

喘咳宁方治疗发作期哮喘的实验研究

蒋 可* 罗 侃*

(* 中国中医科学院望京医院 北京市朝阳区花家地街 ,100102)

摘要 目的 探讨中药喘咳宁方在治疗哮喘中的作用和可能的机制 ,为治疗哮喘提供依据。方法 将 60 只小鼠随机分为 6 组 ,除正常对照组外 ,其余各组小鼠均于实验第 1、7、14 日腹腔注射 0.2mg/ml 抗原液 ,并于第 14 日超声雾化吸入 0.05% 卵蛋白 ,连续 14 日。正常对照组每日予生理盐水。地塞米松对照组、低、中、高剂量喘咳宁组分别以 0.0617mg/ml 地塞米松、98.7mg/ml、197.4mg/ml、394.8mg/ml 喘咳宁治疗。采用免疫组化染色法 ,比较各组 BALF 中 TGF- β 水平。结果 :发作期哮喘小鼠 BALF 中 TGF- β 水平较正常对照组显著升高。结论 :喘咳宁方治疗发作期哮喘的可能机制是抑制 TGF- β 的产生。

关键词 哮喘/中医药疗法 ;@ 喘咳宁

Empirical Study of Kechuanning in Treatment of Asthma at Period of Onset

Jiang Ke ,Luo Kai

(Wangjing Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences ,Beijing ,100102)

Abstract Objective :To explore functions and possible mechanism of a Chinese medical prescription-Kechuanning and provide evidences for treatment of asthma. **Methods :**60 mice were randomly divided into 6 groups ,all of which were given 0.2mg/ml antigen solution at 1 ,7 ,14 day ,except for the normal control group ,then inhaled 0.05% egg albumin by ultrasonic atomization for 14 consecutive days. The normal control group was given sodium chloride everyday. Treatment groups were treated respectively with 0.0617mg/ml Corson ,98.7mg/ml、197.4mg/ml、394.8mg/ml Kechuanning. Immuno-histochemical staining method was used to compare levels of TGF- β in BALF. **Results :**level of TGF- β in BALF rose remarkably as compared to that of the normal control group. **Conclusion :**The result suggested that Kechuanning's performed its functions through inhibition of production of TGF- β .

Key Words Asthma at period of onset/ Chinese medical therapy ;@ Kechuanning

支气管哮喘(哮喘)是一种气道慢性炎症 ,其中 ,气道重塑与哮喘症状的持续存在、严重程度以及气道高反应性密切相关。气道重塑及气道炎症受到各种生长因子和炎性介质调节 ,其中转化生长因子 β (transforming growth factor TGF β) 因兼有刺激成纤维细胞增生和促进成纤维细胞合成、分泌胶原蛋白而受到广泛重视^[1]。目前尚无治疗气道重塑的特效药 ,本课题旨在探讨中药喘咳宁方在治疗哮喘中的作用和可能机制 ,为中医药治疗哮喘提供可靠的实验和临床依据。

1 材料与方法

1.1 动物来源 :健康清洁级 BALB/c 小鼠 60 只 ,体重 (20.0 $\pm$ 2.0)g ,6~8 周龄 ,由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供。

1.2 药物 :喘咳宁胶囊(主要含麻黄、杏仁、黄芪、大黄等)委托北京华荣制药厂制备 ,生药购自北京同仁堂。每粒胶囊相当于生药 0.4g ,成人临床用量为 3.6g/d ;地塞米松片剂(0.75mg)由天津天药药业股份有限公司生产。

1.3 分组及处理 :参照李一奎等的《中药药理实验方

法》及徐叔云等的《药理实验方法学》制备 ,具体操作步骤如下 :小鼠在清洁级实验动物房适应性饲养 1 周后 ,随机分为 6 组(正常对照组、模型组、喘咳宁小剂量组、喘咳宁中剂量组、喘咳宁高剂量组、地塞米松组) ,每组 10 只。从实验第 1 日开始 ,除 A 组用生理盐水代替抗原液进行腹腔注射、雾化吸入和灌胃 ,用量和时间与其他组完全相同外 ,其余各组小鼠均经腹腔注射抗原液 0.2ml/20g ,第 7 天、14 天用同样的方法再各注射 1 次 ,第 3 次注射后于当天上午并此后每日上午 8~10 时给予超声雾化吸入质量分数为 0.05% 的卵蛋白以激发哮喘 ,出现中度症状(即出现明显的腹肌收缩、呼吸困难或称点头样呼吸 ,甚或近耳哮鸣音等症状)即止。每日 1 次 ,连续用 14 天。

1.4 小鼠每日灌胃给药量 :地塞米松片剂用蒸馏水配成浓度为 0.0617mg/ml 的药液 ,喘咳宁胶囊小、中、大剂量用蒸馏水配成浓度分别为 98.7mg/ml、197.4mg/ml、394.8mg/ml 的药液。每鼠按 0.2ml/10g 剂量每日灌胃给药一次。

1.5 观察指标及方法 :各组小鼠分别于最后一次激发

后 24h 内脱颈椎处死, 跟剪剖开胸腔, 暴露气管、双肺; 靠近左肺门处结扎左主支气管。于气管靠近头端剪一斜行切口, 钝头 18# 注射器针头行气管插管 0.5ml 生理盐水灌洗左肺, 回收灌洗液, 反复 3 次, 收集 BALF 1.0~1.2ml, 室温下离心 15min(3000r/min), 取上清液分装, -20℃ 保存。

取右肺门区组织(约 0.5cm × 0.5cm)迅速置入体积分数为 4% 的多聚甲醛溶液中固定 48h, 随后置入 TSJ-1A 型自动组织脱水机中处理 60℃ 石蜡包埋, QPJ-IC 生物病理切片机上切取 5μm 薄片 4 张, 进行免疫组化染色。

1.6 统计学处理: 数据以 $\bar{x} \pm s$ 标准差表示, 方差齐性时, 组间均数比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 法; 否则采用秩和检验, 相关分析采用 Pearson 法。采用 SPSS11.0 统计软件进行分析。

2 结果

各组小鼠肺组织中 TGF-β₁ 浓度水平变化, 详见表 1。

表 1 各组 BALF 中 TGF-β₁ 浓度水平变化

组别	动物数	TGF-β ₁
正常对照组	10	1.04 ± 0.85
喘咳宁小剂量组	10	9.01 ± 0.67 *
喘咳宁中剂量组	10	6.07 ± 0.14 *
喘咳宁大剂量组	10	7.03 ± 0.39 *
地塞米松组	10	6.08 ± 0.66 *

注: * 与正常组比较 $P < 0.01$

3 讨论

3.1 喘咳宁方的处方依据和分析: 我们认为, 在诸多的病理因素中, 痰是导致哮喘发作的主要因素。古往今来对“因痰致哮”的认识以及祛痰方药治疗哮喘的有效性, 均可以说明痰在哮喘发病和治疗中的重要性。痰不仅是哮喘的一种病理产物, 也是哮喘发作的诱发因素。因此, 在具体的治疗过程中, 我们主张“当先治痰”。

哮喘发作期的病理特点是本虚标实。哮喘既有“夙根”, 其正气已虚, 于发作时所见之“标实”之证, 实属“正气本不足, 邪气自当盛”之邪实。因此, 我们主张对发作期哮喘应“标本兼治”。

喘咳宁方基于以上理论认识, 兼顾抗炎和解痉, 并能改善气道局部的内环境, 体现了“标本并重、脏腑同治”的学术思想。临床研究也证明其具有较好的宣肺平喘、止咳化痰作用, 总体疗效确切可靠。

方中麻黄为宣肺平喘要药, 可“止咳逆上气, 除寒热”, 为减其发汗之性, 故炙用。杏仁质润性降, 为咳逆上气喘促之要药, 麻、杏宣润并用共为君药。加用苏

子、白果、五味子、葶苈子协同杏仁润肺平喘。《神农本草经》载五味子“主益气, 咳逆上气”。《本草纲目》称白果熟食能温肺益气, 又能敛肺平喘, 为一药二用, 寓补益于收敛之中。配黄芪能“补诸虚不足, 益元气, 壮脾胃, 去肌热”。甘草补气润肺, 止咳化痰, 黄芪与甘草两者相须为用。配黄芩、白花蛇舌草以清泄肺热, 半夏止咳化痰。考虑肺与大肠相表里, 通腑泻热有利于肃降肺气, 故加大黄以清热泄下, 葶苈子泻肺平喘。苏子性味、归经功同杏仁, 相佐为用, 甘草既能补气润肺, 又能调和诸药。全方体现出宣、润、清、补、泻诸法, 尤以宣润为主。

3.2 哮喘与气道重塑: 1992 年哮喘时“呼吸道重塑 (airway remodeling)”概念被明确提出^[2]。目前, 呼吸道重塑的定义主要为组织学上的描述, 包括呼吸道管壁增厚, 上皮下纤维化, 平滑肌细胞的增生、肥厚, 肌成纤维细胞增生及腺上皮化生, 其中以基底膜下 I、III、V 型胶原纤维、纤维连接素等呼吸道细胞外基质沉积和成纤维细胞活化、增殖为突出表现。气道重塑及气道炎症受到各种生长因子和炎性介质调节, 其中转化生长因子 β 因兼有刺激成纤维细胞增生和促进成纤维细胞合成、分泌胶原蛋白等作用而受到广泛重视^[3]。

本实验证明, 发作期哮喘小鼠 BALF 中 TGF-β 水平显著高于正常组并且在接受变应原刺激后明显升高。免疫组化染色研究证明发作期哮喘小鼠气道中 TGF-β 合成及分泌增多。因此研究认为 TGF-β 参与了哮喘气道重塑的调节。

喘咳宁方治疗发作期哮喘气道重塑其可能机制是抑制 TGF-β 的产生。

参考文献

- 蔡闯. 转化生长因子 β 与支气管哮喘气道重塑. 国外医学呼吸系统分册 2001 21(4).
- Kips JC, Pauwels RA. Airway wall Remodeling: does it occur and what does it mean Clin Exp Allergy 1999 29(11): 1457~1466.
- Hauttori A et al. FEBS Lett, 1994 340: 177~180.

(2007-03-06 收稿)

《世界中医药》投稿方式

方式一: 信件投稿。将稿件的打印稿或手写稿通过信件寄送, 投稿地址: 北京市朝阳区小营路 19 号财富嘉园 A 座 303 室, 世界中医药编辑部 (100101), 请注明“投稿”。

方式二: 电子邮件投稿。将稿件的 word 文档, 通过电子邮件发送, 投稿信箱: wfcm2006zzs@163.com。