

# 加味苏子降气汤对哮喘模型大鼠细胞因子功能紊乱的调节

方宁<sup>1</sup>, 刘娟花<sup>2</sup>

(1.咸阳职业技术学院, 陕西 咸阳 712046; 2.陕西中医药大学第一附属医院, 陕西 咸阳 712000)

**摘要:**目的: 观察加味苏子降气汤对支气管哮喘模型大鼠细胞因子功能紊乱的影响。方法: 清洁级雄性SD大鼠40只, 按随机数字表法分为正常对照组、哮喘模型组、加味苏子降气汤组和地塞米松组。采用卵蛋白致敏法建立哮喘大鼠模型。用酶联免疫吸附法(ELISA)测定大鼠肺泡灌洗液中细胞因子IL-4、IFN- $\gamma$ 水平。结果: 哮喘模型组肺泡灌洗液中IL-4水平上升( $P < 0.01$ ); 中药组及西药组肺泡灌洗液中IFN- $\gamma$ 的值上升( $P < 0.05$ )以及肺泡灌洗液IL-4值下降( $P < 0.05$ )。结论: 加味苏子降气汤可以改善哮喘体内细胞因子水平, 调节细胞因子失衡从而达到治疗目的。

**关键词:** 加味苏子降气汤; 哮喘; 细胞因子; 大鼠

**中图分类号:** R285

**文献标识码:** A

**文章编号:** 94047-(2017)03-046-03

哮喘是以嗜酸粒细胞、肥大细胞浸润为主, 多种细胞参与的以慢性气道炎症反应和气道高反应为特征的疾病。临床长期实践证明, 加味苏子降气汤对哮喘患者在缓解症状, 降低副作用等方面均有较好的疗效。本实验主要研究加味苏子降气汤对哮喘大鼠体内细胞因子水平的影响, 对免疫网络的调节, 从而进一步探求其治疗肾虚证哮喘的免疫机制。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

清洁级SD大鼠, 雄性, 40只, 月龄6-9个月, 体重 $160 \pm 20$ g, 由西安交大实验动物中心提供, 实验前于实验室正常饲养一周。大鼠分笼饲养, 自由进食进水, 饲料为标准颗粒饲料(由西安交大实验动物中心统一采购提供)。实验室通风、采光条件及室温适宜。

### 1.2 药物及试剂

加味苏子降气汤由紫苏子、半夏、当归、前胡、厚朴、肉桂、甘草等中药组成, 购自于陕西中医药大学附属医院。采用自动煎药机煎药, 密封包装, 每包100mL, 每毫升含生药1g。哮喘模型致敏剂卵清白蛋白(OVA), 由Sigma公司产品(分装)提供; 氢氧化铝, 购于天津市博迪化工有限公

司; 灭活百日咳杆菌疫苗来自于上海生物制品研究所产品; 灵芝孢子粉, 购自陕西大至医药有限公司。ELISA IL-4、IFN- $\gamma$ 试剂盒购自于武汉博士德公司产品。

### 1.3 主要器材

FAI004N电子天平, 上海精密科学仪器有限公司产品; CC2170A超声雾化器, 成都维信电子科大新技术有限公司产品; SHHW21-600电热恒温水箱, 天津市泰斯特有限公司产品; RT-2100C酶标分析仪, 深圳雷杜电子有限公司产品。

## 2 方法

### 2.1 动物分组及哮喘模型制造

雄性SD大鼠40只, 编号, 随机分为四组即: 正常对照组(10只)、哮喘模型组(10只), 加味苏子降气汤组(10只)和地塞米松组(10只)。正常对照组除外, 其余三组参照[1]进行哮喘模型制造, 采用分别于第1d和第7d经四肢末端及腹腔共注射1ml致敏液(每毫升含卵蛋白(OVA)0.1g、氢氧化铝0.1g、百日咳杆菌原液 $5 \times 10^9$ 个/mL)进行致敏。从第14d开始, 将模型大鼠置于密闭容器内, 用1% OVA溶液进行雾化吸入, 每天1次, 每次持续20min., 连续5d。之后改为隔日一次, 直到第28d。每次雾化时, 以大鼠出现抖毛、烦躁、咳

收稿日期: 2017-07-11

作者简介: 方宁(1979—), 女, 讲师, 主治医师。从事免疫学教学及超敏反应性疾病研究。

嗽、腹式呼吸,甚至抽搐、跌倒等症状为哮喘模型激发成功的标志。正常对照组以生理盐水代替致敏液对大鼠进行致敏,方法同上。

## 2.2 用药

地塞米松组、加味苏子降气汤组大鼠于实验第15d开始给药(即激发第1d)。日给药剂量为:地塞米松组给予地塞米松 0.25mg/kg/d;中药治疗组给予加味苏子降气汤 2ml/kg/d 灌胃;正常对照组、哮喘模型组给予生理盐水2ml/kg/d灌胃。

## 2.3 标本采集与检测

将实验大鼠按1.5g/kg腹腔注射20%乌拉坦溶液,麻醉。肺泡盥洗法参照文献[2]将大鼠固定在手术板上,常规消毒,剪开颈部皮肤,钝性分离,暴露气管,用手术线结扎左肺,在颈部暴露气管做一横切口,将圆头7号针头进针约1.0cm,以“0”号

手术线结扎固定,对右肺用生理盐水(37℃)3ml进行支气管肺泡灌洗,保留30s后轻轻抽出,如此重复3次,肺泡灌洗液回收率>80%。将肺泡灌洗液离心(3000rpm/min, 15min),获取上清液待测,放入Eppendorf管中待测。

指标检测方法为酶联免疫吸附法,具体操作参照试剂盒说明书并且按文献进行[3]检测。

## 2.4 统计学方法

应用SPSS 17.0软件对数据行处理,数值用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较用t检验,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性,以 $P < 0.01$ 为差异有非常显著性。

## 3 结果

各组大鼠肺泡灌洗液中IL-4、IFN- $\gamma$ 水平的比较见表1

表1 各组大鼠肺泡灌洗液中细胞因子水平的比较( $\pm S$ , n=10)

组别	IL-4水平 (pg/ml)	IFN- $\gamma$ 水平 (pg/ml)
正常对照组	38.32 $\pm$ 3.02	112.90 $\pm$ 18.90
哮喘模型组	50.44 $\pm$ 13.30▲	78.90 $\pm$ 9.16▲
加味苏子降气汤组	41.45 $\pm$ 4.22★△	92.22 $\pm$ 15.94★△
地塞米松组	42.98 $\pm$ 4.30★	93.80 $\pm$ 16.02★

注:与正常组比较,▲ $P < 0.01$ ;与模型组比较,★ $P < 0.05$ ;与地塞米松组比较,△ $P > 0.05$ 。

从表1可以看出,哮喘模型组大鼠肺泡灌洗液中的IL-4的含量明显高于正常组,而IFN- $\gamma$ 的含量明显低于正常组,有非常显著性差异( $P < 0.01 =$ ;与哮喘模型组相比,加味苏子降气汤组、地塞米松组大鼠肺泡灌洗液中的IL-4均明显降低,有显著性差异( $P < 0.05 =$ ;加味苏子降气汤组、地塞米松组大鼠肺泡灌洗液中的IFN- $\gamma$ 均明显升高。说明加味苏子降气汤和地塞米松均对哮喘大鼠肺泡灌洗液中的细胞因子IL-4的水平有下调作用,对IFN- $\gamma$ 的水平有上调作用。加味苏子降气汤组与地塞米松组在对IL-4、IFN- $\gamma$ 的影响没有显著差异。

## 4 讨论

近年来,大量的临床和实验研究结果使学者对哮喘的认识有了很大的变化,认识到哮喘是和免疫功能紊乱相关的气道慢性炎症性疾病。随着分子免疫学研究的深入,认为辅助性T细胞的亚群Th1和Th2之间存在着交互调节的关系,Th1/Th2失衡是哮

喘发病的重要免疫学机制<sup>[4]</sup>,Th2分泌的细胞因子IL-4可诱发哮喘患者体内IgE的生成。哮喘患者表现体内IL-4细胞因子的异常增高,Th2型免疫反应过高;而Th1和Th2相互拮抗的方式调节着机体正常的免疫应答。Th1分泌的主要细胞因子IFN- $\gamma$ 能抑制哮喘患者体内IgE的合成。

哮喘大多自幼发病,先天不足是其根本,其中又有部分在中年以后,因肾中阳气渐亏而哮喘宿疾复发。肾阳亏虚是哮喘宿根形成之本。蒋朱秀等用相同方法致敏的哮喘模型实验中,哮喘模型组大鼠血清中T降低,证实模型组大鼠有肾虚证及相关症候<sup>[5]</sup>。苏子降气汤是中医学治疗“上实下虚”型哮喘的名方,加味苏子降气汤是在此基础上,加大温补肾阳的功效。Th1/Th2模式与中医学的阴阳学说、虚实证候、脏象学说等均有密切关系,细胞因子网络可能是中医证候的重要物质基础。故研究Th1/Th2失衡和IgE分泌是防治哮喘新途径。本实验结果显示加味苏子降气汤能明显降低哮喘大鼠体内

细胞因子IL-4的含量,对哮喘大鼠体内的细胞因子IFN- $\gamma$ 水平有明显的升高作用。对哮喘模型大鼠体内Th1/Th2失衡有一定的改善作用,从而达到防治哮喘的作用。

#### 参考文献

- [1]刘仁慧,郑君芳,袁颖,等.淫羊藿女贞子配伍调节哮喘大鼠 NO/ET 及 HPA 轴作用的研究[J].中国中药杂志,2010,35(12):1590-1593.
- [2]朱美华,朱敏敏,周钦海.氯氨酮雾化吸入对哮喘模型大

鼠管肺泡灌洗液白介素-4浓度的影响[J].临床麻醉学杂志,2004;20(6):359-360.

- [3]巴德年.代免疫学技术与应用[M].北京:人民卫生出版社,323-325.
- [4]徐文玉,王易,周莉莉,等. $\gamma$ 干扰素和白细胞介素在支气管哮喘发病中作用的研究[J].中国免疫学杂志,1995,11:54-56.
- [5]蒋朱秀,郑小伟.加味金匱肾气丸调节肾阳虚哮喘大鼠体内激素和细胞因子功能紊乱的研究[J].浙江中医杂志,2016,51(2):88-90.

[责任编辑、校对:王军利]

## Regulations of Jiawei Suzi Jiangqi prescription on Cytokines in Rats with Asthma Model Function Disorder

FANG Ning, LIU Juan-hua

(Xianyang Vocational & Technical College, Xianyang, Shaanxi712046)

**Abstract:** To observe the effects of Jiawei Suzi Jiangqi prescription on bronchial asthma model function disorder of cytokines in asthmatic SD rats, you can use such methods :Making 40 SD rats randomly divided into normal group, asthmatic group, Jiawei Suzi Jiangqi prescription group and Dexamethasone group with 10 rats in each group. Sensitize the rats with ovum albumen(OVA) and stimulate them by aerosol inhalation. With the model having been made successfully, observe the indexes about the deviations of cytokine IL-4 and IFN- $\gamma$  level in alveolus lavage solution by the way of ELISA. Results: The rats of asthmatic group, in alveolus lavage solution, the contents of IL-4 are significantly higher than normal ones ( $P < 0.01$ ). Between the two groups, however, the content of IFN- $\gamma$  is apparently lower ( $P < 0.01$ ). Jiawei Suzi Jiangqi prescription group and Dexamethasone group, in alveolus lavage solution the contents of IL-4 fall down clearly than the asthmatic group ( $p < 0.05$ ); but the two groups' content of IFN- $\gamma$  is higher individually than the asthmatic group ( $p < 0.05$ ). Conclusion: Jiawei Suzi Jiangqi prescription can adjust the contents of IL-4 and IFN- $\gamma$  in alveolus lavage solution. By this way, it improves the immunological imbalance between Th1/Th2 and reaches the aim of asthma prevention and treatment.

**Key words:** Jiawei Suzi Jiangqi prescription, asthma, cytokines, rats