

◆实验研究◆

姜黄素通过 PI3K/AKT 信号通路调控 神经干细胞增殖和凋亡实验研究

席暄¹, 任小琼²

1. 甘肃医学院基础教学部生理学教研室, 甘肃 兰州 744000
2. 甘肃医学院第一附属医院肿瘤内科, 甘肃 兰州 744000

[摘要] 目的: 观察姜黄素对神经干细胞增殖和凋亡的影响, 并探讨其作用机制是否与 PI3K/AKT 信号通路有关。方法: 分离新生 24 h 昆明小鼠的海马组织, 提取原代神经干细胞并培养, 并用免疫荧光检测鉴定。收集第 3 代神经干细胞并随机分为空白组、缺血模型组及不同浓度姜黄素干预组 (0、0.1、0.5、2.5、12.5 及 62.5 $\mu\text{mol/L}$), 通过 3-(4, 5)-2-噻唑-(2, 5)-二苯基溴化四氮唑蓝药敏试验 (MTT) 检测姜黄素干预后神经干细胞的存活情况, 5-溴脱氧尿嘧啶核苷 (BrdU) 增殖试剂盒检测神经干细胞增殖情况。利用免疫蛋白印迹 (Western blotting) 法检测不同浓度姜黄素干预后神经干细胞 pPI3K、AKT 蛋白的表达情况。结果: 观察到立体感强且折光好的神经球。MTT 结果显示: 姜黄素可增强神经干细胞增殖能力, 并具有浓度和时间依赖性。BrdU 检测结果显示: 随着姜黄素浓度增加和干预时间延长, 神经干细胞凋亡逐渐受抑制。姜黄素可上调 PI3K、AKT 蛋白的表达, 并随着浓度逐渐上调, 增强作用更加明显。结论: 姜黄素可促进神经干细胞增殖, 抑制其凋亡, 这可能与激活 PI3K/AKT 信号通路有关。

[关键词] 姜黄素; 神经干细胞; PI3K/AKT 信号通路

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2016) 03-0217-05

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2016.03.086

Experimental Study of Curcumin Adjusting and Controlling Proliferation and Apoptosis of Neural Stem Cell by PI3K/AKT Signaling Pathway

XI Xuan, REN Xiaoqiong

Abstract: Objective: To observe the effect of curcumin on proliferation and apoptosis of neural stem cells, and discuss its feasible mechanism. Method: Separated the hippocampus of KM mouse within 24 hours, primary neural stem cells were extracted and cultured, and then tested by immunofluorescence. The 3rd generation neural stem cells were collected and randomly divided into the blank group, ischemia model group and intervention group with different concentration of curcumin (0, 0.1, 0.5, 2.5, 2.5 and 62.5 $\mu\text{mol/L}$). Detected survival condition of neural stem cells in curcumin by means of 3-(4, 5)-2-thiazole-(2, 5)-diphenyl four nitrogen thiazole blue bromide drug sensitive test (MTT), and detected the neural stem cells proliferation by means of 5-bromodeoxyuridine (BrdU). At the same time, detected the expression of neural stem cells PI3K protein and AKT protein after different concentration of curcumin intervention by the means of Western blotting. Result: When detecting Nestin and testing neural stem cells by means of immunofluorescence, green and bright, typical cell spheres could be observed under the fluorescent microscope, and clear structures existed inside spheres. MTT results showed that, curcumin could enhance the proliferation capacity of neural stem cells, possessing concentration and time dependence. BrdU showed that, apoptosis of neural stem cells was inhibited gradually with the increase of curcumin concentration and intervention time. The expression of PI3K protein and AKT protein could be up-regulated by curcumin, and this up-regulation was more obviously with the increase of concentration. Conclusion: Curcumin can promote proliferation of neural stem cells

[收稿日期] 2015-11-25

[作者简介] 席暄 (1966-), 男, 副教授, 主要从事生理学教学研究工作。

and inhibit its apoptosis, which maybe related to activation of PI3K/AKT signal pathway.

Keywords: Curcumin; Neural stem cells; PI3K/AKT signaling pathway

神经干细胞是一类具有高度自我增殖、自我更新及分化的细胞,在一定条件刺激下其自发有丝分裂分化成神经元、星形胶质细胞及少突胶质细胞,从而发挥修复受损神经的作用^[1]。在以往的研究过程中,研究者发现神经干细胞自发激活潜在修复神经的能力相当微弱,当神经受损时,其远无法满足神经再生的需求,因此认为通过一定的手段促进神经干细胞对增殖信号作出积极反应,将使内源性神经干细胞的优越性得到充分发挥。

姜黄素是一种从姜黄根茎中提取得到的黄色色素,现已被证实具有显著的抗炎、抗氧化、抗癌等药理作用,文献[2]报道姜黄素对阿尔茨海默病等神经变性疾病有很强的神经保护作用,磷酸肌醇三磷酸激酶-丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶(phosphatidylinositol 3-OH kinase-RAC-alpha serine/threonine-protein kinase, PI3K/AKT)信号通路广泛存在于细胞中,是细胞内重要信号通路之一,通过影响下游多种效应分子的活化状态,对细胞增殖、分化、蛋白质合成进行调控,在细胞生长、增殖过程中发挥重要作用^[3]。因此笔者提出设想:姜黄素发挥神经保护作用是否与激活神经干细胞增殖有关?其作用机制是否与 PI3K/AKT 信号通路有关?现将一系列研究报道如下。

1 实验材料

1.1 实验动物 取 20 只新生 24 h 的昆明小鼠,体重 3.5~5.8 g,平均体重(4.1±0.24)g,所有小鼠由上海维通利华动物实验中心提供。

1.2 实验试剂 DMEM 培养基(美国 Gibco 公司);MTT(Sigma 公司);山羊抗小鼠 IgG 标记二抗(Biosharp 公司);DMSO(Sigma 公司);ECL 发光液(碧云天);β-actin(博奥森);胎牛血清(Biosharp 公司)、胰酶(Biosharp 公司);PI3K、pPI3K、AKT、pAKT 单克隆抗体(北京中杉);5-溴脱氧尿嘧啶核苷(5-Bromo-2-deoxyUridine, Brdu)、二甲基亚砷(Dimethyl sulfoxide, DMSO)、磷酸缓冲盐溶液(Phosphate Buffer Saline, PBS)、鼠抗巢蛋白(Nestin)、兔抗 Brdu、抗兔二抗均购于福州沃森生物试剂有限公司。

1.3 主要仪器 超净工作台(苏州安泰公司);CO₂ 培养箱(日本 SANYO 公司);倒置显微镜(日本 OLYMPUS);垂直电泳仪及转膜仪(北京六一);S3006L 型高压匀质机(Niro Soavi 公司);冷冻干燥机(Abeco 公司)。

2 实验方法

2.1 神经干细胞分离与培养 将小鼠置于冰上,断头取脑后

完整的海马组织,随后用眼科剪将海马组织剪碎成糊状,使用 200 目不锈钢筛网研磨过滤剪碎的海马组织,后置于 4℃ 1000 g 转速下离心,摒弃上清液,加入含有神经因子(bFGF 20 μg/L 和 LEGF 20 μg/L)的 DMEM/F12(1:1)培养基,并将细胞置于 37℃,饱和湿度、5% CO₂ 培养箱中培养 4~5 天后进行细胞传代,稳定培养至第 3 代。

2.2 神经干细胞鉴定 取第 3 代细胞,接种于包被多聚赖氨酸 24 孔板内,每孔 0.5 mL,将细胞置于 37℃、饱和湿度、5% CO₂ 培养箱中培养 4 天,吸去培养基,用 PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,往 24 孔板中加入 4% 多聚甲醛,并在室温中固定 30 min,用 PBS 漂洗 3 次,每次 5 min;随后使用 0.3% Triton-X100 进行破膜处理,室温下静置 20 min,用 PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,再使用 5% 山羊血清室温下封闭 30 min,去除山羊血清,加入预先稀释(1:100)的 Nestin 一抗,4℃ 下放置过夜,用 PBS 漂洗 3 次,每次 5 min;避光条件下加入 FITC 标记的山羊抗小鼠 IgG-FITC,并静置 2 h,用 PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,常温下干燥后树脂封片,后置于显微镜下观察并拍照。

2.3 建立神经干细胞缺血缺氧模型 根据文献[3],采用氧糖剥夺法(OGD)模拟在体缺血,细胞培养至第 9~10 天时,以无糖 Earle 氏液替代原培养液。Earle 氏液放入缺氧罐中预平衡 30 min 后,将培养板置于缺氧罐内,93% N₂ 加 7% CO₂ 接缺氧罐的进气口,出气口外接水瓶。缺氧罐放于培养箱中至箱体温度与培养箱一致(37℃),缺氧罐内分上层、隔层和下层,上层用来放置细胞和用以燃烧耗尽 O₂ 的蜡烛;隔层可模拟正常的 CO₂ 培养箱;下层盛超纯水以维持罐体内合适湿度。通入 93% N₂ 加 7% CO₂ 的混合气体 30 min,关闭缺氧罐进口并置于培养箱内 3 h 以模拟脑缺血缺氧状态。

2.4 MTT 法测细胞存活情况 将处于对数生长期的细胞密度调整为 2×10⁴ 个/mL,接种于 24 孔板,置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养,分为空白组、姜黄素组,各组 6 个复孔。将对数生长期的细胞接种于 96 孔培养板内,每孔细胞浓度为 5×10³ 个/100 μL,每组 4 个复孔,边缘孔不加细胞,37℃、5% CO₂ 环境中继续培养 24 h,然后加入不同浓度的药物:①空白组(培养液),再次放入培养箱培养 72 h;②姜黄素组给药浓度分别为 0、0.1、0.5、2.5、12.5 及 62.5 μmol/L,以上各组给药后分别培养 24 h、48 h 及 72 h,每孔加入 20 μL 5 g/L MTT,继续孵育 4 h 后,吸弃上清,每孔加入 DMSO 150 μL,振荡 10 min,酶标仪在 490 nm 波长处读取 OD 值。实验重复 3 次,取 A 平均值,计算神经干细胞活力(%)=(1-姜黄素

组 A/空白组 A) × 100%^[4]。

2.5 Brdu 检测细胞增殖情况 利用 Brdu 检测各组细胞的增殖情况,将处于对数生长期的细胞密度调整为 2×10^4 个/mL,接种于 96 孔板(预先用多聚赖氨酸包被),分组情况同 2.4 项,将各组细胞置于 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 培养箱培养 24 h,随后每孔加入 $20 \mu\text{L}$ $20\% \text{Brdu}$ 培养基,再次将细胞置于 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 培养箱培养 24 h,用酶联免疫检测仪检测,显色后采用 492 nm 波长,TMB 反应产物检测需要 450 nm 波长。检测时一定要首先进行空白孔系统调零,用测定标本孔的吸收值与一组阴性标本测定孔平均值的比值(P/N)表示。以空白对照孔调零后测各孔 OD 值,若大于规定的阴性对照 OD 值的 2.1 倍,即为阳性。

2.6 免疫蛋白印迹 (Western blotting) 法检测各组 pPI3K 蛋白及 AKT 蛋白的表达 将处于对数生长期的细胞密度调整为 2×10^4 个/mL,加入不同浓度的姜黄素:0、0.1、0.5、2.5、12.5 及 $62.5 \mu\text{mol/L}$,同时设立空白组(培养液),于 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 环境中继续培养 72 h 后,将细胞收集后加入 $100 \mu\text{L}$ 裂解液(Tris pH=7.5, 1 mM EDTA 中, 50 mM NaCl, 0.5% Triton-X-100), 4°C 持续振摇 30 min,将上清转入预冷的离心管,SDS-PAGE 凝胶上样量 $50 \mu\text{L}$ 在 150 V 稳压电场中电泳,电泳后用 380 mA 电流将蛋白转移至硝酸纤维素滤膜,脱脂奶粉封闭 1 h 后,剪膜,根据分子量分开后分别加 1:500 稀释的一抗(PI3K/AKT)及内参抗体(β -actin, 1:3000)室温孵育 2 h,HRP 标记二抗孵育 1 h 后,洗膜,ECL 发光液发光后 X 线片曝光,扫描记录结果,GeI-analyze 分析软件分析条带灰度,进行半定量比较分析,以 IOD 值表示蛋白的表达水平。

3 统计学方法

采用 SPSS18.0 软件统计分析。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两独立样本均数间比较采用 *t* 检验,随机分组设计资料采用单因素方差分析,方差分析前使用 Levene 检验方差齐性。

4 研究结果

4.1 神经干细胞鉴定 将原代单核细胞接种于培养瓶中观察。第 3 天出现立体感强且折光好的神经球,神经球的体积和数目随着时间的推移不断增加,培育至第 7 天后出现大小不等的神经团,直径约 0.2 mm ,将神经团机械吹打成单个细胞并继续培育 72 h 后接种 96 孔板(预先用多聚赖氨酸包被),继续于 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 环境中培养 4 h 后进行荧光鉴定,利用 Nestin 标记阳性细胞,具体如图 1、2。

4.2 各组神经干细胞凋亡及增殖情况 表 1 的 MTT 结果显示:姜黄素可增强神经干细胞增殖能力,并具有浓度和时间依赖性,在同一个时间点,随着姜黄素浓度的增加,神经干细胞增殖越加明显,并且随着干预时间的延长,也促进了神经干细胞的增殖。表 2 的 Brdu 检测结果显示:随着姜黄素浓度增加

和干预时间延长,神经干细胞凋亡逐渐受到抑制。

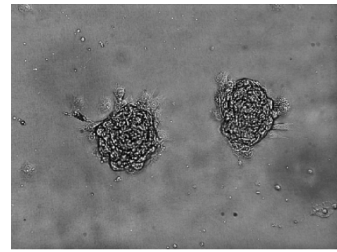


图 1 常规显微镜下神经球(200 倍)

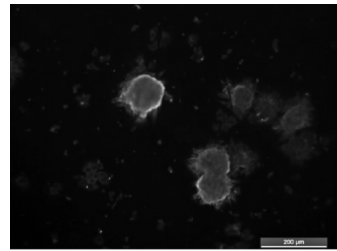


图 2 免疫荧光鉴定 NSCs(200 倍)

表 1 各组神经干细胞不同时间点增殖情况 $(\bar{x} \pm s)$

组别	0 h	24 h	48 h	72 h
空白组	0.26 ± 0.02	0.24 ± 0.02	0.21 ± 0.08	0.31 ± 0.08
姜黄素 1 组(0 μg/mL)	0.27 ± 0.02	0.24 ± 0.03	0.27 ± 0.04	0.34 ± 0.06
姜黄素 2 组(0.1 μg/mL)	0.24 ± 0.04	0.31 ± 0.07	0.47 ± 0.05 ^①	0.72 ± 0.13 ^①
姜黄素 3 组(0.5 μg/mL)	0.25 ± 0.05	0.39 ± 0.01 ^②	0.57 ± 0.09 ^①	0.99 ± 0.27 ^②
姜黄素 4 组(2.5 μg/mL)	0.26 ± 0.03	0.48 ± 0.06 ^①	0.63 ± 0.12 ^②	1.51 ± 0.06 ^②
姜黄素 5 组(12.5 μg/mL)	0.24 ± 0.05	0.73 ± 0.11 ^②	0.93 ± 0.23 ^②	1.87 ± 0.09 ^②
姜黄素 6 组(62.5 μg/mL)	0.24 ± 0.04	1.30 ± 0.02 ^②	1.37 ± 0.04 ^③	2.61 ± 0.09 ^③

与空白组同期比较,① $P < 0.05$, ② $P < 0.01$;与姜黄素 5 组同期比较,③ $P < 0.05$

表 2 各组神经干细胞不同时间点抑制率比较 $(\bar{x} \pm s)$ %

组别	24 h	48 h	72 h
空白组	0	0	0
姜黄素 1 组(0 μg/mL)	0	0	0
姜黄素 2 组(0.1 μg/mL)	89.683 ± 0.054 ^①	62.560 ± 0.073 ^①	52.625 ± 1.315 ^①
姜黄素 3 组(0.5 μg/mL)	64.512 ± 0.020 ^①	50.631 ± 1.253 ^①	45.138 ± 1.562 ^①
姜黄素 4 组(2.5 μg/mL)	53.679 ± 0.041 ^①	40.267 ± 1.623 ^①	36.883 ± 1.913 ^②
姜黄素 5 组(12.5 μg/mL)	43.791 ± 0.043 ^③	39.403 ± 1.685 ^③	20.621 ± 1.627 ^③
姜黄素 6 组(62.5 μg/mL)	34.593 ± 0.017 ^④	25.853 ± 1.625 ^④	14.122 ± 1.623 ^④

与空白组同期比较,① $P < 0.05$, ② $P < 0.01$;与姜黄素 2 组及姜黄素 3 组同期比较,③ $P < 0.05$, ④ $P < 0.01$

4.3 姜黄素对 pPI3K、AKT 蛋白表达的影响 随着姜黄素干预时间的延长,pPI3K、AKT 蛋白的灰度值逐渐增加,提示姜黄素可上调 PI3K、AKT 蛋白的表达,并随着浓度逐渐上调,增强作用更加明显,具体见图 3 及表 3。

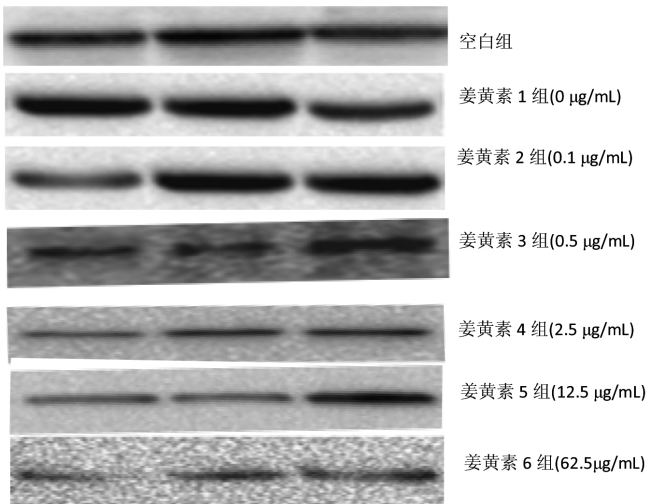


图3 各组 pPI3K 的表达

表3 各组不同时间点神经干细胞 AKT 蛋白表达情况比较($\bar{x} \pm s$)

组别	24 h	48 h	72 h
空白组	940.422±0.043	950.625±0.058	958.781±0.063
姜黄素 1 组(0 μg/mL)	930.478±0.056	1180.708±0.062 ^①	1323.853±0.066 ^①
姜黄素 2 组(0.1 μg/mL)	1023.581±0.058	1320.825±0.161 ^①	1667.962±0.148
姜黄素 3 组(0.5 μg/mL)	1293.672±0.063	1830.833±0.176 ^①	2023.996±0.158 ^②
姜黄素 4 组(2.5 μg/mL)	1520.651±0.071 ^①	1940.794±0.135 ^①	2121.028±0.190 ^②
姜黄素 5 组(12.5 μg/mL)	1720.392±0.027 ^{③④}	2120.293±0.623 ^{③④}	2521.265±0.276 ^{③④}
姜黄素 6 组(62.5 μg/mL)	2080.328±0.084 ^{④⑤}	2400.794±0.135 ^{④⑤}	3221.356±0.281 ^{④⑤}

与空白组同期比较, ① $P < 0.05$, ② $P < 0.01$; 与姜黄素 2 组及姜黄素 3 组同期比较, ③ $P < 0.05$, ④ $P < 0.01$

5 讨论

神经干细胞具有高度增殖、自我更新及分化能力, 在一定条件下能不断进行有丝分裂, 并分化成神经元、星形胶质细胞及少突胶质细胞的原始母细胞。在理想状态下, 神经干细胞是中枢神经修复的重要贮备及源泉, 通过神经干细胞的不断增殖及迁移, 可以到达凋亡细胞周围, 参与细胞及组织更新。因此, 细胞替代被认为是神经系统疾病最有前途的治疗措施。然而, 尽管细胞实验及动物实验的结果让人鼓舞, 临床上应用也取得了一定的进展, 但离大规模应用仍有相当长的一段距离, 其疗效与神经干细胞所拥有的潜能相去甚远。所以认为神经干细胞移植的推广应用还有一些重要障碍需要克服, 其中如何动员足够数量的神经干细胞参与神经修复, 是需要解决的首要问题。

姜黄素是一种多酚类植物单体, 研究证明其在体内外具有抗炎、抗肿瘤等多种作用。它可以打击多个靶位和信号通路以致产生多种生物效应。国内外有文献证实姜黄素对神经元细胞具有明显促进增殖的作用, 从而可以发挥修复受损神经的作用^[5-7]。行妍妍等^[8]通过神经干细胞的培育并利用姜黄素进行干

预, 结果显示姜黄素可明显增强 C17.2 细胞的增殖能力, 而 C17.2 细胞属于多能的神经前体, 通过激活其增殖, 促使胚胎皮层神经干细胞增殖, 从而促进缺血缺氧模型受损神经的逆转。本研究发现, 利用姜黄素干预后, 缺血缺氧模型的神经干细胞出现增殖效应, 并且随着干预时间的延长和干预浓度的增加, 增殖效应愈加明显, 与此同时, 随着姜黄素浓度增加和干预时间延长, 神经干细胞凋亡逐渐受到抑制, 提示姜黄素确实可促进神经干细胞的增殖并抑制其凋亡, 这和文献^[9~13]的结果是相一致的。然而姜黄素促进神经干细胞增殖的机制目前尚未清楚, 笔者也开展了一系列研究, 结果显示姜黄素促进神经修复的机制与 PI3K/AKT 信号通路关系密切。

PI3K/AKT 信号通路被称为经典的抗凋亡、促存活的信号转导通路, 有大量研究证实该通路在脑组织缺血损伤后被激活, 通过影响下游凋亡相关蛋白、细胞周期调节蛋白等效应分子的活化过程而参与机体多种生理病理过程, PI3K 是磷脂酰肌醇激酶的重要成员, 具有特异的催化磷脂酰肌醇脂类物质的激酶作用, 也是参与细胞内信号转导的信号分子之一, 功能上是 AKT 活化的首要调节者。通过活化的 AKT 能够阻止线粒体释放细胞色素 C 及凋亡诱导因子, 从而抑制细胞凋亡。通过 Western blotting 法检测得知, 姜黄素可上调 PI3K、AKT 蛋白的表达, 并随着浓度逐渐上调增强作用更加明显, 因此得出结论: 姜黄素可促进神经干细胞增殖, 其作用机制可能与激活 PI3K/AKT 信号通路有关。

总的来说, 本研究在体外证实了姜黄素具有促进神经干细胞增殖的能力, 通过姜黄素的干预, 使得 PI3K/AKT 信号通路得以激活, 如果将来在人体内得以证实, 将为预防和减轻缺血缺氧脑损伤患者的功能障碍并提高其生活质量打开一扇希望之门。

[参考文献]

- [1] Maisano X, Carpentino J, Becker S, et al. Embryonic stem cell-derived neural precursor grafts for treatment of temporal lobe epilepsy [J]. Neurotherapeutics, 2009, 6(2): 263-277.
- [2] Bjugstad KB, Teng YD, Redmond DE Jr, et al. Human neural stem cells migrate along the nigrostriatal pathway in a primate model of Parkinson's disease [J]. Exp Neurol, 2008, 211(2): 362-369.
- [3] Shioda N, Han F, Fukunaga K. Role of Akt and ERK signaling in the neurogenesis following brain ischemia [J]. Int Rev Neurobiol, 2009, 85: 375-387.
- [4] Landgren H, Curtis MA. Locating and labeling neural stem cells in the brain [J]. J Cell Physiol, 2011, 226(1): 1-7.
- [5] Martino G, Franklin RJ, Van Evercooren AB, et al.

- Stem cell transplantation in multiple sclerosis : current status and future prospects [J]. *Nat Rev Neurol*, 2010, 6(5): 247- 255.
- [6] 程建华, 刘双, 韩钊. 姜黄素通过调控 Notch 通路促进大鼠脑缺血后神经干细胞增殖和迁移[J]. *中国病理生理杂志*, 2013, 29(5): 44- 47.
- [7] 胡建鹏, 周会, 王键, 等. 益气活血方和补肾生髓方对局灶性脑缺血再灌注大鼠缺血半暗带 Notch- 1 和 Jagged1 表达的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2010, 26(3): 483- 486.
- [8] 行妍妍, 汪军兵, 谢赛, 等. 姜黄素对放线菌素 D/TNF- α 诱导的 PC12 细胞和大鼠海马神经元损伤的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2012, 28(10): 1746- 1750.
- [9] He K, Yan L, Pan CS, et al. ROCK- dependent ATP5D modulation contributes to the protection of notoginsenoside NR1 against ischemia/reperfusion- induced myocardial injury [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2014, 10(1): 572- 581.
- [10] Tetzlaff W, Okon EB, Karimi- Abdolrezaee S, et al. A systematic review of cellular transplantation therapies for spinal cord injury [J]. *J Neurotrauma*, 2011, 28(8): 1611- 1682.
- [11] Snegovskikh V, Mutlu L, Massasa E. Identification of putative fallopian tube stem cells [J]. *Reprod Sci*, 2014, 21(12): 1460- 1464.
- [12] Sato A, Sunayama J, Matsuda K, et al. Regulation of neural stem/progenitor cell maintenance by PI3K and mTOR[J]. *Neurosci Lett*, 2010, 470(2): 115- 120.
- [13] Fujimoto S, Negishi M, Katoh H. RhoG promotes neural progenitor cell proliferation in mouse cerebral cortex[J]. *Mol Biol Cell*, 2009, 20(23): 4941- 4950.

(责任编辑: 吴凌)

益气化痰方对慢性阻塞性肺疾病小鼠肺功能及 IL-17、TNF- α 的影响

詹少锋¹, 单丽囡², 冯立志²

1. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学, 广东 广州 510006

[摘要] 目的: 观察益气化痰方对慢性阻塞性肺疾病小鼠的肺功能及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-17 (IL-17) 的影响。方法: 将 60 只 C57BL 小鼠随机分成 6 组, 分别是正常对照组、COPD 模型组、低剂量中药组、中剂量中药组、高剂量中药组、地塞米松组, 每组 10 只。香烟熏染方法建立慢性阻塞性肺疾病小鼠模型, 给药后分别观察小鼠肺功能以及对肺泡灌洗液中 TNF- α 、IL-17 的变化。结果: 与正常对照组相比, COPD 模型组吸气峰流量 (PIF)、呼气峰流量 (PEF) 及每分钟通气量 (MV) 数值均降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 低、中、高剂量的益气化痰方均能明显改善 COPD 小鼠气道的高反应状态, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与 COPD 模型组比较, 中、高剂量组肺泡灌洗液中 IL-17 和 TNF- α 逐渐降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。结论: 益气化痰方能明显改善 COPD 小鼠的气道高反应, 同时降低气道炎症反应。

[关键词] 慢性阻塞性肺疾病; 益气化痰方; 肺功能; 肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-17 (IL-17); 动物实验

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2016) 03-0221-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2016.03.087

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是我国呼吸系统的常见病、多发病, 患病率居高不下, 目前尚无确切方法阻断慢性阻塞性肺疾病肺功能下降的进程。虽然现代医学治疗方法在本病急性加

重期较为多样化和效果显著, 但从本病全程防治来讲, 中医药疗法仍然有重要的地位和作用。主要体现在稳定期扶助正气, 减少未来急性加重急性发作次数和风险, 提高运动耐量, 减少

[收稿日期] 2015-11-20

[基金项目] 广东省中医药局项目 (20121231); 广州中医药大学邓铁涛基金项目 (25012604)

[作者简介] 詹少锋 (1979-), 男, 医学博士, 主治医师, 研究方向: 中医药防治慢性阻塞性肺疾病。