

电针预处理对脂多糖诱导的急性肺损伤大鼠炎性细胞因子及水通道蛋白 5 的影响^{*}

黄文彪¹, 张新芳^{1△}, 刘自兵², 卞海¹, 舒琦²,

李庚儒¹, 李肖晴¹, 刘小云², 陶青青¹

(1. 安徽中医药大学中西医结合学院, 安徽 合肥 230038; 2. 安徽中医药大学针灸推拿学院, 安徽 合肥 230038)

摘要: **目的** 探讨电针足三里穴预处理对脂多糖(LPS)诱导的急性肺损伤(ALI)大鼠的干预作用及可能机制。**方法** 将SD大鼠随机分为正常、ALI4h、ALI6h、针刺+ALI4h和针刺+ALI6h组,ALI4h、ALI6h组大鼠气管内用LPS(2mg/kg)分别滴注4h和6h以诱导ALI,后两组大鼠在针刺预处理双侧足三里穴1周后于气管内分别滴注LPS4h和6h。各组均取血、支气管肺泡灌洗液(BALF)及肺组织,计算BALF中白细胞总数及肺湿/干比(W/D),HE染色观察肺组织形态,ELISA方法检测血浆中AQP₅、IL-1 β 、IL-6、IL-10、TNF- α 和BALF中AQP₅水平,免疫组化方法观察肺组织AQP₅表达。**结果** 与正常组比较,ALI4h组白细胞计数、W/D增高($P<0.05$)、肺泡总面积和肺组织面积之比(A/t)降低($P<0.05$)以及IL-1 β 、IL-10、TNF- α 含量显著增高($P<0.001$);ALI6h组IL-6和IL-10含量明显增高($P<0.01$);ALI4h、ALI6h组AQP₅含量显著降低($P<0.001$)、积分光密度(IOD)明显降低($P<0.01$)。与ALI4h组比较,针刺+ALI4h组白细胞计数与W/D降低($P<0.05$)、IL-1 β 与TNF- α 含量降低($P<0.05$)、血浆及BALF中AQP₅含量均升高($P<0.05$),针刺+ALI6h组血浆AQP₅含量有升高($P<0.05$)。**结论** 电针足三里穴预处理对LPS诱导的ALI大鼠具有抗炎、降低肺水肿的保护作用,且在诱导4h时的ALI中更佳,其机制可能与电针下调炎性细胞因子和上调AQP₅的表达有关。

关键词: 急性肺损伤; 水通道蛋白 5; 电针预处理; 足三里; IL-1 β ; IL-6; IL-10; TNF- α

中图分类号: R245.9+7

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2017)05-0013-05

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2017.05.003

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是由各种致病因素导致的肺泡上皮及毛细血管内皮屏障发生急性炎症损伤及肺泡、肺间质水肿,促使急性进行性血氧过低的呼吸窘迫症,最终形成呼吸衰竭,甚至死亡,是呼吸系统的危重症^[1]。近年来,其发病率和死亡率逐年升高,严重威胁到人类的生命健康。肺内炎症效应细胞(如中性粒细胞)介导的肺微血管通透性增高及肺水肿是急性肺损伤的病理基础^[2],并且弥漫性的炎性细胞活化和炎性细胞因子泛滥会造成机体的免疫反应失控,它们对ALI的发病机制起关键性作用^[3]。

在肺与大肠相表里的中医理论指导下,采用针刺干预急性重症胰腺炎早期ALI的大鼠,对肺组织具有明显的保护作用^[4];针刺预处理能够抑制ALI大鼠血

浆中IL-1 β 的表达^[5];电针足三里穴预处理能减轻肺缺血再灌注损伤小鼠的肺水肿程度^[6],但它们的作用机制未完全阐明,而水通道蛋白(aquaporin, AQP_s)是一组与水通透性有关的细胞膜转运蛋白,其中AQP₅在ALI中对维持肺泡内外水平衡的稳态起到重要的作用^[7]。但是尚不知电针预处理能否通过调节炎性细胞因子和AQP₅从而改善ALI,故本实验通过观察电针预处理对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的ALI大鼠炎性细胞因子及AQP₅含量的变化,探讨电针对ALI的干预效应及其可能的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料

雄性SD大鼠40只,体质量(220 $\pm$ 30)g,由江苏

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金(81102660, 81373743);安徽省大学生创新创业项目(2014067)

收稿日期: 2017-10-22

作者简介: 黄文彪(1995-),男,安徽六安人,在读本科生,研究方向:针刺作用机制。

Δ 通信作者: 张新芳, E-mail: xzfzhang2009@126.com

常州卡文斯实验动物有限公司提供(生产许可证号 SCXK(苏)2011-003)。脂多糖(Sigma 公司,批号 20150906),AQP₅、IL-1 β 、IL-6、IL-10、TNF- α 酶联免疫分析试剂盒(RD 公司,批号分别为:E-30358、E-30418、E-30644、E-30649、E-30633),AQP₅ 一抗(美国 abcam,货号:ab78486),二抗(北京中杉生物)。SDZ-V 型电子针疗仪(中国苏州医疗用品厂有限公司),光学显微镜(日本 Olympus 公司的 DX53)。

1.2 动物分组及处理

雄性 SD 大鼠 40 只适应性饲养 1 周后,随机分为正常组、ALI4h、ALI6h、针刺+ALI4h 及针刺+ALI6h 共 5 组,每组 8 只。正常组大鼠不做任何处理,ALI4h、ALI6h 组大鼠均在气管内滴注 LPS (2mg/kg) 以制作急性肺损伤模型,分别于 4h 和 6h 末取材。针刺+ALI4h 及针刺+ALI6h 组大鼠均在 LPS 滴注造模前进行针刺预处理,选大鼠双侧足三里穴位进行电针,电针仪参数选用 4/20Hz 交替频率,强度为 1~3mA,以大鼠后肢轻微颤动为度。每天针刺 30min,连续 1 周。

1.3 检测方法及指标

1.3.1 肺湿干重比(W/D)测定和 BALF 中白细胞计数

取大鼠左肺,称湿重(W)后,置于 60℃ 恒温烤箱中,烘烤 72h 后测量干重(D),计算 W/D。取支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF),显微镜下计数。

1.3.2 肺组织病理形态学观察

大鼠抽取血样后,腹主动脉放血处死,取右肺上中叶肺组织,给予 4% 甲醛固定,石蜡包埋,切片,苏木精-伊红(haematoxylin-eosin, HE)染色,每只大鼠随机取 3 个不同视野,200 倍显微镜下进行摄片,Image-Proplus6.0 图像分析软件计算肺泡总面积和肺组织总面积,取均数。计算肺泡总面积与肺组织面积之比(the ratio of total alveolus area to tissue area, A/t)。

1.3.3 ELISA 方法检测血浆 IL-1 β 、6、10、TNF- α 、AQP₅ 及 BALF 中 AQP₅ 的含量

取大鼠腹主动脉血置于抗凝管,4℃ 3500r/min 离心 15min,取上清。大鼠处死后开胸,抽取 3mL 生理盐水,分两次灌洗支气管和肺,抽出灌洗液,4℃ 3500r/min 离心 15min,取上清。采用生物素双抗体夹心酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血浆中白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-6、IL-10,肿瘤坏死因子(tumor necrosis

factor, TNF)- α 、AQP₅ 及 BALF 中 AQP₅, 操作程序严格按照说明书操作。结果用酶标仪测量 450nm 波长的吸光度(OD 值),计算出对应的样品浓度。

1.3.4 肺组织免疫组织化学及检测 AQP₅ 表达

大鼠右肺石蜡切片脱蜡至水,磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)浸泡 5min,采用高压修复,自然冷却,PBS 洗 3 次,3% H₂O₂ 室温孵育 8min, PBS 洗 3 次,滴加一抗(1:150),37℃ 孵育 90min, PBS 洗 3 次,滴加二步法二抗,37℃ 孵育 30min, PBS 洗后 DAB 显色,苏木精复染,脱水透明,封片。染色成棕黄色颗粒者为 AQP₅ 阳性表达细胞,每张切片随机取 3 个视野,显微镜下 200 倍拍照,IPP6.0 图像软件分析每个视野下 AQP₅ 阳性表达的积分光密度(integrated optical density, IOD)值,取均值。

1.4 统计学方法

应用 SPSS17.0 软件进行统计学分析。实验数据以“均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)”表示,多组数据的比较采用单因素方差分析,组间数据的比较采用 LSD 法,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 BALF 中白细胞计数及湿干比

与正常组比较,ALI4h 组白细胞计数和 W/D 均增高($P<0.05$, $P<0.01$); ALI6h 组有增高趋势($P>0.05$)。与 ALI4h 组比较,ALI6h 组 W/D 降低($P<0.05$),针刺+ALI4h 组白细胞计数和 W/D 均降低($P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠 BALF 中白细胞计数和湿干比(W/D)的比较($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	白细胞计数($\times 10^8/L$)	W/D
正常组	65.50 $\pm$ 14.00	6.71 $\pm$ 0.28
ALI4h	170.80 $\pm$ 58.47*	7.31 $\pm$ 0.17**
ALI6h	149.50 $\pm$ 64.67	6.89 $\pm$ 0.13#
针刺+ALI4h	102.18 $\pm$ 53.83#	6.87 $\pm$ 0.30#
针刺+ALI6h	140.83 $\pm$ 51.87	6.79 $\pm$ 0.29

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与 ALI4h 组比较,# $P<0.05$

2.2 肺组织形态与肺泡总面积和肺组织面积比

正常组肺组织形态结构完整,ALI4h 和 ALI6h 组可见肺间隔增厚伴水肿,肺组织中大量炎性细胞浸润。针刺+ALI4h、针刺+ALI6h 组肺水肿程度减轻,炎性细胞浸润减少,肺泡间隔变窄。见图 1。

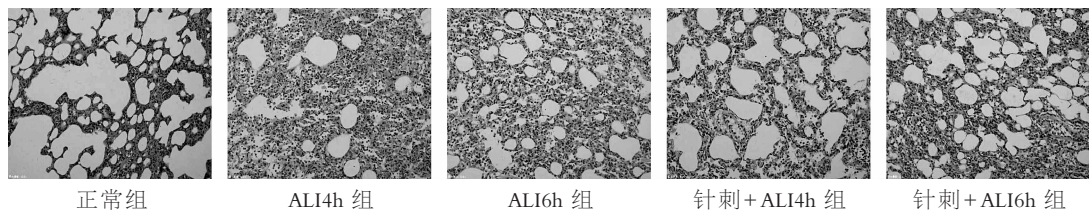


图 1 光镜下各组大鼠肺组织形态结构(HE 染色,×200)

与正常组比较,ALI4h 组 A/t 降低($P<0.05$)。与 ALI4h 组比较,ALI6h 组和针刺+ALI4h 组 A/t 均升高,但无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠肺泡总面积和肺组织面积比(A/t) 的比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	A/t
正常组	53.85 ± 19.99
ALI4h	$32.26\pm 9.40^*$
ALI6h	37.45 ± 17.07
针刺+ALI4h	40.43 ± 11.49
针刺+ALI6h	41.55 ± 4.90

注:与正常组比较,* $P<0.05$

表 3 各组大鼠血浆中 IL-1 β 、IL-6、IL-10 以及 TNF- α 含量比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	IL-1 β (ng/L)	IL-6 (ng/L)	IL-10 (ng/L)	TNF- α (ng/L)
正常组	15.70 ± 1.01	72.84 ± 3.15	26.27 ± 1.03	124.55 ± 16.41
ALI4h	$19.59\pm 2.92^{***}$	81.96 ± 10.17	$33.20\pm 1.64^{***}$	$159.90\pm 18.04^{***}$
ALI6h	$16.75\pm 0.97^{###}$	$90.82\pm 19.45^{**}$	$31.36\pm 1.50^{***}$	$139.67\pm 19.96^{\#}$
针刺+ALI4h	$17.68\pm 1.41^{\#}$	79.78 ± 7.29	31.87 ± 2.67	$137.36\pm 10.02^{\#}$
针刺+ALI6h	16.09 ± 1.49	$78.80\pm 7.10^{\$}$	30.43 ± 2.12	135.95 ± 12.54

注:与正常组比较,** $P<0.01$,*** $P<0.001$;与 ALI4h 组比较, $^{\#}P<0.05$;与 ALI6h 组比较, $^{\$}P<0.05$

2.4 血浆和 BALF 中 AQP₅ 含量

与正常组比较,ALI4h、ALI6h 组 AQP₅ 含量均显著降低($P<0.001$),且 ALI4h 组下降更明显($P<0.05$, $P<0.001$);与 ALI4h 组比较,针刺+ALI4h 组 AQP₅ 含量均增高($P<0.05$, $P<0.001$)。与 ALI6h 组比较,针刺+ALI6h 组 AQP₅ 含量在血浆中有增高($P<0.05$)。

表 4 各组大鼠血浆和 BALF 中 AQP₅ 含量比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	血浆 (ng/L)	BALF (ng/L)
正常组	455.01 ± 46.86	495.15 ± 19.42
ALI4h	$299.10\pm 39.13^{***}$	$284.27\pm 43.86^{***}$
ALI6h	$333.89\pm 17.39^{####}$	$349.42\pm 7.70^{####}$
针刺+ALI4h	$334.46\pm 13.87^{\#}$	$333.70\pm 4.82^{###}$
针刺+ALI6h	$370.83\pm 23.36^{\$ \Delta}$	$363.50\pm 13.60^{\Delta}$

注:与正常组比较,*** $P<0.001$;与 ALI4h 组比较, $^{\#}P<0.05$,#### $P<0.001$;与针刺+ALI4h 组比较, $^{\Delta}P<0.05$;与 ALI6h 组比较, $^{\$}P<0.05$

2.3 血浆中 IL-1 β 、IL-6、IL-10 以及 TNF- α 含量

与正常组比较,ALI4h 组 IL-1 β 、IL-10、TNF- α 含量均显著增高($P<0.001$),ALI6h 组 IL-6、IL-10 显著增高($P<0.01$, $P<0.001$),且 ALI4h 组中的 IL-1 β 、TNF- α 含量要高于 ALI6h 组($P<0.01$, $P<0.05$),表明用 LPS 诱导 ALI4h 和 6h,均可不同程度激活炎症细胞因子的释放,且以 4h 为甚。见表 3。

与 ALI4h 组比较,针刺+ALI4h 组 IL-1 β 、TNF- α 含量降低($P<0.05$);与 ALI6h 组比较,针刺+ALI6h 组 IL-6 含量降低($P<0.05$),表明针刺预处理能抑制 ALI 大鼠的部分炎症细胞因子的释放。见表 3。

表明针刺预处理对 LPS 诱导 4h 的 ALI 的作用更明显。见表 4。

2.5 AQP₅ 的免疫表达

光镜下可见 AQP₅ 阳性表达为棕黄色颗粒,主要表达于细胞膜及细胞浆,见图 2。与正常组比较,ALI4h、ALI6h 组 AQP₅ 的 IOD 值均显著降低($P<0.001$, $P<0.01$)。与 ALI4h 组比较,针刺+ALI4h 组 IOD 值有增高但无统计学差异($P>0.05$)。见表 5。

表 5 大鼠肺 AQP₅ 免疫表达的 IOD 值比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	IOD
正常组	11.95 ± 0.91
ALI4h	$9.62\pm 0.74^{***}$
ALI6h	$9.75\pm 1.36^{**}$
针刺+ALI4h	10.28 ± 1.14
针刺+ALI6h	10.26 ± 1.12

注:与正常组比较,** $P<0.01$,*** $P<0.001$

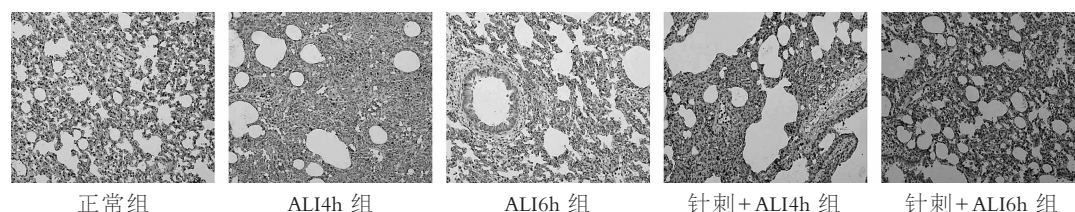


图 2 大鼠肺组织 AQP₅ 的表达 (×200)

3 讨论

LPS 滴入气管内后,多种效应细胞如中性粒细胞等在肺内聚集、表达,分泌大量促炎介质,引起抗炎介质分泌相对不足,导致体内促炎/抗炎介质严重失衡;同时促炎介质将会进一步启动炎症级联反应最终导致 ALI 的发生^[8]。从实验中可以看出,大鼠气管内滴入 LPS 后,肺组织出现明显水肿、大量炎细胞浸润及肺间隔明显增厚等典型 ALI 病理改变,因而本实验成功复制了 ALI 模型。有研究通过比较内毒素经尾静脉注射 (5mg/kg)、腹腔注射 (8mg/kg) 及支气管滴注 (2mg/kg) 致大鼠 ALI 模型的优劣,发现大鼠造模 4h 处死后,支气管滴注途径造模最符合 ALI 模型的实验要求^[9],为本实验提供了剂量与时间选择的依据。本实验也可以看出 LPS 4h 比 6h 诱导的损伤程度要严重。

在 LPS 的作用下,肺泡巨噬细胞产生 TNF- α 等促炎因子,其中 TNF- α 可进一步诱导 IL-1 β 和 IL-6 的生成。TNF- α 、IL-1 β 被认为是引起 ALI 的关键细胞因子,具有相互协同作用^[10];Hierholzer^[11]发现正常小鼠吸入 IL-6 后出现肺水肿,证明 IL-6 对肺有损伤作用,而 Waxman^[12]发现 IL-6 可减少内皮损伤从而对细胞起保护作用,因此 IL-6 是一种具有双重作用的细胞因子,其在急性肺损伤中的功能有待进一步研究。石计朋等^[13]研究发现降低 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的分泌可以减轻 ALI 大鼠炎症反应,减轻肺部损伤。IL-10 作为一种重要的抗炎因子,可广泛抑制 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等炎症介质,上调抗炎介质,有利于体内炎症介质/抗炎介质平衡的重建^[14]。本研究发现 ALI4h、ALI6h 组与正常组相比 IL-10 含量都显著增高,且 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 也都有增高。因而,通过调节不同促炎介质和抗炎介质来减轻肺部炎症反应可能是 ALI 保护的重要措施之一。

针灸改善肺功能和治疗呼吸系统疾病的研究,历来为针灸界所重视^[15]。足三里,足阳明胃经之要穴,

为历代医家十分推崇的临床常用穴位,如清代吴亦鼎《神灸经论》曰:“肺积,名息奔灸右肋下,尺泽、章门、足三里。”其具有健脾和胃、调理大肠、补益气血、行气活血、疏通经络之功。既能补虚,又能泻实;既能清热,又能温寒;还为重要保健要穴之一。胡森等^[16]研究表明针刺足三里具有很好的抗炎和器官保护作用。本研究中,电针足三里穴预处理 1 周后,下调了 ALI4h 和 6h 组大鼠血清中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 含量,表明电针足三里有助于减轻肺内的炎症反应,抑制促炎性因子的释放,且电针对白细胞数量、肺形态有改善,提示针刺对肺脏具有一定的抗炎保护作用。针刺下调了 IL-10 的水平,可能有助于纠正促炎和抗炎因子的失衡,减缓或阻止 ALI 的进一步发展。

水通道蛋白 (AQP_s) 是一种膜运输蛋白,决定对水分子的选择通透性,其主要生理功能是介导自由水被动跨膜转运,保持细胞内外环境的稳态^[17]。在肺组织,AQP_s 是肺泡上皮细胞与毛细血管间水渗透性跨膜转运的主要途径。近年来发现 AQP₅ 与肺脏的关系最为密切,AQP₅ 属于水通道蛋白家族中的一员,在啮齿类动物中主要位于 I 型肺泡上皮的顶膜和黏膜下层腺体的腺泡上皮顶膜中表达^[18],目前已知肺部感染、慢性阻塞性肺疾病、肺癌、哮喘、肺水肿等多种疾病的发病均与 AQP₅ 的表达改变及功能异常有关^[19]。LPS 诱导的 ALI 会导致肺泡上皮细胞及毛细血管内皮细胞损伤,造成弥漫性肺间质及肺泡水肿。大鼠 ALI 的肺水肿可能与 AQP₅ 的表达下调有关^[20]。本实验中 ALI4h 和 ALI6h 组 AQP₅ 均有显著下降,与上述的研究结果相近。同时,肺水肿的严重程度与急性肺损伤的预后相关,因此改善肺水肿对于其转归具有重要意义,上调 AQP₅ 的表达可以有效缓解急性肺损伤^[21]。本研究中针刺预处理后大鼠血浆和 BALF 中 AQP₅ 的含量均出现了显著增高,提示针刺足三里可促进 ALI 时肺中水液代谢的能力,降低肺水肿。

综上所述,电针足三里穴预处理对 LPS 诱导的

ALI 大鼠具有抗炎、降低肺水肿的保护作用,且在诱导 4h 时的 ALI 中更佳,其机制可能与电针下调炎症细胞因子和上调 AQP₅ 的表达有关。

参考文献:

- [1] Han S, Mallampalli RK. The acute respiratory distress syndrome: from mechanism to translation [J]. J Immunol, 2015, 194(3): 855-860.
- [2] Lucas R, Verin AD, Black SM, et al. Regulators of endothelial and epithelial barrier integrity and function in acute lung injury [J]. Biochem Pharmacol, 2009, 77(12): 1763-1772.
- [3] 刘涛,任成山. 炎症介质在急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征发病机制中的作用[J]. 中华肺部疾病杂志(电子版), 2013, 6(3): 265-269.
- [4] 蒋莉娅,黄继人,赵弘卿,等. “肺与大肠相表里”在针刺治疗重症急性胰腺炎大鼠早期急性肺损伤中应用的实验研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2011, 17(11): 1245-1247.
- [5] 姚丽君,师晶丽,吕明庄,等. 短期针刺对急性肺损伤大鼠血浆白细胞介素-1 β 含量及海马 c-fos 基因表达的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2011, 18(3): 159-162.
- [6] 舒琦,陈琳琳,张新芳,等. 针刺足三里穴预处理对肺缺血再灌注损伤小鼠的氧化应激的影响[J]. 云南中医学院学报, 2016, 39(4): 39-43.
- [7] 杨红娟,蔚京京,张卫红,等. 血红素加氧酶-1 对急性肺损伤大鼠水通道蛋白 1、5 表达的影响[J]. 国际呼吸杂志, 2014, 34(2): 91-95.
- [8] Puneet P, Moochhala S, Bhatia M. Chemokines in acute respiratory distress syndrome [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005, 288(1): L3-15.
- [9] 张祺嘉钰,孙毅,胡锐,等. 内毒素不同给药途径致急性肺损伤模型的研究[J]. 现代中医药, 2013, 33(1): 79-81.
- [10] 乐海浪, 罗国强. 创伤后早期炎症因子 TNF- α 、IL-1、IL-6 的研究进展[J]. 现代诊断与治疗, 2014, 25(4): 763-765.
- [11] Hierholzer C, Kalff JC, Omert L, et al. Interleukin-6 production in hemorrhagic shock is accompanied by neutrophil recruitment and lung injury [J]. Am J Physiol, 1998, 275(3Pt1): L611-621.
- [12] Waxman AB, Manboubi K, Knickelbein RG, et al. Interleukin-11 and Interleukin-6 protect cultured human endothelial cells from H₂O₂-induced cell death [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2003, 29(4): 513-522.
- [13] 石计朋,闫建国,韩金芬,等. ω -3PUFAs 对 LPS 诱导急性肺损伤大鼠前炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的影响[J]. 中国儿童保健杂志, 2014, 22(1): 35-37.
- [14] Pestka S, Krause CD, Sarkar D, et al. Interleukin-10 and related cytokines and receptors [J]. Annu Rev Immunol, 2004, 22: 929-979.
- [15] 张笑平. 针灸对呼吸机能的调整作用[J]. 新中医, 1981(10): 41-43.
- [16] 胡森,宋琪,王磊,等. 电针兴奋胆碱能抗炎通路对内毒素引起的细胞因子释放和脏器功能损害作用研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15(4): 205-208.
- [17] 宁晚玲,刘李玟韬,唐汉庆,等. 从 AQP4 角度探讨脾主运化与水液代谢[J]. 云南中医学院学报, 2016, 39(5): 94-98.
- [18] Borok Z, Verkman AS. Lung edema clearance: 20 years of progress: invited review: role of aquaporin water channels in fluid transport in lung and airways [J]. J Appl Physiol, 2002, 93(6): 2199-2206.
- [19] 刘魁,彭文鸿. 水通道蛋白-5 与肺疾病相关研究进展[J]. 临床肺科杂志, 2012, 17(11): 2064-2066.
- [20] 陈国兵,连珠兰,占珠琴,等. 水通道蛋白 1、5 在 LPS 诱导大鼠急性肺损伤组织中的表达[J]. 基础医学与临床, 2016, 36(1): 53-57.
- [21] 刘笑玎,原铭贞,王司仪,等. 水通道蛋白 1、3、4 和 5 与急性肺损伤关系的研究进展[J]. 吉林大学学报(医学版), 2014, 40(5): 1119-1122.

(编辑:徐建平)

(英文摘要见第 22 页)

Influence of Compound Chinese Medicine Containing *Codonopsis pilosula* Produced in Yunnan Province on Purgation and Its Primary Action Mechanism

YANG Yuan^{1,2}, HU Xiaoyu², SANG Qiu², CHENG Yongxian^{1,2,3}

(1. Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China;

2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China;

3. School of Pharmaceutical Sciences, Shenzhen University Health Science Center, Shenzhen 518060, China)

ABSTRACT: Objective To study the effects of compound Chinese medicine containing *Codonopsis pilosula* produced in Yunnan province (known as Choushen) on promoting digestion and purgation. **Methods** Mice were randomly divided into control group, model group and different dosage groups ($0.41\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $0.82\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $1.64\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $3.28\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). The time of the first stool, grain numbers of stool, stool weight in mice, the propulsion rate of intestine, after administration were observed. **Results** In the mice defecation test, the time of the first stool ($227.75\pm38.82\text{min}$) at the dosage of $3.28\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ was much shorter compared with the model group ($269.38\pm44.41\text{min}$) ($P<0.05$). The stool weight ($0.537\pm0.203\text{g}$) of $3.28\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ group was heavier versus the model group ($0.242\pm0.178\text{g}$) ($P<0.01$). In addition, the grain numbers of stool (22.63 ± 6.14) of highest group also significantly increased when compared with model group (13.75 ± 8.24) ($P<0.01$). In the mice digestion test, the intestinal propulsive rate of the treatment group was significantly higher than that of the model group ($P<0.05$), the intestinal propulsive rate of 5-day administration was higher than that of 1 day or 3 days. **Conclusion** The present compound Chinese medicine containing *C. pilosula* possesses significant effects on purgation promotion and this effect might be associated with digestion promotion, suggesting its potential roles in the development of healthcare foods.

KEY WORDS: *Codonopsis pilosula*; Yunnan Shen; constipation; defecation

(原文见第 13 页)

Effect of Electroacupuncture Pretreatment on Inflammatory Cytokines and Aquaporin-5 in Acute Lung Injury Rats Induced by Lipopolysaccharide

HUANG Wenbiao¹, ZHANG Xinfang¹, LIU Zibing², BIAN Hai¹, SHU Qi²,

LI Gengru¹, LI Xiaoping¹, LIU Xiaoyun², TAO Qingqing¹

(1. College of Integrated Chinese and Western Medicine, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China;

2. College of Acupuncture and Massage, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the influence of the pretreatment of electroacupuncture (EA) on the inflammatory cytokines and aquaporin (AQP)-5 in acute lung injury rats induced by lipopolysaccharide. **Methods** SD-rats were randomly divided into 5 groups: control, ALI4h, ALI6h, EA plus ALI4h and EA plus ALI6h. Acute lung injury was induced by LPS (2mg/kg) stilling into the trachea respectively for 4h and 6h except the normal group. The rats in latter two groups were pretreated with EA at bilateral Zusanli (ST36) points for a week. The plasma was separated for detecting the content of AQP₅, IL-1 β , IL-6, IL-10 and TNF- α by enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA) method. Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of rats was extracted for the content of AQP₅ by ELISA and counting the total number of white blood cells (WBC). The left lung tissue was used for the ratio of wet to dry weight (W/D), and right lung was fixed in formaldehyde for observation of morphology and immunohistochemistry. **Results** Compared with the control group, in ALI4h group W/D and WBC count was increased ($P<0.05$), the ratio of total area of alveolar to lung tissue area (A/t) was decreased ($P<0.05$), IL-10, TNF- α and IL-1 β were significantly increased ($P<0.001$); and IL-6 and IL-10 were significantly higher ($P<0.01$) in ALI6h group; the content of AQP₅ decreased significantly ($P<0.001$), integral optical density (IOD) decreased significantly ($P<0.01$) in ALI4h and ALI6h groups. Compared with ALI4h group, WBC count and W/D decreased ($P<0.05$), IL-1 β and TNF- α content decreased ($P<0.05$), AQP₅ content in plasma and BALF increased ($P<0.05$), and plasma AQP₅ content in acupuncture group was increased in EA plus ALI4h group. **Conclusion** EA pretreatment at Zusanli could protect ALI rats induced LPS from inflammatory and reduce pulmonary edema, and the effect was better in ALI4h group than in ALI6h group. The mechanism may be related to the reduction of inflammatory cytokines and the up-regulation of AQP₅ expression by EA pretreatment.

KEY WORDS: acute lung injury; aquaporin-5 (AQP₅); electroacupuncture pretreatment; Zusanli; IL-1 β ; IL-6; IL-10; TNF- α