

态下,大部分细胞 p65 与其抑制性蛋白 I κ B α 结合,以非活性的状态存在于细胞浆中。NF- κ B 通路激活的关键环节在于 I κ B α 磷酸化降解 I κ B α 蛋白,使 p65 解离出来^[5]。本研究发现,I κ B α 蛋白表达呈浓度依赖性降低,而 p65 蛋白表达呈浓度依赖性升高,提示高糖刺激 HK-2 细胞下调 I κ B α 蛋白和上调 p65 蛋白表达,呈一定的浓度依赖关系;高糖诱导的 HK-2 毒性损伤的机制,可能与 NF- κ B 通路的激活有关。

综上所述,高糖诱导的 HK-2 毒性损伤呈一定的浓度依赖关系,其机制与 NF- κ B 通路的激活有关,与渗透压作用无明显关联。

[参考文献]

[1] Tang SC, Lai KN. The pathogenic role of the renal

proximal tubular cell in diabetic nephropathy [J]. Nephrol Dial Transplant, 2012, 27(8): 3049-3056.

[2] Vallon V, Thomson SC. Renal function in diabetic disease models: the tubular system in the pathophysiology of the diabetic kidney [J]. Annu. Rev. Physiol, 2012, 74: 351-375.

[3] Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism [J]. Diabetes, 2005, 54(16): 1615-1625.

[4] Viatour P, Merville MP, Bours V, et al. Phosphorylation of NF- κ B and I κ B proteins: implications in cancer and inflammation [J]. Trends Biochem Sci, 2005, 30(1): 43-52.

[5] Ghosh S, Karin M. Missing Pieces in the NF- κ B puzzle [J]. Cell, 2002, 109(Suppl): S81-S96.

(责任编辑:马力)

益气祛风理血法对哮喘大鼠肺组织病理形态的影响

陈治珍¹, 刘华¹, 许双虹², 郑梅芳¹, 陈嘉³, 杨巧红³, 罗菲¹

1. 广州中医药大学第一附属医院儿科, 广东 广州 510405

2. 深圳市中医院, 广东 深圳 518033

3. 广州中医药大学, 广东 广州 510405

[摘要] 目的: 观察益气祛风理血法代表方小儿喘咳液对哮喘大鼠肺组织病理形态的影响。方法: 大鼠 60 只, 随机分为空白对照组, 病理模型组, 孟鲁司特钠组, 小儿喘咳液高、中、低剂量组各 10 只。空白对照组: 予生理盐水 1 mL/100 mg 灌胃。病理模型组: 予生理盐水 1 mL/100 mg 灌胃。喘咳液小剂量组: 予含生药 2.5 g/mL 的小儿喘咳液 1 mL/100 mg 灌胃; 喘咳液中剂量组: 予含生药 5 g/mL 的小儿喘咳液 1 mL/100 mg 灌胃; 喘咳液大剂量组: 予含生药 10 g/mL 的小儿喘咳液 1 mL/100 mg 灌胃; 孟鲁司特钠组: 予孟鲁司特 125 mg/kg 灌胃。给药 70 天。结果: 病理模型组大鼠出现不同程度的呼吸困难症状, 体重增加不明显, 孟鲁司特组及喘咳液各组大鼠一般情况比病理模型组要好。孟鲁司特组与病理模型组比较, 支气管壁的慢性炎症较明显, 杯状细胞增生、黏膜增生并突向管腔较轻, 肺气肿及肺间质性炎较轻, 嗜酸性粒细胞浸润少见。喘咳液高、中、低剂量组上述病理表现均较模型组轻, 特别是杯状细胞的增生较轻, 其中喘咳液高剂量组上述病理改变最轻, 优于孟鲁司特组; 喘咳液中、低剂量组上述病理改变程度与孟鲁司特组相似。结论: 益气祛风理血法可改善支气管的慢性炎症, 减轻支气管黏膜及杯状细胞的增生等病理改变。

[关键词] 哮喘; 益气祛风理血法; 小儿喘咳液; 肺组织病理形态; 动物实验; 大鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 0256-7415 (2014) 01-0167-04

[收稿日期] 2013-05-24

[基金项目] 广东省科技计划项目 (编号: 20090315)

[作者简介] 陈治珍 (1964-), 女, 副主任医师, 研究方向: 小儿呼吸系统疾病和血症。

[通讯作者] 刘华, E-mail: liuhua0321@126.com。

支气管哮喘(简称哮喘)是由多种细胞包括气道炎症性细胞、结构细胞及细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病^[1]。临床研究证明,应用益气祛风理血法治疗哮喘已经取得较好的疗效,笔者采用益气祛风理血法代表方小儿喘咳液干预大鼠哮喘模型,观察哮喘大鼠的生物学特性及光镜下肺组织病理变化,以进一步探讨其治疗哮喘的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物 健康SD雌性大鼠60只,体重100~140g,由广州中医药大学实验动物中心提供。

1.2 药物制备 小儿喘咳液(炙麻黄、桂枝、细辛、鹅管石、毛冬青、紫苏子、五味子、当归、五爪龙、蚤休),药物由广州中医药大学第一附属医院制剂室生产,经煎煮提炼成各含生药2.5g/mL、5g/mL、10g/mL的低、中、高剂量口服液。

1.3 试剂及仪器 卵蛋白由上海化学试剂公司生产,符合国家标准GB2756-81,产品批号201008;氢氧化铝由中山市东太化工有限公司生产,符合国家标准GB/T4294-97,产品批号201010;孟鲁司特钠片由杭州默沙东制药有限公司生产,国药准字J20070058,产品批号201007;超声波雾化器(德国百瑞)。

1.4 实验动物分组 大鼠来源于广州中医药大学实验动物中心,合格证号:0077620。随机分为空白对照组10只,病理模型组10只,孟鲁司特钠组及小儿喘咳液高、中、低剂量组各10只。

1.5 哮喘大鼠模型的制备 参照吴银根等^[2]方法操作,哮喘造模组大鼠分别于第1、8天腹腔注射新鲜配制的卵蛋白氢氧化铝溶液1mL(内含卵蛋白10mg及氢氧化铝200g)致敏。自第15天起哮喘组开始雾化吸入卵蛋白溶液以激发哮喘,隔天1次,激发浓度分别是:第1、2周1%,第3、4周1.5%,第5、6周2%,第7、8周2.5%,每次激发时间为20min。出现明显的腹式呼吸,呼吸急促,黏液分泌增加等呼吸道症状和全身反应者,可确认哮喘发作。空白对照组则以生理盐水代替卵蛋白氢氧化铝溶液腹腔注射(1mL)及卵蛋白溶液雾化吸入。从腹腔注射卵蛋白氢氧化铝溶液致敏第15天开始给予哮喘造模组及哮喘空白组干预措施,每天1次,直至被处死,共给药70天。空白对照组:予生理盐水1mL/100mg灌胃。病理模型组:予生理盐水1mL/100mg灌胃。

喘咳液低剂量组:予含生药2.5g/mL的小儿喘咳液1mL/100mg灌胃;喘咳液中剂量组:予含生药5g/mL的小儿喘咳液1mL/100mg灌胃;喘咳液高剂量组:予含生药10g/mL的小儿喘咳液1mL/100mg灌胃;孟鲁司特钠组:予孟鲁司特125mg/kg灌胃。给药后第71天,腹腔注射10%水合氯醛0.3mL/kg麻醉后,暴露胸腔剪取左肺中叶,10%甲醛固定,常规脱水,石蜡包埋,切片,行HE染色,光镜观察。中性树脂封片,光镜观察并摄片。

2 结果

2.1 一般情况 空白对照组大鼠经生理盐水处理后相对安静,精神及活动佳,毛色光泽,进食正常,排便正常,体重增加。病理模型组大鼠造模后出现不同程度的呼吸困难症状:如张口呼吸,呼吸频率及幅度增加,严重者紫绀,烦躁;同时毛色晦暗无泽甚至脱落,活动减少,反应迟钝,进食减少,体重增加不明显。孟鲁司特组及喘咳液各组大鼠情况比病理模型组要好。

2.2 各组大鼠治疗前后体重差比较 见表1。与空白对照组比较,病理模型组、喘咳液低剂量组体重增加水平降低,差异均有显著性意义($P < 0.05$);与病理模型组比较,空白对照组、孟鲁司特钠组、喘咳液高剂量组、喘咳液中剂量组、喘咳液低剂量组体重增加水平升高,差异均有显著性意义($P < 0.05$);孟鲁司特钠组与喘咳液高、中、低剂量组比较,差异均无显著性意义($P > 0.05$)。

表1 各组大鼠治疗前后体重差比较($\bar{x} \pm s$) g

组别	n	治疗前后体重差
空白对照组	10	120.50±5.44 ^②
病理模型组	10	84.40±5.49 ^①
孟鲁司特钠组	10	113.90±5.78 ^②
喘咳液高剂量组	10	111.80±3.48 ^②
喘咳液中剂量组	10	107.70±3.07 ^②
喘咳液低剂量组	10	100.90±4.02 ^{①②}

与空白对照组比较,① $P < 0.05$;与病理模型组比较,② $P < 0.05$

2.3 各组大鼠呼吸状况比较 见表2。除空白对照组外,其余各组大鼠经造模后陆续出现咳嗽,喷嚏,明显腹式呼吸,烦躁,呼吸频率及幅度增加,病理模型组呼吸道梗阻症状持续存在,给药各组经药物治疗后情况均有明显好转。

表2 各组大鼠呼吸状况比较

组别	喷嚏咳嗽	频率加快	腹式呼吸	鼻唇紫绀	烦躁
空白对照组	2	0	0	0	0
病理模型组	10	10	8	3	3
孟鲁司特钠组	8	6	3	0	0
喘咳液高剂量组	6	5	1	0	0
喘咳液中剂量组	8	6	2	0	0
喘咳液低剂量组	8	6	3	1	0

2.4 各组肺组织形态学变化 小儿喘咳液治疗哮喘大鼠 71 天后, 各组大鼠肺-支气管组织病理形态学变化如下: 空白对照组: 2 例肺泡及支气管正常, 4 例肺泡及支气管部分正常, 另外 4 例可见支气管壁增厚, 以淋巴细胞及浆细胞浸润为主的炎症反应, 可见杯状细胞增多; 肺泡壁充血, 肺泡间隔增宽, 少量淋巴细胞浸润; 可见轻-中度肺气肿(见图 1)。病理模型组: 本组均可见支气管壁增厚、黏膜下水肿, 以淋巴细胞及浆细胞浸润为主的炎症反应; 支气管壁均可见不同程度的嗜酸性粒细胞浸润, 并见明显的杯状

细胞增生, 支气管黏膜明显突向管腔, 可见平滑肌增生; 肺泡壁充血, 肺泡间隔增宽, 少量淋巴细胞浸润; 可见轻-中度肺气肿(见图 2)。孟鲁司特钠组: 支气管壁的慢性炎症较明显, 同病理模型组比较, 杯状细胞增生及黏膜增生突向管腔较轻, 肺气肿及肺间质性炎较轻。仅有 3 例可见少量嗜酸性粒细胞(见图 3)。喘咳液高剂量组: 支气管壁的慢性炎症较轻, 杯状细胞增生及黏膜增生突向管腔较轻, 肺气肿及肺间质性炎较轻, 未见嗜酸性粒细胞(见图 4)。喘咳液中剂量组: 支气管壁的慢性炎症较明显, 同病理模型组比较, 杯状细胞增生及黏膜增生突向管腔较轻, 肺气肿及肺间质性炎较轻。仅有 3 例可见少量嗜酸性粒细胞, 1 例可见较多嗜酸性粒细胞(见图 5)。喘咳液低剂量组: 支气管壁的慢性炎症较明显, 同病理模型组比较, 杯状细胞增生及黏膜增生突向管腔较轻, 肺气肿及肺间质性炎较轻。仅有 2 例可见少量嗜酸性粒细胞(见图 6)。各组典型病理图片如下。

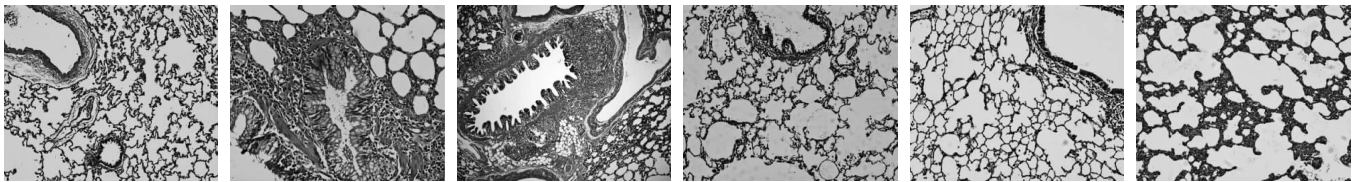


图1 空白对照组 ×100 (HE) 图2 病理模型组 ×100 (HE) 图3 孟鲁司特钠组 ×100 (HE) 图4 喘咳液高剂量组 ×100 (HE) 图5 喘咳液中剂量组 ×100 (HE) 图6 喘咳液低剂量组 ×100 (HE)

3 讨论

哮喘属于中医学哮证范畴, 古今一致认为痰饮伏肺是其病机关键, 哮证总属邪实正虚之证, 分期分型辨证论治, 以“发时治标, 缓时治本”为基本原则。岭南名老中医黎炳南教授从大量的临床实践观察到, 岭南地区哮喘证型属寒哮、寒热错杂、虚实夹杂的情况较为普遍, 在非急性发作期(慢性持续期或临床缓解期)仍存在痰瘀互结, 余邪未清。正虚以肺脾气虚, 气血不足为主, 肺气虚易触风邪, 脾虚痰湿内生, 痰气交结, 气滞血瘀, 病情胶固难除, 使哮喘反复发作。病机关键在于正虚血瘀及伏痰存在, 治疗应以益气、祛风、理血(养血活血)三法同施, 令风邪祛, 表卫固, 气血旺, 痰瘀化则哮喘自平。此法代表方“小儿咳喘液”应用于临床多年, 并开展了多项科学实验, 证实小儿喘咳液不仅有平喘、改善微循环、调节

植物神经功能失调、提高患儿免疫功能等作用, 而且还具有抗炎功能以及减轻气道重塑作用^[3-7], 能有效控制临床症状, 减少哮喘发作, 疗效显著。方中炙麻黄、桂枝为君, 炙麻黄宣肺定喘; 桂枝温肺化饮通络, 两者合用可宣肺散邪、平喘止咳; 细辛、鹅管石、紫苏子为臣, 温肺肾、降气化痰; 细辛合麻黄、桂枝, 又能加强解表散寒祛风、温肺化饮的作用, 配伍毛冬青、蚤休清热化痰、祛瘀通络; 同时又佐以五味子敛肺气; 当归养血活血而平喘咳; 五爪龙益肺固表, 健脾化痰。诸药合用具攻补兼施、寒热并用、气血同调、敛散并行、刚柔相济的特点。

现代药理学研究认为麻黄含有麻黄碱、伪麻黄碱等多种生物碱及挥发油、鞣质等, 当归所含的正丁烯酞内酯和藁本内酯对支气管平滑肌有明显的松弛作用; 桂枝、细辛具有抑制炎症细胞脱颗粒的作用; 五

味子、当归具有增强细胞免疫功能的作用^[8]。故此法此方对小儿哮喘无论是急性发作期，还是非急性发作期，辨证属于寒哮、寒热夹杂及虚实夹杂型哮喘均有效。

目前研究认为，慢性气道炎症、气道重塑、持续性气道高反应性是哮喘的三大特征，导致哮喘病反复发作。气道重塑是气道炎症损伤与修复的结果，也是支气管哮喘最基本的病理特征之一，是产生气道高反应性的根本原因。因此，采用早期干预的手段有效控制气道炎症及防止气道重塑的发生是防治哮喘的关键^[9]。本实验是从大鼠致敏后(喘息未发作)即开始干预，旨在研究中药对哮喘的发生有预防或减速的作用。病理结果可支持这一点：小儿喘咳液各组的上述病理表现均较病理模型组轻，尤其可以减少杯状细胞的增生，其中高剂量组可明显减轻上述病理改变，效果甚于孟鲁司特钠组，均未见嗜酸性粒细胞，说明中、高剂量小儿喘咳液具有明显的抗炎作用。

本实验肺组织病理形态方面，病理模型组见支气管壁增厚、黏膜下水肿，以淋巴细胞及浆细胞浸润为主的炎症反应。支气管壁均可见不同程度的嗜酸性粒细胞浸润，并见明显的杯状细胞增生，支气管黏膜明显突向管腔，可见平滑肌增生。肺泡壁充血，肺泡间隔增宽，少量淋巴细胞浸润，可见轻 - 中度肺气肿，与空白对照组相比均比较严重。孟鲁司特钠组：支气管壁的慢性炎症较明显，同病理模型组比较，杯状细胞增生及黏膜增生突向管腔较轻，肺气肿及肺间质性炎较轻，仅有 3 例可见少量嗜酸性粒细胞，其中 1 例是极少量。小儿喘咳液各组上述病理表现均较病理模型组轻，尤其可以减少杯状细胞的增生，其中高剂量组上述病理改变明显减轻，效果好于孟鲁司特钠组，均未见酸性粒细胞；中低剂量组上述病理改变的

程度与孟鲁司特钠组相当。嗜酸性粒细胞可作为哮喘发作的主要依据，研究表明嗜酸性粒细胞在气道浸润的数量与哮喘急性发作及严重程度密切相关。病理形态结果提示小儿喘咳液治疗组可明显减少哮喘大鼠肺组织中的嗜酸性粒细胞，从而减轻气道炎症反应。

[参考文献]

- [1] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2008, 31(3): 177-185.
- [2] 吴银根, 王丽新. 基质金属蛋白酶及其抑制剂在哮喘气道重塑中的作用及止喘胶囊的干预[J]. 中西医结合学报, 2004, 2(6): 435-439.
- [3] 黎凯燕. 小儿喘咳液合苍耳子散抗哮喘气道重塑及作用机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2009.
- [4] 黄钢花, 刘华, 黎凯燕. 儿童哮喘非急性发作期中医疗方案的临床研究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(10): 2418-2419.
- [5] 黄钢花, 黎世明, 黎凯燕, 等. 黎氏哮喘 号方对哮喘患儿痰液细胞学的研究[J]. 中医药学刊, 2004, 22(1): 133-135.
- [6] 刘华, 黎世明. 小儿喘咳液对哮喘豚鼠肺超微结构变化的电镜观察[J]. 医学理论与实践, 2001, 14(6): 497-498.
- [7] 黄钢花, 黎世明, 黎凯燕, 等. 小儿喘咳液对哮喘豚鼠气道炎症影响的研究[J]. 辽宁中医杂志, 2004, 31(11): 968-969.
- [8] 黎世明. 黎炳南儿科经验集[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 122-123.
- [9] 张朝蕾, 薄建萍, 李江波. 地塞米松对大鼠支气管哮喘气道重塑及 PDGF- BB 表达的影响[J]. 当代医学, 2010, 16(30): 10-11.

(责任编辑: 马力)

· 书讯 · 《中医临床常见症状术语规范》由广州中医药大学黎敬波教授主编，中国医药科技出版社出版。临床中要提高临床诊断效率，保障治疗水平的发挥，就必须从全面收集和准确分析症状入手。该书系统整理了临床常见症状 2000 余条，对常见症状术语进行了解释和规范，本书能对临床医师合理、准确使用症状术语提供帮助，也可以供中医科学研究和学生参考。每本 15 元（含包装邮寄费），欲购者请汇款至广州市机场路 12 号大院广州中医药大学《新中医》编辑部发行科，邮政编码：510405，并在汇款单附言栏注明书名、数量。