



辽宁中医药大学学报

Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine

ISSN 1673-842X, CN 21-1543/R

《辽宁中医药大学学报》网络首发论文

题目：“邵氏五针法”对哮喘大鼠血清中 IL-4、IL-6 及肺组织中 TGF- β 1、Smad2 mRNA 的影响

作者：张淑宁，王培育，张雪琳，李胜男，朱芷欣，邓云鹏，魏腾腾，何广帅，靳诺佳，刘高飞，杨旭光

网络首发日期：2025-04-15

引用格式：张淑宁，王培育，张雪琳，李胜男，朱芷欣，邓云鹏，魏腾腾，何广帅，靳诺佳，刘高飞，杨旭光.“邵氏五针法”对哮喘大鼠血清中 IL-4、IL-6 及肺组织中 TGF- β 1、Smad2 mRNA 的影响[J/OL]. 辽宁中医药大学学报.
<https://link.cnki.net/urlid/21.1543.r.20250414.1910.012>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

“邵氏五针法”对哮喘大鼠血清中 IL-4、IL-6 及肺组织中 TGF- β 1、Smad2 mRNA 的影响

张淑宁^{1,2}, 王培育^{1,2}, 张雪琳^{1,2}, 李胜男^{1,2}, 朱芷欣^{1,2},

邓云鹏^{1,2}, 魏腾腾^{1,2}, 何广帅^{1,2}, 靳诺佳^{1,2}, 刘高飞^{1,2}, 杨旭光^{1,2*}

(1.河南中医药大学, 河南 郑州 450008; 2.河南中医药大学第三附属医院, 河南 郑州 450008)

摘要: **目的** 观察针刺“肺俞”“大椎”“风门”对哮喘大鼠血清中白细胞介素(IL)-4、IL-6及肺组织中转化生长因子- β 1(TGF- β 1)和 Smad 家族成员(Smad)2 基因表达的影响。**方法** 选取 40 只大鼠分为空白组、模型组、针刺组和地塞米松组, 共 4 组每组各 10 只。通过腹腔注射卵蛋白加氢氧化铝混合物并用卵蛋白滴鼻激发的方法来制备慢性哮喘大鼠模型, 空白组用生理盐水代替。针刺组每周针刺“肺俞”“大椎”“风门”3 次, 每次 20min, 地塞米松组每周腹腔注射 3 次, 空白组和模型组仅陪同抓取固定, 不进行治疗。干预结束 24h 后取材, 苏木精-伊红(HE)染色对肺组织进行病理学检查; 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清中 IL-4、IL-6 的表达; 实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-PCR)测定 TGF- β 1 和 Smad2 mRNA 在大鼠肺组织中的表达情况。**结果** 与空白组相比, 模型组大鼠支气管管壁和平滑肌可见明显的增厚、管腔变窄, 并有较多的炎性细胞浸润, 大鼠血清中 IL-4、IL-6 和肺组织中 TGF- β 1、Smad2 mRNA 的表达量显著升高($P < 0.01$); 与模型组相比, 针刺组和地塞米松组大鼠气道炎症程度均降低, 血清中 IL-4、IL-6 和肺组织中 TGF- β 1、Smad2 mRNA 的表达量均显著降低($P < 0.01$)。**结论** “邵氏五针法”可以通过下调大鼠血清中 IL-4、IL-6 及肺组织中 TGF- β 1、Smad2 mRNA 的表达, 减轻炎症细胞浸润, 抑制平滑肌增厚和气道重塑, 可作为针刺抗哮喘效应的机理之一。

关键词: “邵氏五针法”; 哮喘; 气道重塑; 白细胞介素-4、白细胞介素-6; 转化生长因子- β 1、Smad 家族成员 2 mRNA

基金: 国家自然科学基金面上项目(82074562); 河南省中医药科学研究专项课题(2022ZY1102); 河南省特色骨干学科中医学学科建设项目(15102046-2020)

作者简介: 张淑宁(1998-), 女(汉族), 河南安阳人, 在读硕士, 研究方向: 针灸流派学术思想传承与基础应用研究; *杨旭光(1979-), 女(汉族), 河南濮阳人, 副教授, 博士, 硕士生导师, 研究方向: 针灸流派学术思想传承与基础应用研究。

Effects of “Shao's five-needle method” on IL-4 and IL-6 in

serum and TGF- β 1 and Smad2 mRNA in lung tissue of asthmatic rats

ZHANG Shuning^{1,2}, WANG Peiyu^{1,2}, ZHANG Xuelin^{1,2}, LI Shengnan^{1,2}, ZHU Zhixin^{1,2}, DENG Yunpeng^{1,2}, WEI Tengting^{1,2}, HE Guangshuai^{1,2}, JIN Nuoqia^{1,2}, LIU Gaoferi^{1,2}, YANG Xuguang^{1,2*}

(1. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan, China, 450008; 2. The Third Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan, China, 450008)

Abstract: Objective To observe the effects of acupuncture on “Fei Shu” “Da Zhui” and “Feng Men” on Interleukin (IL)-4 and IL-6 in serum and Transforming Growth Factor β 1 (TGF- β 1) and Smad family members (Smad)2 in lung tissue of asthmatic rats. **Methods** Forty rats were selected and divided into blank, model, acupuncture and dexamethasone groups, with a total of 4 groups of 10 rats each. A rat model of chronic asthma was prepared by intraperitoneal injection of ovalbumin plus aluminum hydroxide mixture and stimulated with ovalbumin nasal drops, and the blank group was replaced with saline. In the acupuncture group, “Fei Shu”, “Da Zhui” and “Feng Men” were needled three times a week for 20 minutes each time, the dexamethasone group was injected intraperitoneally three times a week, and the blank and model groups were only accompanied by grasping and immobilization without treatment. The samples were taken 24 h after the end of the intervention, and the lung tissues were stained with Hematoxylin-eosin staining (HE) for pathological examination; the expression of IL-4 and IL-6 in serum was detected by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA); and the expression of TGF- β 1 and Smad2 mRNA in rat lung tissues was detected by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). **Results** Compared with the blank group, obvious thickening of the bronchial tube wall and smooth muscle, narrowing of the lumen, and more inflammatory cell infiltration were seen in the model group, and the expression of IL-4, IL-6 in the serum and TGF- β 1 and Smad2 mRNA in the lung tissues of the rats were significantly elevated ($P < 0.01$); compared with the model group, the degree of airway inflammation in the rats in the acupuncture group and the dexamethasone group were reduced, and the expression of IL-4, IL-6 in serum and TGF- β 1, Smad2 mRNA in lung tissue were significantly reduced ($P < 0.01$). **Conclusion** “Shao's five-needle method” can reduce inflammatory cell infiltration, inhibit smooth muscle thickening and airway remodeling by

down-regulating the expression of IL-4 and IL-6 in serum and TGF- β 1 and Smad2 mRNA in lung tissues of rats, which can be used as one of the mechanisms of the anti-asthmatic effect of acupuncture.

Key words: "Shao's five-needle method"; asthma; airway remodeling; interleukin-4, interleukin-6; transforming growth factor β 1 mRNA, drosophila mothers against ecapentaplegic protein2 mRNA

支气管哮喘是一种以反复发作的喘息、气促、胸闷、咳嗽、气流受限为主要特征的慢性呼吸道疾病^[1]，若治疗不及时，还有可能造成气道炎症、气道重塑等严重后果^[2]。由于近年来城市化加剧和个人生活方式的改变，全球哮喘发病率逐年上升^[3]，且严重影响患者的生活质量^[4]，故探究改善哮喘的途径有重要的临床意义。本课题从两个方面进行研究，分别是气道炎症和气道重塑。白细胞介素（Interleukin, IL）-4^[5]、IL-6^[6]是血清中两个重要的炎症因子，可以引起哮喘患者气道炎症的发生和发展。与哮喘气道重塑有关的标记物主要包括转化生长因子- β 1（Transforming Growth Factor β 1, TGF- β 1）^[7]和 Smad 家族成员（Drosophila Mothers Against Ecapentaplegic Protein, Smad）2^[8]等，抑制气道 TGF- β 1 和 Smad 的表达可以降低患者气道重塑的发生^[9]。针灸治疗哮喘的疗效已得到多方认证^[10]，本研究选取的穴位来自于河南中医药大学针灸大家邵经明老先生的经验效穴^[11]，已经过大量验证，针刺“肺俞”“大椎”“风门”可以缓解气道炎症、改善气道重塑^[12]。本研究旨在探讨针刺“肺俞”“大椎”“风门”对哮喘模型大鼠血清中 IL-4、IL-6 及肺组织中 TGF- β 1、Smad2 mRNA 表达的影响，并探讨“邵氏五针法”对哮喘气道炎症和气道重塑的作用机制，为其临床应用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

从郑州大学动物实验中心引进 40 只 SPF 级成年雄性 SD 大鼠，8 周龄，体重约 180g，在河南中医药大学动物实验中心进行饲养。大鼠在适宜的温度、湿度、光照环境中适应一周后，采用随机数字表法将其分为四组：空白组、模型组、针刺组和地塞米松组，每组各 10 只。严格按照 2006 年中国科技部《关于善待实验动物的指导性意见》^[13]处理实验中的动物。本研究已经获得河南中医药大学实验动物中心伦理委员会的同意（伦理号：IACUC-202305001）。

1.2 主要仪器、试剂和材料

主要仪器：石蜡包埋机（湖北锦源医疗科技有限公司）、轮转式切片机（徕卡生物系统有限公司）、摊片机（浙江省金华市科迪仪器设备有限公司）、全自动单独滴染 HE 染色机（深圳市达科为生物工程股份有限公司）、酶标仪（杭州奥盛仪器有限公司）、实时荧光定量基因扩增仪（上海宏石医疗科技有限公司）等。

主要试剂：卵清蛋白（北京索莱宝科技有限公司，批号：No.810R052）、氢氧化铝（国药集团化学试剂有限公司，批号：20220825）、地塞米松磷酸钠注射液（合肥中龙神力动物药业有限公司，批号：120152530）、多聚甲醛固定液（广州硕谱生物科技有限公司，批号：70071800）、苏木素-伊红染色液（珠海贝索生物技术有限公司，批号：C231108）、ELISA 试剂盒（科鹿（武汉）生物科技有限责任公司，批号：33545742）、PCR 试剂盒（河南华之禹生物科技有限公司，批号：Y2030）等。

主要材料：定制大鼠固定板、一次性针灸针（0.30mm×13mm，华佗牌，苏州医疗用品厂有限公司，批号：222126）、一次性注射器（安徽康泰医疗器具有限公司，批号：20220810）、一次性静脉采血针（江西洪达医疗器械集团有限公司，批号：20230916）、一次性使用真空采血管（杭州慈平医疗器械有限公司，批号：22407005）等。

1.3 模型制备

参照邵素菊教授^[14]、华金双教授^[15]等人的方法加以改进复制慢性哮喘大鼠模型，采用腹腔注射卵蛋白（Ovalbumin, OVA）加氢氧化铝（Aluminum Hydroxide, ATH）的混悬液并给予 OVA 滴鼻激发^[16]的方法制备哮喘大鼠模型。实验开始第 1 天，空白组每只大鼠腹腔注射 0.9%氯化钠溶液 1.0mL，其他各组每只大鼠腹腔注射 10%OVA 混悬液 1.0mL（含佐剂 ATH 100mg/mL），于实验第 8 天再次注射 1 次。从实验第 15 天开始，治疗前于大鼠双侧鼻孔滴注 OVA 溶液 80 μ L（40mg/mL）激发哮喘，使大鼠出现呼吸急促、喘息、喷嚏、烦躁不安、精神萎靡等症状。空白组鼻内滴注等量的 0.9%氯化钠溶液代替 OVA 滴鼻激发。各组每次滴鼻 80 μ L，每周滴鼻 3 次，连续滴鼻 6 周。

1.4 各组干预方法

于实验第 15 天开始干预，治疗前先进行鼻内滴注激发哮喘，然后进行每组的干预，每次治疗 20min，每周治疗 3 次，连续治疗 6 周。

空白组：从实验第 15 天起，治疗前鼻内滴注生理盐水 80 μ L，与针刺组大鼠采用相同的方法进行抓取和固定，不做任何治疗。

模型组：从实验第 15 天起，治疗前鼻内滴注 OVA 溶液 80 μ L（40mg/mL），与针刺组大鼠采用相同的方法进行抓取和固定，不做任何治疗。

针刺组：从实验第 15 天起，治疗前鼻内滴注 OVA 溶液 80 μ L（40mg/mL），将大鼠抓取，放在木板所制的高台上，大鼠因恐高不会乱动，且此法可以暴露背部需要针刺的穴位，选用 0.30mm \times 13mm 一次性毫针，直刺“肺俞”（双）6mm，直刺“大椎”5mm（大椎针刺过深恐伤及延髓和椎动脉），直刺“风门”（双）6mm^[17]，均采用平补平泻法，每次留针 20min，留针期间每 10min 行针 1 次，行针方法以 200r/min 捻针共 20~30 次为行针 1 次，每周 3 次，连续 6 周。

地塞米松组：从实验第 15 天起，治疗前鼻内滴注 OVA 溶液 80 μ L（40mg/mL），随后将地塞米松磷酸钠注射液按 1mg/（kg \cdot d）（根据人鼠使用剂量换算）进行腹腔注射 1 次，每周 3 次，连续 6 周。

1.5 标本采集

在实验第 55 天，即各组大鼠末次治疗结束 24h 后，腹腔注射 10% 戊巴比妥钠（0.2mL/100g）进行麻醉，开放腹腔、暴露腹主动脉，抽取腹主动脉血 6~7mL，置于一一次性采血管中静置 1h 以上，在高速离心机内以 3000r/min 离心 30min，收集上清液（即血清），用 1.5mL EP 管分装，在 -20 $^{\circ}$ C 冰箱内储存，留待酶联免疫吸附试验（Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA）检测。

迅速打开胸腔，取大鼠右肺中叶组织，用生理盐水冲洗 2~3 次，并用滤纸吸干水分，将组织放入 4% 多聚甲醛固定液中固定 24h，石蜡包埋后切片，进行苏木精-伊红（Hematoxylin-eosinstaining, HE）染色，观察各组大鼠的肺部病变情况。

取完整左肺，用生理盐水冲洗 2~3 次，并用滤纸吸干后，放入 2mL 冻存管中，冻存管置于液氮中暂存，取材结束后放入 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存，用于实时荧光定量聚合酶链式反应（Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction, RT-PCR）检测。

1.6 肺组织病理学观察

肺组织石蜡包埋切片后进行 HE 染色，用光学显微镜观察各组大鼠肺组织炎

症细胞浸润、气道增厚等病理学改变。将石蜡切片先进行脱蜡，再分别用苏木精染液和伊红染液对细胞核和细胞质进行染色，染色后进行脱水封片，最后在显微镜下观察肺组织病理学改变。

1.7 ELISA 测定 IL-4、IL-6 在大鼠血清中的含量

采用 ELISA 法测定各组大鼠炎症相关因子 IL-4、IL-6 在血清中的表达水平。先将标准品进行稀释，按顺序进行加样和加标准品，后按照试剂盒说明书依次进行加试剂、洗涤、孵育等步骤，最终添加显色剂和终止液，并在反应完成后立即用酶标仪测定 OD 值。根据标准曲线及样本 OD 值，经过计算，得到各组样品的浓度。

1.8 RT-PCR 测定 TGF- β 1 和 Smad2 mRNA 在大鼠肺组织中的表达

采用 RT-PCR 测定各组大鼠的 TGF- β 1、Smad2 mRNA 在肺组织匀浆中的表达水平。先将肺组织进行研磨、离心、过滤、提取得到 RNA；然后按照一定比例调制反应液，将反应液与对应的 RNA 提取液混合，用实时荧光定量基因扩增仪反转录为 cDNA；接着按照一定比例调制反应液，将反应液、引物（引物序列见表 1）与反转录产物进行混合，在特定条件下进行 PCR 扩增；对 PCR 扩增产物进行实时荧光定量分析，即可检测和定量 RNA 的表达水平。

表 1 TGF- β 1、Smad2 基因定量 PCR 引物列表

基因名称	序列	引物长度 (bp)
TGF- β 1	TGACGTCACTGGAGTTGTCC	20
	GTGAGCACTGAAGCGAAAGC	20
Smad2	AAGGAACAAAAGGTCCGGGG	20
	AGACCCACCGGCTGATTTTT	20
Gapdh	CCGCATCTTCTTGTGCAGTG	20
	CGATACGGCCAAATCCGTTC	20

1.9 统计学处理

应用 SPSS21.0 软件对所得数据进行统计学分析。对于符合正态分布的数据采用方差分析，对于不符合正态分布的数据采用 H (Kruskal-Wallis test) 秩和检验。所有数据结果都用均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 来表示。以 P 值作为显著性判断依

据，即 $P < 0.05$ 表示有显著性差异， $P < 0.01$ 表示极显著性差异， $P > 0.05$ 表示无显著性差异。

2 结果

2.1 行为和体征

空白组：大鼠在实验中表现出典型的健康状态，它们呼吸平稳均匀，情绪稳定，毛色光亮顺滑，反应灵敏，饮食、二便量与频率正常，未见其他异常现象。

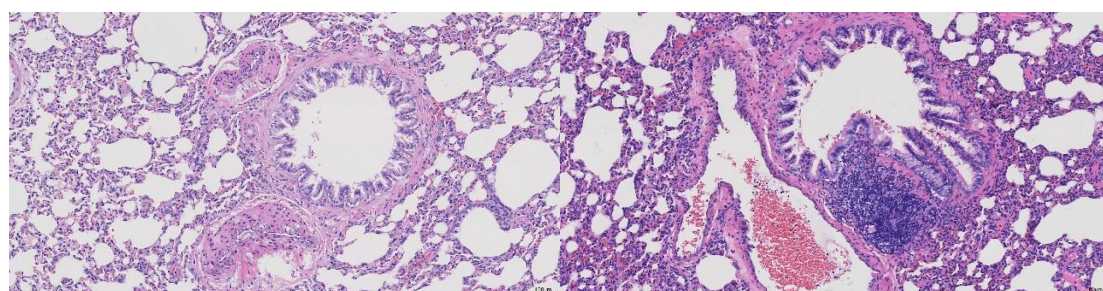
模型组：大鼠在滴鼻激发后，出现呼吸急促、喘息，喉间有哮鸣音，有抓耳挠腮、情绪不稳定等症状，经过连续激发后，发现大鼠的毛色逐渐变得干枯无光泽，反应速度减慢，饮食减少，大便失调。

针刺组：经过针刺治疗后，大鼠的状况有显著的改善，不再频繁地出现呼吸急促、喘息，也没有持续的哮鸣音，它们抓耳挠腮、情绪不稳定等症状也得到有效控制，毛色开始变得有光泽，反应较模型组灵敏，饮食较模型组增加，二便趋于正常。

地塞米松组：经过地塞米松药物治疗后，大鼠的状况有明显的改善，呼吸急促、喘息频率减少，也没有持续的哮鸣音，抓耳挠腮、情绪不稳定等症状也得到有效控制，毛色开始变得有光泽，反应逐渐灵敏，但饮食为四组中最少，体型瘦弱，大便稀。

2.2 肺组织病理学变化

空白组大鼠肺组织结构清晰有序，支气管黏膜表面未见明显水肿，支气管平滑肌未见明显增厚，炎症细胞如淋巴细胞、嗜酸性粒细胞等的浸润也相对较少。模型组大鼠肺组织结构紊乱，支气管黏膜表面可见明显水肿，支气管平滑肌出现显著增厚迹象，可以看到大量淋巴细胞和嗜酸性粒细胞等炎症细胞正在不断地浸润和增殖。针刺组和地塞米松组大鼠的肺组织结构相对规整，支气管粘膜稍有水肿，支气管平滑肌较模型组增厚较少，有少量炎症细胞浸润；地塞米松组较针刺组肺组织形态变化有所减轻。详见图 1。



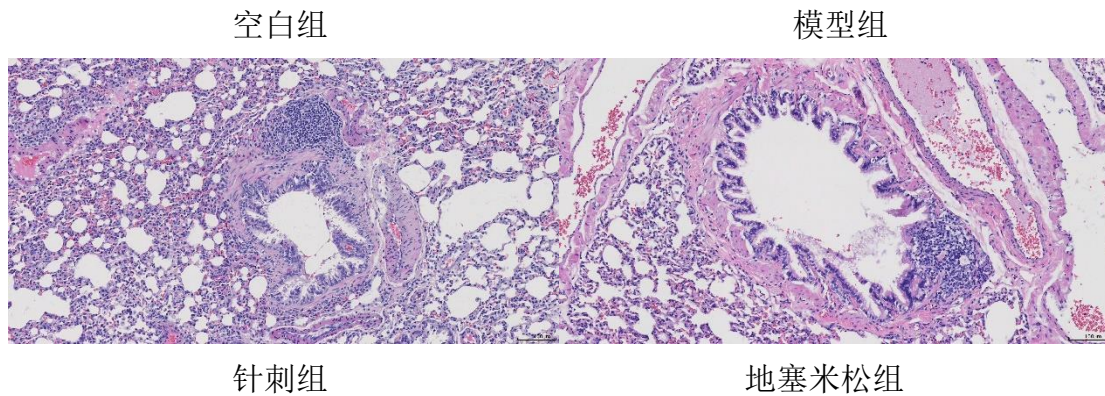


图 1 各组大鼠肺组织病理切片 (HE 染色, 200 倍)

Fig 1 Histopathologic sections of rat lungs from various groups (HE staining, 200×)

2.3 血清中 IL-4、IL-6 表达

本课题拟通过检测大鼠血清中 IL-4 和 IL-6 的表达, 以探究不同治疗方法对机体炎症反应的影响。以 IL-4 而言, 在空白组中, 发现 IL-4 的表达量显著低于其他三组; 在模型组中, IL-4 表达量相对为最高, 与空白组相比较 $P < 0.01$, 有统计学意义, 说明造模成功; 在针刺组和地塞米松组中, IL-4 表达量明显降低, 与模型组相比较 $P < 0.01$, 有统计学意义, 这种降低可能反映了针刺或地塞米松等干预措施对于减轻免疫系统的激活状态具有积极效果; 当针刺组与地塞米松组相比较时 $P > 0.05$, 它们之间的差异不具有统计学意义, 这意味着两者都对减轻病情有所帮助, 效果难分伯仲。

以 IL-6 而言, 在空白组中, 发现 IL-6 的表达量显著低于其他三组; 在模型组中, IL-6 表达量相对为最高, 与空白组相比较 $P < 0.01$, 有统计学意义, 说明造模成功; 在针刺组和地塞米松组中, IL-6 表达量明显降低, 与模型组相比较 $P < 0.01$, 有统计学意义; 针刺组与地塞米松组相比较 $P < 0.01$, 有统计学意义, 这代表在 IL-6 的表达量上来看, 地塞米松组治疗效果优于针刺组。详见表 2。

表 2 各组大鼠血清中 IL-4、IL-6 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Comparison of IL-4 and IL-6 expression levels in serum of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	IL-4	IL-6
空白组	4.35 ± 2.23	62.22 ± 4.01
模型组	16.31 ± 1.41 ¹	195.02 ± 9.51 ¹

针刺组	8.34 ± 1.99 ^{2,4}	107.19 ± 3.72 ^{2,3}
地塞米松组	6.67 ± 3.00 ²	76.24 ± 3.45 ²

注：与空白组相比，¹ $P < 0.01$ ；与模型组相比，² $P < 0.01$ ；与地塞米松组相比，³ $P < 0.01$ ，⁴ $P > 0.05$

2.4 肺组织中 TGF-β1 和 Smad2 mRNA 表达

本课题拟通过检测大鼠肺组织中 TGF-β1 和 Smad2 mRNA 的表达，以探究不同治疗方法对机体气道重塑的影响。肺组织中 TGF-β1 mRNA 在空白组中的表达量显著低于其他三组；在模型组中表达量相对最高，与空白组相比较 $P < 0.01$ ，有统计学意义，说明造模成功；在针刺组和地塞米松组中 TGF-β1 mRNA 表达量明显降低，与模型组相比较 $P < 0.01$ ，有统计学意义；针刺组与地塞米松组相比较 $P > 0.05$ ，差异无统计学意义，这意味着针刺与地塞米松在 TGF-β1 mRNA 上的治疗效果难以比较。

肺组织中 Smad2 mRNA 在空白组中的表达量显著低于其他三组；在模型组中表达量相对最高，与空白组相比较 $P < 0.01$ ，有统计学意义，说明造模成功；在针刺组和地塞米松组中 Smad2 mRNA 表达量明显降低，与模型组相比较 $P < 0.01$ ，有统计学意义；针刺组与地塞米松组相比较 $P < 0.01$ ，有统计学意义，这代表在 Smad2 mRNA 的表达量上来看，地塞米松组治疗效果优于针刺组。详见表 3。

表 3 各组大鼠肺组织中 TGF-β1、Smad2 mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Table 3 Comparison of TGF-β1 and Smad2 mRNA expression levels in lung tissues of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	TGF-β1/2 ^{-ΔΔCt}	Smad2/2 ^{-ΔΔCt}
空白组	1.00 ± 0.10	1.00 ± 0.09
模型组	3.01 ± 0.26 ¹	3.15 ± 0.15 ¹
针刺组	1.64 ± 0.08 ^{2,4}	2.10 ± 0.19 ^{2,3}
地塞米松组	1.55 ± 0.12 ²	1.77 ± 0.29 ²

注：与空白组相比，¹ $P < 0.01$ ；与模型组相比，² $P < 0.01$ ；与地塞米松组相比，³ $P < 0.01$ ，⁴ $P > 0.05$

3 讨论

哮喘属于中医学“哮病”、“喘证”范畴。中医认为，宿痰囿于肺是哮病迁延不愈、反复发作的最根本原因^[18]。针灸治疗哮喘历史悠久，疗效肯定，具有操

作简便、经济安全的特点^[10]，它可以通过调控相关免疫细胞通路及蛋白质靶点治疗哮喘^[19]，具有免疫调节作用，且与西药相比不良反应少，在临床上得到广泛应用，哮喘逐渐成为针灸科临床疾病谱中的重要病种^[20]。全国首批中医学术流派河南邵氏针灸流派创始人、国家级名老中医邵经明教授 80 余年在临床中一直采用针灸疗法治疗哮喘^[21]，他独创的“邵氏五针法”（肺俞（双）、大椎、风门（双））治疗哮喘，经多年临床实践检验及大量实验研究证实^[22]，不但在哮喘急性发作期有迅速平喘、即刻解除呼吸困难的作用，而且在提高缓解期患者的免疫机能、预防哮喘复发方面亦有显著疗效，是防治哮喘的有效处方^[23]。肺俞^[24]是足太阳膀胱经上的背俞穴，与肺脏相对应，可传输、输注肺脏精气，治疗多种肺系疾病，具有养肺调气止咳的作用，针灸肺俞穴不仅可以控制哮喘的发作，提高肺通气、改善呼吸情况，还能增强人体免疫功能；大椎^[25]属于督脉，被称为“诸阳之会”，能疏通阳气、祛邪解表、宣肺理气、平喘降逆，可减轻支气管平滑肌痉挛，降低气道阻力；风门^[26]属于足太阳膀胱经，其内应于肺，容易受到风邪侵袭，针灸该穴可散风寒、泻邪热、调肺气、止咳喘，还可预防哮喘的复发。诸穴合用^[27]，旨在宣肺平喘，扶正固本，提高机体抗病能力，降低哮喘的发作次数及严重程度，防止哮喘复发。

哮喘气道重塑的发病机制十分复杂，但目前比较公认的有两个方面^[28]，一方面是哮喘的炎症，另一方面是与重塑相关的介质。IL-4 是 T 辅助细胞（Helper T Cell, Th）在抗原或丝裂原刺激下分泌的一种糖蛋白^[29]，具有促进 Th0 向 Th2 转化的作用^[30]，而 Th2 可加速重组抗人免疫球蛋白（Immunoglobulin, Ig）E 的产生和巨噬细胞（Macrophages cell, MC）、淋巴细胞（Basophils, BAS）及嗜碱性粒细胞（Eosinophils, EOS）的生长分化和募集^[31]，可引发及维持哮喘的炎症反应，IL-4 又可以诱导 EOS、BaS 及 T 细胞的聚集，加重气道阻塞及炎症反应^[32]。IL-6 是一种具有多种生物学功能的前炎症细胞因子，可以刺激 B 细胞分化产生 IgM、信号传导因子和转录激活因子（Signal Transducer and Activator of Transcription, STAT）3，还可以激活 STAT3^[33]，故 IL-6 与哮喘病情和急性发作密切相关^[34]，在哮喘发病机制中起重要作用。TGF- β 1 作为一种促纤维化生长因子，具有抗炎和促炎双向调节作用，在气道重塑中有重要作用^[35]，激活后可诱导气道上皮细胞脱落、平滑肌细胞增生和成纤维细胞分泌细胞外基质^[36]，可以

提高基质金属蛋白酶（Matrix Metalloproteinase, MMP）-9 的表达，促进成纤维细胞和结缔组织蛋白的合成^[37]，促使气道胶原蛋白沉积，促进组织纤维化^[38]，导致黏液产生（如黏蛋白（Mucoprotein, Muc）5AC）和血管生成，是一种强有力的致纤维化因子。Smad 蛋白家族是 TGF- β 1 受体的胞内激酶底物，它将 TGF- β 1 和其受体结合所形成的信号传递到细胞核内^[39]，并引起目的基因转录^[40]，参与细胞增殖、转化、合成、分泌、凋亡的调控过程^[41]，引起支气管上皮细胞增殖化生以及平滑肌的增殖，参与 TGF- β 1 家族的部分信号调节过程^[42]，在哮喘气道重塑中发挥重要作用。

本研究结果显示，血清中 IL-4、IL-6 的表达水平，模型组较之空白组明显增多，说明 IL-4、IL-6 的含量与哮喘产生的炎症反应呈正相关；针刺组与地塞米松组较之模型组明显减少，说明经过治疗后大鼠血清中的炎症因子有所减少，炎症反应有所减轻；IL-4 针刺组与地塞米松组比较没有显著性差异，IL-6 针刺组与地塞米松组比较具有极显著性差异，说明地塞米松组较之针刺组更能够减少 IL-6 的含量，疗效更好。肺组织中 TGF- β 1、Smad2 mRNA 的表达水平，模型组较之空白组明显增多，说明 TGF- β 1、Smad2 mRNA 的含量与哮喘气道重塑反应程度呈正相关；针刺组与地塞米松组较之模型组明显减少，说明经过治疗后大鼠哮喘气道重塑反应有所减轻；TGF- β 1 mRNA 针刺组与地塞米松组比较没有显著性差异，Smad2 mRNA 针刺组与地塞米松组比较具有极显著性差异，说明地塞米松组较之针刺组更能够减少 Smad2 mRNA 的含量，疗效更好。据上可得出结论，根据“邵氏五针法”进行针刺可以治疗哮喘，减少炎症细胞浸润，抑制平滑肌增厚，减轻炎症反应，改善气道重塑，而地塞米松组在降低 IL-6 和 Smad2 mRNA 的表达水平上，较针刺组更有优势，但针刺组大鼠没有明显不良反应，地塞米松组大鼠均食欲不振、形体消瘦、大便稀溏，此为损伤脾胃的表现。本研究证实，针刺“肺俞”“大椎”“风门”可以降低血清中 IL-4、IL-6 和肺组织中 TGF- β 1、Smad2 mRNA 的表达水平，从而抑制炎症反应，改善气道重塑，为针灸防治哮喘提供了新的理论依据。

参考文献

- [1] Mims J W. Asthma: definitions and pathophysiology[J]. Int Forum Allergy Rhinol, 2015,5 Suppl 1: S2-S6.
- [2] 陈华萍,陈晓龙,胡明冬.难治性哮喘的发病机制及诊治进展[J].中华肺部疾病杂志(电

- 子版),2024,17(01):144-147.
- [3] Patadia M O, Murrill L L, Corey J. Asthma: symptoms and presentation[J]. *Otolaryngol Clin North Am*, 2014,47(1): 23-32.
- [4] Papi A, Brightling C, Pedersen S E, et al. Asthma[J]. *Lancet*, 2018,391(10122): 783-800.
- [5] 王珏,刘琪,张潇予,等.基于IL-4/JAK1/STAT6信号通路影响巨噬细胞M2极化探讨培元定喘汤治疗哮喘气道炎症的作用机制[J].*中华中医药杂志*,2024,39(08):4312-4316.
- [6] 肖鉴峰.支气管哮喘患者BALF中T淋巴细胞、TGF- β 1及IL-6的水平变化及意义[J].*检验医学与临床*,2023,20(21):3144-3147.
- [7] Hussain M, Xu C, Lu M, et al. Wnt/ β -catenin signaling links embryonic lung development and asthmatic airway remodeling[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017,1863(12): 3226-3242.
- [8] 陈秋仪,任培中,王佳美,等.加减乌梅丸颗粒对哮喘大鼠激素干预模型气道重塑及转化生长因子- β 1/Smad信号通路的影响[J].*世界中医药*,2020,15(08):1114-1119.
- [9] Feng X, Yang Y, Zheng Y, et al. Effects of catalpol on asthma by airway remodeling via inhibiting TGF- β 1 and EGF in ovalbumin-induced asthmatic mice[J]. *Am J Transl Res*, 2020,12(7): 4084-4093.
- [10] 曾婷,付勇,姜凡,等.针灸治疗哮喘的CiteSpace知识图谱可视化分析[J].*中医临床研究*,2024,16(02):118-125.
- [11] 华金双,冯昱,邵素菊,等.邵经明治疗哮喘经验浅析[J].*辽宁中医杂志*,2016,43(04):712-713.
- [12] 徐宁,邵素菊,华金双,等.针灸“肺俞”“大椎”“风门”对哮喘模型大鼠肺组织STAT6、血清IL-13表达的影响[J].*中医药信息*,2021,38(04):42-45.
- [13] 程津津,任萍萍.学习《关于善待实验动物的指导性意见》后的体会[J].*实验动物科学*,2011,28(03):78-79.
- [14] 胡晓京,邵素菊,徐宁,等.“邵氏五针法”对慢性支气管哮喘大鼠肺与大肠组织中SP、VIP蛋白表达的影响[J].*中华中医药杂志*,2023,38(01):356-360.
- [15] 华金双,李菡洁,陈放,等.针刺预处理结合磷脂酰肌醇激酶阻断剂对哮喘大鼠气道炎性反应的影响[J].*针刺研究*,2022,47(09):778-784.
- [16] 程胜,陈辉龙,王正云,等.滴鼻和雾化两种不同激发方式对小鼠支气管哮喘模型气道

- 炎症的影响[J].华中科技大学学报(医学版),2014,43(02):121-124.
- [17] 胡晓京,邵素菊,华金双,等.“邵氏五针法”配合双侧“足三里”对慢性哮喘模型大鼠肺组织中SP、VIP蛋白表达影响的研究[J].中医药信息,2021,38(12):26-30.
- [18] 赵文翰,许坚,符丽,等.支气管哮喘气道黏液高分泌从痰饮论治的探析[J].中国中医急诊,2021,30(02):282-285.
- [19] 华金双,邵素菊,王培育,等.逆针灸对过敏性哮喘大鼠血清IL-2含量及肺组织GATA-3蛋白表达的影响[J].中医研究,2020,33(05):63-67.
- [20] 乔赞,梁燕娣,卓少元,等.针刺松弛哮喘急性发作大鼠气道平滑肌的作用机制[J].中国针灸,2024,44(03):295-302.
- [21] 邢家铭,严兴科,赵中亭,等.邵经明教授“三穴五针法”治疗哮喘的理论分析(英文)[J]. Journal of Acupuncture and Tuina Science, 2017,15(02): 99-103.
- [22] 邵素菊,权春分,邵素霞,等.邵氏“五针法”治疗急性发作期哮喘的临床研究[J].中医学报,2012,27(12):1584-1586.
- [23] 张奥,严兴科,刘安国.邵氏“三穴五针法”治疗哮喘的临床研究进展[J].上海针灸杂志,2017,36(09):1142-1146.
- [24] 刘文美,刘自兵.《针灸大成》中肺俞穴临床应用浅析[J].山西中医药大学学报,2023,24(01):90-94.
- [25] 邵素菊,张晓刚.邵经明应用大椎穴临床撷萃[J].辽宁中医杂志,2016,43(07):1481-1483.
- [26] 郑洁,何竹青,邵素菊.针灸肺俞、大椎、风门对哮喘大鼠肺组织中Fas、Bcl-2表达的影响[J].中华中医药杂志,2021,36(08):4956-4959.
- [27] 华金双,冯昱,邵素菊,等.邵经明治疗哮喘经验浅析[J].辽宁中医杂志,2016,43(04):712-713.
- [28] Mims J W. Asthma: definitions and pathophysiology[J]. Int Forum Allergy Rhinol, 2015,5 Suppl 1: S2-S6.
- [29] Pelaia C, Pelaia G, Crimi C, et al. Biological Therapy of Severe Asthma with Dupilumab, a Dual Receptor Antagonist of Interleukins 4 and 13[J]. Vaccines (Basel), 2022,10(6).
- [30] 李盼盼,高诗宇,霍婧伟,等.缓哮六安煎对哮喘大鼠肺组织及Th1/Th2类细胞因子的影响[J].现代中西医结合杂志,2023,32(24):3371-3376.

- [31] 巴军凤,陈名武,朱永红,等.特应性和非特应性哮喘患儿血清总IgE、FeNO和外周血EOS的相关性研究[J].临床肺科杂志,2023,28(11):1652-1655.
- [32] 刘娟娟.肺功能、FeNO、C-ACT、IgE、Eos监测在儿童支气管哮喘控制中的作用及其相关性研究[D].河北医科大学,2023.
- [33] 郑劲松,范伟,李文礼,等.探讨MIAT通过NF-KB/IL-6/STAT3通路影响心梗后交感神经重构[J].哈尔滨医药,2024,44(05):1-6.
- [34] Tang L, Chen B, Wang B, et al. Mediation of FOXA2/IL-6/IL-6R/STAT3 signaling pathway mediates benzo[a]pyrene-induced airway epithelial mesenchymal transformation in asthma[J]. *Environ Pollut*, 2024,357: 124384.
- [35] Koćwin M, Jonakowski M, Przemęcka M, et al. The role of the TGF-SMAD signalling pathway in the etiopathogenesis of severe asthma[J]. *Pneumonol Alergol Pol*, 2016,84(5): 290-301.
- [36] Laudisi F, Stolfi C, Monteleone I, et al. TGF- β 1 signaling and Smad7 control T-cell responses in health and immune-mediated disorders[J]. *Eur J Immunol*, 2023,53(11): e2350460.
- [37] Grzela K, Litwiniuk M, Zagorska W, et al. Airway Remodeling in Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Asthma: the Role of Matrix Metalloproteinase-9[J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2016,64(1): 47-55.
- [38] Britt R J, Ruwanpathirana A, Ford M L, et al. Macrophages Orchestrate Airway Inflammation, Remodeling, and Resolution in Asthma[J]. *Int J Mol Sci*, 2023,24(13).
- [39] Gaarenstroom T, Hill C S. TGF- β signaling to chromatin: how Smads regulate transcription during self-renewal and differentiation[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2014,32: 107-118.
- [40] Derynck R, Budi E H. Specificity, versatility, and control of TGF- β family signaling[J]. *Sci Signal*, 2019,12(570).
- [41] Hata A, Chen Y G. TGF- β Signaling from Receptors to Smads[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2016,8(9).
- [42] Jiang Y, Fischbach S, Xiao X. The Role of the TGF β Receptor Signaling Pathway in Adult Beta Cell Proliferation[J]. *Int J Mol Sci*, 2018,19(10).