

气道稳定剂治疗支气管哮喘的临床和实验研究[△]

董竞成 石志芸 徐德斌* 倪健 崔玉林**

(上海医科大学附属华山医院 200040)

摘要 气道稳定剂能有效地控制支气管哮喘,对抗气道过敏性炎症,提高患者的肺功能和降低气道敏感性,疗效优于一般西药组;实验研究结果表明:气道稳定剂能舒张支气管平滑肌,抑制气道粘膜及其周围组织嗜酸性细胞浸润,还能调节组胺受体。

关键词 气道稳定剂 支气管哮喘 血小板活化因子 组胺受体

Clinical and Laboratory Studies on Treatment of Bronchial Asthma by an Airway Stabilizer*

*Dong Jingcheng, Shi Zhiyun, Xu Debin**, Ni Jian, Cui Yulin** **

(Affiliated Huashan Hospital to Shanghai University of Medical Sciences, 200040)

Abstract: An airway stabilizer was clinically found to effectively alleviate bronchial asthma, inhibit the allergic inflammation of the airway, increase lung function and decrease the sensitivity of the airway, indicating the therapeutic advantage of the stabilizer over the conventional western medicine. The research findings in the laboratory revealed that the stabilizer could relax bronchial smooth muscle, inhibit the infiltration of eosinophilic leukocyte in airway mucous membrane and its surrounding tissue, and regulate histamine receptors.

Key words: airway stabilizer, bronchial asthma, platelet activating factor, histamine receptors

[△]国家中医药管理局资助课题 * 上海长征医院(200002) ** 常州市气管炎研究所(213003)

支气管哮喘是一种世界范围内的常见病,作者于1994年起在以前工作的基础上研制了新的方剂:气道稳定剂,用于治疗支气管哮喘并进行相应的临床和实验研究,取得了较好的结果,现报告如下:

1 临床研究

1.1 对象及方法

1.1.1 病例选择与分组 60例支气管哮喘患者随机分成治疗组和对照组,治疗组30例,其中男17例,女13例,年龄13~51岁,平均35岁,平均病程21年,病情轻度16例,中度14例;对照组30例,其中男17例,女13例,年龄15~49岁,平均37岁,平均病程22年,病情轻度16例,中度14例。支气管哮喘的诊断、分度和疗效考核见参考文献[1],接受观察的患者需具备如下条件:①病情程度轻至中度;②哮喘以长年发作为主。

1.1.2 治疗方法 治疗组患者每天早、中、晚3次服用气道稳定剂(黄芩20g、麻黄6g、川芎20g、辛荑9g、细辛3g、杏仁9g、干姜6g、生地30g、地龙6g、银杏叶6g等水煎而成),每次服20毫升,每毫升含生药1.73g;对照组患者服用氨茶碱0.1g,每天3次和/或舒喘灵2.5mg,每天3次。两组疗程均为2个月,所有患者可以偶然吸入支气管扩张剂。

1.1.3 肺功能测定 采用日本产Chest microspiro HI-298型肺功能机测定肺功能,观察两项有关通气功能的指标——1秒钟用力呼气容积占用力肺活量比值($FEV_1\%$)和最大呼气流率(PEFR),治疗前后分别测定。

1.1.4 气道反应性测定 每4h用微型峰速仪测定患者的PEFR,夜间或凌晨较日间降低20%以上者判为阳性。

1.2 结果

1.2.1 临床疗效 治疗组30例患者中达到临床控制的占10%,显效63.3%,有效20%,无效6.6%,总有效率为93.4%;对照组30例患者中达到临床控制的为3.3%,显效26.6%,有效33.3%,无效36.6%,总有

效率为63.4%,治疗组的疗效明显优于对照组($P<0.05$)。疗效考核标准见参考文献[1]。

1.2.2 肺功能测定 经过2个月的治疗,两组患者的肺功能均有不同程度的改善,尤以治疗组为明显。治疗组治疗前的 $FEV_1\%$ 均值为55.4%,治疗后为73.3%;治疗前PEFR均值为3.98L/s,治疗后为5.4L/s,差异均显著($P<0.05$)。对照组治疗前的 $FEV_1\%$ 均值为52.6%,治疗后为60.7%;治疗前PEFR均值为3.77L/s,治疗后为4.23L/s,均有好转,但差异不显著($P>0.05$)。

1.2.3 气道反应性测定 治疗组治疗前气道反应异常发生率为96.7%,治疗后为36.6%,前后相比差异显著($P<0.01$)。对照组治疗前气道反应异常发生率为93.3%,治疗后为70%,前后相比差异不显著($P>0.05$)。

2 实验研究

本实验主要观察气道稳定剂对离体的豚鼠气道平滑肌、哮喘模型豚鼠的气道炎症和组胺(Histamine,H)受体的影响和调节。

2.1 材料 中药气道稳定剂由本院制剂室提供,健康清洁级荷兰白种豚鼠80只,体重 $400\pm 50g$,雌雄各半,由上海医科大学动物部提供。卵蛋白盐液、组织胺和乙酰胆碱,由中国科学院上海生物化学研究所提供。Krebs-Henseleit营养液由上海医科大学基础药理教研室配制。 3H -tiotidine和 3H -mepyramine为美国Dupon公司产品。ranitidine和(+)-chlorpheniramine为美国Sigma公司产品。0.125M PBS液(Ca^{++}/Mg^{++})、50mM Tris-HCl液、闪烁液均为分析纯试剂。LWA-20型张力换能器由上海复旦大学生产。XAF型高速内切式分散器由上海光华电子仪器厂生产。Beckman LS 5000CE液体闪烁计数器由美国生产。

2.2 方法

2.2.1 气道平滑肌的分离及其张力测定[2]

参照 murray^[2] 的方法, 将正常豚鼠击头处死, 取出气管及肺组织, 分离气管平滑肌组织, 螺旋剪开, 制成 2cm×0.3cm 左右的气管平滑肌条, 将气管条悬吊于盛有 37℃ Krebs-Henseleit 溶液, 容积为 20ml 的浴槽中, 下端固定于浴槽底部, 上端连接于张力换能器上, 同时向浴槽通入 95% 的 O₂ 和 5% CO₂ 的混合气体, 前负荷 1g 左右, 平衡 1h 后, 以累积剂量法向浴槽中加入药物。

2.2.2 嗜酸性细胞的观察 取豚鼠 40 只, 雌雄均可, 参照吕宝璋等方法, 建立哮喘模型, 将配制好的卵蛋白生理盐水溶液 (20mg/ml), 按每 100mg/kg 给豚鼠腹腔注射, 使豚鼠致敏。然后将动物随机分组, 第 1 组为对照组, 每天用生理盐水; 第 2~4 组每天分别用气道稳定剂 0.5ml、1.0ml 和 2ml。给药第 21d 后将致敏豚鼠置于一近似密闭的容器中, 使动物自行吸入 250μg/ml 经雾化的卵蛋白盐液 4ml, 诱发哮喘, 然后继续给药, 3d 后处死, 取出肺组织, 常规石蜡包埋法做气道组织切片, HE 染色, 显微镜下观察气道粘膜及其周围组织嗜酸性细胞的浸润程度。

2.2.3 H 受体的测定 肺组织细胞膜制备取出低温保存的肺脏, 放冰块上融化后剪碎, 在 50mM Tris-HCl 冰缓冲液中, 高速分散器匀浆 (8000 转/分, 5s×5) 离心 (1900g, 4℃) 10min, 沉淀用 Tris-HCl 缓冲液 4~8ml 悬浮, Lowry 氏法测定蛋白浓度, 将蛋白浓度调制成 1~3g/L。

结合试验参照 Carswell^[3] 和 Forman^[4] 方法, 取 100μl 肺组织细胞膜悬液与不同浓度的 ³H-mepyramine (终浓度 1~8nM) 及 ³H-tiotidine (终浓度为 1~24nM) 进行结合反应。加 Tris-HCl 液至反应终体积为 250μl。 ³H-mepyramine 和 ³H-tiotidine 非特异结合管分别加入 10⁻⁵M (+) chlorpheniramine 和 10⁻⁴M ranitidine。 ³H-mepyramine 孵育管在 20℃ 温育 20min, ³H-tiotidine 管在 4℃ 温育 40min, 加 2ml 冰缓冲液终止反应, 迅速通过

玻璃纤维滤膜负压抽滤, 继以 10ml 冰缓冲液快速冲洗。滤膜经 80℃ 1h 烘干, 置闪烁液中, 放置 18h, 液闪仪测量放射性强度 (dpm)。各浓度 ³H-mepyramine 和 ³H-tiotidine 与各自受体的结合量 (B) 按下列公式计算:

$$B(\text{fmol/mgpro}) = \frac{\text{特异结合 (SB)dpm}}{\text{反应体积中的蛋白量 (mg)}} \times \frac{1}{2.22 \times \text{放射比度} \times \text{放化纯度}}$$

以不同浓度的游离放射配基为横坐标, 以相应的特异结合量为纵坐标得到受体饱和曲线, 再经 scatchard 方法作图求出受体的两个基本参数: 最大结合量 (B_{max}) 表示受体的结合容量, 平衡解离常数 (kd) 可表示受体与配体的亲合力, kd 值越大表示亲合力越小, kd 值越小表示亲和力越大。

2.3 结果

2.3.1 豚鼠气道平滑肌实验 加入 H 后气道平滑肌的收缩张力为 0.37±0.18g ($\bar{x} \pm s$, 以下同), 加入气道稳定剂后松弛张力为 0.19±0.07g; 加入乙酰胆碱后的收缩张力为 0.29±0.17g, 加入气道稳定剂后松弛张力为 0.11±0.07g。

2.3.2 嗜酸性细胞的观察 光镜下组织切片中可以看到嗜酸性细胞呈核分叶、胞浆中有许多被染成红色的颗粒, 对照组豚鼠的气道粘膜及其周围组织中有大量嗜酸性细胞浸润, 0.5ml 和 1ml 气道稳定剂组豚鼠的气道粘膜及其周围组织中也见嗜酸性细胞浸润, 而 2ml 组嗜酸性细胞明显减少。

2.3.3 H 受体的测定 如表 1 所示气道稳定剂能上调 H₁ 受体的结合容量和 kd 值, 但对 H₂ 受体无影响。

3 讨论

气道稳定剂是作者既继承祖国医学精华又结合现代医学发展而研制的方剂, 多年来的观察结果表明临床效果良好, 治疗轻、中度支气管哮喘的总有效率为 93.4%, 明显高于

一般西药组的 63.4% ($P < 0.05$), 同样, 在改善肺功能和降低气道高反应性 (BHR) 方面也优于一般西药组 ($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。

表 1 各组对哮喘豚鼠肺组织细胞膜 H 受体的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	H ₁ 受体		H ₂ 受体	
		Bmax	kd(nM)	Bmax	kd(nM)
NS 组	—	98.8±19.7	5.9±2.4	12.6±4.2	3.8±1.6
0.5ml	2.16	104.6±17.1	6.2±2.6	12.7±3.3	4.0±1.5
1ml	4.32	121.4±21.4*	7.7±2.3	13.6±3.8	4.2±1.8
2ml	8.64	130.7±26.0*	8.9±3.0*	14.7±5.2	4.6±2.0

注: 和生理盐水组比, * $P < 0.05$, $n=10$ Bmax 单位为 (fmol/mg Pro)

本文的研究结果证实气道稳定剂除了能舒张支气管外, 还能抗气道过敏性炎症 (AAI), 此外, 气道稳定剂能上调 H₁ 受体的结合容量, 并使 kd 值上升, 这种作用在某些方面和皮质激素类似^[5,6], 这提示气道稳定剂也能增加 H₁ 受体的数量, 减小 H₁ 受体的亲和力, 从而对组胺及其受体产生影响。

参考文献

1 中华结核和呼吸杂志编辑委员会. 支气管哮喘

的定义、诊断、严重度分级及疗效判断标准(修正方案). 中华结核和呼吸杂志, 1993, 16(哮喘增刊): 5

- Murroy MA. Cromakalin-induced relaxation of guinea-pig isolated trachealis; antagonism by globecclamide and by phentolmimic. Br J Pharmacol, 1989, 98: 865
- Carswell H, Naborski SR. Distribution and characteristics of histamine H₁-receptors in guinea-pig airways identified by [³H] mepyramine. Eur J Pharmacol, 1982, 81: 301
- Forman JC, Norris DB, Rising TJ, Webber SE. The binding of [³H]-tiotidine to homogenates of guinea-pig lung parenchyma. Br J pharmacol, 1985, 86: 475
- Ahmed T, King MM, Krainson JP. Modification of airway histamine receptor function with methylprednisone succinate. J Allergy Clin Immunol, 1983, 71: 224
- 吕宝璋. 受体失衡和磷脂酶 A₂ 激活与哮喘的关系. 中华结核和呼吸杂志, 1993, 16(哮喘增刊): 13

(收稿: 1997-04-08)