

爱罗咳喘宁对 COPD 大鼠气道水通道蛋白 5 和黏蛋白 5AC 基因表达的影响

尚立芝¹, 谢文英^{1*}, 张良芝¹, 潘晓丽¹, 常学辉², 胡文豪¹, 刘坦¹
(1. 河南中医学院, 郑州 450046; 2. 河南省中医院, 郑州 450003)

[摘要] 目的:观察爱罗咳喘宁对慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)大鼠模型气管、支气管组织中水通道蛋白 5 (aquaporin5, AQP5) 与黏蛋白 5AC (mucin 5AC, MUC5AC) 表达的影响。方法:采用脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)加烟雾诱导 COPD 大鼠模型,大鼠随机分为正常组、模型组、急支糖浆组、爱罗咳喘宁低、中、高剂量组。正常组、模型组 *ig* 生理盐水 (15.52 mL·kg⁻¹·d⁻¹),急支糖浆组给予太极急支糖浆 (10 mL·kg⁻¹·d⁻¹) 灌胃,爱罗咳喘宁低、中、高剂量组分别 *ig* (7.75, 15.52, 31.04 g·kg⁻¹·d⁻¹),连续 14 d。原位杂交和免疫组化检测 AQP5 与 MUC5AC 在气管、支气管组织中的原位表达。结果:与正常组相比,模型组大鼠 AQP5 mRNA 和蛋白表达均减弱, MUC5AC mRNA 和蛋白表达均增强, AQP5 蛋白与 MUC5AC 蛋白表达呈负相关 ($r = -0.50, P < 0.01$);与模型组相比,爱罗咳喘宁中剂量组 AQP5 基因表达增强, MUC5AC 基因表达减弱, AQP5 蛋白与 MUC5AC 蛋白表达呈负相关 ($r = -0.45, P < 0.01$)。结论:爱罗咳喘宁调节 COPD 气道黏液高分泌的作用机制可能与上调 AQP5、抑制 MUC5AC 基因表达有关。

[关键词] 慢性阻塞性肺疾病; 水通道蛋白-5; 黏蛋白 5AC

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)22-0127-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014220127

Effect of Ailuo Kechuanning on Expression of AQP5 and MUC5AC Genes in Rats with Chronic Obstructive Pulmonary Disease

SHANG Li-zhi¹, XIE Wen-ying^{1*}, ZHANG Liang-zhi¹, PAN Xiao-li¹,
CHANG Xue-hui², HU Wen-hao¹, LIU Tan¹

(1. Henan University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Zhengzhou 450046, China;
2. Henan Province Hospital of TCM, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Ailuo Kechuanning on expression of aquaporin5 (AQP5) and mucin 5AC (MUC5AC) genes in rats with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Method:** Lipopolysaccharide (LPS) smoke was used to COPD rat model; the experimental animals were randomly divided into normal control group, model group. Normal group, model group was given physiological saline (15.52 mL·kg⁻¹·d⁻¹) by intragastric, Jizhitangjiang group (10 mL·kg⁻¹·d⁻¹), Ailuo Kechuanning group (7.75, 15.52, 31.04 g·kg⁻¹·d⁻¹), *ig* for 14 days. The expression of AQP5 and MUC5AC genes in the trachea, bronchus and lung tissue were detected by *in situ* hybridization and immunohistochemical techniques. **Result:** Compared with the normal group, the expression of mRNA and protein of AQP5 were weakened, but the expression of MUC5AC mRNA and protein were enhanced in model group, the expression of AQP5 protein was negatively correlated with MUC5AC protein ($P < 0.01$) in the trachea and lung tissue of model group. Compared Ailuo Kechuanning mediate-dose group with the model group, the expression of AQP5 gene was enhanced. However, the expression of

[收稿日期] 20140828(011)

[基金项目] 河南省教育厅资助项目(2010A360024);河南省科技攻关项目(112102310314);郑州市科技领军人项目(121PLJRC535)

[第一作者] 尚立芝, 硕士, 副教授, 从事经方配伍基础研究, E-mail: 1357865736@qq.com

[通讯作者] * 谢文英, 本科, 教授, 从事内科杂病防治研究, E-mail: xiewenying1963@163.com

MUC5AC gene was decreased, the expression of AQP5 protein was negatively correlated with MUC5AC protein ($P < 0.01$) in the trachea and lung tissue. **Conclusion:** The mechanism of Ailuo Kechuaning regulating COPD airway mucus hypersecretion may increase AQP5 gene and inhibit MUC5AC gene expression.

[**Key words**] chronic obstructive pulmonary disease; aquaporin 5; mucin 5AC

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是以持续气流受限为特征的呼吸系统常见病和多发病。随着大气污染日益加重、年龄增长, COPD 的患病率和死亡率呈递增趋势, 是中国人主要致死病因之一^[1-4]。主要病变特征的慢性支气管炎和(或)肺气肿, 伴有气道高反应^[5-6]。临床以咳嗽、咯痰、喘息或胸闷为主要表现, 属中医“咳嗽”、“痰饮”、“喘证”等范畴, COPD 的发生多因久病肺虚, 痰浊滞留, 每因再感外邪诱使病情发作加剧。其基本特征为肺、脾、肾三脏的虚弱, 正气亏虚, “本虚标实”, 其本在脾、肾, 其标在肺。本课题组根据 COPD 的病因病机, 拟定爱罗咳喘宁方药。经多年临床和前期动物实验研究结果显示, 爱罗咳喘宁能显著提高 COPD 患者和动物模型的肺功能, 明显改善咳嗽等临床症状, 但其作用机制不明^[7-10]。本研究制备脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS) 加烟雾诱导 COPD 大鼠模型, 观察爱罗咳喘宁对 COPD 大鼠气管、肺组织中水通道蛋白-5 (aquaporin 5, AQP5)、黏蛋白 5AC (mucin 5AC, MUC5AC) 基因表达的影响, 探讨其对 COPD 气道黏液分泌的作用及机制。

1 材料

1.1 药物 爱罗咳喘宁方药组成: 炙麻黄 6 g (批号 1206031)、党参 15 g (批号 1112024)、麦芽 20 g (批号 1112031)、白术 12 g (批号 1112011)、葶苈子 10 g (批号 1112011)、苍术 10 g (批号 1112021) 等均为中药配方颗粒、由江阴天江药业有限公司生产; 姜半夏 10 g (批号 1111001S)、苦杏仁 10 g (批号 1110004S)、山药 15 g (批号 1103001S) 等均为中药配方颗粒, 由三九医药生产。急支糖浆 (太极集团涪陵制药厂, 批号 121111020571)。

1.2 试剂与仪器 AQP5 基因原位杂交 (MK2206-r), 兔抗大鼠 AQP5 一抗试剂盒 (BA2205), SABC 试剂盒 (SA1022) 和 DAB (AR1022) 购自武汉博士德生物工程有限公司。MUC5AC 基因原位杂交 (BSH0083F)、兔抗大鼠 MUC5AC 一抗试剂盒 (bs-7166R) 购自北京博奥森生物技术有限公司, 脂多糖 (LPS, solarbio 公司, L8880, 701c034), 红旗渠牌香烟 (烤烟型, 焦油含量

14 mg/支, 尼古丁含量 1.1 mg/支, 河南安阳卷烟厂)。电热恒温培养箱 (金坛市白塔新宝仪器厂, DHP-260), TGL-16A 低温高速离心机 (上海安亭仪器厂), U-CMAD3 型显微镜 (日本 Olympus), GX51 型全自动图像分析系统, 显微摄像仪 (日本 Olympus 20486)。Motic 数字切片扫描与应用系统, BP-211D/BL3100 电子天平、自制动物熏吸箱 (50 cm × 50 cm × 40 cm)。

1.3 动物 6 月龄 SD 大鼠 60 只, SPF 级, 雌雄各半, 体质量 (300 ± 20) g。郑州大学医学院实验动物中心提供动物, 合格证号 SCXK(豫)2012-0001。

2 方法

2.1 动物分组 大鼠随机分为 6 组: 正常组、模型组、急支糖浆组、爱罗咳喘宁口服液低、中、高剂量组 (7.75, 15.52, 31.04 g·kg⁻¹·d⁻¹) 组, 每组 10 只。

2.2 模型制备 参照文献 [11-12] 制备 LPS 加烟雾诱导 COPD 大鼠模型。采用气管注脂多糖加熏香烟方法: 在第 1, 14 天, 用 1% 的戊巴比妥钠 (40 mg·kg⁻¹) ip 麻醉, 仰卧位固定于大鼠固定板, 暴露声门, 将 18 号静脉套管针快速插入气管, 拔出针芯, 用 1 mL 注射器注入溶于生理盐水的 LPS 200 μL (1 g·L⁻¹), 然后将大鼠固定板直立旋转, 使 LPS 能够均匀分布于两肺。第 2~28 天 (第 14 天除外) 将大鼠置入熏箱内, 内熏香烟烟雾, 40 min/次, 2 次/d (每次 8 支烟), 每周休息 1 d; 正常组, 第 1, 14 天经气管注入 200 μL 生理盐水, 其余无特殊处理。

2.3 给药方案 模型制备成功后, 参考文献 [13-15], 正常组、模型组给予生理盐水 (15.52 mL·kg⁻¹·d⁻¹, ig), 急支糖浆组给予急支糖浆 (10 mL·kg⁻¹·d⁻¹, ig), 爱罗咳喘宁低、中、高剂量组 (7.75, 15.52, 31.04 g·kg⁻¹·d⁻¹, ig), 连续 14 d。

2.4 指标检测

2.4.1 一般情况观察 分别观察各组大鼠造模后及治疗后的一般情况, 如精神状态、活动情况、体重、皮毛色泽、呼吸、粪便等情况。

2.4.2 肺组织标本制备 取气管、支气管及右下肺组织, 10% 甲醛固定, 常规包埋, 5 μm 厚连续切片, HE 染色, 光镜下观察各组大鼠气管、支气管及肺组织的病理变化。

2.4.3 检测 AQP5 和 MUC5AC mRNA 原位表达

原位杂交检测步骤:①石蜡切片常规脱蜡至水,3% H₂O₂ 室温 10 min 阻断内源性过氧化物酶。②暴露 mRNA 核酸片段:加 3% 柠檬酸新鲜稀释的胃蛋白酶(1 mL 3% 柠檬酸加 2 滴浓缩型胃蛋白酶),37 °C 消化 30 min。③预杂交:加预杂交液,恒温箱湿盒内 38 ~ 40 °C 3 h。④杂交:加杂交液,盖原位杂交专用盖玻片,恒温箱 40 °C 杂交过夜。⑤杂交后洗涤:揭掉盖玻片,37 °C 水浴锅中 SSC 梯度漂洗后加封闭液。⑥加 SABC 及显色剂,苏木素复染。

2.4.4 检测 AQP5 和 MUC5AC 蛋白表达 免疫组化 S-P 法检测步骤:①石蜡切片常规脱蜡至水;②3% H₂O₂ 室温 10 min 阻断内源性过氧化物酶;③羊血清封闭室温 20 min;④加第一抗工作液,4 °C 孵育过夜;⑤加生物素化二抗工作液,37 °C 湿盒孵育 20 min;加链霉亲和素-过氧化物酶复合物 37 °C 湿盒孵育 20 min;⑥DAB 显色,苏木素复染。用已知阳性组织切片作为阳性对照,以 PBS 替代一抗作空白对照。

2.4.5 结果判断 原位杂交、免疫组化结果判断^[16-17] 所有切片均以有棕黄色颗粒为阳性表达;以不着色为阴性。每张切片随即选取 10 个高倍视野(×400),采用 Olympus GX51 全自动图像分析系统,检测阳性染色吸光度(A),取平均值进行分析。

2.5 统计学处理 数据处理在 SPSS 11.5 中进行,计量资料数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较采用方差分析,相关性检验用 Spearman 等级相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠一般情况 实验结束时,正常组、急支糖浆组,一般状况好,体重增长,无死亡。模型组和爱罗咳喘宁低剂量组体重较造模前下降或略有增加,死亡 2 只。爱罗咳喘宁高、中剂量组大鼠体重增加,各死亡 1 只。

3.2 对 COPD 大鼠肺组织中 MUC5AC 和 AQP5 基因表达的影响 MUC5AC 在模型组和正常组气道、肺泡上皮细胞均有一定程度的表达,原位杂交和免疫组化阳性信号表现为胞浆内的棕黄色颗粒,细胞膜也可有阳性反应,但以胞浆为主;气道黏膜上皮细胞膜和胞浆均表达,杯状细胞浆中有棕黄色颗粒;黏膜下腺浆液性和黏液性腺上皮细胞膜游离面(+)、胞浆(+);肺泡 I 型上皮(-),II 型上皮(+),巨噬细胞(+)(图 1 ~ 6)。与正常组比较,模型组气管和肺组织中 MUC5AC mRNA、蛋白表达均明显增强(均 $P < 0.01$);与模型组相比,爱罗咳喘宁中剂量组气管和肺组织中 MUC5AC mRNA、蛋白表达均显著降低(均 $P < 0.01$)。AQP5 在模型组和正常组气道黏膜下腺腺泡细胞及肺泡上皮细胞均有一定程度的表达。原位杂交和免疫组化阳性信号表现为胞浆内有棕黄色颗粒,细胞膜也可有阳性反应,但以胞浆为主;气道黏膜下腺上皮细胞膜游离面(+),肺泡 I 型上皮(+),II 型上皮(-),巨噬细胞(+)。与正常组比较,模型组气管和肺组织中 AQP5 mRNA、蛋白表达均显著降低(均 $P < 0.01$);与模型组比较,爱罗咳喘宁中剂量组气管和肺组织中 AQP5 mRNA、蛋白表达均显著增强($P < 0.01, P < 0.05$,图 7 ~ 12,表 1,2)。

表 1 爱罗咳喘宁对各组 COPD 大鼠气管组织中 AQP5 和 MUC5AC 基因表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	AQP5 mRNA/A	AQP5 protein/A	MUC5AC mRNA/A	MUC5AC protein/A
正常	10	-	6.87 ± 0.36	4.98 ± 0.36	1.65 ± 0.46	0.72 ± 0.13
模型	8	-	1.69 ± 0.49 ²⁾	1.47 ± 0.51 ²⁾	10.81 ± 0.47 ²⁾	8.43 ± 0.42 ²⁾
急支糖浆 ³⁾	10	10	4.41 ± 0.69 ²⁾	3.78 ± 0.37 ²⁾	5.86 ± 0.59 ²⁾	4.27 ± 0.53 ²⁾
爱罗咳喘宁	9	7.75	1.79 ± 0.71	1.56 ± 0.38	7.48 ± 0.51 ¹⁾	6.55 ± 0.14 ¹⁾
	9	15.52	3.57 ± 0.28 ²⁾	2.23 ± 0.22 ¹⁾	5.32 ± 0.55 ²⁾	4.92 ± 0.54 ²⁾
	9	31.04	2.62 ± 0.24 ¹⁾	1.74 ± 0.39	6.13 ± 0.36 ¹⁾	5.13 ± 0.46 ¹⁾

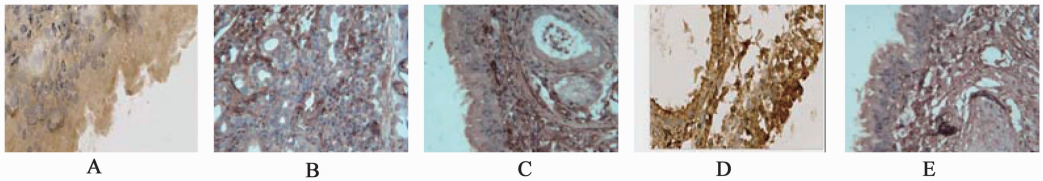
注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;³⁾ 急支糖浆的剂量单位为“mL·kg⁻¹”(表 2 同)。

3.3 AQP5 与 MUC5AC 表达的相关性 在模型组气管和肺组织中,AQP5 mRNA 与 MUC5AC mRNA 表达均呈负相关($P < 0.01$),AQP5 蛋白与 MUC5AC 蛋白表达呈负相关($P < 0.01$)。在爱罗咳喘宁中剂量组气管与肺组织中,AQP5 mRNA 与 MUC5AC mRNA 表达呈负相关(均 $P < 0.01$),AQP5 蛋白与

MUC5AC 蛋白表达呈负相关($P < 0.01$,或 $P < 0.05$)。

4 讨论

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease,COPD)是常见的以气道不完全可逆性气流受限为特征的慢性炎症性疾病,气流受阻



A. 正常组;B. 模型组;C. 爱罗咳喘宁 7.75 g·kg⁻¹组;D. 爱罗咳喘宁 15.52 g·kg⁻¹组;E. 爱罗咳喘宁 31.04 g·kg⁻¹组(图 2~12 同)

图 1 各组大鼠气管组织 MUC5AC mRNA 原位表达 (ISH, ×400)

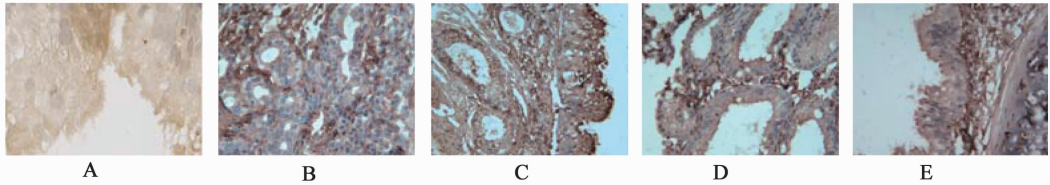


图 2 各组大鼠气管组织 MUC5AC 蛋白表达 (IHC S-P, ×400)

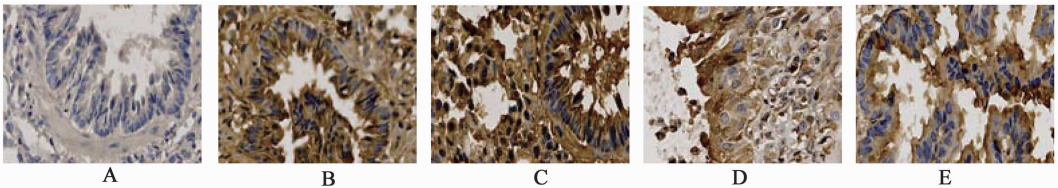


图 3 各组大鼠细支气管组织 MUC5AC mRNA 原位表达 (ISH, ×400)

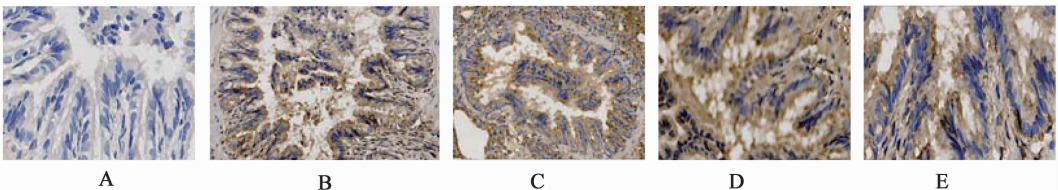


图 4 各组大鼠细支气管组织 MUC5AC 蛋白表达 (IHC S-P, ×400)

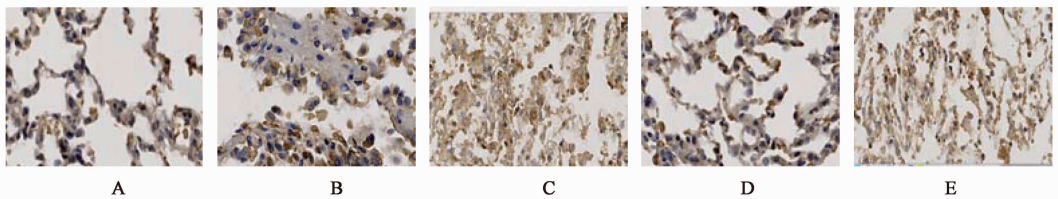


图 5 各组大鼠肺组织 MUC5AC mRNA 原位表达 (ISH, ×400)

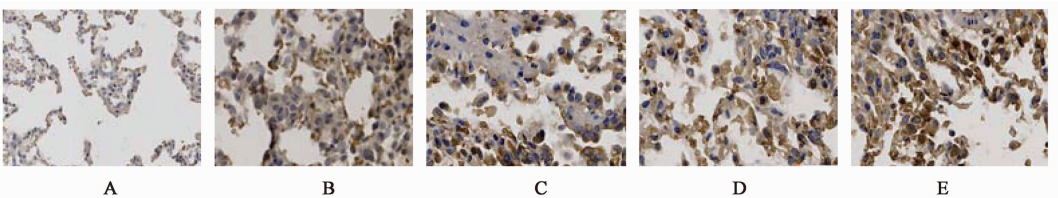


图 6 各组大鼠肺组织 MUC5AC 蛋白表达 (IHC S-P, ×400)

进行性发展。其临床主要表现咳嗽、咳痰等呼吸道症状。COPD 常常伴有气道黏液的高分泌,导致反复感染、进行性不完全可逆的气流阻塞。COPD 属

中医“咳嗽”、“痰饮”、“喘证”等范畴,中医认为本病其标在肺,其本在脾、肾。爱罗咳喘宁为自拟方药,由炙麻黄、苦杏仁、茯苓、苍术、姜半夏、葶苈子、

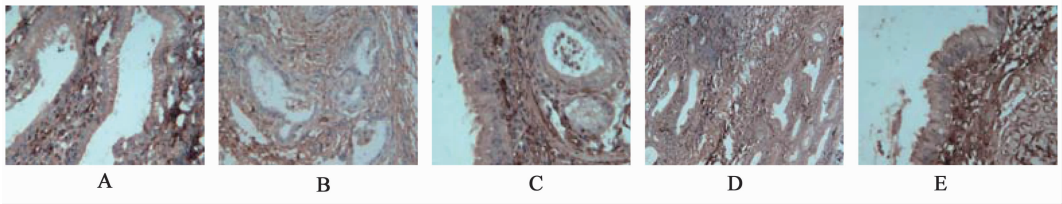


图 7 各组大鼠气管组织 AQP5 mRNA 原位表达 (ISH, ×400)

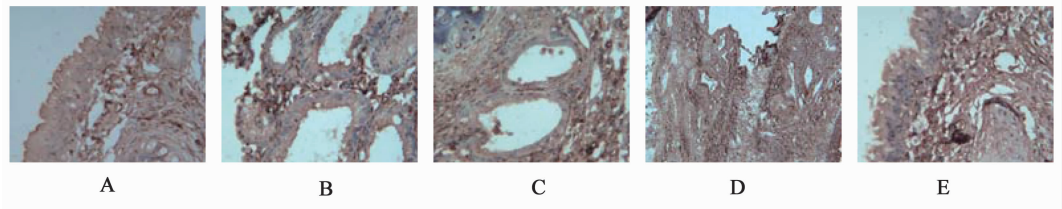


图 8 各组大鼠气管组织 AQP5 蛋白表达 (IHC S-P, ×400)

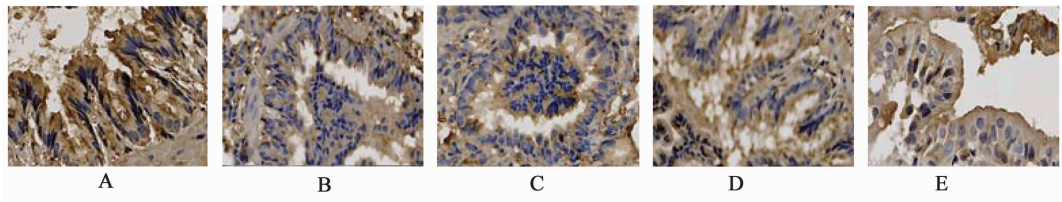


图 9 各组大鼠细支气管组织 AQP5 mRNA 原位表达 (ISH, ×400)

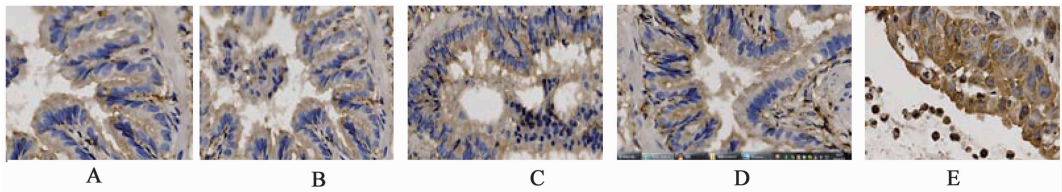


图 10 各组大鼠细支气管组织 AQP5 蛋白表达 (IHC S-P, ×400)

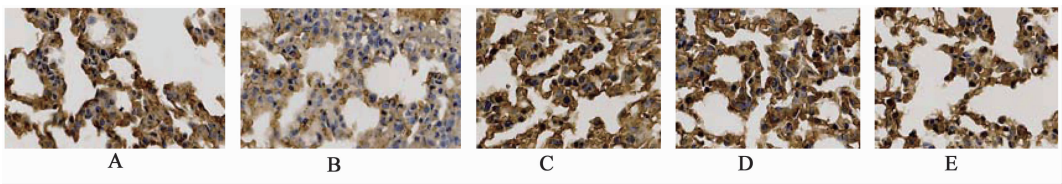


图 11 各组大鼠肺组织 AQP5 mRNA 原位表达 (ISH, ×400)

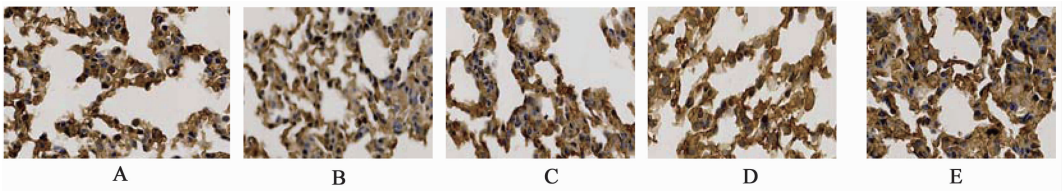


图 12 各组大鼠肺组织 AQP5 蛋白表达 (IHC S-P, ×400)

干姜、麦芽、白术、山药、党参、芫花、赤芍等药物组成。方中炙麻黄辛散而微兼苦降之性,为主治肺气壅遏所致喘咳的要药,配伍杏仁祛痰止咳平喘,两者同为君药;臣以姜半夏燥湿化痰,葶苈子泻肺降气,

祛痰平喘;干姜温肺化饮;茯苓健脾化痰;芫花泻水逐饮,祛痰止咳。佐以党参健脾益肺,白术健脾益气,山药补脾、养肺、固肾、益精,苍术燥湿健脾,麦芽健脾和胃,赤芍活血祛瘀^[9]。

表 2 爱罗咳喘宁对各组 COPD 大鼠肺组织中 AQP5 和 MUC5AC 基因表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	AQP5 mRNA/A	AQP5 protein/A	MUC5AC mRNA/A	MUC5AC protein/A
正常	10	-	4.52 ± 0.11 ²⁾	3.98 ± 0.22 ²⁾	0.93 ± 0.82 ²⁾	0.72 ± 0.13 ²⁾
模型	8	-	0.87 ± 0.32	0.58 ± 0.02	7.32 ± 0.50	6.32 ± 0.53
急支糖浆 ³⁾	10	10	2.01 ± 0.12 ²⁾	1.92 ± 0.51 ²⁾	2.33 ± 0.31 ²⁾	2.12 ± 0.34 ²⁾
爱罗咳喘宁	9	7.75	1.54 ± 0.34 ¹⁾	1.32 ± 0.46 ¹⁾	4.85 ± 0.51 ¹⁾	4.53 ± 0.32 ¹⁾
	9	15.52	1.80 ± 0.32 ²⁾	1.61 ± 0.72 ¹⁾	2.96 ± 0.42 ²⁾	2.01 ± 0.25 ²⁾
	9	31.04	0.92 ± 0.08 ¹⁾	0.63 ± 0.26 ¹⁾	6.96 ± 0.37	5.34 ± 0.58

COPD 过程中存在气道黏液高分泌,黏液中的水与黏蛋白比例失衡,黏液中的高黏蛋白含量,致使痰液黏稠,不易咳出,而加重感染。在肺组织中,AQP1 和 AQP5 是主要的水转运通道,黏液下腺 AQP5 的减少可以导致气道液体分泌的减少和黏蛋白浓度增加^[18]。黏液中 95% 以上是水分,其余为离子、类酯、蛋白和糖蛋白。黏液是气道防御系统的重要组成部分,但当其分泌过多时会引起气道阻塞。当气道黏液分泌过多时,不利于其中抗菌酶和抗菌肽发挥作用,气道防御功能因而降低。目前国外大量的研究均集中在黏蛋白上,而黏蛋白的分泌与水、电解质的分泌是相互调节的。本研究旨在探讨 COPD 气道上皮 AQP 和 5MUC5AC 基因的表达,为气道黏液高分泌疾病的防治奠定理论基础。

本研究结果显示,AQP5 在模型组和正常组气道黏膜下腺腺泡细胞及肺泡细胞均有一定程度的表达。原位杂交和免疫组化阳性信号表现为胞浆内有棕黄色颗粒,细胞膜也可有阳性反应,但以胞浆为主。与正常组比较,模型组 AQP5 mRNA 和蛋白表达均显著降低(均 $P < 0.01$)。说明 AQP5 表达降低引起的黏液水分分泌下降。因此,AQP5 功能下调可能是引起 COPD 气道分泌的黏液水分含量下降的原因之一。MUC5AC 在模型组和正常组气道上皮细胞均有一定程度的表达,原位杂交和免疫组化阳性信号表现为胞浆内的棕黄色颗粒,细胞膜也可有阳性反应,但以胞浆为主。与正常组比较,MUC5AC mRNA 和蛋白表达均明显增强(均 $P < 0.01$);与模型组相比,MUC5AC mRNA 和蛋白表达均显著降低(均 $P < 0.01$)。作为衡量气道上皮黏液分泌指标的 MUC5AC 在 COPD 模型组较对照组表达增加,导致了 COPD 气道黏液的分泌进一步增加。气道黏蛋白分泌增加,不易咳出,引起继发感染,导致气流受限,加重 COPD 病情。

COPD 大鼠黏膜下腺与对照组比较,AQP5 低表达、MUC5AC 高表达,可能参与了 COPD 气道黏液高

分泌的病理过程。Towne 等^[19]研究发现,用 TNF- α 干预培养小鼠肺上皮细胞后 AQP5 mRNA 表达下降 2 倍,AQP5 蛋白表达下降 10 倍,其作用可能是通过激活 TNF- α 受体(TNF- α R)实现的,核因子 κ B(NF- κ B)也参与其激活过程。TNF- α 可以诱导大鼠气管上皮细胞 MUC5AC 蛋白的高表达,蛋白激酶 C(PKC)亦可能参与 TNF- α 诱导产生的气道上皮细胞 MUC5AC 蛋白的表达。本研究模型组气管和肺组织中,AQP5 mRNA 与 MUC5AC mRNA 表达呈负相关($P < 0.01$),AQP5 蛋白与 MUC5AC 蛋白表达呈负相关($P < 0.01$)。与模型组相比,爱罗咳喘宁中剂量组气管和肺组织中 AQP5 mRNA 和蛋白表达均显著增强(均 $P < 0.01$),MUC5AC mRNA 和蛋白表达均显著减弱(均 $P < 0.01$),提示爱罗咳喘宁影响 COPD 气道黏液中水分与黏蛋白的分泌,可能通过上调 AQP5 表达的同时,下调黏蛋白 MUC5AC 的表达,从而发挥抗气道黏液高分泌作用。

[参考文献]

[1] 钟南山. 慢性阻塞性肺疾病在中国[J]. 中国实用内科杂志, 2011,31(5):321.
 [2] Bianco A, Mazzarella G, Turchiarelli V, et al. Adiponectin: an attractive marker for metabolic disorders in chronic obstructive pulmonary disease (COPD)[J]. Nutrients,2013,5(10):4115.
 [3] Tsaroucha A, Daniil Z, Malli F, et al. Leptin, adiponectin, and ghrelin levels in female patients with asthma during stable and exacerbation periods[J]. J Asthma,2013,50(2):88.
 [4] Paul Man S F, Finalay A M, Nick R A, et al. 慢性阻塞性肺疾病的现代治疗临床应用[J]. 美国医学会杂志(中文版), 2004, 23(6):328.
 [5] Weiss S T. What genes tell us about the pathogenesis of asthma and chronic obstructive pulmonary disease[J]. Am J Respir Crit Care Med,2010,181(11):1170.
 [6] 祝小惠,钟相根,李宇航. 通利大肠”对 COPD 大鼠 AQP5 mRNA 表达的影响及与气道炎症相关性研究[J]. 中华中医药杂志, 2010,25(12):2246.

加味当归补血汤对细胞骨架蛋白在阿霉素 肾病大鼠表达的影响

魏明刚^{1*}, 何伟明², 陆迅¹, 倪莉¹, 刘蔚¹, 顾冬梅¹, 李凤玲¹, 费梅¹, 张新苹¹

(1. 苏州大学附属第一医院, 江苏 苏州 215006; 2. 江苏省中医院, 南京 210029)

[摘要] 目的:利用阿霉素肾病模型(daunomycin-induce nephropathy, DMN)研究加味当归补血汤通过干预细胞骨架蛋白的表达对肾小球滤过作用所产生的影响。方法:SD大鼠分为正常组、模型组、贝那普利组(1 mg·kg⁻¹)和加味当归补血汤组(10 g·kg⁻¹)。其中模型组、贝那普利组和加味当归补血汤组使用阿霉素一次性尾静脉注射6 mg·kg⁻¹。造模后第2天分别ig给予贝那普利组和加味当归补血汤组相应的药物,每日1次,共8周。分别在造模第7,28,42,56天留取尿液标本,观察尿蛋白白蛋白含量的动态变化;取肾组织进行光镜、免疫组织化学对nephryn,巢蛋白(nestin)和vimentin的表达情况进行分析。结果:尿蛋白:在28,42,56d模型组与正常组比较尿蛋白增加均非常明显,差异有统计学意义(P<0.05);各治疗组与模型组比较明显下降,差异有统计学意义(P<0.05),且加味当归补血汤更显著。肾脏组织:光镜和免疫组织化学结果显示,加味当归补血汤治疗组与贝那普利治疗组和模型组比较系膜细胞增生、肾小管-间质病变情况和肾组织nephryn, nestin和vimentin蛋白的表达情况均减轻,尿蛋白含量比模型组明显减少,说明肾脏病变程度相比模型组减轻;治疗56d后肾组织RT-PCR及Western blot检测nephryn, nestin和vimentin表达之间存在线性关系;治疗组与模型组比较差异有统计学意义(P<0.05)。结论:加味当归补血汤对于阿霉素肾病模型的作用表现为保护足细胞裂孔膜结构的完整性的同时抑制系膜细胞增生和减轻肾小管-间质损伤,上述作用与改善细胞骨架蛋白的表达呈正相关。

[关键词] 加味当归补血汤; 阿霉素肾病; 细胞骨架蛋白

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)22-0133-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014220133

[收稿日期] 20140112(015)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81273723,81373604);江苏省中医药管理局项目(LZ13235,LZ11094);苏州市科学技术局应用基础研究计划(SYS201016)

[通讯作者] *魏明刚,博士,副教授,从事中医药防治肾脏病的基础与临床,Tel:13813791993, E-mail:weimg@sina.com

- [7] 谢文英,景晓平. 爱罗咳喘宁口服液治疗支气管哮喘42例[J]. 中国中医药信息杂志,2005,12(2):82.
- [8] 谢文英,常学辉,张良芝. 爱罗咳喘宁汤治疗咳嗽变异性哮喘30例[J]. 中医研究,2007,20(5):35.
- [9] 谢文英,常学辉,张良芝. 爱罗咳喘宁口服液对支气管哮喘患者白细胞介素2及白细胞介素13的影响[J]. 中医杂志,2007,48(7):614.
- [10] 谢文英,张良芝,刘霖,等. 爱罗咳喘宁口服液对慢性支气管炎大鼠白细胞介素-13和肿瘤坏死因子- α 含量的影响[J]. 中国新药杂志,2012,21(5):551.
- [11] Mahadeva R, Shapiro S D. Chronic obstructive pulmonary disease: experimental animal models of pulmonary emphysema[J]. Thorax, 2002, 57(10):908.
- [12] 宋小莲,王昌惠,白冲. 脂多糖结合熏烟法和单纯熏烟法建立慢性阻塞性肺病大鼠模型的比较[J]. 第二军医大学学报,2010,31(3):246.
- [13] 宋一平,崔德健,茅培英,等. 慢性阻塞性肺病大鼠模型的建立及药物干预的影响[J]. 中华内科杂志,2000,39(8):556.
- [14] 尚立芝,谢文英,张良芝,等. 爱罗咳喘宁对慢性阻塞性肺疾病大鼠白三烯 B4、白细胞介素-6及肺组织病理形态的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2014, 20(12):170.
- [15] 谢文英,尚立芝,张良芝,等. 爱罗咳喘宁对慢性阻塞性肺疾病大鼠肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-8和白细胞介素-18及炎细胞的影响[J]. 中国中医基础医学杂志,2014,20(4):448.
- [16] 尚立芝,王付,苗小玲,等. 四逆散加味抗大鼠肝纤维化的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2012, 18(18):194.
- [17] 尚立芝,王付,苗小玲,等. 四逆散加味抗肝纤维化的作用及机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013, 19(5):207.
- [18] Verlman A S. Physiological importance of aquaporin water channels[J]. Ann Med, 2002,4(3):192.
- [19] Towne J E, Krane C M, Bachurski C J, et al. Tumor necrosis factor-alpha inhibits aquaporin 5 expression in mouse lung epithelial cells[J]. J Bio Chemistry, 2001, 276(22):18657.

[责任编辑 聂淑琴]