

## 姜黄素与地塞米松对百草枯中毒大鼠肺组织损伤治疗作用的对比研究

于淼淼, 吴伟

(中国医科大学附属第一医院急诊科, 辽宁 沈阳 110001)

**【摘要】** 目的 观察姜黄素和地塞米松对百草枯致肺纤维化大鼠胶原沉积、转化生长因子- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) 表达的影响。方法 将 80 只雄性 Wistar 大鼠随机分为 4 组, 每组 20 只。百草枯组用百草枯 50 mg/kg 一次性灌胃染毒, 1 h 后腹腔注射生理盐水 1 ml; 姜黄素组染毒 1 h 后腹腔注射姜黄素 200 mg/kg; 地塞米松组染毒 1 h 后腹腔注射地塞米松 3 mg/kg; 对照组用 1 ml 生理盐水灌胃, 1 h 后再腹腔注射生理盐水 1 ml。各组每日用药 1 次, 直至处死动物前 1 d 为止。各组于 1、3、7、14 d 随机处死 5 只动物, 取肺组织进行苏木素-伊红(HE)染色、Masson 染色, 观察病理学改变; 采用免疫组化染色, 检测肺组织中 TGF- $\beta$ 1 表达水平。结果 地塞米松组和姜黄素组大鼠肺组织胶原沉积较百草枯组明显减少。百草枯组、地塞米松组和姜黄素组 7 d 和 14 d 时 TGF- $\beta$ 1 表达均显著高于对照组, 且地塞米松组和姜黄素组明显低于百草枯组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 而地塞米松组和姜黄素组各时间点 TGF- $\beta$ 1 表达则无明显差异 ( $P$  均  $> 0.05$ )。结论 姜黄素和地塞米松均可减轻百草枯所致大鼠肺泡炎和肺纤维化, 其作用机制可能与抑制 TGF- $\beta$ 1 有关。姜黄素和地塞米松治疗效果无明显差异, 但姜黄素比地塞米松副作用少, 更具有临床应用价值。

**【关键词】** 姜黄素; 地塞米松; 百草枯; 中毒; 转化生长因子- $\beta$ 1; 大鼠

中图分类号: R285.5; R256.1 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2009.05.016

**A comparative study on the effect of curcumin (姜黄素) and dexamethasone on paraquat-induced lung injury in rats** YU Miao-miao, WU Wei. Department of Emergency, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning, China

Corresponding author: WU Wei, Email: wuwei196010@126.com

**【Abstract】** Objective To observe the effect of curcumin (姜黄素) and dexamethasone on the expression of transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) and amount of collagen deposition in the pulmonary fibrosis caused by paraquat in rats. Methods Eighty male Wistar rats were randomly divided into four groups (each  $n=20$ ). At the beginning of the experiment, each rat in paraquat, curcumin and dexamethasone groups was treated with paraquat (50 mg/kg), and in normal control and paraquat groups, treated with 1 ml saline intra-gastrically. An hour after the poisoning, curcumin group received curcumin (200 mg/kg) and dexamethasone group received dexamethasone (3 mg/kg) intra-peritoneally, and 1 ml saline was given to the normal control and paraquat groups via the same route. The rats in each of the above groups were treated with their respective drugs or saline once a day until one day before death. On each of the following days, the 1st, 3rd, 7th and 14th day, 5 rats from each group were randomly killed; the lung was incised to make pathological sections which were stained with hematoxylin-eosin (HE), Masson and by immunohistochemical technique to show the expression of TGF- $\beta$ 1. Results The collagen deposition in curcumin and dexamethasone treatment groups was obviously lighter than that in paraquat group. The lung tissue expression of TGF- $\beta$ 1 on the 7th and 14th day was significantly increased in paraquat, curcumin and dexamethasone groups, but in curcumin and dexamethasone treated groups, it was significantly lower than that in the paraquat group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). There was no obvious difference between the two drug treatment groups in the expression of TGF- $\beta$ 1 at each time point (all  $P > 0.05$ ). Conclusion Curcumin and dexamethasone both can alleviate pulmonary alveolitis and fibrosis induced by paraquat in rats, the mechanism is possibly related to the inhibition of TGF- $\beta$ 1. Although the therapeutic effect of curcumin and dexamethasone has no significant difference, curcumin has less side effects than dexamethasone, thus the former one has better prospect in clinical application.

**【Key words】** curcumin; dexamethasone; paraquat poisoning; transforming growth factor- $\beta$ 1; rat

通信作者: 吴伟, Email: wuwei196010@126.com 作者简介: 于淼淼(1981-), 女(汉族), 辽宁省人, 医师。

百草枯中毒的特征性改变是肺损伤,表现为早期肺泡上皮细胞受损,肺泡内出血水肿,炎性细胞浸润,晚期则出现肺泡内和肺间质纤维化,称为“百草枯肺”,是急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的一种变异形式,也是中毒患者的主要死亡原因。姜黄素是姜黄的主要活性成分之一,据报道姜黄素具有抗炎、抗氧化、抗纤维化等广泛的药理活性<sup>[1]</sup>。本实验中通过百草枯灌胃建立中毒大鼠肺损伤模型,观察姜黄素和地塞米松对百草枯中毒肺损伤的干预作用及转化生长因子β1(TGF-β1)在肺组织的表达,为姜黄素的临床应用提供理论依据。

### 1 材料与方 法

**1.1 实验动物及试剂:**雄性 Wistar 大鼠 80 只,体重 150~250 g(由中国医科大学实验动物中心提供)。20%百草枯溶液(克无踪,英国捷利康有限公司);地塞米松注射液(郑州羚锐制药有限公司);姜黄素(美国 Sigma 公司);TGF-β1 试剂盒(美国 Santacruz 试剂公司,北京中杉公司分装)。

**1.2 动物分组与模型制备:**将 80 只大鼠按随机数字表法分为 4 组,每组 20 只:①百草枯组:百草枯 50 mg/kg 一次灌胃染毒,之后每日腹腔注射 1 ml 生理盐水;②姜黄素组:染毒后 1 h 腹腔注射姜黄素 200 mg/kg;③地塞米松组:染毒后 1 h 腹腔注射地塞米松 3 mg/kg;④对照组:1 ml 生理盐水一次灌胃,之后每日腹腔注射 1 ml 生理盐水。各组腹腔注射用药直至处死动物的前 1 d。

**1.3 检测指标及方法:**各组于 1、3、7、14 d 随机处死 5 只大鼠,取肺脏置于-80℃冻存备用。

**1.3.1 肺组织病理学检查:**取肺组织,将病理切片分别进行苏木素-伊红(HE)染色、Masson 染色、固定、包埋、切片,显微镜下观察肺组织病理学改变。

**1.3.2 肺组织 TGF-β1 的测定:**取肺组织,用免疫组化法染色,严格按试剂盒说明书操作步骤测定。

**1.4 统计学方法:**采用 SPSS 11.5 软件进行统计学分析,计量资料用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,进行方差分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 组织病理学改变(彩色插页图 1)

#### 2.1.1 HE 染色

**2.1.1.1 对照组:**肺泡结构清晰,肺泡壁薄,肺泡隔无增宽及充血,无炎性细胞浸润及出血现象。

**2.1.1.2 百草枯组:**染毒后 1 d 可见肺泡壁毛细血管扩张、充血,内皮细胞肿胀,肺内小灶状或大片状炎性细胞浸润,以中性粒细胞为主;3 d 后肺间质和

肺泡水肿达高峰,部分肺泡腔充满粉染均质水肿液,部分有透明膜形成,弥漫性肺出血,肺泡腔塌陷,肺泡腔内有游离的中性粒细胞和巨噬细胞,部分肺泡腔结构破坏,结构不完整,出现肺泡腔断裂;染毒后 7 d 仍可见肺泡性水肿及肺泡腔内水肿、出血,肺泡塌陷明显,部分区域有巨噬细胞为主的肺炎改变,细支气管周围淋巴组织增生,淋巴滤泡形成,可见到成纤维细胞,增生的成纤维细胞从细小支气管和肺泡壁向肉芽肿内延伸;14 d 出现部分肺泡间隔纤维性增厚,可见胶原纤维增生。

**2.1.1.3 地塞米松组和姜黄素组:**给药 1 d、3 d 肺泡毛细血管仍有扩张、充血,内皮细胞肿胀,肺泡腔内水肿、出血,炎性细胞浸润;7 d、14 d 时也可见肺泡间隔增厚,但损伤较百草枯组明显减轻。

**2.1.2 Masson 染色显示胶原沉积情况(彩色插页图 2):**镜下观察可见百草枯组染毒 7 d 部分肺泡呈现实变倾向;14 d 肺泡间隔增厚,肺支气管黏膜下、血管壁及周围、肺泡壁、肺间质均有胶原沉积;姜黄素组和地塞米松组胶原沉积明显轻于百草枯组;对照组胶原沉积不明显。

**2.2 TGF-β1 表达的变化(表 1;彩色插页图 3):**百草枯组、姜黄素组、地塞米松组 TGF-β1 表达于 7 d 显著升高,14 d 升高更明显,组内比较差异均有统计学意义( $P$  均  $< 0.01$ )。姜黄素组、地塞米松组 7 d 和 14 d 时 TGF-β1 表达较百草枯组明显降低( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。姜黄素组和地塞米松组各时间点 TGF-β1 表达差异无统计学意义( $P$  均  $> 0.05$ )。

表 1 各组大鼠染毒或给药后不同时间点肺组织 TGF-β1 表达变化比较( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	肺组织 TGF-β1 表达量(A 值)			
	1 d	3 d	7 d	14 d
对照组	8.55±3.21	9.49±3.12	9.99±3.21	10.29±3.67
百草枯组	9.17±2.91	9.58±2.27	16.31±4.28 <sup>bc</sup>	48.81±14.57 <sup>bc</sup>
姜黄素组	8.39±2.58	8.81±2.85	12.57±3.93 <sup>abc</sup>	15.85±4.83 <sup>abc</sup>
地塞米松组	7.89±2.69	8.24±3.64	13.27±5.91 <sup>abc</sup>	17.02±6.03 <sup>bc</sup>

注:与对照组比较,\* $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与百草枯组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ,<sup>d</sup> $P < 0.01$ ;与本组前一时间点比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$

## 3 讨 论

自 1966 年 Bullivant<sup>[2]</sup>首次报道了 2 例百草枯中毒死亡病例后,世界各地相继报道百草枯中毒病例。百草枯毒性强,人口服致死量约 30~40 mg/kg。目前认为,百草枯的中毒机制主要是进入机体后产生氧自由基,损伤毛细血管内皮细胞和肺泡上皮细胞,减少或失活肺泡表面活性物质,破坏肺泡壁的完

整性;肺间质成纤维细胞增生并通过破损的基底膜间隙向肺泡内迁移,早期肺间质内胶原合成增加,后期出现细胞外基质合成降解失衡,肺泡腔部分或完全融合并通过纤维素等物质与间质的结缔组织连接,重塑肺泡、气道组织结构,最终造成肺泡隔增厚、局灶性肺不张、肺泡壁和胸膜增厚、间质纤维化<sup>[3-6]</sup>。本实验中百草枯组也表明为早期以肺间质和肺泡水肿、炎性细胞浸润为主,可见肺泡毛细血管扩张、充血,内皮肿胀,弥漫性出血,甚至透明膜形成,以后以纤维组织增生为主,可见肺间隔增宽,Masson 染色见大量胶原沉积。

有关肺纤维化发病机制的研究显示,细胞因子可通过自分泌或旁分泌方式发挥其生物学作用,并通过与其靶细胞表面相应受体相互作用将生物信号转导至细胞内,启动胞内信号转导级联,调控胞内基因表达,从而导致肺纤维化,TGF- $\beta$ 1 被认为是肺纤维化病理过程起重要作用的细胞因子之一,在肺纤维化发生的细胞因子网络中占据着重要地位<sup>[7-9]</sup>。其中 TGF- $\beta$ 1 是目前已知的对胶原合成最直接和有效的刺激剂,可促进成纤维细胞的增生,诱导胶原蛋白合成增加,抑制胶原蛋白的降解;还可刺激成纤维细胞分化为肌成纤维细胞,并抑制其凋亡<sup>[10]</sup>。TGF- $\beta$ 1 致肺纤维化的作用机制可能包括:启动介于炎性细胞之间与肺组织结构细胞之间,以及细胞与细胞外基质之间持续进行的炎症和纤维化过程<sup>[11]</sup>,促进肺成纤维细胞自分泌 TGF- $\beta$ 1 和上调 I、 $\beta$  型前胶原基因表达<sup>[12]</sup>。

地塞米松抗肺纤维化的作用已经得到了国内外大部分学者的认同,一般认为,糖皮质激素一方面可能通过抑制炎症和免疫反应减轻肺泡炎病变;另一方面可能通过抑制成纤维细胞的增生,减少胶原蛋白的合成<sup>[13]</sup>。近年来,国内对于姜黄素的抗肺纤维化<sup>[14]</sup>、抗肾纤维化<sup>[15]</sup>、抗肝纤维化<sup>[16]</sup>等作用已经在多个试验中被证实。本研究表明,百草枯中毒大鼠肺组织 TGF- $\beta$ 1 表达明显增高;姜黄素、地塞米松组 TGF- $\beta$ 1 表达均明显降低,但较对照组有所增高;而姜黄素组和地塞米松组各时间点 TGF- $\beta$ 1 表达没有明显差异。

长期大剂量应用糖皮质激素可引起一系列不良反应,如免疫抑制、骨质疏松、严重感染等。本实验中发现,地塞米松组中 3 只大鼠有感染症状,如尾部破

损部位感染,肺部感染,即为皮质激素类药物不良反应的具体表现。

#### 参考文献

- [1] Sharma RA, Gescher AJ, Steward WP. Curcumin, the story so far[J]. Eur J Cancer, 2005, 41(3):1955-1968.
- [2] Bullivant CM. Accidental poisoning by paraquat; report of two cases in man[J]. Br Med J, 1966, 1(5498):1272-1273.
- [3] Nakamura T, Ushiyama C, Shimada N, et al. Changes in concentrations of type IV collagen and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in patients with paraquat poisoning[J]. J Appl Toxicol, 2001, 21(6):445-447.
- [4] Orito K, Suzuki Y, Matsuda H, et al. Chymase is activated in the pulmonary inflammation and fibrosis induced by paraquat in hamsters[J]. Tohoku J Exp Med, 2004, 203(4):287-294.
- [5] Mustafa A, Gado AM, Al-Shabanah OA, et al. Protective effect of aminoguanidine against paraquat-induced oxidative stress in the lung of mice [J]. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, 2002, 132(3):391-397.
- [6] Venkatesan N. Pulmonary protective effects of curcumin against paraquat toxicity[J]. Life Sci, 2000, 66(2):PL21-28.
- [7] Kasper M, Seidel D, Knels L, et al. Early signs of lung fibrosis after in vitro treatment of rat lung slices with CdCl<sub>2</sub> and TGF- $\beta$ 1[J]. Histochem Cell Biol, 2004, 121(2):131.
- [8] Koslowski R, Seidel D, Kuhlisch E, et al. Evidence for the involvement of TGF- $\beta$  and PDGF in the regulation of prolyl 4-hydroxylase and lysyl oxidase in cultured rat lung fibroblasts[J]. Exp Toxicol Pathol, 2003, 55(4):257-264.
- [9] Gaudie J, Galt T, Bonniaud P, et al. Transfer of the active form of transforming growth factor- $\beta$ 1 gene to newborn rat lung induces changes consistent with bronchopulmonary dysplasia[J]. Am J Pathol, 2003, 163(6):2575-2584.
- [10] Bartram U, Speer CP. The role of transforming growth factor beta in lung development and disease[J]. Chest, 2004, 125(2):754-765.
- [11] Sheppard D. Pulmonary fibrosis, a cellular overreaction or a failure of communication [J]? J Clin Invest, 2001, 107(12):1501-1502.
- [12] 蔡后荣, 戴令娟, 郑培德, 等. 肺纤维化大鼠肺组织转化生长因子  $\beta$ 1 和前胶原基因的表达[J]. 中华医学杂志, 2001, 81(4):247-248.
- [13] 袁志明, 陈光瑾, 杜文彬. 地塞米松对肺损伤大鼠肺泡巨噬细胞释放肿瘤坏死因子- $\alpha$  和白细胞介素-6 的影响[J]. 中国危重病急救医学, 1999, 11(11):669-671.
- [14] 高蔚, 张德平, 华云峰. 姜黄素对大鼠肺成纤维细胞增殖和凋亡的影响[J]. 实用医学杂志, 2008, 24(14):2393-2396.
- [15] 赵爱育, 张晓明, 侯恒, 等. 姜黄素对单侧输尿管梗阻大鼠肾小管上皮细胞分化影响的研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2007, 14(6):348-351.
- [16] 何雅军, 舒建昌, 吕霞, 等. 姜黄素预防肝纤维化作用与肝星状细胞的关系[J]. 中华肝脏病杂志, 2006, 14(5):337-340.

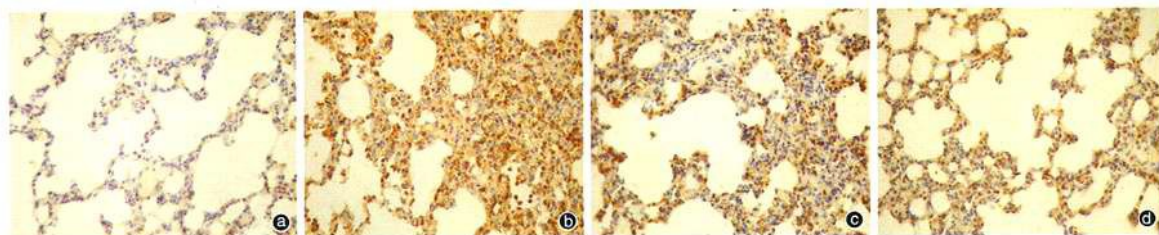
(收稿日期:2009-03-02 修回日期:2009-04-27)

(本文编辑:李银平)

更正:由于校对失误,本刊 2009 年第 4 期胡静的文章《宣肺通腑化痰法对肺间质纤维化小鼠羟脯氨酸和转化生长因子- $\beta$ 1 含量的影响》中图 2 的染色方法更正为天狼星红染色,特此向作者致歉!  
(本刊编辑部)

## 黄芪注射液对重症急性胰腺炎肺损伤大鼠核转录因子- $\kappa$ B表达的影响

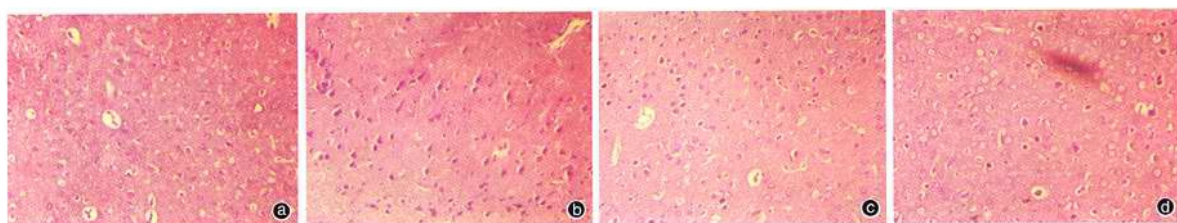
(正文见278页)



①:假手术组; ②:SAP组; ③:黄芪低剂量组; ④:黄芪高剂量组  
图1 光镜下观察各组大鼠制模后6h肺组织NF- $\kappa$ B p65蛋白表达(免疫组化,  $\times 400$ )

## 银杏达莫注射液对大鼠心肺复苏后血清低氧诱导因子-1 $\alpha$ 水平变化的影响

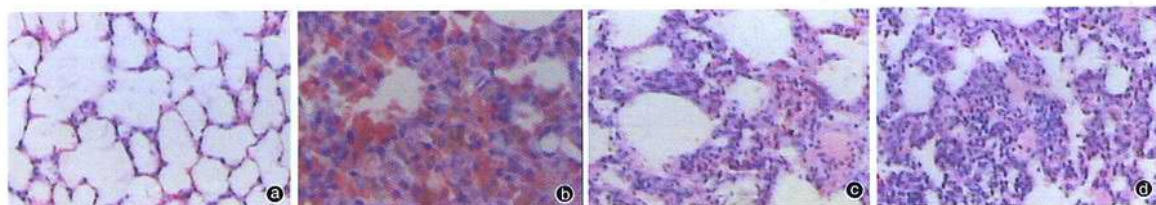
(正文见290页)



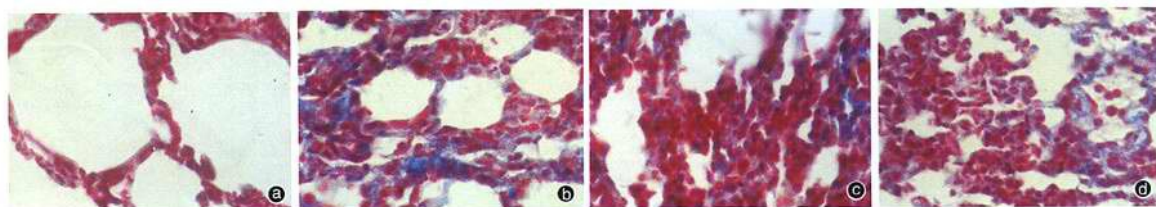
①:对照组; ②:模型组; ③:银杏达莫低剂量组; ④:银杏达莫高剂量组  
图1 光镜下观察各组大鼠大脑皮质病理学改变(HE,  $\times 400$ )

## 姜黄素与地塞米松对百草枯中毒大鼠肺组织损伤治疗作用的对比研究

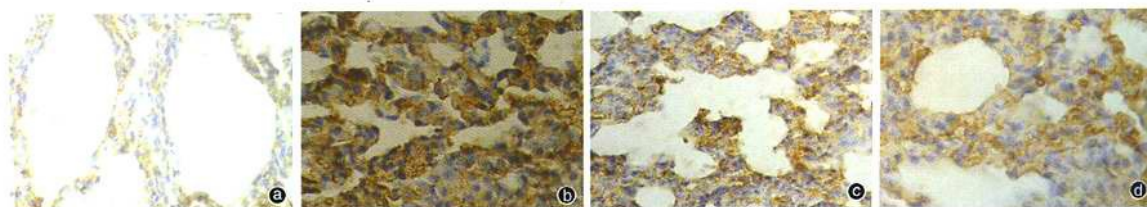
(正文见299页)



①:对照组; ②:百草枯组; ③:地塞米松组; ④:姜黄素组  
图1 光镜下观察各组大鼠染毒或给药3d肺组织病理学改变(HE,  $\times 100$ )



①:对照组; ②:百草枯组; ③:地塞米松组; ④:姜黄素组  
图2 光镜下观察各组大鼠染毒或给药14d肺组织胶原沉积情况(Masson,  $\times 200$ )



①:对照组; ②:百草枯组; ③:地塞米松组; ④:姜黄素组  
图3 光镜下观察各组大鼠染毒或给药14d肺组织TGF- $\beta$ 1表达(免疫组化,  $\times 200$ )