

羚贝止咳糖浆止咳、平喘作用及其作用机制

李秀丽¹, 刘同彦², 李苹², 张翠艳², 陈志国², 徐殿达², 王雅萌¹, 王玉莹¹, 杨静娴^{1*}

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁大连 116600; 2. 吉林敖东集团力源制药股份有限公司, 吉林敦化 133700)

[摘要] **目的:**研究羚贝止咳糖浆止咳平喘效果及通过减轻肺组织病理性凋亡达到止咳平喘作用的实验研究。**方法:**将48只豚鼠随机分为模型组,阳性药组(川贝雪梨糖浆、氢溴酸右美沙芬组),羚贝止咳糖浆低、中、高剂量(1.27,2.55,5.1 g·kg⁻¹)组,每组8只,通过豚鼠枸橼酸引咳实验考察羚贝止咳糖浆镇咳作用。将60只豚鼠随机分为模型组,阳性药组(川贝雪梨糖浆、氨茶碱组),羚贝止咳糖浆低、中、高剂量(1.27,2.55,5.1 g·kg⁻¹)组,每组10只,通过豚鼠氯化乙酰胆碱、磷酸组胺混合引喘实验考察羚贝止咳糖浆平喘作用。取健康小鼠68只,利用烟叶和刨花各50g早晚各熏蒸1次,1次30min,连续熏蒸7d,建立小鼠支气管炎模型,通过苏木素-伊红(hematoxylin and eosin,HE)染色法判定模型建立成功,小鼠支气管炎模型建立成功后通过免疫荧光组织化学法(immunofluorescent histochemistry,IHC)比较空白组、模型组、川贝雪梨糖浆组及羚贝止咳糖浆低、中、高剂量(2.14,4.28,8.56 g·kg⁻¹)组,肺部组织病理性凋亡相关蛋白B细胞淋巴瘤/白血病-2(B celllymphoma/leukemia-2,Bcl-2),自杀相关因子(factorassociatedsuicide,Fas)的积分吸光度,研究羚贝止咳糖浆对小鼠支气管炎模型肺部组织病理性凋亡相关蛋白Bcl-2,Fas蛋白表达量的影响。**结果:**羚贝止咳糖浆显著延长豚鼠咳嗽潜伏期,减少咳嗽次数。延长豚鼠引喘潜伏期。HE染色结果显示成功建立小鼠急性支气管炎模型,免疫荧光化学法结果显示,羚贝止咳糖浆可显著增加炎症肺组织Bcl-2蛋白,减少Fas蛋白的表达。**结论:**羚贝止咳糖浆通过调控肺部组织凋亡相关蛋白Bcl-2,Fas抑制肺部组织病理性凋亡,帮助恢复组织正常结构减轻肺组织炎症发挥止咳平喘作用。

[关键词] 羚贝止咳糖浆; 止咳; 平喘; 凋亡; 炎症反应

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)22-0149-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2017220149

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170906.1337.018.html>

[网络出版时间] 2017-09-06 13:37

Antitussive and Antiasthmatic Effect and Its Mechanism of Lingbei Zhike Syrup

LI Xiu-li¹, LIU Tong-yan², LI Ping², ZHANG Cui-yan², CHEN Zhi-guo², XU Dian-da²,
WANG Ya-meng¹, WANG Yu-ying¹, YANG Jing-xian^{1*}

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China;

2. Jilin Aodong Group Liyuan Pharmaceutical Limited Company, Dunhua 133700, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antitussive and antiasthmatic effect of Lingbei Zhike syrup and conduct the experimental study on reducing lung tissue's pathological apoptosis to reach the antiasthmatic effect. **Method:** The 48 guinea pigs were randomly divided into model group, positive control group (Chuanbei Xueli syrup, Dextromethorphan Hydrobromide group), Lingbei Zhike syrup low, medium and high dose groups (1.27, 2.55, 5.1 g·kg⁻¹), *n* = 8 in each group. Citric acid-induced cough experiment in guinea pig was used to investigate the antitussive effect of Lingbei Zhike syrup. The 60 guinea pigs were randomly divided into model control group, positive control group (Chuanbei Xueli syrup, aminophylline group), Lingbei Zhike syrup low, medium and high dose groups (1.27, 2.55, 5.1 g·kg⁻¹), *n* = 10 in each group. Acetylcholine-histamine

[收稿日期] 20170515(013)

[基金项目] 吉林省科技发展计划项目(20150311113YY)

[第一作者] 李秀丽, 硕士, 从事中药药理学研究, Tel:13644027195, E-mail:1280494630@qq.com

[通讯作者] * 杨静娴, 博士生导师, 教授, 从事神经药理学研究, Tel:0411-87586009, E-mail:jingxianyang@163.com

phosphate-induced asthma experiment was used to investigate the antiasthmatic effect of Lingbei Zhike syrup. In 68 healthy mice, 50 g tobacco leaves and wood shavings were fumigated once respectively in the morning and evening, 30 min/time for continuous 7 days to establish bronchitis models. Hematoxylin and eosin (HE) staining was used to determine whether the models were successfully established. After successful modeling, immunofluorescence histochemistry (IHC) method was used to compare the blank control group, model control group, Chuanbei Xueli syrup group, and Lingbei Zhike syrup low, middle and high dose groups (2.14, 4.28, 8.56 g·kg⁻¹) in lung tissue pathological apoptosis related protein B cell lymphoma / leukemia-2 (Bcl-2) and integral optical density value of factor associated suicide (Fas), so as to investigate the effects of Lingbei Zhike syrup on apoptosis related protein Bcl-2 and Fas protein expression levels in lung tissues of bronchitis models. **Result:** Lingbei Zhike syrup could significantly prolong cough incubation period of guinea pigs and decrease the frequency of cough. HE staining showed that the mouse models of acute bronchitis were successfully established. Immunohistochemistry results showed that Lingbei Zhike syrup could significantly increase the expression level of Bcl-2 protein in lung tissues with inflammation and reduce the expression of Fas protein. **Conclusion:** Lingbei Zhike syrup could inhibit lung tissue's pathological apoptosis through regulating the expression of apoptosis-related proteins Bcl-2 and Fas, thus helping to restore the normal tissue structure and reduce lung tissue inflammation in playing antiasthmatic effects.

[**Key words**] Lingbei Zhike syrup; cough; asthma; apoptosis; inflammation

咳嗽是一种气道对于刺激的生理反应和防御机制,可由多种因素引起,气道炎症是其主要发病机制^[1-2]。哮喘即支气管哮喘是一种由多因素引起的以可逆性气道阻塞、气道高反应性和气道炎症为特征的免疫变态反应性疾病,其中以气道炎症为最主要的病理变化,咳嗽、哮喘等呼吸道疾病发病时严重影响患者正常生活,因此止咳平喘药物的研发一直受到重视,近年来中药方剂及单体治疗咳嗽、哮喘的取得了良好效果^[3-4]。羚贝止咳糖浆是临床上广泛应用的一种中成药,由紫苑(蜜),茯苓,麻黄,知母,金银花,陈皮,半夏(姜),前胡,远志(制),平贝母,罂粟壳,山楂,羚羊角共 13 味中药组成,具有宣肺化痰、止咳平喘的作用,临床常用于治疗小儿感冒、急性慢性支气管炎等引起的发热、咳嗽、咯痰、喘息等证,疗效显著。但对其止咳平喘作用的疗效研究及机制探讨尚未见报道。本研究对其止咳、平喘作用及其机制进行了探讨。咳嗽及支气管哮喘均是气道炎症性疾病,发病时支气管黏膜上皮细胞损伤、渗出、水肿造成炎症反应使气管、支气管黏膜充血、肿胀,上皮细胞脱落,气管、支气管黏膜的损伤过程中伴随有黏膜上皮细胞的大量凋亡等肺部组织病理性损伤。因此,减少气管、支气管黏膜上皮细胞的病理性凋亡可以帮助肺组织恢复正常的结构,减轻气道炎症的发生和发展从而发挥对气道炎症性疾病咳嗽、哮喘等的治疗作用。凋亡是普遍存在于生物体内的细胞程序性死亡,发挥清除机体多余和衰老细胞维持组织正常生理活性的作用。B 细胞淋巴瘤/白血病-2

(B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2), 自杀相关因子 (factor associated suicide, Fas) 是 2 种重要的凋亡调节蛋白^[5-6]。因此本实验通过检测羚贝止咳糖浆止咳平喘效果及对急性支气管炎模型肺组织细胞凋亡相关蛋白 Bcl-2, Fas 的影响,探究羚贝止咳糖浆止咳平喘效果及羚贝止咳糖浆通过调控肺部组织凋亡相关蛋白 Fas, Bcl-2 的表达抑制肺部组织凋亡,帮助恢复组织正常结构,从而减轻肺组织炎症发挥止咳平喘作用的机制。

1 材料

1.1 动物 健康豚鼠,体重 150 ~ 200 g,雌雄各半,购自济南金丰实验动物有限公司,合格证号 SCXK(鲁)2014-0006。SPF 级昆明种(KM)小鼠,体重 18 ~ 22 g,雌雄各半,购自辽宁长生生物技术有限公司,合格证号 SCXK(辽)2015-0001;实验动物的开展取得了辽宁中医药大学实验动物伦理委员会批准。

1.2 仪器 YLS-8A 型诱咳引喘仪(济南益延科技发展有限公司);TP-114 型电子天平(美国 Denver Instrument 公司);CM-1850 型冰冻切片机(德国 Leica 公司);Ti-S 型荧光倒置显微镜(日本 Nikon 公司);DW-86L386 海尔超低温保存箱(青岛海尔股份有限公司)。

1.3 药物与试剂 羚贝止咳糖浆(国药准字 Z22022341,吉林敖东力源制药有限公司,批号 161101);川贝雪梨糖浆(李时珍医药集团有限公司,批号 201604007);氢溴酸右美沙芬(珠海联邦制

药股份有限公司,批号 60504401);氨茶碱(北京索莱宝科技有限公司,批号 20160510);蔗糖、氨水(天津凯信化学工业有限公司,批号分别为 20160217, 20140320);磷酸组胺,枸橼酸,磷酸盐缓冲液(PBS),苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号分别为 K1618104, 225A0413, 11310227, 20150623);兔抗 Fas, Bcl-2 抗体(北京博奥森公司,批号分别为 AD112006G, AF09209587G);驴抗兔 Cy3 标记二抗(美国 Jackson 公司,批号 120991);OCT 包埋剂(美国 Sakura 公司,批号 5314-00);中性树胶、氯化乙酰胆碱(国药集团化学试剂有限公司,批号分别为 20110817, 20150323);无水乙醇(天津市大茂化学试剂厂,批号 20160308);多聚甲醛、盐酸(天津市科密欧化学试剂有限公司,批号分别为 20130429, 20140403)。

2 方法

2.1 豚鼠枸橼酸引咳实验 取体重约 250 g 的豚鼠若干,雌雄各半,实验前将其逐只放入 YLS-8A 多功能诱咳引喘仪中,由仪器喷雾 17.5% 枸橼酸(又名柠檬酸)溶液(气流速度 $0.15 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$),喷雾 1 min,记录咳嗽潜伏期和 5 min 内咳嗽次数。5 min 内咳嗽次数 < 10 次者弃除不用。取上述筛选合格的豚鼠 48 只,随机分为 6 组,分别为羚贝止咳糖浆低、中、高剂量 ($1.27, 2.55, 5.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组,川贝雪梨糖浆组 ($1.28 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),氢溴酸右美沙芬组 ($0.0093 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),模型组,每组 8 只。各组每天灌胃给药 1 次,连续 7 d,模型组给予等容积 60% 蔗糖水溶液。末次给药 1 h 后将豚鼠逐只放入诱咳引喘仪中,按上法喷入 17.5% 枸橼酸溶液,喷雾 1 min,记录豚鼠咳嗽潜伏期和 5 min 内咳嗽次数,潜伏期超过 5 min 者以 5 min 计,比较各组差异^[7-9]。

2.2 豚鼠氯化乙酰胆碱和磷酸组胺混合引喘实验

取 150 ~ 200 g 幼年豚鼠若干只,分别置于诱咳引喘仪内,以 500 mmHg ($1 \text{ mmHg} = 0.133 \text{ kPa}$) 压力喷入 2% 氯化乙酰胆碱和 0.1% 磷酸组胺等容积混合液,喷雾时间 20 s。豚鼠在吸入以上药液后经过一定的潜伏期,即可产生哮喘反应(呼吸困难、抽搐、跌倒)。观察记录引喘潜伏期,一般不超过 120 s,如超过者则作为不敏感,不予选用。将筛选出的敏感豚鼠 60 只随机分为 6 组,每组 10 只,分别为羚贝止咳糖浆低、中、高剂量 ($1.27, 2.55, 5.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组,川贝雪梨糖浆组 ($1.28 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),氨茶碱 ($0.125 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),模型组。羚贝止咳糖浆和川贝雪梨糖浆每天灌胃给药 1 次,连续 7 d,模型组灌胃给

予等容积的 60% 蔗糖水溶液;氨茶碱组于引喘前腹腔注射氨茶碱 ($0.125 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),30 min 后放入引喘仪内,按预选时条件再次喷雾,重新测定各组引喘潜伏期^[10-12]。

2.3 急性支气管炎模型建立 取健康昆明种小鼠 68 只,雌雄各半,体重 18 ~ 22 g,随机选取 54 只在自制烟熏箱中用烟叶和刨花各 50 g 早晚各熏蒸 1 次,1 次 30 min,连续熏蒸 7 d,制备急性气管炎模型^[13-14]。

2.4 苏木素-伊红(HE)染色法判定急性支气管炎模型建立 分别随机选取模型组和空白组小鼠各 4 只,利用 20% 乌拉坦将其麻醉,取出肺组织包埋。利用恒冷切片机对组织进行连续切片,片厚 $10 \mu\text{m}$,将组织切片贴于静电吸附载玻片上,室温自然干燥,将切片密封于切片盒中, $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存。冰冻切片自冰箱取出,室温自然晾干;70%, 80%, 90% 乙醇分别固定 5 ~ 8 s,蒸馏水稍洗 5 ~ 10 s;苏木精染液 ($50 \sim 60 \text{ }^\circ\text{C}$) 染色 30 s,流水洗去苏木素液 5 ~ 10 s;1% 盐酸乙醇分化液分化 5 ~ 8 s,流水洗 5 ~ 10 s;0.5% 氨水返蓝液 10 ~ 15 s,流水冲洗 10 ~ 20 s;伊红染液染色 5 ~ 8 s,流水冲洗 5 ~ 10 s;70%, 80%, 90% 乙醇分别脱水 5 ~ 8 s,切片晾干,中性树胶封片。置于倒置显微镜下观察肺组织结构变化。

2.5 免疫荧光组织化学染色检测各组小鼠肺组织 Bcl-2 和 Fas 蛋白表达 小鼠急性支气管炎模型建立成功后将模型组小鼠 50 只随机分为 5 组(每组 10 只,雌雄各半):羚贝止咳糖浆低、中、高 3 个剂量 ($2.14, 4.28, 8.56 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组,川贝雪梨糖浆 ($11.7 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组、模型组,另取正常饲养小鼠 10 只为空白组。各造模组从确认造模成功后第 1 天起开始灌胃给药,每日 1 次,用药 7 d;模型组和空白组给予等体积 60% 蔗糖溶液灌胃。治疗 7 d 后处死小鼠,开胸取出肺组织,制备病理切片,取出肺切片,置于室温平衡 30 min 后,经 4% 多聚甲醛固定 30 min, PBS 轻轻润洗 5 min \times 3 次;加入 1% Triton X-100 透化 30 min, PBS 洗 5 min \times 3 次;3% BSA 溶液封闭 1 h, PBS 洗 5 min \times 3 次;加入一抗(兔抗 Bcl-2, Fas, 1:150), $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育过夜;次日 PBS 轻轻洗涤 3 次后加入 Cy3 标记的种属特异性二抗(1:200),避光室温孵育 1 h, PBS 洗 5 min \times 3 次;加入 DAPI 染色液避光室温孵育 15 min, PBS 洗涤 3 次;抗荧光淬灭封片剂封片,于荧光显微镜下观察。每组小鼠选取 10 张切片标本,观察各个肺组织切片,使用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件分析其积分吸光度 IA, IA 越

大蛋白表达量越高^[15-16]。

2.6 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,多重比较采用 Student-Newman-Keuls test (SNK) 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 羚贝止咳糖浆对豚鼠咳嗽次数及潜伏期的影响 羚贝止咳糖浆低、中、高剂量组豚鼠 5 min 内咳嗽次数明显减少,与模型组比较有显著性差异 ($P < 0.01$),说明羚贝止咳糖浆能减少枸橼酸引起的豚鼠咳嗽次数,高剂量组与氢溴酸右美沙芬组比较无明显差异,中剂量组和川贝雪梨糖浆组比较无明显差异。同时羚贝止咳糖浆低、中、高剂量组能有效延长豚鼠咳嗽潜伏期,与模型组比较有显著性差异 ($P < 0.01$),说明羚贝止咳糖浆能延长枸橼酸引起的豚鼠咳嗽潜伏期。作用强度与川贝雪梨糖浆类似,但弱于氢溴酸右美沙芬 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 羚贝止咳糖浆对豚鼠枸橼酸引咳 5 min 内咳嗽次数及咳嗽潜伏期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of Lingbei Zhike syrup on citric acid-induced cough in guinea pig ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量	咳嗽潜伏期/s	咳嗽次数/次
模型	-	82.16 ± 3.56	16.25 ± 1.39
羚贝止咳糖浆	1.27 g·kg ⁻¹	104.38 ± 4.50 ^{1, 3)}	13.00 ± 1.31 ^{1, 3)}
	2.55 g·kg ⁻¹	114.25 ± 4.20 ^{1, 3)}	9.25 ± 1.28 ^{1, 3)}
	5.1 g·kg ⁻¹	125.50 ± 3.38 ^{1, 3)}	8.00 ± 1.31 ¹⁾
氢溴酸右美沙芬	0.009 3 g·kg ⁻¹	125.00 ± 5.10 ¹⁾	7.94 ± 1.83 ¹⁾
川贝雪梨糖浆	1.28 mL·kg ⁻¹	113.38 ± 4.63 ^{1, 3)}	9.63 ± 2.33 ^{1, 2)}

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$;与氢溴酸右美沙芬组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 羚贝止咳糖浆对豚鼠引喘潜伏期的影响 羚贝止咳糖浆低、中、高剂量组能有效延长豚鼠氯化乙酰胆碱和磷酸组胺引起的哮喘潜伏期,与模型组比较有显著性差异 ($P < 0.01$),说明羚贝止咳糖浆能延长氯化乙酰胆碱和磷酸组胺引起的豚鼠引喘潜伏期。中剂量作用强度与川贝雪梨糖浆类似,但弱于氨茶碱 ($P < 0.01$),高剂量作用强度与氨茶碱类似。见表 2。

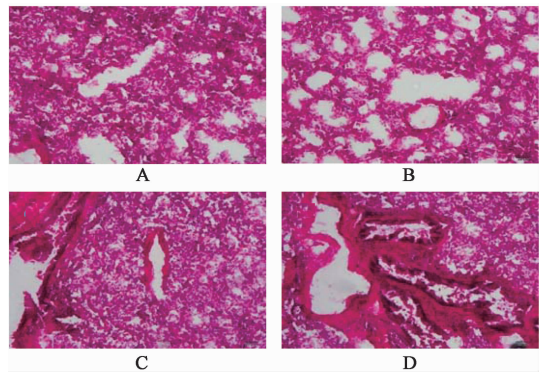
3.3 成功建立小鼠急性支气管炎模型 模型组可见支气管黏膜充血,肿胀,黏膜下有中性粒细胞浸润,分泌物增加,肺泡上皮增生明显等明显损伤,正常组小鼠可见肺内各级组织明显,结构清晰,无病理损伤。证明小鼠急性支气管炎模型制备成功。见图 1。

表 2 羚贝止咳糖浆对豚鼠磷酸组胺引咳哮喘潜伏期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of Lingbei Zhike syrup on asthma induced by acetylcholine chloride and histamine phosphate in guinea pig ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	引喘潜伏期/s
模型	-	39.1 ± 2.42
羚贝止咳糖浆	1.27 g·kg ⁻¹	44.2 ± 3.52 ^{1, 2)}
	2.55 g·kg ⁻¹	55.1 ± 8.56 ^{1, 2)}
	5.1 g·kg ⁻¹	66.4 ± 5.10 ¹⁾
川贝雪梨糖浆	1.28 mL·kg ⁻¹	50.8 ± 5.73 ^{1, 2)}
氨茶碱	0.125 g·kg ⁻¹	71.5 ± 5.99 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$;与氨茶碱组比较²⁾ $P < 0.01$ 。



A, B. 正常组; C, D. 模型组

图 1 小鼠急性支气管炎模型肺组织结构 (HE, ×400)

Fig. 1 Lung tissue structure in mice with acute bronchitis (HE, ×400)

3.4 羚贝止咳糖浆对各组小鼠肺组织 Bcl-2 和 Fas 蛋白表达的影响 免疫荧光组织化学法检测肺组织 Bcl-2 蛋白和 Fas 蛋白表达。模型组、低剂量组 Fas 1A 较正常组高 ($P < 0.05$),低剂量组较模型组无明显变化,中、高剂量组及川贝雪梨糖浆组较模型组低 ($P < 0.05$);模型组、低剂量组 Bcl-2 1A 较正常组低 ($P < 0.05$),低剂量组较模型组无明显变化,中、高剂量组及川贝雪梨糖浆组较模型组高 ($P < 0.05$)。羚贝止咳糖浆中、高能显著提高急性支气管炎小鼠 Bcl-2 1A。羚贝止咳糖浆低、中、高剂量显著降低急性支气管炎小鼠 Fas 1A。见表 3,图 2,3。

4 讨论

咳嗽是人体清除呼吸道内的分泌物或异物的保护性呼吸反射动作引起咳嗽的常见疾病主要有上呼吸道感染,支气管炎,肺炎等,气道炎症是主要发病机制之一,白细胞介素 (IL)-1,肿瘤坏死因子 (TNF)- α , IL-6, IL-8 以及嗜酸细胞等炎症因子的释放都可能导致气道炎症引发咳嗽^[17]。哮喘即支

表 3 羚贝止咳糖浆对各组小鼠肺组织中 Bcl-2, Fas 蛋白表达 IA 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of Lingbeizhike syrup on protein levels of Bcl-2 and Fas ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	Bcl-2	Fas
空白	-	1.19 ± 0.03	0.96 ± 0.11
模型	-	1.04 ± 0.12 ¹⁾	1.09 ± 0.18 ¹⁾
羚贝止咳糖浆	2.14 g·kg ⁻¹	1.07 ± 0.10 ¹⁾	1.08 ± 0.13 ¹⁾
	4.28 g·kg ⁻¹	1.14 ± 0.07 ²⁾	0.96 ± 0.09 ²⁾
	8.56 g·kg ⁻¹	1.16 ± 0.11 ²⁾	0.98 ± 0.10 ²⁾
川贝雪梨糖浆	11.7 mL·kg ⁻¹	1.16 ± 0.09 ²⁾	0.98 ± 0.06 ²⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

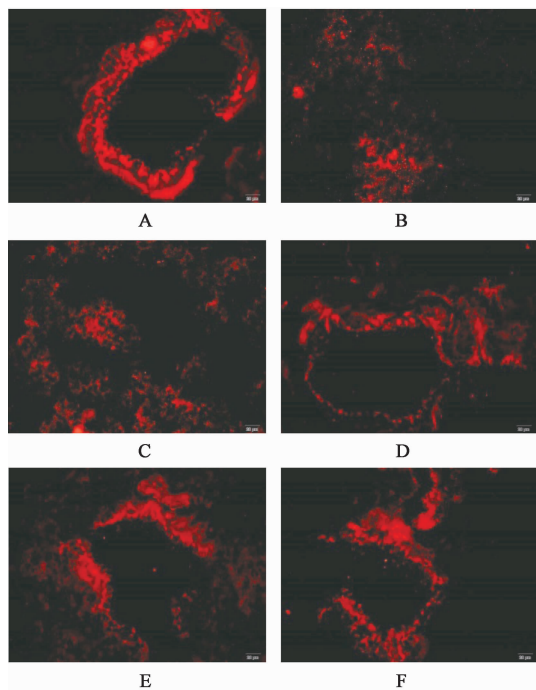


图 2 羚贝止咳糖浆对小鼠肺组织中 Bcl-2 蛋白表达的影响 (IHC, ×400)

Fig. 2 Effect of Lingbeizhike syrup on protein levels of Bcl-2 (IHC, ×400)

气管哮喘是以可逆性气道阻塞、气道高反应性和气道炎症为特征的免疫变态反应性疾病,其中以气道炎症为最主要的病理变化。咳嗽与哮喘作为呼吸道炎症性疾病炎症反应是共同的主要发病机制。研究表明在气管、支气管黏膜损伤产生炎症反应的过程中伴随有黏膜上皮细胞的大量凋亡^[18-19]。

凋亡是普遍存在于生物体内的细胞程序性死亡。凋亡可清除机体多余和衰老的细胞维持组织正

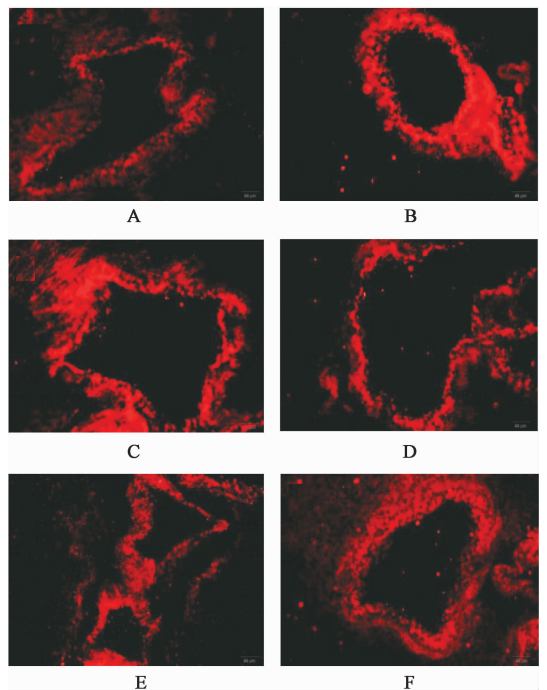


图 3 羚贝止咳糖浆对小鼠肺组织中 Fas 蛋白表达量的影响 (IHC, ×400)

Fig. 3 Effect of Lingbeizhike syrup on protein levels of Fas (IHC, ×400)

常生理活性。Bcl-2 家族在各类刺激信号引起的凋亡中起到关键的作用^[20],是最重要的凋亡调节蛋白,Bcl-2 增高,抑制细胞凋亡。Fas 及其配体 FasL 是细胞凋亡的膜表面分子,Fas 基因产物是细胞膜表面受体蛋白,它与 T 淋巴细胞膜上 FasL 结合,向细胞内传递细胞凋亡信息,诱导靶细胞发生凋亡^[21]。Bcl-2 增加和 Fas 减少的共同作用可使受损伤的肺组织气管、支气管黏膜上皮细胞的病理性凋亡减少,使肺组织恢复正常的生理结构,以减轻气道炎症的发生发展^[22-24],从而治疗以气道炎症为主要发病机制的咳嗽、哮喘等症。

咳、喘、炎是呼吸系统疾病的常见症状,羚贝止咳糖浆以金银花,麻黄,平贝母等 13 味中药组方,其中金银花散肺经热邪透热达表,前胡宣发肺气,止咳化痰,麻黄疏散风寒,善宣肺气,降气平喘,平贝、紫菀、远志均有化痰止咳的功效,罂粟壳敛肺止咳,半夏、陈皮、茯苓燥湿理气和中配以知母生津润燥,燥中有润而不伤肺胃阴。诸药合用,寒热并举,同用降气,宣肺,敛肺等各法,有散有收,有燥有润,以止咳,平喘为主要功效。本实验研究结果表明羚贝止咳糖浆能有效减少枸橼酸引起的豚鼠咳嗽次数,延长咳嗽潜伏期。羚贝止咳糖浆显著延长豚鼠的引喘潜伏期,并增加小鼠支气管炎模型肺组织中的凋亡相关

蛋白 Bcl-2 的表达量,减少凋亡相关蛋白 Fas 的表达量,减轻小鼠支气管炎模型的肺组织气管、支气管黏膜上皮细胞等的病理性凋亡。

综上所述羚贝止咳糖浆在咳嗽、哮喘的治疗中对于延长咳嗽潜伏期,减少咳嗽次数,延长哮喘潜伏期有显著作用。本实验还证实了羚贝止咳糖浆对咳嗽、哮喘的治疗与肺组织凋亡有关,其机制可能在于调控 Bcl-2 与 Fas 蛋白的表达,减轻肺组织炎症引起的气管、支气管黏膜上皮细胞等的病理性凋亡,帮助修复肺组织正常生理结构减轻肺组织炎症,发挥止咳平喘的作用,为临床应用开拓了思路。

[参考文献]

[1] 汤长文,李国平.慢性咳嗽病因及发病机制研究进展[J].西南军医,2010,12(1):112-114.

[2] 李杰,况九龙.慢性咳嗽的研究进展[J].江西医药,2005,40(2):105-107.

[3] 李学良,许朝霞,王忆勤.支气管哮喘发病机制的研究进展[J].中华中医药学刊,2012,30(9):1960-1963.

[4] 张文晋,刘悦,张新慧.回药治疗哮喘方剂收集整理[J].中国中药杂志,2015,40(4):753-757.

[5] 王彤,刘存志,刘玉珍,等. bcl-2/bax 基因调控机体细胞凋亡的机制研究进展[J].中国老年学,2008,28(16):1658-1660.

[6] 沈忠英.细胞凋亡研究进展[J].中华病理学杂志,2000,29(1):63-65.

[7] 刘林,杨蕙,廖君,等.双黄花颗粒镇咳祛痰及免疫作用研究[J].药物评价研究,2013,36(6):431-434.

[8] 刘军,石璐,黄雷雷,等.枸橼酸引咳豚鼠动物模型的方法学研究[J].四川医学,2009,30(4):462-464.

[9] 刘昌发,冯国清,付润芳,等.复方美沙芬颗粒对枸橼酸引咳豚鼠镇咳及对蟾蜍食管纤毛运动的作用[J].郑州大学学报:医学版,2007,42(3):528-530.

[10] 吴秀荣,李红念,梅全喜,等.沉香叶与沉香药材平喘作用的对比研究[J].今日药学,2013,23(6):346-347.

[11] 赵庆大,刘萍,蔡乐,等.两益汤对哮喘豚鼠引喘潜伏期及 TNF- α 、IL-4 水平的影响[J].西部中医药,2013,26(5):16-18.

[12] 陈强,周春权,朱贲峰,等.鹅不食草挥发油平喘作用的实验研究[J].中国现代应用药学,2010,27(6):473-476.

[13] 吕民英.小儿清肺止咳口服液对急性支气管炎模型小鼠肺组织 Bcl-2、Fas 表达影响的研究[D].郑州:河南中医学院,2014.

[14] 阮斌,胡还甫,余林岚.清宣止咳颗粒对急性支气管炎模型大鼠的影响[J].首都医药,2010,17(6):43-44.

[15] 陶震宇,孔亮,姚瓊珈,等.蛇床子素对机械性脑损伤小鼠的治疗作用研究[J].中国新药杂志,2016,25(5):589-593.

[16] 孔亮,姚瓊珈,教亚男,等.蛇床子素对机械性脑损伤小鼠的抗炎抗凋亡作用研究[J].中国药理学通报,2015,31(7):999-1004.

[17] Footitt J, Johnston S L. Cough and viruses in airways disease: mechanisms[J]. Pulm Pharmacol Ther, 2009, 22(2):108-130.

[18] 白敏,刁晓源,张湘燕,等.支气管哮喘发病机制研究进展[J].医学综述,2009,15(15):2294-2297.

[19] 杭敏.呼吸道病毒感染与细胞凋亡[J].中华实验和临床病毒学杂志,2006,20(3):298-300.

[20] Babu P P, Suzuki G, Ono Y, et al. Attenuation of ischemia and/or reperfusion injury during myocardial infarction using mild hypothermia in rats: an immunohistochemical study of Bcl-2, Bax, Bak and TUNEL[J]. Pathol Int, 2004, 54(12):896.

[21] 朱红艳,徐济良,朱清,等.南瓜多糖对糖尿病大鼠胰岛 Fas、Fas-L、Bcl-2 及 Bax 表达的影响[J].中国药理学通报,2009,25(2):248-251.

[22] 孙经武,王艳艳,房灿.藏红花酸预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤中炎症反应和细胞凋亡的影响及其机制[J].中国循环杂志,2015,30(2):172-175.

[23] 赖克方.细胞凋亡在炎症消退中的作用[J].国际呼吸杂志,1999,19(3):119-121.

[24] 张文瑾,郑树森.早期凋亡细胞抑制 LPS 诱导炎症反应的研究[J].中华微生物学和免疫学杂志,2005,25(3):208-213.

[责任编辑 邹晓翠]