

# 止咳清肺口服液对 25 例慢性阻塞性肺疾病患者痰液炎症细胞白细胞介素 8、肿瘤坏死因子 $\alpha$ 的影响

车洪柱 庞 剑 李长见 王 扬

**摘要** 目的:观察中药止咳清肺口服液治疗慢性阻塞性肺疾病(COPD)气道炎症的效果。方法:50 例稳定期 COPD 患者随机分成治疗组 25 例,对照组 25 例。两组氧疗、强心、利尿、止咳平喘等常规治疗相同。治疗组加止咳清肺口服液 20ml,每日 3 次,连服 6 周。治疗前后记录临床症状计分,检测肺功能、痰液炎症细胞计数、分类和白细胞介素 8(IL-8)、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) 的变化。结果:治疗组临床症状计分、1 秒钟用力呼吸容积(FEV<sub>1</sub>)和 FEV<sub>1</sub>/用力肺活量(FVC)均有明显改善( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),而对照组治疗前后变化不明显。痰液中的细胞总数、中性粒细胞和 IL-8、TNF- $\alpha$  水平比治疗前均有显著下降( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),而对照组下降不明显。结论:止咳清肺口服液治疗 COPD 气道炎症疗效明显。

**主题词** 肺疾病,慢性阻塞性/中医药疗法 肺疾病,慢性阻塞性/代谢 @ 止咳清肺口服液

**Effects of Zhike Qingfei Oral Liquid on Inflammatory Cells, Interleukin-8 and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  in the Sputum in 25 Cases of Chronic Obstructive Pulmonary Diseases**

Che Hongzhu, Pang Jian, Li Changjian, et al.

(No. 163 Hospital of PLA, Shenyang 110042)

**Objective:** To observe the role of Zhike Qingfei Oral Liquid in treatment of the airway inflammation of chronic obstructive pulmonary diseases (COPD). **Methods:** 50 cases with COPD at stable stage were divided into a treatment group and a control group, 25 cases in each. Patients in both groups were treated with conventional therapy, including oxygen therapy, cardiotonic diuresis and relieving cough and asthma, etc. Zhike Qingfei Oral Liquid was added to the patients of the treatment group, 20ml each time, 3 times each day, for 6 weeks. Clinical scores, pulmonary function, cell count and classification, interleukin-8 (IL-8) and tumor necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in the sputum before and after treatment were investigated. **Results:** In the treatment group, the clinical score, FEV<sub>1</sub> and FEV<sub>1</sub>/FVC(%) improved significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ) after treatment, and no significant change was found in the control group. Total number of cells, neutrophil percentage, level of IL-8 and TNF- $\alpha$  in the sputum were significantly declined, but no significant change was found in the control group. **Conclusion:** Zhike Qingfei Oral Liquid has obvious therapeutic effect on airway inflammation of COPD.

**Key Words** Pulmonary diseases, chronic obstructive/TCM therapy; Pulmonary diseases, chronic obstructive/metabolism; @ Zhike Qingfei Oral Liquid

为观察中药止咳清肺口服液治疗慢性阻塞性肺疾病(COPD)气道炎症的效果,我们应用该药治疗稳定期 COPD 患者 25 例,现将结果报告如下。

## 1 临床资料

所有病例经病史、体检、X 线片及心电图等证实,符合 COPD 诊断标准<sup>[1]</sup>。处于稳定期的 COPD 患者 50 例,随机分成两组。治疗组 25 例,男 18 例,女 7 例;年龄 60~74 岁,平均 65.6 岁;平均病程(14±8)年;疾病严重程度分级:ⅠA 级 11 例,ⅠB 级 10 例,Ⅱ级 4 例。对照组 25 例,男 16 例,女 9 例;年龄 63~72 岁,平均 64.5 岁;平均病程(15±7.6)年;疾病严重程度分级:ⅠA 级 10 例,ⅠB 级 12 例,Ⅱ级 3 例。两组性别、年龄、病程、病情等资料均相似( $P > 0.05$ ),具有可比性。

## 2 治疗及观察方法

2.1 治疗方法:两组患者均维持原止咳化痰、解痉平喘等常规治疗。治疗组加止咳清肺口服液 20ml,每日 3 次。该口服液由本院药剂科生产,批准文号:沈联字(2001)BP52085 号。每 10ml 含金银花 1.67g、黄芩 1.67g、连翘 0.83g、板蓝根 1.67g、款冬花 0.67g、紫菀 0.67g、鱼腥草 0.83g、桔梗 0.83g、麻黄 0.50g、枇杷叶 0.83g、黄芪 1.67g、甘草 1.67g。两组均治疗 6 周。

2.2 临床观察指标:根据 COPD 三大主要症状咳嗽、咳痰、气促的严重程度不同作症状计分,0 分为无咳嗽;1 分为轻度咳嗽,次数  $\leq 10$  次/天,夜间不咳嗽,不影响工作;2 分为中度咳嗽,10~20 次/天,夜间也咳嗽,影响工作;3 分为重度咳嗽,21~30 次/天,严重影响工作,不能入睡。

2.3 肺功能指标测定:测定 1 秒钟用力呼吸容积(FEV<sub>1</sub>)占预计值百分比/用力肺活量(FVC)的比率。

· 中国人民解放军第四六三医院呼吸科、药剂科,辽宁省沈阳市大东区小河沿路 16 号(110012)

收稿日期:2001-11-25;修回日期:2005-01-17

2.4 痰液炎症细胞计数和分类、痰液白细胞介素 8 (IL-8) 及肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 的检测: (1) 痰液诱导和处理方法: 参考文献[2]的方法。受试者于肺功能测定后用凉开水漱口, 在室温下雾化吸入 3.5% 高渗盐水, 5 分钟后深咳痰液, 此后每 3 分钟深咳 1 次, 共 20~30 分钟, 要求收集的痰液不少于 1ml。治疗组治疗前后每例患者收集的痰液量为 (3.2 $\pm$ 1.0)ml、(3.2 $\pm$ 1.2)ml, 对照组治疗前后每例患者收集的痰液量为 (3.2 $\pm$ 1.2)ml、(3.2 $\pm$ 1.0)ml。收集痰液即刻取 1ml 无唾液成分的痰液放入离心试管中, 加磷酸盐冲液 3~5 倍稀释, 用力振荡 2~3 分钟, 再涡旋振荡 1~2 分钟, 使其均匀, 4 $^{\circ}$ C 3500 转/分钟离心 20~30 分钟, 留取上清液于 -70 $^{\circ}$ C 冻存待测。另取 1ml 痰液, 用含 1% 二硫苏糖醇 (DTT) 的 2ml 罕代平衡液 (HBSS) 稀释, 轻轻振荡, 然后 1000 转/分钟离心 10 分钟, 弃上清液, 用 HBSS 冲洗细胞沉淀物成细胞悬液, 倍比稀释后在血细胞计数器上行总细胞计数, 再取少量细胞悬液制成涂片, 吉姆萨染色, 行细胞分类检查。每一低倍视野内鳞状上皮细胞数少于 10 个为合格痰标本。(2) 痰液 IL-8、TNF- $\alpha$  水平测定: 采用放射免疫法, 试剂盒购自北京东亚生物技术研究, 按试剂盒操作说明书进行测定。

2.5 统计学方法: 两组患者基础情况比较采用两样本均数的  $t$  检验, 每组患者治疗前后各观察指标的比较采用自身对照配对  $t$  检验。

### 3 治疗结果

3.1 两组治疗前后临床症状计分、肺功能变化比较: 表 1 示, 治疗组治疗后临床症状计分和肺功能自身比较均有明显改善 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 而对照组无明显变化。表明止咳清肺口服液对改善临床症状和

表 1 两组治疗前后临床症状计分和肺功能变化比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 时间  | 例数 | 临床症状计分(分)                  | FEV <sub>1</sub> (L)        | FEV <sub>1</sub> /FVC(%)       |
|-----|-----|----|----------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| 治疗组 | 治疗前 | 23 | 5.3 $\pm$ 0.1              | 1.7 $\pm$ 0.2               | 58.03 $\pm$ 10.50              |
|     | 治疗后 | 23 | 5.0 $\pm$ 0.2 <sup>*</sup> | 1.9 $\pm$ 0.1 <sup>**</sup> | 63.60 $\pm$ 10.90 <sup>*</sup> |
| 对照组 | 治疗前 | 23 | 1.9 $\pm$ 0.1              | 1.8 $\pm$ 0.1               | 57.06 $\pm$ 10.40              |
|     | 治疗后 | 23 | 4.6 $\pm$ 0.2              | 1.8 $\pm$ 0.1               | 60.70 $\pm$ 9.10               |

与本组治疗前比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

肺功能有一定疗效。

3.2 两组治疗前后痰液细胞计数分类和 IL-8、TNF- $\alpha$  变化比较: 表 2 示, 治疗组治疗后细胞总数、细胞分类和 IL-8、TNF- $\alpha$  与治疗前相比, 差异有显著性 ( $P < 0.01$ ), 表明止咳清肺口服液治疗 COPD 气道慢性炎症疗效显著。

3.3 毒副作用: 50 例受试者中, 3 例第 2 周、第 4 周因受寒出现 COPD 急性发作而终止试验, 1 例自行中途放弃试验, 46 例完成试验 (治疗组 23 例, 对照组 23 例)。治疗期间除 5 例诉腹胀外, 未发现其他副作用。

### 4 讨论

COPD 的两个特征包括慢性气道阻塞和慢性气道炎症, 而气道炎症以中性粒细胞浸润为主, IL-8 是中性粒细胞重要的趋化因子和活化因子, 它可作为最主要的气道炎症标志物之一, 在非特异性 COPD 患者支气管肺泡灌洗液 (BALF) 和诱导痰液中的 IL-8 浓度明显高于正常人<sup>[3]</sup>。文献报道, COPD 患者痰液中 TNF- $\alpha$  浓度增高<sup>[4]</sup>。本组检测结果与文献报道一致。在 COPD 气道炎症中, TNF- $\alpha$  能诱导血管内皮细胞表达黏附分子, 并能诱导气道上皮细胞和中性粒细胞生成 IL-8<sup>[4]</sup>。此外, TNF- $\alpha$  尚能增强中性粒细胞的细胞外蛋白分解作用, 并能促进炎症反应。IL-8、TNF- $\alpha$  和中性粒细胞是构成 COPD 气道炎症的复杂的炎症细胞, 是细胞因子网络的重要成分, 能相互促进, 加速局部炎症的发生发展。COPD 无论在急性发作期或稳定期抗炎治疗都是非常重要的。研究表明, 止咳清肺口服液中金银花有退热、消炎、镇痛功效, 能增强机体免疫功能; 鱼腥草入肺经, 祛痰镇咳, 能兴奋网状内皮系统, 促进白细胞对炎症细胞的吞噬; 板蓝根清热解毒; 枇杷叶、款冬花止咳平喘, 清热化痰; 麻黄、桔梗相伍具有发汗解表, 宣肺平喘之功, 甘草与之相配, 能祛邪而无发汗太过之弊, 诸药相伍, 则风热得消散, 肺气得以宣畅, 咳自去。但 COPD 多见于老年人, 病史长, 多有营养不良, 免疫功能低下, 经常应用抗生素易发生菌群失调, 诱发霉菌感染等。本方中黄芪为补气要药, 具有补中益气, 益卫固表的作用。现代药理研究表明, 黄芪具有增强机体免疫功能及抗菌抗病毒作用。紫菀则助黄芪之

表 2 两组治疗前后痰液细胞计数分类和 IL-8、TNF- $\alpha$  变化比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 时间  | 例数 | 细胞总数 ( $\times 10^3/L$ )         | 细胞分类                          |                              | IL-8 ( $\mu g/L$ )             | TNF- $\alpha$ ( $\mu g/L$ )   |
|-----|-----|----|----------------------------------|-------------------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
|     |     |    |                                  | nN                            | PMN                          |                                |                               |
| 治疗组 | 治疗前 | 23 | 358.40 $\pm$ 51.48               | 0.71 $\pm$ 0.08               | 0.78 $\pm$ 0.09              | 17.20 $\pm$ 2.15               | 2.76 $\pm$ 0.31               |
|     | 治疗后 | 23 | 345.20 $\pm$ 12.57 <sup>**</sup> | 0.71 $\pm$ 0.06 <sup>**</sup> | 0.72 $\pm$ 0.08 <sup>*</sup> | 15.66 $\pm$ 2.06 <sup>**</sup> | 2.11 $\pm$ 0.10 <sup>**</sup> |
| 对照组 | 治疗前 | 23 | 346.60 $\pm$ 39.70               | 0.72 $\pm$ 0.63               | 0.80 $\pm$ 0.08              | 18.39 $\pm$ 2.04               | 2.69 $\pm$ 0.33               |
|     | 治疗后 | 23 | 350.16 $\pm$ 12.50               | 0.72 $\pm$ 0.56               | 0.79 $\pm$ 0.10 <sup>*</sup> | 18.11 $\pm$ 1.76               | 2.69 $\pm$ 0.21               |

与本组治疗前比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; nN: 非中性粒细胞, 包括巨噬细胞和少量淋巴细胞与嗜酸细胞, PMN: 中性粒细胞

力,增强机体免疫力,防止发生菌群失调。我们通过给 COPD 患者口服中药止咳清肺口服液,检查痰液中性粒细胞、IL-8、TNF- $\alpha$  的变化来评价中药治疗 COPD 慢性炎症的作用。结果表明,治疗组应用止咳清肺口服液后临床症状、肺功能指标均显著改善( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),而对照组治疗前后变化不明显。痰液中细胞总数、中性粒细胞和 IL-8、TNF- $\alpha$  水平与治疗前比均明显降低( $P<0.01$ )。

#### 参考文献

1 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组.慢性阻塞性肺疾

病诊断指南.中华结核和呼吸杂志,2002,25(8):453~460.

- 2 Keatings VM, Collins PD, Scott DM, et al. Differences in interleukin 8 and tumor necrosis factor- $\alpha$  in induced sputum from patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma. Am J Respir Crit Care Med, 1996, 153(2): 530~534.
- 3 Rutgers SR, Timens W, Kaufmann HF, et al. Comparison of induced sputum with bronchial wash, bronchoalveolar lavage and bronchial biopsies in COPD. Eur Respir J, 2000, 15(1): 109~115.
- 4 Griffiths CE, Voorhees JJ, Nickoloff BJ. Characterization of intercellular adhesion molecular-1 and HLA-DR expression in normal and inflamed skin: modulation by recombinant gamma interferon and tumor necrosis factor. J Am Acad Dermatol, 1989, 20(4): 617~629.

## 旱黑口服液延缓皮肤组织衰老的作用

丁玉琴\* 刘萍\*

旱黑口服液是由墨旱莲和黑豆组成,主要有养肝益肾、凉血止血的功效,《本草纲目》记载墨旱莲乌须发,益肾阴,味甘、酸、寒。归肾、肝经,临床观察其有抗衰老作用。我们采用 D-半乳糖衰老模型小鼠观察了旱黑口服液对皮肤衰老相关指标的影响。现将结果报告如下。

#### 1 材料

墨旱莲、黑豆购于河南省南阳市医药公司,由南阳医学高等专科学校药剂教研室制备成旱黑口服液;D-半乳糖购于上海恒信制药厂,批号 20010218,用灭菌的生理盐水配成 5% 浓度,丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶、超氧化物歧化酶(SOD)、羟脯氨酸检测试剂盒以及蛋白定量试剂盒均由南京建成生物制品研究所生产。6~8 周龄昆明种小鼠,体重(22±2)g,雌雄兼用,由南阳医学高等专科学校实验动物中心提供。饲养环境安静,室温(20±1)℃,自然照明。

#### 2 方法

2.1 旱黑口服液的制备:旱黑口服液是由墨旱莲、黑豆按比例组方,煎制、过滤、浓缩至 1g/ml 的水煎剂(以生药计,下同),高压灭菌,4℃ 冰箱保存备用。

2.2 动物分组、造模及给药:取昆明种小白鼠 50 只,称重随机分成 5 组,每组 10 只。分空白对照组、造模组、旱黑口服液高浓度组、旱黑口服液中浓度组、旱黑口服液低浓度组。空白对照组、造模组每日生理盐水 0.5ml 灌胃;旱黑口服液高浓度组每日旱黑口服液 20g/kg 灌胃、旱黑口服液中浓度组每日旱黑口服液 10g/kg 灌胃、旱黑口服液低浓度组每日旱黑口服液 6g/kg 灌胃。除空白对照组每天给予 0.9% NaCl 溶液 0.3ml 颈背部皮下注射;其余各组均给予 5% D-半乳糖 0.3ml 颈背部皮下注射。连续给药 42 天,自由取食,饮用自来水,室温保持(20±1)℃,自然光照下饲养。

2.3 标本取材方法:在末次给药造模干预 2 小时后,断头处死动物,取全血,取背部皮肤去除皮下脂肪和其他结缔组织分 3 部分,(1)皮肤组织块 100mg 左右,经预冷生理盐水漂洗,拟作皮肤组织匀浆用。(2)用 1:1 丙酮-乙醚脱脂,切碎晾干,精密称取

200mg。拟作羟脯氨酸含量的测定。(3)取两肩胛间区皮肤 1cm×2cm 做组织切片用。

2.4 皮肤组织 SOD、MDA、GSH-Px 酶测定:参照试剂盒说明书方法步骤测定。取经预冷生理盐水漂洗并以滤纸拭干的组织块 100mg 左右,用眼科剪剪碎组织块后倒入匀浆器中,量取该组织块 9 倍重量预冷生理盐水,先取少量倒入装有组织块内切式匀浆中,约匀浆 15 分钟(在冰水中进行),然后将余下的生理盐水加入,制成 10% 的组织匀浆。

2.5 小鼠皮肤切片:每只小鼠在背部肩胛之间去毛取一块皮肤约 1cm×2cm,用 20% 的甲醛溶液固定,HE 染色切片,在显微镜下进行皮肤组织观察。

#### 3 结果

3.1 旱黑口服液对衰老小鼠皮肤组织中抗氧化指标的影响:结果显示,模型组与空白对照组比较皮肤中 MDA 明显升高( $P<0.01$ ),SOD、GSH-Px 活性、羟脯氨酸含量减少( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ ),提示造模成功。旱黑口服液中、高剂量组使衰老小鼠皮肤中 SOD、GSH-Px 活性、羟脯氨酸的含量升高,MDA 含量降低( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ )。提示旱黑口服液有较强的抗氧化和清除自由基、有延缓皮肤衰老的作用(相关资料略)。

3.2 组织切片结果:镜下可见,模型组小鼠皮肤变薄,表皮角化上皮角缩短,真皮层成纤维细胞数目减少,汗腺、皮脂腺、毛囊萎缩,数目减少。旱黑口服液组小鼠各剂量皮肤变厚,表皮角化上皮角延长,真皮层成纤维细胞数目增多,汗腺、皮脂腺、毛囊数目增多。提示旱黑口服液可明显对抗衰老模型小鼠的皮肤衰老。

#### 4 讨论

本实验采用的 D-半乳糖致小鼠衰老模型为抗衰老研究中常用的模型,结果稳定可靠,本实验亦证实了该模型可导致小鼠皮肤出现明显衰老。造模 2 周后我们观察到造模组小鼠行动迟缓,小鼠皮毛松散、无光泽;结果显示,造模组小鼠皮肤中 MDA 明显升高,SOD、GSH-Px 活性降低,羟脯氨酸含量和成纤维细胞数目减少。而经过旱黑口服液治疗后衰老小鼠皮毛浓密光亮。皮肤抗氧化测试中 SOD、GSH-Px 活性降低,其中高剂量组的作用尤为明显( $P<0.01$ ),说明旱黑口服液有较强的抗氧化和清除自由基的作用,同时还可以刺激皮肤成纤维细胞活性,增加羟脯氨酸含量,促进胶原蛋白合成,延缓皮肤衰老。

\* 南阳医学高等专科学校,河南省南阳市车站南路 505 号(473058)

收稿日期:2005-06-06