

爱罗咳喘宁对稳定期和急性加重期 COPD 抗炎作用及机制研究

尚立芝, 谢文英*, 张良芝, 潘晓丽, 胡文豪, 刘坦
(河南中医学院, 郑州 450046)

[摘要] **目的:**探讨爱罗咳喘宁对稳定期和急性加重期慢性阻塞性肺疾病(COPD)大鼠抗炎作用及其机制。**方法:**采用烟熏加滴菌制备 COPD 稳定期和急性加重期大鼠模型。大鼠随机分为正常组、模型组、爱罗咳喘宁低、中、高剂量组。正常组、模型组灌胃生理盐水(15.52 mL·kg⁻¹·d⁻¹),爱罗咳喘宁低、中、高剂量组分别灌胃(7.75,15.52,31.04 g·kg⁻¹·d⁻¹),连续 14 d。酶联免疫法(ELISA)测定血清、肺泡灌洗液(BALF)和肺匀浆中可溶性细胞间黏附分子-1(sICAM-1),白细胞介素-8(IL-8),肿瘤坏死因子-α(TNF-α),白细胞介素-17(IL-17)和 C 反应蛋白(CRP)含量,光镜观察炎细胞及肺组织。**结果:**①稳定期:与正常组比较,模型组稳定期支气管肺泡灌洗液(BALF)中炎细胞总数和中性粒细胞数显著增高(均 $P < 0.05$);血清、BALF 及肺匀浆中 sICAM-1, TNF-α, IL-8, IL-17 和 CRP 含量均显著高于正常组($P < 0.05, P < 0.01$)。与稳定期模型组比较,爱罗咳喘宁中、高剂量组 BALF 中炎细胞计数、中性粒细胞和巨噬细胞数显著减少($P < 0.05, P < 0.01$);中、高剂量组血清、BALF、及肺匀浆中 sICAM-1, TNF-α, IL-8, IL-17 和 CRP 含量均显著降低($P < 0.05, P < 0.01$)。②急性加重期:急性加重期模型组、爱罗咳喘宁各剂量组相对应指标与稳定期变化趋向一致。**结论:**爱罗咳喘宁对稳定期和急性加重期 COPD 均有抗炎作用。可能通过减少中性粒细胞和巨噬细胞数,抑制细胞因子 sICAM-1, TNF-α, IL-8, IL-17 和 CRP 的分泌而起到抗炎作用。

[关键词] 慢性阻塞性肺疾病; 支气管肺泡灌洗液; 肿瘤坏死因子-α; 白细胞介素-8

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)01-0134-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015010134

Experimental Study of Ailuo Kechuanning on Anti-inflammatory Mechanism in Rats with Stabilization and Acute Aggravating Period of Chronic Obstructive Pulmonary Disease SHANG Li-zhi, XIE Wen-ying*, ZHANG Liang-zhi, PAN Xiao-li, HU Wen-hao, LIU Tan (Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Ailuo Kechuanning on levels of soluble intercellular adhesion molecular-1 (sICAM-1), tumor necrosis factor alpha (TNF-α), interleukin-8 (IL-8), interleukin-17 (IL-17) and C-reactive protein (CRP) in serum, bronchial alveolar lavage fluid (BALF) and lung homogenates of rats with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Method:** The method of smoke add drops of bacteria preparation was used to rat model COPD with stabilization and acute aggravatin. the rats were randomly divided into normal control group, model group, Ailuo Kechuanning group (7.75, 15.52, 31.04 g·kg⁻¹·d⁻¹), ELISA was used to determine the levels of sICAM-1, TNF-α, IL-8, IL-17 and CRP in serum, BALF and lung homogenates. **Result:** ①Stable period: the total number of neutrophils and inflammatory cells were significantly increased ($P < 0.01$) in BALF. The levels of sICAM-1, TNF-α, IL-8, IL-17 and CRP in serum, BALF and lung homogenates of the stable period model group were significantly higher than those in normal control group. While the levels of sICAM-1, TNF-α, IL-8, IL-17 and CRP were decreased significantly in serum, BALF and lung homogenates of the rats treated with Ailuo Kechuanning (15.52 g·kg⁻¹·d⁻¹) than those in stable period model group. ②Acute exacerbation of COPD: the obvervational index changes direction in acute exacerbation

[收稿日期] 20140913(001)

[基金项目] 河南省自然科学研究计划项目(2010A360024);河南省科技攻关项目(112102310314);郑州市科技领军人才项目(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, 教授, 从事内科杂病防治研究, Tel:13663007589, E-mail:xiewenying1963@163.com

period tend to be consistent with stabilization period. **Conclusion:** The mechanism of Ailuo Kechuanning anti-inflammatory may reduce the number of neutrophils and macrophages, and decrease the levels of sICAM-1, TNF- α , IL-8, IL-17 and CRP.

[**Key words**] chronic obstructive pulmonary disease; bronchial alveolar lavage fluid; tumor necrosis factor alpha; interleukin-8

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是以慢性非特异性气道炎症、持续气流受限为特征的呼吸系统常见病。随着空气污染与人口老龄化, 本病发病率急剧提高^[1-5]。参与 COPD 反应的炎症细胞释放细胞因子等多种炎症介质, 共同构成炎症细胞和炎症介质网络^[6]。本课题组根据 COPD 病机拟定爱罗咳喘宁方, 经多年临床和前期动物实验研究结果均显示, 爱罗咳喘宁能显著提高 COPD 患者和动物模型的肺功能、改善肺组织结构, 但其作用机制不明^[7-12]。本研究采用烟熏加滴菌的方法制备 COPD 稳定期和急性加重期大鼠模型, 观察爱罗咳喘宁对参与 COPD 炎症反应的可溶性细胞间黏附分子-1 (soluble intercellular adhesion molecular-1, sICAM-1), 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α), 白细胞介素-8 (interleukin-8, IL-8), IL-17 和 C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 及炎细胞的影响, 探讨爱罗咳喘宁对稳定期和急性加重期 COPD 的抗炎作用及其机制。

1 材料

1.1 药物 爱罗咳喘宁方药物组成: 炙麻黄 (1206031) 6 g, 党参 (1112024) 15 g, 麦芽 (1112031) 20 g, 白术 (1112011) 12 g, 葶苈子 (1112011) 10 g, 苍术 (1112021) 10 g 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 (1111001S) 10 g, 苦杏仁 (1110004S) 10 g, 山药 (1103001S) 15 g 等均为中药配方颗粒, 由三九医药生产。

1.2 试剂 测定大鼠 TNF- α (CK-E30635R), IL-8 (CK-E30583R), sICAM-1 (CK-E30457R) IL-17 (CK-E30480R) 和 CRP (CK-E30459R) ELISA 试剂盒 (均为 R&D Systems 产品); 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)。

1.3 仪器 TGL-16GA 低温高速离心机 (上海安亭仪器厂), Powerwave XS 全波长扫描酶标仪 (美国 Bio-tek), 伯乐 1575 全自动酶标洗板机 (美国伯乐公司), 小动物肺功能测量系统 (TopScan, 吉安德尔科技有限公司), DU640 型紫外分光光度仪 (美国

BECKMAN), VCX500 型超声处理仪 (美国 SONICS)。

1.4 动物 6 月龄雄性 SD 大鼠 50 只, SPF 级, 雌雄各半, 体质量 (300 \pm 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 动物分组与给药

2.1.1 COPD 稳定期实验分组 大鼠被分为正常组, COPD 稳定期模型组、爱罗咳喘宁低、中、高剂量组, 每组 10 只。各组于第 13 周的第 1 天开始灌胃。

2.1.2 COPD 急性加重期实验分组 同稳定期。急性加重期模型制备完成次日开始灌胃。

2.1.3 给药方案 参考文献 [12], 正常组、模型组灌胃生理盐水 (15.52 mL \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹), 爱罗咳喘宁低、中、高剂量组分别灌胃 (7.75, 15.52, 31.04 g \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹), 连续 14 d。

2.2 COPD 稳定期和急性加重期大鼠模型 ①参照文献 [13-14] 以烟熏加滴菌的方法制备 COPD 稳定期大鼠模型: 吸取培养液或肺炎克雷伯杆菌菌液 0.1 mL (6 \times 10⁸ CFU \cdot mL⁻¹), 大鼠吸气时滴入鼻腔内, 1 次/5 d, 持续 12 周。大鼠置于 3.6 L 的密闭烟室, 烟熏箱烟雾浓度达到 50% 左右, 2 次/d, 30 min/次, 2 次烟熏间隔 3 h, 持续 12 周。12 周结束时, 随即抽取大鼠检验, 评价是否符合 COPD 病理特征。②于第 13 周开始, 制备慢性阻塞性肺疾病急性加重期大鼠模型: 将大鼠置于鼓风干燥箱中温度 (39 \pm 1) $^{\circ}$ C, 湿度 50%, 风速 1 m \cdot s⁻¹) 30 min/次, 2 次/d, 2 次间隔 3 h, 连续 9 d。于第 13 周的第 6 天经鼻腔滴入大剂量肺炎克雷伯杆菌 (6 \times 10¹⁴ CFU \cdot mL⁻¹), 2 次/d, 每次 0.3 mL, 连续 4 d, 测定有关指标。

2.3 标本制备与指标检测 ELISA 法测定血清, BALF, 肺组织匀浆中 sICAM-1, TNF- α , IL-8, IL-17 和 CRP 浓度, 均严格按照说明书操作。

2.3.1 血清制备 腹主动脉取血, 3 000 r \cdot min⁻¹ 离心 15 min, 取上清液。

2.3.2 支气管肺泡灌洗液 (BALF) 的制备 参考文

献[7]。

2.3.3 肺组织匀浆的制备 取各组大鼠右肺组织 1.0 g, 制备成 10% 的肺匀浆, 4 °C 离心 2 000 r · min⁻¹ 离心 10 min 收集上清液, -20 °C 冻存待测。

2.3.4 BALF 中炎细胞分类及计数 收集的 BALF 经瑞氏-姬姆萨染色进行细胞分类及计数。

2.4 统计学处理 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。数据处理在 SPSS 11.5 中进行, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 稳定期

3.1.1 稳定期 ELISA 检测

3.1.1.1 对 COPD 稳定期大鼠血清 sICAM-1, IL-8, TNF- α , IL-17 和 CRP 含量的影响 与正常组比较, 模型组血清 sICAM-1、TNF- α 、IL-8、IL-17 和 CRP 含量均显著升高 ($P < 0.05, P < 0.01$); 与模型组相比, 爱罗咳喘宁中、高剂量组 sICAM-1、TNF- α 、IL-8、IL-17 和 CRP 含量均显著降低 ($P < 0.05, P < 0.01$, 表 1)。

表 1 爱罗咳喘宁对各组 COPD 稳定期血清 sICAM-1, IL-8, TNF- α , IL-17 和 CRP 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 /g · kg ⁻¹	sICAM-1 /μg · L ⁻¹	TNF- α /μg · L ⁻¹	IL-8 /μg · L ⁻¹	IL-17 /μg · L ⁻¹	CRP /μg · L ⁻¹
正常	10	-	12.32 ± 0.41	4.54 ± 1.03	7.13 ± 0.31	11.32 ± 0.56	15.33 ± 1.04
模型	8	-	22.32 ± 0.27 ¹⁾	9.23 ± 1.32 ¹⁾	17.32 ± 0.37 ¹⁾	56.13 ± 1.78 ²⁾	97.45 ± 2.32 ²⁾
爱罗咳喘宁	8	7.75	18.31 ± 0.32 ³⁾	7.63 ± 0.34	15.35 ± 1.34	49.12 ± 1.73 ³⁾	55.41 ± 2.30
	9	15.52	13.22 ± 0.31 ³⁾	5.35 ± 1.27 ³⁾	12.23 ± 1.29 ³⁾	32.17 ± 0.39 ⁴⁾	45.73 ± 1.33 ⁴⁾
	9	31.04	14.35 ± 0.47 ³⁾	5.04 ± 1.08 ³⁾	13.31 ± 1.31 ³⁾	36.22 ± 1.65 ⁴⁾	43.57 ± 1.42 ⁴⁾

注: 与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~8 同)。

3.1.1.2 对 COPD 稳定期大鼠 BALF 中 sICAM-1, IL-8, TNF- α , IL-17 和 CRP 含量的影响 模型组 BALF 中 sICAM-1、TNF- α 、IL-8、IL-17 和 CRP 都显著

高于正常组 ($P < 0.05, P < 0.01$); 与模型组比较爱罗咳喘宁中、高剂量组中 sICAM-1、TNF- α 、IL-8、IL-17 和 CRP 都显著降低 ($P < 0.05, P < 0.01$, 表 2)。

表 2 爱罗咳喘宁对 COPD 稳定期大鼠 BALF 中 sICAM-1, IL-8, TNF- α , IL-17 和 CRP 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 /g · kg ⁻¹	sICAM-1 /μg · L ⁻¹	TNF- α /μg · L ⁻¹	IL-8 /μg · L ⁻¹	IL-17 /μg · L ⁻¹	CRP /μg · L ⁻¹
正常	10	-	14.23 ± 0.22	22.05 ± 2.12	8.17 ± 0.12	13.32 ± 0.45	8.56 ± 0.46
模型	8	-	29.35 ± 0.21 ¹⁾	33.27 ± 1.42 ¹⁾	18.31 ± 0.33 ²⁾	73.36 ± 0.33 ²⁾	50.54 ± 1.75 ²⁾
爱罗咳喘宁	8	7.75	19.25 ± 0.33 ³⁾	27.39 ± 2.43	16.15 ± 1.31	48.23 ± 0.25 ⁴⁾	40.42 ± 1.47 ³⁾
	9	15.52	16.43 ± 0.15 ³⁾	20.36 ± 3.02 ³⁾	13.19 ± 1.41 ³⁾	35.78 ± 0.23 ⁴⁾	31.43 ± 1.28 ⁴⁾
	9	31.04	17.16 ± 0.42 ³⁾	21.22 ± 2.41 ³⁾	14.22 ± 1.31 ³⁾	40.02 ± 0.12 ⁴⁾	34.23 ± 2.26 ⁴⁾

3.1.1.3 对 COPD 稳定期大鼠肺组织匀浆中 sICAM-1, IL-8, TNF- α , IL-17 和 CRP 含量的影响 模型组肺组织匀浆中 sICAM-1、TNF- α 、IL-8、IL-17 和 CRP 都显著高于正常组 (均 $P < 0.01$); 与模型组比较爱罗咳喘宁低、中、高剂量组中 sICAM-1、TNF- α 、IL-8、IL-17 和 CRP 都显著降低 ($P < 0.05, P < 0.01$, 表 3)。

3.1.2 稳定期各组大鼠 BALF 中炎细胞计数和分类比较 与正常组比较, 模型组 BALF 中炎细胞总

数和中性粒细胞数均显著增高 (均 $P < 0.05$)。与模型组比较, 爱罗咳喘宁中、高剂量组 BALF 中炎细胞计数、中性粒细胞和巨噬细胞数显著低于减少 ($P < 0.05, P < 0.01$, 表 4)。

3.2 急性加重期

3.2.1 急性加重期 ELISA 检测

3.2.1.1 对 COPD 急性加重期大鼠血清 sICAM-1, IL-8, TNF- α , IL-17 和 CRP 含量的影响 与正常组比较, 模型组血清 sICAM-1、TNF- α 、IL-8、IL-17 和

CRP 含量均显著升高 ($P < 0.05, P < 0.01$); 与模型组相比, 爱罗咳喘宁口服液中剂量组 sICAM-1, TNF- α , IL-8, IL-17 和 CRP 含量均显著降低 (均 $P < 0.05, P < 0.01$, 表 5)。

表 3 爱罗咳喘宁对各组 COPD 稳定期肺匀浆中 sICAM-1, IL-8, TNF- α , IL-17 和 CRP 含量影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of Ailuo Kechuanning on levels of sICAM-1, IL-8, TNF- α , IL-17 and CRP in lung homogenate of rats with stable period COPD ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹	sICAM-1 /ng·g ⁻¹	TNF- α /ng·g ⁻¹	IL-8 /ng·g ⁻¹	IL-17 /ng·g ⁻¹	CRP /ng·g ⁻¹
正常	10	-	154.33 ± 3.14	270.46 ± 1.18	102.56 ± 31.12	151.69 ± 13.85	195.14 ± 14.23
模型	8	-	351.46 ± 1.57 ²⁾	371.56 ± 4.78 ¹⁾	207.14 ± 39.83 ²⁾	1 186.24 ± 15.42 ²⁾	1 612.36 ± 5.132
爱罗咳喘宁	8	7.75	202.22 ± 13.14 ³⁾	281.34 ± 24.22 ³⁾	162.33 ± 31.32 ³⁾	863.51 ± 12.73 ⁴⁾	1 343.23 ± 4.87 ⁴⁾
	9	15.52	194.32 ± 32.14 ³⁾	203.57 ± 12.47 ³⁾	123.6 ± 51.55 ⁴⁾	653.84 ± 13.14 ⁴⁾	895.21 ± 14.54 ⁴⁾
	9	31.04	186.68 ± 21.17 ³⁾	222.38 ± 14.65 ⁴⁾	155.31 ± 23.14 ³⁾	735.75 ± 14.14 ⁴⁾	713.56.6 ± 16.43 ⁴⁾

表 4 各组 COPD 稳定期大鼠 BALF 中炎症细胞计数和分类 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 The count and classification of inflammatory cell in BALF of rats with stable period COPD ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹	炎细胞计数 /×10 ⁹ /L	炎细胞分类/%	
				N	M
正常	10	-	4.31 ± 0.32	56.37 ± 1.82	5.01 ± 0.65
模型	8	-	12.83 ± 0.28 ¹⁾	82.31 ± 1.37 ¹⁾	17.27 ± 1.31 ¹⁾
爱罗咳喘宁	8	7.75	11.31 ± 0.43 ³⁾	80.52 ± 1.70	10.72 ± 0.58 ³⁾
	9	15.52	6.23 ± 0.51 ³⁾	73.41 ± 2.45 ³⁾	8.89 ± 0.37 ⁴⁾
	9	31.04	8.56 ± 0.37 ³⁾	72.21 ± 1.32 ³⁾	8.53 ± 0.47 ⁴⁾

注: N 为中性粒细胞, M 为巨噬细胞 (表 8 同)。

表 5 爱罗咳喘宁对 COPD 急性加重期血清 sICAM-1, IL-8, TNF- α , IL-17 和 CRP 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effect of Ailuo Kechuanning on levels of sICAM-1, IL-8, TNF- α , IL-17 and CRP in serum of rats with acute exacerbation COPD ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹	sICAM-1 /μg·L ⁻¹	TNF- α /μg·L ⁻¹	IL-8 /μg·L ⁻¹	IL-17 /μg·L ⁻¹	CRP /μg·L ⁻¹
正常	10	-	13.11 ± 0.34	4.47 ± 1.21	11.21 ± 0.52	12.51 ± 0.38	17.43 ± 1.23
模型	8	-	24.53 ± 0.35 ¹⁾	11.37 ± 1.22 ¹⁾	20.11 ± 0.23 ¹⁾	67.48 ± 1.47 ²⁾	105.67 ± 1.42 ²⁾
爱罗咳喘宁	8	7.75	19.28 ± 0.25 ³⁾	9.34 ± 0.25	18.46 ± 1.41	56.71 ± 1.46 ³⁾	87.62 ± 1.21
	9	15.52	15.34 ± 0.31 ³⁾	7.45 ± 1.32 ³⁾	13.49 ± 1.32 ³⁾	35.31 ± 0.47 ⁴⁾	65.43 ± 1.28 ⁴⁾
	9	31.04	16.27 ± 0.36 ³⁾	6.15 ± 1.12 ³⁾	14.44 ± 1.47 ³⁾	37.15 ± 1.06 ⁴⁾	60.45 ± 1.32 ⁴⁾

3.2.1.2 对急性加重期各组 COPD 大鼠 BALF 中 sICAM-1, IL-8, TNF- α , IL-17 和 CRP 含量的影响 模型组 BALF 中 sICAM-1, TNF- α , IL-8, IL-17 和 CRP 均显著高于正常组 ($P < 0.05, P < 0.01$); 与模型组比较, 爱罗咳喘宁中、高剂量组中 sICAM-1, TNF- α , IL-8, IL-17 和 CRP 均显著降低 ($P < 0.05, P < 0.01$, 表 6)。

表 6 爱罗咳喘宁对 COPD 急性加重期 BALF 中 sICAM-1, IL-8, TNF- α , IL-17 和 CRP 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 6 Effect of ailuo kechuanning on levels of sICAM-1, IL-8, TNF- α , IL-17 and CRP in BALF of rats with acute exacerbation COPD ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹	sICAM-1 /μg·L ⁻¹	TNF- α /μg·L ⁻¹	IL-8 /μg·L ⁻¹	IL-17 /μg·L ⁻¹	CRP /μg·L ⁻¹
正常	10	-	15.46 ± 0.41	23.14 ± 1.23	8.37 ± 0.33	16.11 ± 0.35	9.43 ± 0.37
模型	8	-	32.49 ± 0.31 ¹⁾	37.31 ± 1.37 ¹⁾	20.76 ± 0.52 ²⁾	77.34 ± 0.27 ²⁾	113.12 ± 1.34 ²⁾
爱罗咳喘宁	8	7.75	27.34 ± 0.42 ³⁾	31.42 ± 1.25	18.34 ± 1.47	53.35 ± 0.37 ⁴⁾	82.31 ± 1.41 ³⁾
	9	15.52	18.38 ± 0.32 ³⁾	21.41 ± 1.32 ³⁾	14.36 ± 1.53 ³⁾	38.16 ± 0.41 ⁴⁾	50.74 ± 1.38 ⁴⁾
	9	31.04	17.37 ± 0.43 ³⁾	21.59 ± 1.31 ³⁾	15.34 ± 1.11 ³⁾	39.16 ± 0.24 ⁴⁾	60.12 ± 1.35 ⁴⁾

3.2.1.3 爱罗咳喘宁对急性加重期 COPD 大鼠肺组织匀浆中 sICAM-1, IL-8, TNF- α , IL-17 和 CRP 含量的影响 模型组肺组织匀浆中 sICAM-1, TNF- α , IL-8, IL-17 和 CRP 的含量均显著高于

正常组(均 $P < 0.01$);与模型组比较,爱罗咳喘宁低、中、高剂量组中 sICAM-1, TNF- α , IL-8, IL-17 和 CRP 的含量均显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),见表 7。

表 7 爱罗咳喘宁对 COPD 急性加重期肺匀浆中 sICAM-1, IL-8, TNF- α , IL-17 和 CRP 含量影响($\bar{x} \pm s$)

Table 7 Effect of ailuo kechuanning on levels of sICAM-1, IL-8, TNF- α , IL-17 and CRP in lung homogenate of Rats with acute exacerbation COPD($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	剂量 /g·kg ⁻¹	sICAM-1 /ng·g ⁻¹	TNF- α /ng·g ⁻¹	IL-8 /ng·g ⁻¹	IL-17 /ng·g ⁻¹	CRP /ng·g ⁻¹
正常	10	-	155.57 ± 4.65	264.58 ± 3.66	98.69 ± 4.87	152.76 ± 13.23	200.13 ± 1.32
模型	8	-	372.31 ± 2.37 ²⁾	402.63 ± 3.69 ¹⁾	252.13 ± 15.55 ²⁾	971.51 ± 14.94 ²⁾	1 622.43 ± 13.65 ²⁾
爱罗咳喘宁	8	7.75	284.58 ± 11.13 ³⁾	302.92 ± 13.87 ³⁾	221.42 ± 13.38 ³⁾	543.76 ± 14.58 ⁴⁾	985.22 ± 13.23 ⁴⁾
	9	15.52	203.22 ± 11.52 ³⁾	252.55 ± 14.58 ³⁾	162.36 ± 10.78 ⁴⁾	461.57 ± 13.44 ⁴⁾	622.47 ± 14.24 ⁴⁾
	9	31.04	195.78 ± 13.46 ³⁾	233.58 ± 13.55 ⁴⁾	184.58 ± 13.69 ³⁾	471.76 ± 2.288 ⁴⁾	673.44 ± 12.1 ⁴⁾

3.2.2 急性加重期各组大鼠 BALF 中炎症细胞计数和分类比较 与正常组比较,模型组 BALF 中炎症细胞总数和中性粒细胞数均显著增高(均 $P < 0.01$)。

与模型组比较,爱罗咳喘宁中、高剂量组 BALF 中炎症细胞计数、中性粒细胞和巨噬细胞数均显著低于减少($P < 0.05$, $P < 0.01$,表 8)。

表 8 各组 COPD 急性加重期大鼠 BALF 中炎症细胞计数和分类($\bar{x} \pm s$)

Table 8 The count and classification of inflammatory cell in BALF of rats with acute exacerbation COPD($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	剂量 /g·kg ⁻¹	炎症细胞计数 /×10 ⁹ /L	炎症细胞分类/%	
				N	M
正常	10	-	4.35 ± 0.36	62.15 ± 0.42	6.41 ± 0.57
模型	8	-	14.56 ± 0.17 ¹⁾	85.42 ± 0.43 ¹⁾	13.31 ± 0.28 ¹⁾
爱罗咳喘宁	8	7.75	12.29 ± 0.37 ³⁾	83.42 ± 0.45	10.72 ± 0.35 ³⁾
	9	15.52	8.23 ± 0.51 ³⁾	71.32 ± 0.32 ³⁾	8.19 ± 0.29 ⁴⁾
	9	31.04	9.56 ± 0.37 ³⁾	72.27 ± 0.41 ³⁾	8.21 ± 0.38 ⁴⁾

4 讨论

COPD 的临床表现属中医“咳嗽”、“痰饮”、“喘证”等范畴,中医认为其标在肺,其本在脾、肾。爱罗咳喘宁方由炙麻黄、苦杏仁、茯苓、苍术、姜半夏、葶苈子、干姜、麦芽、白术、山药、党参、芫花、赤芍等药物组成。燥湿化痰,祛痰平喘,健脾益气,固肾、益精,燥湿健脾,健脾和胃,活血祛瘀之功效^[9]。

COPD 的发病机制不清。气道与肺的持续炎症病变是 COPD 发病的关键^[6]。本研究结果显示,模型组 BALF 中炎症细胞总数和中性粒细胞数均高于均显著正常组(均 $P < 0.01$),与文献报道相近^[15]。提示中性粒细胞的支气管肺组织浸润起了重要作用。与模型组比较,爱罗咳喘宁低、中、高剂量组 BALF 中炎症细胞计数、中性粒细胞和巨噬细胞数显著低于模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),提示爱罗咳喘宁通过抑制中性粒细胞和巨噬细胞数增加起到抗炎

作用。

COPD 涉及炎症细胞及其释放的炎症介质。TNF- α 与中性粒细胞、白细胞数量存在正相关,它可刺激中性粒细胞黏附于血管内皮、渗出并释放中性粒细胞酶如蛋白酶、弹性酶等溶解细胞外基质,诱发炎症反应和肺组织损伤^[16]。在 COPD 患者血清中 TNF- α , IL-17 和 CRP 等普遍升高^[17-19]。COPD 发生发展中的炎细胞上黏附分子与内皮细胞相应的黏附分子相互作用,促进中性粒细胞黏附和迁移至血管外,参与炎症反应, sICAM-1 能够调节中性粒细胞迁移、滞留和活化,其中 sICAM-1 的黏附作用是多种炎症疾病的基础^[20]。

本研究结果显示,与正常组比较,模型组血清、BALF 和肺匀浆中 sICAM-1, TNF- α , IL-8, IL-17 和 CRP 水平均显著增高(均 $P < 0.01$),提示 sICAM-1, TNF- α , IL-8, IL-17 和 CRP 共同参与 COPD 炎症反

应;与模型组比较,爱罗咳喘宁中剂量组大鼠血清、BALF和肺组织匀浆中sICAM-1, TNF- α , IL-8, IL-17和CRP水平显著均低于模型组。提示爱罗咳喘宁可能通过抑制sICAM-1, TNF- α , IL-8, IL-17和CRP合成与释放,从而发挥抗炎作用。

[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): 321-323.

[2] 张伟, 谷明明, 孙璐璐, 等. 活血化瘀中药对 COPD 血管重塑的干预作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(8): 254-257.

[3] Rabe K F, Hurd S, Anzueto A, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease; GOLD executive summary [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2011, 176(6): 532-555.

[4] 朱健峰. COPD 患者肺功能易感性与感染严重程度的相关性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(6): 1253-1255.

[5] 王少飞, 张庆, 王聪颖, 等. 450 例 COPD 患者基本情况的回顾分析[J]. 基础医学与临床: 现代预防医学, 2013, 40(18): 3511-3513.

[6] Ross Vlahos, Steven Bozinovski. Recent advances in pre-clinical mouse models of COPD[J]. Clin Sci, 2014, 126(4): 253-256.

[7] 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 和肺组织病理变化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(12): 170-173.

[8] 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): 448-451.

[9] 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): 35-36.

[10] 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): 614-616.

[11] 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): 551-554.

[12] 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肺功能、血气指标及病理变化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(22): 105-110.

[13] 王至婉, 李建生, 王明航, 等. 慢性阻塞性肺疾病稳定期肺功能与证候分布规律的相关性[J]. 中医杂志, 2011, 52(16): 1376-1378.

[14] 李建生, 周红艳, 乔翠霞, 等. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期痰热证模型的建立与评价[J]. 中国中医基础医学杂志, 2010, 16(7): 553-556.

[15] Enrique Z F, Michael M, Alexander T, et al. Cardiovascular diabetology in the core of a novel interleukins classification the bad the good and the aloof [J]. Cardiovasc Diabetology, 2003, 2: 11-15.

[16] 高娟. 李素云. 王海峰. Toll 样受体与慢性阻塞性肺疾病发病机制的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2012, 29(2): 1978-1980.

[17] Herfs M, Hubert P, Poirrier A L, et al. Proinflammatory cytokines induce bronchial hyperplasia and squamous metaplasia in smokers: implications for chronic obstructive pulmonary disease therapy[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2012, 47(1): 67-79.

[18] 郭式敦, 蒋庆贺. COPD 的炎症机制[J]. 山东医药, 2010, 50(27): 106-107.

[19] 姚坚, 陈金亮, 陶一江. COPD 患者血清中 LTB₄ 和 TNF- α 的检测及其临床意义[J]. 临床肺科杂志, 2012, 17(3): 459-460.

[20] Gould J M, Weiser J N. Expression of C-reactive protein in the human respiratory tract [J]. Infect Immun, 2001, 69(3): 1747-1749.

[责任编辑 聂淑琴]