

鱼金萆颗粒对 AECOPD 模型大鼠血清 IL-8、TNF- α 及 CRP 的影响*

宋欠红, 樊 睿, 苏玉杰, 李云华, 朱虹江, 叶 勇

(云南中医学院第一附属医院, 云南 昆明 650021)

摘要: 目的 观察鱼金萆颗粒对慢性阻塞性肺疾病急性加重(AECOPD)模型大鼠血清白细胞介素-8(IL-8)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及 C 反应蛋白(CRP)的影响。方法 将 Wistar 大鼠 72 只,随机分为空白对照组、模型组、鱼金萆颗粒低剂量组、鱼金萆颗粒中剂量组、鱼金萆颗粒高剂量组、地塞米松组。采用烟雾吸入加脂多糖灌肺复合因素建立 AECOPD 大鼠模型。应用鱼金萆颗粒干预。采用 ELISA 法测定血清 IL-8、TNF- α 及 CRP 的含量。结果 鱼金萆颗粒组与模型组比较血清 IL-8、TNF- α 及 CRP 均有统计学意义($P<0.05$)。结论 鱼金萆颗粒对 AECOPD 模型大鼠血清 IL-8、TNF- α 及 CRP 有明显的干预作用,能够有效降低 IL-8、TNF- α 及 CRP 的水平。

关键词: 鱼金萆颗粒; AECOPD 模型大鼠; IL-8; TNF- α ; CRP

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1000-2723(2016)02-0005-03

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.02.002

慢性阻塞性肺病(COPD)是一种以免疫炎症为特征的疑难疾病^[1]。慢性阻塞性肺病急性加重(AECOPD)病理机制复杂,多种因素导致的肺实质及肺血管慢性炎症是发病的关键^[2]。炎症细胞释放多种活性物质,参与慢性炎症的发生。本实验通过观察鱼金萆颗粒对慢性阻塞性肺病模型大鼠血清 IL-8、TNF- α 及 CRP 的影响,探讨其对 AECOPD 的作用机理。结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

取清洁级健康雄性 Wistar 大鼠 72 只,鼠龄 16 周,体质量 260~300g,由昆明医科大学动物中心提供,合格证号:SCXK(滇)2013-0004。动物饲养室为清洁级,控制温度(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,实验前 1 周在实验环境中饲养。

1.2 药物与试剂

鱼金萆颗粒,具体组方:鱼腥草、金荞麦、葶苈子、川芎、桔梗、水蛭、地龙(规格:10g/袋,每袋相当于含原生药 10g,由云南中医学院第一附属医院制剂室提供)^[3]。成人每日用量为 60g,实验动物与成人用药量的换算方法:人用量(体质量 70kg) $\times 0.018$ =

大鼠(体质量 200g)用量^[4-6]。该方法计算结果为中剂量,其 1/2 剂量为低剂量组,2 倍为高剂量组。IL-8、TNF- α 试剂盒,用酶联免疫吸附法,采用相应的 ELISA 检测试剂盒(TNF- α 检测试剂盒购于晶美生物工程有限公司,IL-8 检测试剂盒购于美国 R&D 公司)检测,按照试剂盒说明书操作。脂多糖购自广州齐云生物技术有限公司(由美国 Sigma 公司生产)。香烟购自昆明卷烟厂生产云烟牌香烟,焦油含量 19mg,尼古丁 1.2mg。地塞米松片购自广东三才石岐制药股份有限公司,规格 0.75mg/片。碘伏购自洛阳市尚春生物科技有限公司。

1.3 主要仪器

AEU-210 型电子天平(日本岛津厂生产);722 型分光光度计(上海第二分析仪器厂生产);80-2 型离心机(上海手术器械厂生产);电光源光学显微镜 Olympus-BX60(日本 Olympus)。

1.4 造模与分组

参照宋一平等采用烟雾吸入加脂多糖灌肺复合因素建立 COPD 大鼠模型^[7-10]。在造模的第 1 天、第 14 天将大鼠以 10%水合氯醛 2.4mL/Kg 腹腔注射麻醉后,暴露喉头,以静脉套管针替代气管导管

* 基金项目: 云南省科技计划项目(2013FZ208);国家中医药管理局 2013 年全国名老中医药专家传承工作室陈乔林工作室建设项目(国中医药人教发[2013]47 号)

收稿日期: 2016-03-09

作者简介: 宋欠红(1978-),男,陕西合阳人,讲师,主要研究方向:中医内科心肺病。

行气管插管,向大鼠气管内注入脂多糖(LPS)200 μ g(μ g/ μ L),完毕后大鼠直立旋转 5~10s(旋转速度:1 周/秒),使 LPS 均匀分布于肺部。第 2~13 天、第 15~28 天,每天在有机玻璃密闭箱(80cm $\times$ 60cm $\times$ 50cm,4 个侧面均有一直径为 1cm 的通气孔)持续吸入新鲜的香烟雾(昆明卷烟厂生产云烟牌香烟,焦油含量 19mg,尼古丁 1.2mg)30min,10 支/d,造模 28d 结束。空白对照组仅在第 1、14 天气管内滴注等量的生理盐水,置于正常无烟环境中饲养。病理组织学观察发现模型大鼠出现肺气肿的特征性改变如支气管管壁结缔组织增生,平滑肌增厚,肺泡结构紊乱,肺泡间隔破裂,肺泡腔扩大,部分相互融合成肺大疱等,证实慢性阻塞性肺病大鼠模型建立成功。

1.5 实验给药

空白对照组大鼠正常饲养,每天灌服等量生理盐水;其余组进行 COPD 造模,模型组在 COPD 造模的同时,亦正常饲养,每天灌服等量生理盐水;鱼金葶颗粒低、中、高组大鼠在制备 COPD 模型的同时,于每天熏香烟后按 2.7,5.4,10.8g/kg 的剂量分别灌服鱼金葶颗粒;地塞米松组给予醋酸地塞米松片 0.9mg/kg,灌服。

1.6 观察指标

各组动物造模 28d 结束后,先将动物称重,腹腔内注入 10%水合氯醛(2.4mL/Kg)^[11-12]。麻醉生效后,将大鼠仰卧位固定,碘伏消毒皮肤,切开腹壁组织,暴露腹主动脉,在腹主动脉处 5 号采血针采血 5mL,放于试管中待血液自然凝固、室温 3000r/min 离心 15min 后,取上清液即血清分装于 ependor 管置于 -20℃ 冰箱。用 ELISA 法检测血清中 IL-8、TNF- α 、CRP 含量,严格按照试剂说明书进行检测。

1.7 统计学方法

采用 SPSS21.0 统计软件进行统计分析,各组数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,运用方差分析进行统计学处理, $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 鱼金葶颗粒对血清 IL-8、TNF- α 影响

鱼金葶颗粒低、中、高剂量组与模型组比较,均可以明显降低 IL-8 水平,有统计学意义($P<0.05$);鱼金葶颗粒低、高剂量组与模型组比较,可以明显降低 TNF- α 水平,有统计学意义($P<0.05$);鱼金葶颗粒高剂量组与地塞米松组比较,IL-8、TNF- α 均有统计学意义($P<0.05$)。结果见表 1。

表 1 各组血清 IL-8、TNF- α 的比较($\bar{x}\pm s$, pg/mL)

组别	n	IL-8	TNF- α
空白对照组	10	53.31 $\pm$ 5.56	562.9 $\pm$ 21.92
模型组	12	94.91 $\pm$ 10.01	681.0 $\pm$ 46.39
地塞米松组	11	83.45 $\pm$ 6.95	644.5 $\pm$ 30.24
鱼金葶颗粒低剂量组	11	56.21 $\pm$ 11.64*	603.7 $\pm$ 104.4*
鱼金葶颗粒中剂量组	11	59.87 $\pm$ 5.77*	626.9 $\pm$ 39.74
鱼金葶颗粒高剂量组	12	64.89 $\pm$ 11.46*	597.1 $\pm$ 55.82*

注:鱼金葶颗粒组与模型组比较,* $P<0.05$

2.2 鱼金葶颗粒对血清 CRP 影响

鱼金葶颗粒低、中、高剂量组与模型组比较,均可以明显降低 CRP 水平,有统计学意义($P<0.05$)。结果见表 2。

表 2 各组血清 CRP 的比较($\bar{x}\pm s$, ng/mL)

组别	n	CRP
空白对照组	10	1534 $\pm$ 59.02
模型组	12	1763 $\pm$ 60.74
地塞米松组	11	1685 $\pm$ 60.82
鱼金葶颗粒低剂量组	11	1597 $\pm$ 103.2*
鱼金葶颗粒中剂量组	11	1579 $\pm$ 30.32*
鱼金葶颗粒高剂量组	12	1556 $\pm$ 97.03*

注:鱼金葶颗粒组与模型组比较,* $P<0.05$

3 讨论

慢性阻塞性肺病急性加重期炎症趋化物质尤其是 TNF- α 、IL-8 在血清中表达。炎症细胞释放多种活性物质,参与慢性炎症的发生,IL-8、TNF- α 是其中较重要的炎症因子^[13-14]。支气管、肺组织的炎症、损伤、修复、重塑是 COPD 不断进展的病理基础,细胞外基质过度沉积与小气道平滑肌层增厚共同构成 COPD 气道重塑的病理基础^[15-16]。

该研究发现,鱼金葶颗粒具有明确的抑制炎症介质的作用,对于血清中的 TNF- α 、IL-8、CRP 与模型组对比均有统计学意义。根据药理研究表明,方中鱼腥草以清解肺热见长,为治肺痈之要药,对金黄色葡萄球菌、肺炎双球菌、流感杆菌有明显的抑制作用;金荞麦既可清热解毒,又善排脓祛瘀;川芎,水蛭,地龙具有缓解支气管痉挛,活血化瘀、改善微循环作用。该方配伍使用后,能够起到清热化痰、活血化瘀、止咳宣肺的作用,能够显著抑制炎症介质的释放^[17]。

但其量效关系尚不明确,可以进一步观察鱼金葶颗粒的量效关系及毒副作用。该研究显示,鱼金

葶颗粒低、中、高剂量与抗炎反应并不呈正相关,在 IL-8 方面,低剂量抑制效应更强。对于 CRP 的抑制方面,剂量与抑制效应呈正相关。有待于进一步研究其量效关系,进行深入研究药理作用及药物剂量。

参考文献:

- [1] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版)[J]. 中华结核和呼吸杂志,2013,36(4):255-264.
- [2] 宋一平,崔德健,茅培英. 慢性阻塞性肺病大鼠模型的建立及药物干预的影响 [J]. 军医进修学院学报,2001,22(2):99-102.
- [3] 金朝晖,彭芝配,藤久祥,等. 慢性阻塞性肺疾病痰热郁肺证大鼠模型建立的研究 [J]. 湖南中医药大学学报,2008,28(4):17-19.
- [4] 柯宏刚,丁海兵,董汉宣,等. Caspase 抑制剂早期干预对吸烟型肺气肿大鼠肺泡结构保护的实验研究 [J]. 南通大学学报(医学版),2011,31(2):113-118.
- [5] 施焕中. 慢性阻塞性肺疾病[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:299-345,379-391.
- [6] 宋欠红,李琴,叶勇,等. 鱼金方对慢性阻塞性肺病急性加重期炎症介质(IL-8,TNF- α)的影响[J]. 云南中医中药杂志,2011,32(9):12-14.
- [7] 汪珊珊,汪电雷,陶秀华,等. 脂多糖诱导的慢性阻塞性肺病模型大鼠肺支气管上皮 MRP1 功能分析 [J]. 中国实验动物学报,2014,22(3):30-34.
- [8] 耿东升,李学强,陈雪莲. 瘤果黑种草子提取物对慢性阻塞性肺病大鼠模型肺部炎症的影响 [J]. 中成药,2014,36(8):1758-1761.
- [9] 林琳,于旭华,许银姬,等. 健脾益肺 II 号对熏烟联合脂多糖诱导大鼠肺组织氧化/抗氧化失衡的调节及超微结构的影响[J]. 南京中医药大学学报,2015,31(1):39-43.
- [10] 梁喜章,曹勇,陈伟军,等. 补肾益肺化痰法对大鼠慢性阻塞性肺病肺功能的影响 [J]. 时珍国医国药,2010,21(11):2897-2898.
- [11] 汤森,胡建军,刘多,等. 山腊梅提取物对慢性阻塞性肺病大鼠炎症细胞、C 反应蛋白、白细胞介素-8 水平的影响[J]. 中国老年学杂志,2016,36(1):26-28.
- [12] 夏敬文,陈小东,张斯为,等. 大鼠慢性阻塞性肺病模型体内 TNF- α 和 VEGF 含量的变化及其意义 [J]. 复旦学报(医学版),2006,33(3):372-375.
- [13] 汪电雷,张弦,陶秀华,等. 化痰降气胶囊对 COPD 模型大鼠支气管上皮细胞中多药耐药相关蛋白 1 功能和表达的影响 [J]. 中国中西医结合杂志,2012,32(7):955-959.
- [14] 刘颖,蔡哲,张洪春,等. 固本止咳中药对 COPD 模型小鼠脾、胸腺指数及 Th1/Th2 失衡的影响[J]. 中华中医药杂志,2015,30(2):504-506.
- [15] 谢文英,张良芝,常学辉,等. 爱罗咳喘宁口服液对慢性阻塞性肺疾病大鼠血清白细胞介素-9 和白细胞介素-8 的影响[J]. 中国老年学杂志,2016,36(2):786-787.
- [16] 雷国燕,雷章恒,钟红卫,等. 中医药治疗 COPD 对 IL-8, TNF- α 影响的研究 [J]. 辽宁中医药大学学报,2012,14(3):78-81.
- [17] 冯立志,单丽因,黄纯美,等. 益气化痰方对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺泡灌洗液中 AQP5、TNF- α 和 MUC5AC 的影响[J]. 广州中医药大学学报,2016,33(1):80-83.

(编辑:徐建平)

Yujin Ting Granule on Serum IL-8 of Rats with AECOPD, TNF- α and CRP

SONG Qianhong, FAN Rui, SU Yujie, LI Yunhua, ZHU Hongjiang, YE Yong

(The First Affiliated Hospital of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650021, China)

ABSTRACT: **Objective** To observe the effect of Yujin Ting granule on serum IL-8 AECOPD model rats, effects of TNF- α and CRP. **Methods** Divided 72 Wistar rats, randomly divided into blank control group, model group, Yujin Ting granule low dose group, Yujin Ting granule medium dose group, Yujin Ting granule high-dose group, dexamethasone group. Using dexamethasone inhalation plus LPS lung perfusion of compound factors to establish the rat model of AECOPD. The application of Yujin Ting granule intervention. Scope of determination of serum IL-8 by the method of ELISA, TNF- α and CRP containing alpha the amount of particles. **Results** The Yujin Ting granule group compared with the model group, the serum IL-8, TNF- α and CRP were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Yujin Ting granule on serum IL-8 scape of rats with AECOPD, TNF- α and CRP have a significant intervention effect, can effectively reduce IL-8, TNF- α and CRP level.

KEY WORDS: Yujin Ting granule; rats model of AECOPD; IL-8; TNF- α ; CRP