

健脾祛湿膏对大鼠胃肠功能的调节作用

张毅靖^{1,2}, 甘剑峰^{1,2}, 王永福^{1,2}, 何国栋^{1,2}, 吴映秀^{1,2}, 唐洪梅^{3*}

(1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学岭南医学研究中心, 广东 广州 510405; 3. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 探究健脾祛湿膏对大鼠胃肠功能的调节作用。**方法** 采用冰番泻叶水煎液灌胃结合过度游泳复制脾虚腹泻大鼠模型, 给药干预 14 d 后, 检测各组大鼠胃内残留率和小肠推进率, 采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测各组大鼠血清中生长抑制素 (SS)、血浆中胃动素 (MTL)、血管活性肠肽 (VIP) 水平, 结肠水通道蛋白 (AQP3) 和肾脏水通道蛋白 (AQP2) 水平, 采用蛋白印迹法 (Western blot) 检测各组大鼠结肠组织 Occludin 和 Claudin-1 蛋白水平。**结果** 与模型组相比, 健脾祛湿膏组大鼠小肠推进率、MTL 和结肠 AQP3 水平上升, 结肠 Occludin 和 Claudin-1 蛋白水平增加, 胃内残留率、VIP、SS 和肾脏 AQP2 水平降低。**结论** 健脾祛湿膏可能通过上调 MTL 和结肠 AQP3 水平、结肠 Occludin 和 Claudin-1 蛋白表达, 下调 VIP、SS 和肾脏 AQP2 水平, 改善脾虚腹泻大鼠胃肠功能, 从而达到治疗效果。

关键词: 健脾祛湿膏; 脾虚腹泻; 胃肠激素; 水通道蛋白; 紧密连接蛋白

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)01-0191-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.01.039

岭南地区春夏季气温高, 且多雨多湿; 夏季广东地区居民有饮凉茶的习惯, 更易伤及脾气, 因此岭南地区脾虚证多发^[1]。脾虚临床表现为蜷缩倦怠、便溏腹泻、消瘦乏力等。研究表明, 脾虚患者的胃肠动力和吸收能力较弱, 胃肠激素也存在异常^[2]。

健脾祛湿膏为广州中医药大学第一附属医院的院内制剂, 临床上广泛用于脾虚证, 效果显著, 但具体机制尚不明确。本实验采用苦寒泻下法结合劳倦过度法复制脾虚腹泻大鼠模型, 以血中胃动素 (motilin, MTL)、血管活性肠肽 (vasocative intestinal peptide, VIP) 和生长抑制素 (somatostain, SS)、结肠及肾脏水通道蛋白 (aquaporin, AQP)、结肠闭锁蛋白 occludin 和连接蛋白 Claudin-1 的水平为研究指标, 探究健脾祛湿膏对大鼠胃肠功能的影响。

1 材料

1.1 动物 4 周龄健康雄性 SD 大鼠 40 只, SPF 级, 体质量约 90 g, 购于广东省医学实验动物中心, 实验动物生产许可证号 SCXK (粤) 2018-0002, 实验动物伦理号 TCMF₁-2019045。全部大鼠饲养于广州中医药大学第一附属医院 SPF 级动物实验中心, 实验动物使用许可证号 SYXK (粤) 2018-0092, 昼夜节律为 12 h/12 h, 环境温度 (24±2)℃, 相对湿度 55%~68%, 自由进食进水。

1.2 试剂与药物 健脾祛湿膏 (由广州中医药大学第一附属医院膏方室提供, 经广州中医药大学第一附属医院药检

室检测为合格制剂, 批号 20190808); 参苓白术散颗粒 (山西华康药业股份有限公司, 国药准字 Z14020399, 批号 20190103)。番泻叶 (广州至信药业股份有限公司, 批号 190501) 由广州中医药大学第一附属医院药检室何嘉仑中药师鉴定为正品。大鼠胃动素 (MTL) ELISA 试剂盒 (武汉华美生物工程有限公司, 批号 M06014790); 大鼠血管活性肽 (VIP) ELISA 试剂盒 [伊艾博 (武汉) 科技股份有限公司, 批号 9J126M]; 大鼠生长抑制素 (SS) ELISA 试剂盒 [伊艾博 (武汉) 科技股份有限公司, 批号 9J126M]; *D*-木糖水平测试试剂盒 (北极素莱宝科技有限公司, 批号 BC4395); 活性炭 (上海易恩化学技术有限公司, 批号 R019802); BCA 蛋白浓度测试试剂盒 (碧云天生物科技有限公司, 批号 080919190917); 苏木素伊红染色剂 (北京雷根生物科技有限公司, 批号 1009A19); *D*-(+)-木糖 (上海源叶生物科技有限公司, 批号 D19N9S75493)。ECL 化学发光底物 (美国 Millipore 公司, 批号 WBKLS0500); RIPA 裂解液 (批号 P0013B)、苯甲基磺酰氟 (PMSF) (批号 ST506)、一抗稀释液, 批号 (P0256)、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔免疫球蛋白 (Ig) G (H+L) (批号 A0280) 均购自碧云天生物科技有限公司; Occludin 抗体 (美国 Abcam 公司, 批号 RA20770); Claudin-1 抗体 (美国 CST 公司, 批号 #4933)。

1.3 仪器 AL1240 型电子天平 [梅特勒-托利多仪器 (上

收稿日期: 2020-04-29

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81673842); 高水平医院建设项目 (211010010708); 广东省中医药管理局立项 (20203013)

作者简介: 张毅靖 (1995—), 男, 硕士生, 从事中药新药开发与安全性评价研究。E-mail: 13809877205@163.com

* **通信作者:** 唐洪梅, 女, 博士, 教授, 主任中药师, 从事中药新药开发与安全性评价研究。Tel: (020) 86358342, E-mail: tanghongmei2000@163.com

海)有限公司]; BGE-140 电热鼓风干燥箱(博迅实业有限公司医疗设备厂); MagNa Lyser 匀浆仪[罗氏诊断产品(上海)有限公司]; ZD-85 型气浴恒温振荡器(常州金坛精达仪器制造有限公司); 5810R 台式高速大容量离心机(德国 Eppendorf 公司); 1510 型全波长酶标仪(美国 Thermo 公司); H-7500 型透射电子显微镜(日本 Hitachi 公司)。ChemiDoc MP 型全能型凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司); 165-8001 型垂直板电泳槽(美国 Bio-Rad 公司); TS-2 型水平摇床(海门市其林贝尔仪器制造有限公司)。

2 方法

2.1 药液制备

2.1.1 番泻叶水液 称取番泻叶适量,加纯化水室温下浸泡 30 min,加热至沸腾后继续加热 10 min。过滤后浓缩,使药物质量浓度为 1.2 g/mL,于 4 ℃冰箱中保存^[3]。

2.1.2 健脾祛湿膏药液 称取健脾祛湿膏 42 g,加入 200 mL纯化水,搅拌至溶解,使药液质量浓度为0.21 g/mL,于4 ℃冰箱中保存,每次灌胃前用温水隔水加热至室温,用毕放回冰箱。

2.1.3 参苓白术散药液 称取参苓白术散 100 g,加入 200 mL纯化水,搅拌至溶解,使药液质量浓度为0.5 g/mL,于4 ℃冰箱中保存,每次灌胃前用温水隔水加热至室温,用毕放回冰箱。

2.2 模型建立 40 只大鼠随机分为空白组、模型组、健脾祛湿膏组(简称“膏方组”)和阳性药参苓白术散组(简称“阳性药组”),每组 10 只,适应性饲养 3 d,第 4 天记录各组大鼠体质量,为正式实验第 1 天。自正式实验第 1 天起,除空白组外其余大鼠每日上午给予冰番泻叶水煎液灌胃 1 次,给药剂量为 10 mL/kg。除空白组外,各组大鼠晚上置于水桶中游泳 1 次至力竭,标志为大鼠入水后不再挣扎游动,鼻尖沉入水中 5 s,无法浮出水面。造模持续 14 d,实验第 15 天进行模型评价,挑选造模成功的大鼠给药^[3]。

2.3 给药 实验第 15 天起,膏方组按照 2.1 g/kg 的临床等效剂量给药,阳性组按 5 g/kg 的临床等效剂量给药,空白组给予一定剂量的纯化水灌胃,持续给药 14 d。

2.4 取材 分别于造模结束后和给药结束后 1 d,各组大鼠禁食不禁水 12 h,手指轻按大鼠腹部刺激排便,收集粪便。禁食结束后给予大鼠一定量 D-木糖溶液,代谢笼收集 5 h 尿液。实验第 30 天取材,配制新鲜的碳末混悬液,每只大鼠定量给予 2 mL 碳末混悬液,记录碳末混悬液和注射器的总质量,计算每只大鼠实际灌服的碳末质量,并根据公式胃内残留率=[(含碳末的胃全重-洗净后的胃净重)/(2 mL 碳末与注射器总质量-空白注射器质量)]×100%进行计算。15 min 后,大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛,麻醉,解剖取腹主动脉血,分别用抗凝管和非抗凝管收集;取胃、由幽门到盲部的消化管和肾脏,测量碳末推进长度和小肠总长度,测量完毕后剪取结肠,沿肠系膜纵轴剪开,生理盐水洗净内容物,一部分保存于 4% 多聚甲醛中,另一

部分保存于 1.5 mL 离心管,先于冰中保存;称量胃全重,剪开胃后用生理盐水洗净内容物,再次称得胃净重,分别置于冰中冻存。腹主动脉血静置 30 min 后离心 15 min (3 500 r/min),取血清和血浆,大鼠尿液离心 15 min (3 500 r/min) 后取上清液。所有样品后期均转移至-80 ℃冰箱。

2.5 指标检测 取大鼠血清和血浆,ELISA 法检测血清 SS 及血浆 MTL、VIP 水平。肾脏和结肠分别加适量 PBS 缓冲液后在冰上匀浆,BCA 蛋白试剂盒定量检测总蛋白浓度,ELISA 法检测肾脏匀浆液中 AQP2 和结肠匀浆液 AQP3 水平。取各组大鼠尿液上清液,根据试剂盒说明书操作,计算 D-木糖排泄率。参照 HE 染色法制备结肠石蜡切片,包括梯度乙醇脱水、浸蜡、包埋、切片、染色等步骤,切片后光学显微镜观察结肠形态。

2.6 统计学分析 通过 SPSS 21.0 软件进行处理,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,数据若服从正态分布且方差齐性,则采用单因素方差分析,否则采用非参数检验。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 一般状态 冰番泻叶水煎液结合过度游泳 14 d 后,模型组、膏方组、阳性药组大鼠均出现体质量增长缓慢、皮毛光泽黯淡且凌乱、喜好扎堆、大便稀溏等情形,提示脾虚腹泻模型复制成功。

3.2 粪便含水量 采用烘干法测定。如表 1 所示,模型组、膏方组和阳性药组大鼠粪便含水量较空白组升高($P<0.01$);药物干预后,膏方组、阳性药组大鼠粪便含水量较模型组降低($P<0.05$)。

表 1 健脾祛湿方对大鼠粪便含水率的影响($\bar{x}\pm s,n=10$)

组别	造模后含水率/%	给药后含水率/%
空白组	50.35±7.230	57.81±6.204
模型组	84.23±6.588**	87.41±7.993**
膏方组	82.35±7.496**	61.17±8.338#
阳性药组	83.57±7.148**	59.43±5.986#

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

3.3 D-木糖排泄率 如表 2 所示,模型组、膏方组、阳性药组大鼠 D-木糖排泄率均低于空白组($P<0.01$);药物干预后,给药组大鼠 D-木糖排泄率较模型组升高($P<0.05$)。

表 2 健脾祛湿方对大鼠 D-木糖排泄率的影响($\bar{x}\pm s,n=10$)

组别	造模后 D-木糖排泄率/%	给药后 D-木糖排泄率/%
空白组	10.942±9.047	10.075±5.334
模型组	3.101±2.193**	3.803±1.836**
膏方组	2.901±2.422**	5.999±2.760#
阳性药组	3.005±1.953**	6.717±4.307#

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

3.4 结肠状态 如图 1 所示,HE 染色后可见杯状细胞、腺体和黏膜层表层;各组大鼠结肠黏膜层细胞排列整齐,表层均无明显水肿;空白组大鼠腺体无明显萎缩;模型组大鼠固有层腺体出现较明显的萎缩;药物干预后,给药组大鼠结肠固有层腺体萎缩有所改善。

3.5 胃内残留率、小肠推进率 如表 3 所示,与空白组比

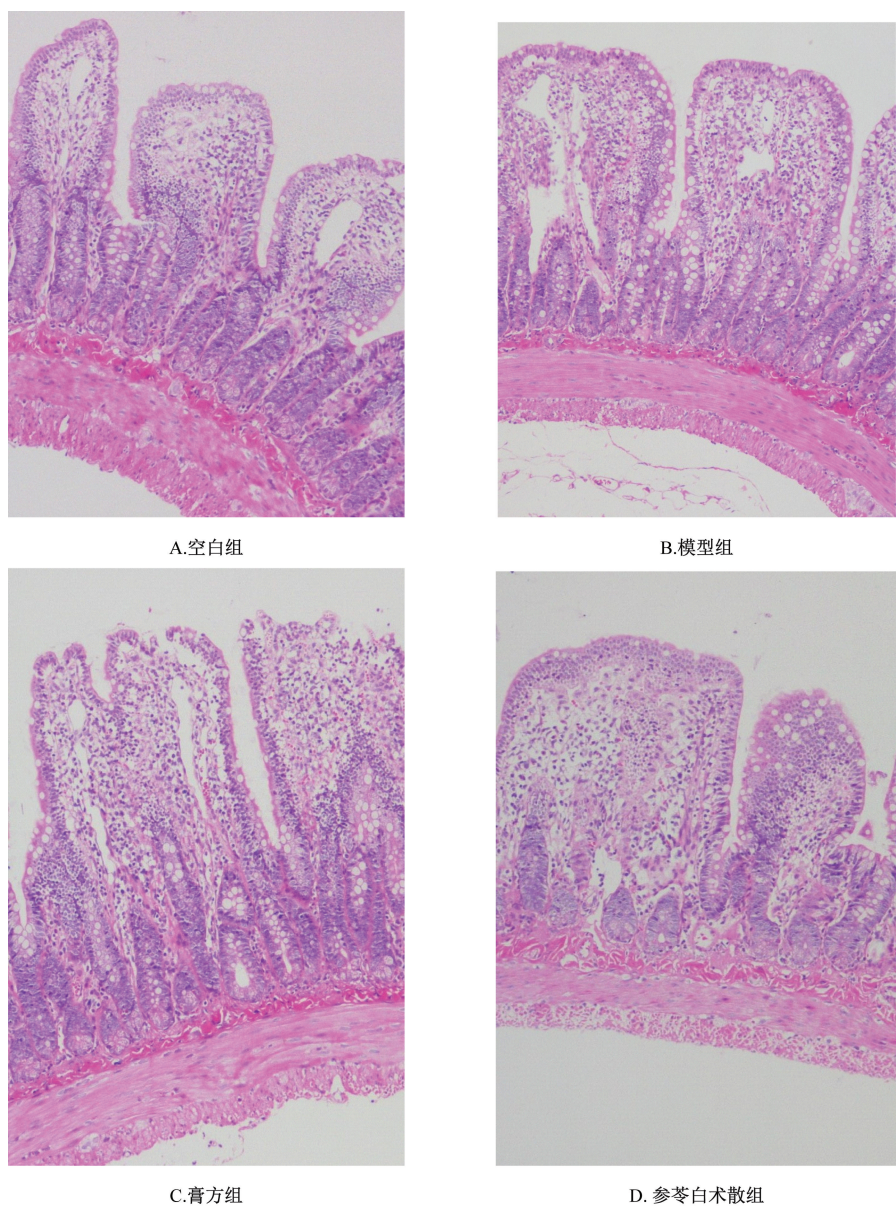


图 1 各组大鼠结肠形态 (×100)

较，模型组大鼠胃内残留率升高 ($P<0.01$)，小肠推进率降低 ($P<0.01$)；药物干预后，与模型组比较，给药组大鼠胃内残留率降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，小肠推进率升高 ($P<0.05$)。

表 3 健脾祛湿方对大鼠胃内残留率和小肠推进率的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	胃内残留率/%	小肠推进率/%
空白组	22.595±10.331	45.178±7.451
模型组	64.251±13.730 ^{**}	31.532±7.018 ^{**}
膏方组	34.176±5.606 [#]	38.086±11.436 [#]
阳性药组	32.466±3.329 ^{##}	41.967±7.071 [#]

注：与空白组比较，^{**} $P<0.01$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.01$ 。

3.6 胃肠激素水平 如表 4 所示，与空白组比较，模型组大鼠血浆 VIP、血清 SS 水平升高 ($P<0.01$)，血浆 MTL 水平降低 ($P<0.01$)；药物干预后，与模型组比较，给药组

大鼠血浆 MTL 水平升高 ($P<0.05$)，血清 SS、血浆 VIP 水平降低 ($P<0.05$)。

表 4 健脾祛湿方对大鼠胃肠激素水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	MTL/(pg·mL ⁻¹)	VIP/(pg·mL ⁻¹)	SS/(ng·mL ⁻¹)
空白组	122.664±41.717	29.444±1.184	471.327±130.102
模型组	54.609±16.671 ^{**}	32.874±0.635 ^{**}	629.981±85.679 ^{**}
膏方组	97.535±15.006 [#]	31.925±0.299 [#]	506.765±60.619 [#]
阳性药组	121.773±58.270 [#]	30.716±1.115 [#]	493.670±75.317 [#]

注：与空白组比较，^{**} $P<0.01$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ 。

3.7 结肠 AQP3、肾脏 AQP2 水平 如表 5 所示，与空白组比较，模型组大鼠肾脏 AQP2 水平升高 ($P<0.01$)，结肠 AQP3 水平降低 ($P<0.01$)；药物干预后，与模型组比较，给药组大鼠结肠 AQP3 水平升高 ($P<0.05$)，肾脏 AQP2 水平降低 ($P<0.05$)。

表 5 健脾祛湿方对大鼠结肠 AQP3、肾脏 AQP2 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	AQP2/(ng·mL ⁻¹)	AQP3/(ng·mL ⁻¹)
空白组	1.892±1.381	0.659±0.442
模型组	6.021±1.961**	0.122±0.124**
膏方组	2.606±0.819 [#]	0.483±0.221 [#]
阳性药组	2.423±1.292 [#]	0.478±0.323 [#]

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$ 。

3.8 结肠 Occludin、Claudin-1 蛋白表达 如表 6、图 2 所示,与空白组比较,模型组大鼠结肠 Occludin、Claudin-1 蛋白表达降低 ($P<0.05$);药物干预后,与模型组比较,给药组大鼠结肠 Occludin、Claudin-1 蛋白表达升高 ($P<0.05$)。

表 6 健脾祛湿方对大鼠结肠 Occludin、Claudin-1 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	Occludin/ β -actin	Claudin-1/ β -actin
空白组	1	1
模型组	0.532±0.237*	0.231±0.152*
膏方组	0.996±0.046 [#]	0.718±0.122 [#]
阳性药组	0.883±0.075 [#]	0.571±0.295 [#]

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$ 。

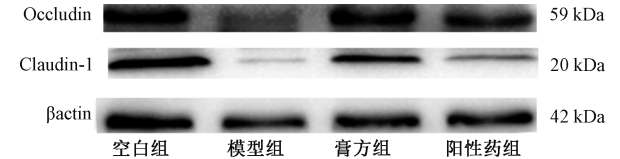


图 2 各组大鼠结肠 Occludin、Claudin-1 蛋白表达

4 讨论

健脾祛湿膏为广州中医药大学第一附属医院院内制剂,由白术、黄连、五指毛桃、何首乌、白芍、柴胡、黑枣等多味药材组成。制备工艺遵照《医疗机构岭南膏方的制备与合理使用专家共识》,首先将各饮片置于煎药机中,加入 8 倍量的水浸泡过夜,煎煮提取两次后浓缩而成。参苓白术散方为临床上常用于治疗脾虚湿盛泄泻,关于参苓白术散的相关研究也较为深入^[4-5]。因此本实验选参苓白术散作为阳性对照药。

MTL 是一种多肽类胃肠激素,能促进胃肠运动和刺激胃蛋白酶分泌,加速胃对内容物的排出,可促进胃容积的恢复^[6]。SS 为生长抑制素,可减弱胃肠运动,减缓胃排空^[7]。VIP 为抑制性脑肠肽,可直接作用于胃平滑肌上的受体,使平滑肌和括约肌舒张,抑制小肠的运动,使胃肠运动减弱^[8]。与空白组对比,模型组 MTL 水平显著降低而 VIP 和 SS 水平显著升高,提示模型大鼠胃肠运动减弱,导致胃内残留率升高而小肠推进率降低。此外, VIP 显著升高,导致模型大鼠括约肌异常舒张,胃肠下行运动亢奋,使肠道内容物停留时间减少,肠道对于内容物水分重吸收不充分,导致模型大鼠粪便含水量异常增多。

D-木糖主要在空肠上段被吸收,不能为肝脏利用,大部分经由肾脏从尿液中排出,尿液中木糖排泄率可反应小

肠吸收能力,是目前临床脾虚证的常用诊断指标之一^[9]。造模结束后,除空白组外各组大鼠 D-木糖排泄率显著降低,提示模型复制成功。药物干预后,给药组大鼠 D-木糖排泄率显著上升,提示其肠道吸收功能有所改善。

水通道蛋白 AQP3 主要在消化道中表达,主要调节消化道的水分重吸收功能,直接影响消化道对水的重吸收功能。结肠 AQP3 表达过低会影响结肠对内容物或粪便水分的重吸收,粪便含水量过高从而导致腹泻^[10]。AQP2 主要分布于肾脏中,调节肾脏对原尿水分的重吸收功能^[11]。本实验中,模型组大鼠结肠 AQP3 水平显著降低,表明其结肠水分重吸收功能异常。实验中收集大鼠尿液时发现经造模干预的鼠尿量较空白组少,经过给药干预后,膏方组和阳性药组大鼠尿量有所上升,但仍较空白组低,且组内尿量差异大,猜测可能是由于粪便含水量上升,大鼠自身为达到机体水液平衡做出的调整。实验结果也表明模型组大鼠的肾脏 AQP2 水平显著升高,表明其肾脏对水的重吸收作用加强,因此导致尿量较少。经药物干预后,给药组肾脏 AQP2 水平降低,结肠 AQP3 水平上升。本实验初步从机体水盐代谢角度探究膏方对大鼠模型的治疗作用,仅仅用 ELISA 法对比各组大鼠结肠 AQP3 和肾脏 AQP2 的数量差异,较为片面,结果也存在较大误差,是本实验的不足之处。

Occludin 和 Claudin-1 均是肠屏障结构的重要紧密连接蛋白,功能为维持上皮细胞结构,控制相关离子的转运,维持和调节肠道通透性^[12]。实验中模型组大鼠结肠 Occludin 和 Claudin-1 蛋白水平降低,肠道通透性增加,可能是导致粪便含水量上升的主要原因,经药物干预后,膏方组大鼠结肠 Occludin 和 Claudin-1 蛋白水平有所上升。

实验中模型大鼠胃肠激素、水通道蛋白和结肠 Occludin 和 Claudin-1 蛋白表达结果和文献报道一致,经药物干预后,健脾祛湿膏组大鼠各项指标有所改善,提示健脾祛湿膏可能是通过上调 MTL 水平,同时下调 SS 和 VIP 水平,改善脾虚腹泻大鼠的胃肠运动和吸收能力,同时上调结肠 AQP3、Occludin 和 Claudin-1 蛋白水平,下调肾脏 AQP2 水平,改善肠道的通透性和对水的重吸收能力,调整机体水盐平衡,缓解腹泻症状,进而实现疗效。

参考文献:

[1] 广东省药学会. 医疗机构岭南膏方的制备与合理使用专家共识[J]. 今日药学, 2019, 29(12): 793-802.
[2] 张声生, 胡 玲, 李茹柳. 脾虚证中医诊疗专家共识意见(2017) [J]. 中医杂志, 2017, 58(17): 1525-1530.
[3] 高 蕊, 郑 晖, 岳 灵, 等. 用不同浓度的番泻叶水煎剂建立功能性腹泻大鼠模型的稳定性观察[J]. 当代医药论丛, 2018, 16(10): 200-202.
[4] 王彦芳, 韩晓春, 王 媛, 等. 参苓白术散对脾虚水湿不化模型大鼠健脾功效的研究[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(1): 60-63.

[5]

孙 杰, 王东晓, 桑 凯. 参苓白术散对 COPD 大鼠下丘脑及胃组织 Ghrelin, Obestatin 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(1): 85-90.

[6]

陈祥胜. 焦苍术长于“健脾止泻”物质基础及其作用机理的研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2019.

[7]

邵长乐. 开胃消食合剂对功能性消化不良大鼠胃肠动力及胃肠激素 MTL 和 SS 的影响[D]. 南京: 南京中医药大学, 2019.

[8]

石金凤, 林茂源, 林 夏, 等. 基于因子分析的附子理中方对脾虚泄泻的治疗作用及关键因子研究[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(2): 22-26.

[9]

李 灿, 张海艇, 陈玉龙. 采用唾液淀粉酶和 D-木糖排泄率对利血平脾虚证模型的评价研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2011, 17(7): 746-748.

[10]

李姿慧, 王 键, 蔡荣林, 等. 参苓白术散通过 ERK/p38 MAPK 信号通路干预溃疡性结肠炎大鼠结肠组织 AQP3、AQP4 的表达[J]. 中成药, 2015, 37(9): 1883-1888.

[11]

陈国英. 五苓散对水负荷大鼠尿量影响及与肾脏 AQP2 相关性的研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2018.

[12]

石玉莹, 唐洪梅, 吴映秀, 等. 肠激安方对 IBS-D 大鼠肠道通透性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(11): 80-85.

丹龙定喘汤对哮喘小鼠肺组织 HMGB1、 α -SMA、IL-4、IFN- γ 、TGF- β 1 表达的影响

田金娜¹, 陈 迪², 李建保^{1*}, 王 霞³, 李蓝轩⁴, 刘智龙⁴
(1. 成都中医药大学附属医院儿科, 四川 成都 610072; 2. 新津区中医医院, 四川 成都 611430; 3. 遂宁市第一人民医院, 四川 遂宁 629000; 4. 成都中医药大学临床医学院, 四川 成都 610075)

摘要: **目的** 研究丹龙定喘汤对哮喘小鼠肺组织 HMGB1、 α -SMA、IL-4、IFN- γ 、TGF- β 1 表达的影响。**方法** 180 只小鼠随机分为空白对照组、模型组、强的松组、丹龙定喘汤高剂量组、丹龙定喘汤中剂量组、丹龙定喘汤低剂量组, 每组 30 只。除空白对照组外各组小鼠用卵清蛋白+氢氧化铝建立哮喘气道重塑模型, 连续灌胃给予相应药物 42 d (空白对照组灌胃给予生理盐水)。小鼠肺组织 HE 染色后, 观察其病理组织学变化, ELISA 法检测 IL-4、IFN- γ 、TGF- β 1 表达, Western blot 法检测 α -SMA、HMGB1 表达。**结果** 与空白对照组比较, 模型组小鼠有明显气道重塑现象; 与模型组比较, 各给药组小鼠气道重塑均有所改善。与空白对照组比较, 模型组 HMGB1 升高 ($P<0.05$), IL-4、TGF- β 1 表达升高 ($P<0.01$), IFN- γ 表达降低 ($P<0.05$); 与模型组比较, 丹龙定喘汤中、低剂量组及强的松组 HMGB1 表达降低 ($P<0.05$), 丹龙定喘汤中剂量组 α -SMA 表达降低 ($P<0.05$), 强的松组、丹龙定喘汤低剂量组 IL-4、TGF- β 1 表达降低 ($P<0.01$), 强的松组及丹龙定喘汤中、低剂量组 IFN- γ 表达升高 ($P<0.01$, $P<0.05$)。**结论** 丹龙定喘汤可抑制哮喘小鼠肺组织 IL-4 释放, 减少 HMGB1 表达, 促进 IFN- γ 分泌, 调节 IL-4/IFN- γ 失衡, 使 Th1/Th2 趋向平衡; 减少炎症因子释放, 减轻气道炎性反应; 降低肺组织 TGF- β 1、 α -SMA 水平, 减少气道胶原及基质沉积, 减轻气道纤维化, 改善气道重塑。

关键词: 丹龙定喘汤; 哮喘; HMGB1; α -SMA; IL-4; IFN- γ ; TGF- β 1; 气道重塑

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)01-0195-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2021.01.040

现代医学研究认为, 支气管哮喘是由多种细胞和细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病, 这种慢性炎症导致气道高反应性, 并随病程的延长产生不可逆性气道狭窄和气道重塑, 故气道炎症和气道重塑是哮喘的两个主要病理学特征^[1-2]。调节性 T 细胞与哮喘的发病密切相关, Th2 细胞分

泌的细胞因子 IL-4 是发展慢性炎症和气道高反应性的关键调节剂, 而 Th1 细胞因子 IFN- γ 在轻度至中度哮喘患者中阻止这一过程^[3]。HMGB1 是一种核蛋白, 在组织损伤、感染或炎症时, 从细胞核转移到细胞质, 然后释放到细胞外空间调节免疫和炎症反应^[4-9]。有学者认为 TGF- β 1 是气道

收稿日期: 2019-07-13

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81574027)

作者简介: 田金娜, 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事小儿肺系疾病的防治研究。Tel: 18010518216, E-mail: tianjinna@cdutcm.edu.cn

* 通信作者: 李建保, 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事小儿肺系疾病的防治研究。Tel: 15882058275, E-mail: lijianbao@cdutcm.edu.cn