

# 麻杏石甘汤煎煮方式对哮喘模型小鼠气道黏液分泌和急性低氧环境的影响

孙雪文<sup>1\*</sup>, 韩凤芹<sup>1</sup>, 张志涛<sup>2</sup>, 张新国<sup>1</sup>

(1. 河北工程大学医学院, 河北 邯郸 056002; 2. 邯郸市中心医院, 河北 邯郸 056001)

**[摘要]** **目的:** 观察麻杏石甘汤不同煎煮法对哮喘模型小鼠气道黏蛋白 MUC5AC 及缺氧诱导因子 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) 的影响。**方法:** 将小鼠随机分为 5 组 (正常对照组, 哮喘模型组, 麻杏石甘汤分煎组, 麻杏石甘汤同煎 A 组, 麻杏石甘汤同煎 B 组), 每组 10 只, 除正常对照组外, 其他各组均用鸡卵白蛋白 (OVA) 腹腔注射致敏小鼠, 并以低浓度 OVA 雾化吸入激发制作哮喘模型。麻杏石甘汤先煎组、麻杏石甘汤同煎 A 组、麻杏石甘汤同煎 B 组从激发开始连续 7 d 灌胃给药, 测定各组小鼠支气管肺泡灌洗液 MUC5AC 及肺组织匀浆 HIF-1 $\alpha$  浓度。**结果:** 麻杏石甘汤先煎组降低小鼠支气管肺泡灌洗液 MUC5AC 及肺组织匀浆 HIF-1 $\alpha$  浓度优于麻杏石甘汤同煎 B 组和麻杏石甘汤同煎 A 组 ( $P < 0.01$ )。**结论:** 麻杏石甘汤除去麻黄上沫的煎煮法最理想, 其降低支气管哮喘气道黏液高分泌和改善急性低氧环境的效果最佳。

**[关键词]** 支气管哮喘; 黏液蛋白; 缺氧诱导因子 1 $\alpha$ ; 麻杏石甘汤

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0030-03

## Effects of Different Boiling Methods of Mxing Shigan Decoction on Acute Hypoxia Environment and Mucus Secretion in Airway of Asthmatic Model Mice

SUN Xue-wen<sup>1\*</sup>, HAN Feng-qin<sup>1</sup>, ZANG Zhi-tao<sup>2</sup>, ZHANG Xin-guo<sup>1</sup>

(1. Medical College of Hebei University of Engineering, Handan 056002, China;

2. Handan Central Hospital, Handan 056001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe effects of different boiling methods of Mxing Shigan decoction on hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) and MUC5AC in the airway of asthmatic model mice. **Method:** 50 qualified mice were randomly divided into 5 groups with 10 in each (normal control group, model group, Mxing Shigan decoction divided boiling group, Mxing Shigan decoction same boiling group A and Mxing Shigan decoction same boiling group B), except for the normal control group, mice in all other groups were sensitized with ovalbumin (OVA) by intraperitoneal injection, and asthmatic models were made by atomization inhalation stimulation with low concentration of OVA. Treatment groups were administered medicine for 7 days from stimulating, MUC5AC in bronchial lavage fluid and HIF-1 $\alpha$  in lung tissues of all groups were determined. **Result:** Mxing Shigan decoction divided boiling group reduced the concentration of MUC5AC and HIF-1 $\alpha$  was better than group A and group B ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Mxing Shigan decoction boiling method with Herba Ephedrae scum eliminated had the best effects, its effect was optimum in reducing mucus hypersecretion in the airway of bronchial asthma and improving acute hypoxia environment.

**[Key words]** bronchial asthma; mucus protein; hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ ; Mxing Shigan decoction

**[收稿日期]** 20120915(010)

**[基金项目]** 河北省中医药管理局科研项目(2010120)

**[通讯作者]** \* 孙雪文, 硕士, 讲师, 从事中西医结合研究, Tel: 0310-8575130, E-mail: aide\_wen@ yahoo. com. cn

麻杏石甘汤源自张仲景的《伤寒杂病论》,由麻黄、杏仁、炙甘草及生石膏组成,常作为治疗肺热型支气管哮喘的基础方,麻黄配伍杏仁宣肺平喘,麻黄配伍石膏清热平喘,炙甘草益气和缓,四药配伍,互相补充。经方要求麻黄去节,先煮去上沫,后入余药<sup>[1-2]</sup>,陶弘景认为节能止汗,浮沫令人烦。研究发现麻黄“上沫”的热解产物是多种化学物质组成的有机化合物,麻黄“上沫”中含量最高的物质为苯甲醛,占总成分 45.28%<sup>[3]</sup>。苯甲醛广泛存在于各种植物的茎、皮、叶及种子中,能抑菌防腐,对植物新鲜苗壮生长起促进作用,但过多对人体胃与气道黏膜均产生刺激性伤害,滞塞支气管及肺部组织气机。本实验旨在考察麻杏石甘汤采用不同方法煎煮后,对哮喘模型小鼠气道黏液分泌和急性低氧环境的影响,以深入理解经方汤剂煎煮法奥妙,为其临床应用提供实验依据。

## 1 材料

清洁级昆明小鼠 50 只,雌雄各半,体重(25 ~ 30)g,购于河北医科大学实验动物中心,许可证号 SCXK(冀)2008-1-003,实验动物使用合格证号 1105041。

麻黄、杏仁、生石膏、炙甘草均购于河北邯郸同仁堂药店,均符合《中国药典》2010 年版一部相关项下要求;鸡卵白蛋白(OVA,美国 Sigma 公司,批号 A5503),氢氧化铝干粉(河北五岳制药厂,批号 H13024551),吸附白百破联合疫苗(长春生物制品研究所,批号 S10820201),氯化钠注射液(上海华中药业有限公司,批号 H41024087),小鼠黏蛋白(MUC5AC)ELISA 及缺氧诱导因子 1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )ELISA 试剂盒(美国 Santa Cruz 公司),试剂均为分析纯。

WooI 型超声雾化吸入器(上海富林医疗设备有限公司),FA2004 型电子分析天平(上海精科天平厂),LDZ5-2 型低速自动平衡离心机(北京医用离心机厂),DW-86L288 型海尔超低温冰箱(青岛海尔冰箱厂),RT-2100C 型酶标仪(美国雷杜公司)。

## 2 方法与结果

**2.1 动物分组** 依据随机数字表法将动物随机分为 5 组,即正常对照组、哮喘模型组、麻杏石甘汤先煎组、麻杏石甘汤同煎 A 组和麻杏石甘汤同煎 B 组,每组 10 只。

**2.2 建立动物模型**<sup>[4]</sup> 哮喘模型小鼠的建立分致敏和激发两步。除正常对照组外,其余 4 组于第 1, 8 d 分别腹腔注射抗原液 0.2 mL(含卵蛋白 20  $\mu$ g,

吸附白百破联合疫苗 0.1 mL 和氢氧化铝干粉 1 mg)致敏,自第 14 d 开始将小鼠放入不完全封闭的玻璃箱内,予 1% OVA 生理盐水溶液喷雾激发,每日 1 次,每次 20 min,共激发 7 d,以小鼠出现点头呼吸、缩胸收腹、呼吸急促、活动频繁、跌撞为诱喘成功。正常对照组腹腔注射和喷雾等剂量生理盐水。

**2.3 汤药制备与给药方式** 煎煮方法包括①麻杏石甘汤先煎法:加 1.40 L 水浸泡麻黄于砂锅 30 min,煮沸,用压舌板掠去上沫,放入其他药味,煮沸 20 min,取清汁 150 mL,温时罐胃;②麻杏石甘汤同煎法 A:加 700 mL 水将 4 味药同时浸泡 30 min,煮沸,不去上沫,文火煎煮 10 min,取净汁 150 mL,待温罐胃;③麻杏石甘汤同煎法 B:4 味药加 1 400 mL 水同时浸泡 30 min,煮沸,不去上沫,煎煮 25 min,取清汁 150 mL。每次激发前 0.5 h 给予药物干预,从第 1 次哮喘激发开始至处死前每日温药灌胃。麻杏石甘汤灌胃剂量为每只 0.6 mL/次,每日 1 次,连续 7 d。正常对照组和哮喘模型组给予等剂量生理盐水。

**2.4 采集标本与检测项目** 小鼠麻醉后,开胸结扎右主支气管,用 37  $^{\circ}$ C 无菌生理盐水 1 mL 推入右主支气管,反复抽吸 3 次,回收支气管肺泡灌洗液,并重复上述过程 1 次,总灌洗液以 1 500  $r \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,取上清分装;切取右肺上叶称重,玻片捣碎移入玻璃匀浆器,加入 2 倍量生理盐水,充分研碎使肺组织匀浆化,制好的匀浆以 2 000  $r \cdot \text{min}^{-1}$  离心 20 min,取上清液分装, -20  $^{\circ}$ C 低温冰箱保存待测。采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法检测小鼠支气管肺泡灌洗液 MUC5AC 和 HIF-1 $\alpha$  浓度,按试剂盒说明书操作,于 450 nm 处读取酶标仪上各孔的吸光度(A),以样品 A 为纵坐标,对照品 A 为横坐标作曲线,查出测定样品的质量浓度。应用 SPSS 12.0 统计软件进行统计学处理,以完全随机设计资料的方差分析进行比较,采用 SNK-q 检验对多样本均数进行两两比较。结果正常对照组、哮喘模型组、麻杏石甘汤先煎组、麻杏石甘汤同煎 A 组和麻杏石甘汤同煎 B 组小鼠支气管肺泡灌洗液 MUC5AC 质量浓度分别为 (0.303  $\pm$  0.221), (9.718  $\pm$  0.306), (3.464  $\pm$  0.280), (9.685  $\pm$  0.242), (6.753  $\pm$  0.267)  $\mu$ g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>; 各组小鼠肺组织匀浆 HIF-1 $\alpha$  质量浓度依次为 (0.161  $\pm$  0.113), (53.237  $\pm$  0.186), (9.582  $\pm$  0.104), (53.184  $\pm$  0.151), (11.703  $\pm$  0.109) ng  $\cdot$  L<sup>-1</sup>。说明哮喘模型组小鼠支气管灌洗液 MUC5AC 的质量浓度明显高于正常对照组 ( $P <$

0.01); 麻杏石甘汤先煎组降低哮喘小鼠支气管肺泡灌洗液 MUC5AC 的质量浓度优于麻杏石甘汤同煎 B 组 ( $P < 0.01$ ); 麻杏石甘汤同煎 B 组降低哮喘小鼠支气管肺泡灌洗液 MUC5AC 的质量浓度优于麻杏石甘汤同煎 A 组 ( $P < 0.05$ ); 麻杏石甘汤同煎 A 组降低哮喘小鼠支气管肺泡灌洗液 MUC5AC 的质量浓度不明显, 且无统计学差异。

哮喘模型组小鼠肺组织匀浆 HIF-1 $\alpha$  的质量浓度明显高于正常对照组 ( $P < 0.01$ ); 麻杏石甘汤先煎组降低肺组织匀浆 HIF-1 $\alpha$  的质量浓度优于麻杏石甘汤同煎 B 组 ( $P < 0.01$ ); 麻杏石甘汤同煎 B 组降低肺组织匀浆 HIF-1 $\alpha$  的质量浓度优于麻杏石甘汤同煎 A 组 ( $P < 0.01$ ); 麻杏石甘汤同煎 A 组降低哮喘模型小鼠肺组织匀浆 HIF-1 $\alpha$  的质量浓度不明显, 且无统计学差异 ( $P > 0.05$ )。

### 3 讨论

痰饮留伏是哮喘发生的内在因素, MUC5AC 是组成黏液蛋白的重要成分, 主要由气道黏膜杯状细胞分泌, 哮喘发作时气道黏液分泌增加, 主要体现在 MUC5AC 表达增强<sup>[5]</sup>。麻黄浮沫中大量的苯甲醛不利于痰液的清除和气道的通畅。本实验发现麻杏石甘汤先煎组除去麻黄上沫后, 降低哮喘小鼠支气管肺泡灌洗液 MUC5AC 的质量浓度优势显著, 而麻杏石甘汤同煎 B 组虽四药同煮但煮沸时间适度延长其降低哮喘小鼠支气管肺泡灌洗液 MUC5AC 的质量浓度优于麻杏石甘汤同煎 A 组, 与麻黄随高温煮沸时间延长上沫逐渐减少、不利成分发生转化消失有密切关系。麻杏石甘汤同煎 A 组四药同煮时间短, 浮沫共存, 降低哮喘小鼠支气管肺泡灌洗液 MUC5AC 质量浓度的效果较小。

哮喘初期是以急性缺氧为主要表现的呼吸系统疾病, 缺氧可引起肺泡上皮细胞功能异常<sup>[6]</sup>。HIF-1 是在缺氧细胞内发现的活性核转录因子, HIF-1 $\alpha$  是 HIF-1 功能调节的主要亚单位, 为缺氧的直接感受器<sup>[7]</sup>。常氧状态下支气管肺组织中 HIF-1 $\alpha$  有少量

表达, 但性质不稳定易被降解, 哮喘发作时肺组织急剧缺氧, 缺氧使 HIF-1 $\alpha$  转录增加<sup>[8]</sup>。本实验发现哮喘小鼠肺组织中 HIF-1 $\alpha$  含量升高, 麻杏石甘汤先煎组的降低肺组织 HIF-1 $\alpha$  质量浓度优于麻杏石甘汤同煎 B 组, 更优于麻杏石甘汤同煎 A 组; 麻杏石甘汤同煎 A 组效果较弱, 提示麻杏石甘汤煎煮过程中除去麻黄上沫对于气道氧气吸收和通行有利。

### [参考文献]

- [1] 文丹丹, 王敏. 麻杏石甘汤治疗咳嗽变异性哮喘的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8):285.
- [2] 赵宇昊, 史成和, 陈邵红, 等. 麻杏石甘汤方证探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(5):244.
- [3] 俞励平, 梁晓亮, 曾永长, 等. 麻黄“上沫”成分的热分析 TG-DTG-DSC 及热解-GC-MS 研究 [J]. 中山大学学报, 2011, 50(3):94.
- [4] Anthony T N, Sorif Uddin. Mouse models of allergic asthma; acute and chronic allergen challenge [J]. Dis Model Mech, 2008, 1(4/5):213.
- [5] Ordonez C L, Khashayar R, Wong H H, et al. Mild and moderate asthma is associated with goblet cell hyperplasia and abnormalities in mucin gene expression [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 163(2):517.
- [6] Vaporidi K, Tsatsanis C, Georgopoulos D, et al. Hypoxia-induced energy stress regulates mRNA translation and cell growth [J]. Mol Cell, 2006, 21(4):521.
- [7] Jiang B H, Rue E, Wang G L, et al. Dimerization, DNA binding and transactivation properties of hypoxia-inducible factor-1 [J]. J Biol Chem, 1996, 271(30):17771.
- [8] Hellwig B T, Stiehl D P, Wagner A E, et al. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1): a novel transcription factor in immune reactions [J]. J Interferon Cytokine Res, 2005, 25(6):297.

[责任编辑 全燕]