

DOI:CNKI;11-3495/R. 20110321. 1134. 008

瓜蒌薤白汤对肺纤维化形成阶段的干预作用

宋建平, 谢忠礼*, 李伟, 李瑞琴, 张瑞, 杨美凤
(河南中医学院, 郑州 450008)

[摘要] 目的:观察瓜蒌薤白汤对大鼠肺纤维化形成阶段(造模后 14~28 d)肺部病理损害和肺组织去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)含量的影响。方法:普通级雌性 Wistar 大鼠随机分为正常组、模型组、泼尼松组、瓜蒌薤白汤组。除正常组外,其余各组均采用气管内一次性注入平阳霉素($0.003 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体重)复制肺纤维化模型,造模 14 d 后,泼尼松组以泼尼松 $0.004 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体重 ig,瓜蒌薤白汤组以全瓜蒌 $2.04 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体重,薤白 $1.02 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体重 ig,第 28 天处死动物,比较各组肺指数、肺纤维化程度、肺组织 DA,NE,5-HT 含量。结果:模型组肺纤维化程度重于正常组、泼尼松组与瓜蒌薤白汤组($P < 0.05$),肺指数高于正常组与各用药组($P < 0.05$),肺组织 DA,NE,5-HT 含量高于正常组、泼尼松组($P < 0.05$);DA:模型组($60.57 \pm 8.47 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$),正常组($20.59 \pm 6.68 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$),泼尼松组($18.44 \pm 4.16 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$);NE:模型组($37.01 \pm 4.99 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$),正常组($26.91 \pm 1.90 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$),泼尼松组($23.06 \pm 5.64 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$);5-HT:模型组($88.87 \pm 5.02 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$),正常组($20.31 \pm 4.24 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$),泼尼松组($69.18 \pm 9.00 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$);瓜蒌薤白汤组 NE 含量($46.31 \pm 4.55 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$)明显高于模型组,DA($27.48 \pm 3.20 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$),5-HT($48.90 \pm 8.47 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$)含量低于模型组($P < 0.05$)。结论:瓜蒌薤白汤具有减轻肺纤维化模型形成阶段肺病理改变的作用;肺纤维化形成阶段肺中 DA,NE,5-HT 升高;瓜蒌薤白汤能抑制模型肺 DA,5-HT 含量的升高,增加模型肺中 NE 含量。

[关键词] 肺纤维化;瓜蒌薤白汤;去甲肾上腺素;多巴胺;5-羟色胺

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0140-04

Intervention of Gualou Xiebai Decoction on Pulmonary Fibrosis Formation Stage

SONG Jian-ping, XIE Zhong-li*, LI Wei, LI Rui-qin, ZHANG Rui, YANG Mei-feng
(Henan College of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Gualou Xiebai decoction to pathological lesion and dopamine (DA), norepinephrine (NE), 5-hydroxytryptamine (5-HT) in lung at stage of pulmonary fibrosis formation in rats. **Method:** The female Wistar rats were divided into control, model, prednisone and Gualou Xiebai decoction groups randomly. The model was induced by injected pingyangmycin in trachea only once. The drugs were used after 14 days as treatments. After 28 days of the model establishment, the rats were sacrificed. The lung index, pulmonary fibrosis degree, contents of DA, NE and 5-HT in lung tissue were evaluated and compared. **Result:** The pulmonary fibrosis degree was obviously severe in model than other groups ($P < 0.05$) and the lung index was high in the model than other groups ($P < 0.05$). The contents of DA, NE and 5-HT in lung tissue were obviously high in the model compared with the control and prednisone groups ($P < 0.05$). The contents of NE were obviously high than that in model group, but contents of DA and 5-HT were lower in Gualou Xiebai decoction than model group ($P < 0.05$).

[收稿日期] 20101119(003)

[基金项目] 河南省科技攻关项目(0424410103)

[第一作者] 宋建平,教授,医学硕士,硕士生导师,主要从事《金匮》病证、方药研究,E-mail:jc_sjping@hactcm.edu.cn

[通讯作者] * 谢忠礼,副教授,医学博士,硕士生导师,E-mail:ramboxzl@yahoo.com.cn

[网络出版时间] 2011-03-21 11:34

Conclusion: Gualou Xiebai decoction had the function to lessen lung pathology change in pulmonary fibrosis formation stage. The DA, NE and 5-HT were high in the pulmonary fibrosis formation stage. Gualou Xiebai decoction had the function to restrain the increase in DA and 5-HT and raise the NE content in model lung.

[**Key words**] pulmonary fibrosis; Gualou Xiebai Decoction; norepinephrine; dopamine; 5-hydroxyt

弥漫性肺间质纤维化(简称肺纤维化)以弥漫性肺泡炎、肺间质炎症和间质纤维化为组织学改变特点,是多种弥漫性肺间质疾病的不良转归。瓜蒌、薤白是《金匱》治疗胸痹痰浊痹阻证的主药,有报道瓜蒌、薤白等用于治疗因长期吸入大量含有游离二氧化硅的粉尘引起的肺纤维化获得良效,在 SARS 的治疗中,瓜蒌可有效的预防、抑制和改善肺纤维化^[1-2]。我们在前期研究工作中发现瓜蒌薤白汤能减轻大鼠肺纤维化模型不同阶段(造模后 1~7 d, 1~28 d)肺泡炎及纤维化的程度,并能影响肺和脑部 norepinephrine (NE), dopamine (DA), 5-hydroxyt (5-HT) 含量^[3-6]。本课题通过观察瓜蒌薤白汤对肺纤维化模型形成阶段(造模后 14~28 d)肺部病理损害及肺中 NE, DA, 5-HT 的影响并与前期研究结果比较,了解其对肺纤维化形成阶段的干预作用。

1 材料

1.1 动物 普通级健康 Wistar 大鼠,雌性,体重(200±20)g,由河南省动物实验中心提供,动物许可证号 410116。饲养于河南中医学院动物实验中心,室温(22±2)℃,相对湿度 60%,常规饲料喂养,饮水量不限。

1.2 药品 平阳霉素:哈尔滨博莱制药有限公司产品,批号 07010203。瓜蒌薤白汤颗粒剂:三九医药公司产品,全瓜蒌 1 g/袋(相当于饮片 10 g),批号 0612051;薤白 1 g/袋(相当于饮片 10 g),批号 0502151,均购于河南中医学院第三附属医院。全瓜蒌与薤白比例为 2:1,参照动物与人体的体表面积折算系数,计算动物每日用药量为 3.06 g·kg⁻¹ 体重。泼尼松片:浙江仙琚制药股份有限公司,批号 070608。多巴胺标准品:阿法埃莎(天津)化学试剂有限公司,批号 10097602。5-羟色胺对照品:阿法埃莎(天津)化学试剂有限公司,批号 10119987。去甲肾上腺素标准品:阿法埃莎(天津)化学试剂有限公司,批号 10131292。正丁醇:天津化学试剂一厂,批号 20070406。浓盐酸:洛阳昊华化学试剂厂,批号 20060208。正庚烷:天津化学试剂一厂,批号 20050828。邻苯二甲醛:天津化学试剂一厂,批

号 20060403。

1.3 仪器 F-4500 荧光分光光度计,日立(HITACHI)。HPIAS-1000 彩色病理图文分析系统,武汉清平公司产品。

2 方法

2.1 动物分组 实验大鼠正常饲养 3 d 后,按体重随机分为正常组、模型组、瓜蒌薤白汤 3.06 g·kg⁻¹ 组、泼尼松 0.004 g·kg⁻¹ 对照组,每组 12 只。

2.2 造模 除正常对照组正常饲养不作任何处理外,模型对照组及用药组按文献方法造模,大鼠麻醉后行颈正中切口,经气管软骨环间隙向心端穿刺注入平阳霉素生理盐水溶液 0.015 mL·kg⁻¹ (平阳霉素 0.003 g·kg⁻¹ 体重),立即将动物直立并行旋转,使药液在肺内分布充分、均匀,缝合皮肤。

2.3 用药 从造模后第 14 天开始,用药组和泼尼松组(0.004 g·kg⁻¹)分别 ig 药液 15 mL·kg⁻¹ 体重,模型组 ig 等量蒸馏水。每天给药 1 次,1 周后复查动物体重以调整给药量,各组于造模第 28 天处死。

2.4 肺脏系数及形态学 实验结束时称取动物体重,10% 的水合氯醛 10 mL·kg⁻¹ ip 麻醉大鼠,腹主动脉取血处死动物,分离气管和肺,完整摘取肺脏,剔除黏附在脏器上的脂肪和筋膜,用滤纸吸去表面血液或体液后称质量,计算肺指数,肺指数 = 肺质量(g) / 体重(kg)。肉眼观察肺脏病变情况,于右肺下叶外侧矢状面切取小块肺组织,立即固定备用。将剩余右肺于液氮中保存,以备制作肺组织匀浆。

2.5 肺脏病理组织学检查 取右肺下叶外侧矢状面小块组织用 4% 多聚甲醛固定液固定,常规脱水,石蜡包埋,切片厚 4~6 μm,每例均连续切片 2 张,贴于常规处理的洁净载玻片上,HE 染色,参照文献[7]方法确定肺纤维化(-~Ⅲ级)的程度:无纤维化(-);轻度纤维化(+):受累范围小于 20%;中度纤维化(++) :受累范围占全肺的 20%~50%,肺泡结构紊乱;重度肺纤维化(Ⅲ):受累范围大于 50%,肺泡融合,肺实质结构紊乱。

2.6 肺组织匀浆液中 NE, DA, 5-HT 含量检测 取右肺组织 0.5 g,研磨成匀浆,采用荧光分光光度法

检测。操作程序见文献[8]。

2.7 统计学处理 数据采用 SPSS 13.0 统计软件包处理,计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异性判断采用单因素方差分析,方差齐时用 LSD 法,方差不齐时用 Dunnett T_3 检验;肺纤维化程度为等级计数资料,采用 Radit 分析,以 R 值表示,组间 R 值的显著性检验采用 t 检验。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 肺指数比较 模型组肺指数明显高于正常组 ($P < 0.05$),用药组肺指数明显低于模型组 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组肺指数比较 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	肺指数/ $g \cdot kg^{-1}$
正常	-	$5.35 \pm 0.67^{1)}$
模型	-	8.74 ± 0.19
泼尼松	0.004	$6.60 \pm 0.42^{1)}$
瓜蒌薤白汤	3.06	$6.19 \pm 0.26^{1)}$

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 肺组织病理形态学观察

3.2.1 肺大体形态观察 正常组大鼠肺呈粉红色,表面光滑,外观无明显异常;模型组肺脏体积缩小,肺表面凹凸不平,呈暗红色,边缘有点状出血,弹性明显降低,表面有大小不等的灰白色结节。组间比较,泼尼松组与瓜蒌薤白汤组双肺色泽、体积、硬度、弹性、结节样改变等情况有所好转,颜色略暗红,表面较模型组光滑,肺弹性尚可,偶见点状灰白色斑块。

表 3 各组肺组织 NE, DA, 5-HT 比较 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	肺纤维化程度等级			P
		-	+	++	
正常	-	12	0	0	0.000 ¹⁾
模型	-	0	0	7	0.722
泼尼松	0.004	0	4	6	0.500 ¹⁾
瓜蒌薤白汤	3.06	0	6	4	0.431 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.2.2 肺病理组织学观察及半定量分析 正常组大鼠支气管、肺泡及肺泡间隔组织结构正常,无充血、水肿和炎症细胞浸润。模型组肺泡间隔明显增宽,成纤维细胞增生,胶原基质明显增多,炎症细胞浸润显著,肺泡结构破坏,部分肺泡腔萎缩、消失,肺纤维化病变等级多为 ++ ~ +++;肺纤维化分布不均匀,程度不等,表明肺纤维化模型复制成功。泼尼松组、瓜蒌薤白汤组与模型组比较,肺纤维化病变有不同程度减轻。各组肺纤维化程度经 Radit 分析,模型组明显高于正常组、泼尼松组与瓜蒌薤白汤组 ($P < 0.05$)。见表 2。

3.3 肺组织 NE, DA, 5-HT 比较 模型组肺组织 NE, DA, 5-HT 含量明显高于正常组、泼尼松组 ($P < 0.05$);瓜蒌薤白汤组 NE 含量明显高于模型组、正常组与泼尼松组,DA 含量低于模型组而高于泼尼松组 ($P < 0.05$),5-HT 含量低于模型组与泼尼松组 ($P < 0.05$)。见表 3。

ng · g⁻¹

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$;与泼尼松组比较³⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

以往运用肺纤维化疾病模型进行中药防治研究时,较少对疾病模型不同病变阶段的中医病机特点进行探讨;另一方面,从胶原代谢、细胞因子等方面研究中药作用机制较多,而从神经、内分泌与免疫系统方面研究中药作用机制较少。

现代医学认为神经系统、内分泌系统与免疫系统互相调控,形成了一个复杂的神经-内分泌-免疫网络,有关神经、内分泌、免疫系统彼此间信息传递

物质细胞因子、神经肽和激素等的研究已成为许多复杂性疾病的研究热点。肺不仅是呼吸器官,而且对许多物质具有灭活、激活、储存、释放及生成的作用,是调节 NE、肾上腺素、异丙肾上腺、DA、5-HT 等活性物质使机体内环境稳定的重要器官。研究显示血中的 NE 在通过肺循环一次后,活性下降 35%,肺还是 5-HT 移除和灭活的主要部位,肺内皮细胞代谢 5-HT 的能力降低,可导致循环 5-HT 水平升高^[9]。

根据文献及我们以前的观察,平阳霉素诱导的

肺纤维化大鼠早期(1~14 d)肺部主要表现为炎症反应,后期(14~28 d)转以间质纤维化为主。本研究从造模后14 d开始用药,观察瓜蒌薤白汤对平阳霉素所致肺纤维化形成阶段的干预作用,探索肺纤维化形成阶段中医基本病机及方药作用机制。研究表明,模型组大鼠肺指数明显高于正常组,细胞水肿、炎性渗出、毛细血管充血等因素造成的肺质量增加,可能是肺指数升高的原因。瓜蒌薤白汤组与泼尼松组肺指数低于模型组,肺纤维化程度轻于模型组,提示瓜蒌薤白汤与泼尼松均有减轻肺纤维化模型形成阶段肺部病理损害的作用,肺纤维化形成阶段可能存在痰浊痹阻病机。

模型组肺组织 NE, DA, 5-HT 含量明显高于正常组($P < 0.05$),提示在肺纤维化形成阶段肺组织 NE, DA, 5-HT 含量均明显升高,其中 5-HT 含量升高幅度大于 NE, DA, 这可能是由于肺部病理损害而影响了上述物质尤其是 5-HT 的调节;泼尼松组 DA, NE, 5-HT 含量与瓜蒌薤白汤组 DA, 5-HT 含量均明显低于模型组($P < 0.05$),提示泼尼松与瓜蒌薤白汤均有阻止模型肺组织 DA, 5-HT 含量升高的作用,泼尼松并有阻止模型肺组织 NE 含量升高的作用,这可能与上述两药减轻模型肺部病理损害的作用有关;瓜蒌薤白汤组肺 NE 含量高于模型组($P < 0.05$),提示其可能促使模型肺组织 NE 含量升高;瓜蒌薤白汤组 DA 含量明显高于泼尼松组而 5-HT 含量低于泼尼松组($P < 0.05$),提示泼尼松与瓜蒌薤白汤对肺纤维化模型形成阶段肺组织 NE, DA, 5-HT 含量的影响有不同之处。

我们前期研究表明肺纤维化模型早期阶段(造模后 7 d)瓜蒌薤白汤组肺 NE 含量低于模型组($P < 0.05$),DA 含量高于模型组而 5-HT 含量低于模型组,但差异无统计学意义;肺纤维化模型造模后第

2d 开始用瓜蒌薤白汤至 28 d 时,瓜蒌薤白汤组肺 NE, DA 均含量低于模型组($P < 0.05$),5-HT 含量亦低于模型组肺但差异无统计学意义。结合本实验结果,提示在肺纤维化不同病变阶段及用药时间的不同,瓜蒌薤白汤对肺组织 NE, DA, 5-HT 的影响可能不完全相同,肺纤维化病变过程中肺组织 NE, DA, 5-HT 含量变化及意义和治疗药物对其的影响有待进一步观察、研究。

[参考文献]

- [1] 游祖生,朱维葵. 矽肺病从胸痹论治探讨[J]. 实用中西医结合杂志,1991,4(9):534.
- [2] 陈津生. 关于寒疫和 SARS 的中医治疗[J]. 中医杂志,2003,44(9):716.
- [3] 宋建平,李瑞琴,李伟,等.《金匱》不同方药对肺纤维化模型早期阶段的影响(一)[J]. 中华中医药杂志,2006(11):692.
- [4] 宋建平,李伟,李瑞琴,等.《金匱要略》不同方药对肺纤维化模型早期阶段(7 d)肺、脑组织 NE, DA, 5-HT 含量的影响[J]. 中华中医药杂志,2009(5):568.
- [5] 宋建平,刘方州,潘梦菲,等. 栝蒌薤白汤对肺纤维化大鼠肺组织 NE, DA, 5-HT 含量及 BALF 中细胞分类计数的影响[J]. 北京中医药大学学报,2003(6):36.
- [6] 宋建平,楚瑞芬,刘方州,等. 栝蒌薤白汤对肺纤维化大鼠支气管肺泡灌洗液中层粘连蛋白、Ⅲ型前胶原含量的影响[J]. 北京中医药大学学报,2002(4):29.
- [7] 何冰,赵桂荣,刘新民,等. 白细胞介素-1 受体拮抗剂对肺间质纤维化的影响[J]. 中华结核和呼吸杂志,1994,17(1):21.
- [8] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1993:207.
- [9] 娄艾琳. 5-羟色胺的生理和病理生理[M]. 北京:人民卫生出版社,1988:52.

[责任编辑 聂淑琴]