

麻黄-桂枝药对对哮喘寒饮蕴肺证大鼠呼吸功能和气道炎症的影响及机制研究[△]

赵明哲^{1*}, 王彬¹, 赵晓旻², 孙羽扬¹, 颜培正^{3,4#} (1. 山东中医药大学药学院, 济南 250355; 2. 山东中医药大学高等专科学校中医系, 山东烟台 265200; 3. 山东中医药大学中医文献与文化研究院, 济南 250355; 4. 山东中医药大学中医药经典理论教育部重点实验室, 济南 250355)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)14-1717-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.14.05



摘要 **目的** 研究麻黄-桂枝药对对哮喘寒饮蕴肺证大鼠呼吸功能和气道炎症的影响及作用机制。**方法** 将60只Wistar大鼠随机分为空白组、模型组、地塞米松组[1 mg/(kg·d)]和麻黄-桂枝低、中、高剂量组[0.234、0.936、1.872 g/(kg·d)], 每组10只。模型组和各给药组大鼠通过腹腔注射抗原液(卵清蛋白100 mg+氢氧化铝100 mg)致敏, 1%卵清蛋白雾化激发哮喘, 并在此基础上施以“形寒、饮冷”刺激, 建立哮喘寒饮蕴肺证大鼠模型。从实验第2天开始, 各组大鼠灌胃相应药物或生理盐水, 每天1次, 连续给药21 d。观察各组大鼠在实验过程中的一般行为学变化, 测定造模前和末次给药后的肺功能指标[呼气流量峰值(PEF)、气道阻力(Raw)、功能残气量(FRC)、呼气中期流速(EF50%)]以及末次给药后血清中白细胞介素6(IL-6)、IL-13、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、干扰素 γ (IFN- γ)含量, 观察大鼠的肺组织病理学形态变化, 检测其肺组织中IL-6、IL-13、TNF- α 、IFN- γ 、胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)、Toll样受体4(TLR4)mRNA及TSLP、TLR4蛋白表达水平。**结果** 与模型组比较, 地塞米松组和麻黄-桂枝中、高剂量组大鼠肺组织损伤明显减轻; Raw, FRC, IL-6、IL-13、TNF- α 含量及mRNA表达水平, TSLP、TLR4 mRNA及蛋白的表达水平均显著降低($P<0.05$); PEF、EF50%和IFN- γ 含量及mRNA表达水平均显著升高($P<0.05$); 只有少数大鼠出现哮喘典型症状。**结论** 麻黄-桂枝药对能显著改善哮喘寒饮蕴肺证大鼠的呼吸功能, 减轻气道炎症, 其作用机制可能与抑制TSLP/TLR4信号通路、调节Th1/Th2失衡有关。

关键词 麻黄-桂枝药对; 支气管哮喘; 寒饮蕴肺证; 胸腺基质淋巴细胞生成素; Toll样受体4

Effects of Ephedra-Cinnamomum couplet medicinals on respiratory function and airway inflammation in rats with asthma of cold-fluid retention in lung syndrome and its mechanism

ZHAO Mingzhe¹, WANG Bin¹, ZHAO Xiaomin², SUN Yuyang¹, YAN Peizheng^{3,4} (1. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 2. Dept. of Traditional Chinese Medicine, Shandong College of Traditional Chinese Medicine, Shandong Yantai 265200, China; 3. Research Institute of Traditional Chinese Medicine Literature and Culture, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 4. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Classical Theory, Ministry of Education, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the effects of Ephedra-Cinnamomum couplet medicinals on respiratory function and airway inflammation in rats with asthma of cold-fluid retention in lung syndrome and its mechanism. **METHODS** Sixty Wistar rats were randomly divided into blank group, model group, dexamethasone group [1 mg/(kg·d)], and Ephedra-Cinnamomum low-, medium-, high-dose groups [0.234, 0.936, 1.872 g/(kg·d)], with 10 rats in each group. The model and treatment groups were sensitized by intraperitoneal injection of antigen solution (ovalbumin 100 mg + aluminum hydroxide 100 mg) and challenged with 1% ovalbumin nebulization, along with exposure to a cold environment and ingestion of cold water, to establish the asthma model with cold-fluid retention in lung syndrome. From day 2, rats received corresponding drugs or normal saline intragastrically, once a day, for 21 consecutive days. The general behavioral changes in each group of rats were observed during the experimental process. The lung function parameters [peak expiratory flow (PEF), airway resistance (Raw), functional residual capacity (FRC), expiratory flow at 50% of forced vital capacity (EF50%)]

△基金项目 国家自然科学基金青年科学基金项目(No.82004233); 山东省中医药科技项目(No.MR20241737, No.Q-2023122); 山东省医药卫生科技发展计划项目(No.202203020866)

* **第一作者** 硕士研究生。研究方向: 中药药理学。E-mail: zzm06072023@163.com

通信作者 讲师。研究方向: 中药药理学、中医基础理论、哮喘寒饮蕴肺证研究。E-mail: yan_peizheng@163.com

were measured before modeling and after the last medication as well as serum contents of interleukin-6 (IL-6), IL-13, tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interferon-gamma (IFN- γ) after the last medication were determined; the histopathological morphological changes in the lung tissues of rats were also observed; mRNA expressions of IL-6, IL-3, TNF- α , IFN- γ ,

thymic stromal lymphopoietin (TSLP), and Toll-like receptor 4 (TLR4), as well as protein expressions of TSLP and TLR4 were determined in lung tissue. **RESULTS** Compared with model group, the lung tissue damage of rats was relieved significantly; Raw, FRC, the contents and mRNA expression levels of IL-6, IL-13 and TNF- α , as well as the mRNA and protein expressions of TSLP and TLR4 were significantly decreased ($P < 0.05$), while the contents and mRNA expressions of PEF, EF50 % and IFN- γ were significantly increased in the dexamethasone group and Ephedra-Cinnamomum medium- and high-dose groups ($P < 0.05$). Moreover, only a few rats in the two groups exhibited typical symptoms of asthma. **CONCLUSIONS** Ephedra-Cinnamomum couplet medicinals improve respiratory function and ameliorate airway inflammation in asthma rats with cold-fluid retention in lung syndrome, the mechanism of which may be associated with inhibiting TSLP/TLR4 signaling pathway and modulating Th1/Th2 imbalance.

KEYWORDS Ephedra-Cinnamomum couplet medicinals; bronchial asthma; cold-fluid retention in lung syndrome; thymic stromal lymphopoietin; Toll-like receptor 4

支气管哮喘是多因素共同诱发的复杂异质性疾病,发病率呈逐年攀升趋势,其特征为气道高反应性,伴有慢性气道炎症^[1]。寒饮蕴肺证是由于机体尤其是肺部同时受到“形寒、饮冷”的外邪刺激,出现机体阳虚寒盛、肺气宣发和下降异常、水饮内停伏肺的一种病证。研究表明,寒饮蕴肺证是支气管哮喘证型中的严重类型,但其发病机制尚未完全明确^[2]。

麻黄-桂枝药对来源于经典名方小青龙汤,该方出自《伤寒论》,临床上常用于治疗哮喘等呼吸系统疾病。方中麻黄具有发汗解表、宣肺平喘、利水消肿的功效;桂枝则能发汗解肌、温通经脉、助阳化气。笔者前期研究已初步证实,麻黄-桂枝药对具有拮抗哮喘寒饮蕴肺证气道炎症及平喘作用。

在哮喘的发病过程中,寒冷刺激通过气道上皮细胞和肥大细胞上的瞬时受体电位阳离子通道亚家族M成员8(transient receptor potential cation channel subfamily M member 8, TRPM8)受体,促使气道发生炎症反应,增加胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)等炎症因子的分泌,从而加重哮喘^[3]。此外, Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)信号通路在哮喘发病中也发挥重要作用,如卵清蛋白(ovalbumin, OVA)激动TLR4信号通路可导致辅助型T细胞2(T helper 2 cell, Th2)介导的相关炎症恶化,IL-13等炎症因子的含量显著增加^[4]。在寒冷刺激下,TSLP与TLR4信号通路的协同作用可显著加剧哮喘的症状及呼吸功能损害^[5]。基于此,本研究拟从TSLP/TLR4信号通路角度出发,探讨麻黄-桂枝药对对哮喘寒饮蕴肺证大鼠呼吸功能、气道炎症的影响及机制,旨在为麻黄-桂枝药对的临床开发提供实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括W001型雾化仪(江苏富林医疗设备有限公司)、Finepointe NAM型动物无创肺功能检测系统(美国DSI公司)、Rt-2100C型酶标仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司)、EPS型电泳仪和Tanon-600型凝胶成像系统(上海天能科技有限公司)、CFX型

荧光定量聚合酶链式反应(PCR)仪(美国Bio-Rad公司)、DS-U3型成像系统和Eclipse E10型正置光学显微镜(日本Nikon公司)。

1.2 主要药品与试剂

麻黄饮片(产地内蒙古,批号201224072)购自安国润德药业有限公司;桂枝饮片(产地广西,批号210401)购自安徽三和堂药业有限公司;麻黄、桂枝饮片经山东中医药大学药学院赵东升副教授鉴定,分别为麻黄科植物草麻黄*Ephedra sinica* Stapf的干燥草质茎以及樟科植物肉桂*Cinnamomum cassia* Presl的干燥嫩枝。

氢氧化铝(批号SJ000389)、二甲苯(批号10023418)、中性树胶(批号10004160)、三氯甲烷(批号10006818)、异丙醇(批号80109218)均购自国药集团化学试剂有限公司;地塞米松磷酸钠注射液(规格2 mg/mL,批号7211055)购自辰欣药业股份有限公司;OVA(批号9006-59-1)购自北京索莱宝生物科技有限公司;肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)、IL-6酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号分别为9680014130921、9680003060721、9680011070921)均购自英国Abcam公司;IL-13 ELISA试剂盒(批号54517261228)、兔源 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(批号BM0627)、兔源TSLP抗体(批号A01096)均购自武汉博士德生物工程有限公司;苏木素染液(批号G1004)、伊红染液(批号G1001)、Servicebio® 第一链cDNA合成试剂盒(批号G3330)、2 \times SYBR Green qPCR预混液(无ROX)(批号G3320)、兔源TLR4抗体(批号GB11519-100)、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G二抗(批号GB23303)均购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.3 实验动物

SPF级Wistar大鼠60只,6周龄,雄性,体重180~200 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物生产许可证号为SCXK(京)2016-0011。所有动物均饲养于温度(22 \pm 2) $^{\circ}$ C、相对湿度40%~60%、昼夜12 h光暗交替的环境中,自由摄食饮水,适应性饲养1周后开展后续实验。实验动物的使用与操作均符合山东中医药

大学动物保护委员会关于实验动物操作与动物福利的要求(伦理编号为SDUTCM20210917001)。

2 方法

2.1 麻黄-桂枝药对冻干粉的制备

称取麻黄饮片18 g,加8倍量蒸馏水浸泡30 min,武火煎煮微沸后用文火煎煮20 min;称取桂枝饮片18 g,加入至上述麻黄煎液中,武火煎煮沸后用文火煎煮40 min,煎煮液过滤获得滤液;药渣加蒸馏水文火煎煮40 min后过滤获得滤液。合并2次滤液,减压浓缩,制成冻干粉,研磨后用密封袋保存于干燥器中,待用。

2.2 分组、造模与给药

将大鼠随机分为空白组、模型组、地塞米松组[1 mg/(kg·d),参考前期预实验和相关文献^[6]设置]和麻黄-桂枝低、中、高剂量组[0.234、0.936、1.872 g/(kg·d),以冻干粉的量计,低剂量为临床等效剂量],每组10只。模型组和各给药组大鼠分别于第1天和第8天腹腔注射1 mL抗原液(每毫升含OVA 100 mg、氢氧化铝100 mg)致敏,空白组大鼠同期腹腔注射等体积生理盐水;除空白组外,其余各组大鼠除第1天和第8天外施以“形寒、饮冷”刺激,即将大鼠每日置于0℃冰箱内冷处理3 h以及24 h冰水喂养,从第15天起,大鼠饮用冰水与冷处理刺激后,用1%OVA雾化激发哮喘,每天1次,每次30 min,连续雾化8 d,空白组大鼠使用等体积生理盐水雾化。从第2天开始,各给药组大鼠灌胃相应药物,空白组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水,每天1次,连续给药21 d^[7]。

2.3 一般行为学观察

观察各组大鼠实验过程中的精神状态、呼吸情况、皮毛润泽情况、体重变化、饮食及饮水量变化,以及口鼻分泌物、咳嗽、打喷嚏、挠鼻、呼吸急促、口唇变化等哮喘特异性症状体征的变化。

2.4 肺功能指标检测

采用动物无创肺功能检测系统分别测定各组随机选取的5只大鼠造模前(第1天)和末次给药后(第22天)的呼气流量峰值(peak expiratory flow, PEF)、气道阻力(airway resistance, Raw)、功能残气量(functional residual capacity, FRC)、呼气中期流速(expiratory flow at 50% of forced vital capacity, EF50%)。

2.5 血清中IL-6、IL-13、TNF-α、IFN-γ含量检测

各组大鼠在末次给药后,禁食不禁水12 h,于其腹主动脉取血,静置2 h,以3 500 r/min离心15 min,取上清液。按照ELISA试剂盒说明书方法检测各组随机选取的3只大鼠血清中的IL-6、IL-13、TNF-α、IFN-γ含量。

2.6 肺组织病理学形态观察

各组大鼠取血后处死,分离肺组织。随后,各组随机选取3只大鼠的肺组织左下叶,用4%多聚甲醛溶液固定24 h;取部分组织,经梯度乙醇脱水、石蜡包埋后切片,然后进行苏木精-伊红(HE)染色,最后使用显微镜观察大鼠的肺泡、支气管形态变化以及炎症浸润情况。

2.7 肺组织中IL-6、IL-13、TNF-α、IFN-γ、TSLP、TLR4 mRNA表达检测

采用荧光定量PCR法进行检测。各组随机选取3只大鼠的肺组织左上叶,用Trizol法提取RNA,检测RNA的浓度与纯度后,反转录合成cDNA。以cDNA为模板进行PCR扩增。PCR体系(15 μL)为2×qPCR Mix 7.5 μL,2.5 μmol/L的正、反向引物共1.5 μL,cDNA模板2 μL,无核酶水4 μL。反应条件为95℃预变性30 s;95℃变性15 s,60℃退火/延伸30 s,共40个循环。PCR引物由武汉赛维尔生物科技有限公司提供,引物序列与产物长度见表1。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)为内参,采用2^{-ΔΔCT}法计算IL-6、IL-13、TNF-α、IFN-γ、TSLP、TLR4 mRNA的表达水平。

表1 引物序列与产物长度

基因名称	引物序列(5'→3')	产物长度/bp
GAPDH	正向:CTGGAGAACTGCCAAGTATG	138
	反向:GGTGAAGAATGGGAGITGCT	
IL-6	正向:AGACAGCACTACCTCTTCAG	131
	反向:TTCTGCCAGTGCCTCTTGCTG	
IL-13	正向:GCAACAGCAGCATGGTATGGAG	124
	反向:GCCATTCAATATCTCTGGGTC	
TNF-α	正向:CCAGGTCTCTTCAAGGGACAA	80
	反向:GGTATGAAATGGCAAATCGGCT	
IFN-γ	正向:GGAAGTGGCAAAAGGACGGT	130
	反向:AGGTGCGATTGATGACACTTA	
TSLP	正向:GGTTCAGGAGAAACAAAGTAGG	123
	反向:AGTTGTAAGTTAGTGCCAGCCGT	
TLR4	正向:CCAGGTGTGAAATTGAGACAATTG	191
	反向:AAGCTGTCCAATATGGAAACCC	

2.8 肺组织中TSLP、TLR4蛋白表达检测

采用Western blot法进行检测。各组随机选取3只大鼠的肺组织右上叶,制成匀浆,冰浴静置30 min,加入RIPA裂解液30 min后,于4℃以12 000 r/min离心20 min,提取蛋白上清,检测蛋白浓度,于沸水中变性15 min,放入-20℃冷冻,待用。取变性后的蛋白样品,电泳、分离、转膜、封闭后,加入TSLP、TLR4、β-actin抗体(稀释比例分别为1:1 000、1:1 000、1:5 000),4℃孵育过夜;第2天加入二抗(稀释比例为1:10 000),室温孵育2.5 h,用增强化学发光试剂显色、曝光,凝胶成像系统拍摄。以β-actin为内参,用Image J软件进行分析,以目的蛋白与内参的灰度值比值作为目的蛋白的表达水平。

2.9 统计学方法

采用SPSS 21.0软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用SNK-*q*检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 大鼠一般行为学比较

与空白组比较,模型组大鼠从第5天开始出现抓耳挠腮、咳嗽、情绪躁动等表现,雾化激发期(第15~22天)出现了体重减轻、进食量减少以及严重咳嗽、扎堆蜷缩、

精神萎靡、呼吸短促等哮喘典型症状。与模型组比较，地塞米松组和麻黄-桂枝低、中、高剂量组只有少数大鼠出现呼吸短促、咳喘、躁动以及精神萎靡等哮喘典型症状。

3.2 大鼠肺功能指标比较

各组大鼠造模前(第1天)的Raw、FRC、PEF、EF50%比较,差异均无统计学意义($P>0.05$,数据略)。末次给药后(第22天),与空白组比较,模型组大鼠Raw、FRC均显著升高,PEF、EF50%均显著降低($P<0.05$);与模型组比较,地塞米松组和麻黄-桂枝低、中、高剂量组大鼠Raw、FRC均显著降低,PEF、EF50%均显著升高($P<0.05$)。结果见表2($1\text{ cm H}_2\text{O}\approx 0.098\text{ kPa}$)。

表2 各组大鼠末次给药后的肺功能指标比较($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	Raw/(cm H ₂ O·s/mL)	FRC/mL	PEF/(mL/s)	EF50%/(mL/s)
空白组	0.47±0.01	1.01±0.15	25.33±0.86	21.34±1.02
模型组	1.37±0.05 ^a	2.44±0.19 ^a	17.38±0.72 ^a	14.30±0.51 ^a
地塞米松组	0.29±0.02 ^b	1.64±0.10 ^b	19.94±0.50 ^b	18.87±0.54 ^b
麻黄-桂枝低剂量组	0.67±0.02 ^b	1.67±0.17 ^b	18.46±0.32 ^b	16.63±0.53 ^b
麻黄-桂枝中剂量组	0.53±0.02 ^b	1.43±0.18 ^b	19.81±0.28 ^b	17.66±0.56 ^b
麻黄-桂枝高剂量组	0.48±0.01 ^b	1.72±0.10 ^b	21.66±0.24 ^b	19.35±0.52 ^b

a:与空白组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

3.3 大鼠血清中IL-6、IL-13、TNF-α、IFN-γ含量比较

与空白组比较,模型组大鼠血清中IL-6、IL-13、TNF-α含量均显著升高,IFN-γ含量显著降低($P<0.05$);与模型组比较,地塞米松组和麻黄-桂枝低、中、高剂量组大鼠血清中IL-6、IL-13、TNF-α含量均显著降低,IFN-γ含量均显著升高($P<0.05$)。结果见表3。

表3 各组大鼠血清中炎症因子含量比较($\bar{x}\pm s$, $n=3$, pg/mL)

组别	IL-6	IL-13	TNF-α	IFN-γ
空白组	2 855.19±111.70	64.20±5.89	30.92±0.24	528.67±44.80
模型组	5 166.69±423.73 ^a	107.42±7.19 ^a	228.40±0.50 ^a	55.04±3.31 ^a
地塞米松组	3 023.23±141.52 ^b	77.98±5.21 ^b	104.31±19.85 ^b	456.81±26.06 ^b
麻黄-桂枝低剂量组	4 399.32±403.87 ^b	82.16±1.97 ^b	164.79±0.88 ^b	162.85±36.84 ^b
麻黄-桂枝中剂量组	2 620.45±110.13 ^b	77.97±1.97 ^b	158.01±5.72 ^b	312.80±60.50 ^b
麻黄-桂枝高剂量组	2 331.49±71.44 ^b	69.24±0.85 ^b	149.13±4.56 ^b	303.39±36.86 ^b

a:与空白组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

3.4 大鼠肺组织病理学形态比较

空白组大鼠肺组织无异样。与空白组比较,模型组大鼠肺组织中可见充血等炎症现象,支气管及肺泡周围有大量炎症细胞浸润,支气管管壁增厚,肺泡塌陷严重;与模型组比较,地塞米松组和麻黄-桂枝低、中、高剂量组大鼠肺组织损伤明显减轻,肺泡结构相对完整,支气管管壁无明显增厚,炎症细胞浸润减轻。结果见图1。

3.5 大鼠肺组织中IL-6、IL-13、TNF-α、IFN-γ、TSLP、TLR4 mRNA表达比较

与空白组比较,模型组大鼠肺组织中IL-6、IL-13、TNF-α、TSLP、TLR4 mRNA表达水平均显著升高,IFN-γ mRNA表达水平显著降低($P<0.05$);与模型组比较,地塞米松组和麻黄-桂枝低、中、高剂量组大鼠肺组织中IL-6

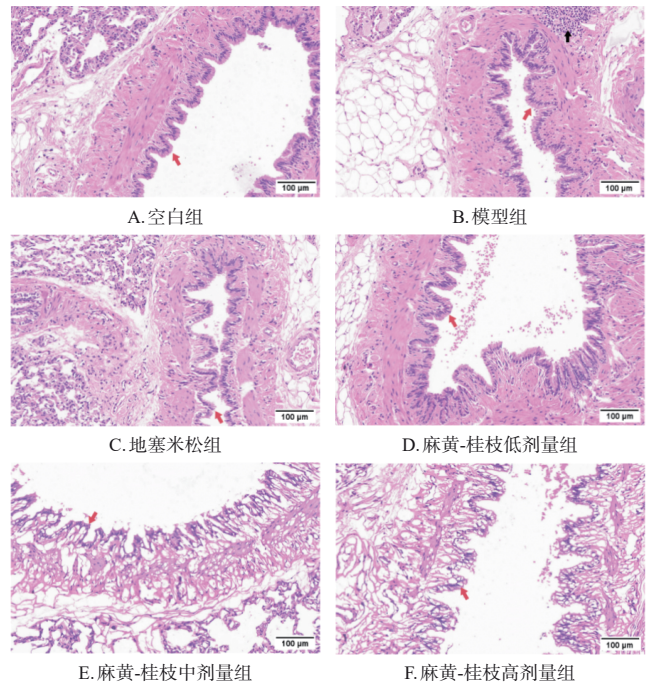


图1 各组大鼠肺组织病理学形态显微图(HE染色)
红色箭头:支气管;黑色箭头:炎症细胞。

(麻黄-桂枝低剂量组除外)、IL-13、TNF-α、TSLP(麻黄-桂枝低剂量组除外)、TLR4 mRNA表达水平均显著降低,IFN-γ mRNA表达水平均显著升高($P<0.05$)。结果见表4。

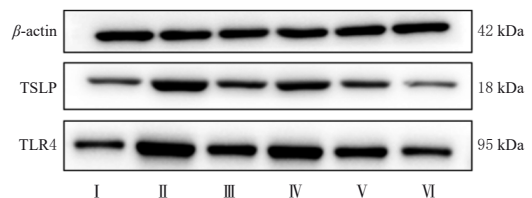
表4 各组大鼠肺组织中IL-6、IL-13、TNF-α、IFN-γ、TSLP、TLR4 mRNA表达比较($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	IL-6 mRNA	IL-13 mRNA	TNF-α mRNA	IFN-γ mRNA	TSLP mRNA	TLR4 mRNA
空白组	1.02±0.22	0.99±0.05	0.78±0.01	1.50±0.06	0.78±0.04	0.65±0.02
模型组	2.73±0.32 ^a	1.71±0.13 ^a	1.37±0.05 ^a	0.34±0.02 ^a	1.48±0.08 ^a	0.99±0.02 ^a
地塞米松组	1.68±0.09 ^b	1.15±0.08 ^b	0.85±0.02 ^b	1.98±0.09 ^b	0.83±0.04 ^b	0.75±0.02 ^b
麻黄-桂枝低剂量组	2.03±0.50	1.36±0.01 ^b	0.90±0.01 ^b	0.88±0.12 ^b	1.28±0.02	0.94±0.01 ^b
麻黄-桂枝中剂量组	1.75±0.03 ^b	1.33±0.01 ^b	1.07±0.06 ^b	2.38±0.18 ^b	1.06±0.04 ^b	0.79±0.02 ^b
麻黄-桂枝高剂量组	1.69±0.12 ^b	1.18±0.08 ^b	1.09±0.02 ^b	1.17±0.05 ^b	1.21±0.05 ^b	0.83±0.01 ^b

a:与空白组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

3.6 大鼠肺组织中TSLP、TLR4蛋白表达比较

与空白组比较,模型组大鼠肺组织中TSLP、TLR4蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,地塞米松组和麻黄-桂枝低、中、高剂量组大鼠肺组织中TSLP、TLR4蛋白表达水平均显著降低($P<0.05$)。结果见图2和表5。



I:空白组;II:模型组;III:地塞米松组;IV:麻黄-桂枝低剂量组;V:麻黄-桂枝中剂量组;VI:麻黄-桂枝高剂量组。

图2 各组大鼠肺组织中TSLP、TLR4蛋白表达的电泳图

表5 各组大鼠肺组织中 TSLP、TLR4 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	TSLP/ β -actin	TLR4/ β -actin
空白组	0.39 ± 0.01	0.40 ± 0.01
模型组	1.16 ± 0.01 ^a	1.16 ± 0.03 ^a
地塞米松组	0.71 ± 0.01 ^b	0.76 ± 0.01 ^b
麻黄-桂枝低剂量组	0.98 ± 0.01 ^b	1.05 ± 0.02 ^b
麻黄-桂枝中剂量组	0.56 ± 0.01 ^b	0.75 ± 0.01 ^b
麻黄-桂枝高剂量组	0.29 ± 0.02 ^b	0.47 ± 0.01 ^b

a: 与空白组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$ 。

4 讨论

哮喘是一种常见的慢性气道炎症性疾病,其发病机制复杂,涉及多种炎症细胞、细胞因子和信号通路的异常激活。寒饮蕴肺证是哮喘的一种常见证型,其病理机制主要为“寒饮内停、肺气不宣”“形寒饮冷”导致气道炎症加重和呼吸功能障碍^[8]。《内经》有“形寒饮冷则伤肺”“重寒伤肺”等论述,形寒和寒饮两种寒邪相互作用,内外皆伤,导致肺气上逆,出现咳嗽、呼吸困难等症状,说明寒冷环境与寒凉饮食相结合,易导致肺脏与支气管的损伤,进而引发气道炎症,促使哮喘的发生^[2,9]。近年来,随着对中药作用机制的深入研究,麻黄-桂枝药对在治疗哮喘寒饮蕴肺证中的潜在疗效逐渐受到关注。

呼吸功能的改善是评估哮喘治疗效果的重要指标之一。在哮喘寒饮蕴肺证中,气道阻塞导致呼气不完全,气体滞留于肺泡内导致功能残气量升高,气道狭窄导致呼气峰流速显著下降^[10]。本研究结果显示,麻黄-桂枝药对能够显著改善哮喘寒饮蕴肺证大鼠的呼吸功能,具体表现为 Raw、FRC 均显著降低,PEF、EF50% 均显著升高。

炎症因子 IL-6、IL-13、TNF- α 和 IFN- γ 在哮喘中形成调控机制,IL-13 主导 Th2 型炎症和气道重塑,IL-6 驱动 Th17 型炎症和全身反应,TNF- α 放大炎症关联,而 IFN- γ 则通过免疫平衡发挥保护作用,上述炎症因子相互作用所产生的整体效应体现在肺部的病理特征为严重的炎症细胞浸润与杯状细胞异常增生^[11]。本研究结果显示,麻黄-桂枝药对能显著改善哮喘寒饮蕴肺证大鼠气道中的炎症细胞浸润及支气管的异常变化,可显著降低血清中 IL-6、IL-13、TNF- α 含量以及肺组织中 IL-6、IL-13、TNF- α mRNA 表达水平,提高血清中 IFN- γ 含量和肺组织中 IFN- γ mRNA 表达水平,提示麻黄-桂枝药对能够缓解哮喘气道炎症。

在机体中,Th1/Th2 调控机制失衡是引发慢性支气管哮喘最重要的环节之一。有研究显示,在 Th2 哮喘发病机制中,TSLP 是引发炎症反应的关键因子,抑制 TSLP 表达可使体内 Th2 型细胞因子产生减少,从而缓解 Th1/Th2 失衡^[12-13]。TLR4 可促进细胞因子合成与释放,参与炎症反应以及哮喘的发生^[14]。激活 TLR4 可触发核因子 κ B 信号通路,诱导炎症反应,刺激 TNF- α 、IL-6、IL-4、IL-5 等炎症因子的表达^[15]。本研究结果显示,麻黄-桂枝药对能显著抑制哮喘寒饮蕴肺证大鼠肺组织中 TSLP、TLR4 mRNA 及蛋白的表达,降低 Th2 细胞因子

的合成,缓解 Th1/Th2 失衡,进而减轻哮喘大鼠的炎症反应,改善哮喘症状。

综上所述,麻黄-桂枝药对能显著改善哮喘寒饮蕴肺证大鼠的呼吸功能,减轻气道炎症,其作用机制可能与抑制 TLR4/TSLP 信号通路、调节 Th1/Th2 失衡有关。

参考文献

- [1] MARTÍN-GONZÁLEZ E, HERNÁNDEZ-PÉREZ J M, PÉREZ PÉREZ J A, et al. Alpha-1 antitrypsin deficiency and Pi*S and Pi*Z SERPINA1 variants are associated with asthma exacerbations[J]. Pulmonology, 2025, 31(1): 2416870.
- [2] 王晓旭,田彧潇,赵东升,等.从“形寒饮冷则伤肺”论细胞自噬在哮喘寒饮蕴肺证发病及治疗中的作用[J]. 辽宁中医杂志, 2023, 50(7): 75-78.
- [3] 胡艺馨,李敏超.薄荷醇通过激活瞬时受体电位 M8 (TRPM8)促进 BEAS-2B 人支气管上皮细胞的细胞因子分泌[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2021, 37(7): 577-584.
- [4] 乔俊英,宋丽,张艳丽,等.哮喘小鼠 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号通路及维生素 D 的作用[J]. 中国当代儿科杂志, 2017, 19(1): 95-103.
- [5] SMOLINSKA S, ANTOLÍN-AMÉRIGO D, POPESCU F D, et al. Thymic stromal lymphopoietin (TSLP), its isoforms and the interplay with the epithelium in allergy and asthma[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(16): 12725.
- [6] 向双娣,程林辉,喻强强,等.益气温阳护卫汤调控 PI3K/Akt/mTOR 自噬途径治疗支气管哮喘大鼠机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(14): 38-46.
- [7] 常兴,张庆祥,刘燕,等.基于“肺阳虚”理论探析温阳化饮方对哮喘寒饮蕴肺证细胞自噬的作用机制[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(2): 650-654.
- [8] 范晓璇,颜培正,张庆祥.黄芪甲苷通过 LC3/Beclin 1 干预哮喘寒饮蕴肺证大鼠细胞自噬的机制[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(11): 6037-6042.
- [9] 王琳君,李耀辉,钟珍,等.形寒寒饮则伤肺述评[J]. 河北中医, 2023, 45(1): 122-124.
- [10] 谢素馨,徐依婷,汤杰.麻黄-桂枝药对治疗呼吸系统疾病的临床应用[J]. 世界中医药, 2024, 19(14): 2191-2195, 2202.
- [11] 吕士申,张忠文,邵淑琳.金合欢素对哮喘幼年大鼠的改善作用及机制[J]. 中国药房, 2024, 35(20): 2466-2470.
- [12] 王志刚,申改青,黄玉焕.咳嗽变异性哮喘患儿外周血 miR-138 及 RUNX3 对 Th1/Th2 平衡的调节作用[J]. 中国当代儿科杂志, 2021, 23(10): 1044-1049.
- [13] 周巧,徐允年,赵睿含,等.胸腺基质淋巴细胞生成素在哮喘发病机制和治疗中的研究进展[J]. 医学综述, 2022, 28(1): 1-6.
- [14] 杨艳,薛征. TLR4 基因敲除对哮喘小鼠气道炎症的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(24): 2945-2949.
- [15] 朴颖,王重阳,宋芝兰,等.朝医麻黄定喘汤对 OVA 诱导的过敏性哮喘豚鼠模型 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号通路的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2022, 38(5): 913-919.

(收稿日期:2025-01-09 修回日期:2025-06-19)

(编辑:邹雨娟)