

咳喘宁对支气管哮喘大鼠气道重塑及肺组织Ⅲ型胶原含量的影响

杨枚祥¹, 于文涛¹, 徐华洲¹, 段旭东², 王晓红², 王香婷¹

(1. 河北医科大学中医学院, 河北 石家庄 050091; 2. 河北医科大学第二医院, 河北 石家庄 050000)

【摘要】 目的 观察咳喘宁对支气管哮喘大鼠气道形态学和肺组织Ⅲ型胶原含量的影响。方法 40只SD大鼠被随机分为正常对照组、模型组、咳喘宁高剂量组(含生药量2.70 kg/L)、咳喘宁低剂量组(含生药量1.35 kg/L)、桂龙咳喘宁组(含生药量0.04 kg/L),每组8只。以卵蛋白致敏并吸入激发法制备大鼠支气管哮喘模型,各治疗组均从第1次哮喘激发开始(制模第3周)至处死前每日灌胃给药,4周后处死大鼠,取肺组织行苏木素-伊红(HE)染色,彩色图像分析仪测量支气管管壁厚度、平滑肌厚度,采用放射免疫法检测肺组织Ⅲ型胶原含量。结果 与正常对照组比较,模型组大鼠支气管管壁和平滑肌厚度、肺组织Ⅲ型胶原含量明显增加(P 均 <0.01);与模型组比较,各治疗组支气管管壁和平滑肌厚度及肺组织Ⅲ型胶原含量均显著降低(P 均 <0.01),且咳喘宁高、低剂量组效果明显优于桂龙咳喘宁组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论 咳喘宁可通过降低肺组织Ⅲ型胶原含量,减轻支气管哮喘大鼠气道壁增厚和平滑肌增生肥大,从而抑制支气管哮喘的气道重塑。

【关键词】 咳喘宁;支气管哮喘;气道重塑;Ⅲ型胶原

中图分类号:R256.12;R285.5 文献标识码:A 文章编号:1008-9691(2008)02-0089-03

Effects of Kechuanning (咳喘宁) on collagen type Ⅲ and airway remodeling of bronchial asthmatic rats YANG Mu-xiang¹, YU Wen-tao¹, XU Hua-zhou¹, DUAN Xu-dong², WANG Xiao-hong², WANG Xiang-ting¹.

1. The College of Traditional Chinese Medicine, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050091, Hebei, China; 2. The Second Affiliated Hospital, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei, China

【Abstract】 Objective To observe the effect of Kechuanning (咳喘宁) on the content of collagen type Ⅲ and airway remodeling of bronchial asthmatic rats. **Methods** Forty Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into 5 groups: the normal control group, the model group, Kechuanning high-dose group (2.70 kg/L), Kechuanning low-dose group (1.35 kg/L), Guilongkechuanning control group (0.04 kg/L), 8 rats being in each group. The bronchial asthmatic model was established by egg protein sensitization and long-term inhalation provocation. Except the normal control group, gastric lavage was performed to administer various medicine daily to the rats of each treatment group from the first time of provocation (the 3rd week after the model was established) to execution. After 4 weeks, the rats were killed and the lung tissues were taken to be stained with hematoxylin and eosin (HE). A computer assisted image analysis system was used to determine the thickness changes of bronchus wall and smooth muscle. The contents of collagen type Ⅲ in lung tissue were determined by radiation-immunization method. **Results** Compared with the normal control group, the thickness of bronchus wall and bronchus smooth muscle, the content of collagen type Ⅲ in lung tissue were increased in the model group (all $P<0.01$). Compared with the model group, the thickness of bronchus wall and bronchus smooth muscle, the content of collagen type Ⅲ in lung tissue were decreased in each treatment group (all $P<0.01$). The effects of the high-dose and low-dose groups were superior to those of the Kechuanning group ($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion** Kechuanning could decrease the content of collagen type Ⅲ in lung tissue and to restrain air passage thickening and smooth muscle hyperplasia and against airway remodeling.

【Key words】 Kechuanning; bronchial asthma; airway remodeling; collagen type Ⅲ

支气管哮喘是一种由多种细胞特别是肥大细胞、嗜酸性细胞和T淋巴细胞参与的慢性气道炎

基金项目:河北省科技攻关计划项目(06276102D-37)

作者简介:杨枚祥(1940-),男(汉族),天津市人,教授,博士生导师,主任医师,Email:yangmx427@163.com.

症^{〔1〕}。本病反复发作,可导致气道重塑,致使病情顽固难愈。气道重塑是引起患者气道高反应性、肺功能进行性损害的主要原因,并可导致顽固性哮喘^{〔2〕}。咳喘宁是本课题组根据中医理论及多年临床观察自拟

表 1 各组大鼠气道形态学参数和肺组织Ⅲ型胶原含量的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	药物剂量(kg/L)	动物数	支气管数	支气管管壁厚度(%)	支气管平滑肌厚度(%)	Ⅲ型胶原含量($\mu\text{g/g}$)
正常对照组		8	24	2.52±1.07	1.17±0.86	0.85±0.30
模型组		8	24	7.64±1.91 ^a	4.02±1.49 ^a	2.67±0.48 ^a
桂龙咳喘宁组	0.04	8	24	5.69±1.64 ^b	2.95±0.94 ^b	1.72±0.40 ^b
咳喘宁高剂量组	2.70	8	24	4.12±1.51 ^{bd}	2.05±1.04 ^{bd}	1.26±0.27 ^{bc}
咳喘宁低剂量组	1.35	8	24	4.49±1.62 ^{bd}	2.22±1.08 ^{bc}	1.30±0.44 ^{bc}

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.01$;与桂龙咳喘宁组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$;空白为无此项

的临床效方,我们前期的研究表明,该方药对喘息型支气管炎患者和模型大鼠具有显著的平喘止咳作用^[3-4]。为了阐明其治疗支气管哮喘的作用机制,本课题组观察了该药对支气管哮喘大鼠肺组织Ⅲ型胶原含量和病理组织学的影响,报告如下。

1 材料与方

1.1 药物及主要试剂:咳喘宁由炙麻黄、炒杏仁、紫菀、款冬花、五味子、炙百部、地龙、炙黄芪、太子参、桃仁、丹参、淫羊藿等中药组成,水煎,分别浓缩成含生药量 2.70 kg/L(高剂量组)和 1.35 kg/L(低剂量组)的混悬液。桂龙咳喘宁胶囊由山西桂龙医药有限公司生产,国药准字 Z20053135,生产批号:050706,每粒 0.3 g,使用前用生理盐水溶解成浓度为 0.04 kg/L 的混悬液。卵蛋白由美国 Sigma 公司生产;Ⅲ型胶原放射免疫分析试剂盒为北京北方生物技术研究所产品。

1.2 动物模型制备:清洁级 SD 大鼠 40 只,雌雄各半,鼠龄 40 d,体重 180~200 g,由华中科技大学同济医学院实验动物学部提供,动物合格证号:SCXK(鄂)2004-007。除正常对照组外,各组大鼠腹腔内注射质量分数为 10%的卵蛋白和 10%氢氧化铝混合液 1 ml,致敏后 15 d 用 1%卵蛋白喷雾激发大鼠哮喘发作,隔日 1 次,每次 20 min,共激发 4 周。以大鼠出现呼吸加快、口唇发绀、腹肌痉挛、点头呼吸及站立不稳等表现为激发成功。正常对照组以生理盐水代替卵蛋白进行腹腔注射及雾化吸入。

1.3 动物分组及给药方法:将动物按随机数字表法分为正常对照组、模型组、桂龙咳喘宁组及咳喘宁高、低剂量组,每组 8 只。各治疗组均从第 1 次哮喘激发开始(制模第 3 周)至处死前灌胃给药(剂量见表 1),正常对照组、模型组给予质量分数为 0.5%的羧甲基纤维素钠液灌胃,每日 1 次,连续 4 周。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 气道形态学观察:动物麻醉后取其右肺中叶,经体积分数为 4%的多聚甲醛固定,脱水、包埋、切片,苏木素-伊红(HE)染色观察,参照文献^[5]方

法测量大鼠气道壁面积,并用气管内周长(Pi)进行标准化。采用 NYD1000 型图像分析软件测定完整支气管管腔的 Pi、管壁面积(WA)、支气管平滑肌面积,用 Pi 进行标准化,分别以 WA/Pi 比值、支气管平滑肌面积/Pi 比值来表示支气管管壁厚度和支气管平滑肌厚度。

1.4.2 肺组织Ⅲ型胶原含量检测:取剩余右肺组织匀浆,采用放射免疫法检测肺组织Ⅲ型胶原含量。

1.5 统计学分析:使用 SPSS 11.5 软件进行数据处理。结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析和 q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠气道形态学参数的比较(表 1):与正常对照组比较,模型组大鼠支气管管壁和平滑肌厚度均明显增加(P 均 < 0.01);与模型组比较,各治疗组大鼠支气管管壁和平滑肌厚度均明显减小(P 均 < 0.01),且咳喘宁高、低剂量组效果明显优于桂龙咳喘宁组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.2 各组大鼠肺组织Ⅲ型胶原含量的比较(表 1):与正常对照组比较,模型组大鼠肺组织Ⅲ型胶原含量明显升高($P < 0.01$);与模型组比较,各治疗组大鼠肺组织Ⅲ型胶原含量均显著降低(P 均 < 0.01),且咳喘宁高、低剂量组效果明显优于桂龙咳喘宁组(P 均 < 0.05)。

3 讨论

支气管哮喘属中医“哮病”范畴,认为本病的发生多因宿痰伏肺,感邪引触,痰随气升,气因痰阻,痰气壅塞气道,肺气宣肃失常所致。若本病反复发作,日久损伤肺、肾,以致肺肾气虚,气虚而血行无力,气血瘀滞,因此肺肾气虚、痰阻血瘀为本病的主要病机。本课题组根据多年临床观察,筛选炙麻黄、炒杏仁、紫菀、款冬花、五味子、炙百部、地龙、炙黄芪、太子参、桃仁、丹参、淫羊藿等药物组成咳喘宁方。方中炙麻黄开宣肺气,杏仁降气平喘,二药相合,一升一降,共为宣降肺气、止咳平喘要药。现代药理研究结果表明^[6]:麻黄可显著抑制支气管痉挛;杏仁含苦杏

仁甘,止咳平喘效佳;紫菀与款冬花均可润肺降气,化痰止咳;紫菀重在祛痰,款冬花功擅止咳,故二药常配合使用;五味子可敛肺滋阴,多用于久咳虚喘者;百部润肺降逆止咳,对金黄色葡萄球菌有抑制作用;地龙咸寒入肺,通经活络,止咳平喘;炙黄芪、太子参益肺生津,提高机体免疫功能,以复肺脏宣肃之功效;桃仁活血化痰,可祛肺络瘀血,止咳平喘;丹参功擅祛瘀活血,可增进肺泡毛细血管网的气体弥散,改善血液循环和肺的宣肃功能,使痰液更易排出;淫羊藿补肾纳气,以利肺气之肃降。诸药合用,共奏补气活血祛瘀、化痰止咳平喘之功效。

支气管哮喘反复发作,可导致气道重塑,致使病情顽固难愈。气道重塑又称气道重建,是引起患者气道高反应性,肺功能进行性损害的主要原因,并可导致顽固性哮喘^[2]。采用啮齿类动物卵蛋白腹腔注射并吸入激发法,可模拟哮喘发作和气道重塑的发病过程^[7],其主要病理表现为气道上皮下纤维化,细胞外基质沉积,平滑肌细胞增生、肥大,尤以气道壁和平滑肌增厚是气道重塑的重要特征。近年来研究表明,Ⅲ型胶原是肺内细胞外基质中胶原的主要成分,由肺成纤维细胞等间质细胞以Ⅲ型前胶原(PCⅢ)的形成合成并分泌到细胞外,前胶原分解后形成胶原分子、氨基端前胶原肽(PNP)和羧基前胶原肽(PCP),胶原积聚是肺间质纤维化的重要特征^[8]。在哮喘气道重建过程中,Ⅲ型、V型胶原的增生成为细胞外基质沉积的主要病理基础,V型胶原成分增生主要表现为小支气管基底膜显著增厚,Ⅲ型胶原可致黏膜下层显著增生^[9]。免疫组化分析表明,胶原的

沉积导致上皮下纤维化,增厚的基底膜主要由Ⅲ、V型胶原、少量I型胶原及纤维连接蛋白组成,因此气道壁Ⅲ型、V型胶原的增多可作为气道重塑的标志^[10]。本研究显示,咳喘宁可通过降低肺组织Ⅲ型胶原含量,抑制支气管哮喘大鼠气道壁增厚和平滑肌增生肥大,减缓支气管哮喘大鼠的气道重塑过程,达到治疗支气管哮喘的目的。

参考文献

- [1] 陈灏珠. 实用内科学[M]. 10版. 北京:人民卫生出版社,1998:1397.
- [2] 梁琰,姚天樵,张蔚,等. 哮喘与慢性支气管炎气道炎症的临床病理对比性研究[J]. 中华结核和呼吸杂志,1998,21(11):668-671.
- [3] 杨牧祥,方朝义,杨宝元,等. 咳喘宁胶囊治疗慢性支气管炎124例临床观察[J]. 临床荟萃,2002,17(2):95-96.
- [4] 杨牧祥,方朝义,李英敏,等. 咳喘宁胶囊对慢性支气管炎大鼠支气管及肺组织病理形态学的影响[J]. 河北中医学报,2002,17(1):1-4.
- [5] 吴巧珍,殷凯生,王祥. 咪唑莫特对支气管哮喘大鼠辅助性T淋巴细胞亚群的作用[J]. 中华结核和呼吸杂志,2004,27(5):355-357.
- [6] 高学敏. 中药学[M]. 北京:中国医药科技出版社,1990:39,270,228.
- [7] 张在其,梁仁,黄建明,等. 小青龙汤对哮喘小鼠肺组织Th1/Th2作用的实验研究[J]. 中国中西医结合急救杂志,2004,11(6):368-371.
- [8] 贾静,刘晓民,张健鹏. 甲基泼尼松龙干预对急性肺损伤大鼠Ⅲ型前胶原的影响[J]. 中国危重病急救医学,2006,18(8):459-461.
- [9] 张韶君,杜永成,许建英. 致敏大鼠成肌纤维细胞与Ⅲ型、V型胶原表达关系的研究[J]. 山西医科大学学报,2003,34(2):111-113.
- [10] 杨莉,王文建,李海浪,等. 川芎嗪对哮喘大鼠气道壁胶原合成的影响[J]. 江苏医药,2003,29(11):818-819.

(收稿日期:2007-06-05 修回日期:2007-12-10)

(本文编辑:李银平)

• 消息 •

中华医学会全国重症医学研讨会征文通知

为促进我国重症医学发展,提高重症患者诊治水平,中华医学会重症医学分会定于2008年5月22—25日在杭州第一世界大酒店召开“中华医学会全国重症医学研讨会”。此次会议是重症医学分会2008年年会,大会将介绍重症医学最新进展,讨论学科前沿问题,重点突出国内近年来在重症医学领域中临床和科研方面的工作。届时将邀请国内外著名重症医学专家进行专题报告并重点研讨重症患者治疗方法实施和过程的管理问题。欢迎全国从事重症医学、呼吸、麻醉、急诊及相关学科的同道踊跃投稿并出席会议。

1 交流内容包括:①重症医学现状与规范化建设;②严重感染、休克与多器官功能障碍综合征;③COPD与机械通气;④ARDS与机械通气;⑤呼吸机相关性肺炎;⑥侵袭性真菌感染;⑦肾脏替代治疗;⑧重症胰腺炎;⑨营养与代谢支持;⑩镇静与镇痛;⑪心、肺、脑复苏;⑫血流动力学监测与容量治疗;⑬其他与重症医学有关的学术内容。

2 征文要求:①未在国内公开刊物上发表的论文(勿投综述类文章);②全文1份,4 000字以内,编排顺序为:题目、单位、邮编、姓名、正文;③摘要1份,1 000字以内,编排顺序为:题目、单位、邮编、姓名、正文。摘要正文格式必须包括:目的、方法、结果和结论4部分(对因时间来不及及写出全文者,本次会议允许仅投摘要);④请务必附通讯地址、联系电话(单位、住宅)、手机、Email,以便及时联系。

3 本次大会采用网上投稿收集论文,请登录中华医学会网站:www.cma.org.cn,学术活动→学术会议→全国重症医学研讨会。投稿截止时间为3月30日。请作者自留底稿,文责自负,恕不退稿。

4 联系人:李佳,联系地址:北京市东四西大街42号中华医学会学术会务部,联系电话:010-85158128(办),Email:lijia@cma.org.cn,邮编:100710。

5 学术论文证书和学分:被会议录用的论文将收入大会论文集,并可获得大会论文集证书。全体参会代表可获得国家级I类继续教育学分。

6 论文评奖:我们将组织专家对投稿论文进行评审,评选出一、二、三等奖,并颁发获奖证书及奖金。

7 壁报评奖:参加壁报交流的论文,内容和制作优秀者,可获得优秀壁报证书和奖励。

8 青年论坛:我们将在会议中组织“青年论坛”专题,欢迎35岁以下医生投稿,对评选出的优秀青年医生论文将大会发言并颁发优秀青年论文奖。

(中华医学会学术会务部,中华医学会重症医学分会)