

实验研究

芪蛭皱肺胶囊对肺气肿豚鼠模型血细胞因子及血氧分压、二氧化碳分压的影响

李金田* 刘永琦* 李娟*

摘要 目的:观察肺气肿豚鼠模型血清肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和白细胞介素6(IL-6)的变化、芪蛭皱肺胶囊对两者的调节作用及对血气分析的影响。方法:用弹性蛋白酶复制豚鼠肺气肿模型。将豚鼠随机分为正常对照组、模型组、阳性药物组及芪蛭皱肺胶囊大、中、小剂量治疗组,测定各组豚鼠血清 TNF- α 、IL-6 含量及血氧分压(PaO₂)及二氧化碳分压(PaCO₂)。结果:与正常对照组比较,模型组 TNF- α 、IL-6 水平明显升高,而芪蛭皱肺胶囊治疗组豚鼠血清 TNF- α 、IL-6 水平明显低于模型组,并可明显升高 PaO₂,降低 PaCO₂($P < 0.01$)。结论:TNF- α 、IL-6 分泌增加在肺气肿发病机理中起着重要作用,芪蛭皱肺胶囊能有效地调节肺损伤时机体 TNF- α 、IL-6 水平的过度升高以及改善肺通气功能,是治疗肺气肿有效的手段。

主题词 肺气肿/中医药疗法 @ 芪蛭皱肺胶囊

肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和白细胞介素6(IL-6)均是炎症反应早期释放的炎性因子,TNF- α 作为前炎因子除本身所具有的炎性介质作用外,更主要是作为各种细胞因子的启动剂而促进多种粘附分子和炎性介质的合成与释放,加重气道炎症和高反应性,参与肺气肿的发病过程。体外研究也表明 TNF- α 可刺激单核/巨噬细胞产生白细胞介素1(IL-1)、IL-6,并呈剂量依赖性^[1,2]。IL-6水平过高可进一步加剧机体免疫、病理损害^[3],TNF- α 、IL-6是在肺气肿等炎症反应触发和“级联(Cascade)”效应的关键因素^[4],抑制炎症介质的释放已成为防治急性肺损伤的重要策略^[5]。本课题应用弹性蛋白酶复制了豚鼠肺气肿模型,并观察了纯中药制剂芪蛭皱肺胶囊对肺气肿模型豚鼠血清 TNF- α 和 IL-6 的调节作用及血氧分压(PaO₂)及二氧化碳分压(PaCO₂)的影响。

1 材料与方法

1.1 材料:弹性蛋白酶(ELASTASE),由上海北中达医学应用研究所提供,批号 30J4178;头孢氨苄胶囊,丽珠集团制药厂,批号 010303;氨茶碱片,山西临汾云鹏药业有限公司,批号 000721;IL-6 及 TNF 标准放免

测试盒由北京北方生物技术研究所提供,批号 200204。 γ 计数器:FJ-2008型,西安二六二厂生产;血气分析仪:AUL-OMNI型。豚鼠 84只,体重 380 $\pm$ 20g,雌雄各半,由卫生部兰州生物制品研究所提供。

1.2 方法:豚鼠 60只,随机分为生理盐水对照组(I)、肺气肿模型组(II)、模型+阳性药物治疗组(III)、模型+芪蛭皱肺胶囊小、中、大剂量(IV、V、VI)治疗组共6组。I组豚鼠每只超声波雾化吸入0.85% NaCl 1.0ml/日;II、III、IV、V、VI组每只均吸入用0.85% NaCl 稀释为3mg/ml的弹性蛋白酶1.0ml,各组均吸入1次。21天后,IV、V、VI组每日分别灌胃芪蛭皱肺胶囊液2.30g/kg、3.45g/kg、4.60g/kg,III组灌胃等体积氨茶碱及先锋IV(分别每日按0.12g/kg、0.03g/kg服用),I、II组灌服等体积生理盐水,每天1次,连续灌胃4周。

豚鼠用1%的戊巴比妥钠经腹腔麻醉后无菌条件采血,分离血清,应用全自动 γ 计数器采用放射免疫分析技术测定血清中IL-6含量。IL-6标准(血清样本)与100 μ l ¹²⁵I-IL-6及100 μ l IL-6抗血清溶液加在一起,混匀后在4℃温育24h,而后加入免疫分离剂,IL-6与抗体的复合物则产生沉淀。离心分离,测定总放射性(T)。吸去上层清液,再测定沉淀的放射性(B),计算各标准点的结合率(B/B₀%),作出标准曲线,被检血清根据B/B₀%结合率可从标准曲线上查得其IL-6浓度,单位用pg/ml表示。血清中TNF- α 含量测定与上述方法类似。

将体重380 $\pm$ 20g的豚鼠24只随机分为生理盐水组、模型组、阳性对照组、芪蛭皱肺胶囊组。肺气肿模型复制方法同上。21天后,芪蛭皱肺胶囊组每日灌胃芪蛭皱肺胶囊液2.30g/kg,生理盐水组、模型组及阳性对照组给药同上,以上均每天1次,连续灌胃4周。4周后,豚鼠用1%的戊巴比妥钠经腹腔麻醉后无菌条件经左心室采抗凝血(注射器用1%肝素液冲洗)1ml送检,用美国产AUL-OMNI血气分析仪测定血气指标。采用SPSS for Windows 10.0进行数据分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

基金项目:甘肃省自然科学基金资助项目(ZS001-A23-061-Y)

* 甘肃中医学院,甘肃省兰州市定西东路35号(730000)

收稿日期:2002-08-26

2 结果

2.1 各组豚鼠血 IL-6 和 TNF- α 含量变化比较:表 1 示,Ⅱ组豚鼠血 IL-6 及 TNF- α 含量均较 I 组升高($P<0.01$),而Ⅳ~Ⅵ组及Ⅲ组豚鼠血 IL-6 及 TNF- α 含量较Ⅱ组明显下降,差异均有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

表 1 各组豚鼠血 IL-6 和 TNF- α 含量变化比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	药物剂量 (g/kg)	IL-6(pg/ml)	TNF- α (fmol/ml)
I 组	8	—	74.83 $\pm$ 4.33	8.20 $\pm$ 0.59
Ⅱ组	8	—	104.22 $\pm$ 17.09**	12.45 $\pm$ 2.14**
Ⅲ组	8	—	82.12 $\pm$ 10.50**	10.10 $\pm$ 1.58***
Ⅳ组	8	2.30	86.74 $\pm$ 14.85**	10.79 $\pm$ 1.59**
Ⅴ组	8	3.45	78.02 $\pm$ 6.77**	9.34 $\pm$ 1.17**
Ⅵ组	8	4.60	78.14 $\pm$ 5.18**	10.57 $\pm$ 1.57**

与 I 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与Ⅱ组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$

2.2 各组豚鼠血 PaO₂、PaCO₂ 变化比较:表 2 示,模型组豚鼠血 PaO₂ 较生理盐水组明显降低,而 PaCO₂ 明显升高($P<0.01$),而芪蛭皱肺胶囊组及阳性对照组与模型组比较 PaO₂ 明显升高,PaCO₂ 明显降低,差异均有显著性($P<0.01$)。

表 2 各组豚鼠血 PaO₂、PaCO₂ 变化比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	药物剂量 (g/kg)	PaO ₂ (kPa)	PaCO ₂ (kPa)
生理盐水组	6	—	11.7 $\pm$ 0.8	5.3 $\pm$ 0.4
模型组	6	—	8.6 $\pm$ 0.8**	6.9 $\pm$ 0.4**
阳性对照组	6	—	10.5 $\pm$ 0.9**	6.0 $\pm$ 0.7**
芪蛭皱肺胶囊组	6	2.30	10.8 $\pm$ 0.8*	5.3 $\pm$ 0.9*

与生理盐水组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与模型组比较, # $P<0.01$

3 讨论

TNF- α 已被普遍认为是介导急性肺损伤的主要细胞因子,在急性肺损伤发病的早期起重要作用,是最早释放的炎症介质之一,故称之为前炎症细胞因子,在弹性蛋白酶损伤肺致炎 1 个月地鼠肺内炎症细胞广泛浸润,血清 TNF- α 含量骤然可增加至正常地鼠的 3.4 倍^[6]。本研究结果显示,弹性蛋白酶损伤模型组豚鼠血清 TNF- α 含量明显亦高于正常对照组,表明 TNF- α 在弹性蛋白酶损伤肺致炎反应的发生过程中可能起重要作用。本课题组对弹性蛋白酶损伤豚鼠应用芪蛭皱肺胶囊治疗后,豚鼠血清 TNF- α 水平明显低于模型组,提示芪蛭皱肺胶囊抑制了弹性蛋白酶对组织细胞的刺激作用,抑制了 TNF- α 的过度释放,减少了 TNF- α 对肺组织可能的损伤作用。

IL-6 是一种多功能的细胞因子,能激活 T、B 淋巴

细胞的免疫反应,刺激造血干细胞的生长和增加急性相蛋白的合成。IL-6 可促进 PMN 氧化爆发和脱颗粒,亦可刺激肝细胞产生急性期蛋白,从而在 ALI 等急性炎症反应中起重要作用。本实验中豚鼠血清 IL-6 的水平都表现为随组别治疗方法不同而存在规律性变化,即损伤模型组血清 IL-6 的水平明显高于芪蛭皱肺胶囊治疗组,也高于阳性药物治疗组,并且损伤模型组及药物治疗组血清 IL-6 的水平又都明显高于正常对照组,结合病理形态学检查结果可看出,血中 IL-6 水平确与组织炎症损伤、病情严重程度呈正相关,这与文献报道结果类似^[3]。

肺气肿中医辨证多属本虚标实、气虚血瘀,是在肺气肿发展的不同阶段,以正气虚弱为本,多涉及肺、脾、肾、心、脑等脏腑,而以肺、肾功能失调为关键;标实多与痰饮、血瘀、气滞、六淫外邪等有关,且痰瘀内阻贯穿肺气肿病程始终。芪蛭皱肺胶囊主要由黄芪、党参、麦冬、丹参等药物组成,丹参能活血祛瘀、破症除癥,实验证实丹参可抑制弹性蛋白酶活力,保护弹力蛋白免受弹性酶的破坏,预防弹性酶引起的实验性肺气肿,降低肺损伤支气管肺泡清洗液中 LDH、白蛋白、过氧化脂质含量,保护肺泡Ⅱ型上皮细胞,加快损伤肺组织的修复;党参能补中益气、健脾益肺,具有调节免疫功能、清除自由基等功效,可使肺泡一动脉血氧分压差减小,维持肺有效的摄氧能力,保护肺上皮细胞和毛细血管内皮细胞,使气体通过气—血屏障的弥散基本正常。研究发现,弹性蛋白酶复制肺气肿模型豚鼠血 PaO₂ 分压较正常组明显降低,PaCO₂ 分压明显较正常组升高,而经芪蛭皱肺胶囊治疗后,血 PaO₂ 分压较模型组明显升高,而 PaCO₂ 分压较模型组明显降低,表明芪蛭皱肺胶囊具有活血化瘀、行气之功。

参考文献

- 1 Michie HR, Manogue KR, Spriggs DR, et al. Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. N Engl J Med, 1988, 318(23):1481-1486.
- 2 向明章, 蒋耀光, 王如文, 等. 肺缺血再灌注损伤后 TNF- α 、IL-6 和 IL-8 的变化及其意义. 重庆医学, 1999, 28(1):5.
- 3 刘林英. 内毒素所致急性肺损伤大鼠白介素-6 含量改变. 中国病理生理杂志, 1997, 13:729-731.
- 4 American college of chest physician/society critical care medicine consensus conference. Definition for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med, 1992, 20(6):864-874.
- 5 Sessler CN, Bloodmfield GL, Fowler AA 3rd. Current concepts of sepsis acute lung injury. Clin Chest Med, 1996, 17(2):213-235.
- 6 厉晓, 蔡英年, 蔡起嵩, 等. 弹性蛋白酶损伤肺致炎的地鼠血清中一氧化氮和肿瘤坏死因子的变化. 中国医学科学院学报, 2000, 22(2):182.