

咳喘膏穴位贴敷对哮喘豚鼠嗜酸性粒细胞趋化因子和组胺的影响

熊湘明, 张金科

天津市公安医院, 天津 300042

摘要: 目的 观察咳喘膏对哮喘豚鼠嗜酸性粒细胞趋化因子、组胺的影响, 探讨其作用机制。方法 将豚鼠随机分为对照组, 模型组, 地塞米松组, 咳喘膏穴位贴药 1、3、6 h 组, 每组各 10 例。卵蛋白致敏并诱发哮喘, 行穴位贴敷。检测各组嗜酸性粒细胞趋化因子、血组胺水平。结果 咳喘膏穴位贴敷各组嗜酸性粒细胞趋化因子、组胺较模型明显减低。结论 咳喘膏穴位贴敷可改善豚鼠哮喘气道炎症反应。

关键词: 咳喘膏; 穴位贴敷; 嗜酸性粒细胞趋化因子; 组胺; 哮喘; 豚鼠

中图分类号: R285.1; R974 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2014)08-0856-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.08.006

Effect of Kechuangao acupoint application on eotaxin and histamine in asthma guinea pigs

XIONG Xiang-ming, ZHANG Jin-ke

Tianjin Police Hospital, Tianjin 300042, China

Abstract: Objective To observe the effect of Kechuangao acupoint application on the changes of eotaxin and histamine in asthma guinea pigs and to explore its underlying mechanism. **Methods** Guinea pigs were randomly divided into normal control group, model group, Dexamethasone group, and Kechuangao acupoint application 1, 3, and 6 h groups. Each group had 10 animals. Asthma model was established by ip injection of ovalbumin and forced inhalation. External application was made on guinea pigs back. Levels of eotaxin and histamine were detected after course of treatment. **Results** Compared with model group, the levels of eotaxin and histamine decreased significantly in t Kechuangao acupoint application groups, and bettered than others. **Conclusion** Kechuangao acupoint application can relieve the phlegmonosis injuries in pulmonary tissue of asthma guinea pigs, which may contribute to its therapeutic effect in relieving asthma.

Key words: Kechuangao; acupoint application; eotaxin; histamine; asthma; guinea pigs

支气管哮喘是由多种细胞如嗜酸性粒细胞、肥大细胞、T 细胞、中性粒细胞、气道上皮细胞等和细胞因子参与的气道慢性炎症性疾病。我院开展支气管哮喘穴位贴敷已有 50 余年历史, 取得良好的治疗效果。本课题以豚鼠哮喘为研究对象, 观察咳喘膏穴位贴敷对支气管哮喘豚鼠嗜酸性粒细胞趋化因子、组胺的影响, 探讨其作用机制, 以期更好地服务于临床。

1 实验材料

1.1 实验动物

雄性豚鼠, 体质量 (300±50) g, 清洁级, 由中国医学科学院放射医学研究所动物中心提供, 合

格证号 SCXK (津) 2005-0001。

1.2 仪器

医用超声雾化器, 生物组织显微镜, Model—680 酶标仪 (美国 Bio-Rad 公司), 血细胞分析仪/细胞计数器。

1.3 药物与试剂

咳喘膏 (批号 TJZB-Z2007010278), 天津市公安医院制剂室提供。鸡卵清白蛋白 (美国 Sigma 公司, 批号 092k7029), 豚鼠嗜酸性粒细胞趋化因子酶联免疫吸附测定试剂盒 (美国 RB 公司, 批号 ISC-E021407), 组胺酶联免疫吸附测定试剂盒 (美国 RB 公司, 批号 ISC-E032306), 地塞米松磷酸钠

注射液（天津金耀氨基酸有限公司，规格 1 mL：5 mg，批号 0911211）。

2 方法

2.1 哮喘模型的建立^[1]

将豚鼠随机分为对照组，模型组，地塞米松组，咳喘膏穴位贴药 1、3、6 h 组，共 6 组，每组 10 只。除对照组外，其余各组 ip 10% 的鸡卵清白蛋白 1 mL 致敏，1% 的鸡卵清白蛋白生理盐水雾化吸入，1 次/d，连续 7 d，即诱导建立豚鼠支气管哮喘模型。

2.2 实验操作^[2]

咳喘膏穴位贴药在肺腧、心腧、膈腧穴位处涂抹贴咳喘糊（药膏大小 5 mm×5 mm×1 mm），贴治时间分别为 1、3、6 h，1 次/d，连续 7 d。其他各组在相应穴位处涂抹生理盐水，并用纱布包扎固定，1 次/d，6 h/次，连续 7 d。实验结束 24 h 内股动脉放血处死豚鼠，血液收集后以 4 000 r/min 离心 10 min，分离血清，-20 °C 冷冻，备用。

2.3 指标检测

采用酶联免疫法分别测定豚鼠嗜酸性粒细胞趋化因子、组胺水平，具体操作按试剂盒说明书进行。

2.4 统计学方法

测定结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 11.0 统计软件进行组间方差分析。

3 结果

3.1 对哮喘豚鼠嗜酸性粒细胞趋化因子的影响

模型组豚鼠嗜酸性粒细胞趋化因子明显升高，与对照组比较，差异具有显著性（ $P < 0.05$ ）；咳喘膏穴位贴药各组、地塞米松组嗜酸性粒细胞趋化因子均低于模型组，穴位贴药 3 h 组与模型组比较，差异具有显著性（ $P < 0.05$ ），结果见表 1。

表 1 对哮喘豚鼠嗜酸性粒细胞趋化因子的影响（ $\bar{x} \pm s, n=10$ ）

Table 1 Effects of eotaxin on asthma guinea pigs ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组 别	嗜酸性粒细胞趋化因子/(pg·mL ⁻¹)
对照	105.66±93.27
模型	156.29±54.50*
地塞米松	146.50±39.10
穴位贴药 1 h	114.38±73.70
3 h	74.71±47.41 [△]
6 h	134.92±96.52

与对照组比较：* $P < 0.05$ ；与模型组比较：[△] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [△] $P < 0.05$ vs model group

3.2 对哮喘豚鼠组胺的影响

模型组组胺明显升高，与对照组比较，差异具有显著性（ $P < 0.01$ ）；咳喘膏穴位贴药各组、地塞米松组组胺均低于模型组，差异均具有显著性（ $P < 0.01$ ），结果见表 2。

表 2 对哮喘豚鼠组胺的影响（ $\bar{x} \pm s, n=10$ ）

Table 2 Effects of histamine on asthma guinea pigs ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组 别	组胺/(ng·mL ⁻¹)
对照	8.02±2.50
模型	13.76±3.86**
地塞米松	8.73±1.38 ^{△△}
穴位贴药 1 h	6.02±0.57 ^{△△}
3 h	7.91±1.55 ^{△△}
6 h	8.24±3.54 ^{△△}

与对照组比较：** $P < 0.01$ ；与模型组比较：^{△△} $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; ^{△△} $P < 0.01$ vs model group

4 讨论

穴位贴治属膏药治法是外治法的一种，早在秦汉时期就有关于哮喘外治法的记载，此后历代的膏药外治法均有发展。我院开展咳喘膏穴位贴敷治疗哮喘病已有 50 余年的历史，并进行相关的科研工作。咳喘膏由白芥子、元胡等药物组成，主要功效为利气豁痰，助阳益阴。

酸性粒细胞趋化因子是支气管哮喘发病重要因素^[3]，气道上皮细胞、血管内皮细胞、平滑肌细胞、T 淋巴细胞、巨噬细胞和嗜酸粒细胞等受到多种炎症刺激，eotaxin 表达会显著增加，并参与嗜酸性粒细胞的募集浸润，选择性地诱导 Eos 在气道黏膜的黏附、募集和脱颗粒^[4-5]。气道炎症时 Eos 增多在很大程度上是由趋化因子来调控的，eotaxin 的表达，炎症因子之间的综合作用是呼吸道变态反应性疾病的发病机理，eotaxin 对嗜酸性粒细胞的高度选择性已成为哮喘发病机制中的研究重点^[6]，在气道慢性炎症和气道高反应性中起核心作用^[7]。本研究结果显示，模型组豚鼠嗜酸性粒细胞趋化因子明显升高，咳喘膏穴位贴药 1、3、6 h 组，地塞米松组嗜酸性粒细胞趋化因子均低于模型组，其中咳喘膏穴位贴药 3 h 组作用显著。本研究提示，咳喘膏穴位贴敷显著降低哮喘豚鼠血 eotaxin 水平，降低嗜酸性粒细胞的浸润作用，减轻气道上皮损伤与气道高反应性，这可能是咳喘膏穴位贴敷治疗哮喘的分子水平作用机制之一。

组胺是过敏反应中发现最早的一种炎症介质,它能诱发哮喘。组胺作用于其受体引起血管扩张、渗透性增高、腺体分泌和神经反射等。抗原抗体在肥大细胞、嗜碱性粒细胞等表面发生反应,引起脱颗粒释放组胺。组胺生物活性很强,可使呼吸道平滑肌收缩,发生哮喘^[8-9]。本研究结果显示,模型组组胺明显升高,提示组胺在气道炎症反应中起重要作用,并直接引起气道损伤,导致平滑肌收缩,引起气道高反应。哮喘膏穴位贴药 1、3、6 h 组组胺均低于模型组,提示哮喘膏穴位贴敷可降低血组胺水平,减轻气道炎症反应。

哮喘膏穴位贴敷可有效地预防和治疗支气管哮喘,具有多方面的功效,充分体现冬病夏治的中医理念,本实验为进一步寻找穴位贴敷治疗哮喘病研究提供科学依据。

参考文献

- [1] 刘素芝,刘玉丽,曹国龙.哮喘动物模型免疫炎症反应发生验证的要点[J].中国组织工程研究与临床康复,2007,11(29):5814-5816.
- [2] 林文注,王佩.实验针灸学[M].上海:上海科学技术出版社,1999:289-290.
- [3] 胡建英,王雅敏,姜玲.支气管哮喘患者血清嗜酸细胞趋化因子水平的变化及意义[J].临床误诊误治杂志,2011,24(12):8-10.
- [4] Puxeddu I, Berkman N, Ribatti D, et al. Osteopontin is expressed and functional in human eosinophils [J]. *Allergy*, 2010, 65(2): 168-174.
- [5] 耿秀娟,徐波,李双拾.支气管哮喘患者血清骨桥蛋白和嗜酸细胞趋化因子表达及临床意义[J].中国免疫学杂志,2011,27(1):68-69.
- [6] 熊静悦,石莹莹,谭正怀.小儿哮喘宁平喘作用的研究[J].药物评价研究,2013,36(5):367-370.
- [7] 付杰伟,蒋明彦,欧阳繁.嗜酸细胞趋化因子在哮喘嗜酸细胞性支气管炎患者诱导痰中的表达及其与气道炎症的关系[J].临床肺科杂志,2011,16(1):33-34.
- [8] Kazarian K V, Vantsian BTs, Simonian LG. The role of histamine in regulation of spontaneous electrical activity of the rat ureter and bordering to bladder area [J]. *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova*, 2011, 97(12): 1319-1326.
- [9] 卫振,董新威,沈亮亮,等. Zmu-1: DHP 和 DHP 两个品系豚鼠组胺激发试验气道反应性的比较[J].中国比较医学杂志,2013,23(9):52-56.