



越婢加半夏汤降低过敏性哮喘小鼠的血清 IgE 和 升高肺组织中 SOD 的活力

任佳羽, 杨贵方, 胡松岩, 刘 欢, 王 艳, 蒲小君, 黄 高, 王文佳

(贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550025)

【摘要】 目的 通过观察不同阶段各实验组小鼠血清中免疫球蛋白 (IgE) 及肺组织中超氧化物歧化酶 (SOD) 活力与抑制率的变化, 探讨越婢加半夏汤对过敏性哮喘小鼠的作用机制。**方法** 随机将健康昆明种小白鼠分为正常对照组、哮喘模型组、地塞米松干预组和中药制剂组。采用卵白蛋白 (OVA)、氢氧化铝凝胶混悬液腹腔注射致敏和雾化激发的方法建立小鼠哮喘模型, 造模成功后, 中药制剂组给予越婢加半夏溶液 1 mL/100 g。地塞米松组给予腹腔注射地塞米松 1 mg/kg。正常对照组和哮喘模型组小鼠分次给予生理盐水灌胃治疗。给药 30 d 后处死, 检测各组小鼠血清 IgE 水平和肺组织 SOD 活力, 并进行 HE 染色观察肺组织的病理学变化。**结果** 中药制剂组小鼠与哮喘模型组小鼠相比, 前者外周血清中 IgE 含量下降 ($P < 0.05$), IgE 在 2 组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 前者肺组织匀浆中 SOD 活力与抑制率升高, SOD 活力与抑制率在 2 组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 降低过敏性哮喘小鼠血清中 IgE 含量及升高小鼠肺组织 SOD 活力与抑制率水平, 提高肺组织抗氧化能力, 可能为越婢加半夏汤治疗过敏性哮喘的作用机制之一。

【关键词】 过敏性哮喘; 越婢加半夏汤; IgE; SOD; 肺; 小鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2015) 09-0018-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.009.004

Yuebi Banxia decoction inhibits serum IgE and increases SOD activity in lung tissue in the mouse model of allergic asthma

REN Jia-yu, YANG Gui-fang, HU Song-yan, LIU Huan, WANG Yan, PU Xiaojun, HUANG Gao, WANG Wen-jia
(Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effect and mechanism of a Chinese traditional prescription, Yuebi Banxia decoction, on allergic asthma in mice by observing the changes of serum immunoglobulin E (IgE) and lung tissue superoxide dismutase (SOD) activity in the mouse model of allergic asthma. **Methods** Forty healthy Kunming mice were randomly divided into normal control group, asthma model group, dexamethasone intervention group and Chinese medicine preparation group. The mouse model of asthma was generated by peritoneal injection of ovalbumin (OVA) and suspension of aluminium hydroxide. The mice of traditional Chinese medicine group received Yuebi Banxia decoction in a dose of 1 mL/100 g, daily for 30 days. The mice of dexamethasone group were given intraperitoneal injection of dexamethasone 1 mg/kg. The normal control group and asthma model group were given gastric gavage of physiological saline. After 30 days administration, the serum levels of IgE and SOD activity of lung tissue were determined, and the pathological changes of lung tissue were observed using HE staining. **Results** The mice of traditional Chinese medicine

[基金项目] 2013 年贵州省大学生创新训练计划项目 (编号: 201310662008)。

[作者简介] 任佳羽 (1992 -), 女, 研究方向: 中医学。E-mail: 359884676@qq.com。

[通讯作者] 王文佳 (1981 -), 女, 研究方向: 中西医结合研究。E-mail: 595713949@qq.com。

preparation group showed significantly decreased serum IgE level, and significantly increased SOD activity than those of the asthma model group mice ($P < 0.05$ for both). **Conclusions** Reduced serum IgE and increased SOD activity in the lung tissue of mice with allergic asthma, improving the antioxidant ability of lung tissue, may be involved in the anti-allergic asthma mechanism of the Chinese traditional prescription Yuebi Banxia decoction.

【Key words】 Allergic asthma; Yuebi Banxia decoction, IgE, SOD; Lung; Mice

支气管哮喘是一种以 IgE 介导的,多种炎症细胞(肥大细胞、嗜酸细胞为主)、炎症介质和细胞因子参与形成的气道慢性炎症,由变应原引发的过敏性哮喘的疾病,在易感者中此种炎症可引起反复发作的喘息,气促、胸闷和(或)咳嗽等症状,多在夜间和(或)凌晨发生,气道对多种刺激因子反应性增高。目前,现代医学治疗哮喘的主要手段是激素及一些西药治疗,如糖皮质激素吸入激素,它是控制哮喘长期稳定的最基本的治疗,是哮喘的第一线药物治疗。但是研究发现,长期使用激素治疗哮喘并不能从根本上治疗哮喘而且会出现某些全身或局部副作用,造成许多患者肥胖、水肿、骨质疏松、形成对激素的依赖甚至肾上腺功能衰竭,导致病情日趋加重。因此,寻找新的方法并且从多角度研究治疗哮喘已经成为全球哮喘治疗的“风向标”。而我国传统医学治疗哮喘历史悠久且疗效显著,本实验所选方越婢加半夏汤出自《金匮要略》,其宣肺泻热,降逆平喘的作用对哮喘的有积极的治疗作用,在相关临床已有证实。

本实验研究越婢加半夏汤对过敏性哮喘小鼠的治疗作用,通过检测治疗前后各组小鼠血清中 IgE 及肺组织匀浆中 SOD 活力与抑制率的改变,并观察肺组织的病理改变,判断其治疗效果,进而探讨越婢加半夏汤对过敏性哮喘小鼠的作用机制,为越婢加半夏汤的临床应用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 动物

健康昆明小鼠,雌雄各半,40 只,体重(20~25)g,(由贵阳医学院实验动物中心提供,合格证号:SCXK(黔)2012-0001)。

1.2 试剂与主要仪器

IgE 检测 ELISA 试剂盒(由南京建成生物工程研究所提供 苏 ICP 备 12006455 号);SOD 检测试剂盒(由南京建成生物工程研究所提供,货号:A001-3);卵蛋白(北京索莱宝生物科技公司产品);氢氧化铝凝胶(北京索莱宝生物科技公司产品);PLUS 新型-86 超低温冰箱(Thermo Scientific Revco);

WH-2000 医用超声雾化器(粤华);酶标仪(美国 Multiskan Go);自制雾化透明塑料盒 1 个(22 × 20 × 15) cm。

1.3 药物制备

麻黄 10 g,石膏 30 g,生姜 6 g,甘草 6 g,大枣 12 g,半夏 15 g(贵阳中医学院第一附属医院提供)。醋酸地塞米松(5 mg/支,1 mL/支)。

以上诸味,取矿泉水 600 mL,先煮麻黄,去上沫。内诸药,大枣后下,用武火煮至水沸,然后改用文火保持微沸状态。15 min 后用纱布过滤,过滤后药渣再加入 500 mL 水,以同样方法煎煮浓缩。取煎液备存。

1.4 模型的建立

造模参考文献[1],并结合实际情况改进。随机将健康昆明种小白鼠 40 只分为正常对照组、哮喘模型组、地塞米松干预组和中药制剂组。哮喘模型组、中药制剂组、地塞米松干预组小鼠于第 1、6、12 天在小白鼠双上肢内侧、双下肢大腿外侧及腹腔注射 1 mL 混悬液(含 10 mg 卵清蛋白 OVA 及 30 mg 氢氧化铝凝胶)。分次腹腔内注射混悬液 0.5 mL [含 2 MgAl(OH)₃ 乳化的 10 mg OVA]以致敏。正常对照组以等量生理盐水代替致敏液进行双上肢内侧、双下肢大腿外侧、腹腔注射。

哮喘模型组、中药制剂组和地塞米松组小鼠分别接受 3 次连续的气道过敏源激发。即在第 13、14、15 天将小鼠放在自制的透明塑料盒内,用雾化器以 5% OVA 溶液(5% OVA 溶液溶解于 100 mL 蒸馏水内)对鼠进行雾化,气道激发时间每天 1 次,每次 40 min,连续 3 d。

观察动物反应,以呼吸急促、口唇紫绀、烦躁不安、然后伏俯不动、腹肌抽搐、四肢瘫软、二便失禁为造模成功标准。

1.5 给药方法

1.5.1 给药:中药制剂组给予越婢加半夏溶液 1 mL/100 g。地塞米松组:激发后给予地塞米松腹腔注射(1 mg/kg),中药制剂组和地塞米松组小鼠自致敏后 1 d 起,至最后一次激发当天,每天 1 次,灌胃给药治疗,共治疗 30 d。正常对照组和哮喘模型

组小鼠分次给予生理盐水灌胃治疗。

1.5.2 观察实验动物一般情况:各组小鼠饮食、皮毛、活动变化、精神状态等。

1.6 标本制备及检测

1.6.1 肺组织病理切片制备:造模成功 30 d 后,随机抽取各组小鼠做肺组织病理切片,新鲜左肺组织固定,常规脱水,石蜡包埋,切片,苏木精-伊红(HE)染色,光镜下观察肺组织病理改变。

1.6.2 血清 IgE 的测定:治疗组于末次激发后 24 h,摘除眼球取血后,常温放置(10~15)min。4℃静置(10~15)h,4℃离心,3 000 r/min,吸取上清液,放入 Eppendorf 管中待测。采用 ELISA 双抗体夹心法测定血清中 IgE 水平。具体步骤参照试剂盒说明书。同时迅速取新鲜肺组织-80℃储存备用。

1.6.3 肺组织匀浆上清液中 SOD 活力与抑制率的测定:解冻-80℃肺脏,用冰冷的生理盐水洗去血污,吸干,称重后,剪碎组织,捣碎,离心取上清。按照小鼠 SOD 试剂盒说明进行操作,分别测定并计算各组小鼠肺组织中 SOD 活力与抑制率。

1.7 统计学方法

实验数据应用 SPSS 11.0 进行统计学处理,所有结果均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 视为有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠行为学的观察

于雾化激发第 1 天约激发后,哮喘模型组小鼠出现抓鼻,激发第 2 天出现烦躁不安,好动,频繁抓口鼻和四肢,弓背直立,雾化第 3 天出现烦躁,呼吸加深加快,前肢缩抬,二便失禁等阳性反应。正常对照组无以上表现。

2.2 各组小鼠肺组织病理改变

光镜下可见哮喘模型组小鼠气道周围大量炎性细胞浸润,嗜酸性粒细胞增多和管腔内可见大量粘液栓,肺泡间隔及支气管壁明显增厚,肺泡壁破坏等表现;中药制剂组小鼠与哮喘模型组小鼠相比,气道周围炎性细胞浸润程度明显减轻,肺泡间隔病变明显改善;地塞米松组小鼠与哮喘组小鼠相比,气道周围仅有少量炎性细胞浸润,肺泡间隔增厚不明显(图 1~4,见文后彩插 1)。

2.3 小鼠血清 IgE 含量检测结果

各组小鼠血清 IgE 水平见表 1。与正常对照组相比,哮喘模型组血清总 IgE 水平明显升高,相比较

差异有显著性($P < 0.05$),中药制剂组及地塞米松组血清中总 IgE 水平较哮喘模型组明显降低,相比差异有显著性($P < 0.05$),中药制剂组与地塞米松组相比,2 组间血清总 IgE 水平均无统计学意义($P > 0.05$),说明越婢加半夏汤能显著降低哮喘小鼠血清 IgE(表 1)。

表 1 血清 IgE (pg/mL, %) 含量比较($\bar{x} \pm s$) ($n = 10$)

Tab. 1 Comparison of the serum IgE level in the four groups (pg/mL, %) ($\bar{x} \pm s$) ($n = 10$)

组别 Groups	血清 IgE (pg/mL, %) Serum IgE (pg/mL, %)
正常对照组 Normal control group	16.47 ± 1.57 *
哮喘造模组 Asthma model group	23.79 ± 5.17 #
地塞米松组 Dexamethasone group	19.69 ± 2.64 #*
中药制剂组 Chinese medicine preparation group	19.60 ± 1.31 #*

#与正常对照组相比 $P < 0.05$; *与模型对照组比较 $P < 0.05$ 。

Note. #Compared with the normal control group, $P < 0.05$; * Compared with the model control group, $P < 0.05$.

2.4 小鼠肺组织中超氧化物歧化酶(SOD)活力与抑制率检测结果

各组小鼠肺组织 SOD 活力与抑制率水平见表 2。与正常对照组相比,哮喘模型组肺组织中 SOD 活力与抑制率明显降低,差异相比较有显著性($P < 0.05$);中药制剂组与地塞米松组小鼠肺组织中 SOD 活力与抑制率水平均明显高于哮喘组($P < 0.05$);2 组间 SOD 活力水平差异无统计学意义($P > 0.05$),说明越婢加半夏汤能显著升高哮喘小鼠肺组织 SOD 活力与抑制率水平(表 2)。

表 2 肺组织中 SOD (%) 活力与抑制率水平比较($n = 10$)

Tab. 2 Comparison of SOD (%) activity and inhibition rate in the mouse lung tissues ($n = 10$)

组别 Groups	肺组织 SOD (%) Lung tissue SOD (%)	肺组织抑制率 (%) Inhibition rate of the lung
正常对照组 Normal control group	11.20 ± 2.47 *	61.36 ± 8.25 *
哮喘造模组 Asthma model group	5.07 ± 3.16 #	30.32 ± 20.77 #
地塞米松组 Dexamethasone group	8.51 ± 1.70 #*	47.50 ± 13.22 #*
中药制剂组 Chinese medicine preparation group	9.23 ± 1.31 #*	44.16 ± 9.91 #*

#与正常对照组相比 $P < 0.05$; *与模型对照组比较 $P < 0.05$ 。

Note. #Compared with the normal control group, $P < 0.05$; * Compared with the model control group, $P < 0.05$.

3 讨论

支气管哮喘是一种以免疫球蛋白 E 介导的,多种炎症细胞(肥大细胞、嗜酸细胞为主)、炎症介质、细胞因子参与形成的气道慢性炎症,常存在气道高反应性^[2]。大量研究表明,免疫球蛋白 E(IgE)是介导 I 型超敏反应的重要介质,当机体接触过敏原时,IgE 交联导致肥大细胞和嗜酸粒细胞脱颗粒释放白三烯、组胺等炎症介质引起以嗜酸粒细胞浸润为主的局部炎症反应^[3],而这种炎症反应是哮喘生理学和临床表现的物质基础,因此 IgE 可作为评价哮喘治疗药物对哮喘病情治疗效果的一项重要检测指标。

研究表明,支气管哮喘由于呼吸道感染后,防御体系中的白细胞在吞噬细菌等病原性微生物时可产生微量的超阴离子(O^{-2}),剩余的 O^{-2} 被人体的 SOD 分解,但当炎症部位的 SOD 大量消耗时,其活性会有不同程度的减弱,导致 O^{-2} 堆积,造成病理性损伤,可见超氧化物歧化酶(SOD)是一种抗氧化剂,是 O^{-2} 的清除剂,只在 O^{-2} 产生过多、SOD 活性降低时才会致病^[4]。

本研究发现,本实验结果显示越婢加半夏汤用于治疗小鼠过敏性哮喘,能显著降低哮喘小鼠血清中 IgE 水平、减轻气道炎症,从而对过敏性哮喘起到治疗作用;与哮喘组小鼠相比,越婢加半夏汤组小鼠肺组织中 SOD 活性与抑制率水平升高,肺组织中 SOD 活力与抑制率水平在 2 组之间差异具有显

著性($P < 0.05$)。由此可见,越婢加半夏汤可升高小鼠肺组织 SOD 活力与抑制率水平,提高小鼠肺组织抗氧化能力,维持氧自由基生成与清除的动态平衡,从而对过敏性哮喘起到治疗作用。

综上所述,越婢加半夏汤能显著降低哮喘小鼠血清中 IgE 水平、减轻气道炎症,减轻支气管壁及周围间质充血水肿;升高小鼠肺组织 SOD 活力与抑制率水平,提高小鼠抗氧化能力,维持氧自由基生成与清除的动态平衡。越婢加半夏汤有“宣肺泻热,降逆平喘”之功,在治疗上以“宣降”为大法,驱邪兼以扶正,其中的散、消、温、凉、补诸法均有助其功能恢复为目的。在哮喘发病过程中减轻哮喘发病症状,改善哮喘气道炎症作用明显,从而对过敏性哮喘起到治疗作用。

参考文献:

- [1] 李美容,王敏. 哮喘小鼠模型的建立与评价[J]. 临床肺科杂志, 2011, 16(5): 664-665.
- [2] 王超,李淑兰. 尾加压素 II 在支气管哮喘中病理生理作用的研究进展[J]. 医学综述, 2009, 15(3): 423-425.
- [3] Parmar JJ, Singh DJ, Hegde DD, et al. Development and evaluation of inhalational liposomal system of budesonide for better management of asthma[J]. Indian J Pharm Sci, 2010, 72(4): 442-448.
- [4] 王义清,高勇,郑洁. 丙型肝炎患者治疗前后 SOD 和 T 淋巴细胞亚群检测的临床意义[J]. 放射免疫学杂志, 2005, 18(2): 96-97.

[修回日期]2015-08-08