

益气活血法治疗肺纤维化的研究进展

杜全宇 王飞

【摘要】 肺纤维化是呼吸系统的难治性疾病,寻找有效的治疗方法是目前研究的热点。本文回顾了近年中医益气活血法对肺纤维化的治疗进展,分析显示益气活血法对气虚血瘀型肺纤维化的治疗有积极效果。临床研究表明益气活血法可有效改善肺纤维化患者的临床症状,但对预后、生存率和生存时间无明显影响。基础研究表明益气活血法可通过抑制肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素、转化生长因子- β 1 等细胞因子的表达,从多靶点干预肺纤维化的进程。

【关键词】 肺纤维化; 气虚血瘀; 临床研究; 实验研究

【中图分类号】 R259 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2016.01.037

Progress of replenishing *qi* and activating blood treatment for pulmonary fibrosis DU Quan-yu, WANG Fei. Clinical Medical College of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611130, China

Corresponding author: WANG Fei, E-mail: 229811369@qq.com

【Abstract】 Pulmonary fibrosis (PF) is difficult to treat in respiratory system diseases, thus an effective treatment for PF has been a heated research area these years. This paper reviewed the recent studies of PF by applying replenishing *qi* and activating blood treatment. It showed that this treatment was effective in treating PF of *qi* deficiency and blood stasis pattern. Clinical researches also revealed this treatment could ameliorate symptoms, however, there was no significant effect on prognosis, survival rates and survival times. The basic researches displayed that the treatment could decrease the expression of cell factors including TNF- α , IL, TGF- β 1 etcetera, therefore, it interfered the progress of PF from multiple targets.

【Key words】 Pulmonary fibrosis; *Qi* deficiency and blood stasis; Clinic studies; Experimental studies

肺纤维化(pulmonary fibrosis, PF)属纤维增殖性疾病,临床上多种弥漫性间质性肺疾病在晚期均可发展为肺纤维化,以特发性肺纤维化较多见。特发性肺纤维化的主要病理改变在早期表现为弥漫性肺泡炎,后期为大量成纤维细胞病理性增殖转型和细胞外基质的异常积聚^[1]。其病因和发病机制尚不十分清楚,诊断后中位生存期仅为 3~5 年,西医治疗以糖皮质激素联合细胞毒性药物为主,治疗效果不理想且不良反应明显。在中医中,肺纤维化

多归属于“肺痿”“肺痹”“肺胀”等疾病范畴,病位在肺、肾,属本虚标实之证,由外邪、痰浊、瘀血、热毒等致病因素,引起肺肾亏虚、气虚血瘀、痰热互结、痹阻肺络等病机改变^[2]。在肺纤维化的发展过程中,气虚血瘀是其重点病机,使用益气活血法对肺纤维化进行实验研究取得了较好的效果,现将近年研究结果综述如下。

1 临床研究

1.1 对临床治疗效果的研究

益气活血法在改善气虚血瘀型肺纤维化患者的症状、体征、肺功能和影像学表现方面具有较好的效果,临床治疗有效率较单纯使用西药高,并且无明显的不良反应。陈宝华^[3]使用益气活血方剂补阳还五汤对 15 例慢性阻塞性肺疾病 II~III 级稳定期合并有肺间质纤维化、中医辨证属气虚血

基金项目:四川省教育厅自然科学基金(15ZB0438)

作者单位:611130 成都中医药大学临床医学院[杜全宇(博士研究生)、王飞]

作者简介:杜全宇(1983-),女,2013 级在读博士研究生,讲师。研究方向:中医药防治老年病与呼吸病。E-mail:14238028@qq.com

通讯作者:王飞(1963-),博士,教授,博士生导师。研究方向:中医药防治老年病与呼吸病。E-mail:229811369@qq.com

瘀证的患者进行治疗,并配合沙美特罗/丙酸氟替卡松粉吸入,3 个月后进行临床-影像-生理评分,结果显示患者的临床症状和肺功能均有一定的改善。辛洪涛等^[4]使用黄芪、川芎等益气活血中药治疗肺纤维化患者 18 例,在治疗过程中逐渐减少激素的用量,连续治疗 6 月后观察临床症状和肺功能的缓解情况,并进行呼吸困难评分和 CT 评分。结果显示益气活血中药能明显改善患者胸闷气短和吸气性爆裂音等症状和体征,能改善肺功能和高分辨率 CT 的影像磨玻璃样表现,且治疗时间越长,改善越明显。张建等^[5]运用益气化痰通络中药——肺纤康颗粒治疗特发性肺纤维化 24 例的观察结果显示,配合除激素外的其他西医基础治疗,益气活血中药治疗组肺活量、动脉血氧饱和度、高分辨率 CT 均有明显改善,总有效率为 83.33 %。

肺纤维化是呼吸系统的难治性疾病,非临床常见病,各研究中纳入病例均较少,治疗时间较短,缺乏大样本、长疗程和多中心的对比资料,在观察指标的选择上缺乏组织病理学依据。在药物的选择上,以益气活血的中药为主,配有西药的基础治疗,体现更多的是中西医结合治疗的特点。

1.2 对生存质量和预后的研究

益气活血法对改善特发性肺纤维化气虚血瘀证患者生存质量有较好的效果,李辉等^[6]在 30 例 IPF 患者的生存质量观察中,采用自身前后对照的方法,给予益气活血通络汤口服,每天 1 剂,分 2 次服,连续治疗 6 个月,以呼吸疾病问卷作为测评工具,观察患者生存质量的改善情况。结果显示治疗 6 个月时呼吸疾病问卷中呼吸症状评分、活动受限评分、总分积分均有所降低,差异具有统计学意义,但疾病影响评分在治疗前后无显著性差异。益气活血法虽然能改善特发性肺纤维化气虚血瘀证患者生存质量,但不能明显延长患者生存时间和生存率,对疾病预后无显著效果。疏欣杨等^[7]对肺痿冲剂和金水宝胶囊治疗特发性肺纤维化患者的生存率进行了观察,治疗组和对照组各 10 例,分别服用肺痿冲剂和金水宝胶囊治疗 6 月后每 3 至 6 个月随访 1 次,比较两组的生存时间和生存率。结果显示,治疗组死亡 1 例,失访 2 例,生存 7 例,对照组死亡 1 例,失访 2 例,生存 8 例,两组平均生存时间为 25 个月左右。两组生存率和生存时间比较,差异不具有统计学意义,这与西药糖皮质激素和细胞毒类药物不能改变特发性肺纤维化患者预后的研究结果相同^[8]。

2 实验研究

2.1 病理形态学研究

病理学形态改变是评价肺纤维程度的重要指标,大量的研究显示,益气活血中药能抑制气虚血瘀型肺纤维化大鼠早期的肺泡炎和中后期的肺纤维化,目前多采用苏木精-伊红染色和胶原纤维染色法(Masson 染色)对肺组织进行检测,通过分级评分来评价肺泡炎和纤维化的程度。

补阳还五汤灌胃给药干预肺纤维化大鼠的实验结果显示,益气活血中药能改善博来霉素所致纤维化大鼠的食量下降、活动减少、体重下降等一般情况。与模型组及阳性对照组比较,补阳还五汤能降低博来霉素所致纤维化大鼠已升高的肺指数($P < 0.01$),以补阳还五汤中剂量组作用较明显,说明补阳还五汤能减轻由于肺部急性炎症、肺水肿、胶原纤维沉积等因素所致的肺实质质量的增加。通过肺组织病理形态学定量分析结果显示,与模型组相比,补阳还五汤能增加病理切片中的正常肺组织面积,减少炎性细胞浸润面积以及胶原纤维面积所占的比例($P < 0.05$),以补阳还五汤中剂量组作用较明显^[9]。

益气活血方水煎剂治疗肺纤维化大鼠的实验结果显示,经益气活血中药或地塞米松治疗后,由博来霉素气管注射所造成的肺泡炎和纤维化程度均减轻,具体表现为药物组与模型组对比肺组织苏木精-伊红染色所示的肺泡间隔增宽、间质水肿、炎性细胞浸润增多、肺间质及肺泡腔内大量的炎细胞浸润等肺泡炎的病理表现减轻。Masson 染色显示,胶原纤维明显增多等典型的肺间质纤维化病理变化减轻^[10]。

2.2 对胶原蛋白的影响研究

肺纤维化发展至中后期,病理核心表现为肺成纤维细胞异常增殖和细胞外基质沉积,逐渐取代正常的肺组织,导致肺部结构的异常重塑。细胞外基质的主要成分为胶原蛋白(约占 70%),除此之外还包括弹性蛋白、蛋白多糖及糖黏连蛋白等。羟脯氨酸主要存在于胶原蛋白中,在其他蛋白中含量极少,通过对羟脯氨酸的检测能较直接地反映肺纤维化中胶原代谢情况。运用益气活血中药补阳还五汤治疗肺纤维化大鼠后,大鼠肺组织中羟脯氨酸含量明显减少,在第 28 天效果最显著($P < 0.05$),提示益气活血中药可能通过减少纤维化大鼠肺组织中羟脯氨酸的含量从而减轻纤维化程度^[11]。

翟华强等^[12]使用苦味酸天狼猩红偏光法染色观察肺纤维化大鼠肺组织中 I、Ⅲ胶原蛋白的动态变化,结果显示益气活血中药干预治疗后能明显减轻模型大鼠的肺纤维化程度及肺间质中 I、Ⅲ胶原蛋白的含量,明显改善在肺间质周围的胶原分型比例;提示益气活血中药能通过抑制 I 型胶原和保持 I 型和Ⅲ型胶原的比率而发挥抗肺纤维化作用。

Ⅲ型前胶原氨基端肽、Ⅳ型前胶原氨基端肽、血清透明质酸、层粘连蛋白是细胞外基质的主要成分,是重要的血清纤维化指标。补阳还五汤能降低肺纤维化模型大鼠血清中Ⅲ型前胶原氨基端肽、Ⅳ型前胶原氨基端肽、血清透明质酸、层粘连蛋白等的含量($P<0.01$),以补阳还五汤中剂量组在第 14 天和 28 天效果较好($P<0.05$),提示益气活血中药能抑制肺纤维化大鼠血清纤维化指标的增长^[13]。

2.3 对细胞因子的影响研究

已有大量研究显示,转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素、血小板源性生长因子、结缔组织生长因子、 γ -干扰素等细胞因子在肺纤维化的发生发展中都起到重要作用。在参与肺纤维化的细胞因子网络中,TGF- β 是肺纤维化细胞因子中研究最深入也是最关键的促纤维化因子,也是细胞外基质生成和沉积最重要的细胞因子之一。

王飞等^[14]使用益气活血中药干预肺纤维化大鼠,结果表明益气活血中药能降低大鼠支气管肺泡灌洗液中肿瘤坏死因子 α 的含量,在第 7 天、14 天效果显著($P<0.05$)。与模型组相比,益气活血中药组在第 7 天、28 天支气管肺泡灌洗液中 TGF- β 1 明显降低($P<0.05$)。与模型组相比益气活血中药能降低肺纤维化大鼠 TGF- β 1 信使核糖核酸的表达,在第 7 天、14 天效果明显($P<0.05$)^[15]。白文等^[16]使用益气活血的化纤汤干预肺纤维化大鼠,结果显示化纤汤能降低肺纤维化大鼠肺泡灌洗液中 IL-4 的含量,升高 IFN- γ 的含量,从而调整细胞因子的平衡。益气活血中药干预放射性损伤大鼠血清内皮素、肿瘤坏死因子 α ^[17] 和 γ -干扰素^[18] 的研究结果中显示,益气活血中药能够降低大鼠血清内皮素和肿瘤坏死因子 α 并升高 γ -干扰素的水平,通过调控这些细胞因子的表达来抑制放射性肺损伤。

2.4 对细胞内信号转导通路的影响研究

肺纤维化的发病机制复杂,目前尚未研究清楚,有研究结果显示肺纤维化的发生与信号转导及

转录活化蛋白、丝裂原活化蛋白激酶/细胞外调节蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases/extracellular regulated protein kinases, MAPK/ERK) 信号转导途径以及 TGF- β 信号通路和 Smad 蛋白 (drosophila mothers against decapentaplegic protein, Smads) 家族关系密切^[19]。

TGF- β 1 与其受体 I 和 II、下游调节因子 Smads 蛋白、辅助因子及辅助调节的靶基因共同组成一个完整的 TGF- β 1/Smad 信号传导通路,对成纤维细胞激活、细胞外基质的产生影响极大,在肺纤维化的形成过程中发挥重要作用。益气活血中药能够有效抑制 TGF- β 1/Smad 信号通路中发挥效应的 I 型胶原、TGF- β 1 受体 I、TGF- β 1 受体 II、TGF- β 1、Smad3 等因子的高表达,同时促进该通路中发挥负性调控效应的 Smad7 表达的增加,以补阳还五汤中、低剂量组效果较明显($P<0.05$),证明益气活血中药能够发挥较好的抗肺纤维化作用与其调控 TGF- β 1/Smad 信号通路有关。MAPK 信号转导通路存在于大多数细胞内,参与调控细胞骨架的稳定性,影响骨架相关细胞活动,如减数分裂、细胞迁移、细胞黏附、细胞分化等^[20]。MAPK 有多条并行的信号转导通路,ERK 是迄今研究最为透彻的一条 MAPK 信号转导通路,MAPK/ERK 通路是 TGF- β 1 起细胞调控作用的重要通路之一,在成纤维细胞的增殖、凋亡中发挥着重要的作用^[21]。补阳还五汤可以有效抑制病肺组织 TGF- β 1、ERK1/2、磷酸化-ERK 的表达,提示补阳还五汤能够较好的调控肺纤维化中 TGF- β 1 介导的 ERK 通路,进而抑制其产生的促增殖作用^[22]。养肺活血方可降低博来霉素诱导肺纤维化大鼠肺组织 ERK1/2 和核因子 κ B 的表达^[23]。

2.5 对大鼠肺成纤维细胞的影响研究

损伤异常修复学说是肺纤维化发病机制的重要学说,该学说认为在肺纤维化过程中,肺泡上皮细胞发生表型改变、凋亡增加、增殖失调、再生和分化受损。在一种特殊的微环境下,肺间质细胞获得一种收缩的、活化的肌成纤维细胞表型^[24]。肌成纤维细胞分泌大量的细胞外基质和细胞因子,形成纤维化的同时又可导致异常的肺泡上皮细胞再形成,造成恶性循环。李水芹^[25]用肺纤维化大鼠的肺成纤维细胞模型为评价载体,取对数生长期的细胞,使用益气活血中药含药血清刺激后,细胞所表达的 TGF- β 1 减少,细胞总蛋白中 Smad3、Smad4、ERK1/2

的表达均明显减少,以含药血清 20% 浓度组效果显著($P<0.05$),磷酸化-ERK 呈下降趋势,提示益气活血中药可能以 TGF- β 1/Smad/ERK 信号通路为主要作用靶点延缓纤维化进程或减轻纤维化程度。

3 小结

上述研究表明,益气活血中药对肺纤维化患者有较好的干预作用,能改善气虚血瘀型肺纤维化患者的临床症状,但对疾病的预后无明显的积极效果,对生存率和生存时间没有明显的提高。益气活血法治疗肺纤维化进行了大量的实验研究,包括动物的体内实验和细胞的体外实验。在动物体内实验方面,实验动物多选用大鼠,造模方法多采用一次性气管内滴注博来霉素的经典方法,阳性药物多选用激素类药物如强的松等,检测标本选用肺组织、支气管肺泡灌洗液、血清等。

益气活血中药可通过多靶点干预肺纤维化的进程,其作用机制可能与抑制炎症因子肿瘤坏死因子 α 和部分白细胞介素的表达,从而减轻肺纤维化大鼠早期的肺肺炎程度,抑制致纤维化的重要细胞因子 TGF- β 1 的表达,阻断 TGF- β 1/Smad/ERK1/2 信号通路,抑制成纤维细胞增殖有关。通过降低肺纤维化模型大鼠肺组织中羟脯氨酸和 I 型胶原的含量,降低血清中 III 型前胶原氨基端肽、IV 型前胶原氨基端肽、血清透明质酸、层黏连蛋白的含量,从而抑制成纤维细胞的增殖和转型,减轻细胞外基质的沉积,达到干预肺纤维化进程和减轻肺纤维化程度的作用。在实验结果中观察到,配合或单独使用益气活血中药干预肺纤维化,作用效果较单用激素类西药效果好且不良反应少,提示中药的多靶点治疗作用对肺纤维化的治疗有较好的前景,但在以后的研究中应加大样本量并进行多中心研究,以进一步揭示益气活血中药干预肺纤维化的具体作用机制,从而促进肺纤维化治疗药物的研制。

参 考 文 献

- [1] Katzenstein AL, Myers JL. Idiopathic pulmonary fibrosis. clinical relevance of pathologic classification[J]. Am J Pathol, 2004, 164(6):1989-2001.
- [2] 刘东振,邓红园. 肺间质纤维化中医研究进展[J]. 四川中医, 2013, 31(6):151-153.
- [3] 陈宝华. 补阳还五汤治疗慢性阻塞性肺疾病合并肺间质纤维化的临床观察[D]. 成都:成都中医药大学, 2013.
- [4] 辛洪涛,周晓辉,柳澄,等. 益气活血法治疗肺间质纤维化临床研究[J]. 山东医药, 2014, 41(24):9-11.
- [5] 张建,冯美,张雨星,等. 肺纤康颗粒治疗特发性肺纤维化 24 例[J]. 湖南中医杂志, 2013, 29(3):14-16.
- [6] 李辉,李国勤,刘俊玲,等. 益气活血通络法对特发性肺纤维化患者生存质量的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2010, 33(3):214-216.
- [7] 疏欣杨,李颖,贾明月,等. 肺痿冲剂方治疗特发性肺纤维化预后分析[J]. 中医杂志, 2013, 54(11):964-965.
- [8] 李振华,彭守春,康健,等. 特发性肺纤维化患者死亡预后因素的回顾性队列研究[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2010, 33(12):891.
- [9] 杨晗,王飞,王全林,等. 补阳还五汤对博来霉素所致肺纤维化大鼠肺指数及肺组织病理的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(22):142-146.
- [10] 郭海,龚婕宁,魏凯峰,等. 养肺活血方对博来霉素诱发大鼠肺间质纤维化的干预作用[J]. 辽宁中医药大学学报, 2009, 11(9):191-194.
- [11] 曹国平,王飞,陈平. 补阳还五汤对博来霉素诱导大鼠肺间质纤维化过程中羟脯氨酸含量的影响[J]. 甘肃中医, 2007, 20(2):51-53.
- [12] 翟华强,杨毅,姜楠. 益气活血法对肺纤维化大鼠胶原动态变化影响[J]. 中国公共卫生, 2008, 24(7):892-893.
- [13] 杨晗,王飞,王全林. 补阳还五汤对肺纤维化大鼠血清 III 型前胶原氨基端肽和 IV 型前胶原氨基端肽含量的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2014, 21(10):64-66.
- [14] 王飞,陈平,曹国平,等. 补阳还五汤对肺纤维化大鼠肺泡巨噬细胞肿瘤坏死因子的影响[J]. 中药药理与临床, 2005, 21(3):5-7.
- [15] 王飞,陈平,曹国平,等. 补阳还五汤对博来霉素诱导大鼠肺间质纤维化过程中 TGF- β 1 含量的影响[J]. 四川中医, 2005, 23(9):31-32.
- [16] 白文,王少杰,王春玲,等. 益气活血法对博来霉素致肺纤维化小鼠 IFN- γ , IL-4 的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2007, 30(6):401-405, 435.
- [17] 刘欣,王炳胜,刘秀芳,等. 益气活血方对放射性肺损伤大鼠内皮素-1, γ -干扰素表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(24):205-208.
- [18] 李凤玉,王炳胜,刘秀芳,等. 益气活血中药对放射性肺损伤大鼠血清 ET-1 和 TNF- α 的影响[J]. 华北国防医药, 2009, 21(1):6-8.
- [19] 徐慧蓉,马小兵,王献华. 肺纤维化相关因子研究进展[J]. 现代预防医学, 2011, 38(10):1953-1955.
- [20] 孙瑜,徐立红. MAPK 信号通路对细胞骨架调控作用的研究进展[J]. 癌变·畸变·突变, 2013, 25(3):244-246.
- [21] 徐芳,徐启勇,叶燕青. ERK 信号通路在肺纤维化大鼠中的研究[J]. 武汉大学学报(医学版), 2005, 26(3):322-325.
- [22] 杨晗. 基于 TGF- β /Smad/ERK 信号转导通路的补阳还五汤拮抗肺纤维化机制研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2013.
- [23] 龚婕宁,郭海,魏凯峰,等. 养肺活血方对肺纤维化大鼠细胞外信号调节激酶 1/2 和核因子 κ B 信号通路的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 16(11):21-22.
- [24] Horowitz JC, Thannickal VJ. Idiopathic pulmonary fibrosis: new concepts in pathogenesis and implications for drug therapy[J]. Treat Respir Med, 2006, 5(5):325-42.
- [25] 李水芹. 补阳还五汤大鼠含药血清对肺成纤维细胞 TGF- β 1/Smad/ERK 信号通路调控研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2014.

(收稿日期: 2015-05-26)

(本文编辑: 韩虹娟)