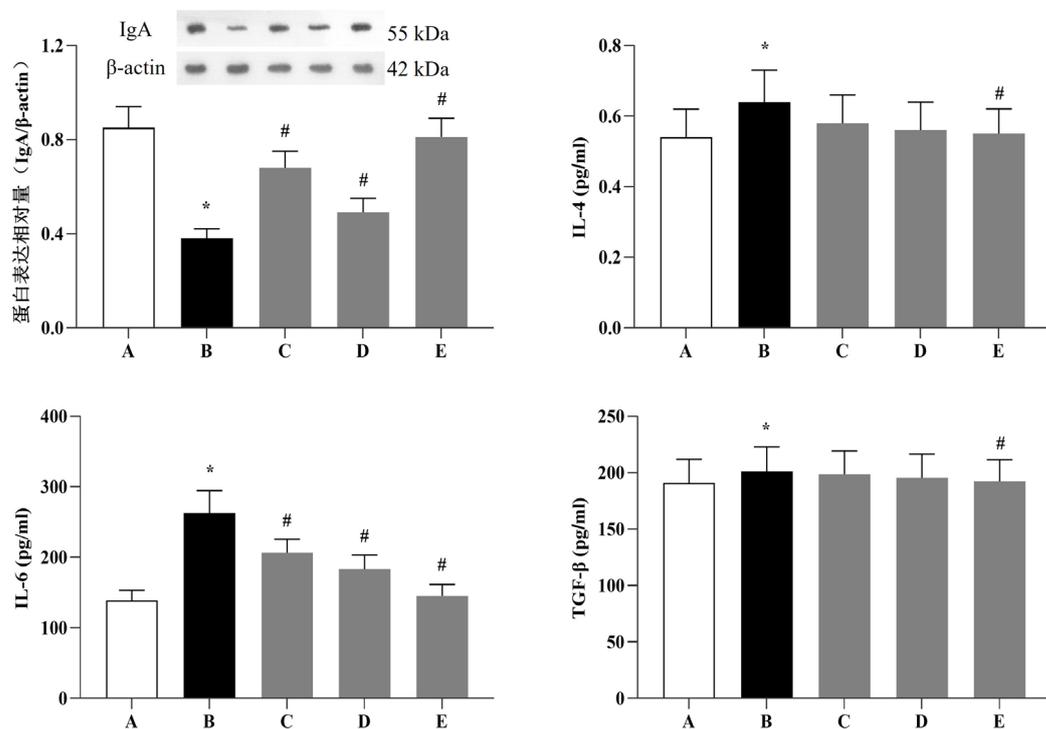


图1 吴医银翘防疫方对肺损伤小鼠肺黏膜组织中 IgA 蛋白表达及其相关细胞因子 IL-4、IL-6 和 TGF-β水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , n=8)

注: A 为空白组; B 为 LPS-肺损伤小鼠模型组; C-E 为 LPS-肺损伤小鼠+吴医银翘防疫方低、中、高 (5.0g 生药/kg、10.0g 生药/kg、高 20.0g 生药/kg) 剂量组。与空白组比较, \* $P < 0.05$ ; 与 LPS-肺损伤小鼠模型组比较, # $P < 0.05$ 。以下结果标注均同此。

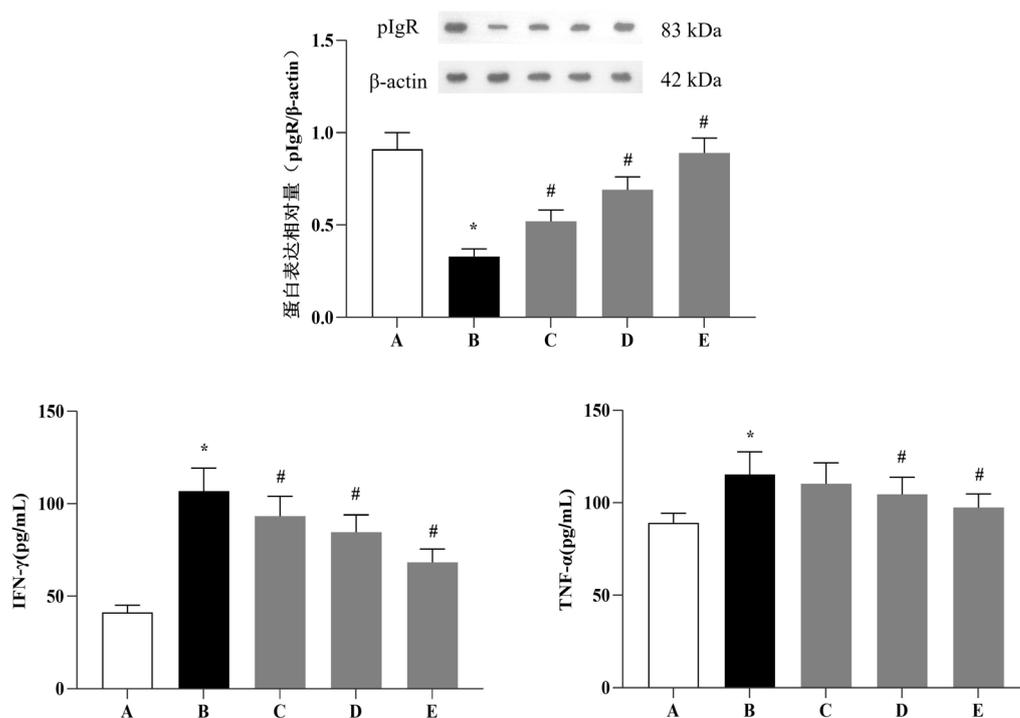


图2 吴医银翘防疫方对肺损伤小鼠肺黏膜组织中 pIgR 蛋白表达及其相关细胞因子 IFN-γ 和 TNF-α水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , n=8)

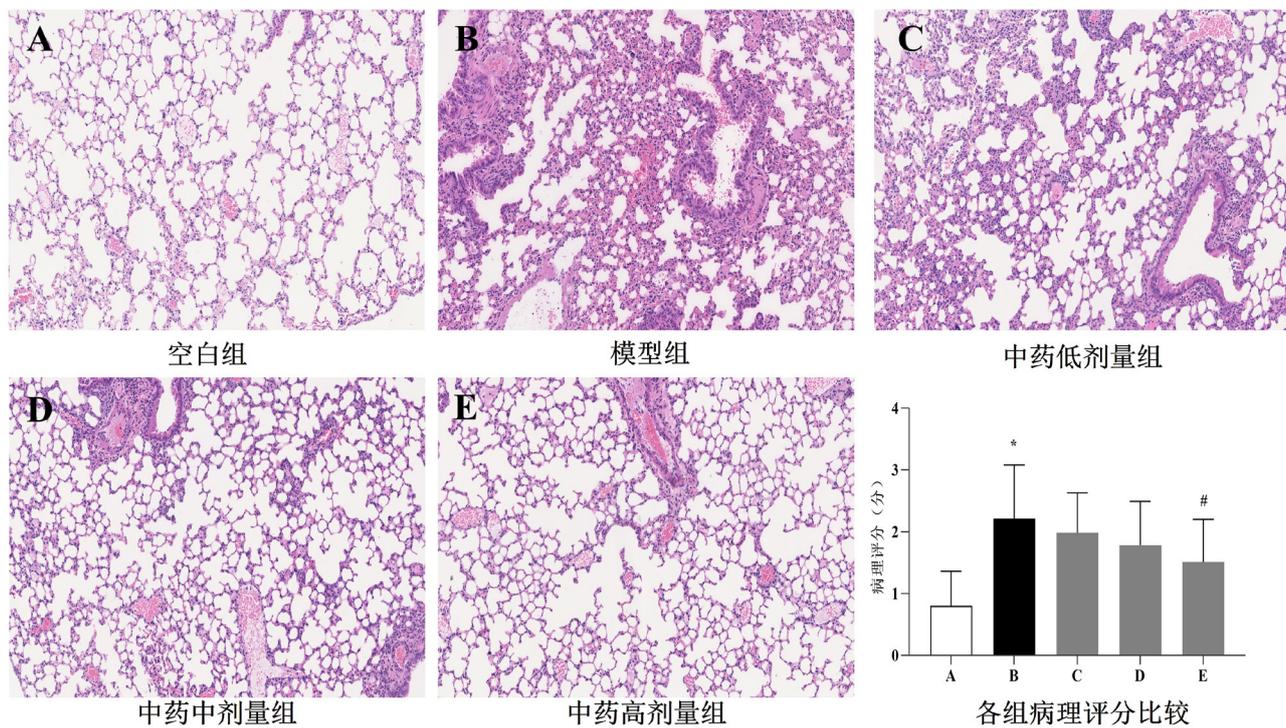


图3 吴医银翘防疫方对肺损伤小鼠肺组织病理结构改变及病理损伤评分的影响 (HE, 100×;  $\bar{x} \pm s$ , n=5)

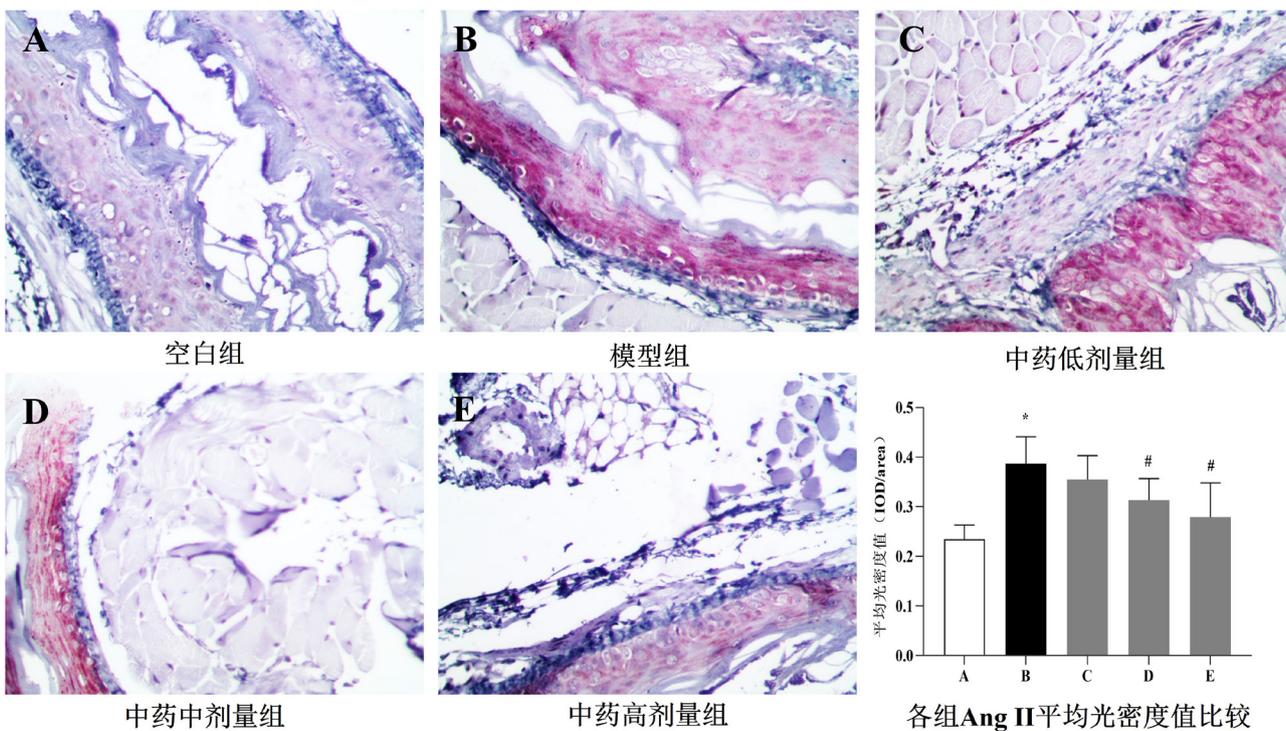


图4 吴医银翘防疫方对肺损伤小鼠肺黏膜组织 Ang II 蛋白染色分布与平均光密度强度的影响 (IHC, 200×;  $\bar{x} \pm s$ , n=5)

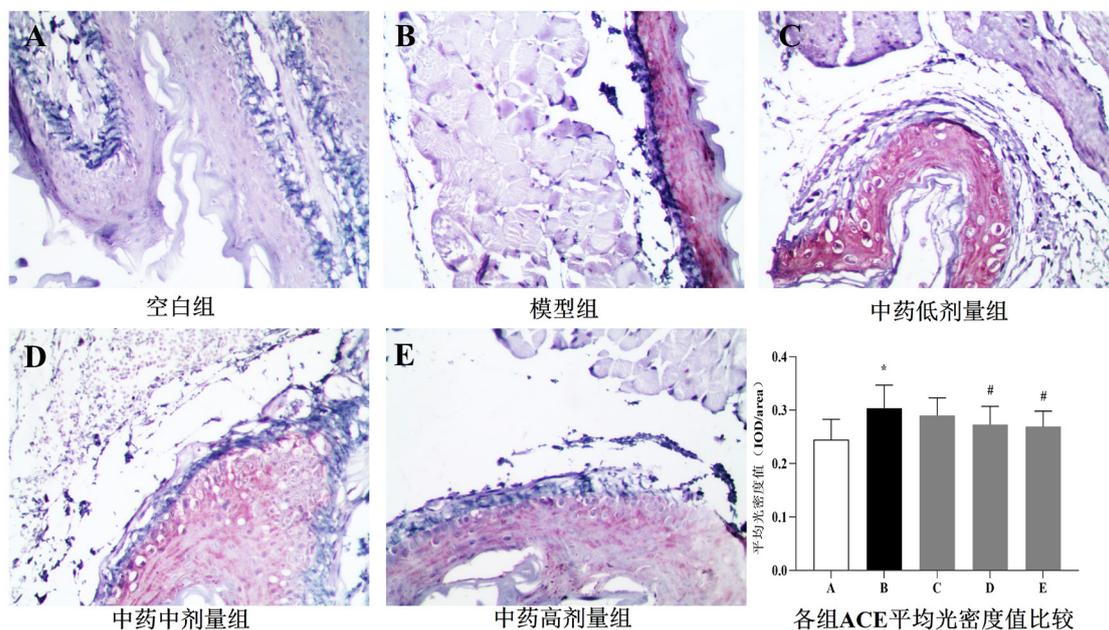


图5 吴医银翘防疫方对肺损伤小鼠肺黏膜组织 ACE 蛋白染色分布与平均光密度强度的影响 (IHC, 200×;  $\bar{x} \pm s$ , n=5)

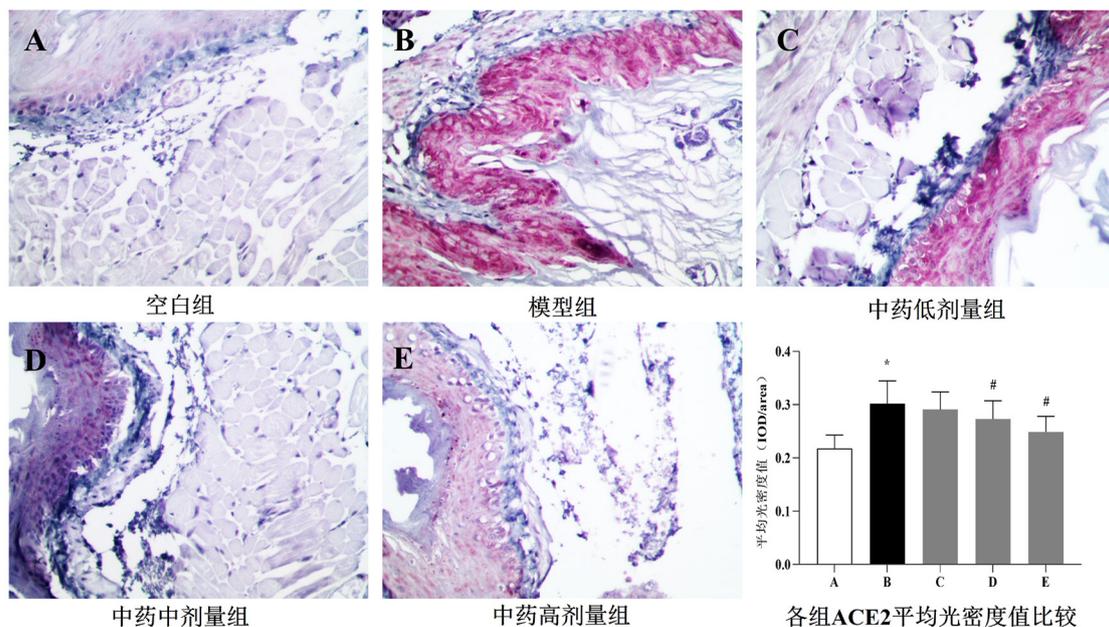


图6 吴医银翘防疫方对肺损伤小鼠肺黏膜组织 ACE2 蛋白染色分布与平均光密度强度的影响 (IHC, 200×;  $\bar{x} \pm s$ , n=5)

#### 4 讨论

传统中医将呼吸道感染性疾病归为“疫病”的讨论范畴,《黄帝内经》关于此最早提出流行病学的概念,张仲景在医史中首开发热病学研究之先河<sup>[11]</sup>。吴门医派在疫病治疗方面有丰富的经验和许多经典著作,吴门医派历代医家结合流行病学和发热病学创“瘟”病学说,提炼了瘟病的分布与传变机制,并总

结了诊断治疗体系。在致病机理上:传染病并非秋冬发作,而是四季均可“有感而发”;在传播途径上:“鼻而入肺,亦可从口入于胃气”,以及立中医膜原学说理论;在确诊判断上:发展了查舌、验齿、辨斑疹、辨白疹子等方法,区别普通发热与疫病,重视预防和潜伏期的治疗;病理分析上:“温邪上受,首先犯肺”,出现症状的肯定是呼吸系统。在临床诊治上:

采用吴门“卫、气、营、血”的辨证法,通过支持疗法让病人提高免疫力<sup>[12,13]</sup>。这些吴门医派的诊疗方案,与现代医学殊途同归。

吴医银翘防疫方来源有三:吴门医派温病第一要方“银翘散”(吴鞠通《温病条辨》),具有辛凉透表、清热解毒的作用,用于温病初期邪在肺卫之卫分证。其可增加流感病毒感染小鼠支气管肺泡灌洗液中 Sig A 的水平,提高小鼠唾液中 Sig A 含量,从而达到提高上呼吸道黏膜免疫功能的作用,方中的黄酮类物质可以抑制流感病毒唾液酸酶的活性、抑制膜融合的作用,具有很好的抗病毒作用<sup>[14]</sup>。二是玉屏风散(《究原方》、《医方类聚》),为益气固表的经典方,此方补中寓散,攻补益施,内外同治,标本兼顾。口服可促进呼吸道分泌 Sig A,有效防止上呼吸道疾病的发生。三是藿香正气散(《太平惠民和剂局方》),是化湿解表、理气和中的代表经方,其可通过修复肠道机械屏障和调节肠道免疫屏障来改善肠道环境<sup>[15]</sup>。原此,吴医银翘防疫方主要由金银花、连翘、扁豆、藿香、黄芪、白术、防风、桔梗和生甘草等 9 味中草药组成,全方合用,既具清热解毒、化湿和中之功,又有益气补肺固表之力。攻补兼施,内外同治,适用于大部分群众体质,临床应用中多有效验。从而发挥了抗御温邪侵袭之作用。

吴门银翘防疫方结合西药病毒性上呼吸道感染临床研究表明,在症状缓解情况(体温开始降低和咽喉肿痛)、炎症反应和免疫功能指标(IL-4、IFN- $\gamma$  和 IgG 和 IgM)、中医症状评分和临床综合疗效等明显优于单用西药<sup>[5]</sup>;网络药理学研究表明,吴门银翘防疫方参与调控呼吸道黏膜免疫关键靶点分子包括 ACE2、半乳糖苷酶 A (GLA) 和髓过氧化物酶(MPO)等;分子对接实验表明,关键靶点与吴门银翘防疫方主要组分具有良好的结合活性<sup>[6]</sup>。ACE2 是人类血管紧张素转换酶同源物,是一种锌金属蛋白酶,属于 1 型跨膜蛋白,在病毒感染过程中,ACE2 是病毒的膜上结合受体之一,与病毒和宿主细胞的融合、入侵过程有关<sup>[16]</sup>。动物实验报道证实小鼠肺脏少量 II 型肺泡上皮细胞(AT2)表达 ACE2,与人体相似,气管中各类型细胞散在表达 ACE2,在小鼠舌头的角质形成细胞(41.74%)表达 ACE2,在小鼠的分化期口腔颊黏膜上皮细胞中表达 ACE2,并且与肺脏 ACE2+AT2 相同,也表达病毒进程相关

基因,部分基因呈现特异性表达<sup>[17]</sup>。前期笔者也发现吴门银翘防疫方可以抑制高寒冷致上呼吸道黏膜免疫功能低下模型小鼠唾液中分泌型免疫球蛋白 A (SIgA) 含量和口腔及咽喉部黏膜组织中 IgA、pIgR 蛋白表达降低以及 ACE2 活性的过表达<sup>[6]</sup>。

本研究在前期基础上,进一步慢性 LPS 诱导肺损伤模型小鼠为研究对象,从改善肺黏膜免疫功能低下的角度探究吴医银翘防疫方对呼吸道黏膜中 IgA、pIgR 及相关因子和与 SARS-CoV-2 传染密切相关 ACE2 的调节作用,为其对 IgA Mab 阻断 SARS-CoV-2 Spike-ACE2 相互作用的潜在效能而深入阐明黏膜免疫调节机制提供新的思路。结果表明,吴医银翘防疫方通过调控肺组织损伤黏膜免疫屏障低下相关 IgA 和 pIgR 的表达及其相关的炎症因子 IL-4、IL-6、TGF- $\beta$  和 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  水平,抑制肺黏膜中 Ang II、ACE、ACE2 活性过度表达,从而调节肺黏膜免疫功能改善 LPS 诱导的肺黏膜损伤程度,为其增强肺黏膜免疫功能发挥潜在的抗呼吸道感染性疾病的效应机制提供了基础和参考。

## 参考文献

- [1] 李柔,凌飞翔,马礼兵.疫苗在呼吸道感染性疾病的应用及研究现状[J].实用医学杂志,2023,39(01):6-11.
- [2] 郭媛媛,王飘,李江,等.中药对上呼吸道感染的治疗作用及机制研究进展[J].中国医药导刊,2023,25(05):466-470.
- [3] 蒋文杰,陆珍琦,陈江,等.吴门医派疫病证治学术思想探析[J].中华中医药杂志,2021,36(08):4766-4771.
- [4] 袁杰,周运海,梁国强.苏州市吴门医派治疗新型冠状病毒肺炎患者 108 张处方的中药性味归经分析[J].抗感染药学,2021,18(11):1605-1608.
- [5] 皋青青,梁国强,黄燕凤,等.吴门银翘方辅助治疗病毒性上呼吸道感染的临床研究[J].家庭药师,2023,16(2):7-10.
- [6] Heng XU, Fangyuan LI, Guoqiang LIANG, et al. Network Pharmacology, Molecular Docking and Experimental Exploring Molecular Mechanisms of Yinqiao Anti-Epidemic Formula in Regulating Mucosal Immune System of Respiratory Tract[J]. Agricultural Biotechnology,2023, 12(4):75-84.
- [7] 宋也好,游慧婷,姚于飞,等.鱼腥草多糖对脂多糖诱导大

- 鼠慢性炎症肺损伤的保护作用[J].现代食品科技,2020,36(06):1-8.
- [8] Lee SY, Cho SS, Bae CS, et al. Socheongryongtang suppresses COPD-related changes in the pulmonary system through both cytokines and chemokines in a LPS COPD model[J]. Pharm Biol, 2020,58(1):538-544.
- [9] 周凤, 李德富, 袁良,等. 两种不同方法建立的小鼠慢性阻塞性肺疾病模型的比较研究[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2019, 42(5):367-371.
- [10] 李祥,彭芳,李娟. 血必净注射液对脂多糖诱导的大鼠急性肺损伤的作用机制研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(17): 2635-2638.
- [11] 刘文平. 论张仲景对《黄帝内经》学术的继承与发展[D]. 上海中医药大学,2020.
- [12] 曾崎冈.从吴门医派对疫病的辨证论治探讨新冠肺炎的防治[J].中医研究, 2022, 35(12):1-3.
- [13] 梁国强, 冒华, 江国荣, 吴门 RMK-03TM 喷剂有效组分对脂多糖引起的鼻黏膜上皮细胞损伤的作用研究[J]. 国际中医药研究, 2023; 3: (2): 15-20.
- [14] 陈俏妍.银翘散治疗急性病毒性咽炎的临床和基础研究[D].广州中医药大学,2013.
- [15] 徐伟,孙钢,姜宏.运用吴门医派温病学说治疗苏州地区新型冠状病毒肺炎临床摘要-附验案 2 则[J].江苏中医药,2020,52(04): 22-25.
- [16] 张晓晴,李树仁,牛绍乾. ACE2与新型冠状病毒肺炎及其所致的急性呼吸窘迫综合征[J]. 中国动脉硬化杂志, 2020, 28(05):395-399.
- [17] 张虎, 韩连连, 吴超,等. SARS-CoV-2 受体 ACE2 的单细胞 RNA 表达谱在小鼠呼吸道中的表达分布[J]. 国际病毒学杂志, 2020, 27(03):182-186.
- 版权声明:** ©2024 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。  
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

**OPEN ACCESS**