

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2014.02.017

五紫三黄方对激素依赖性哮喘模型小鼠下丘脑—垂体—肾上腺皮质轴功能的影响

苏奎国¹, 姜良铎^{2*}, 郭勇英³

(1. 河北省中医院呼吸内科, 石家庄市中山路 389 号, 050011; 2. 北京中医药大学东直门医院; 3. 河北医科大学)

摘要 目的 观察五紫三黄方对醋酸泼尼松片干预治疗的哮喘模型小鼠下丘脑—垂体—肾上腺 (HPA) 轴功能的影响。方法 将 120 只 BALB/C 小鼠随机分为空白组、模型组、醋酸泼尼松片组和五紫三黄方低、中、高剂量组, 每组 20 只。空白组小鼠用生理盐水腹腔注射和雾化, 其余 5 组小鼠于第 1、7、14 天给予腹腔注射 10 μ g 卵蛋白 + 2 mg 氢氧化铝凝胶; 第 21 天开始用 1% 卵蛋白雾化激发, 每天 1 次, 连续 7 天, 其后每隔 3 天雾化 1 次, 共雾化 18 次。每次雾化前醋酸泼尼松片组和五紫三黄方低、中、高剂量组小鼠均给予 3.9 mg/kg 醋酸泼尼松灌胃, 第 42 天开始按照每两天醋酸泼尼松 0.325 mg/kg 速度撤减激素用量, 于第 63 天全部撤离; 同时从第 35 天开始五紫三黄方低、中、高剂量组分别给予五紫三黄方配方颗粒 1.994 g/kg、3.988 g/kg、7.976 g/kg 灌胃, 模型组和空白组给予等体积的生理盐水; 第 64 天采用放射免疫法测定各组小鼠血浆促肾上腺皮质激素释放激素 (CRH)、促肾上腺皮质激素 (ACTH) 和皮质酮 (COR) 含量。结果 模型组与空白组小鼠血浆 COR、CRH 和 ACTH 含量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与模型组比较, 醋酸泼尼松片组小鼠以上指标均降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与醋酸泼尼松片组比较, 五紫三黄方低、中、高剂量组以上指标均有升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且五紫三黄方高剂量组的改善程度优于五紫三黄方低、中剂量组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 五紫三黄方能够改善醋酸泼尼松片干预治疗哮喘小鼠导致的 HPA 轴功能受损, 且大剂量使用效果更佳。

关键词 哮喘; 激素依赖; 五紫三黄方; 下丘脑—垂体—肾上腺轴; 醋酸泼尼松

目前在世界范围内如何能使激素依赖性哮喘 (SDA) 患者安全地撤减激素, 至今仍是一个难题。由于缺乏替代药物以及缺少能恢复患者下丘脑—垂体—肾上腺皮质 (HPA) 轴功能的治疗方法, 致使撤减成功率很低^[1]。以往运用五紫三黄方治疗 SDA 在临床上取得了很好疗效^[2], 本研究通过动物实验来进一步探究五紫三黄方的可能作用机理, 报道如下。

1 材料

1.1 实验动物

120 只清洁级 BALB/C 小鼠雌雄各半, 6~7 周龄, 体重 (18 ± 5) g, 动物合格证号: 1105002, 由河北医科大学实验动物中心提供。

1.2 药物及试剂

氢氧化铝 (天津市化学试剂三厂), 卵清白蛋

白 (Sigma 公司进口分装), 五紫三黄方 (组成: 紫河车 15 g, 丹参 15 g, 紫菀 10 g, 紫苏子 10 g, 紫石英 20 g, 黄精 20 g, 黄芩片 10 g, 麻黄 6 g, 桑白皮 15 g, 白果仁 10 g, 瓜蒌 15 g, 厚朴 10 g, 配方颗粒由广东一方制药有限公司生产), 醋酸泼尼松片 (每片 5 mg, 天津天药药业股份有限公司, 批号 20100612)。

碘 [²⁵I] 促肾上腺皮质激素 (ACTH) 放射免疫分析药盒 (北京普尔伟业生物技术有限公司, 批号 20110722), 促肾上腺皮质激素释放激素 (CRH) 放射免疫药盒 (北京普尔伟业生物技术有限公司, 批号 20110722), 碘 [²⁵I] 皮质酮 (COR) 放射免疫分析药盒 (北京普尔伟业生物技术有限公司, 批号 20110722)。

1.3 主要仪器

离心机 (TDL-5-A, 上海安亭科学仪器厂), 循环水真空泵 (SHB-D, 郑州长城仪器有限公司),

* 通讯作者: liangduojiang@163.com, 13901365516

γ -放射免疫计数器 (FJ-2021, 西安二六二厂), 超低温保存箱 (MDF-382E, 日本三洋公司), 超纯水机 (NW10VF, 上海力康 HealForce), 多功能超声雾化器 (JSC-OK, 辽宁鞍山电子医疗仪器厂), 雾化箱 (不完全封闭的有机玻璃箱, 60 cm × 60 cm × 40 cm)。

2 方法

2.1 动物分组

造模前 1 周, 将小鼠置于屏障级动物室中喂养, 实验室温度 22 ~ 26℃, 相对湿度 40% ~ 70%, 饲料为全价纯鼠颗粒饲料, 饮水为清洁常水。常规饲养 1 周后, 以随机数字表法分为空白组、模型组、醋酸泼尼松片组、五紫三黄方低剂量组、五紫三黄方中剂量组、五紫三黄方高剂量组, 每组各 20 只。

2.2 模型建立

空白组小鼠用生理盐水腹腔注射和雾化。其余 5 组小鼠于开始建模第 1、7、14 天给予腹腔注射 10 μ g 卵蛋白 + 2 mg 氢氧化铝凝胶, 用生理盐水稀释到 0.1 ml。第 21 天开始用 1% 卵蛋白雾化激发, 通过人工调节雾化量使雾化吸入箱里卵蛋白颗粒浓度维持在 10 ~ 20 mg/m³ 之间, 每日 1 次, 每次 30 min, 连续 7 天, 其后每隔 3 天雾化 1 次, 共雾化 18 次。

2.3 给药及处理方法

每次雾化前醋酸泼尼松片组和五紫三黄方低、中、高剂量组小鼠给予 3.9 mg/kg 醋酸泼尼松片灌胃, 共灌服 21 天。造模第 42 天开始醋酸泼尼松片组和五紫三黄方低、中、高剂量组撤减激素用量, 按照每两天醋酸泼尼松片 0.325 mg/kg 速度递减, 于第 63 天全部撤离。同时从造模第 35 天开始五紫三黄方低、中、高剂量组分别灌服五紫三黄方配方颗粒 1.994 g/kg、3.988 g/kg、7.976 g/kg, 每日 1 次; 模型组和空白组给予等体积生理盐水, 给药至

第 63 天。

2.4 观察指标和方法

于第 64 天, 小鼠断头动脉取血 2 ml, 注入含 0.5 M EDTA-Na 230 μ l 的试管中, 混匀, 离心分离血浆, 分装, -20℃ 保存待测。放射免疫法测定各组小鼠血浆 CRH、ACTH 和 COR 含量的变化, 按试剂盒说明书操作。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据处理, 多组间均数比较应用单因素方差分析。

3 结果

造模过程中五紫三黄方中剂量组小鼠死亡 1 只。表 1 示, 模型组与空白组哮喘小鼠血浆 COR、CRH 和 ACTH 含量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 说明哮喘模型小鼠的血浆 COR、CRH 和 ACTH 在正常范围; 醋酸泼尼松片组以上指标与模型组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 说明激素类药物醋酸泼尼松片会导致哮喘模型小鼠血浆 COR、CRH 和 ACTH 降低; 五紫三黄方低、中、高剂量组以上指标与醋酸泼尼松片组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 说明五紫三黄方对醋酸泼尼松治疗哮喘模型小鼠的血浆 COR、CRH 和 ACTH 的降低有显著的改善作用; 并且五紫三黄方高剂量组与低、中剂量组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

4 讨论

哮喘的病理生理基础是气道慢性炎症, 吸入型糖皮质激素已成为哮喘治疗的首选药物, 在控制哮喘发作中发挥着重要作用^[3]。但在临床上仍有不少患者对其不敏感, 需要长期大剂量口服糖皮质激素来控制症状^[4], 停药或减量即可导致哮喘的复发或加重, 此类哮喘被称为 SDA。由于长期大量使用糖皮质激素, 不仅使患者体内糖皮质激素受体

表 1 各组哮喘小鼠血浆 COR、CRH、ACTH 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	COR (ng/ml)	CRH (ng/ml)	ACTH (pg/ml)
空白组	20	24.30 ± 10.45	4.75 ± 1.29	16.54 ± 2.90
模型组	20	22.67 ± 4.94	4.17 ± 1.35	16.61 ± 2.42
醋酸泼尼松片组	20	7.64 ± 1.74 * $\Delta\Delta$	1.52 ± 0.24 * Δ	4.78 ± 0.99 * $\Delta\Delta$
五紫三黄方低剂量组	20	12.45 ± 2.86 * $\Delta\Delta\Delta$	2.20 ± 0.38 * $\Delta\Delta\Delta$	7.16 ± 1.27 * $\Delta\Delta\Delta\Delta$
五紫三黄方中剂量组	19	13.24 ± 2.34 * $\Delta\Delta\Delta\Delta$	2.49 ± 0.34 * $\Delta\Delta\Delta\Delta$	9.42 ± 1.48 * $\Delta\Delta\Delta\Delta$
五紫三黄方高剂量组	20	17.47 ± 3.47 * $\Delta\Delta\Delta\Delta\Delta$	3.43 ± 0.79 * $\Delta\Delta\Delta\Delta\Delta$	12.44 ± 1.75 * $\Delta\Delta\Delta\Delta\Delta$

注: 与空白组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与醋酸泼尼松片组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与五紫三黄方低剂量组比较, $\Delta P < 0.01$; 与五紫三黄方中剂量组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

(GCR) 水平下调, GCR 亲和力下降, 而且长期大剂量口服糖皮质激素会导致 HPA 轴的功能严重受损 (血浆 CRH、ACTH 和 COR 含量水平降低), 甚至功能衰竭, 从而影响气道炎症的控制, 导致 SDA 反复发作, 迁延不愈^[4]。

SDA 属中医“哮证”范畴, 临床常表现为哮喘反复发作, 呼吸困难, 动则尤甚, 夜尿频多, 腰膝酸软, 舌胖, 脉细等一派肾虚之象, 符合中医“久病及肾”和“母病及子”之理论。另外在 SDA 的病理及发病机理上有炎症、充血、纤维组织增生、毛细血管血栓形成、气道重构等, 晚期可见唇甲紫绀, 符合陈可冀教授等所述之广义“瘀血”范畴^[5], 病变符合中医“久病入络”理论。故本病基本病机为肾虚瘀血阻络。

激素属纯阳之品, 使用日久必致阴液亏损, 从而进一步导致阴、阳、气、血失调, 痰饮、瘀血滞留、三焦郁滞、经络不通等复杂病机^[6]。针对这种复杂病机, 注重补益肺肾, 通降肺气, 化痰祛瘀。同时强调治疗 SDA, 辨证确定用药后, 一定要守方守法, 慢病缓图, 不可急于求功, 而应从容镇定, 调理脏腑阴阳气血, 使疾病逐渐好转和减少患者对激素依赖, 减少激素的不良反应, 减少发作频率, 提高生活质量。

五紫三黄方是在董建华院士的经验方五紫三黄二白汤方的基础上化裁而来, 方中紫河车温补肺肾, 益气养血, 黄精补脾胃, 填精髓, 助紫河车以补益肺肾之功; 黄芩、桑白皮清肺热; 瓜蒌清热化痰, 厚朴苦温燥湿化饮, 二者兼有散结畅气之用; 紫菀、紫苏子降气化痰定喘; 丹参破宿血, 生新血, 通经脉; 麻黄宣肺气, 散寒邪, 开毛窍, 通经络; 白果仁温肺益气, 尚能敛肺, 防麻黄发散太过; 紫石英温肾纳气平喘。方中紫河车、黄精、紫

菀、紫苏子、麻黄、紫石英、厚朴、白果等药性温, 黄芩、桑白皮、瓜蒌、丹参等药性寒。诸药配伍, 寒温并用, 气血同调, 通补结合, 邪正兼顾, 共奏补益肺肾、清热化痰、活血通络、纳气平喘之功。现代药理研究^[6-7]显示, 紫河车、黄精能提高机体免疫功能; 黄芩、麻黄、厚朴具有抗过敏作用。

本研究结果显示, 醋酸泼尼松片组小鼠血浆 CRH、ACTH 和 COR 含量较模型组明显降低, 说明长时间应用激素治疗哮喘会使 HPA 轴的功能受到严重抑制; 在撤减激素醋酸泼尼松片过程中加用五紫三黄方干预治疗 21 天后, 五紫三黄方各剂量组小鼠血浆 CRH、ACTH 和 COR 的含量较醋酸泼尼松片组明显升高, 表明五紫三黄方能够改善激素醋酸泼尼松片干预治疗哮喘小鼠导致的 HPA 轴的功能受损; 而且五紫三黄方高剂量组较低、中剂量组的改善程度更为显著。

参考文献

- [1] 王丽新. 中医药治疗激素依赖型哮喘辨治体会 [J]. 医药月刊, 2007, 4(11): 194-195.
- [2] 姜良铎. 姜良铎医案选 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2011: 50.
- [3] 杨硕, 崔红生, 何丰华, 等. 三步序贯法对激素干预后哮喘大鼠模型 HPA 轴功能的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2007, 22(3): 159-160.
- [4] 张建忠. 中西医结合治疗激素依赖性哮喘 30 例疗效观察 [J]. 临床肺科杂志, 2008, 13(3): 388-389.
- [5] 魏文浩. 姜良铎教授辨治哮证经验 [J]. 河北中医, 2003, 25(11): 811-813.
- [6] 黄沁. 免疫药理学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 181.
- [7] 沈映君. 中药药理学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 111, 200, 421, 946.

Effect of Wuzi Sanhuang Formula on the Function of Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in Mice With Hormone-Dependent Asthma

SU Kuiguo¹, JIANG Liangduo², GUO Yongying³

(1. Hebei Provincial Hospital of TCM, Hebei Province 050011; 2. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine; 3. Hebei Medical University)

ABSTRACT Objective To observe the effect of Wuzi Sanhuang Formula [formula of Ziheche (Placenta Hominis, 紫河车), Zidanshen (Radix et Rhizoma Salviae Miltiorrhizae, 紫丹参), Ziyuan (Radix et Rhizoma Asteris, 紫苑), Zisuzi (Fructus Perillae, 紫苏子), Zishiying (Fluoriturum, 紫石英), Huangjing (Rhizoma Polygonati, 黄精), Huangqin (Radix Scutellariae, 黄芩) and Mahuang (Herba Ephedrae, 麻黄)] on the function of hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis in asthmatic mice intervened with prednisone. **Methods** Totally 120 BALB/C mice

were randomized into the blank group, model group, Prednisone Acetate Tablets group and *Wuzi Sanhuang Formula* low-dose, middle-dose and high-dose groups, with 20 in each. The blank group was given intraperitoneal injection and atomization of normal saline. The other five groups were given intraperitoneal injection of 10 μ g ovalbumin and 2 mg aluminum hydroxide gel on the 1st, 7th and 14th day and 1% ovalbumin atomization from the 21st day once daily for 7 consecutive days and once every three days with a total of 18 times. The Prednisone Acetate Tablets group and *Wuzi Sanhuang Formula* low-dose, middle-dose and high-dose groups were gavaged with 3.9 mg/kg prednisone acetate before each atomization. The steroid was withdrawn from the 42nd day at a dose of 0.325 mg/kg every other day and completely withdrawn on the 63rd day. The *Wuzi Sanhuang Formula* low-dose, middle-dose and high-dose groups were gavaged with 1.994 g/kg, 3.988 g/kg and 7.976 g/kg *Wuzi Sanhuang Formula* granules and the model group and blank group were gavaged with the same amount of normal saline from the 35th day. The contents of corticotropin releasing hormone (CRH), adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and corticosterone (COR) were detected with radioimmunoassay on the 64th day. **Results** There was no significant difference between the model group and blank group in the contents of COR, CRH and ACTH ($P > 0.05$). Comparing with the model group, the indicators in all administration groups were significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Comparing with the Prednisone Acetate Tablets group, the indicators in the *Wuzi Sanhuang Formula* groups were significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), especially in the *Wuzi Sanhuang Formula* high-dose group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** *Wuzi Sanhuang Formula* can improve the function of HPA axis in asthmatic mice intervened with prednisone, especially high dose.

Keywords asthmatic; steroid dependent; *Wuzi Sanhuang Formula* [formula of Ziheche (*Placenta Hominis*, 紫河车), Zidanshen (*Radix et Rhizoma Salviae Miltiorrhizae*, 紫丹参), Ziyuan (*Radix et Rhizoma Asteris*, 紫苑), Zisuzi (*Fructus Perillae*, 紫苏子), Zishiying (*Fluoritum*, 紫石英), Huangjing (*Rhizoma Polygonati*, 黄精), Huangqin (*Radix Scutellariae*, 黄芩) and Mahuang (*Herba Ephedrae*, 麻黄)]; function of hypothalamic-pituitary-adrenal axis; prednisone acetate

(收稿日期: 2013-07-03; 修回日期: 2013-08-25)

编辑: 叶 晨

欢迎邮购 《一选方治验实录》

在浩瀚的中医典籍中,有方名的古方数以十万计。为了汰芜存菁,借鉴古今医家的经验,为现代临床服务,作者在长期从事中医药文献研究和临床诊疗工作的基础上,在完成“中医古方筛选方案和利用研究”课题研究的基础上,经过深入发掘,编纂完成《一选方治验实录》(上下册)。本书以有验案资证作为筛选古方的重要条件,结合古方其他价值特征,从近10万首方剂中,筛选出583首古方及其相关验案5500余则。这些优选出的古方,既不乏传世名方,也有相当一部分以往未被方剂学教材或方剂选本收录过的“新面孔”。从10万首方中最终优选出500余首方,其比例约为200选1;又鉴于治验记录是本书的主要内容,故名为《一选方治验实录》。

全书分上、下两册,上册收录汉唐方(张仲景方、晋唐方),下册收录宋元明清方(宋元方、明清方),编次以方为纲,医案为目,每一方剂又分方源记载和治验实录(分为中医病证医案、西医病症医案)两部分。书末附有方名索引、中医病证索引、西医病症索引和引用书目,方便读者检索。本书汇集古今文献,资料丰富,拥有本书,就如同跟随古今名医侍诊,通过品读古方所附的具体病例,领悟出该方的适应证和用法秘诀,可大大提高中医治疗的疗效。本书是中医各科临床医生提高临床疗效必备的案头书,又可为各中药生产厂家研发新药提供借鉴。

《一选方治验实录》(上下册),为16开精装本,1584页,已由人民卫生出版社于2011年1月出版。上册定价99元,下册定价108元,全套207元。邮购汇款地址:北京市东直门南小街16号中医杂志社北京医海林音像书店;邮政编码:100700;联系电话:(010) 64013162, (010) 64014411 转 3053。请在汇款附言中注明所购书名、上下册或全套及数量,邮购单册需加邮费10元,全套及2册以上免邮费。欢迎邮购。