

· 基础研究 ·

升陷乌梅汤对哮喘大鼠激素干预模型
气道重塑及肺功能的影响

任培中 陈秋仪 王佳美 弓雪峰 李芷悦 崔红生

摘要 目的 观察升陷乌梅汤对哮喘大鼠激素干预模型气道炎症、气道重塑和肺功能的影响。方法 50 只 SD 雄性大鼠随机分为正常组、哮喘组、激素干预哮喘组、布地奈德组及升陷乌梅汤组,每组 10 只。采用卵蛋白致敏、雾化激发建立哮喘大鼠模型,并予正常组和哮喘组以外各组大鼠腹腔注射糖皮质激素干预,在此基础上予布地奈德组布地奈德混悬液[2 mL/(20 min·d)]雾化吸入,予升陷乌梅汤组升陷乌梅汤中药[0.81 g/(kg·d)]灌胃,均干预 7 周。运用动物肺功能分析系统检测分析 0.3 秒用力呼气容积(FEV0.3)、用力肺活量(FVC)、0.3 秒内平均流速(FEV 0.3/FVC%)、呼气峰流速(PEF)、每分钟通气量(MVV)的变化;HE 染色观察肺组织病理改变,并使用 Image-Pro Plus 6.0 软件测定气道平滑肌细胞核计数(NCASM_c)、气道壁面积(Wat)及其百分比(%Tat),ELISA 法检测肺泡灌洗液中转化生长因子-β(TGF-β)浓度;Western Blot 法检测 I 型胶原(Collagen I)和 III 型胶原(Collagen III)蛋白表达水平。结果 与正常组比较,哮喘组 FEV0.3、FVC、FEV0.3/FVC%及 PEF 显著下降($P<0.05$),NCASM_c、Wat 及 %Tat 显著升高($P<0.05$),TGF-β、Collagen I 及 Collagen III 蛋白表达显著升高($P<0.05$)。与哮喘组比较,激素干预各组肺功能 FEV0.3 和 FEV0.3/FVC%均升高($P<0.05$),NCASM_c 和 %Tat 均降低($P<0.05$),TGF-β、Collagen I 及 Collagen III 蛋白表达均降低($P<0.05$)。与激素干预哮喘组比较,升陷乌梅汤组部分肺功能 FEV 0.3 和 FEV 0.3/FVC%升高($P<0.05$),NCASM_c 及 %Tat 均有降低($P<0.05$),Collagen I 及 Collagen III 蛋白表达均降低($P<0.05$)。结论 糖皮质激素干预不能完全抑制哮喘大鼠气道炎症及气道重塑的发生,升陷乌梅汤可在激素干预基础上下调 TGF-β 等指标水平,进一步抑制气道炎症和气道重塑的发展,改善大鼠肺功能。

关键词 升陷乌梅汤;哮喘;激素干预;气道重塑;肺功能

Effect of Shengxian Wumei Decoction on Airway Remodeling and Lung Function in Asthma Rat Model with Glucocorticoids Intervention REN Pei-zhong, CHEN Qiu-yi, WANG Jia-mei, GONG Xue-feng, LI Zhi-yue, and CUI Hong-sheng *Department of Respiratory Medicine, Third Affiliated Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100029)*

ABSTRACT Objective To observe the effect of Shengxian Wumei Decoction (SXWMD) on airway inflammation, airway remodeling, and lung function in asthmatic model rats treated with glucocorticoids. **Methods** Totally 50 SD male rats were randomly divided into the normal group, the asthma group, the glucocorticoids intervened asthma group, Budesonide group, and the SXWMD group, 10 in each group. The asthma model was established by sensitization and stimulation with ovalbumin (OVA). Except for rats in normal and asthma groups, rats in the other groups were intraperitoneally injected with glucocorticoids. Based on the glucocorticoids intervention, rats in Budesonide group were administered with Budesonide by atomization [2 mL/(20 min·d)], and rats in SXWMD group were treated with intragastric administra-

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 81273689);北京市科委首都特色项目(No. Z161100000516055);北京中医药大学基本科研业务费项目(No. 2018-JYBZZ-XS242)

作者单位: 北京中医药大学第三附属医院呼吸科(北京 100029)

通讯作者: 崔红生, Tel: 010-52075409, E-mail: hshcui@sina.com

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20190812. 306

tion of SXWMD [$0.81\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$]. Lung function indices, including forced expiratory volume in 0.3 second (FEV_{0.3}), forced vital capacity (FVC), FEV_{0.3}/FVC%, peak expiratory flow (PEF), and minute ventilation volume (MVV) were detected using an AniRes2005 lung function test system. Histopathological changes of lung were observed by HE staining. Nucleus count of airway smooth muscle cells (NCASMc), wall area of bronchial tube (Wat), and percentage of tube wall area to total area (%TAt) were assessed with Image-Pro Plus 6.0. The expression level of transforming growth factor- β (TGF- β) was detected by ELISA. Western Blot was performed to determine the expressions of type I collagen (Collagen I) and type III collagen (Collagen III). **Results** Compared with the normal group, lung function indices, including FEV_{0.3}, FVC, FEV_{0.3}/FVC%, and PEF, significantly decreased ($P < 0.05$), NCASMc, Wat, and %TAt significantly increased ($P < 0.05$), and the levels of TGF- β , collagen I and collagen III significantly increased in the asthma group ($P < 0.05$). Compared with the asthma group, FEV_{0.3} and FEV_{0.3}/FVC% significantly increased ($P < 0.05$), NCASMc and %TAt significantly decreased ($P < 0.05$), and the expressions of TGF- β , collagen I and collagen III in lung tissues significantly decreased in all glucocorticoids intervened groups ($P < 0.05$). Compared with the glucocorticoids intervened asthma group, FEV_{0.3} and FEV_{0.3}/FVC% significantly increased ($P < 0.05$), NCASMc and %TAt significantly decreased ($P < 0.05$), and the protein expressions of TGF- β collagen I and collagen III significantly decreased ($P < 0.05$) in the SXWMD group. **Conclusions** Glucocorticoids intervention could not completely inhibit airway inflammation and airway remodeling in asthmatic rats. On the basis of glucocorticoids intervention, SXWMD further prevented the development of airway inflammation and airway remodeling in asthmatic rats by reducing the expressions of cytokines like TGF- β , as well as improving the lung function.

KEYWORDS Shengxian Wumei Decoction; asthma; glucocorticoids intervention; airway remodeling; lung function

支气管哮喘(哮喘),是一种以慢性气道炎症为特征的异质性疾病,临床表现为反复发作的喘息、气急、胸闷或咳嗽^[1]。气道重塑是哮喘最主要的病理学特征,是气道壁细胞及分子成分的组成、含量和组织结构改变的综合表现^[2]。相关研究表明,哮喘患者肺通气功能的进行性下降与之密切相关^[3]。因此,抑制哮喘气道重塑可能具有延缓肺功能下降的作用。乌梅丸为临床常用方剂,本课题组既往研究证实其应用于哮喘治疗可明显改善患者的临床症状,延缓肺功能下降^[4]。升陷乌梅汤为乌梅丸与升陷汤的合方加减,是课题组在既往研究基础上结合近年来临床实践总结而成,其作用机制尚不十分明确。本研究通过建立哮喘大鼠模型,观察激素干预基础上升陷乌梅汤对模型大鼠肺通气功能、肺组织病理改变以及转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、I 型胶原 (Collagen I)、III 型胶原 (Collagen III) 表达水平的影响,探讨其防治哮喘的途径及作用靶点,为其临床应用提供实验依据。

材料与方法

1 动物 清洁级健康雄性 SD 大鼠 50 只,体重 (120 ± 10) g, 4~5 周龄,购于斯贝福(北京)生物技术

有限公司,许可证编号[SCXK(京)2016-0002],每笼 10 只饲养于北京中医药大学基础医学楼,12 h 光照和夜循环,温度(22 ± 2) °C,湿度(55 ± 5)%,标准饲料喂养,自由饮水进食。本实验通过北京中医药大学伦理委员会审查批准(No. BUCM-4-2018031001-1012)。

2 药物 地塞米松磷酸钠注射液:5 mg/mL,国药集团容生制药有限公司,货号:H41020036。吸入用布地奈德混悬液(普米克令舒):1 mg/2 mL,澳大利亚 AstraZeneca Pty Ltd 公司,货号:321376。升陷乌梅汤:乌梅 10 g 制附片 10 g 党参 10 g 当归 10 g 桂枝 6 g 白芍 10 g 细辛 3 g 黄芩 10 g 黄柏 6 g 椒目 10 g 生黄芪 20 g 柴胡 6 g 升麻 6 g 桔梗 6 g,制备成含生药量 9 g/袋的颗粒剂,使用时以生理盐水配制为 0.081 g/mL 中药液。卵蛋白 (ovalbumin, OVA):货号 A5378,美国 Sigma 公司。

3 主要试剂与仪器 兔抗大鼠 Collagen I 多克隆抗体(货号:AF7001):美国 Affinity Biosciences 公司;兔抗大鼠 Collagen III 单克隆抗体(货号:ab40854):美国 Abcam 公司;兔抗 β -actin 多克隆抗体(货号:bs-0061r)、羊抗兔多克隆二抗(货号:bs-0295G-HRP):北京博奥森生物技术有限公司;ECL

超敏发光液(货号:pe0010):北京索莱宝科技有限公司;大鼠 TGF- β 蛋白 ELISA 试剂盒(货号:MM-0181R1):中国酶免生物技术研究;动物肺功能分析系统(型号:AniRes2005)、小动物呼吸机(型号:RES3020):北京贝兰博科技有限公司;电泳仪(型号:PowerPac 1645050)、电泳槽(型号:Mini-PROTEAN Tetra System 1658000):美国 Bio-Rad 公司;压缩式雾化器(型号:NE-C900):欧姆龙(大连)有限公司。化学发光凝胶成像系统(型号:C600):美国 Azure Biosystems 公司。

4 分组、造模及干预方法 采用随机数字表法将 50 只大鼠分成 5 组,每组 10 只,即正常组、哮喘组、激素干预哮喘组、布地奈德组、升陷乌梅汤组。参照本课题组既往实验造模方法制备激素干预哮喘大鼠模型^[5]。适应性饲养 1 周,将正常组以外大鼠于实验第 1、8 天给予腹腔注射 1 mL 致敏液(含 OVA 100 mg,氢氧化铝 100 mg)致敏,第 15 天起以 1% OVA 进行雾化激发,30 min/次,隔天 1 次,共激发 7 周。除正常组及哮喘组以外,其余各组大鼠在每次激发前 30 min 予地塞米松 0.5 mg/kg 腹腔注射,连用 2 周,第 3 周开始按每周 0.1 mg/kg 速度递减剂量,至激发第 7 周全部撤除。在地塞米松干预基础上,布地奈德组自实验第 15 天起每天予布地奈德混悬液雾化吸入,每次 2 mL/20 min,升陷乌梅汤组自实验第 15 天起予升陷乌梅汤(0.81 g/kg)每天灌胃 1 次,两组均给药 7 周。大鼠给药剂量按照人与大鼠体表面积转换系数 0.018 及成人常规服用剂量换算,给药体积为 10 mL/kg。正常组以同体积生理盐水代替致敏液、激发液。布地奈德组以外各组均以同体积生理盐水代替布地奈德雾化吸入,升陷乌梅汤组以外各组均以同体积生理盐水代替中药灌胃。每组随机选取 4 只大鼠不予相关药物处理,分别于实验第 15 天及第 29 天雾化激发后随机选取 2 只行肺功能测定及肺组织病理染色以确定造模成功,各组建模成功率均为 100%。

5 肺功能检测与取材 实验各组随机选取 6 只大鼠进行肺通气功能检测及取材。末次给药 24 h 后,以 1% 戊巴比妥钠溶液(60 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠,约 5 min 后行气管插管,将大鼠仰卧放入体描箱,连接气管插管与体描箱气路,待数据曲线稳定后开始采集,记录 0.3 秒用力呼气容积(forced expiratory volume in 0.3 second, FEV_{0.3})、用力肺活量(forced vital capacity, FVC)、0.3 秒内平均流速(FEV_{0.3}/FVC%)、呼气峰流速(peak expiratory flow, PEF)、每分钟通气量(minute ventilation, vol-

ume, MVV)。肺通气功能检测后处死大鼠,无菌、低温条件下取右肺肺泡灌洗液,左肺上半部分置于多聚甲醛固定液中固定,左肺下半部分置于-80℃冰箱保存。

6 肺组织病理分析 取固定肺组织常规脱水处理、石蜡包埋、切片,切片厚度为 5 μ m,行 HE 染色,光学显微镜下观察组织病理变化。参考文献[6],选取同一层级支气管采集图像,应用 Image-Pro Plus 6.0 医学图像分析软件测定气道平滑肌细胞核计数(nucleus count of airway smooth muscle cells, NCASMc)、支气管外缘内面积(area enclosed by outer perimeter, Ao)和管腔面积(Area enclosed by internal perimeter, Ai),并计算支气管壁面积(wall area of bronchial tube, Wat)及其百分比(percentage of tube wall area to total area, %TAt),即 $Wat = Ao - Ai$ 、 $TAt = Wat/Ao$ 。

7 ELISA 法检测肺泡灌洗液中 TGF- β 蛋白表达 将肺泡灌洗液于 4℃、4 000 r/min 条件下离心 15 min,ELISA 法检测其中 TGF- β 含量,具体步骤按试剂盒说明书进行。读取酶标仪上波长 450 nm 的吸光度值,并用标准曲线换算为相应浓度。

8 Western Blot 法检测肺组织中 Collagen I、Collagen III 蛋白表达 取适量冻存肺组织提取全蛋白,并进行蛋白定量;常规制备 SDS-PAGE 胶,取样品进行电泳,电转至 PVDF 膜,待转膜完毕后,将膜转移至平皿,加入封闭液(含 5% 奶粉的 TBST)置于摇床上室温封闭 1 h,加一抗室温轻摇孵育 1 h 后 4℃孵育过夜;一抗孵育完毕,加入二抗(1:2 000),室温孵育 1 h;二抗孵育完毕,化学发光显色,放入凝胶成像仪中显影;应用 Quantity One 软件分析处理各条带,以目的蛋白与 β -actin 的灰度比值作为目的蛋白相对表达量。

9 统计学方法 应用 SPSS 20.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,若各组数据符合正态分布和方差齐性则进行单因素方差分析,组间比较采用 LSD 检验,若方差不齐则采用非参数检验(Kruskal-Wallis 单因素方差分析)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠肺组织病理改变(图 1) 正常组大鼠气道上皮平整,无纤毛脱落,气道黏膜无明显水肿,支气管管腔光滑,气管平滑肌无增厚,支气管及周围组织无明显炎症细胞浸润。哮喘组大鼠气道上

皮细胞显著增生,气道管腔缩小,同时气道及周围组织可见炎性细胞浸润,平滑肌明显增厚。激素干预哮喘组、布地奈德组及升陷乌梅汤组均有轻度的炎症变化、上皮细胞增生及平滑肌增厚,但与哮喘组比较明显减轻。

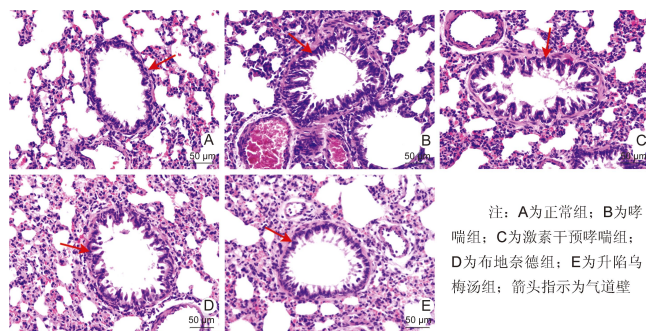


图 1 各组大鼠肺组织病理改变(HE,×400)

2 各组大鼠 NCASMc、Wat、%TAt 比较(表 1) 与正常组比较,哮喘组 NCASMc、Wat 和%TAt 均升高($P<0.05$);与哮喘组比较,激素干预哮喘组、布地奈德组及升陷乌梅汤组 NCASMc 和%TAt 均降低($P<0.05$),升陷乌梅汤组 Wat 降低($P<0.05$);与激素干预哮喘组比较,布地奈德组和升陷乌梅汤组%TAt 降低($P<0.05$),升陷乌梅汤组 NCASMc 降低($P<0.05$)。

3 各组大鼠肺功能结果比较(表 2) 与正常组比较,哮喘组 FEV0.3、FVC、FEV0.3/FVC%、PEF 均降低($P<0.05$),而 MVV 水平两组比较差异无统计学意义($P>0.05$);与哮喘组比较,各组间 MVV 水平差

异无统计学意义($P>0.05$),升陷乌梅汤组、布地奈德组及激素干预哮喘组 FEV0.3 和 FEV0.3/FVC% 水平均升高($P<0.05$),升陷乌梅汤组和布地奈德组 PEF 水平升高($P<0.05$),升陷乌梅汤组 FVC 水平升高($P<0.05$);与激素干预哮喘组比较,升陷乌梅汤组和布地奈德组 FEV0.3/FVC% 水平升高($P<0.05$),升陷乌梅汤组 FEV0.3 水平升高($P<0.05$),各组间 FVC、PEF 及 MVV 水平均差异无统计学意义($P>0.05$)。

4 各组大鼠肺泡灌洗液中 TGF- β 蛋白表达比较(表 3) 与正常组比较,哮喘组 TGF- β 蛋白表达升高($P<0.05$);与哮喘组比较,激素干预哮喘组、布地奈德组及升陷乌梅汤组 TGF- β 蛋白表达降低($P<0.05$);与激素干预哮喘组比较,升陷乌梅汤组及布地奈德组 TGF- β 蛋白表达均降低($P<0.05$)。

5 各组大鼠肺组织中 Collagen I、Collagen III 蛋白表达比较(表 4,图 2) 与正常组比较,哮喘组 Collagen I、Collagen III 蛋白表达均升高($P<0.05$);与哮喘组比较,激素干预哮喘组、布地奈德组及升陷乌梅汤组 Collagen I、Collagen III 的蛋白表达均降低($P<0.05$);与激素干预哮喘组比较,升陷乌梅汤组 Collagen I、Collagen III 蛋白表达均降低($P<0.05$)。

讨 论

哮喘是一种慢性气道炎症性疾病,以各种炎症细胞、细胞因子和介质的浸润为特征^[7]。目前临床首选

表 1 各组大鼠 NCASMc、Wat、%TAt 比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	NCASMc(个)	Wat(μm^2)	%TAt
正常	6	19.833 $\pm$ 1.941	18 832.637 $\pm$ 6 793.140	39.035 $\pm$ 2.144
哮喘	6	28.167 $\pm$ 1.723*	36 111.529 $\pm$ 10 131.948*	79.734 $\pm$ 2.917*
激素干预哮喘	6	24.167 $\pm$ 1.835 Δ	33 456.315 $\pm$ 15 827.786	69.321 $\pm$ 3.779 Δ
布地奈德	6	24.000 $\pm$ 1.414 Δ	31 842.233 $\pm$ 11 929.503	57.989 $\pm$ 4.500 Δ ▲
升陷乌梅汤	6	21.333 $\pm$ 2.160 Δ ▲	22 095.525 $\pm$ 9 703.343 Δ	44.205 $\pm$ 6.595 Δ ▲

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与哮喘组比较, Δ $P<0.05$;与激素干预哮喘组比较,▲ $P<0.05$

表 2 各组大鼠肺功能 FEV0.3、FVC、FEV0.3/FVC%、PEF、MVV 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	FEV0.3(mL)	FVC(mL)	FEV0.3/FVC%	PEF(mL/s)	MVV(mL/s)
正常	6	7.623 $\pm$ 0.289	11.516 $\pm$ 0.631	66.241 $\pm$ 1.249	36.692 $\pm$ 1.230	299.033 $\pm$ 12.425
哮喘	6	4.106 $\pm$ 0.804*	9.778 $\pm$ 0.354*	43.486 $\pm$ 7.366*	17.847 $\pm$ 3.487*	265.992 $\pm$ 24.234
激素干预哮喘	6	5.735 $\pm$ 0.844 Δ	10.591 $\pm$ 1.041	52.685 $\pm$ 4.669 Δ	30.012 $\pm$ 5.887	270.191 $\pm$ 28.354
布地奈德	6	6.475 $\pm$ 0.998 Δ	10.554 $\pm$ 1.282	61.568 $\pm$ 8.299 Δ ▲	33.217 $\pm$ 8.049 Δ	270.806 $\pm$ 34.163
升陷乌梅汤	6	7.022 $\pm$ 0.372 Δ ▲	11.301 $\pm$ 0.693 Δ	62.437 $\pm$ 6.329 Δ ▲	35.398 $\pm$ 1.237 Δ	298.106 $\pm$ 3.950

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与哮喘组比较, Δ $P<0.05$;与激素干预哮喘组比较,▲ $P<0.05$

表 3 各组大鼠肺泡灌洗液中 TGF- β 蛋白表达水平比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	TGF- β
正常	6	249.074 $\pm$ 80.054
哮喘	6	584.995 $\pm$ 92.644 [*]
激素干预哮喘	6	470.596 $\pm$ 44.196 Δ
布地奈德	6	394.031 $\pm$ 45.044 $\Delta\Delta$
升陷乌梅汤	6	389.890 $\pm$ 37.642 $\Delta\Delta$

注:与正常组比较,^{*} $P < 0.05$;与哮喘组比较, Δ $P < 0.05$;与激素干预哮喘组比较, $\Delta\Delta$ $P < 0.05$

表 4 各组大鼠肺组织中 Collagen I、Collagen III 蛋白相对表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Collagen I / β -actin	Collagen III / β -actin
正常	6	0.506 $\pm$ 0.262	0.432 $\pm$ 0.134
哮喘	6	1.569 $\pm$ 0.253 [*]	1.168 $\pm$ 0.195 [*]
激素干预哮喘	6	0.995 $\pm$ 0.153 Δ	0.794 $\pm$ 0.093 Δ
布地奈德	6	0.948 $\pm$ 0.147 Δ	0.649 $\pm$ 0.140 Δ
升陷乌梅汤	6	0.712 $\pm$ 0.131 $\Delta\Delta$	0.459 $\pm$ 0.135 $\Delta\Delta$

注:与正常组比较,^{*} $P < 0.05$;与哮喘组比较, Δ $P < 0.05$;与激素干预哮喘组比较, $\Delta\Delta$ $P < 0.05$

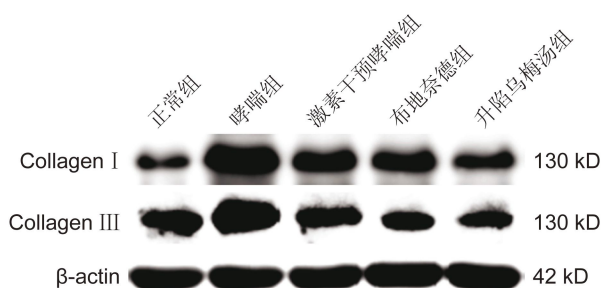


图 2 各组大鼠肺组织中 Collagen I、Collagen III 蛋白 Western Blot 条带图

的治疗药物是吸入性糖皮质激素 (inhaled corticosteroid, ICS), 其作用机理主要在于控制哮喘气道炎症、降低气道高反应性, 从而缓解支气管痉挛、减少气道分泌物^[8]。然则, ICS 仅可在短期内抑制气道炎症, 并不能完全阻止疾病进展, 其使用剂量会逐渐增加, 到一定阶段时哮喘患者甚至需长期口服 ICS 治疗^[9], 即发展为重症哮喘。哮喘患者 ICS 使用剂量的增加与 ICS 耐受及气道重塑等原因密切相关。研究表明, 与轻中度哮喘相比, 重症哮喘患者 ICS 使用量更大, 其气道炎症及气道重塑更为严重, 支气管上皮层和平滑肌层明显增厚, 而通过使用支气管热成形术减少气道平滑肌的数量, 降低气道平滑肌收缩力, 可明显改善哮喘控制水平, 提高患者生活质量, 并减少药物的使用^[10,11]。因此, 在激素治疗基础上进一步控制气道炎症及气道重塑是更有效的哮喘防治手段。

气道炎症和气道痉挛是哮喘出现可变性气流受限的病理基础, 而由于气道炎症的慢性进展和气道重塑的发生, 哮喘患者气流阻塞在一定程度上呈永久性和不可逆性, 肺功能相关指标呈进行性下降趋势^[12]。典型气道重塑改变包括上皮损伤、黏液腺增生、上皮基底膜胶原和蛋白聚糖沉积, 以及血管生成和气道平滑肌增厚等^[13], Collagen I 和 Collagen III 是常见的基底膜胶原蛋白, 在哮喘发展演变过程中常出现异常沉积。TGF- β 是哮喘过程中炎症细胞和结构细胞共同分泌的细胞因子, 在气道炎症和气道重塑的诱导中具有重要作用, 是哮喘发病的关键炎症因子^[14]。本实验结果表明, 哮喘组大鼠出现气道炎症及气道重塑等典型病理改变, NCASMc、Wat 和 % TAt 显著增加, 肺功能指标中 FEV0.3、FVC、FEV0.3/FVC%、PEF 水平均显著降低, TGF- β 、Collagen I 和 Collagen III 蛋白表达水平均显著升高, 与文献报道一致^[15]。激素干预哮喘组大鼠的气道炎症和气道重塑改变较哮喘组减轻, NCASMc 和 % TAt 显著减少, 肺功能指标中 FEV0.3 和 FEV0.3/FVC% 水平显著降低, TGF- β 、Collagen I 和 Collagen III 蛋白表达水平均有所降低, 提示地塞米松可缓解哮喘大鼠气道炎症, 并在一定程度上抑制气道重塑的发展。布地奈德组大鼠 NCASMc 和 Collagen I、Collagen III 蛋白表达水平较哮喘组低, 肺功能指标中 FEV0.3、FEV0.3/FVC%、PEF 水平较哮喘组高, 但各项指标与激素干预哮喘组相近, 而其气道炎症改变轻于哮喘组和激素干预哮喘组, 且 TGF- β 蛋白表达水平也低于两组, 表明在注射 ICS 干预的基础上使用 ICS 可进一步缓解气道炎症, 但并不能进一步抑制气道重塑的发展。

从中医理论分析, 哮喘可属中医学“哮病”范畴。首都国医名师武维屏教授提出^[16,17], 哮喘虽病在肺, 但与肝密不可分, ICS 是纯阳助火之品, 长期大量使用则容易耗伤阴津, 致使肝肾阴虚, 风动气逆、夹痰上扰则哮喘复发加重, 阴虚阳亢则内生虚火或气郁化火, 呈寒热错杂之象, 故针对重症哮喘出现激素依赖者, 其治疗当以寒热并用、辛开苦降、补泻兼施之乌梅丸为主方加减。近年来, 课题组在临床观察中发现, 重症哮喘患者除有寒热错杂的临床表现外, 常因久病虚损而影响胸中大气之正常生成, 出现大气下陷的病机演变。基于此, 其治疗当以和调阴阳、补泻兼施、益气升陷为大法, 在乌梅丸基础上合以升陷汤加减而成升陷乌梅汤, 与其病机更为适宜。本实验通过逐步递减哮喘大鼠腹腔注射地塞米松剂量, 模拟重症哮喘患者激素撤减过程。实验结果表明, 升陷乌梅汤组大鼠的气道炎症及气道重塑等病理改变明显轻于哮喘组和激素干预哮喘组, NCASMc 和

%Tat 较两组均显著减少, TGF- β 、Collagen I 和 Collagen III 蛋白表达水平明显低于两组, 且其肺功能指标中 FEV0.3、FEV0.3/FVC% 水平也明显高于两组, 提示在注射 ICS 干预的基础上使用升陷乌梅汤可进一步缓解气道炎症和抑制气道重塑的发展。

综上所述, 本实验结果表明, 哮喘大鼠在长期卵蛋白雾化激发刺激下会出现气道慢性炎症和气道重塑等改变, 而注射 ICS 干预不能完全抑制其气道炎症及气道重塑的发生发展。在激素干预基础上使用升陷乌梅汤治疗, 可下调 TGF- β 蛋白表达, 进一步缓解气道炎症, 并可减少气道平滑肌细胞数及 Collagen I、Collagen III 蛋白沉积, 抑制气道壁增厚, 进而延缓气道重塑的发展, 改善大鼠肺功能。

利益冲突: 无。

参 考 文 献

- [1] Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention, 2018 [OL]. Available from: www.ginasthma.org
- [2] Keglowich LF, Borger P. The three A's in asthma-airway smooth muscle, airway remodeling & angiogenesis [J]. Open Respir Med J, 2015, 9(1): 70-80.
- [3] Pascoe CD, Seow CY, Hackett TL, et al. Heterogeneity of airway wall dimensions in humans: a critical determinant of lung function in asthmatics and nonasthmatics [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2017, 312(3): L425-L431.
- [4] 崔红生, 武维屏, 任传云, 等. 加减乌梅丸治疗激素依赖型哮喘 20 例临床疗效观察 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2004, 10(8): 49-50.
- [5] 田彦, 崔红生, 秦阳, 等. 三步序贯法对激素撤减过程中哮喘气道重塑模型大鼠肺泡灌洗液内 TGF- β_1 /Smad 信号通路相关指标浓度的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2018, 41(6): 464-470.
- [6] Bai A, Eidelman DH, Hogg JC, et al. Proposed nomenclature for quantifying subdivisions of the bronchial wall [J]. J Applied Physiol, 1994, 77(2): 1011-1014.
- [7] Ray A, Kolls JK. Neutrophilic inflammation in asthma and association with disease severity [J]. Trends Immunol, 2017: S147149061730128X.
- [8] Barnes CB, Ulrik CS. Asthma and adherence to inhaled corticosteroids: Current status and future perspectives [J]. Respir Care, 2015, 60(3): 455-468.
- [9] Chung KF. Managing severe asthma in adults: Lessons from the ERS/ATS guidelines [J]. Curr Opin Pulmon Med, 2015, 21(1): 8-15.
- [10] Lo CY, Michaeloudes C, Bhavsar PK, et al. Increased phenotypic differentiation and reduced corticosteroid sensitivity of fibrocytes in severe asthma [J]. J Allergy Clin Immunol, 2015, 135(5): 1186-1195. e1-6.
- [11] Dunn R, Wechsler ME. Reducing asthma attacks in patients with severe asthma: The role of bronchial thermoplasty [J]. Allergy Asthma Proc, 2015, 36(4): 242-250.
- [12] O'Byrne PM, Pedersen S, Lamm CJ, et al. Severe exacerbations and decline in lung function in asthma [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 179(1): 19-24.
- [13] Manuyakom W. Airway remodeling in asthma: role for mechanical forces [J]. Asia Pacific Allergy, 2014, 4(1): 19-24.
- [14] Jonakowski M, Ziolo J, Kocwin M, et al. Role of IL15 in the modulation of TGF β_1 mediated inflammation in asthma [J]. Exp Therap Med, 2017, 14(5): 4533-4540.
- [15] 秦芳芳, 程涓, 崔红生, 等. 三步序贯法对哮喘大鼠气道重塑激素干预模型支气管肺组织病理形态学的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2016, 39(8): 670-678.
- [16] 杨硕, 武维屏. 乌梅丸治疗激素依赖型哮喘探析 [J]. 中华中医药杂志, 2005, 20(8): 486-487.
- [17] 任传云, 武维屏. 乌梅丸治疗支气管哮喘探析 [J]. 中国医药学报, 2002, 17(2): 123-125.

(收稿: 2019-04-04 在线: 2019-11-04)

责任编辑: 李焕荣

英文责编: 张晶晶