

## · 论著 ·

## 易喘平胶囊对哮喘模型小鼠气道高反应性的抑制作用及机制

宋立强<sup>1</sup>, 马战平<sup>2</sup>, 李妍<sup>3</sup>, 张乐宁<sup>4</sup>, 高放<sup>4</sup>, 程九华<sup>4</sup>

(1. 第四军医大学西京医院呼吸内科, 陕西 西安 710033; 2. 陕西中医药研究院;

3. 第四军医大学西京医院心脏内科; 4. 第四军医大学空医系)

**【摘要】** 目的: 观察补肾活血法中药易喘平胶囊对哮喘气道高反应性的抑制作用及其机制。方法: 将 50 只雄性 BALB/c 小鼠随机分为正常对照组、哮喘模型组、地塞米松组( $0.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )以及易喘平胶囊高剂量( $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )和低剂量组( $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )。用卵白蛋白致敏法制备哮喘模型, 检测各组小鼠不同乙酰甲胆碱(mACh)浓度时气道压力峰值-时间指数(APTI)的差异, 并比较各组小鼠支气管肺泡灌洗液(BALF)中内皮素-1(ET-1)和一氧化氮(NO)的含量。结果: 哮喘模型小鼠不同 mACh 浓度时的平均 APTI 值和 BALF 中 ET-1 和 NO 含量均明显高于正常对照组( $P$  均  $< 0.05$ )。与哮喘模型组比较, 高剂量、低剂量易喘平胶囊组和地塞米松组的 APTI 值以及 BALF 中 ET-1 和 NO 含量均明显下降( $P$  均  $< 0.05$ ); 高剂量易喘平胶囊组表现出比低剂量组更强的抑制作用, 呈现剂量依赖特性; 高剂量易喘平胶囊组与地塞米松组的 APTI 值以及 BALF 中 ET-1 和 NO 含量比较差异无显著性( $P$  均  $> 0.05$ )。结论: 易喘平胶囊对哮喘气道高反应性具有一定的抑制作用, 降低气道上皮细胞分泌 ET-1 和 NO 是这种作用发挥的机制之一。

**【关键词】** 易喘平胶囊; 哮喘; 气道高反应性; 内皮素-1; 一氧化氮

中图分类号: R256.12; R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1008-9691(2007)05-0264-03

**Inhibiting effect and mechanism of Yichuanping capsule (易喘平胶囊) on the airway hyper-responsiveness in asthmatic mouse** SONG Li-qiang<sup>1</sup>, MA Zhan-ping<sup>2</sup>, LI Yan<sup>3</sup>, ZHANG Le-ning<sup>4</sup>, GAO Fang<sup>4</sup>, CHENG Jiu-hua<sup>4</sup>. 1. Department of Respiratory Medicine, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, Shanxi, China; 2. Institute of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710033 Shanxi, China; 3. Department of Cardiology, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, Shanxi, China; 4. Department of Aerospace Physiology, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, Shanxi, China

**【Abstract】** **Objective:** To explore the inhibiting effect and mechanism of Yichuanping capsule (易喘平胶囊) on the airway hyper-responsiveness (AHR) in asthmatic mice. **Methods:** Fifty male BALB/c mice were randomly divided into normal control group, asthma group, dexamethasone group ( $0.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ), high dose of Yichuanping group (HDY,  $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) and low dose of Yichuanping group (LDY,  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ). The model of asthma was induced by ovalbumin sensitization. The airway press-time index (APTI) of different methacholine (mACh) concentration, the content of endothelin-1 (ET-1) and nitric oxide (NO) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) in all groups were checked. **Results:** The APTI of mACh concentration and the contents of ET-1 and NO in BALF in asthma group were higher than those in normal control group (all  $P < 0.05$ ). Compared with asthma group, the APTI and the contents of ET-1 and NO in BALF in HDY group, LDY group and dexamethasone group were reduced remarkably (all  $P < 0.05$ ). The inhibiting effect for AHR in HDY group was stronger than that in LDY group, and the character of dose-dependence could be observed. There was no obvious difference in APTI, contents of ET-1 and NO in BALF between HDY group and dexamethasone group (all  $P > 0.05$ ). **Conclusion:** It can be demonstrated that Yichuanping capsule has the inhibiting effect on AHR in asthma, and one of mechanisms is refraining the production of ET-1 and NO by airway epithelium.

**【Key words】** Yichuanping capsule; asthma; airway hyper-responsiveness; endothelin-1; nitric oxide

基金项目: 国家自然科学基金资助课题(30400197); 陕西省中医药管理局资助课题(0386)

作者简介: 宋立强(1970-), 男(汉族), 山西省人, 医学博士, 讲师, 主治医师, 主要从事哮喘防治的基础和临床研究, 承担多项国家和省级科研课题(Email: songlq@fmmu.edu.cn)。

气道高反应性是哮喘的主要临床特征, 是气道非特异性炎症迁延不愈的结果。非特异性抗炎药糖皮质激素是临床控制气道高反应性的首选药物<sup>[1]</sup>, 但反应性的降低常滞后于症状与通气功能的改善。

气道上皮细胞是参与哮喘气道炎症形成的非炎性细胞,能通过分泌内皮素-1(ET-1)、一氧化氮(NO)等多种细胞因子调节平滑肌细胞的功能,从而加重气道高反应性<sup>[2]</sup>。易喘平胶囊是以补肾益肺、活血祛痰为治则的中药复方制剂,前期的研究已证实该药具有抑制哮喘气道黏液高分泌的作用<sup>[3]</sup>。本研究拟以致敏哮喘小鼠为模型,观察易喘平胶囊对气道高反应性的干预效应,并初步探讨其作用机制。

## 1 材料与方 法

**1.1 药品与试剂:**易喘平胶囊由黄芪、蛤蚧、白术、川贝母、地龙、丹参、莪术、甘草等药物按比例组方并经蒸馏浓缩为粉剂,制成胶囊,每粒含生药 0.3 g,由陕西中医药研究院提供。乙酰甲胆碱(mACh)系 Sigma 公司产品。ET-1 放射免疫检测试剂盒购自北京东亚公司,NO 测试盒购自南京建成生物工程研究所。

**1.2 实验动物分组、哮喘小鼠模型制备及干预:**雄性 BALB/c 小鼠 50 只,体重(25±3)g,由第四军医大学实验动物中心提供。按随机数字表法分成正常对照组、哮喘模型组、地塞米松组、高剂量易喘平胶囊组和低剂量易喘平胶囊组 5 组。第 1 日每只小鼠腹腔注射 20 μg 卵白蛋白(OVA)和 2 mg 氢氧化铝〔混合于 0.5 ml 磷酸盐缓冲液(PBS)中〕;第 8 日注射 10 μg OVA 和 1 mg 氢氧化铝。第 15 日开始将小鼠置于封闭容器中,给予 5% OVA 和 0.5×PBS 雾化吸入激发哮喘发作;均每日 1 次,每次 25 min,连续 7 d;并在 24 h 内处死动物。对哮喘小鼠给药方法:地塞米松组小鼠从哮喘模型激发的第 1 日开始,每日胃饲地塞米松粉剂 0.4 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>;高剂量、低剂量易喘平胶囊组则分别胃饲易喘平胶囊制剂 20 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>和 5 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>。正常对照组小鼠灌服等量生理盐水。

**1.3 气道反应性的测定<sup>[4]</sup>:**各组小鼠经腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉后,取仰卧位,切开颈部皮肤并暴露气管。用 18 G 针头行气管插管术,接呼吸机并行间歇正压通气,潮气量为 8 ml/kg,频率为 60 次/min。呼出管中段连接自制微压差压力传感器,并连接多导生理记录仪。每间隔 10 min 通过尾静脉按梯度浓度注射 0.1~2.0 mg/kg mACh1 次。以气道压力峰值-时间指数(APTI,cm H<sub>2</sub>O/s)表示气道反应性。

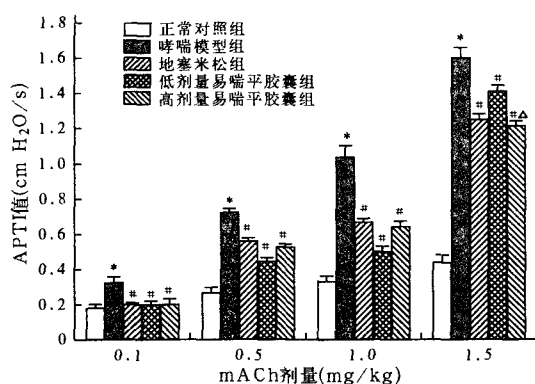
**1.4 支气管肺泡灌洗液(BALF)中 ET-1 和 NO 含量的检测:**各组小鼠麻醉后行气管插管,0.5 ml PBS 灌洗 2 次。BALF 以 1 500 r/min(离心半径

10 cm)离心 10 min,收集上清液并保存于-20℃待测。①ET-1 的检测:按照试剂盒说明,利用全自动 γ-放免记数仪计算样品浓度。②NO 的检测:遵照检测盒步骤,利用 721 分光光度计测定 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>与 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>含量之和,以此反映 NO 总量。

**1.5 统计学处理:**所有实验数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用 SPSS10.0 软件,多组间比较采用方差分析,两组间比较采用 *t* 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 易喘平胶囊对 各 组 小 鼠 气 道 高 反 应 性 的 影 响 (图 1):**在同等剂量 mACh 激发的气道反应性检测中,哮喘模型组小鼠的平均 APTI 值明显高于正常对照组小鼠(*P*均<0.05)。与哮喘模型组比较,高剂量、低剂量易喘平胶囊组及地塞米松组小鼠的平均 APTI 值均显著降低(*P*均<0.05),在 mACh 为 1.5 mg/kg 时高剂量易喘平胶囊组平均 APTI 值低于低剂量组(*P*<0.05);余不同剂量 mACh 激发时,高剂量组平均 APTI 值接近低剂量组(*P*>0.05)。高剂量易喘平胶囊组的 APTI 值与地塞米松组比较差异无显著性(*P*均>0.05)。



注:与正常对照组比较:\**P*<0.05;与哮喘模型组比较:  
#*P*<0.05;与低剂量易喘平胶囊组比较:△*P*<0.05

图 1 各组小鼠对吸入性 mACh 的气道反应性比较  
Figure 1 Comparison of airway hyper-responsiveness for inhaled mACh in all groups

**2.2 易喘平胶囊对 各 组 小 鼠 BALF 中 ET-1 和 NO 含量的影响(表 1):**与正常对照组比较,哮喘模型组小鼠 BALF 中 ET-1 和 NO 含量均明显升高(*P*均<0.05)。而高剂量、低剂量易喘平胶囊组及地塞米松组小鼠 BALF 中 ET-1 含量均显著低于哮喘模型组小鼠(*P*均<0.05);高剂量易喘平胶囊组、地塞米松组还显示出降低 BALF 中 NO 含量的效应(*P*均<0.05)。高剂量易喘平胶囊组的 ET-1 含量低于低剂量组(*P*<0.05)。高剂量易喘平胶囊组

的 ET-1、NO 含量与地塞米松组比较差异无显著性 ( $P$  均  $>0.05$ )。

表 1 各组小鼠 BALF 中 ET-1 和 NO 的含量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of the content of ET-1 and NO in BALF in all groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数(只)	ET-1(ng/L)	NO( $\mu$ mol/L)
正常对照组	10	21.73 $\pm$ 3.76	14.21 $\pm$ 1.97
哮喘模型组	10	102.55 $\pm$ 5.47*	52.34 $\pm$ 3.55*
地塞米松组	10	45.20 $\pm$ 4.81#	37.18 $\pm$ 2.57#
低剂量易喘平胶囊组	10	73.83 $\pm$ 4.67#	50.43 $\pm$ 4.47
高剂量易喘平胶囊组	10	51.82 $\pm$ 6.53# $\Delta$	43.87 $\pm$ 4.01#

注:与正常对照组比较: \*  $P < 0.05$ ; 与哮喘模型组比较: #  $P < 0.05$ ; 与低剂量易喘平胶囊组比较:  $\Delta P < 0.05$

### 3 讨论

哮喘被认为是气道的一种慢性非特异性炎症性疾病,气道高反应性是该病的主要临床特征。但炎症形成机制极其复杂。目前认为以嗜酸粒细胞、T 细胞等为主的炎性细胞和平滑肌细胞、气道上皮细胞等为主的非炎性细胞,及其分泌的细胞因子、炎症介质相互作用形成的网络,是哮喘气道高反应性发生的病理基础。2006 版全球哮喘防治倡议(GINA)也再次确认肾上腺皮质激素在减轻气道炎症中的重要作用<sup>[4]</sup>。然而, Bateman 等<sup>[5]</sup>的研究也提示近 22% 的患者在吸入激素治疗 1 年后仍未达到良好控制,临床常能见到激素抵抗患者,同时长期应用激素的不良反应也限制了使用该药的依从性。Lange 等<sup>[6]</sup>对成人哮喘患者进行了长达 15 年的跟踪调查,结果发现:尽管坚持正规、足量的激素治疗,重症哮喘患者依旧保持着持续的气道高反应性,肺通气功能指标仍呈渐进性下降。因此,探索高效、不良反应小的中药制剂是具有前景的哮喘防治途径。

祖国医学认为,哮喘的发生为宿痰内伏于肺,复加外感、饮食、情志、劳倦等因素,以致痰阻气道,肺气上逆所致。久病又可导致肺肾两虚,易感外邪,使疾病反复发作。易喘平胶囊组方本着补肾益肺、活血祛痰的施治原则,结果表明,易喘平胶囊能显著降低哮喘小鼠的气道高反应性,高剂量组表现出比低剂量组更强的抑制效应,显示出一定的剂量依赖性。在抑制气道高反应方面,高剂量易喘平胶囊组表现出与地塞米松组相似的效应。

哮喘上皮细胞位于外界刺激因素与机体遗传因素接触的第一环节,能分泌多种细胞因子、脂类介质、肽类介质及氧自由基,对平滑肌的收缩、舒张、增殖和分泌发挥调节作用<sup>[7]</sup>。其中 ET-1 和 NO 是主

要产生于上皮、与气道高反应密切相关的两种因子<sup>[8]</sup>。本研究中对 BALF 的检测结果表明,哮喘模型组的 ET-1 及 NO 含量均明显升高,高剂量、低剂量易喘平胶囊组的含量均降低,特别是高剂量易喘平胶囊组抑制 ET-1 释放的作用更为显著,表现出与皮质激素某些相似的作用机制。值得一提的是,哮喘气道 NO 分泌量过高并无助于平滑肌松弛,反而增强气道血管通透性和黏膜肿胀,并继发生成自由基 OONO<sup>-</sup>,这已被近年的研究所证实<sup>[9]</sup>。综上所述,易喘平胶囊具有一定的降低哮喘气道高反应作用,抑制气道上皮细胞产生 ET-1 和 NO 是其作用机制之一。

### 参考文献:

- [1] 公丕花,高占成,胡萍,等. 过敏原所致小鼠气道高反应性的动态演变和布地奈德干预对其的影响[J]. 中国危重病急救医学, 2005, 17(8): 463-467.
- [2] Davies D E. The bronchial epithelium: translating gene and environment interactions in asthma[J]. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2001, 1(1): 67-71.
- [3] 宋立强,马战平,吴昌归,等. 易喘平胶囊对哮喘模型小鼠气道黏液高分泌的抑制作用[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2006, 13(2): 86-88.
- [4] O'Byrne P, Bateman E D, Jean B, et al. Global strategy for asthma management and prevention (revised 2006) [EB/OL]. [2006-12-12]. <http://www.ginasthma.org>.
- [5] Bateman E D, Boushey H A, Bousquet J, et al. Can guideline-defined asthma control be achieved? The gaining optimal asthma control study[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2004, 170(8): 836-844.
- [6] Lange P, Parner J, Vestbo J, et al. A 15-year follow-up study of ventilatory function in adults with asthma[J]. N Engl J Med, 1998, 339(17): 1194-1200.
- [7] Knight D A, Holgate S T. The airway epithelium: structural and functional properties in health and disease [J]. Respirology, 2003, 8(4): 432-446.
- [8] Holgate S T, Lackie P, Wilson S, et al. Bronchial epithelium as a key regulator of airway allergen sensitization and remodeling in asthma [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2000, 162(3 Pt 2): S113-S117.
- [9] de Boer J, Meurs H, Flendrig L, et al. Role of nitric oxide and superoxide in allergen-induced airway hyperreactivity after the late asthmatic reaction in guinea-pigs[J]. Br J Pharmacol, 2001, 133(8): 1235-1242.

(收稿日期: 2007-05-19 修回日期: 2007-07-07)

(本文编辑: 李银平)

### • 广告目次 •

①天津红日药业: 血必净注射液 ..... (封底)