

定喘汤对哮喘大鼠 NO、ET-1、IL-5 的影响

肖丽玲¹, 伍参荣², 唐小梅²

(1 湖南中医学院第一附属医院, 湖南 长沙 410007; 2 湖南中医学院, 湖南 长沙 410007)

摘要:目的: 探讨定喘汤对卵清蛋白所致实验大鼠支气管哮喘体内 NO、ET-1 和 IL-5 调节作用。方法: 采用腹腔注射卵清蛋白和灭活百日咳杆菌, 制成大鼠哮喘模型。在此基础上, 各组模型鼠分别给予不同的药物“治疗”, 两周后处死测定各组大鼠血浆及支气管肺泡灌洗液(BALF)中 NO、ET-1 和 IL-5 含量。结果: 哮喘模型大鼠组 BALF 中 NO 浓度、ET-1 含量明显高于正常对照组; 与模型组相比, 定喘汤组、必可酮组 NO、ET-1 含量显著下降, 后两组之间无统计学差异, 中西药联合治疗组 BALF 中 NO 浓度显著低于定喘汤组、模型组, 接近正常组。哮喘模型组大鼠血浆和 BALF 中 IL-5 含量均明显高于正常组; 与模型组相比, 各治疗组 IL-5 均明显下降; 其中中西药联合治疗组显著低于定喘汤组、必可酮组, 接近正常组。结论: 通过下调血浆和 BALF 中 IL-5, 抑制 BALF 中 NO、ET-1 的合成和释放, 从而减轻哮喘气道炎症及气道上皮重建, 降低气道高反应性, 可能是定喘汤治疗哮喘的机制之一。

关键词: 定喘汤; 哮喘; 一氧化氮; 内皮素-1; 白细胞介素-5

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2005)03-0058-02

支气管哮喘(简称哮喘)是由嗜酸性粒细胞、肥大细胞和淋巴细胞等多种炎症细胞参与的非特异性慢性气管炎症。定喘汤是临床上治疗支气管哮喘的常用传统方剂, 临床观察, 患者哮喘急性发作时服用屡获良效。本研究的主要目标是观察哮喘模型鼠血浆肺泡灌洗液(BALF)中一氧化氮(NO)、内皮素-1(ET-1)、白细胞介素-5(IL-5)的含量变化, 探讨定喘汤治疗哮喘的作用机理。

1 材料和方法

1.1 动物、分组与造模 60 只雄性 SD 大鼠, 体重 200 ± 20 g(本院实验动物中心提供), 随机分为正常对照组、哮喘模型组、定喘汤组、西药必可酮对照组和中西药联合治疗组即定喘汤加必可酮组共 5 组, 采用吕国平^[1]等方法加以改进, 除正常对照外各大鼠腹腔注射卵清蛋白(上海伯奥生物科技有限公司)生理盐水溶液(50 μ g/1mL)和加热灭活的百日咳杆菌各 1mL。1 周后再注射一次, 第 4 天开始, 将大鼠置于 65cm \times 45cm \times 45cm 大小的玻璃罩内, 用超声雾化器将 10% 的卵清蛋白雾化吸入激发 20min, 流量 3mL/min, 每日次, 每次 8~10min, 连续激发一周(对照组用生理盐水替代腹腔注射和雾化吸入)。各组分别在第 1 次诱喘后给药, 直至处死。各组从首次诱喘

后到治疗结束共 18d。各组日给药剂量为: 定喘汤组 2.0g/kg 灌胃, 西药组给必可酮 50 μ g \cdot 只⁻¹(雾化吸入), 中西药联合组给定喘汤 2.0g/kg(灌胃), 加必可酮 50 μ g \cdot 只⁻¹(雾化吸入), 模型、正常对照组给生理盐水灌胃。为了保证必可酮吸入量, 实验时将接受必可酮治疗的大鼠分只放进(30 \times 10 \times 10)cm 自制有机玻璃瓶内, 朝瓶内喷入必可酮(每墩 50 μ g), 立即用单层纱布盖住瓶口 3min。

1.2 主要仪器 超声雾化治疗仪 402 型(沈阳医疗器械产品); 752 紫外分光光度计(上海第三仪器设备厂); 酶标仪(奥地利产品)。

1.3 药物 定喘汤取自《摄生众妙方》方, 由白果、麻黄、苏子、甘草、款冬花、杏仁、桑白皮、黄芩、半夏组成, 分别按 9:9:6:3:9:9:6:9:9 称取, 加蒸馏水浸泡过夜, 煎煮二次, 每次 20min, 浓缩成含生药 1g/mL。必可酮气雾剂: 每墩含丙酸倍氯米松 50 μ g, 重庆葛兰素制药有限公司产品, 批号: 03081102。

1.4 标本采集与测定

1.4.1 血浆采集 2% 戊巴比妥钠腹腔麻醉大鼠, 固定, 分离颈动脉, 插管放血 10mL(用肝素抗凝), ET-1 测定管同时加入 1 万 U/mL 抑肽酶 0.1mL, 离心分离血浆, -30 $^{\circ}$ C 保存待测。

1.4.2 BALF 采集 麻醉大鼠颈部分离出气管, 用一次性输液管插入气管固定后, 用 5mL 注射器, 抽取 Hank's 液进行灌洗, 灌洗液于肺泡内停留 2min, 反复来回抽 4 次, 将所得 BALF 1500r/min 20min 离心取上

收稿日期: 2004-01-12

通讯作者: 伍参荣, Tel: (0731) 5381154, E-mail: wucanrong@yahoo.

con. cn

清, - 30 ℃保存待测。

1.4.3 血浆与 BALF 中 NO、ET-1、IL-5 含量测定
NO 试剂盒购自南京建成生物工程研究所; ET-1 购自解放军总医院; IL-5 购自上海森科雄生物研究公司。各指标操作按说明书进行, ET-1 测定由中医院附属一院放免室检测。

1.5 统计分方法 采用 SPSS 10.0 版 统计软件分析, 进行 *t* 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠血浆与 BALF 中 NO、ET-1 含量比较
模型组 BALF 中 NO 溶液明显高于正常组 ($P < 0.01$); 与模组比较定喘汤组、必可酮对照组含量均显著下降 ($P < 0.01$), 但定喘汤与必可酮组两组之间无统计学意义 ($P > 0.05$); 中西联合治疗组(定喘汤加必可酮组)显著低于模组和定喘汤组以及必可酮

组(均 $P < 0.01$), 与正常对照组比较无统计学意义 ($P > 0.05$)。各组大鼠血浆 NO 含量未见明显变化 ($P > 0.05$)。见表 1。

各组大鼠血浆 ET-1 含量无显著性差异 ($P > 0.05$)。模型组 BALF 中 ET-1 明显高于正常组 ($P < 0.01$); 与模组比较定喘汤组、必可酮组以及中西联合组 ET-1 含量明显下降, 与正常组比较差别无显著性 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 各组大鼠血浆、BALF 中 IL-5 含量 哮喘模型组大鼠血浆、BALF 中 IL-5 含量均明显高于正常组 ($P < 0.01$), 与模组比较定喘汤组、必可酮组、中西联合治疗组(定喘汤加必可酮)血浆、BALF 中 IL-5 含量明显下降 ($P < 0.01$), 其中, 中西药联合治疗组又明显低于中药定喘汤组与必可酮组 ($P < 0.05$), 与正常组比较差别无显著性意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠血浆和 BALF 中 NO、ET-1、IL-5 比较($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

分组	NO($\mu\text{mol/L}$)		ET-1(pg/ml)		IL-5(pg/ml)	
	血浆	BALF	血浆	BALF	血浆	BALF
正常对照组	24.16 ± 2.41	6.82 ± 1.94 ^{2),4)}	54.12 ± 10.21	5.90 ± 0.98 ^{2),4)}	42.35 ± 5.81 ^{2),4)}	20.33 ± 3.19 ^{2),4)}
哮喘模型组	25.94 ± 3.72	18.50 ± 2.73 ⁵⁾	54.33 ± 10.82	21.23 ± 3.24 ⁵⁾	87.64 ± 9.47 ⁵⁾	54.26 ± 9.96 ⁵⁾
定喘汤组	25.36 ± 3.56	15.34 ± 2.39 ^{1),2),3)}	55.08 ± 10.31	9.02 ± 1.27 ^{1),2),3)}	48.23 ± 9.02 ^{1),2),3)}	36.60 ± 9.19 ^{1),2),3)}
必可酮组	25.89 ± 2.34	16.39 ± 3.61 ^{1),3)}	54.37 ± 11.64	8.71 ± 1.41 ^{1),2)}	46.61 ± 7.73 ^{1),2)}	34.66 ± 9.82 ^{1),2),3)}
定喘汤加必可酮组	23.92 ± 3.81	7.15 ± 2.17 ^{2),4)}	53.26 ± 11.31	6.29 ± 1.18 ²⁾	44.10 ± 6.22 ^{2),3)}	22.99 ± 8.38 ^{2),4)}

注: ¹⁾ 与正常组比较, $P < 0.05$; ²⁾ 表示与模型组比较, $P < 0.01$; ³⁾ 表示与定喘汤加必可酮组比较, $P < 0.01$; ⁴⁾ 表示与定喘汤组、必可酮组比较, $P < 0.01$; ⁵⁾ 表示模组与各组比较, $P < 0.01$ 。

3 讨论

哮喘是由多种细胞参与的慢性非特异气道炎症, 以气道高反应性和可逆性气道阻塞为特征的。哮喘患者呼出气体中 NO 含量较正常人高 2~ 3 倍, 且炎症越明显 NO 呼出浓度就越高, 因此 NO 浓度的高低可帮助判断气道炎症程度。本次研究发现各组大鼠血浆中 NO 含量无明显变化, 哮喘模型组大鼠 BALF 中 NO 显著升高, 提示过敏性哮喘呼吸道局部组织中 NO 释放增加, 定喘汤组可明显降低 NO 含量与西药必可酮组比较差别无显著性 ($P > 0.05$), 两组与模型组比较差别有显著性意义 (均 $P < 0.01$); 定喘汤加必可酮组与模组比较 NO 含量下降更为明显 ($P < 0.01$), 与正常组比较 NO 含量差别无显著性意义 ($P > 0.05$)。

ET-1 含量的升高可能与哮喘急性发作有关, 本次研究发现 BALF 中 ET-1 含量模型组明显高于正常组、定喘汤组、必可酮组、定喘汤加必可酮组联合治疗组, 提示急性过敏性哮喘大鼠气管组织中 ET-1 释

放增加, 定喘汤与必可酮均能降低 BALF 中 ET-1 含量, 且两药联合具有协同治疗作用 ($P < 0.01$)。

IL-5 是由 Th2 细胞释放的细胞因子, 能选择性地作用于嗜酸性粒细胞, 能促进嗜酸性粒细胞的活化、聚积、介导过敏性炎症, 参与 I 型超敏反应与支气管哮喘过程。定喘汤与必可酮均能使哮喘大鼠血浆和 BALF 中 IL-5 含量下降, 特别是定喘汤与必可酮联合治疗 IL-5 含量下降更为明显 (均 $P < 0.05$), 提示定喘汤与必可酮可能有协同作用。

综上分析临床应用中药定喘汤治疗支气管哮喘的机理, 可能是通过下调血浆和 BALF 中 IL-5, 抑制 BALF 中 NO、ET-1 的合成和释放, 从而减轻哮喘气道炎症及气道上皮重建, 达到降低气道高反应性。

参考文献:

[1] 吕国平, 崔得健, 郭英江, 等. 介绍一种建立大鼠哮喘模型的实验方法[J]. 中华结核和呼吸杂志, 1995, 18(6): 377-378.