

清肺理痰方各有效成分组对脂多糖诱导的 急性肺损伤大鼠的影响

刘官斌, 潘俊辉*, 王鹏, 李航

(广州医科大学附属第一医院, 广州 510120)

[摘要] **目的:**研究清肺理痰方各有效成分组对急性肺损伤大鼠的影响及可能的作用机制。**方法:**SD大鼠随机分为正常对照组、模型组、地塞米松组、清肺理痰方水提取物组、乙醇提取物组、石油醚萃取物组、乙酸乙酯萃取物组、正丁醇萃取物组、残余水层组;用以上中药复方各有效成分组预防性给药,采用气管内注入脂多糖致大鼠急性肺损伤;观察造模前后大鼠的一般情况;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清中白介素(IL)-1 β 、肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白介素(IL)-6的水平;光镜下观察肺组织病理变化;免疫组织化学技术观察大鼠肺组织中核因子 κ B(NF- κ B)p65蛋白表达情况。**结果:**与正常对照组比较,模型组大鼠肺组织呈现典型的炎症病理特征,肺组织损伤明显,肺湿/干重比、血清中IL-1 β 、TNF- α 、IL-6含量及肺组织中NF- κ B p65蛋白表达明显升高($P < 0.01$)。与模型组比较,清肺理痰方各有效成分组、地塞米松组肺组织病理损伤有不同程度地减轻,肺湿/干重比、血清中IL-1 β 、TNF- α 、IL-6含量及肺组织中NF- κ B p65蛋白表达出现不同程度的降低,其中以水提取物组和乙醇提取物组降低最明显($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),与地塞米松组疗效相当。**结论:**中药复方清肺理痰方各有效成分组可不同程度地减轻内毒素致急性肺损伤大鼠的病理损害,其机制可能通过抑制NF- κ B信号转导通路,进而减少细胞因子(如IL-1 β 、TNF- α 、IL-6)分泌以减轻脏器组织损伤,其中以水提取物组和乙醇提取物组疗效最明显。

[关键词] 清肺理痰; 脂多糖; 急性肺损伤; 细胞因子; 核因子 kappa B

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)15-0154-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014150154

Effects of Effective Component Groups of Qingfei Litan Prescription on Acute Lung Injury Rats

LIU Guan-bin, PAN Jun-hui*, WANG Peng, LI Hang

(The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510120, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of effective component groups of Qingfei Litan prescription on the acute lung injury in rats. **Method:** SD rats were randomly divided into nine groups: normal control group, model group, dexamethasone group, water extraction group, ethanol extraction group, petroleum ether extraction group, ethyl ether extraction group, *n*-butanol extraction group, residual water layer group. Acute lung injury model of rats was induced by intratracheal injection of lipopolysaccharide (LPS). The general situation of the rats was observed. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect interleukin (IL)-1 β , tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin (IL-6) levels in serum. The pathological changes of lung tissue was observed in light microscopy. Nuclear factor-kappa B (NF- κ B) p65 protein expressions were measured by immunohistochemistry in lung tissue. **Result:** Compared with normal control group, the lung tissue showed typical pathological features of inflammation and damage evidently in model group. Lung wet/dry weight ratio, the levels of IL-1 β , TNF- α , IL-6 in serum, and the expressions of NF- κ B p65 protein was significantly higher ($P < 0.01$).

[收稿日期] 20140307(005)

[基金项目] 广州市科技计划项目(2012J4300068)

[第一作者] 刘官斌, 硕士, 医师, 从事中西医结合呼吸系统临床与科研, E-mail: liuguanbin0109@126.com

[通讯作者] * 潘俊辉, 教授, 硕士生导师, 主任医师, 从事中西医结合呼吸系统临床与科研, E-mail: pan-jh@163.com

Compared with the model group, effective component group of Qingfei Litan prescription and dexamethasone group show different degrees of mitigate trend in lung tissue damage, lung wet/dry weight ratio, the levels of IL-1 β , TNF- α , IL-6 in serum, and the expressions of NF- κ B p65 protein showed different degrees of mitigate trend, than water extraction group and ethanol extraction group had the most significant difference ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), and there was no significant difference compare with the dexamethasone group. **Conclusion:** The effective component groups of Qingfei Litan prescription can reduce pathological damage in the lung injury rats by LPS-induced. The mechanism may inhibit NF- κ B protein signal transduction pathways, thereby reducing the secretion of cytokines (such as IL-1 β , TNF- α , IL-6). The water extraction group and ethanol extraction group effect more obviously.

[**Key words**] Qingfei Litan; lipopolysaccharide; acute lung injury; cytokines; nuclear factor kappa B

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是机体遭受创伤、休克、严重感染等不利因素后,由多种效应细胞和炎性介质参与,表现为以弥漫性肺毛细血管膜损伤导致的肺水肿和微肺不张,临床以呼吸窘迫和顽固性低氧血症的综合征,急性肺损伤发病率较高,约为(17.9 ~ 18.9)/10万,其病死率高达30% ~ 40%^[1]。目前针对急性肺损伤的治疗仍无有效的措施,引起医学界广泛关注。对此,采用中医药进行干预成为可能。

急性肺损伤属于中医的“风温肺热病”、“咳嗽”、“喘证”等范畴,目前中医药对急性肺损伤的改善和修复是一个热点,既往类似研究均提示,部分中药有不同程度的修复与抗损伤作用^[2-4],其作用机制是多方面的。清肺理痰方源自《风温肺热病中医诊疗方案》,在痰热壅肺证型的方药基础上衍生而成,具有清热化痰、宣肺止咳的功效,在本课题前期的临床研究中疗效显著^[5],但具体机制尚不明确。本实验采用脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)来诱导大鼠发生急性肺损伤,用清肺理痰方各有效成分组与地塞米松组对比观察,以肺水肿情况、炎症因子水平以及核因子 κ B(NF- κ B)信号通路的蛋白表达情况,初步探讨清肺理痰方对急性肺损伤大鼠的影响以及可能的作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF级SD大鼠(雌雄各半),72只,200 ~ 220 g,由广东省医学实验动物中心提供,动物合格(许可)证号SCXK(粤)2008-0002,饲养于广州医科大学实验动物中心SPF级实验室。适应性喂养1周后开始实验。

1.2 试剂 脂多糖内毒素(*Escherichia coli*, 055: B5, Sigma公司)。白介素(IL)-1 β 试剂盒(批号T10011868)、肿瘤坏死因子(TNF)- α 试剂盒(批号S11011867)、白介素(IL)-6试剂盒(批号

T10011866)均购自武汉华美生物工程有限公司。NF- κ B蛋白一抗(购自Signalway Antibody公司,批号21010)。

1.3 药品 清肺理痰方(青天葵10 g,石膏30 g,瓜蒌皮15 g,黄芩15 g,浙贝母15 g,鱼腥草20 g,芦苇茎15 g,北杏仁10 g,桔梗15 g,甘草10 g),中药饮片购于广州医科大学附属第一医院。分为清肺理痰方水提取物组、乙醇提取物组、石油醚萃取物组、乙酸乙酯萃取物组、正丁醇萃取物组、残余水层组,实验前制成中药粉末,4℃冰箱备用。地塞米松磷酸钠注射液(河南润弘制药股份有限公司,批号为1306181)。

1.4 仪器 TC-15型套式恒温器(海宁市新华医疗器械厂),RE-5210型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),球形夹层锅(常熟市制药化工机械总厂有限公司),CT15RT型低温冷冻离心机(上海天美科学仪器有限公司),DG5033A型酶标仪(南京华东电子集团医疗装备有限责任公司),MC-1180型电子显微镜(广州粤显光学仪器有限公司),切片机(浙江金华科迪KD-202A)等。

2 方法

2.1 清肺理痰方各有效成分组的制备 ①以上处方量的30倍剂量及10倍体积的水放入夹层蒸气锅炉中煎煮2 h(石膏先煎30 min),过滤,滤渣加入8倍水再次煎煮2 h,合并滤液,减压浓缩,将浓缩的稠膏放入真空干燥箱中70℃干燥,得到清肺理痰方水提取物粉末1 094.07 g。②以上组方量的30倍剂量及10倍体积的70%的乙醇加入冷凝回流装置中,加热回流2 h,过滤,滤渣加8倍量70%的乙醇,再次加热回流2 h,过滤后合并滤液;用真空旋蒸仪回收乙醇,浓缩,量筒量取1/5体积的浓缩液,70℃真空干燥即得清肺理痰方醇提取物粉末170.42 g;③将②的剩余的4/5的浓缩液真空浓缩至无醇味,

从旋蒸仪取出,放入分液漏斗中,加水悬浮后,再加入等体积的石油醚萃取 3 次,旋蒸仪回收石油醚,将剩余的稠膏进行真空干燥,得到该清肺理痰方的石油醚萃取物粉末 54.02 g;④ 按照③的方法依次用乙酸乙酯、水饱和和正丁醇萃取,得到该方的乙酸乙酯萃取物粉末 35.22 g、正丁醇萃取物粉末 89.61 g;⑥ 将⑤中萃取后剩下的残余水层旋蒸至稠膏,并进行真空干燥,得到该方的残余水层粉末 655.38 g。

2.2 大鼠急性肺损伤模型的制备 参照文献[6]法制作急性肺损伤模型。大鼠经水合氯醛麻醉后,颈部消毒、备皮,无菌操作,暴露大鼠上段气管,经气管注入配置好的 $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 脂多糖溶液 0.2 mL。其中,正常对照组注入同等体积的生理盐水。

2.3 动物分组 SD 大鼠 72 只,按体重随机分为 9 组,每组 8 只动物,分别为:正常对照组,模型组,阳性对照组,清肺理痰方水提取物组,乙醇提取物组,石油醚萃取物组,乙酸乙酯萃取物组,正丁醇萃取物组,残余水层组。正常对照组做假手术处理,其余 8 组按上法制作急性肺损伤模型。

2.4 药物用量及给药方法 根据人与动物间药物剂量换算公式^[7],人类用中药总量(即 1 剂)为 $155 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1}$,按水提取物计算,经过提取后对应中药水提取物粉末为 36.47 g/剂,每只大鼠所对应的相对剂量为 $(36.47/60) \times 6.5$ (折算系数) = $3.95 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,根据预实验结果,最佳剂量为临床剂量的 2 倍,即 $7.90 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,以此推算出其他各中药有效成分组的用量,即醇提取物组 $6.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,石油醚萃取物组 $0.49 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,乙酸乙酯萃取物组 $0.32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,正丁醇萃取物组 $0.81 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,残余水层组 $5.92 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。适应性饲养 1 周后开始实验,正常对照组、模型组、阳性对照组以生理盐水和吐温(9:1)ig,其余各组分别灌以溶于生理盐水的相应药物和吐温(9:1),ig 总体积为 2 mL,每天 1 次,阳性对照组造模前 2 d 开始 ip 地塞米松注射液($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),每天 1 次,ig 10 d 后造模。按上述方法制作急性肺损伤模型。正常对照组气管内注入 0.2 mL 生理盐水。

2.5 标本采集 造模 12 h 后,用 10% 的水合氯醛($0.5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)过量麻醉处死大鼠,开腹后立即从腹主动脉采血,取 4 mL 全血装入促凝管分离血清留待做细胞因子含量测定;手术切取左肺做肺湿/干重比;切取右肺上肺浸泡在 4% 的多聚甲醛中,待做病理观察及免疫组化。

2.6 指标监测

2.6.1 一般情况观察 观察造模前后大鼠的神态、毛色、摄食、饮水、活动、呼吸等情况。

2.6.2 肺湿/干重比(W/D)的测定 取出左侧肺脏,滤纸吸干肺表面水分和血迹后称湿重(W),置干燥鼓风箱($80 \text{ }^\circ\text{C}$, $>20 \text{ h}$)烤至恒重,称干重(D),计算 W/D。

2.6.3 血清 IL-1 β , TNF- α , IL-6 检测 将以上装有全血的促凝管静置 1 h, $2500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,吸取上层血清分装到 EP 管中, $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 冻存待测。ELISA 双抗体夹心法测定血清 IL-1 β , TNF- α , IL-6 的含量,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。

2.6.4 肺组织病理观察 取右肺组织 4% 多聚甲醛固定,脱钙剂脱钙 72 h,逐级乙醇脱水,二甲苯透明、浸蜡,石蜡包埋,切成 $4 \text{ }\mu\text{m}$ 的薄片,苏木素-伊红(HE)染色。在光学显微镜下观察肺组织病理形态学改变。

2.6.5 检测肺组织中 NF- κ B 蛋白的表达 采用免疫组化 SABC 三步法。光镜下细胞核、细胞膜和细胞浆呈棕黄色为免疫组化结果阳性。应用 IPP6.0 病理图象分析软件测定各组免疫阳性产物的吸光度(A),每张切片随机测定 5 个视野,测其积分吸光度,取平均值代表上述指标的表达水平。

2.7 统计分析 实验数据采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况 正常对照组活动正常,一般状况良好,毛色光泽,进食、活动度、体重等较前无明显变化。造模 12 h 后,模型组大鼠普遍出现少动厌食、精神萎靡,体型略有消瘦、进食进水明显减少,体毛蓬松,毛色灰暗,鼻周可出现分泌物,呼吸急促,蜷曲于饲养笼角落,部分出现嗜睡(触之可醒),甚至可闻及呼吸喘鸣声。清肺理痰方各有效成分组及地塞米松组均出现不同程度的精神萎靡,体毛蓬松,蜷曲,呼吸急促,但未闻及喘鸣音,其中以水提取物组、醇提取物组及地塞米松组临床症状较轻微。

3.2 对急性肺损伤大鼠肺 W/D 的影响 模型组 W/D 与正常对照组比较显著升高($P < 0.01$),显现出明显的肺水肿现象;与模型组比较,清肺理痰方水提取物组、醇提取物组、石油醚萃取物组、正丁醇萃取物组肺湿/干重差异具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),其中水提取物组和醇提取物组下降最明显($P < 0.01$)。见表 1。

表1 清肺理痰方各有效成分组对急性肺损伤大鼠肺脏 W/D 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	肺脏 W/D
正常对照	-	3.86 ± 0.50
模型	-	4.72 ± 0.45 ¹⁾
地塞米松	0.005	3.94 ± 0.57 ³⁾
清肺理痰方水提取物	7.90	3.95 ± 0.48 ³⁾
清肺理痰方乙醇提取物	6.15	4.15 ± 0.38 ³⁾
清肺理痰方石油醚萃取物	0.49	4.24 ± 0.15 ²⁾
清肺理痰方乙酸乙酯萃取物	0.32	4.26 ± 0.17
清肺理痰方正丁醇萃取物	0.81	4.25 ± 0.28 ²⁾
清肺理痰方残余水层	5.92	4.30 ± 0.51

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,
³⁾ $P < 0.01$ (表2~3同)。

表2 清肺理痰方各有效成分组对急性肺损伤大鼠血清中 IL-1 β , TNF- α , IL-6 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	IL-1 β	TNF- α	IL-6
正常对照	-	23.19 ± 0.97	3.16 ± 0.51	384.37 ± 57.15
模型	-	38.78 ± 0.98 ¹⁾	5.20 ± 0.32 ¹⁾	570.37 ± 68.97 ¹⁾
地塞米松	0.005	26.50 ± 0.64 ³⁾	3.32 ± 0.57 ³⁾	391.50 ± 63.97 ³⁾
清肺理痰方水提取物	7.90	25.69 ± 0.81 ³⁾	3.69 ± 0.44 ³⁾	445.62 ± 146.11 ²⁾
清肺理痰方乙醇提取物	6.15	26.27 ± 1.06 ³⁾	3.83 ± 0.63 ³⁾	415.66 ± 132.39 ³⁾
清肺理痰方石油醚萃取物	0.49	38.12 ± 0.74	4.62 ± 0.48 ²⁾	492.98 ± 83.09
清肺理痰方乙酸乙酯萃取物	0.32	37.64 ± 0.80 ²⁾	4.53 ± 0.36 ²⁾	437.48 ± 88.50 ²⁾
清肺理痰方正丁醇萃取物	0.81	38.11 ± 0.87	4.71 ± 0.52	479.26 ± 134.19
清肺理痰方残余水层	5.92	38.12 ± 0.91	4.98 ± 0.62	508.51 ± 137.07

脱落的上皮细胞、红细胞和炎性细胞,有些肺泡有些代偿性扩张。阳性对照组、清肺理痰水提取物组、醇提取物组肺泡壁增厚不明显,泡腔清晰,炎性渗出明显减少,间质轻度水肿,局部毛细血管轻度扩张、充血。清肺理痰方石油醚组、乙酸乙酯组、正丁醇组、残余水层组较模型组病变稍有减轻,肺泡壁增厚、变形,肺泡间质有较多炎性细胞浸润,泡腔内有中等量红细胞渗出,但较模型组有所减轻。见图1。

3.5 各组大鼠肺组织 NF- κ B 蛋白的表达情况 模型组肺组织 NF- κ B 蛋白阳性表达较正常对照组明显升高($P < 0.01$);清肺理痰方水提取物组、乙醇提取物组、石油醚萃取物组、乙酸乙酯萃取物组及地塞米松组肺组织 NF- κ B 蛋白表达均较模型组表现出下降趋势($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),以水提取物组和醇提取物组下降最明显($P < 0.01$);正丁醇萃取组、残余水层组与模型组比较无统计学意义。见表3。

3.3 对急性肺损伤大鼠血清炎症因子 IL-1 β , TNF- α , IL-6 的影响 与正常对照组比较,经脂多糖内毒素处理的模型组的炎症因子 IL-1 β , TNF- α , IL-6 的水平明显升高($P < 0.01$),显示造模成功。与模型组相比,清肺理痰方各组及地塞米松组的 IL-1 β , TNF- α , IL-6 的含量均有所降低,其中水提物、醇提物组、乙酸乙酯萃取组 IL-1 β , TNF- α , IL-6 含量显著下降($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),同时石油醚组 TNF- α 含量与模型组比较也具有统计学意义($P < 0.05$),而正丁醇组、残余水层组促炎因子显示出下降的趋势,但无统计学意义。见表2。

3.4 组织学检查 正常对照组肺泡结构清晰,大小较为一致,肺泡壁薄,管腔内见个别炎性细胞和上皮细胞。模型组则肺泡壁血管充血明显,泡壁明显增厚,肺泡壁有大量炎性细胞浸润,肺泡中有大量坏死

4 讨论

急性肺损伤,属于中医“风温肺热病”、“咳嗽”等范畴,本病是感受风、热、疫邪引起的急性外感热病^[8],其病变部位在肺,病理机制为痰热瘀毒互阻,致肺脏功能失常,中医治疗基本遵循温病的卫气营血辨证^[9]。清肺理痰方由石膏、青天葵、瓜蒌皮、黄芩、浙贝母、鱼腥草、芦苇茎、北杏仁、桔梗、甘草10味药组成,以石膏和青天葵为君,石膏为矿物药,质重力峻,具有解肌清热,除烦止渴的功效;青天葵为岭南地区常用中草药,具清热润肺,散瘀解毒、退热而不伤阴之功效;瓜蒌皮、黄芩、浙贝母和鱼腥草为臣药,瓜蒌皮宽胸理气,尚能润肺化痰;黄芩清热燥湿;浙贝母有清热化痰,尚能散结消痰;鱼腥草具清热解毒,尤能化痰排脓,佐以苇茎清肺热,杏仁祛痰止咳平喘。全方具有清热化痰、理清肺络、宣肺止咳的功效,适用于风温肺热病中期,痰热壅肺之证候。

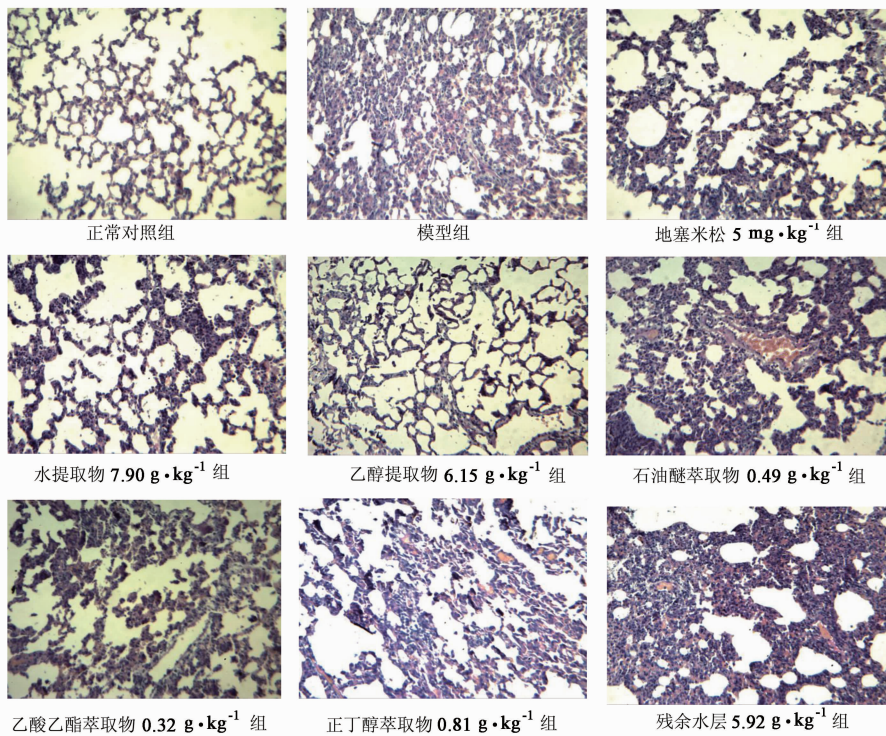


图 1 清肺理痰方各有效成分组对急性肺损伤大鼠肺组织病变程度的影响(HE 染色, ×100)

表 3 清肺理痰方各有效成分组对急性肺损伤大鼠肺组织 NF-κB 蛋白表达情况($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	NF-κB 蛋白/A
正常对照	-	0.162 ± 0.026
模型	-	0.371 ± 0.036 ¹⁾
地塞米松	0.005	0.201 ± 0.033 ³⁾
清肺理痰方水提取物	7.90	0.230 ± 0.036 ³⁾
清肺理痰方乙醇提取物	6.15	0.215 ± 0.020 ³⁾
清肺理痰方石油醚萃取物	0.49	0.335 ± 0.021 ²⁾
清肺理痰方乙酸乙酯萃取物	0.32	0.333 ± 0.014 ²⁾
清肺理痰方正丁醇萃取物	0.81	0.344 ± 0.030
清肺理痰方残余水层	5.92	0.354 ± 0.037

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$;

³⁾ $P < 0.01$ 。

通过本实验,旨在研究清肺理痰方是否能阻断或延缓炎症反应进程以及探讨相关的作用机制,从而更好的为急性肺损伤的康复提供一定的指导。

急性肺损伤的发生发展除了与创伤、休克、严重感染及免疫损伤等直接因素有关外,机体防御机制的过度激活,炎症因子的大量释放也起着非常重要的作用。急性肺损伤的发病机制非常复杂,目前研究针对肺损伤的信号通路主要包括 NF-κB 信号通路、络氨酸激酶(JAK)/信号转导和转录激活因子

(STAT)信号通路、p38 丝裂霉素原活化蛋白激酶信号转导通路等^[10-13],其中研究较多的信号通路为 NF-κB 信号通路。核因子 κB 是由 p50 和 p65 亚基构成,研究表明,只有 p65 亚基含有转录激活区域,能直接参与转录过程^[14]。一般情况下, NF-κB 通常与特异性抑制蛋白(inhibitor kb, IκB)结合成无活性的形式存在于胞浆中,缺血再灌注、休克和内毒素(LPS)等刺激信号都可以使 IκB 磷酸化,从而使 NF-κB/IκB 二聚体解离,磷酸化的 IκB 被泛素蛋白酶降解,释放出 NF-κB,被激活的 NF-κB 进入胞核,结合 DNA 模板上 κB 结合位点,通过诱导特异的炎症信号相关基因的 mRNA 转录、蛋白合成,启动多种细胞因子、趋化因子、黏附分子、基质金属蛋白酶、急性时相蛋白等的表达,从而促进炎症反应的发生发展^[15]。本实验用脂多糖作为急性肺损伤模型诱导物,将 LPS 从气管内滴入,充分模拟了人类急性肺损伤的发生发展过程,通过对各项指标与正常对照组的比较,表明急性肺损伤模型的建立是成功的。本研究发现经清肺理痰方水提取物和醇提取物预处理后的大鼠肺组织 NF-κB p65 蛋白表达水平明显降低,同时相应的 TNF-α, IL-1β 和 IL-6 等促炎因子也显著降低,经乙醇提取物萃取后的石油醚萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物预处理的大鼠肺组织 NF-κB p65 蛋白表达及促炎因子的分泌具有部分的

抑制作用,表明清肺理痰方(尤其是水提取物和醇提取物)对急性肺损伤大鼠的保护作用的机制可能是抑制 NF- κ B 信号通路的活化,从而抑制下游炎症因子 TNF- α , IL-1 β 和 IL-6 的表达。

实验证明,清肺理痰方水提取物和乙醇提取物对 LPS 诱导的大鼠急性肺损伤的保护作用明显;乙醇提取物经萃取后的石油醚萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物对大鼠急性肺损伤的不同指标各有部分保护作用,表明它们(尤其是水提取物组和醇提取物组)能不同程度地抑制急性肺损伤大鼠炎症反应的进程,其机制可能是通过抑制 NF- κ B 信号通路转导活性,进而减少细胞因子(如 TNF- α , IL-1 β , IL-6 等)分泌以减轻脏器组织损伤,从而发挥抗炎作用。

[参考文献]

[1] 毛宝龄,钱桂生. 急性呼吸衰竭[C]. 武汉:中华医学会第七次全国内科学术会议,1996.

[2] Fu P K, Wu C L, Tsai T H, et al. Anti-inflammatory and anticoagulative effects of paeonol on LPS-induced acute lung injury in rats[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012, 10:1155.

[3] Zhu T, Wang D X, Zhang W, et al. Andrographolide protects against LPS-induced acute lung injury by inactivation of NF- κ B [J]. PLoS ONE, 2013, 8(2):e56407.

[4] Wu J, Zhang Y Y, Guo L, et al. Bupleurum polysaccharides attenuates Lipopolysaccharide-induced inflammation via modulating Toll-like receptor 4 signaling[J]. PloS ONE, 2013, 8(10):e78051.

[5] 曾俊飞,潘俊辉,王鹏,等. 中西医结合治疗肺炎咳嗽

(痰热壅肺证)的多中心临床研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13):259.

[6] 张均田. 现代药理实验方法[M]. 北京:北京医科大学/中国协和医科大学联合出版社, 1999:1420.

[7] 施新肽. 医用实验动物学[M]. 西安:陕西科学技术出版社, 1989:418.

[8] 陈立,熊旭东. 风湿肺热病的中医药治疗近况[J]. 中国中医急症, 2008, 17(7):985.

[9] 孟繁. 风湿肺热病的辨证论治述要[J]. 中医药学刊, 2002, 20(11):45.

[10] Breckler M, Berthouze M, Laurent A C, et al. Rap-linked cAMP signaling Epac proreins: comparison, functioning and disease implications [J]. Cell Signal, 2011, 23(8):1257.

[11] Severgnini M, Takahashi S, Rozo L M, et al. Activation of the STAT pathway in acute lung injury[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2004, 286(6):L1282.

[12] Jiang Y, Gram H, Zhao M, et al. Characterization of the structure and function of the fourth member of p38 group mitogen-activated protein kinases, p38delta[J]. J Biol Chem, 1997, 272(48):30122.

[13] 黄希,邓立普. 急性肺损伤中信号通路及相关受体研究进展[J]. 医学综述, 2010, 16(20):3054.

[14] 罗真春,黄燕,秦开秀,等. 核转录因子- κ B 在急性肺损伤小鼠中的动态表达[J]. 重庆医学, 2009, 38(16):2005.

[15] Baker R G, Hayden M S, Ghosh S. NF- κ B, inflammation, and metabolic disease [J]. Cell Metab, 2011, 13(1):11.

[责任编辑 聂淑琴]

声明:中国实验方剂学杂志 2014 年 11 期《益气解毒活络方对早期糖尿病肾病大鼠的防治作用》一文,更正:表 1~表 4 统计数据均为($n=7$)。