

· 论著 ·

益气活血中药对急性肺损伤大鼠血浆
和肺组织中炎症介质的影响

刘 毅, 杨明会, 张海燕, 王文明, 李绍旦

(解放军总医院中医研究所, 北京 100853)

【摘要】 目的 探讨益气活血中药黄芪与丹参对急性肺损伤(ALI)模型大鼠血浆和肺组织匀浆中炎症介质的影响。**方法** 将 30 只雄性 SD 大鼠按随机数字表法分为正常对照组、模型组、中药组, 每组 10 只。采用气管滴入脂多糖(LPS)法复制 ALI 动物模型。模型组和正常对照组每日灌胃 2 ml 生理盐水, 中药组每日灌胃 0.25 mg/L 的益气活血中药 2 ml, 均连用 1 周。采用放射免疫法检测各组大鼠血浆及肺组织匀浆中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL-1、6、8)含量。**结果** 中药组大鼠血浆及肺组织匀浆中 TNF- α 含量($\mu\text{g/L}$)分别为 35.59 ± 7.05 、 3.01 ± 1.78 , 均低于模型组(均 $P < 0.05$); IL-1 含量($\mu\text{g/L}$)分别为 0.22 ± 0.13 、 0.35 ± 0.08 , IL-6 含量(ng/L)分别为 32.56 ± 9.72 、 105.82 ± 16.13 , IL-8($\mu\text{g/L}$)分别为 0.52 ± 0.22 、 1.23 ± 0.52 , 均低于模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 中药组各项指标与正常对照组比较差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。**结论** 益气活血中药黄芪和丹参可能是通过抑制 TNF- α 、IL-1、6、8 生成和释放, 从而起到对模型大鼠 ALI 的防治作用。

【关键词】 肺损伤, 急性; 益气活血中药; 炎症细胞因子

中图分类号: R285.6; R256.1 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn. 1008-9691.2011.06.002

Effect of herbs for supplementing qi and activating blood circulation on inflammatory mediators in plasma and lung tissue in rats with acute lung injury LIU Yi, YANG Ming-hui, ZHANG Hai-yan, WANG Wen-ming, LI Shao-dan. Institute of Traditional Chinese Medicine, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China
Corresponding author: YANG Ming-hui, Email: ymh9651@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To investigate the effect of herbs for supplementing qi and activating blood circulation, astragalus mongholicus and salvia miltiorrhiza, on inflammatory mediators in plasma and lung tissue of rats with acute lung injury (ALI). **Methods** Thirty male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into three groups: control group, model group and herbs groups (each $n=10$). The ALI model was reproduced by lipopolysaccharide (LPS, 1 mg/kg) 200 μl dripped into the trachea; in model group and control group, 2 ml normal saline (NS) was intragastrically administered daily, in herbs group 2 ml decoction of herbs for supplementing qi and activating blood circulation (0.25 mg/L) was intragastrically administered daily, the therapeutic course of the three groups being consecutive 1 week. The contents of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1, 6, 8 (IL-1, 6, 8) in plasma and lung tissue homogenate were tested by radioimmunoassay. **Results** The contents of TNF- α ($\mu\text{g/L}$) in plasma and lung tissue of herbs group were 35.59 ± 7.05 and 3.01 ± 1.78 respectively, lower than those in model group (both $P < 0.05$); the contents of IL-1 ($\mu\text{g/L}$) were 0.22 ± 0.13 and 0.35 ± 0.08 , of IL-6 (ng/L), 32.56 ± 9.72 and 105.82 ± 16.13 , and of IL-8 ($\mu\text{g/L}$), 0.52 ± 0.22 and 1.23 ± 0.52 , respectively, all lower than those in model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). There were no statistical significant differences between herbs group and control group in all the above indexes (all $P > 0.05$). **Conclusion** The herbs for supplementing qi and activating blood circulation, astragalus mongholicus and salvia miltiorrhiza, can prevent and treat ALI probably by restraining the synthesis and release of TNF- α and IL-1, 6, 8.

【Key words】 Acute lung injury; Supplementing qi and activating blood circulation herb; Inflammatory cytokine

急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征(ALI/ARDS)是临床常见的急危重症,病死率较高,由于其发病机制尚未完全阐明,至今仍无特效的治疗手段,目前医学界普遍认为 ALI 是一种由各种始动事件(如严重感染、创伤、休克、中毒等)引起的肺部失控性炎症反应^[1]。有研究表明,中药对 ALI/ARDS 具有良好的防治作用^[2]。作为失控性炎症反应性疾病,细胞因子在其发生发展过程中起着重要作用^[3]。本研究拟以益气活血中药黄芪与丹参对脂多糖(LPS)致 ALI 模型大鼠

进行干预,观察大鼠血浆及肺组织匀浆中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL-1、6、8)含量的变化,探讨益气活血中药防治 ALI 的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物: 2 月龄健康清洁级 SD 雄性大鼠 30 只,平均体重(200 ± 20) g,由解放军总医院医学实验动物中心提供,动物合格证号: HCXX (京) 2006-0094。大鼠在清洁动物房适应性饲养 1 周,期间自由摄食、饮水,室温 $18 \sim 24^\circ\text{C}$,相对湿度 40% ~ 70%,每日 12 h 光照维持,昼夜循环。

1.2 主要药品和试剂: 益气活血中药由生黄芪和丹参组成,生药材由解放军总医院中药房采购及鉴定,

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30873344)

通信作者: 杨明会, Email: ymh9651@yahoo.com.cn

作者简介: 刘 毅 (1965-), 男 (汉族), 山西省人, 副主任技师。

制剂由总后卫生部药品检定所制备及鉴定。配制成 0.25 g/ml 剂量。LPS 为美国 Sigma 公司产品, TNF- α 和 IL-1、6、8 放射免疫试剂盒均购自北京普尔伟业生物科技有限公司。速眠新 II 注射液由解放军军需大学兽医研究所生产〔兽药试字(2004005013)〕。

1.3 动物分组及处理方式:按随机数字表法将 30 只大鼠分为正常对照组、模型组、中药组, 每组 10 只。正常对照组和模型组每日给予生理盐水 2 ml 灌胃, 连续 1 周; 中药组用灌胃法每日给予 0.25 g/ml 的中药 2 ml, 连续 1 周, 均在实验前称重。速眠新 II 肌肉注射麻醉大鼠后, 采用 LPS 1 mg/kg(每只 200 μ l) 气管滴入法^[4]复制 ALI 模型; 正常对照组按同样方法经气管滴入等量生理盐水(每只 200 μ l)。制模后 3 h 均经静脉取血以备相关指标检测; 再从股动脉放血处死动物, 取左肺组织匀浆后进行相关指标检测。本研究动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 血浆 TNF- α 及 IL-1、6、8 含量检测:取静脉血 2 ml, 低温离心, 分离血清, -20 $^{\circ}$ C 低温冰箱保存备检。测定前将样本置于室温或冷水中复融, 再次离心后取上清液测定 TNF- α 及 IL-1、6、8 含量, 具体步骤严格按试剂盒说明书进行。

1.4.2 肺组织匀浆 TNF- α 及 IL-1、6、8 含量检测:取左肺组织吸去血迹, 称重后加入生理盐水 1 ml 制成匀浆, 低温离心取上清液, -20 $^{\circ}$ C 以下保存备检。测定前 1:5 倍稀释, 取上清液测定 TNF- α 及 IL-1、6、8 含量, 具体步骤严格按试剂盒说明书进行。

1.5 统计学方法:应用 SPSS 11.5 统计软件进行分析。计量数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 血浆 TNF- α 及 IL-1、6、8 含量(表 1):正常对照组大鼠血浆 TNF- α 及 IL-1、6、8 含量最低; 模型组大鼠血浆 TNF- α 及 IL-1、6、8 含量最高; 中药组大鼠血浆 TNF- α 及 IL-1、6、8 含量居中。模型组与正常对照组、中药组两组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 中药组与正常对照组比较差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

2.2 肺组织匀浆 TNF- α 及 IL-1、6、8 含量(表 2):正常对照组大鼠肺组织匀浆中 TNF- α 及 IL-1、6、8 含量最低; 模型组大鼠肺组织匀浆中 TNF- α 及 IL-1、6、8 含量最高; 中药组大鼠肺组织匀浆中 TNF- α 及 IL-1、6、8 含量居中。模型组与正常对照组、中药组两组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$

或 $P < 0.01$); 中药组与正常对照组比较差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

表 1 3 组大鼠血浆 TNF- α 及 IL-1、6、8 含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	TNF- α (μ g/L)	IL-1 (μ g/L)	IL-6 (ng/L)	IL-8 (μ g/L)
正常对照组	10	30.73 $\pm$ 3.15	0.14 $\pm$ 0.05	18.93 $\pm$ 4.07	0.34 $\pm$ 0.07
模型组	10	49.25 $\pm$ 6.27 ^a	0.37 $\pm$ 0.19 ^b	63.04 $\pm$ 10.36 ^a	1.15 $\pm$ 0.31 ^a
中药组	10	35.59 $\pm$ 7.05 ^c	0.22 $\pm$ 0.13 ^c	32.56 $\pm$ 9.72 ^d	0.52 $\pm$ 0.22 ^d

注:与正常对照组比较, ^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$; 与模型组比较, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$

表 2 3 组大鼠肺组织 TNF- α 及 IL-1、6、8 含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	TNF- α (μ g/L)	IL-1 (μ g/L)	IL-6 (ng/L)	IL-8 (μ g/L)
正常对照组	10	2.17 $\pm$ 0.84	0.24 $\pm$ 0.09	75.48 $\pm$ 10.31	0.81 $\pm$ 0.17
模型组	10	4.37 $\pm$ 1.86 ^a	0.73 $\pm$ 0.17 ^b	235.17 $\pm$ 34.18 ^b	2.11 $\pm$ 0.66 ^b
中药组	10	3.01 $\pm$ 1.78 ^c	0.35 $\pm$ 0.08 ^d	105.82 $\pm$ 16.13 ^d	1.23 $\pm$ 0.52 ^c

注:与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与模型组比较, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$

3 讨 论

ALI/ARDS 的发病机制至今尚未完全阐明, 对其发病机制的深入探讨与中西医疗有效药物的筛选, 在很大程度上依赖于和人类 ALI/ARDS 病理改变相似的实验动物模型的建立与应用。LPS 气管滴入法复制 ALI 的动物模型, 是当前公认的、较为成熟的模型^[5], 已广泛地应用于 ALI 发病机制和预防治疗的研究中。本研究中采用 LPS 气管滴入法复制 ALI 模型大鼠, 探讨益气活血中药黄芪与丹参防治 ALI 的作用机制。

TNF- α 是一种重要的促炎细胞因子, 主要由单核/巨噬细胞、淋巴细胞激活后产生和释放。在炎症反应发生发展中, TNF- α 起着始动作用^[6-7]。TNF- α 是诱发 ALI 的关键性炎症介质^[8], 能够破坏肺血管内皮细胞屏障功能的完整性, 导致血管内皮细胞的通透性增加, 形成间质性肺水肿^[9]。TNF- α 还作用于中性粒细胞, 使其发生“呼吸爆发”, 脱颗粒, 产生大量氧自由基、蛋白酶和脂质介质导致肺损伤^[10]。TNF- α 又可诱导产生 IL-6 和 IL-8 等细胞因子参与炎症反应^[11]。另有研究发现, TNF- α 还可直接损害肺泡表面活性物质(PS)系统^[12]。本研究结果显示, 中药组大鼠的血浆及肺组织中 TNF- α 含量明显低于模型组, 且与正常对照组无显著差异, 提示益气活血中药黄芪与丹参可能是通过抑制 TNF- α 产生和释放, 保护肺血管内皮细胞, 减少中性粒细胞脱颗粒及氧自由基、

IL-6 和 IL-8 等细胞因子的产生,保护 PS 系统,进而起到对模型大鼠 ALI 的防治作用。

IL-1 可促进多形核白细胞(PMN)的聚集、黏附,激活血管内皮细胞,增加炎症介质的释放,增加血管通透性,破坏内皮细胞完整性,导致肺水肿^[3]。IL-6 可促进 PMN 氧化“爆发”和脱颗粒^[11];IL-6 诱导急性期炎症反应的产生,在 ALI 中肺内的 IL-6 使白细胞聚集、渗透,介导组织损害,加重肺损伤的程度^[14]。IL-8 对 PMN 具有明显的趋化作用,促进中性粒细胞形态改变,触发脱颗粒、表面黏附分子的表达及活性氧分子产物生成增加,IL-8 还能进一步趋化碱性粒细胞,促进其释放组胺与白细胞三烯,从而引起肺泡毛细血管膜损伤,促进肺水肿的形成与发展^[15-16]。本研究结果显示,中药组大鼠血浆 IL-1、6、8 含量明显低于模型组,肺组织匀浆中 IL-1、6、8 含量明显低于模型组,且中药组与正常对照组无显著差异,提示益气活血中药黄芪与丹参可能是通过抑制 IL-1、6、8 的产生,减少炎症细胞和炎症介质的释放,保护肺泡毛细血管,维持内皮细胞完整性,降低血管通透性,减轻肺水肿,从而起到防治模型大鼠 ALI 的作用。

细胞因子是机体正常防御反应的重要参与成分,当刺激过于强烈,导致细胞因子过度生成时,会产生广泛的损伤作用^[17]。本研究结果显示,益气活血中药黄芪与丹参可能通过抑制促炎细胞因子 TNF- α 及 IL-1、6、8 的产生和释放,发挥防治 ALI 模型大鼠的作用。中药防治 ALI 是多途径、多靶点、多环节的,可能存在其他的作用途径,需要进一步深入的研究。

参考文献

- [1] 中华医学会重症医学分会. 急性肺损伤 / 急性呼吸窘迫综合征诊断和治疗指南(2006). 中国危重病急救医学, 2006, 18(12): 706-710.
- [2] 刘建新, 余林中. 中药保护急性肺损伤作用机理研究进展. 陕西中医学院学报, 2009, 32(6): 83-85.
- [3] 孙中吉, 卢青, 李银平. 急性呼吸窘迫综合征发病中的细胞因子和炎症介质. 中国危重病急救医学, 2003, 15(3): 186-189.
- [4] 方舒东, 杨锡馨. 急性肺损伤动物模型的建立. 山西医科大学学报, 2002, 33(3): 280-282.
- [5] 方青, 高荣, 高英杰, 等. 急性肺损伤动物模型的研究现状. 中国畜牧兽医, 2010, 37(5): 51-54.
- [6] Xie GQ, Jiang JX, Chen YH, et al. Induction of acute hepatic injury by endotoxin in mice. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2002, 1(4): 558-564.
- [7] Kim GY, Roh SI, Park SK, et al. Alleviation of experimental septic shock in mice by acidic polysaccharide isolated from the medicinal mushroom *Phellinus linteus*. Biol Pharm Bull, 2003, 26(10): 1418-1423.
- [8] 邱海波, 陈德昌, 潘家琦, 等. 急性肺损伤的炎症反应机制与药物治疗探讨. 中国危重病急救医学, 1999, 11(11): 678-680.
- [9] 廖秀玉, 林建东, 倪秀雄, 等. 还原型谷胱甘肽对脓毒症大鼠肺部超微结构及血中细胞因子水平的影响. 中国危重病急救医学, 2010, 22(5): 282-284.
- [10] Mirshafiey A, Mohsenzadegan M. The role of reactive oxygen species in immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. Iran J Allergy Asthma Immunol, 2008, 7(4): 195-202.
- [11] 李胜亮, 张淑琴, 秦翠平, 等. 脂多糖致肺血管内巨噬细胞释放炎症因子变化的研究. 中国危重病急救医学, 2006, 18(3): 136-138.
- [12] Ryan AJ, McCoy DM, McGowan SE, et al. Alveolar sphingolipids generated in response to TNF- α modifies surfactant biophysical activity. J Appl Physiol, 2003, 94(1): 253-258.
- [13] Mayer J, Rau B, Gansauge F, et al. Inflammatory mediators in human acute pancreatitis: clinical and pathophysiological implications. Gut, 2000, 47(4): 546-552.
- [14] Hattar K, Fink L, Fietzner K, et al. Cell density regulates neutrophil IL-8 synthesis: role of IL-1 receptor antagonist and soluble TNF receptors. J Immunol, 2001, 166(10): 6287-6293.
- [15] Mueller M, Stamme C, Draing C, et al. Cell activation of human macrophages by lipoteichoic acid is strongly attenuated by lipopolysaccharide-binding protein. J Biol Chem, 2006, 281(42): 31448-31456.
- [16] Smith LS, Kajikawa O, Elson G, et al. Effect of Toll-like receptor 4 blockade on pulmonary inflammation caused by mechanical ventilation and bacterial endotoxin. Exp Lung Res, 2008, 34(5): 225-243.
- [17] Bone RC. Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: what we do and do not know about cytokine regulation. Crit Care Med, 1996, 24(1): 163-172.

(收稿日期: 2011-08-08)

(本文编辑: 李银平)

·读者·作者·编者·

《中国中西医结合急救杂志》对医学名词及术语的一般要求

医学名词应使用全国科学技术名词审定委员会公布的名词。尚未通过审定的学科名词, 可选用最新版《医学主题词表(MeSH)》、《医学主题词注释字顺表》、《中医药主题词表》中的主题词。对于没有通用译名的名词术语, 在文内第一次出现时应注明原词。中西药名以最新版《中华人民共和国药典》和《中国药品通用名称》(均由中国药典委员会编写)为准。英文药物名称则采用国际非专利药名。在题名及正文中, 药名一般不得使用商品名, 确需使用商品名时应先注明其通用名称。中医名词术语按 GB/T 6751·1-1997《中医临床诊疗术语疾病部分、证候部分、治法部分》执行, 经络针灸学名词术语按 GB/T 16751·2-1997《经穴部位》和 GB/T 16751·3-1997《耳穴名称与部位》执行。中药应采用正名, 药典未收录者应附注拉丁文。冠以外国人名体的征、病名、试验、综合征等, 人名可以用中译文, 但人名后不加“氏”(单字名除外, 例如福氏杆菌); 也可以用外文, 但人名后不加“s”。文中应尽量少用缩略语。已被公知公认的缩略语可以不加注释直接使用, 例如: DNA、RNA、HBsAg、CT、MRI 等。不常用的、尚未被公知公认的缩略语以及原词过长在文中多次出现者, 若为中文可于文中第一次出现时写出全称, 在圆括号内写出缩略语; 若为外文可于文中第一次出现时写出中文全称, 在圆括号内写出外文全称及其缩略语。不超过 4 个汉字的名词不宜使用缩略语, 以免影响论文的可读性。