

# 肺心通对慢性肺源性心脏病模型大鼠白介素 8、 肿瘤坏死因子 $\alpha$ 水平的影响

孙 杰<sup>\*</sup>, 赵鸿亮, 王俊霞, 吴立文  
(甘肃中医学院, 甘肃 兰州 730000)

[摘要] 目的: 探讨肺心通对慢性肺源性心脏病(CPHD)模型大鼠的治疗效果及作用机理。方法: Wistar 大鼠用野百合碱(MCT,  $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 1 次腹腔注射复制 CPHD 大鼠模型, 以肺心通混悬液治疗, 21 d 后, 行支气管肺泡灌洗液(BALF) 细胞总数及分类计数, 测定大鼠血清、肺组织匀浆、肺泡灌洗液(BALF) 中白介素 8(IL-8)、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) 的含量, 肺组织切片在光镜、电镜下观察病理形态改变。结果: 经治疗后, 肺心通混悬液对上述检测指标的水平有明显抑制作用( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ), 在光、电镜下观察对大鼠肺血管内皮细胞的损伤有一定的修复作用。结论: 肺心通药物对 CPHD 大鼠有较好的治疗作用。

[关键词] 慢性肺源性心脏病; 肺心通; 野百合碱; 支气管肺泡灌洗液; 白介素 8; 肿瘤坏死因子  $\alpha$

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)09-0037-04

## Effects of Feixintong Capsules on the Levels of IL-8 and TNF- $\alpha$ in Rat Model of Chronic Pulmonary Heart Disease

SUN Jie<sup>\*</sup>, ZHAO Hong-liang, WANG Jun-xia, WU Li-wen  
(Gansu College of TCM, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To research the effect and the mechanism of Feixintong on rat model of chronic pulmonary heart disease(CPHD). **Methods:** 50 Wistar rats were randomly divided into five groups. Rats were given a single injection of monocrotaline(MCT,  $60 \mu\text{g/g}$ ) to induce the model of CPHD. The Feixintong groups were treated by suspension in 21 days, then total white cell counts and differential counts and interleukin-8(IL-8) and tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) were examined. Lung organism slices were observed with microscope. **Results:** The examined items of the Feixintong groups were lower than the model groups ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ), endotheliocytes were repaired by Feixintong. **Conclusions:** Feixintong has good efficacy for treatment of rat model of CPHD.

[收稿日期] 2007-02-01

[基金项目] 甘肃省中医管理局(2004-GZK-07)

[通讯作者] \* 孙杰, Tel: (0931) 8635287

[ Key words ] chronic pulmonary heart disease; Feixintong; monocrotaline; bronchoalveolar lavage fluid; interleukin-8; tumor necrosis factor- $\alpha$

慢性肺原性心脏病(CPHD)是老年人的常见病、疑难病,随人口老龄化、空气污染、吸烟危害等因素的影响,其发病率及病死率仍然很高,根据国内近年的统计,肺心病患病率为 0.41%~0.47%<sup>[1]</sup>。肺动脉高压(PH)是肺心病发病的先决条件,缺氧性肺血管收缩(HPV)和肺血管结构重建(PVR)是形成 PH 的重要病理生理过程<sup>[2]</sup>。本课题以野百合碱(MCT)诱导 CPHD 大鼠模型,从大鼠支气管肺泡灌洗液(BALF)细胞计数及分类、血清、肺组织匀浆、肺泡灌洗液(BALF)中白介素 8(IL-8)、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平的测定以及观察肺组织病理形态改变,研究肺心通对 CPHD 模型大鼠的治疗效果及作用机理。

### 1 材料

1.1 实验动物 Wistar 大鼠 50 只,雌雄各半,体重(200±20)g,(3~4)月龄,SPF 级,合格证号:SCXK(甘)2004-007,甘肃中医学院动物实验中心提供。饲养于 SPF 级实验室中,充足饮食,室温(18~25)℃,湿度 50%~80%,合格证号:SYXK(甘)2004-006。

1.2 药品与试剂 肺心通(岷当归、黄芪、葶苈子、桂枝、赤芍、细辛、地鳖虫、茯苓、甘草)由甘肃中医学院附属医院药剂科提供(1g·mL<sup>-1</sup>);MCT,购自美国 Sigma 公司,批号:046K1-252,配制成 2% 水溶液,(2~8)℃保存;IL-8、TNF- $\alpha$  放射免疫试剂盒,批号:20060725,购自北京科美东雅生物技术有限公司。

### 2 方法

2.1 动物分组 50 只 Wistar 成年大鼠随机分为 5 组,空白对照组、模型对照组、肺心通大、中、小剂量组,每组 10 只,雌雄各半。

2.2 造模与给药 除空白对照组外,其余各组均一次性腹腔注射 MCT,60 mg·kg<sup>-1</sup><sup>[3]</sup>,21 d 后形成 PH 模型。在造模的同时开始灌胃给药,每日 1 次。按

人与大鼠体表面积折算成大鼠等效剂量:肺心通大、中、小剂量组分别为 30 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,15 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,7.5 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>;同时空白对照组和模型对照组灌服等容量的生理盐水,21 d 后开始检测指标。

2.3 标本采集与处理 用 20% 的乌拉坦(1g·kg<sup>-1</sup>)腹腔注射麻醉大鼠,股静脉取血,分离血清;开胸行左肺支气管肺泡灌洗,离心取上清液;取右肺组织,匀浆、离心取上清液,以上均-70℃保存,用于 IL-8 及 TNF- $\alpha$  测定。BALF 经冲洗、离心取细胞悬液,计细胞总数,并将 BALF 细胞平铺于载玻片上,固定,HE 染色,行细胞分类计数。于右肺取材两份,一份用 4% 甲醛固定,包埋、切片,HE 染色,行光镜观察并摄片,用图像分析软件测定肺细小动脉腔面积/总面积(EA/TA),中膜面积/总面积(WA/TA),中膜厚度/外径(WD/TD)的比值变化;另一份用以 3% 戊二醛前固定,1% 锇酸后固定,脱水、渗透、包埋、聚合、修块、超薄切片,醋酸双氧铀-枸橼酸铅双重染色,行电镜观察肺组织超微结构变化并摄片。

2.4 观察指标及方法 在光学显微镜下行细胞分类计数;大鼠 BALF、血清、肺组织匀浆标本均严格按照试剂盒说明的步骤进行测定;光镜检查在甘肃中医学院动物实验中心生化及病理教研室完成,电镜检查在兰州大学医学院电镜室完成。

2.5 统计学方法 用 SPSS11.5 统计软件,全部数据以均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$  为有统计学意义。

### 3 结果

3.1 各组大鼠 BALF 中白细胞计数及分类比较 结果见表 1。与空白对照组比较,模型对照组大鼠 BALF 中白细胞总数、中性粒细胞数、淋巴细胞数、巨噬细胞数明显升高( $P < 0.01$ ):与模型对照组比较,肺心通大、中、小剂量组下降( $P < 0.05$ )。

表 1 大鼠 BALF 中白细胞及分类计数比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	n	白细胞计数 ( $\times 10^9 \cdot L^{-1}$ )	细胞分类计数(白细胞计数%)		
				中性粒细胞	淋巴细胞	巨噬细胞
空白对照组	—	9	0.34 ± 0.06 <sup>2)</sup>	12.21 ± 1.13 <sup>2)</sup>	21.40 ± 1.20 <sup>2)</sup>	3.36 ± 0.67 <sup>2)</sup>
模型对照组	—	10	1.62 ± 0.08	40.07 ± 1.29	36.67 ± 1.21	9.15 ± 0.64
肺心通大剂量组	30	9	0.99 ± 0.07 <sup>1)</sup>	31.96 ± 2.30 <sup>1)</sup>	29.92 ± 1.38 <sup>1)</sup>	6.62 ± 0.68 <sup>1)</sup>
肺心通中剂量组	15	9	1.13 ± 0.06 <sup>1)</sup>	34.25 ± 1.28 <sup>1)</sup>	31.09 ± 2.20 <sup>1)</sup>	7.22 ± 0.80 <sup>1)</sup>
肺心通小剂量组	7.5	9	1.22 ± 0.05 <sup>1)</sup>	36.21 ± 1.46 <sup>1)</sup>	33.10 ± 1.37 <sup>1)</sup>	7.80 ± 0.46 <sup>1)</sup>

注:与模型对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ 。(下同)

**3.2 大鼠 IL-8 和 TNF- $\alpha$  水平变化比较** 模型对照组大鼠较空白对照组, BALF、血清、肺组织匀浆中 IL-8、TNF- $\alpha$  水平明显升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型对照组比较, 肺心通大、中、小剂量组则下降 ( $P < 0.05$ ), 见表 2, 3。

表 2 IL-8 水平变化比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 ( $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ )	n	IL-8( $ng \cdot mL^{-1}$ )		
			BALF	血清	肺组织匀浆
空白对照组	—	9	0.255 $\pm$ 0.039 <sup>2)</sup>	0.134 $\pm$ 0.025 <sup>2)</sup>	0.222 $\pm$ 0.027 <sup>2)</sup>
模型对照组	—	10	1.224 $\pm$ 0.031	1.133 $\pm$ 0.033	0.923 $\pm$ 0.021
肺心通大剂量组	30	9	0.762 $\pm$ 0.029 <sup>1)</sup>	0.695 $\pm$ 0.061 <sup>1)</sup>	0.619 $\pm$ 0.017 <sup>1)</sup>
肺心通中剂量组	15	9	0.954 $\pm$ 0.025 <sup>1)</sup>	0.940 $\pm$ 0.046 <sup>1)</sup>	0.732 $\pm$ 0.030 <sup>1)</sup>
肺心通小剂量组	7.5	9	1.049 $\pm$ 0.031 <sup>1)</sup>	1.001 $\pm$ 0.058 <sup>1)</sup>	0.827 $\pm$ 0.028 <sup>1)</sup>

表 3 TNF- $\alpha$  水平变化比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 ( $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ )	n	TNF- $\alpha$ ( $ng \cdot mL^{-1}$ )		
			BALF	血清	肺组织匀浆
空白对照组	—	9	1.509 $\pm$ 0.458 <sup>2)</sup>	1.418 $\pm$ 0.249 <sup>2)</sup>	1.290 $\pm$ 0.347 <sup>2)</sup>
模型对照组	—	10	10.183 $\pm$ 0.878	8.386 $\pm$ 0.374	9.059 $\pm$ 0.534
肺心通大剂量组	30	9	5.008 $\pm$ 0.556 <sup>1)</sup>	4.436 $\pm$ 0.318 <sup>1)</sup>	6.401 $\pm$ 0.320 <sup>1)</sup>
肺心通中剂量组	15	9	7.128 $\pm$ 0.719 <sup>1)</sup>	6.574 $\pm$ 0.229 <sup>1)</sup>	7.782 $\pm$ 0.178 <sup>1)</sup>
肺心通小剂量组	7.5	9	8.147 $\pm$ 0.650 <sup>1)</sup>	7.345 $\pm$ 0.343 <sup>1)</sup>	8.294 $\pm$ 0.304 <sup>1)</sup>

### 3.3 各组大鼠肺组织病理形态的改变

**3.3.1 光镜** 空白对照组大鼠肺血管内皮细胞扁平, 分布均匀, 厚薄较一致; 内膜、中膜、外膜清楚, 管腔较大见图 1。模型对照组大鼠肺血管内皮细胞肿胀, 呈立方或柱状突向血管腔内, 部分坏死、脱落; 中膜平滑肌明显增生, 厚度比例明显增大, 以腺泡动脉为著, 管腔明显狭窄, 以致闭塞见图 2。肺心通大剂量组大鼠肺血管内皮细胞肿胀减轻, 中膜平滑肌细胞数量减少, 中膜厚度比例减小, 内膜完整, 管壁增厚及管腔狭窄程度均有减轻见图 3, 肺心通中剂量、小剂量组次之见图 4、图 5。大鼠 EA/TA、WA/TA、WD/TA、WD/TD 的比值变化见表 4。

表 4 肺心通药物对大鼠 EA/TA、WA/TA、WD/TA、WD/TD 的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 ( $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ )	n	EA/TA (%)			WA/TA (%)			WD/TA (%)			WD/TD (%)		
			EA/TA (%)	WA/TA (%)	WD/TA (%)	EA/TA (%)	WA/TA (%)	WD/TA (%)	EA/TA (%)	WA/TA (%)	WD/TA (%)	EA/TA (%)	WA/TA (%)	WD/TA (%)
空白对照组	—	9	39.30 $\pm$ 1.12 <sup>2)</sup>	17.03 $\pm$ 2.85 <sup>2)</sup>	14.93 $\pm$ 1.18 <sup>2)</sup>	17.43 $\pm$ 1.43	32.34 $\pm$ 3.50	27.61 $\pm$ 1.15	25.98 $\pm$ 2.05 <sup>1)</sup>	20.68 $\pm$ 2.61 <sup>1)</sup>	17.46 $\pm$ 2.02 <sup>1)</sup>	21.54 $\pm$ 1.08 <sup>2)</sup>	24.04 $\pm$ 1.77 <sup>1)</sup>	20.92 $\pm$ 2.22 <sup>1)</sup>
模型对照组	—	10	17.43 $\pm$ 1.43	32.34 $\pm$ 3.50	27.61 $\pm$ 1.15	25.98 $\pm$ 2.05 <sup>1)</sup>	20.68 $\pm$ 2.61 <sup>1)</sup>	17.46 $\pm$ 2.02 <sup>1)</sup>	21.54 $\pm$ 1.08 <sup>2)</sup>	24.04 $\pm$ 1.77 <sup>1)</sup>	20.92 $\pm$ 2.22 <sup>1)</sup>	20.67 $\pm$ 1.88 <sup>1)</sup>	26.15 $\pm$ 1.49 <sup>1)</sup>	21.78 $\pm$ 2.01 <sup>1)</sup>
肺心通大剂量组	30	9	25.98 $\pm$ 2.05 <sup>1)</sup>	20.68 $\pm$ 2.61 <sup>1)</sup>	17.46 $\pm$ 2.02 <sup>1)</sup>	21.54 $\pm$ 1.08 <sup>2)</sup>	24.04 $\pm$ 1.77 <sup>1)</sup>	20.92 $\pm$ 2.22 <sup>1)</sup>	20.67 $\pm$ 1.88 <sup>1)</sup>	26.15 $\pm$ 1.49 <sup>1)</sup>	21.78 $\pm$ 2.01 <sup>1)</sup>			
肺心通中剂量组	15	9	21.54 $\pm$ 1.08 <sup>2)</sup>	24.04 $\pm$ 1.77 <sup>1)</sup>	20.92 $\pm$ 2.22 <sup>1)</sup>									
肺心通小剂量组	7.5	9	20.67 $\pm$ 1.88 <sup>1)</sup>	26.15 $\pm$ 1.49 <sup>1)</sup>	21.78 $\pm$ 2.01 <sup>1)</sup>									

**3.3.2 电镜** 空白对照组大鼠肺血管内皮细胞分布均匀, 厚薄一致; 肺泡结构正常, 肺泡壁薄; 气-血屏障正常, 肺泡腔无渗出物。模型对照组大鼠内皮

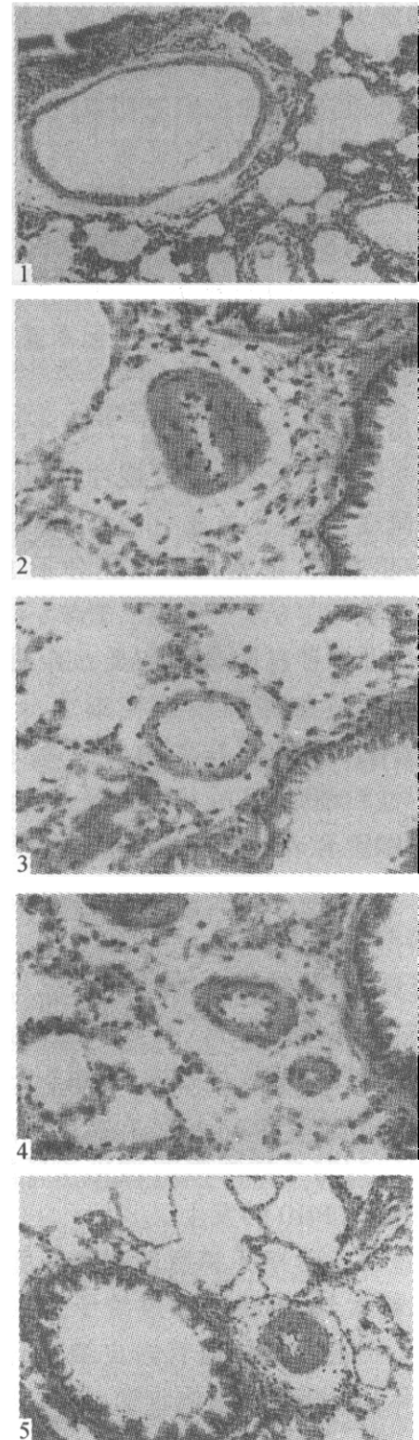


图 1~5 肺血管组织切片 HE  $\times 100$

1. 空白对照组; 2. 模型对照组; 3. 肺心通大剂量组; 4. 肺心通中剂量组; 5. 肺心通小剂量组

细胞变性肿大、坏死、脱落。肺心通大剂量组内皮细胞稍肿胀, 无血栓形成, 基底膜结构较模糊。肺心通中剂量组内皮细胞肿胀, 血管腔闭塞, 基底膜较清晰。肺心通小剂量组无显著变化, 内皮细胞肿胀, 血栓形成, 板层小体肿胀, 较中剂量重。

### 4 讨论

CPHD 属中医“咳嗽”、“痰饮”、“心悸”、“喘证”、“肺胀”等范畴, 在急性发作期以咳、痰、喘等为主证,

缓解期以肺脾肾亏虚为主,兼有痰瘀为特点。痰瘀互阻是 CPHD 的主要病机特点,且贯穿其始终。肺心通具有益气通络,活血化瘀之功效,经多年临床验证,疗效确切。现代药理研究证明,当归、赤芍、地鳖虫具有降低血小板聚集和抗血栓作用,当归对肺动脉高压模型的大鼠肺动脉有扩张作用<sup>[4]</sup>;黄芪、茯苓具有增强机体免疫作用;葶苈子、桂枝、细辛具有强心作用。全方辨病与辨证相结合,标本兼顾,配伍严谨,针对性强。

CPHD 由慢性支气管炎引起,其特性改变为气流受阻、气道炎症细胞浸润,导致慢性缺氧、肺动脉高压。CPHD 缺血、缺氧导致血管内皮细胞损伤,中性粒细胞进一步聚集,细胞内的粘连分子-1(ICAM-1)表达增加,致使 TNF- $\alpha$  水平升高。TNF- $\alpha$  可激活中性粒细胞,能促进多种黏附分子和炎症介质的合成与释放<sup>[5]</sup>,导致上皮细胞和中性粒细胞分泌 IL-8 增加<sup>[6]</sup>,使血清中 IL-8 水平升高,IL-8 升高又强有力的趋化激活中性粒细胞、嗜酸粒细胞等炎性细胞,使激活的中性粒细胞合成释放 TNF- $\alpha$  等细胞因子和炎症介质<sup>[7]</sup>,进一步加重 CPHD 气道炎症反应,造成肺组织病理损害的连锁反应。

实验发现,大鼠经肺心通药物治疗后,BALF 中白细胞总数、中性粒细胞数、淋巴细胞数、巨噬细胞数明显下降,大鼠 BALF 及血清、肺组织匀浆中 IL-8 和 TNF- $\alpha$  水平明显下降,尤以肺心通大剂量组为著,说明肺心通能抑制炎性细胞的趋化和释放,减轻炎症和损伤,防止 CPHD 的发生。

CPHD 重要病理特征和病理基础是肺血管收缩和肺血管结构重建,本实验通过给予大鼠一次性腹腔注射 MCT,引起大鼠肺血管内皮细胞的损伤及炎症反应,进而引起肺血管结构改变,导致肺动脉压升

高。结果表明,模型对照组大鼠的肺组织病理形态在光、电镜下均观察到肺动脉内皮细胞肿胀、变性和坏死脱落,伴血小板性血栓形成,基本符合人类 CPHD 的特征性病理改变。经服用肺心通,在光镜下可观察到大鼠肺血管内皮细胞肿胀、毛细血管损坏及血栓形成等均有所减轻,肺内肌型动脉和肺腺泡动脉中膜厚度比例减小,中膜面积变小,管壁变薄,管腔扩大;在电镜下发现对大鼠内皮细胞肿胀、血栓形成、板层小体肿胀、气-血屏障破坏及基底膜破坏等均有一定程度的改善,尤其以肺心通大剂量组为著。说明肺心通对 CPHD 模型大鼠肺组织病理形态的损害有一定的修复和治疗作用。

#### [参考文献]

- [1] 陈灏珠.内科学[M].北京:人民卫生出版社,1998.24.
- [2] Botney MD, Bahadori L., Gold LI. Vascular remodeling in primary pulmonary hypertension. Potential role for transforming growth factor-beta[J]. Am J Pathol, 1994, 144(2): 95-286.
- [3] Tyler RC, Muramatsu M, Abman SH, *et al.* Variable expression of endothelial NO synthase in three forms of rat pulmonary hypertension[J]. Am J Physiol, 1999, 276: 297-303.
- [4] 郑凌,段福生,张珍祥.当归对肺血管扩张作用的实验和临床研究[J].同济医科大学学报,1991,20(6):398.
- [5] 孙耕耘.肿瘤坏死因子与急性肺损伤[J].国外医学科学与临床生理、病理分册,1992,2(1):20.
- [6] Takasaki J., Ogawa Y. Interleukin-8 in the tracheobronchial aspirate of infants acts as a neutrophil chemotactic factor in the development of chronic lung disease[J]. Pediatrics, 1999, 103: 41: 78.
- [7] Smith WB, Gamble JR, Clark Lewis I, *et al.* Interleukin 8 induces neutrophil transendothelial migration [J]. Immunology, 1991, 72(1): 65-72.