

DOI:10.16305/j.1007-1334.2016.11.024

清肺止咳灵糖浆对慢性支气管炎急性发作期大鼠肺组织病理学及血清 IL-8、TNF- α 的影响

田 伟¹, 张淑香², 江柏华³

1. 黑龙江中医药大学附属第一医院重点学科专科办公室(黑龙江 哈尔滨 150040); 2. 黑龙江中医药大学中医药研究院药理室(黑龙江 哈尔滨 150040); 3. 黑龙江省中医医院呼吸科(黑龙江 哈尔滨 150036)

【摘要】 目的 研究清肺止咳灵糖浆对慢性支气管炎急性发作期大鼠肺组织病理学变化及血清 IL-8、TNF- α 的影响。**方法** 将 Wistar 大鼠 40 只,雌雄各半,随机分为空白组、阳性药组、模型组、中药低剂量组、中药高剂量组,每组 8 只。除空白组以外的其余 4 组大鼠均采用改良烟熏法,建立大鼠慢性支气管炎急性发作期模型。光镜下观察支气管与肺组织的形态学改变,并测定各组大鼠血清 IL-8、TNF- α 的含量。**结果** 与空白组比较,模型组大鼠血清 IL-8、TNF- α 的含量差异有统计学意义($P < 0.05$)。与空白组比较,清肺止咳灵高、低剂量组、阳性药组均能降低慢性支气管炎急性发作期大鼠血清 IL-8、TNF- α 的含量($P < 0.05$)。病理学结果显示,清肺止咳灵糖浆高、低剂量组与阳性药组均能不同程度改善慢性支气管炎急性发作期大鼠支气管及肺组织病理损伤。**结论** 清肺止咳灵糖浆对慢性支气管炎急性发作期大鼠肺组织具有修复及抗炎反应作用,可能与降低血清 IL-8、TNF- α 的含量水平有关。

【关键词】 清肺止咳灵糖浆;慢性支气管炎急性发作期;病理学变化;IL-8;TNF- α

Effects of Qingfei Zhikeling syrup on pathology of lung tissue and serum IL-8 and TNF- α of rats with chronic bronchitis in acute attack

TIAN Wei¹, ZHANG Shu-xiang², JIANG Bai-hua³

1. *Specialist Office of Key Discipline, The First Hospital Affiliated to Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin, 150040*; 2. *Department of Pharmacology, Institute of Traditional Chinese Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, 150040*; 3. *Department of Respiratory, Heilongjiang Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Harbin, 150036*

Abstract: Objective To study the effects of Qingfei Zhikeling syrup on pathology of lung tissue and serum IL-8 and TNF- α of rats with chronic bronchitis in acute attack. **Methods** 40 Wistar rats (20 male and 20 female) were randomly divided into the blank group, positive drug group, model group, Chinese medicine group with low- and high-dose, 8 rats in each group. Except the blank group, the model of chronic bronchitis in acute attack was established in the other rats by improved smoked method. The morphological changes of bronchus and lung tissue were observed under light microscope, and the serum contents of IL-8 and TNF- α were determined. **Results** There were statistically significant differences on the serum contents of IL-8 and TNF- α between the blank group and model group ($P < 0.05$). Compared with the blank group, the serum contents of IL-8 and TNF- α in the Chinese medicine group with low- and high-dose and positive drug group were all decreased ($P < 0.05$). Pathological results showed that the morphological injuries of bronchus and lung tissue of rats with chronic bronchitis in acute attack were improved in various degrees after the treatment with Qingfei Zhikeling syrup with low- and high-dose and positive drug. **Conclusion** Qingfei Zhikeling syrup shows repair and anti-inflammatory effect on lung tissue of rats with chronic bronchitis in acute attack, which may be related to reducing the serum contents of IL-8 and TNF- α .

Keywords: Qingfei Zhikeling syrup; chronic bronchitis in acute attack; pathological changes; IL-8; TNF- α

慢性支气管炎是呼吸科最常见的慢性病之一,其起病慢、病程长、常反复急性发作,冬春季好发,以老年

人常见,易致阻塞性肺气肿和肺源性心脏病,严重影响患者的生活质量和生命安全^[1]。西医多采用抗炎、祛痰等对症治疗为主,仅能缓解病情,总体治疗效果欠佳^[2]。清肺止咳灵糖浆在我院临床应用多年,治疗慢性支气管炎急性发作具有较好的疗效。本文从病理形态学角度和细胞因子水平,分析慢性支气管炎急性发作期大鼠肺组织病理学变化和血清 IL-8、TNF- α 的含量,探讨其作用机制。

【基金项目】 黑龙江省中医药管理局青年基金项目(黑 20070469)

【作者简介】 田伟,女,硕士,主治医师,主要从事中医内科临床及实验研究工作

【通讯作者】 张淑香,博士,副研究员,硕士生导师。

E-mail: zsxia1010@163.com

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 选用 Wistar 大鼠 40 只,体质量 185 ~ 210 g,雌雄各半,由黑龙江省哈尔滨市兽研所提供。动物合格证号:黑动字第 P00122005。

1.1.2 药物及试剂 清肺止咳灵糖浆(批号:20070113),黑龙江中医研究院制剂室;强力枇杷露(20061128),贵州神奇制药有限公司;0.9% NaCl 溶液(批号:20070210),哈药集团三精制药;“林海林芝”香烟,哈尔滨卷烟厂;IL-8 放免试剂盒(批号:20070815),北京福瑞生物工程公司;TNF-α 放免试剂盒(批号:20071029),北京福瑞生物工程公司。

1.1.3 仪器 精密电子天平(JA2007),上海天平仪器厂;高速台式离心机(TG16-WS),卢相仪离心仪器有限公司;光学显微镜(ML2000),科视达中国有限公司;全自动生化仪(7180 800 T/H),日本日立公司;数码相机(T200),日本索尼公司;自动石蜡切割机(M350),英国 SHANON 公司。

1.2 分组、造模及给药 Wistar 大鼠 40 只,随机分为 5 组,每组 8 只,即清肺止咳灵低剂量组、清肺止咳灵高剂量组、空白组、模型组、阳性药组。实验前一周将 Wistar 大鼠置于实验环境中喂养。空白组饲养在无烟环境中,其余各组采用改良烟熏法建立大鼠慢性支气管炎急性发作期模型^[3]。参照文献方法自制钢丝笼和烟熏箱,每笼放置 8 只大鼠,将钢丝笼放置于烟熏箱中的架子上,将香烟按照 4 支/组捆扎,点燃后分组挂在钢丝笼下,15 min 后再点燃 1 批香烟,2 批用香烟共计 64 支。每次 50 min,每日 2 次,38 天后改为每日 1 次,共计 76 天^[4]。

于造模成功后第二天进行治疗性给药,阳性药组予以强力枇杷露(2.70 μl · g⁻¹ · d⁻¹)灌胃;清肺止咳灵高剂量组按 16.20 μl/g(生药含量 24.79 g · kg⁻¹ · d⁻¹)的剂量灌胃;低剂量组按照 4.05 μl/g(生药含量

表 1 各组大鼠血清 IL-8、TNF-α 含量比较(n=8, $\bar{x} \pm s$, mg/L)

组别	剂量(μl · g ⁻¹ · d ⁻¹)	IL-8	TNF-α
空白组	-	0.250 6 ± 0.007 8	0.363 8 ± 0.069 0
模型组	-	0.263 7 ± 0.007 9 *	0.437 9 ± 0.031 9 *
阳性药组	2.7	0.251 4 ± 0.007 5 #	0.366 9 ± 0.051 4 #
清肺止咳灵低剂量组	4.05	0.252 3 ± 0.011 5 #	0.361 3 ± 0.067 1 #
清肺止咳灵高剂量组	16.20	0.251 0 ± 0.013 0 #	0.359 3 ± 0.087 5 #

注:与空白组比较,*P<0.05;与模型组比较,#P<0.05

2.2 大鼠肺组织病理学变化 给药 3 周后,空白组可见支气管上皮细胞完整,细胞呈假复层柱状纤毛上皮,排列整齐,肺泡上皮完整,无明显病理改变无明显扩

6.20 g · kg⁻¹ · d⁻¹)的剂量灌胃;空白组、模型组灌胃等体积 0.9% NaCl 溶液^[4]。以上各组均 1 日 1 次灌胃给药,连续给药 21 天。

1.3 取材及检测方法

1.3.1 血清 IL-8、TNF-α 含量 各组大鼠灌胃给药结束后,于给药结束后次日清晨空腹颈动脉取血,即刻用离心机以 3 500 r/min 的速度离心 5 min,分离出血清,放置于 -20 ℃ 冰箱内冷冻保存待测^[4]。血清 IL-8 和 TNF-α 的测定均按照试剂盒说明书进行规范操作。血清 IL-8 应用放射免疫双抗法进行测定;血清 TNF-α 用液相竞争法进行测定。

1.3.2 支气管与肺组织的形态学改变 取血结束后,将各组大鼠予以断头处死,弃左肺,取 1 cm × 1 cm × 1 cm 右中叶肺组织连同部分支气管和气管,浸泡于 10% 甲醛溶液内,固定时间为 1 周。应用酒精将组织块脱水、透明、浸蜡、包埋及切片等逐级处理,使用 HE 染色法,将支气管与肺组织放置于光镜下,观察其形态学改变。

1.4 统计学方法 实验数据采用 SPSS 17.0 统计学软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用多组均数间比较的方差分析、两两比较的 q 检验。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对慢性支气管炎急性发作期大鼠血清 IL-8、TNF-α 的影响 与空白组比较,模型组大鼠血清 IL-8、TNF-α 的含量差异有统计学意义(P<0.05),说明慢性支气管炎急性发作期大鼠模型制造成功。与空白组比较,清肺止咳灵高、低剂量组、阳性药组均能降低慢性支气管炎急性发作期大鼠血清 IL-8、TNF-α 的含量(P<0.05)。清肺止咳灵高剂量与低剂量组比较,血清 IL-8、TNF-α 的含量差异无统计学意义(P>0.05)。与阳性药组比较,清肺止咳灵高、低剂量组差异无统计学意义(P>0.05)。见表 1。

张,上皮细胞无明显增生。模型组可见细支气管管腔扩大,管壁因纤维组织的增生而增厚,同时伴有上皮细胞的脱落及坏死,管壁周围可见大量淋巴细胞浸润,肺

泡间隔增宽,并伴有急性炎细胞浸润。阳性药组支气管管腔无明显扩张,但有较明显的管壁增厚现象,支气管黏膜的上皮细胞基本完好,仅有少量的淋巴细胞浸润。清肺止咳灵高剂量组的各级支气管细支气管黏膜上皮完整,无明显的坏死和增生,伴少量的淋巴细胞浸

润;肺泡间隙稍厚,少量淋巴细胞浸润。清肺止咳灵低剂量组可见各级支气管上皮细胞偶见坏死、脱落,伴上皮细胞轻度增生,管壁略增厚,伴轻度淋巴细胞浸润,组织病理损伤程度明显减轻。见图 1。

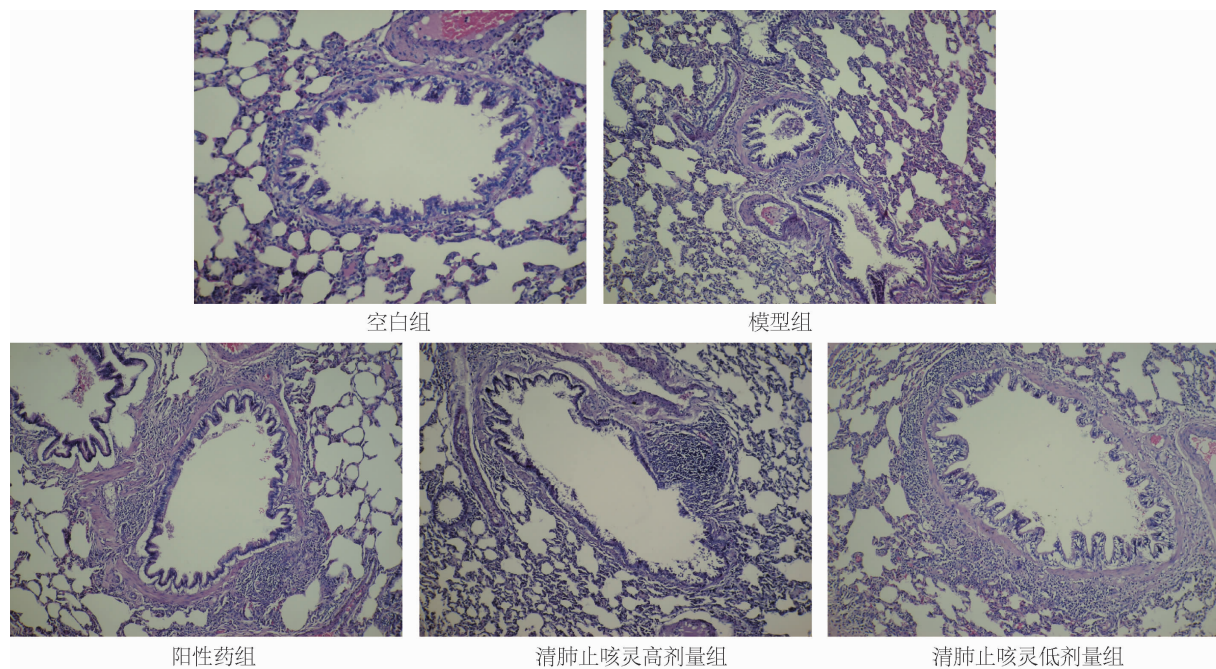


图 1 各组大鼠肺组织病理情况(HE 染色, ×400)

3 讨论

慢性支气管炎是由感染或非感染因素引起的气管、支气管黏膜及其周围组织的慢性炎症,临床上以咳嗽、咯痰为主要症状,每年发病持续 3 个月,连续 2 年或 2 年以上,其患病率为 2.5% ~ 9.0%,50 岁以上的患病率高达 15% 以上^[6]。当急性发作时咳嗽加剧,咯痰量增加、出现黄痰和(或)喘息,且痰液黏稠,不易咯出,使已经变形狭窄的呼吸道易被痰液堵塞,细菌极易在气道生长,引起感染顽固存在^[7]。

患者急性发作易导致心肺功能衰竭及肺性脑病,如控制不及时,临床死亡率极高^[8]。

慢性支气管炎患者普遍存在机体免疫功能低下和免疫调节紊乱,主要表现为体液免疫和细胞免疫功能的低下^[9]。患者呼吸道的免疫功能下降,过滤、湿润空气的作用不能得到充分发挥,为慢性支气管炎的发病提供了合适的条件^[10]。机体免疫功能失衡,呼吸道黏膜损伤严重,气道呈高反应性,而老年人免疫功能比较低,更加容易发生感染,导致急性发作^[11]。慢性支气管炎急性发作的基本病理过程为气道炎症,Th1、Th2 细胞释放的多种细胞因子和炎性介质参与了气道炎症的形成,其中白细胞介素在气道炎症形成过程中起重要作用^[12]。而气道炎症以中性粒细胞、巨噬细胞浸润为

主。IL-8 来源于中性粒细胞、单核巨噬细胞、T 细胞等^[9]。IL-8 是 C-X-C 族趋化因子中的一种强有力的中性粒细胞趋化及激活因子,对单核细胞、淋巴细胞等也具有趋化作用。并且其对机体具有双向的调节作用,小剂量时在调节免疫反应和防御感染方面起重要作用^[13]。而大量时则可趋化中性粒细胞、淋巴细胞等到炎症局部,引起炎症或变态反应^[14]。当机体抵抗力下降时,IL-8 水平可有不同程度的升高,并可在一定程度上反映疾病的严重程度^[15]。因此,IL-8 可趋化中性粒细胞并使其持续活化,活化后释放炎性介质,如 IL-8、白三烯等,连锁加重气道炎症,可导致气道平滑肌肥大增生、黏液腺和杯状细胞大小和数量增加、气道黏膜下及外膜组织水肿等一系列病变^[16]。TNF- α 是由单核巨噬细胞产生的具有广泛生物学活性的多肽,与机体炎性、免疫反应密切相关^[17]。TNF- α 是目前发现的炎症作用最强的细胞因子,能够直接激活炎细胞,促使其释放出更多的氧和氮基团,使炎症持续存在^[18]。并且还有研究表明,TNF- α 是一种介导炎性反应的“核心”炎症介质,可刺激白细胞及内皮细胞分泌细胞黏附因子,促进 CRP、IL-1 等的合成、释放,加重呼吸道炎症反应,并进一步放大炎症反应^[19]。作为慢性支气管炎急性发作期的炎性因子,TNF- α 水平的升高则是对机体呈现的保护性反应,通过调节吞噬细胞系统发挥抗感染作

用。TNF- α 炎性因子水平的波动是机体炎性状态的直观反映,也是判定疗效、病情转归的重要指标^[20]。因此,IL-8、TNF- α 可作为关键因子参与慢性支气管炎急性期的发病,可使炎症病程加速,也可通过二者判定慢性支气管炎急性发作的疗效及病情转归。

本实验研究结果显示,大鼠外周血 IL-8、TNF- α 的含量在模型组中表现明显升高,说明 IL-8、TNF- α 含量的升高与慢性支气管炎的急性发作有关。清肺止咳灵高、低剂量组均能使慢性支气管炎急性发作期大鼠外周血 IL-8、TNF- α 的含量降低,进而减轻慢性支气管炎急性发作期大鼠的炎症反应。清肺止咳灵糖浆可能通过调整 IL-8、TNF- α 的含量,去除炎症诱发因素,从而使 IL-8、TNF- α 的分泌来源减少,减少由 IL-8、TNF- α 诱导的炎症因子连锁分泌,达到降低炎症程度,起到治疗慢性支气管炎急性发作的作用。病理学结果亦显示,清肺止咳灵糖浆高、低剂量组与阳性药组均能不同程度改善慢性支气管炎急性发作期大鼠支气管、肺组织病理损伤,说明清肺止咳灵糖浆对大鼠支气管及肺组织具有修复作用,对慢性支气管炎急性发作期具有较好的治疗作用。

综上,清肺止咳灵糖浆对慢性支气管炎急性发作具有较好的治疗作用,降低外周血 IL-8、TNF- α 的含量可能是控制慢性支气管炎急性发作期炎症反应的作用机制之一。

参考文献:

- [1] 刘秀梅. 氨溴索和噻已新佐治慢性支气管炎急性发作的疗效对比研究[J]. 中外医学研究, 2013, 11(31): 173.
- [2] 向建军. 痰热清注射液治疗喘息型慢性支气管炎急性发作期 40 例临床观察[J]. 河北中医, 2015, 37(11): 1711-1712.
- [3] 王伟明, 佟喜勤, 赵海波, 等. 慢支康颗粒剂的抗炎作用及慢支模型小鼠病理形态的影响[J]. 黑龙江中医药, 1998, 11(6): 326-327.
- [4] 田伟, 张淑香, 江柏华, 等. 清肺止咳灵对慢性支气管炎急性发作期大鼠外周血中 IL-6 和 CRP 的影响[J]. 黑龙江中医药, 2008, 37(2): 53-54.
- [5] 高惠英, 李建强, 宋满景, 等. 慢性支气管炎大鼠气道炎症与血清胆

红素的动态观察及意义[J]. 中国药物与临床, 2005, 14(5): 840-842.

- [6] 翁惠, 邝自珍, 祁昌杰. 中医药分期分型治疗慢性支气管炎的研究进展[J]. 广西中医药, 2014, 37(4): 10-12.
- [7] 曾省都, 唐晓媛. 78 例盐酸氨溴索佐治慢性支气管炎急性发作的临床观察[J]. 现代诊断与治疗, 2015, 26(21): 4862-4863.
- [8] 易本菊. 自拟方治疗慢性支气管炎急性发作期疗效探讨[J]. 中医临床研究, 2015, 30(7): 78-80.
- [9] 徐树华, 折哲, 熊必丹, 等. 清肺颗粒治疗慢性支气管炎痰热郁肺证的临床研究[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(4): 747-749.
- [10] 陈丽华. 氨溴索联合干扰素雾化吸入治疗慢性支气管炎急性发作的疗效观察[J]. 临床医药文献杂志, 2015, 30(2): 6189-6192.
- [11] 谢鹏飞. 胸腺肽联合抗生素治疗老年慢性支气管炎急性发作期临床疗效观察[J]. 中国实用医药, 2016, 11(5): 151-152.
- [12] 韩磊, 强选平, 费娟子. 肺必清汤对急性支气管炎大鼠血清 IL-2、IL-8 水平影响研究[J]. 陕西中医药大学学报, 2016, 39(1): 97-111.
- [13] 朱天民, 周桦, 李辉. 鼻渊舒口服液对兔慢性鼻-鼻窦炎模型 IL-8、TNF- α 影响的实验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2011, 38(4): 759-761.
- [14] 沈维增, 吕红梅, 谢峥伟, 等. 当归拈痛汤对急性痛性关节炎患者血 IL-1、IL-8 和 TNF- α 的影响[J]. 中国中医急症, 2011, 20(3): 353-365.
- [15] 范玮, 张良兵, 陶兰. 阿奇霉素联合鱼腥草注射液对小儿支气管肺炎 IL-6 和 IL-8 的影响[J]. 现代诊断与治疗, 2015, 26(19): 4380-4381.
- [16] 杜秀婷, 林海雄, 卓桂锋, 等. 苏子降气汤对慢性支气管炎模型小鼠 TNF- α 、IL-8 表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(10): 2311-2313.
- [17] 曾静, 靳蓉, 陈敏, 等. 血清 IL-8、IgE、TNF- α 和外周血 EOS 水平在儿童哮喘中的表达及意义[J]. 疑难病杂志, 2015, 14(6): 604-610.
- [18] 张文辉, 陈永凤, 左丽娜, 等. 慢性阻塞性肺疾病血浆 IL-16、TNF- α 和 FIB 的表达[J]. 临床肺科杂志, 2014, 19(12): 2142-2144.
- [19] 郭素娟, 牛莉娜, 肖胜霞. 孟鲁司特钠对 AECOPD 患者血清 IL-13、TNF- α 水平及肺功能的影响[J]. 南昌大学学报: 医学版, 2015, 55(5): 71-73.
- [20] 郭传彬, 荣世舫. 小青龙汤合三子养亲汤治疗慢性支气管炎临床研究[J]. 河南中医, 2016, 36(1): 120-122.

编辑: 季春来

收稿日期: 2016-03-24