

平喘方对哮喘模型小鼠肺组织炎症及 γ 干扰素和白细胞介素 4 的影响

赵毅涛^{1,2}, 张新光^{1,3}, 白莉^{1,3}, 李利清^{1,3}, 虞坚尔^{1,3}

1. 上海中医药大学上海市中医医院儿科 上海 200071

2. 广东省中医院儿科, 广东 广州 510120

3. 上海市中医药研究院中医儿科研究所, 上海 200071

目的: 研究 1 型辅助性 T 细胞(T helper 1)/Th2(Th1/Th2)相关因子 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)和白细胞介素 4(interleukin-4, IL-4)在哮喘模型小鼠气道炎症进展过程中的改变以及中药平喘方对其的影响,探讨平喘方对支气管哮喘防治作用的机制。

方法: 80 只 BALB/c 小鼠随机分为空白对照组、哮喘模型组、地塞米松组及平喘方组,20 只/组。除空白对照组外,其余大鼠采用卵清白蛋白致敏、激发诱导支气管哮喘,并均于致敏 2 周后开始灌胃,1 次/d,共 4 周。于激发 7 d 后和激发后 2 周分批处死小鼠,收集支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)和肺组织。经苏木精和伊红染色、胶原染色检测肺组织病理学改变,并进行胶原染色图像分析;酶联免疫吸附测定法检测 BALF 中 IFN- γ 及 IL-4 水平。

结果: 激发 7 d 后:与空白对照组比较,模型组 BALF 中 IFN- γ 水平明显降低,IL-4 水平明显升高;与模型组比较,两治疗组 IL-4 水平均明显降低,IFN- γ /IL-4 比值均明显升高;两治疗组间 IFN- γ 、IL-4 水平和 IFN- γ /IL-4 比值比较,差异均无统计学意义。激发后 2 周:与空白对照组比较,模型组 IFN- γ 水平明显降低,而 IL-4 水平明显升高,IFN- γ /IL-4 比值明显降低;与模型组比较,两治疗组的 IL-4 水平明显降低,IFN- γ /IL-4 比值明显升高,且平喘方组 IFN- γ 水平明显升高;两治疗组间 IFN- γ 、IL-4 水平及 IFN- γ /IL-4 比值比较,差异均无统计

 Open Access 开放获取	 Submission Guide 投稿指南
DOI: 10.3736/jcim20120712 http://www.jcimjournal.com 赵毅涛, 张新光, 白莉, 李利清, 虞坚尔. 平喘方对哮喘模型小鼠肺组织炎症及 γ 干扰素和白细胞介素 4 的影响. 中西医结合学报. 2012; 10(7): 807-813. Zhao YT, Zhang XG, Bai L, Li LQ, Yu JE. Effects of Chinese herbal medicine Pingchuan Formula on airway inflammation, interferon-γ and interleukin-4 in mice with asthma. <i>J Chin Integr Med</i>. 2012; 10(7): 807-813. Received November 2, 2011; accepted December 5, 2011; published online July 15, 2012. Full-text LinkOut at PubMed. Journal title in PubMed: <i>Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao</i>. 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 30873286, 81173302); 国家临床重点专科建设资助项目 Correspondence: Prof. Jian-er Yu; Tel: 021-56639828; E-mail: jianeryu@hotmail.com	<i>Journal of Chinese Integrative Medicine (JCIM) or Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao</i> is an international, peer-reviewed, open-access journal for the study of complementary and alternative medicine or integrative medicine from all regions of the world. <i>JCIM</i> is indexed in PubMed and Directory of Open Access Journals (DOAJ). <i>JCIM</i> is a member journal of CrossRef. Articles published in <i>JCIM</i> have maximum exposure to the international scholarly community. Submit your manuscript here: http://mc03.manuscriptcentral.com/jcim-en (for manuscripts written in English) http://mc03.manuscriptcentral.com/jcim-cn (for manuscripts written in Chinese) • No submission and page charges for manuscripts written in English • Quick decision and rapid publication Send your postal address by e-mail to jcim@163.com, we will send you a complimentary print issue upon receipt. ISSN 1672-1977. Published by JCIM Press, Shanghai, China.

学意义。哮喘激发 7 d 后及激发后 2 周,模型组肺组织胶原染色面积、面积与光密度乘积均较空白对照组明显增加;两治疗组细支气管壁上胶原纤维沉积较模型组明显减少,胶原染色面积与光密度乘积亦较模型组明显降低;两治疗组间胶原染色面积、面积与光密度乘积比较,差异均无统计学意义。

结论:平喘方可调节哮喘模型小鼠 IFN- γ 、IL-4 水平,改善气道炎症,抑制气道重建,疗效与地塞米松相近。

关键词:支气管哮喘;中草药; γ 干扰素;白细胞介素 4; Th1 细胞; Th2 细胞; 小鼠

支气管哮喘是一种由免疫功能紊乱导致的变态反应性疾病,其病理过程形成的始动和维持因素是 1 型辅助性 T 细胞(T helper type 1, Th1)和 Th2 细胞亚群失衡^[1]。Th2 优势是变应性哮喘形成及进展的关键性机制,如有研究发现,急性发作期哮喘患儿 Th1/Th2 比值明显下降,恢复期时 Th1/Th2 比值上升,但仍低于正常儿童^[2]。但哮喘表现型并非由 Th2 细胞数量的单独性升高决定,而是由于 Th1/Th2 比例失衡,以 Th2 占优势为主。 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、白细胞介素 4(interleukin-4, IL-4)是体现 Th1/Th2 平衡的一对经典细胞因子,受上游相关转录因子的调控。当 Th0 向 Th1 优势转化时,IFN- γ 表达升高;反之,当 Th0 向 Th2 优势转化时,IL-4 表达升高^[3,4]。

平喘方为自拟处方,临床上用于治疗小儿哮喘,但机制不明确。本研究以 BALB/c 小鼠为造模动物,选择激发 7 d 后和激发后 2 周取材进行研究,以揭示化痰逐瘀处方平喘方防治哮喘的作用机制和疗效靶点,为该方防治小儿哮喘提供部分理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组 80 只清洁级雄性 BALB/c 小鼠(体质量 18~22 g),由中国科学院上海实验

动物中心提供(上海斯莱克实验动物有限责任公司生产,实验动物许可证号为 02512130)。根据体质量进行随机数字编号,将小鼠随机分为空白对照组、哮喘模型组、地塞米松组及平喘方组,每组 20 只。在室温 25 ℃、湿度 60%~70%的环境中饲养,自由饮水与摄食。

1.2 主要试剂及仪器 卵清白蛋白(ovalbumin, OVA)(上海伯奥生物科技有限公司),氢氧化铝($\text{Al}(\text{OH})_3$)(上海美兴化工有限公司),酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(美国 R&D 公司),Van Gieson 染色液、Harris 苏木素溶液、伊红溶液 A 液和 B 液(上海虹桥乐翔医用试剂技术有限公司),二甲苯、无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司);酶标仪(Labsystems Duagon Wellscan MK3,芬兰雷勃公司),轮转式切片机(KD1508,浙江金华科迪仪器设备有限公司),MIAS 医学图像分析管理系统(真彩色病理图像分析系统 4.0,北京麦克奥迪图像技术有限公司)。

1.3 哮喘小鼠模型制备、平喘方制备及给药方法 根据课题组前期摸索的成熟造模条件^[5],采用 100 mg OVA、20 mg $\text{Al}(\text{OH})_3$ 加生理盐水配制成的 OVA 浓度为 10% 的混合液,取 1 mL 行小鼠腹腔注射致敏,并用 5% OVA 激发,建立支气管哮喘模型。除空白对照组外,每只小鼠分别于第 1 天和第 14 天



Related Articles 推荐阅读

朱慧华,虞坚尔,张晓峰,陈燕萍,庞惠芳,王国华,管宇,吴杰.平喘方对支气管哮喘模型小鼠气道重建的影响.中西医结合学报. 2009; 7(3): 261-267.

Zhu HH, Yu JE, Zhang XF, Chen YP, Pang HF, Wang GH, Guan Y, Wu J. Effects of Pingchuan Recipe on airway remodeling in mice with bronchial asthma. *J Chin Integr Med*. 2009; 7(3): 261-267.

Free full text available at <http://www.jcimjournal.com/FullText2.aspx?articleID=jcim20090312>

张颖,童黄锦,俞晶华,顾鹏程,范欣生,许惠琴.三拗汤类方对哮喘小鼠气道炎症反应的影响.中西医结合学报. 2009; 7(4): 354-359.

Zhang Y, Tong HJ, Yu JH, Gu PC, Fan XS, Xu HQ. Effects of San'ao decoction and its analogous prescriptions on airway inflammation in mice with respiratory syncytial virus- and ovalbumin-induced asthma. *J Chin Integr Med*. 2009; 7(4): 354-359.

Free full text available at <http://www.jcimjournal.com/FullText2.aspx?articleID=jcim20090410>

More free related articles at <http://www.jcimjournal.com/FullText2.aspx?articleID=jcim20120712>

以 10% OVA 混合液 1 mL 腹腔注射致敏;第 23 天至第 29 天,每天将各组小鼠置于 5 L 的密闭容器中,将 5% OVA 生理盐水由超声雾化器雾化,吸入 40 min,激发哮喘,每天 1 次。空白对照组均以等量生理盐水行腹腔注射和雾化吸入。

平喘方主要由炙麻黄、杏仁、甘草、紫苏子、莱菔子、地龙干、桃仁、椒目、黄芩组成。煎煮提取方法参考李仪奎^[6]的描述,煎煮 2 次后滤液合并浓缩,加入 95%乙醇,冷藏静置 24 h 后滤出,将滤液浓缩至流浸膏样,由上海市中医医院中心实验室制备。

各组普通喂养,均于致敏 2 周后开始灌胃,1 次/d,共 4 周。根据《实验动物方法学》^[7]中公式 $d_B = d_A \times R_B / R_A \times (W_A / W_B)^{1/3}$ (A:已知动物;B:欲求算的 B 种动物;d:动物的公斤体质量剂量;W:动物体质量;R:体型系数),计算实验剂量,用药量相当于临床 30 kg 儿童用药量的 10 倍。平喘方组:将中药配制成浓度为含原生药 5.33 g/mL,以平喘方 0.01 mL/(g·d)灌胃小鼠;地塞米松组:用蒸馏水将地塞米松片剂配制成浓度为 0.075 mg/mL,以地塞米松 0.01 mL/(g·d)灌胃小鼠;空白对照组和模型组均以生理盐水 0.01 mL/(g·d)灌胃。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 取材及标本制备 各组分别于雾化激发哮喘 7 d 后或激发后 2 周分两批处死、取样及检测,作动态观察。收集左肺支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF),离心,取上清液;留取右肺肺组织,以 10%甲醛固定后,分别采用苏木精和伊红(hematoxylin and eosin, HE)染色及胶原纤维染色制备肺组织病理切片。

1.4.2 肺组织病理 用光学显微镜观察各组肺组织形态学改变,用 MIAS 医学图像分析软件行肺组织胶原染色图像分析。

1.4.3 BALF 上清液 IFN- γ 及 IL-4 检测 BALF 上清液按 ELISA 试剂盒(美国 R&D)说明书操作,在 450 nm 处测吸光度值,IFN- γ 及 IL-4 浓度与吸光度值成正比,通过绘制标准曲线求出标本中 IFN- γ 及 IL-4 的浓度。

1.5 统计学方法 用 SPSS 11.5 统计软件分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。用 One-Way ANOVA 程序中的 Homogeneity-of-variance 进行方差齐性检验,如方差齐则直接进行单因素方差分析,并用 LSD 程序进行两两比较;如方差不齐则用 Transform 程序中

(Lg10+1)进行变量变换后,再进行单因素方差分析,并用 LSD 程序进行两两比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 空白对照组小鼠呼吸平稳,毛色白润,活动敏捷,饮食正常,体质量增加;模型组小鼠经腹腔注射致敏后,即出现体质量下降,经 OVA 液激发后,出现烦躁不安、呼吸急促、腹肌抽搐、大小便失禁、毛发耸立及分叉发黄、活动与饮食减少等症状,严重者口鼻轻度发绀。

2.2 肺组织病理学改变

2.2.1 HE 染色 哮喘激发 7 d 后,空白对照组小鼠肺内细支气管上皮完整,管壁上皮、肌层及管周均未见异常;哮喘模型组小鼠肺内细支气管壁部分损伤,黏膜上皮缺失,细支气管壁及周围间质中可见充血水肿,腔内炎性渗出充塞,管周大量炎性细胞浸润;地塞米松组小鼠肺内细支气管壁未见异常改变;平喘方组小鼠肺内细支气管壁未见异常改变。见图 1A~D。

哮喘激发后 2 周,空白对照组小鼠肺内细支气管上皮完整,管壁上皮、肌层及管周均未见异常;哮喘模型组小鼠细支气管黏膜上皮损伤脱落,腔内炎性渗出充塞,管壁及周围间质充血、水肿,大量炎性细胞浸润,管壁平滑肌等结构被破坏;地塞米松组小鼠肺内细支气管壁黏膜上皮完好,腔内少量炎性渗出物,管壁结构良好,管周见少量炎性细胞浸润;平喘方组小鼠肺内细支气管壁结构完好,腔内见少量炎性渗出物,管周少量炎性细胞浸润。见图 2A~D。

2.2.2 胶原染色 哮喘激发 7 d 后,空白对照组小鼠肺内细支气管壁及间质中未见胶原纤维增生;哮喘模型组小鼠肺内细支气管壁胶原纤维增多,管壁平滑肌细胞增生,管壁增厚;地塞米松组小鼠细支气管管壁及管周见少量胶原纤维增生;平喘方组小鼠细支气管管壁及管周见少量胶原纤维增生。见图 3A~D。

哮喘激发后 2 周,空白对照组小鼠肺内细支气管壁及间质中未见胶原纤维增生,哮喘模型组小鼠细支气管管壁及管周见多量胶原纤维增生,地塞米松组小鼠细支气管管壁及管周胶原纤维较模型组明显减少,平喘方组小鼠细支气管管壁及管周胶原纤维较模型组明显减少。见图 4A~D。

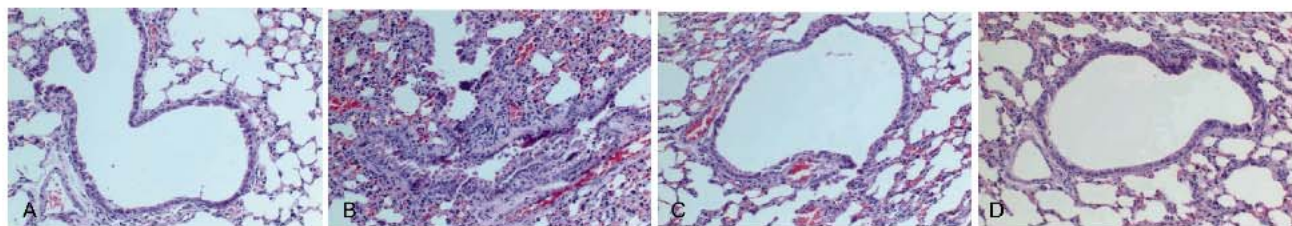


图 1 HE 染色检测激发 7 d 后各组肺组织病理变化(光学显微镜, $\times 200$)

Figure 1 Pathological changes in lung tissue after 7-day activation observed by HE staining (Light microscopy, $\times 200$)

A; Normal group; B; Model group; C; Dexamethasone group; D; Pingchuan Formula group.

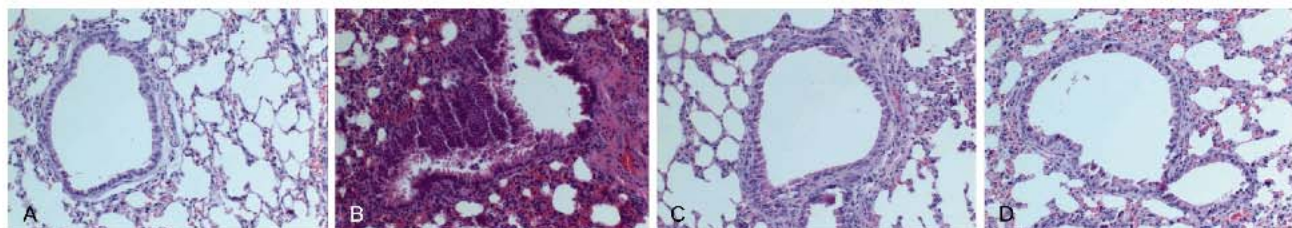


图 2 HE 染色检测激发后 2 周各组肺组织病理变化(光学显微镜, $\times 200$)

Figure 2 Pathological changes in lung tissue 2 weeks after activation observed by HE staining (Light microscopy, $\times 200$)

A; Normal group; B; Model group; C; Dexamethasone group; D; Pingchuan Formula group.

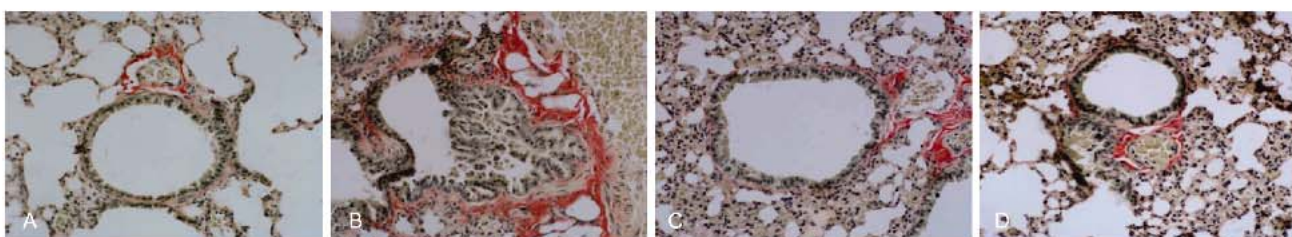


图 3 胶原染色检测激发 7 d 后各组肺组织病理变化(光学显微镜, $\times 200$)

Figure 3 Pathological changes in lung tissue after 7-day activation observed by collagen staining (Light microscopy, $\times 200$)

A; Normal group; B; Model group; C; Dexamethasone group; D; Pingchuan Formula group.

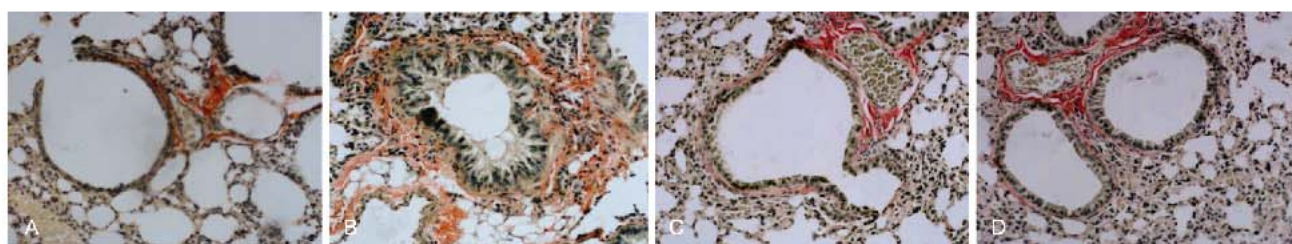


图 4 胶原染色检测激发后 2 周各组肺组织病理变化(光学显微镜, $\times 200$)

Figure 4 Pathological changes in lung tissue 2 weeks after activation observed by collagen staining (Light microscopy, $\times 200$)

A; Normal group; B; Model group; C; Dexamethasone group; D; Pingchuan Formula group.

2.2.3 小鼠肺组织切片胶原染色图像分析 应用 MIAS 医学图像分析管理系统,在 200 倍放大倍数下,取完整的气道,选取图像中深红色区域(胶原纤维着色区),测定所选区域面积及平均光密度。

哮喘激发 7 d 后,模型组胶原染色面积增大,光密度升高,两者乘积较空白对照组明显增加($P <$

0.01)。平喘方组、地塞米松组胶原染色面积、面积与光密度乘积较空白对照组明显增加($P < 0.01$);地塞米松组及平喘方组光密度较模型组明显降低($P < 0.05, P < 0.01$);地塞米松组及平喘方组胶原染色面积减少,面积与光密度乘积较模型组明显下降($P < 0.01$);平喘方组与地塞米松组之间两两比较,各指标差异无统计学意义($P > 0.05$)。

哮喘激发后 2 周,模型组胶原染色面积、面积与光密度乘积较空白对照组明显增加($P<0.01$);地塞米松组及平喘方组胶原染色面积、面积与光密度乘积较空白对照组明显增加($P<0.01$);地塞米松组及平喘方组胶原染色面积、面积与光密度乘积较模型组明显减少($P<0.01$);各组间光密度比较差异无统计学意义($P>0.05$);平喘方组与地塞米松组比较,胶原染色面积、面积与光密度乘积差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

2.3 BALF 上清液中 IFN- γ 、IL-4 水平 激发 7 d 后,与空白对照组比较,模型组 IFN- γ 水平明显降低($P<0.01$),IL-4 明显升高($P<0.01$),地塞米松组 IFN- γ 明显降低($P<0.01$, $P<0.05$);与模型组比较,地塞米松组和平喘方组 IL-4 明显降低($P<$

0.05 , $P<0.01$),两用药组 IFN- γ /IL-4 比值均明显升高($P<0.05$, $P<0.01$);两用药组间比较,IFN- γ 、IL-4 水平,IFN- γ /IL-4 比值差异均无统计学意义($P>0.05$)。

激发后 2 周,与空白对照组比较,模型组 IFN- γ 明显降低($P<0.01$),而 IL-4 明显升高($P<0.01$),IFN- γ /IL-4 比值明显降低($P<0.01$),地塞米松组 IFN- γ 明显降低($P<0.01$)。与模型组比较,地塞米松组 IFN- γ 无明显差异($P>0.05$),IL-4 明显降低($P<0.01$),且 IFN- γ /IL-4 比值明显升高($P<0.01$);平喘方组 IFN- γ 明显升高($P<0.05$),IL-4 明显降低($P<0.01$),IFN- γ /IL-4 比值明显升高($P<0.05$)。两用药组间比较,IFN- γ 、IL-4 水平及 IFN- γ /IL-4 比值差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 1 BALB/c 小鼠肺组织胶原染色图像分析
 Table 1 The analysis of collagen-stained picture in lung tissue of BALB/c mice

Group	n	Collagen area (mm ²)		Optical density (J/mm ²)		Integrated optical density (J)	
		Activation 7 d	2 weeks after activation	Activation 7 d	2 weeks after activation	Activation 7 d	2 weeks after activation
Normal	10	480.71±214.58	527.56±230.23	0.13±0.03	0.16±0.02	64.24±35.14	84.85±40.46
Model	10	4784.62±2336.15▲▲	8200.99±3741.15▲	0.17±0.02**	0.18±0.03	824.02±403.88▲▲	1366.02±525.78▲▲
DXM	10	1518.62±649.04▲▲□□	2280.76±811.85▲▲□□	0.15±0.03△	0.15±0.02	216.90±76.33▲▲□□	354.38±145.03▲▲□□
PCF	10	1358.84±251.40▲▲□□	2116.10±822.23▲▲□□	0.13±0.02△△	0.16±0.02	177.07±29.56▲▲□□	321.75±104.19▲▲□□

** $P<0.01$, vs normal group; Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$, vs model group. Because of heterogeneity of variance, data were analyzed after using Log10 to convert the data; ▲▲ $P<0.01$, vs normal group; □□ $P<0.01$, vs model group. DXM: dexamethasone; PCF: Pingchuan Formula.

表 2 BALB/c 小鼠肺泡灌洗液中 IFN- γ 与 IL-4 的水平
 Table 2 Levels of IFN- γ and IL-4 in BALF of BALB/c mice

Group	n	Interferon- γ (ng/L)		Interleukin-4 (ng/L)		Interferon- γ /interleukin-4	
		Activation 7 d	2 weeks after activation	Activation 7 d	2 weeks after activation	Activation 7 d	2 weeks after activation
Normal	10	16.57±4.72	18.03±2.46	1.46±0.17	1.50±0.43	11.48±3.65	12.13±3.20
Model	10	10.11±5.56**	14.04±2.14**	2.13±0.55**	3.12±0.78**	4.89±3.20**	4.80±1.59**
DXM	10	12.41±2.06*	14.53±1.74**	1.65±0.56△	1.73±1.03△△	8.50±3.46△	9.20±3.86△△
PCF	10	14.35±3.98△	16.23±2.60△	1.57±0.33△△	2.07±0.74△△	9.68±4.02△△	9.07±4.78△

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, vs normal group; Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$, vs model group. BALF: bronchoalveolar lavage fluid; DXM: Dexamethasone; PCF: Pingchuan Formula.

3 讨 论

气道炎症和气道重建是支气管哮喘的两个主要病理学特征。长期反复的炎症刺激引起气道重建,这可能是哮喘难以治愈的重要病理基础。

3.1 平喘方对哮喘模型小鼠 IFN- γ /IL-4 表达失衡的影响 从细胞和分子水平看,伏痰可视为与哮喘有关的炎性细胞和炎性介质,这些气管内或管周渗出物、分泌物与脱落的各种细胞就是产生“痰”的基

础,这一过程可理解为中医所谓的“津液不循常道则成痰浊”及“哮喘专主于痰”。西医学从细胞分子学和基因内涵解释哮喘的发病机制,与中医伏痰引发哮喘的机制不谋而合。把哮喘过程中产生的相关炎性细胞、炎性介质及相关基因调控点归于伏痰概念之下,并非牵强附会,而是对古人朴素的整体观和辨证论治思想的丰富和发展,对于中西医融会贯通有重要的实际价值^[8]。中医从宏观对痰的认识与西医从微观对痰的剖析在体内代谢的变化及临床表现方

面有一定相关性^[9]。本研究发现,IFN- γ 、IL-4 比例失衡,形成气道炎症反应,释放出各类炎性介质,产生大量炎性分泌物,黏阻气道,这都可归属于“津液不循常道而成痰浊”。通过具有宣肺平喘、祛痰化瘀作用的平喘方治疗后,IFN- γ 水平升高,IL-4 水平降低,从而调控 IFN- γ /IL-4 比值,改善气道炎症及减轻哮喘发病症状。平喘方的抗炎作用与地塞米松疗效相近。

3.2 平喘方对支气管哮喘模型小鼠气道重建的影响 现代医学认识到除气道炎症外,支气管哮喘另一重要特征是气道壁结构的改变——气道重建。气道重建是在炎症基础上的损伤修复过程,生长因子、细胞因子、炎症介质和酶等多种因素参与了气道重建。对支气管哮喘患者进行血液流变学等检测发现,多数哮喘患者的全血黏度、血浆黏度及红细胞压积均高于正常值^[10]。这种特点较符合中医学所述的“久病必瘀”。这主要是说明各种病证久治不愈,必定会由浅入深发展,影响血液循环,导致瘀血的发生。本研究发现,哮喘模型小鼠在雾化激发早期已出现气道重建,如胶原染色后发现,模型组小鼠细支气管管壁上平滑肌细胞增生,管壁增厚,细支气管管壁胶原纤维增多和沉积,“瘀阻气道”。通过平喘方祛痰化瘀治疗后,可改善哮喘模型小鼠瘀阻状态,主要通过改善局部微循环,减轻平滑肌细胞增生和结构破坏,减少胶原纤维生成和沉积,从而抑制气道重建。

3.3 平喘方防治支气管哮喘作用机制的探讨 平喘方以炙麻黄平喘为君,以杏仁、紫苏子、莱菔子化痰,桃仁祛瘀为臣,佐以地龙、椒目、黄芩,使以甘草。诸药齐用,共奏宣肺平喘、祛痰化瘀之效。通过宣肺祛痰改善气道炎症,通过化瘀抑制气道重建,佐证“祛痰”与改善气道炎症、“化瘀”与抑制气道重建具有一定相关性。

目前糖皮质激素是治疗哮喘的首选抗炎药。本研究显示,地塞米松对 IFN- γ /IL-4 比值的调节,主要表现在显著降低 IL-4 的水平,从而上调 IFN- γ /IL-4 比值,达到阻断和控制气道炎症的目的。而对 IFN- γ 水平未见明显影响,与模型组比较差异无统计学意义。这可能是糖皮质激素抗炎不仅抑制了 Th2 细胞的表达,同时抑制 Th1 细胞表达,但对 Th2 细胞抑制更为明显。随治疗时间的延长,平喘方治疗效应累加,对 Th1 细胞和 Th2 细胞具有双向纠偏的调节作用,其疗效与地塞米松相近,但作用环节更广泛,具有良好的研发前景。

综上所述,平喘方治疗支气管哮喘是多靶点、多方位、多环节的,符合人体是一个有机的整体及中医

治疗的整体观。平喘方既针对哮喘发病之本——伏痰夙瘀,又宣肺平喘治标,是治疗哮喘急性期的一剂良方。平喘方与地塞米松比较,其优势在于对 Th1 细胞和 Th2 细胞具有双向纠偏的调节作用,且随用药时间延长,治疗效应有累加。

4 利益冲突

所有作者声明不存在与本文相关的任何利益冲突。

REFERENCES

- 1 Finotto S, Glimcher L. T cell directives for transcriptional regulation in asthma. *Springer Semin Immunopathol.* 2004; 25(3-4): 281-294.
- 2 Liu LG, Hou AC, Fang HQ, Hao YY. Changes of T helper cells in peripheral blood of children with bronchial asthma. *Shi Yong Er Ke Lin Chuang Za Zhi.* 2006; 21(4): 217-218. Chinese.
刘力戈, 侯安存, 方惠秋, 郝艳艳. 支气管哮喘患儿血 T 辅助淋巴细胞的变化. *实用儿科临床杂志.* 2006; 21(4): 217-218.
- 3 Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, Zhang X, Fathman CG, Glimcher LH. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell.* 2000; 100(6): 655-669.
- 4 Chakir H, Wang H, Lefebvre DE, Webb J, Scott FW. T-bet/GATA-3 ratio as a measure of the Th1/Th2 cytokine profile in mixed cell populations: predominant role of GATA-3. *J Immunol Methods.* 2003; 278(1-2): 157-169.
- 5 Zhu HH, Yu JE, Zhang XF, Chen YP, Pang HF, Wang GH, Guan Y, Wu J. Experimental effects of “Pingchuan Decoction” on bronchial asthma macrophage inflammatory protein-1 α and expression of CD86 in mice. *Shanghai Zhong Yi Yao Za Zhi.* 2008; 42(9): 58-62. Chinese with abstrat in English.
朱慧华, 虞坚尔, 张晓峰, 陈燕萍, 庞惠芳, 王国华, 管宇, 吴杰. 平喘方对支气管哮喘模型小鼠巨噬细胞炎性蛋白-1 α 水平及 CD86 分子表达的实验研究. *上海中医药杂志.* 2008; 42(9): 58-62.
- 6 Li YK. *Experimental methodology of traditional Chinese medicine pharmacology.* 2nd ed. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers. 2006; 119-120. Chinese.
李仪奎. *中药药理实验方法学.* 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社. 2006; 119-120.
- 7 Sun JF. *Methodology of experimental animals.* Beijing: People's Medical Publishing House. 2002; 357. Chinese.
孙敬方. *动物实验方法学.* 北京: 人民卫生出版社. 2002; 357.
- 8 Li YY. Modern research and treatment of phlegm diseases

- in traditional Chinese medicine. Beijing: Academy Press. 2003: 298-360. Chinese.
- 李以义. 中医痰病的现代研究与治疗. 北京: 学苑出版社. 2003: 298-360.
- 9 Zeng CC, Zhou JL. Theory of the formation and study feature in phlegm syndrome. *Zhong Yi Yan Jiu*. 2003; 16(6): 4-6. Chinese.
- 曾常春, 周俊亮. 痰证理论的形成及其研究特点. *中医研究*. 2003; 16(6): 4-6.
- 10 Xu JZ, Wu YG, Li MH. TCM combined with Western medicine in treatment of asthma. Beijing: People's Medical Publishing House. 2000: 19. Chinese.
- 许建中, 吴银根, 李明华. 中西医结合哮喘病学. 北京: 人民卫生出版社. 2000: 19.

Effects of Chinese herbal medicine Pingchuan Formula on airway inflammation, interferon- γ and interleukin-4 in mice with asthma

Yi-tao Zhao^{1,2}, Xin-guang Zhang^{1,3}, Li Bai^{1,3}, Li-qing Li^{1,3}, Jian-er Yu^{1,3}

1. Department of Pediatrics, Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China
2. Department of Pediatrics, Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, Guangdong Province, China
3. Pediatric Institute of Shanghai Traditional Chinese Medicine Academy, Shanghai 200071, China

OBJECTIVE: To observe the changes of interferon- γ (IFN- γ) and interleukin-4 (IL-4), factors related to T helper 1/T helper 2 (Th1/Th2), in airway inflammation in an asthmatic model of mice and the effects of Pingchuan Formula (PCF), a compound traditional Chinese herbal medicine.

METHODS: Eighty BALB/c mice were randomly divided into normal group, model group, dexamethasone group and PCF group, with 20 mice in each group. For inducing asthma, the BALB/c mice were sensitized by intraperitoneal injection of mixed ovalbumin, and then activated by inhaling ovalbumin. After 2 weeks of sensitizing, asthmatic mice were intragastrically administered with the drugs once a day for four weeks. Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and lung tissue were collected respectively after 7-day activation or 2 weeks after activation. The general histological changes were observed by hematoxylin and eosin staining and collagen staining, meanwhile the levels of IFN- γ and IL-4 in BALF were detected by enzyme-linked immunosorbent assay.

RESULTS: After 7 d of activation, compared with the normal group, significant decrease in IFN- γ and increase in IL-4 were detected in the model group; compared with the model group, IL-4 level of the two treated groups was decreased and the IFN- γ /IL-4 ratio was increased significantly; no significant difference was found between the two treated groups. Two weeks after activation, compared with the normal group, IFN- γ was decreased, IL-4 was increased, and the IFN- γ /IL-4 ratio was decreased in the model group; compared with the model group, IL-4 level in the dexamethasone group was significantly decreased and IFN- γ /IL-4 ratio was significantly elevated, while the level of IL-4 in the PCF group was significantly decreased, the level of IFN- γ was increased simultaneously, and the IFN- γ /IL-4 ratio was significantly elevated. There was no significant difference between the two treated groups in IFN- γ and IL-4 levels, nor in the IFN- γ /IL-4 ratio. The area of collagen fiber in airway wall epithelium in the model group was smaller than that in the normal group, and those in the treated groups were lower than that in the model group; there was no significant difference between the two treated groups.

CONCLUSION: PCF has regulating function in correcting the imbalance of Th1/Th2 so as to improve airway inflammation. The therapeutic effects of PCF are basically similar to dexamethasone.

KEYWORDS: bronchial asthma; drugs, Chinese herbal; interferon- γ ; interleukin-4; Th1 cells; Th2 cells; mice