

证的研究

外燥对小鼠气管上皮纤毛运动与呼吸道液分泌的影响

丁建中¹ 张六通² 邱幸凡² 龚 权¹ 朱慧玲¹ 王 超¹ 张 渊¹ 谭联惠¹

摘要 目的:观察外燥对小鼠气道组织、气管纤毛运动(CM)与呼吸道液黏多糖(RS)的影响。方法:72只无特定病原体(SPF)级昆明小鼠随机分为常温常湿组、常温燥组、温燥组、凉燥组,每组18只。第7天与第14天检测病理组织学、CM和RS情况。结果:温燥组小鼠第14天气管上皮鳞状化生、气管纤毛片状缺损、肺泡瘀血、水肿等较第7天加重,约40%浆液腺上皮黏液腺化生;凉燥组小鼠气道病变比温燥组略轻,约20%浆液腺上皮黏液腺化生。与常温常湿组比较,温燥组小鼠第7天与第14天CM加快,第7天RS增高但第14天减缓($P<0.01$);凉燥组小鼠第7天RS减少,第14天升高且CM加快($P<0.01$)。结论:温燥通过损伤气道纤毛-黏液毯屏障、腺体结构而致肺津生成减少与宣输失司,是燥咳的重要病机之一。凉燥组小鼠RS增加与CM加快,与凉伤肺阳而致肺津不化,凝成痰饮有关。CM与RS可为研究外燥病机提供量化指标。

主题词 燥邪 纤毛 葡萄糖氨基聚糖类

Effects of External-Dryness on Ciliary Movement of Tracheal Epithelium and Secretion of the Respiratory Airway in Mice

Ding Jianzhong¹, Zhang liutong², Qiu Xingfan², et al.

(1. Medical School of Yangtze University, Hubei 434000; 2. Hubei College of TCM)

Objective: To investigate effects of external-dryness on the tissue of air-way, tracheal ciliary movement (CM) and mucoitin secretion of the respiratory tract in mice. **Methods:** Seventy-two Kunming mice of specific-pathogen free (SPF) were randomly divided into 4 groups, including normal temperature-damp group, normal temperature-dryness group, warm-dryness group and cool-dryness group, 18 mice in each group. Histopathology, CM and mucoitin secretion were detected on the 7th and 14th days. **Results:** The patchy hyperplasia and loss of cilia on tracheal epithelium, alveolar congestion and edema on the 14th day were more severe than those on the 7th day with hyperplasia of about 40% of the serous gland; Pathological changes of the air-way in cool-dry group were milder with hyperplasia of about 20% of the serous gland. Compared with the normal temperature-damp group, CM was speeded on the 7th and the 14th days, and mucoitin secretion was increased on the 7th day and decreased on the 14th day in warm-dryness group ($P<0.01$). In cool-dryness group, mucoitin secretion decreased on the 7th day and increased on the 14th day with CM speeded ($P<0.01$). **Conclusion:** Warm-dryness injures the cilia-mucosa barrier of the air-way and structures of the gland and induces decrease of lung fluid production and failure in the dispersing function of the lung, which is an important pathogenesis of dry-cough. In cool-dryness group, increase of mucoitin secretion and quickening of CM are related with injury of lung-yang by cool-dryness, coagulating as phlegm-yin. CM and mucoitin secretion may provide quantitative indexes for study on pathogenesis of external-dryness.

Key Words Dry pathogen; Cilia; Gucosaminoglycans

完整地模拟某个季节气候和变化以研究其与疾病的关系是困难的,选择一个较小的时间段如一个季节,结合多学科理论与技术为研究的有效途径之一^[1]。近年来,从气象因素、生物致病因子和机体反应性等研究风、寒、湿、火(热)等病邪,显示确有其物质基础,有的已达分子水平^[2]。有关燥邪病因病机理论与燥证辨证论治的文献零散,至今未见外燥病机实验研究报道。本研究模拟外燥环境对小鼠气道组织、气管上皮纤毛运

动和呼吸道液分泌的影响,以期阐析外燥病机提供基础资料,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂:LRH-250 人工智能气候箱[温度(30 ± 1)~(65 ± 1)℃,相对湿度($30\%\pm 5\%$)~($90\%\pm 5\%$),广东医疗器械厂];MASTER-K 30H 风扇程控仪(韩国 Best 机电有限公司);XSJ-D 恒温倒置显微镜(重庆显微镜厂);CS501 超级恒温器(重庆实验仪器厂);756MC 紫外分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);咔唑(批号:054K 078, Sigma 公司);D-葡萄糖醛酸内酯(批号:2711EC, Sigma 公司);四硼酸钠与台氏液试剂(分析纯,批号:050108,上海精细化工科技有限公司),台氏液临用时新配^[3]。

基金项目:湖北省自然科学基金资助项目(2004ABA185)

1 长江大学医学院分子生物研究中心,湖北省荆州市江汉路 55

号(434000)(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2 湖北中医学院

收稿日期:2005-09-19;修回日期:2005-11-27

1.2 动物模型制备:无特定病原体(SPF)级昆明小鼠72只,体重(18 ± 1)g,雌雄各半,由湖北省实验动物研究中心提供,许可证号:SCXK(鄂)2003-2005。将动物随机分为常温常湿组、常温燥组、温燥组、凉燥组,每组18只,置人工智能气候箱内常规饲养,按表1模拟外燥“温度—相对湿度—风”条件进行造模。各组第7天与第14天检测病理组织学、气管纤毛运动(CM)和呼吸道液黏多糖(RS)情况,检查前4小时禁食、禁水。

表1 各组小鼠“温度—相对湿度—风”处理条件

组别	例数	温度(℃)	相对湿度(%)	风速(m/s)	处理时间/天(h)
常温常湿组	18	15 ± 2	70 ± 2	2.5	5
常温燥组	18	15 ± 2	33 ± 2	2.5	5
温燥组	18	22 ± 2	33 ± 2	2.5	5
凉燥组	18	8 ± 2	33 ± 2	2.5	5

1.3 病理组织学观察:断颈处死小鼠,分别无菌取气管1.5cm、右肺中部组织(80 ± 10)mg置10%甲醛固定,梯度脱水,石蜡切片(4μm),常规HE染色,光镜下观察组织学变化。

1.4 CM试验:参照文献[3]方法。断颈处死小鼠,从喉头向下取气管1.5cm,置于通O₂的新配台氏液中,剪取气管0.5cm并纵向切开,斜放于经37℃台氏液湿润的薄层医用脱脂棉上,将长0.05cm红色细丝(直径0.15mm)置于气管标本上,倒置玻片,用带刻度的倒置显微镜观察细丝移动1mm所需时间(26℃,min/mm)。每观察1次后,将气管标本放入37℃台氏液中漂洗1次,每个标本连续观察2次,取平均值。

1.5 RS测定:断颈处死小鼠并暴露气管,从喉头处行气管插管,缓慢推注37℃预温的生理盐水1ml,回抽此液,重复2次,离心取上清液,2小时内用咔唑比色法检测^[3]。每份标本分为2个稀释度,每个稀释度测定2次,取平均值。用3mmol/L氯化钠将D-葡萄糖醛酸内酯储存标准液稀释成25~300μg/ml并制作标准曲线。

1.6 统计学方法:实验数据以平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用SPSS13.0软件,资料之间比较用ANOVA分析,显著性检验采用多个样本均数间q检验

(Newman-Keuls法);各组第7天与第14天比较用t检验, $P<0.05$ 为差异有显著性,检验水准为双侧 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 病理组织学检查结果:常温常湿组小鼠第7天与第14天气管组织与肺泡结构正常。常温燥组小鼠第14天气道上皮纤毛点状缺损,肺部轻度充血。温燥组小鼠第14天气管上皮鳞状化生、纤毛片状缺损、中性粒细胞与淋巴细胞浸润等较第7天加重,约40%浆液腺上皮黏液腺化生,有肺泡瘀血与炎性病灶。凉燥组小鼠第7天肺泡轻度瘀血,第14天气管上皮出现鳞状化生、纤毛呈灶状缺损,约20%浆液腺上皮黏液腺化生,肺部明显瘀血、水肿。

2.2 外燥对CM与RS的影响:表2示,与常温常湿组比较,常温燥组小鼠第7天RS增高而第14天降低,第7天与第14天CM加快($P<0.05$ 或 $P<0.01$);温燥组小鼠第7天RS显著增高,同期CM加快,第14天RS明显下降,CM亦减缓($P<0.05$);凉燥组小鼠第7天RS降低而第14天增加,第14天CM快于第7天($P<0.01$),显示外燥均致RS生成障碍与CM加快。温燥组与凉燥组结果还显示,RS增多时CM加快,反之则CM减缓。

3 讨论

根据气象学中“候平均气温”,以平均气温10~20℃为春、秋季节,用“季平均温度”,以10月份的平均气温为秋季温度。我们提出,以平均气温15℃和相对湿度(70 ± 2)%为常温常湿气候,(22 ± 2)℃为温燥气候,(8 ± 2)℃为凉燥状态(“凉次于寒”);取相对湿度(33 ± 2)%模拟秋季干燥气候,人工外燥环境中模拟风速定为2.5米/秒。研究结果显示,常温燥与温燥环境可致小鼠不同程度的气管上皮鳞状化生、纤毛缺损与中性粒细胞浸润、约40%浆液腺上皮黏液腺化生、肺泡瘀血、水肿等病理改变,以温燥环境为重,并与处理时间相关;凉燥组小鼠气道组织学病理改变略轻于温燥组,上述结果为模拟外燥气候条件与外燥致病提供组织学基础。

呼吸道腺体及杯状细胞分泌的呼吸道液内含黏蛋

表2 外燥对小鼠CM与RS的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	CM(min/mm)		RS(μg/ml)	
		第7天	第14天	第7天	第14天
常温常湿组	9	17.56 ± 1.96	17.89 ± 1.96	513.77 ± 243.67	544.89 ± 227.88
常温燥组	9	$14.63\pm 3.07^{\triangle}$	$10.44\pm 2.93^{**\triangle\triangle}$	534.67 ± 172.35	430.67 ± 251.69
温燥组	9	13.56 ± 1.74	$15.75\pm 2.46^{*\blacktriangle}$	$846.11\pm 287.70^{\triangle\blacktriangle}$	$342.22\pm 107.91^{**\triangle}$
凉燥组	9	$15.61\pm 3.17^{\triangle\triangle}$	$13.77\pm 1.06^{\triangle\triangle\blacktriangle\blacktriangle}$	$333.89\pm 58.36^{\triangle\blacktriangle\blacktriangle\blacktriangle}$	$620.83\pm 208.57^{\triangle\blacktriangle\blacktriangle\blacktriangle}$

与本组第7天比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与常温常湿组同时段比较, $\triangle P<0.05$, $\triangle\triangle P<0.01$;与常温燥组同时段比较, $\blacktriangle P<0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P<0.01$;与温燥组同时段比较, $\nabla P<0.05$, $\nabla\nabla P<0.01$

白,主要为黏多糖和蛋白质,覆盖于黏膜表面,与气道上皮纤毛组成“纤毛—黏液毯”,以湿润气道黏膜,保护气管上皮纤毛运动,也是气道重要防御屏障之一。津液是人体“正气”之组成部分,故伤津耗液可损“正气”,以致组织细胞功能受损,甚至形态结构改变^[1]。与常温常湿组比较,温燥组小鼠第 7 天 CM 明显加快,RS 增加 1.6 倍,表明早期通过气道黏液分泌代偿性增加,以促进纤毛“摆动”而加速排出局部有害物质;温燥组小鼠第 14 天 RS 较第 7 天减少 40%,且 CM 仍较快,可能是温燥环境下,促使大量汗出,气随津泄,肺卫失和,合以燥邪相感而致 RS 明显减少,显现“津耗且干”之特点;气道纤毛失去黏液之保护作用而使“纤毛—黏液毯”防御屏障严重受损,同期病理组织学检查显示气道上皮纤毛片状缺损与局部炎症病变,也与刺激气管纤毛运动加快有关。温燥耗伤肺津并损伤气道“纤毛—黏液毯”屏障,可致局部御邪功能下降,损伤气道腺体结构而致肺津生成减少,肺部瘀血、水肿表明肺之宣发肃降失司,可能是燥咳的重要病因病机之一。本结果也为阐释燥证之气逆喘急、胸闷干咳、口鼻干燥诸症提供了病理组织学资料。

与常温常湿组比较,凉燥组小鼠第 7 天 RS 减少 35%、CM 稍快,显示凉燥早期气道黏液分泌功能受损,具“津少”之特点,病理组织学检查显示约 20%气道浆液腺上皮黏液腺化生;凉燥组小鼠第 14 天 RS 比

第 7 天增加 1.9 倍且 CM 加快,其机理可能是凉可伤肺阳而致肺津不化,凝聚成痰饮,故气道液明显增加,气道纤毛运动加快与“凉凝”之气道黏液的病理性刺激有关,同期病理组织学检查也显示肺部瘀血、水肿明显,似可解释凉燥者多有咳嗽稀痰等症。文献报道,冷空气、干燥空气等可刺激气道反应性增高,当气道上皮损伤,暴露出 C 纤维传入神经末梢并受炎症刺激引起局部轴突反射,释放感觉神经肽,如 P 物质、神经激肽等,引起支气管平滑肌收缩、血管通透性增强、黏液分泌增多等^[5]。

本研究结果显示,因为 RS 与呼吸道液分泌呈正相关,故测定 RS 可为临床检测患者呼吸道分泌功能和秋燥咳嗽诸证之辨证论治提供检测方法。综合测定 RS 与 CM 可为研究外燥病机和治疗外燥经典方作用机制与药物归经理论等提供量化检测指标。

参考文献

- 1 李建军,郭霞珍.从运气学说分析冬季气象与疾病发生的相关性.中国中医基础医学杂志,2005,11(2):86~87.
- 2 张六通,梅家俊,黄志红,等.外湿致病机理的实验研究.中医杂志,1999,40(8):496~498.
- 3 徐叔云,卞如谦,陈修,等.药理学实验方法.第 3 版.北京:人民卫生出版社,2002:1360~1361.
- 4 汤毅.伤津证与生津法初探.中医杂志,2005,46(8):628~629.
- 5 陈灏珠主编.实用内科学.下册.第 11 版.北京:人民卫生出版社,2001:1559~1561.

石家庄炎黄针灸推拿专修学校招生

石家庄炎黄针灸推拿专修学校具有雄厚的师资力量,办学独具特色。(1)高级中医针灸师培训班:学期 4 个月,全日制,每年 3 月 1 日、7 月 1 日、11 月 1 日开学。课本用大专统一教材的针灸学、推拿学、中医基础、中医诊断、解剖学。针法有腹针、眼针、火针、舌三针、锋针、梅花针、头皮针,学会为止。(2)高级针灸师进修班:学期 15 天,每月 10 日开学。讲授腹针、火针、舌三针、锋针、头皮针技法,重点讲授治疗高血压、半身不遂、针灸减肥、肠炎、胃炎、结肠炎、头痛、妇科病、皮肤病、手足病、更年期综合征。(3)按摩师资格等级培训班:学期 1~2 个月,全天上课,每月 1 日开学,中级班学费 400 元,高级班学费 600 元。考试合格颁发国家统一印制的等级资格证书及河北省卫生厅中医按摩师上岗证书。(4)手诊班、小儿推拿班。

地址:河北省石家庄市桥西区西三教广平街 69 号炎黄针灸推拿专修学校,电话:(0311) 8872897,7894902,网址:www.yhzhzenjiu.com

《黄帝内经》纪录片征订启事

《黄帝内经》是一部全面记录中华民族生息繁衍、医学发展的经典巨著。《黄帝内经》纪录片以故事化的方式,全面系统地介绍了《黄帝内经》的全部内容。医史篇 8 张碟 160 元;医理篇 11 张碟 198 元;养生篇 11 张碟 198 元。内容丰富、生动、形象,它记录了中国历史上与养生有关的孔子、孙思邈、陶弘景等名家名医;记录了针灸、推拿、艾灸等诊疗技术;记录了祖国各地的风土民情和水、酒、茶、饮食、起居与人体健康的历史故事。(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic

电话:(010) 64014411-3041,联系人:浦战兵,地址:北京市东城区东直门内南小街 16 号中医杂志社医海林音像书店,邮编:100700

中医药传媒网 继续医学教育项目学习通知

中医药传媒网是国家中医药管理局指定的中医远程继续教育网。经国家中医药管理局继续教育委员会批准(国中医药继教委 2006-1 号文件),中医药传媒网 2006 年开展 42 项继续医学教育项目。依托丰富的医学教育资源与先进的网络优势,中医药传媒网为全国中医药卫生工作人员提供先进、实用、标准、规范的教育服务。课程设置涉及中医基础学、中医临床学、中西医结合医学、民族医学等各个学科,突出中医和中西医结合的特色优势。授课师资主要来自中国中医科学院、中国中医科学院广安门医院、中国中医科学院望京医院、北京中医药大学、北京中医药大学东直门医院、北京中医医院、中日友好医院、中国人民解放军海军总医院等单位具有多年临床工作经验的专家。学员可根据自身安排通过卫星专网或互联网学习,避免长期困扰中医医护人员的工学矛盾。修完课程后将授予国家级继续医学教育 I 类学分。

详情请登陆 <http://www.tcm-t.cn>,或致电 010-64172381/5281-825/830;联系人:马彦茹、孙灵利;地址:北京市朝阳区幸福一村 55 号国家中医药管理局机关服务局 4 层;邮编:100027。

欢迎邮购中医四大经典、四大基础光盘(VCD)

中医药经典著作四大经典:《内经》、《伤寒论》、《金匮要略》、《温病学》VCD 光盘,定价:2300 元/套;四大基础课:《中医基础理论》、《中医诊断学》、《中药学》、《方剂学》VCD 光盘,定价:2300 元/套。

汇款地址:北京市东直门内南小街 16 号中医杂志医海林音像书店,邮编:100700。电话:010-64035632。