

# 小青龙汤改良食疗方对幼龄哮喘大鼠肺通气功能及免疫平衡的影响

郭芳阳<sup>1,2</sup>, 赵子玉<sup>1</sup>, 肖永焕<sup>3</sup>, 何媛<sup>3</sup>, 石强<sup>3</sup>, 谢连华<sup>1</sup>, 刘雨濛<sup>1</sup>, 聂鹤云<sup>1</sup>, 顾楠<sup>1</sup>, 敖梅英<sup>1\*</sup>, 刘潜<sup>1,2\*</sup>

(1. 江西中医药大学中医学院, 中西医结合一级学科, 中西医结合儿童健康研究院, 江西省血管瘤中医药防治重点实验室, 江西南昌 330004; 2. 赣南医科大学第一附属医院, 江西省脉管性疾病临床研究中心, 江西赣州 341001; 3. 江西中医药大学附属医院, 江西南昌 330000)

**摘要:** 目的 探讨小青龙汤改良食疗方对幼龄哮喘大鼠肺通气功能及免疫平衡的影响。方法 将2周龄SD大鼠随机分为空白组、模型组、孟鲁司特钠组(0.4 mg/kg)、食疗方组(14.7 g/kg)及食疗方+孟鲁司特钠组(14.7 g/kg+0.4 mg/kg)。空白组给予生理盐水,其余各组腹腔注射1 mg/mL卵清蛋白并雾化吸入1%卵清蛋白进行造模。造模后,给药组给予相应剂量药物,模型组给予等体积生理盐水。通过支气管激发实验评价肺通气功能,HE染色观察肺组织和支气管病理形态,瑞氏-姬姆萨染色法检测支气管肺泡灌洗液(BALF)嗜酸性粒细胞数量,流式细胞术检测BALF中Treg/Th17比值,ELISA法检测BALF中IL-10、IL-17、TGF- $\beta$ 水平,16S rDNA高通量测序检测肠道微生物水平。**结果** 与模型组比较,食疗方组及食疗方+孟鲁司特钠组肺通气功能指标、嗜酸性粒细胞计数、HE评分及Th17、IL-17、TGF- $\beta$ 水平均降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),Treg、IL-10水平升高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。食疗方组的肠道菌群多样性与丰度发生改变,拟杆菌门相对丰度升高( $P<0.05$ ),特异菌群Firmicutes、Blautia、Prevotell相对丰度升高,Negativicutes、Acidaminococcales、Acidaminococcaceae、Phascolarctobacterium、Prevotellaceae相对丰度降低;Spearman相关性分析显示,Firmicutes与Treg、IL-10呈正相关,与Th17、IL-17呈负相关。**结论** 小青龙汤改良食疗方能有效改善肺通气功能,抑制气管、支气管、肺炎炎症浸润,减少嗜酸性粒细胞数目,提升Treg/Th17比值调节免疫平衡,而免疫平衡调整可能与特异菌群Firmicutes相对丰度增加有关。

**关键词:** 小青龙汤改良食疗方; 儿童哮喘; 肺通气功能; 免疫平衡; 肠道菌群

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)09-3107-09

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2025.09.045

哮喘是一种慢性异质性疾病,易反复发作,治疗周期长。第三次中国城市儿童哮喘流行病学调查显示,哮喘患儿有13 992例<sup>[1]</sup>,且患病人数呈上升趋势,是严峻的公共卫生问题<sup>[2-4]</sup>。西医治疗儿童哮喘往往采用雾化吸入糖皮质激素,而长期使用糖皮质激素会导致影响儿童生长发育等不良反应,且雾化时活动受限、汤药口感差等会导致患者依从性下降<sup>[5]</sup>。寻求一种安全、有效、方便、口感佳的替代措施成为本领域研究的着力点,针对类似另外一类疾病慢性胃肠功能障碍,课题组参与开发了猴姑米稀药食同源食疗产品,上市后临床评价安全、有效、口感好<sup>[6-7]</sup>。这一经历为研究儿童哮喘食疗方探索奠定了坚实的基础。

小青龙汤作为治疗哮喘的经方,被广泛用于临床儿童

寒证哮喘<sup>[8-9]</sup>。课题组前期研究主要聚焦小青龙汤防治儿童哮喘的临床研究报道,基于专家论证法,改良获得小青龙汤改良食疗方<sup>[10-11]</sup>。本研究通过建立幼龄鼠哮喘模型,揭示小青龙汤改良食疗方对哮喘儿童肺呼吸功能的改善作用,并基于免疫平衡理论探索其机制,为食疗产品开发提供参考。

## 1 材料

1.1 动物 SPF级幼龄健康雄性SD大鼠60只,2周龄,体质量30~40 g,购买并饲养于江西中医药大学实验动物科技中心[实验动物生产许可证号SCXK(赣)2023-0001,实验动物使用许可证号SYXK(赣)2022-0002],恒温恒湿环境,给予普通饲料,自由饮水。本实验经江西中医药

收稿日期: 2024-12-26

基金项目: 江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ2200916); 全国大学生创新创业训练计划(S202310412060); 江西中医药大学校级教改项目(2022jzyx-2); 江西中医药大学科研培育项目(2023ZDYP001); 江西中医药大学研究生创新专项资金(JXYC23S07)

作者简介: 郭芳阳(1997—),男,博士生,从事中西医结合儿科研究。Tel: 13879714074, E-mail: fangyangguo@qq.com

\*通信作者: 敖梅英(1982—),女,教授,硕士生导师,研究方向为中西医结合防治儿童疾病。Tel: (0791) 87118012, E-mail: 15870687101@163.com

刘潜(1971—),男,教授,博士生导师,研究方向为中西医结合防治儿童疾病。Tel: (0791) 87114554, E-mail: 20211008@jxutcm.edu.cn

大学实验动物科技中心伦理审查委员会批准（伦理批号 JZLLSC20250007）。

1.2 药物与试剂 紫苏叶、白果仁、干姜、百合、桃仁、苏子、陈皮、肉桂、沙棘（批号 230227、230217、230202、220915、230421、230502、230221、230328、230922）购自江西江中中药饮片有限公司；葱白、黄芥子（批号 241003、230502）购自安徽华医堂药业股份有限公司，以上药材均被鉴定为正品。孟鲁司特钠咀嚼片 [欧加隆（上海）医药科技有限公司，批号 W030666]。卵清蛋白粉（OVA，美国 Sigma 公司，批号 A5503）；HE 染液套装（合肥白鲨生物科技有限公司，批号 BL700B）；瑞氏-姬姆萨复合溶液（北京索莱宝科技有限公司，批号 G1020）；氯化乙酰甲基胆碱（Mch，上海麦克林生化科技有限公司，批号 M838535）；FITC Anti-Rat CD3、APC Anti-Rat CD4（美国赛默飞世尔科技公司，批号 E-AB-F1228C、E-AB-F1105E）；FOXP3 Brilliant Violet 421、IL-17A Brilliant Violet 650、CD25 PERCP-EF710（美国 eBioscience 公司，批号 404-5773-80、416-7177-80、46-0390-80）；Fixation/Permeabilization Kit、Purified Mouse Anti-Rat CD32（美国 BD 公司，批号 554714、D34-485）。

1.3 仪器 流式细胞检测仪、低温高速离心机（美国贝克曼库尔特有限公司）；小动物全身体积描记系统（上海塔望智能科技有限公司）；正置荧光显微镜、石蜡包埋机、冷冻台、石蜡切片机（德国徕卡公司）；酶标检测仪（美国 PerkinElmer 公司）。

## 2 方法

2.1 药品制备 按食疗方组方剂量取饮片紫苏叶、白果仁、干姜、百合、桃仁、葱白、苏子、黄芥子、陈皮、肉桂、沙棘，加 500 mL 蒸馏水，常温浸泡 30 min，入砂锅大火煮沸后转小火煎煮约 50 min，过滤；药渣加 400 mL 蒸馏水，大火煮沸后转小火煎煮约 50 min，过滤，合并药液，60 ℃ 旋转蒸发浓缩至约 85 mL，即得 1 g/mL 食疗方药液。取 1 片（4 mg）孟鲁司特钠片，加 50 mL 蒸馏水，溶解，即得 0.08 mg/mL 孟鲁司特钠混悬液。

2.2 分组、造模与给药 将 60 只大鼠适应性饲养后，采用随机数字表法分为空白组、模型组、孟鲁司特钠组（0.4 mg/kg）、食疗方组（14.7 g/kg）、食疗方+孟鲁司特钠组（14.7 g/kg+0.4 mg/kg），每组 12 只。食疗方给药剂量根据人和动物体表面积等效换算原则<sup>[12]</sup>，由儿童给药剂量换算。参考文献 [13-15] 造模，除空白组外，其余各组第 1、8 天腹腔注射 1 mL 1 mg/mL OVA 致敏液；第 15 天在雾化箱中通过雾化器开始 1% OVA 激发液雾化激发，体积流量 3 mL/min，每只 30 min/次，隔天 1 次，持续雾化 2 周；第 28 天评估模型是否构建成功。随后，给药组灌胃给予相应剂量药物，空白组和模型组灌胃给予等体积生理盐水，持续 2 周。

2.3 哮喘模型构建成功的判定标准 （1）一般情况：大鼠出现咳嗽痰鸣、鼻翼煽动、醒鼻流嚏、喉中闻及哮鸣音

即认为出现哮喘一般症状；（2）肺功能指标检测：使用小动物全身体积描记系统检测实验鼠呼吸功能指标，若出现哮喘呼气功能受限即认为出现哮喘气道缩窄症状。

2.4 样本预处理与采集 采集样本前，使用小动物全身体积描记系统检测呼吸功能指标；吸入异氟烷 4 min 麻醉大鼠，腹主动脉取血；结扎右侧肺组织，气管插管灌洗获得左侧支气管肺泡灌洗液（BALF）；生理盐水灌洗血管组织，摘取右肺组织，置于 4% 多聚甲醛溶液中固定。

2.5 支气管激发实验评估肺通气功能 分别采用 0、3.125、6.25、12.5、25 mg/mL 的氯化乙酰甲基胆碱溶液雾化激发大鼠，诱导气道高反应性，然后使用小动物全身体积描记系统检测呼气时间（TE）、呼出 50% 气量时对应的呼气流速（EF50）、最大呼气流速（PEF）、气道阻力（Penh），评估肺通气功能。

2.6 HE 染色观察肺组织病理形态 固定后的肺组织经流水洗涤 12 h 后，依次经梯度乙醇和二甲苯脱水透蜡处理，石蜡包埋、切片，HE 染液染色，封片，于显微镜下观察，并记录 HE 评分。

2.7 瑞氏-姬姆萨染色观察 BALF 中嗜酸性粒细胞 BALF 离心后弃上清，沉淀加入 1 mL PBS 缓冲液吹打，重悬细胞。取 70 μL 细胞悬液涂片，滴加瑞氏-姬姆萨染液染色，于显微镜下以每张涂片计数 200 个细胞进行分析计数。

2.8 流式细胞术检测 BALF 中 Treg/Th17 比值 BALF 中细胞沉淀经 PBS 洗涤，加入 Fc Block（Purified Mouse Anti-Rat CD32）4 ℃ 孵育 5 min，然后依次加入荧光抗体 CD3-FITC、CD4-APC、CD25-PERCP-EF710 4 ℃ 避光孵育 30 min，Fixation/Permeabilization Kit 固定破膜处理 40 min，加入核内荧光抗体 FOXP3 Brilliant Violet 421 4 ℃ 孵育 40 min，离心后加细胞染色缓冲液重悬，70 μm 细胞过滤器过滤后上机检测。

2.9 ELISA 法检测 BALF 中炎症因子水平 取 BALF 适量，离心，取上清液，按试剂盒说明书步骤检测炎症因子 IL-10、IL-17、TGF-β 水平。

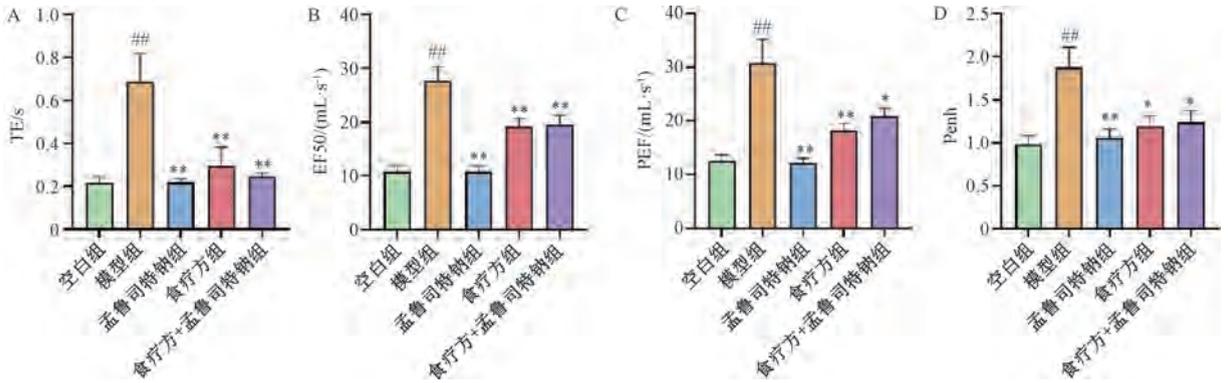
2.10 16S rDNA 高通量测序分析肠道菌群 各组随机抽取 6 只大鼠，取盲肠内容物，提取基因组 DNA，1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA，进行 PCR 扩增、荧光定量，通过 Illumina 平台高通量测序。数据根据 overlap 关系拼接，对序列质量进行质控和过滤，区分样本后进行种下单元（OTU）聚类分析和物种分类学分析，基于 OTU 聚类分析结果，进行多样性指数分析；基于分类学信息，在各分类水平上分析群落结构。最后在上述分析的基础上，对多样本的群落组成和系统发育信息进行 Spearman 相关性分析和检验。测序服务委托上海美吉生物医药科技有限公司完成。

2.11 统计学分析 通过 SPSS Statistics 26.0 软件进行处理，采用 GraphPad Prism 9.0 和 R 3.3.1 软件制作图表。计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示，组间比较采用单因素方差分析。P < 0.05 表示差异具有统计学意义。

### 3 结果

3.1 小青龙汤改良食疗方对幼龄哮喘大鼠肺通气功能的影响 由图1可知,与空白组比较,模型组大鼠肺通气功能窘迫,TE、EF50、PEF、Penh指标均升高( $P < 0.01$ ),符合哮喘模型呼气困难症状;与模型组比较,各给药组TE、

EF50、PEF、Penh均降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),肺通气功能改善。阳性药孟鲁司特钠组效果最佳,食疗方对于EF50、PEF、Penh指标的改善效果优于联合给药组,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。



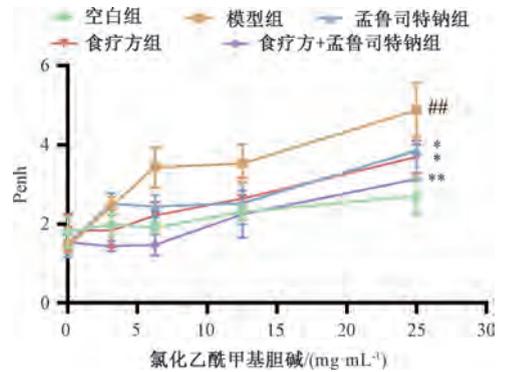
注:与空白组比较,## $P < 0.01$ ;与模型组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。

图1 小青龙汤改良食疗方对幼龄哮喘大鼠肺通气功能的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 12$ )

由图2可知,与空白组比较,模型组Penh升高( $P < 0.01$ ),与哮喘模型气道狭窄对应;与模型组比较,在25 mg/mL氯化乙酰甲基胆碱激发下,各给药组Penh均降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

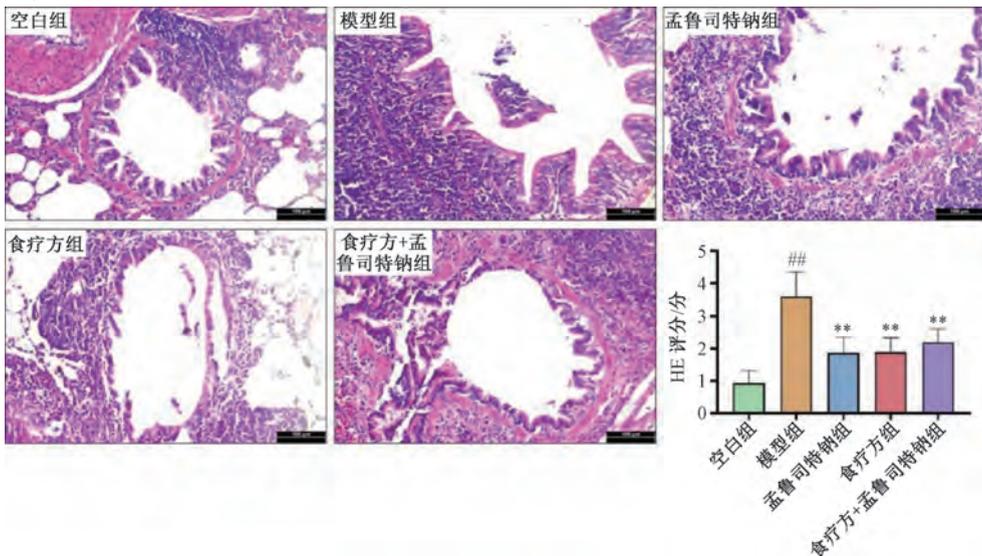
3.2 小青龙汤改良食疗方对幼龄哮喘大鼠肺组织病理形态的影响 由图3可知,空白组大鼠肺组织气管和支气管结构无明显异常,肺泡壁结构完整清晰,未见明显的炎症浸润改变;与空白组比较,模型组存在炎症细胞浸润,肺泡间隔增厚结构不清晰,HE评分升高( $P < 0.01$ );与模型组比较,各给药组炎症细胞浸润减轻,HE评分降低( $P < 0.01$ ),提示肺组织炎症减轻。

3.3 小青龙汤改良食疗方对幼龄哮喘大鼠BALF中嗜酸性粒细胞的影响 嗜酸性粒细胞为哮喘诊断和监测的指标之一。由图4可知,空白组BALF涂片以巨噬细胞和淋巴



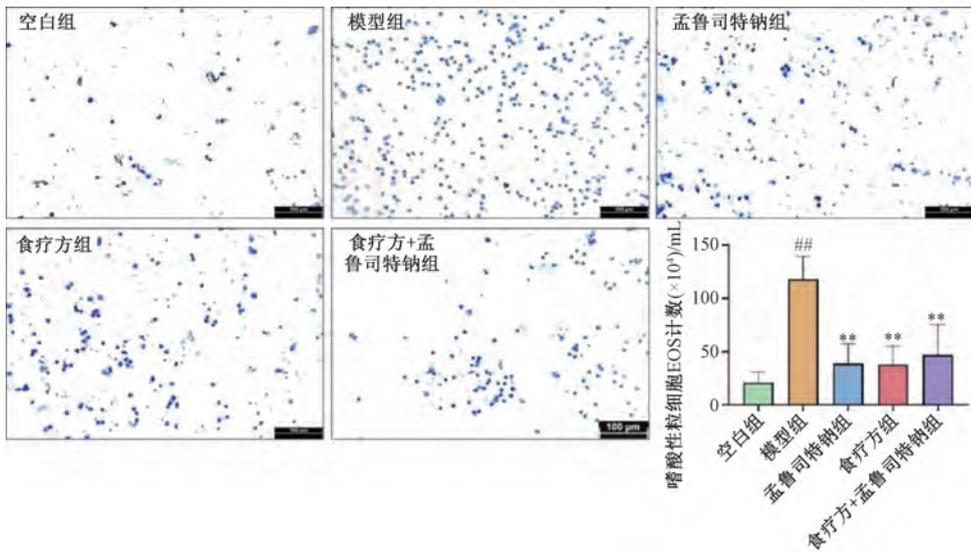
注:与空白组比较,## $P < 0.01$ ;与模型组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。

图2 小青龙汤改良食疗方对幼龄哮喘大鼠梯度氯化乙酰甲基胆碱激发状态下Penh指数的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 12$ )



注:与空白组比较,## $P < 0.01$ ;与模型组比较,\*\* $P < 0.01$ 。

图3 小青龙汤改良食疗方对幼龄哮喘大鼠肺组织病理形态的影响( $\times 200$ ,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 12$ )



注：与空白组比较， $^{##}P<0.01$ ；与模型组比较， $^{**}P<0.01$ 。

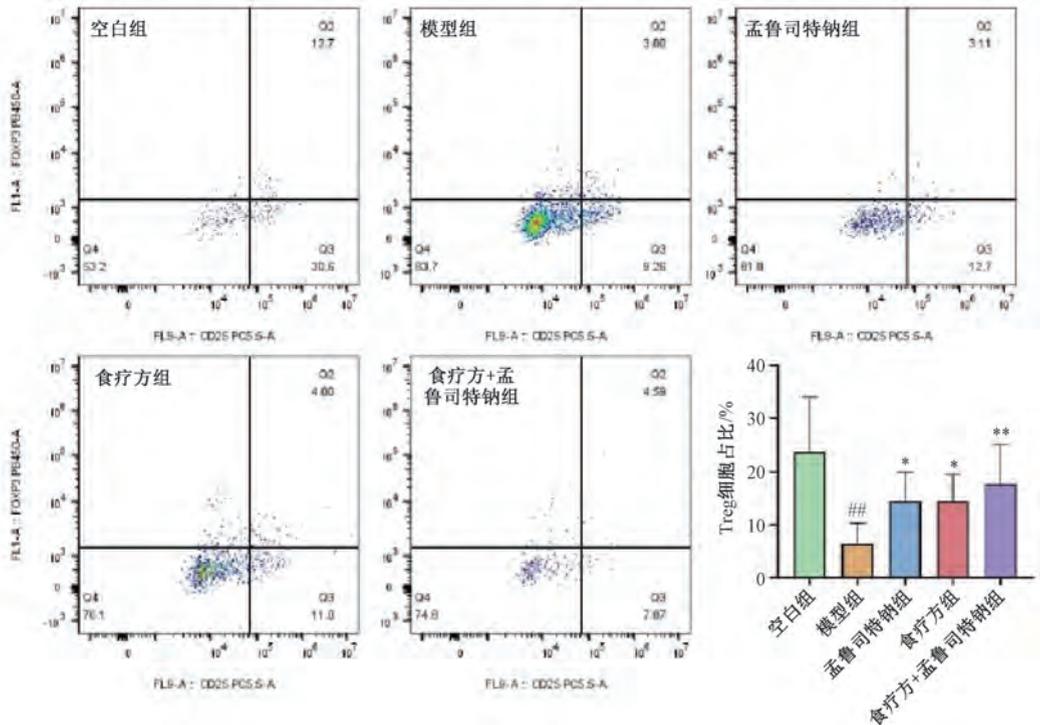
图4 小青龙汤改良食疗方对幼龄哮喘大鼠BALF中嗜酸性粒细胞的影响 ( $\times 200$ ,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

细胞为主，嗜酸性粒细胞数量较少；与空白组比较，模型组可见较多炎症细胞，嗜酸性粒细胞数量增加 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，各给药组嗜酸性粒细胞数量减少 ( $P<0.01$ )。

### 3.4 小青龙汤改良食疗方对幼龄哮喘大鼠BALF中Treg、Th17细胞比例的影响

Treg与Th17是相互作用的一对T淋

巴细胞，Treg起到免疫炎症抑制作用，而Th17促进炎症细胞生成。由图5可知，与空白组比较，模型组Treg细胞比例降低 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，各给药组Treg细胞比例均升高 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。由图6可知，与空白组比较，模型组Th17细胞比例升高 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，各给药组Th17细胞比例均降低 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。



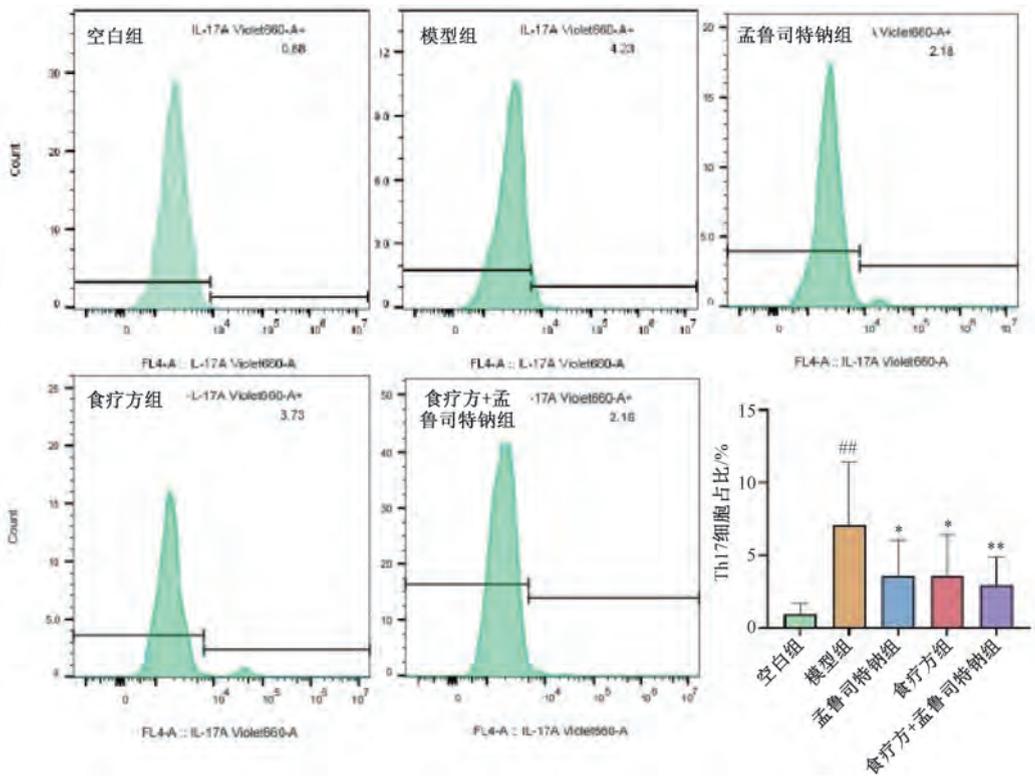
注：与空白组比较， $^{##}P<0.01$ ；与模型组比较， $^{*}P<0.05$ ， $^{**}P<0.01$ 。

图5 小青龙汤改良食疗方对幼龄哮喘大鼠BALF中Treg细胞比例的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

### 3.5 小青龙汤改良食疗方对幼龄哮喘大鼠BALF中炎症因子水平的影响

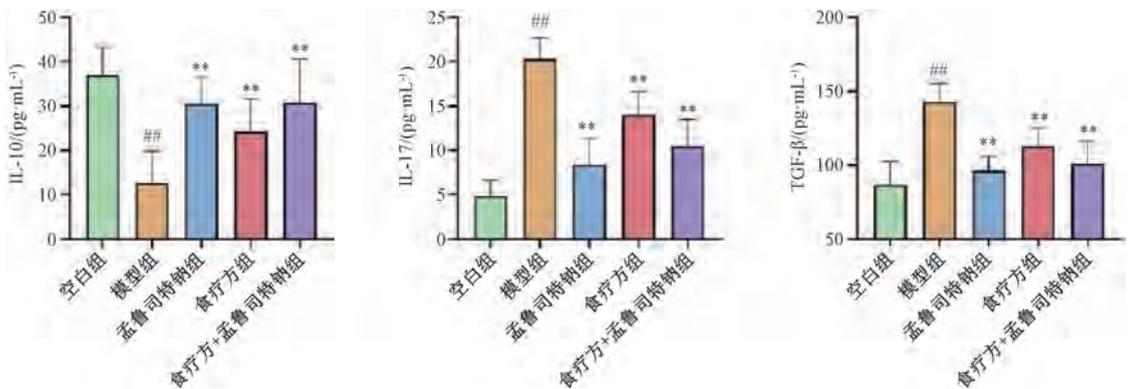
IL-10为Treg细胞分化因子，IL-17、TGF- $\beta$

为Th17细胞分化因子，通过测定其水平进一步验证Treg和Th17表达。由图7可知，与空白组比较，模型组IL-10水



注：与空白组比较，## $P<0.01$ ；与模型组比较，\* $P<0.05$ ，\*\* $P<0.01$ 。

图6 小青龙汤改良食疗方对幼龄哮喘大鼠BALF中Th17细胞比例的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=5$ )



注：与空白组比较，## $P<0.01$ ；与模型组比较，\*\* $P<0.01$ 。

图7 小青龙汤改良食疗方对幼龄哮喘大鼠BALF中IL-10、IL-17、TGF-β水平的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=5$ )

平降低 ( $P<0.01$ ), IL-17、TGF-β 水平升高 ( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 各给药组 IL-10 水平升高 ( $P<0.01$ ), IL-17、TGF-β 水平降低 ( $P<0.01$ )。

### 3.6 小青龙汤改良食疗方对幼龄哮喘大鼠肠道菌群的影响

3.6.1 菌群鉴定结果 对检测样本中菌群物种进行 OTU 聚类分析, 得到 OTU 序列并进行物种注释, 结果见图 8。由此可知, 空白组、模型组、孟鲁司特钠组、食疗方组、食疗方+孟鲁司特钠组分别有 1 937、1 855、2 048、1 895、2 008 个 OTU。

3.6.2 菌群物种组成 在门水平上选择丰度含量排名前十的物种进行分析, 结果见图 9。由此可知, 各组大鼠肠道菌群中厚壁菌门 (*Firmicutes*) 占比最高, 为绝对优势菌门,

空白组占比 52.15%, 模型组占比 67.43%, 孟鲁司特钠组占比 63.06%, 食疗方组占比 67.70%, 食疗方+孟鲁司特钠组占比 56.07%。其次优势菌门为拟杆菌门 (*Bacteroidetes*), 与对照组比较, 模型组拟杆菌门占比明显降低; 与模型组比较, 各给药组则均有所升高。此外, 模型组中疣微菌门 (*Verrucomicrobiota*) 相对丰度占比 6.24%, 而在其他组中占比十分微小。

3.6.3 α多样性分析 通过 α多样性指数分析可以得到群落中物种的丰富度、多样性和覆盖度等信息。稀释曲线逐渐趋向平坦、测序数据量合理, 已基本覆盖到样品中所有的物种。Chao、Ace、Sobs 指数在一定程度上反映群落丰富度, Shannon、Simpson、Coverage 指数则反映了群落多样性

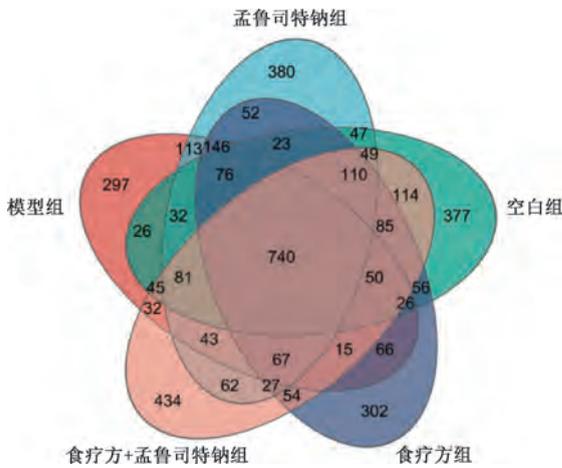


图8 各组 OTU 分布花瓣图

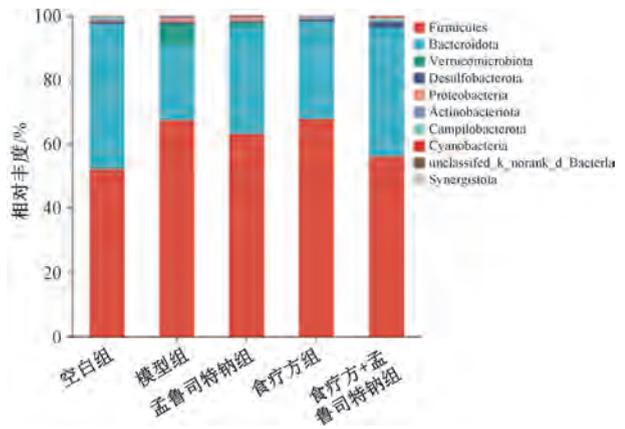
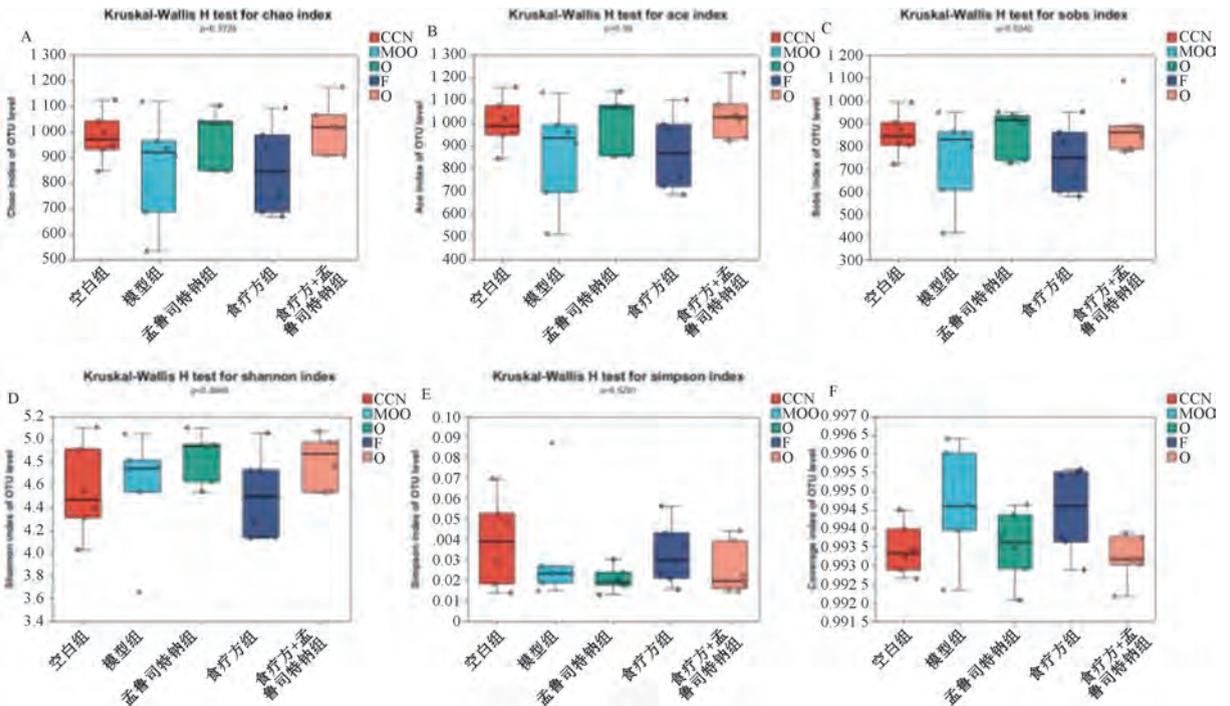


图9 各组肠道菌群在门水平的分布

和群落覆盖度。由图 10 可知，与对照组比较，模型组菌种丰富度降低；与模型组比较，各给药组菌种丰富度升高，

但组间比较差异无统计学意义；菌种多样性和覆盖度未出现明显趋势。



注：A~F 分别为 Chao、Ace、Sobs、Shannon、Simpson、Coverage 指数。

图10 各组肠道菌群 α 多样性分析 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

3.6.4 β 多样性分析 通过 β 多样性来衡量群落间的差别，PCoA 图以样本间的距离大小反映样本群落的聚散程度，距离越近代表样本组成和丰度越接近。由图 11 可知，PC1 作为第一主坐标，对肠道菌群的代表性为 25.72%，PC2 为 14.75%。与对照组比较，模型组距离相差较大，表明模型组与对照组肠道菌群结构组成和多样性存在差异；与模型组比较，食疗方组及食疗方+孟鲁司特钠组距离均相差较大，表明改变了肠道菌群结构组成和多样性。

3.6.5 LEfSe 差异分析 通过 LEfSe 差异分析来揭示菌群特征差异，设置 LDA 阈值为 4 具有统计学意义，分类水平从门到属。由图 12 可知，对照组中特异菌群为

*Bacteroidota*、*Bacteroidia*、*Bacteroidales*、*Prevotellaceae*、*Prevotellaceae*、*Globicatella*、*Prevotellaceae*，模型组中特异菌群为 *Akkermansiaceae*、*Akkermansia*、*Verrucomicrobiae*、*Verrucomicrobiales*、*UCG-005*，孟鲁司特钠组中特异菌群为 *Eubacterium*、*Coprostanoligenes*，食疗方组中特异菌群为 *Firmicutes*、*Blautia*、*Prevotella*、*Negativicutes*、*Acidaminococcales*、*Acidaminococcaceae*、*Phascolarctobacterium*、*Prevotellaceae*，食疗方+孟鲁司特钠组中特异菌群为 *Alloprevotella*、*Lachnospiraceae*。

3.6.6 Spearman 相关性分析 Spearman 相关性分析能够根据两组变量的等级大小作用，得到一个自变量与因变量之

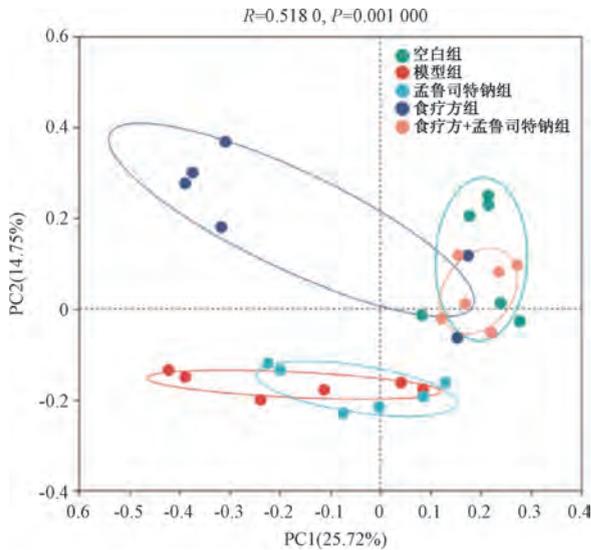


图 11 各组肠道菌群 PCOA 分析

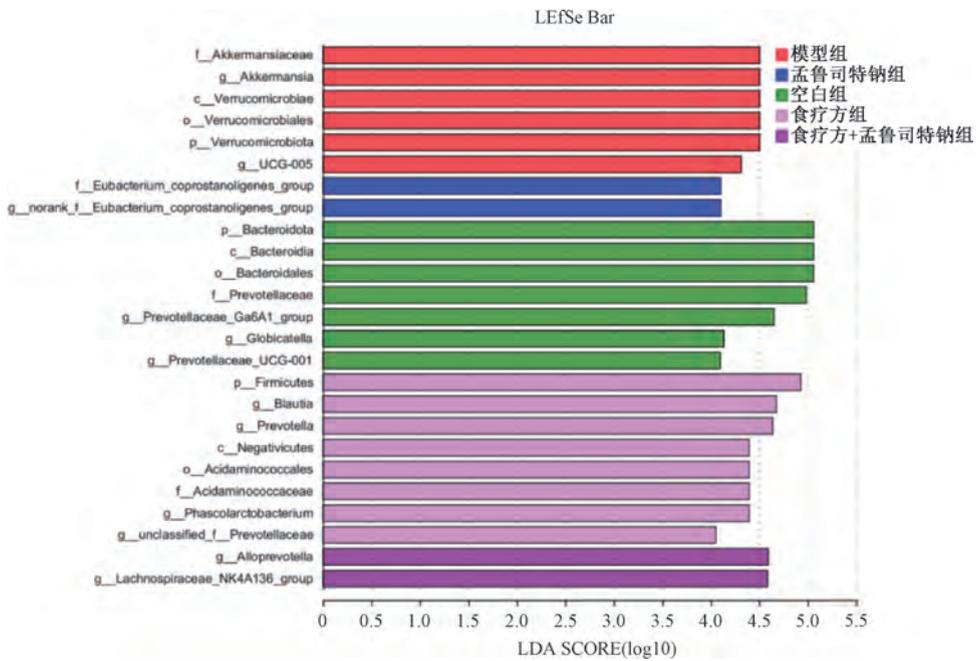


图 12 各组肠道菌群 LefSe 差异分析

枣调和营卫，桂枝、甘草、大枣、芍药、生姜温中补虚，紫苏叶和白果起到定喘之功，干姜和黄芥子作化饮之效，紫苏子、黄芥子和陈皮下气化痰，陈皮运化中焦、理气健脾，肉桂温补，百合、桃仁、沙棘、葱白运作通络之功。

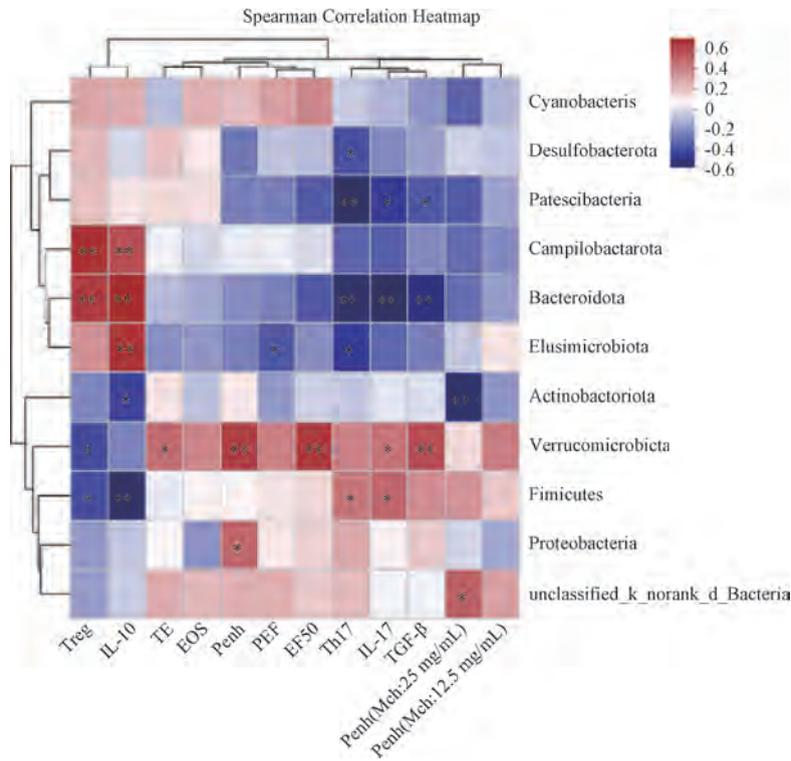
肺组织炎症和气道阻塞是哮喘的主要表现<sup>[17]</sup>。幼龄鼠 BALF 炎症细胞计数和肺组织病理切片结果显示，模型组 EOS 比例升高，食疗方干预后降低，肺组织病理形态呈现相同趋势。气道阻塞增加呼吸道阻力，导致肺通气功能下降，出现呼吸困难等症状<sup>[18]</sup>。肺功能检测结果表明，模型组大鼠 TE、PEF、EF50、Penh 指标均提示呼气性受阻，支气管激发实验表现为强阳性，食疗方干预后则有显著性改善。

间的关系和自变量对因变量的影响强弱。本研究通过在门水平得到的菌群物种与肺通气功能指标（TE、PEF、EF50、Penh）、气道阻力 Penh（12.5、25 mg/mL 氯化乙酰甲基胆碱）、嗜酸性粒细胞、Treg 和 Th17 细胞比例、炎症细胞因子（IL-10、IL-17、TGF- $\beta$ ）进行 Spearman 相关性分析。由 13 可知，Firmicutes 与 Treg、IL-10 呈现正相关，与 Th17、IL-17 呈负相关（ $P < 0.05$ ）；Verrucomicrobiota 与多数指标呈正相关（ $P < 0.01$ ， $P < 0.05$ ）；Campilobacterota 和 Bacteroidota 均与 Treg、IL-10 呈正相关（ $P < 0.01$ ），同时与 Th17、IL-17、TGF- $\beta$  呈负相关（ $P < 0.01$ ）。

#### 4 讨论

儿童具有“稚阴稚阳”的独特生理特点，长期应用激素类药物存在潜在的生长发育风险，而长期服用传统中药则面临依从性不佳的挑战<sup>[16]</sup>。开发有效性与安全性兼备、口感较好的食疗方产品值得探索。小青龙汤改良食疗方组成均为“药食两用”物质，桂枝、芍药、生姜、甘草、大

Treg 和 Th17 细胞作为 Th1 和 Th2 细胞进一步分化的免疫细胞，作用于儿童哮喘的发病过程<sup>[19-20]</sup>。病理状态时 Treg 和 Th17 失衡导致哮喘疾病的发生<sup>[21-22]</sup>。本研究发现，与空白组比较，模型组大鼠 BALF 中 Treg/Th17 细胞比例明显失衡，而食疗方干预后则趋于正常，细胞炎症因子检测结果也进一步证实了这一结果。此外，食疗方单独使用具有较好的治疗儿童哮喘的效果，然而联合给药组对肺通气功能指标的治疗效果并不是更优，可能是因为联合药物各成分之间存有竞争性抑制。体内实验发现，孟鲁司特钠作为白三烯受体拮抗剂干预儿童哮喘，对于 CysLT1 有较高的选择性，能够与 LTB4、LTC4、LTD4 竞争性受体结合，阻断白三烯介导的炎症反应；体外实验表明，孟鲁司特钠通过 CYP3A4、CYP2C8、CYP2C9 代谢，应谨慎与 CYP3A4、



注: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

图 13 Spearman 相关性分析

CYP2C8、CYP2C9 诱导剂联合应用，如紫杉醇、罗格列酮、瑞格列奈等<sup>[23-27]</sup>。

有研究发现，当肠道微生物失衡时，其产生的活性代谢产物可被吸收入血液循环，进而转运至肺部影响肺功能，这一过程与呼吸系统疾病的发生发展相关，还可能驱动儿童哮喘不同表型的出现<sup>[28-29]</sup>。本研究通过 16S rDNA 高通量测序发现，改良食疗方组肠道菌群的多样性与丰度发生改变，其中拟杆菌门明显升高，特异菌群 *Firmicutes*、*Blautia*、*Prevotell* 相对丰度升高，*Negativicutes*、*Acidaminococcales*、*Acidaminococcaceae*、*Phascolarctobacterium*、*Prevotellaceae* 相对丰度降低。Spearman 相关性分析肠道微生物与肺部实验指标发现 *Firmicutes* 与 Treg、IL-10 呈现正相关作用，与 Th17、IL-17 呈现负相关。这提示 *Firmicutes* 可能通过调节 Treg/Th17 细胞平衡参与免疫调控。因此，靶向提升 *Firmicutes* 相对丰度或可成为恢复免疫平衡、辅助治疗儿童哮喘的潜在策略。

### 5 结论与展望

小青龙汤改良食疗方组成均源自“药食两用”物质，产品转化“晓青龙™紫苏子干姜本草饮”。本研究发现，小青龙汤改良食疗方能有效改善肺通气功能，抑制气管、支气管及肺泡组织炎症浸润，减少 EOS 数目，调节 Treg/Th17 比值恢复免疫平衡，以及增加微生物菌群 *Firmicutes* 相对丰度。后续将开展长期安全性研究，进一步为儿童哮喘食疗方产品研发奠定基础。

**利益冲突：** 本文不存在利益冲突。

### 参考文献：

- [1] 全国儿科哮喘协作组, 中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所. 第三次中国城市儿童哮喘流行病学调查[J]. 中华儿科杂志, 2013, 51(10): 729-735.
- [2] Akinbami L J, Simon A E, Schoendorf K C. Trends in allergy prevalence among children aged 0-17 years by asthma status, United States, 2001-2013 [J]. *J Asthma*, 2016, 53(4): 356-62.
- [3] Asher M I, García-Marcos L, Pearce N E, et al. Trends in worldwide asthma prevalence[J]. *Eur Respir J*, 2020, 56(6): 2002094.
- [4] Hasegawa K, Craig S S, Teach S J, et al. Management of asthma exacerbations in the emergency department[J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2021, 9(7): 2599-2610.
- [5] 洪建国. 我国儿童哮喘流行病学和诊治状况[J]. 中华医学信息导报, 2020, 35(2): 22.
- [6] Chen X F, Nie H Y, Liu W J, et al. Efficacy and safety of Hou Gu Mi Xi on spleen Qi deficiency in patients with nonorganic gastrointestinal disorders: Protocol for a multicenter, randomized, placebo-controlled trial[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 2018: 1980491.
- [7] Zhou X, Yan D M, Zhu W F, et al. Efficacy and safety of Hou Gu Mi Xi in patients with spleen Qi deficiency syndrome who underwent radical gastrectomy for gastric cancer: protocol for a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. *Trials*, 2019, 20(1): 343.

- [ 8 ] 李敏菁. 小青龙汤加减治疗小儿咳嗽变异性哮喘临床观察[J]. 实用中医药杂志, 2020, 36(1): 23-24.
- [ 9 ] 韩其海. 小儿咳嗽变异性哮喘应用小青龙汤加减治疗的疗效分析[J]. 医学理论与实践, 2018, 31(6): 880-881.
- [ 10 ] Guo F Y, Xiao Y H, Makwana C N, *et al.* The inheritance and development of traditional Chinese medicine formulas in treating childhood asthma based on the perspective of clinical research[J]. *J Herb Med*, 2024, 47: 100921.
- [ 11 ] 郭芳阳. 儿童哮喘验方筛选及其食疗方开发与评价研究[D]. 南昌: 江西中医药大学, 2024.
- [ 12 ] 赵 伟, 孙国志. 不同种实验动物间用量换算[J]. 畜牧兽医科技信息, 2010(5): 52-53.
- [ 13 ] Dumas A, Bernard L, Poquet Y, *et al.* The role of the lung microbiota and the gut-lung axis in respiratory infectious diseases[J]. *Cell Microbiol*, 2018, 20(12): e12966.
- [ 14 ] 史 琦, 李春雷, 孔艳华, 等. SD大鼠哮喘模型建立方法及评价的比较研究[J]. 世界中医药, 2019, 14(11): 2887-2892.
- [ 15 ] 吴 涵, 胡志祥, 吉美奇, 等. 基于数据挖掘的过敏性哮喘动物模型应用分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(5): 211-217.
- [ 16 ] 赖勇杰, 傅润宸, 刘思彤, 等. 国内外儿童用药依从性研究现状及趋势—基于CiteSpace的可视化分析[J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(20): 2054-2060.
- [ 17 ] 徐 丽, 贾连群, 张 哲, 等. 小儿支气管哮喘的中西医病机及治疗[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(3): 552-554.
- [ 18 ] R P H, Gopalakrishna Mithra C A, Ratageri V H. Pulmonary function tests in childhood asthma: which indices are better for assessment of severity? [J]. *Indian J Pediatr*, 2023, 90(6): 566-571.
- [ 19 ] Zheng R Y, Wang F M, Huang Y, *et al.* Elevated Th17 cell frequencies and Th17/Treg ratio are associated with airway hyperresponsiveness in asthmatic children[J]. *J Asthma*, 2021, 58(6): 707-716.
- [ 20 ] Zhu X H, Chen Q, Liu Z Q, *et al.* Low expression and hypermethylation of FOXP3 in regulatory T cells are associated with asthma in children[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(3): 2045-2052.
- [ 21 ] Guo J, Wang L Y, Wu J, *et al.* The JAK2 inhibitor AG490 regulates the Treg/Th17 balance and alleviates DSS-induced intestinal damage in IBD rats[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2020, 47(8): 1374-1381.
- [ 22 ] Yang N, Shang Y X. Epigallocatechin gallate ameliorates airway inflammation by regulating Treg/Th17 imbalance in an asthmatic mouse model[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 72: 422-428.
- [ 23 ] Marques C F, Marques M M, Justino G C. Leukotrienes *vs.* montelukast-activity, metabolism, and toxicity hints for repurposing[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2022, 15(9): 1039.
- [ 24 ] Zhang Y, Wang H. Efficacy of montelukast sodium chewable tablets combined with inhaled budesonide in treating pediatric asthma and its effect on inflammatory factors[J]. *Pharmazie*, 2019, 74(11): 694-697.
- [ 25 ] Dixon E G, Rugg-Gunn C E, Sellick V, *et al.* Adverse drug reactions of leukotriene receptor antagonists in children with asthma: a systematic review[J]. *BMJ Paediatr Open*, 2021, 5(1): e001206.
- [ 26 ] Hofman J, Vagiannis D, Chen S, *et al.* Roles of CYP3A4, CYP3A5 and CYP2C8 drug-metabolizing enzymes in cellular cytostatic resistance[J]. *Chem Biol Interact*, 2021, 340: 109448.
- [ 27 ] Loer H L H, Türk D, Gómez-Mantilla J D, *et al.* Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling of clopidogrel and its four relevant metabolites for CYP2B6, CYP2C8, CYP2C19, and CYP3A4 drug-drug-gene interaction predictions[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(5): 915.
- [ 28 ] Kemter A M, Nagler C R. Influences on allergic mechanisms through gut, lung, and skin microbiome exposures[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(4): 1483-1492.
- [ 29 ] Dang A T, Marsland B J. Microbes, metabolites, and the gut-lung axis[J]. *Mucosal Immunol*, 2019, 12(4): 843-850.