

## 中药芪红合剂对肺间质纤维化模型大鼠肺组织中 TGF- $\beta_1$ 表达的影响\*

燕小宁<sup>1</sup>, 马 华<sup>1</sup>, 王 青<sup>2</sup>, 赵瑞宝<sup>3</sup>

( 1.山西医科大学第二医院中医科, 山西 太原 030001; 2.山西大学医院, 山西 太原 030006;

3.山西中医学院, 山西 太原 030024)

**摘要** 目的: 探讨中药芪红合剂在肺间质纤维化过程中的作用及其机理。方法: 采用气管内注射博来霉素 A5 建立肺间质纤维化的大鼠模型。将 40 只 Wistar 大鼠随机分为 4 组: 假手术组、模型组、泼尼松治疗组、芪红合剂治疗组, 每组 10 只。给各组大鼠灌胃相应的生理盐水或药物, 术后 15 d 处死各组大鼠, 取两肺组织, 一部分行石蜡包埋切片, HE 染色, 观察病理改变, 另一部分采用 ELISA 法定量测定 TGF- $\beta_1$ 。结果: 与假手术组比较, 模型组大鼠肺组织有明显的纤维化改变, TGF- $\beta_1$  的含量显著升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 泼尼松治疗组和芪红合剂治疗组大鼠肺组织中 TGF- $\beta_1$  含量显著下降 ( $P < 0.01$ )。结论: 中药芪红合剂可能通过降低肺组织中 TGF- $\beta_1$  的含量而减轻肺间质损伤及纤维化改变。

**关键词** 芪红合剂; TGF- $\beta_1$ ; 肺间质纤维化

中图分类号: R563

文献标识码: A

文章编号: 1671-0258(2007)02-0011-03

## Effect of Qihong Decoction on Transforming Growth Factor- $\beta_1$ Expression in Lung Tissues of Model Rats with Pulmonary Fibrosis

Yan Xiaoning, Ma Hua, Wang Qing, Zhao Ruibao

(The Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan Shanxi 030001)

**Abstract** Objective: To study the effect of Qihong decoction on rats with pulmonary fibrosis and its mechanism. Methods: Model rats were induced by injecting bleomycin A5 into trachea. 40 Wistar rats were randomized into sham operation control group (given saline), model group (given saline), prednisone treatment group, Qihong decoction treatment group ( $n = 10$ ). The lung tissues were collected after 15 days treatment. The level of TGF- $\beta_1$  was measured by ELISA, and the level of fibrosis was observed by HE stain. Results: Compared with sham operation control group, the change of pulmonary fibrosis and the level of TGF- $\beta_1$  in model group rats were obviously increase ( $P < 0.01$ ). Compared with model group, the levels of TGF- $\beta_1$  in two treatment groups were obviously decreased ( $P < 0.01$ ). Conclusion: Qihong decoction can alleviate lung tissue damage and pulmonary fibrosis through down-regulating TGF- $\beta_1$  expression.

**Key words** Qihong decoction; Transforming Growth Factor- $\beta_1$ ; pulmonary fibrosis

特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 是由弥漫性间质性肺疾病引起、以弥漫性肺泡单位慢性炎症和间质纤维化为主要病理特征的一大疾病<sup>[1]</sup>。该病发病率约为 5/10 万人, 近年来有上升趋势。统计资料显示其 5 年生存率低于 50%, 目前临床治疗常用的药物是糖皮质激素、免疫抑制剂和一些抗纤维化制剂, 这些治疗尚不能使患者的生存率有所改善。

中药制剂芪红合剂是我们临床上治疗各种肺脏疾病的基础方剂, 常与他药配用治疗各种慢性肺脏疾病。经临床观察, 他能有效保护慢性肺病患者的肺功能, 延缓肺病的发展。在长期临床实践的基础上, 我们通过气管内注射博来霉素 A5 建立肺间质纤维化的大鼠模型, 以芪红合剂进行干预治疗, 观察致纤维化因子 TGF- $\beta_1$  在肺组织的表达, 旨在探讨芪红合剂能否有效保护受损肺组织及其可能的作用机制, 以明确芪红合剂的抗纤维化功效。

### 1 材料与与方法

\*山西医科大学第二医院 2006 年新技术新项目 (项目编号: 2006025)  
燕小宁, 女, 医师, 从事中西医结合临床与科研工作  
收稿日期: 2006-11-19

### 1.1 实验材料

**1.1.1 实验动物** 选用健康雄性 Wistar 大鼠 40 只 (由山西医科大学实验动物中心提供, 二级), 体重 (200 $\pm$ 20) g。

**1.1.2 实验仪器** 酶标比色仪 (美国宝特公司生产, ELX800 型); 石蜡切片机 (德国 Leica 公司生产); 超声波细胞粉碎机 (宁波新芝科器研究所生产); 恒温孵育箱 (Hirasawa 公司生产); 光学显微镜 (日本 Olympus 公司生产); 全自动照相系统 (日本 Olympus 公司生产)。

**1.1.3 药品与试剂** 中药芪红合剂由黄芪、红花、大黄、地龙等组成, 上药按比例称取后, 煎制浓缩为含生药 4.4 g/mL 的合剂 (山西医科大学第二医院中药制剂室制备)。泼尼松片: 5 mg/片, 批号: 060423, 浙江仙琚制药有限公司生产。博来霉素 A5: 8 mg/支, 批号: 060401, 天津太河制药有限公司生产。大鼠 TGF- $\beta_1$  酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测试剂盒 (通用型), 购自上海轩昊科技发展有限公司; HE 染色剂 (由山西医科大学医学实验中心新鲜配制); 10% 水合氯醛 (山西医科大学生理实验室新鲜配制)。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 动物分组** 40 只 Wistar 大鼠常规适应性饲养 3 d,

将大鼠随机分为4组:假手术组、模型组、泼尼松治疗组、芪红合剂治疗组,每组10只。

**1.2.2 造模及给药** 根据文献[2]制备肺间质纤维化大鼠模型,气管内注射5 mg/kg博来霉素A5溶液建立肺纤维化动物模型。假手术组动物在同样麻醉条件下气管内注入0.2 mL生理盐水。术后第2天开始每天给大鼠灌胃给药,假手术组和模型组予2 mL生理盐水;泼尼松治疗组予30 mg/kg泼尼松片;芪红合剂治疗组予2 mL中药芪红合剂(用药剂量相当于成人每天每公斤体重的20倍)。

**1.2.3 标本采集** 术后15 d处死所有大鼠采集标本。以10%水合氯醛0.3 mL/100 g体重腹腔注射麻醉大鼠,剖取两肺,剪除气管、主支气管,将右肺组织用冰盐水冲洗3遍,滤纸吸干水分,-70℃冻存,待做肺组织匀浆,用于蛋白指标检测;左肺组织用10%的中性甲醛溶液固定,石蜡包埋切片,以4 μm石蜡切片,常规行HE染色,待做病理形态学观察。

#### 1.2.4 指标观察

**1.2.4.1 肺组织病理观察** 将HE染色后的石蜡切片置于光镜下观察肺组织病理变化。

**1.2.4.2 肺组织TGF- $\beta_1$ 检测** 采用酶联免疫吸附法(ELISA)进行测定,取右侧肺组织,常温下解冻,吸去血迹,称取300 mg相同部位组织,分别装入EP管,加入PBS液1 mL,冰水中用超声波细胞粉碎机做组织匀浆,离心15 min,取上清液,按照试剂盒说明操作。

**1.2.5 统计学处理** 所有数据均以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,采用SPSS11.5统计软件分析,多组间采用单因素方差分析。

## 2 结果

### 2.1 肺组织病理观察

肉眼观察结果见图1~图4。假手术组肺组织结构正常,双肺呈粉红色,表面光滑;模型组可见肺组织体积缩小,表面有片状凹凸不平的苍白灶,也有个别灰黑色病灶。泼尼

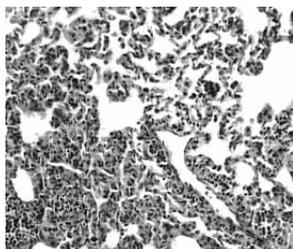


图1 假手术组(HE  $\times 100$ )

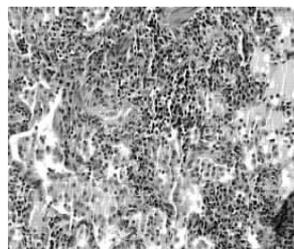


图2 模型组(HE  $\times 100$ )

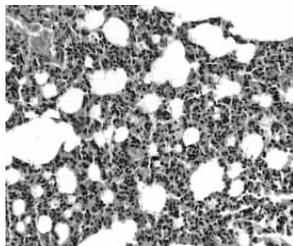


图3 泼尼松治疗组(HE  $\times 100$ )

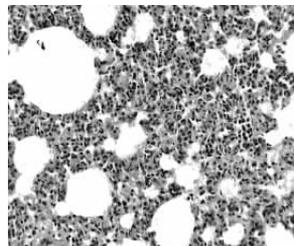


图4 芪红合剂治疗组(HE  $\times 100$ )

松治疗组、芪红合剂治疗组均有不同程度的苍白灶,但较模型组明显减少。

肺组织HE染色光镜下观察结果见图5~图8。假手术组肺组织形态学结构无明显改变;模型组肺组织可见明显的肺间质病变,肺泡隔增宽,间质水肿,炎性细胞浸润增多,成纤维细胞和肌成纤维细胞增殖;泼尼松治疗组和芪红合剂治疗组上述病理改变有所减轻,但较假手术组仍明显。

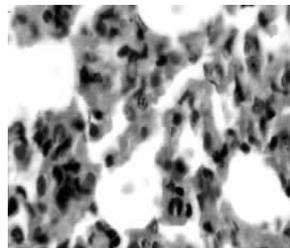


图5 假手术组(HE  $\times 400$ )

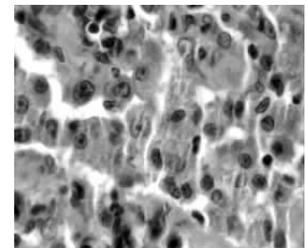


图6 模型组(HE  $\times 400$ )

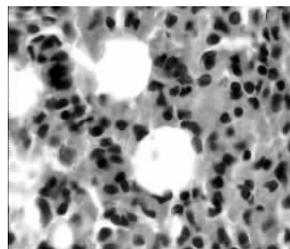


图7 泼尼松治疗组(HE  $\times 400$ )

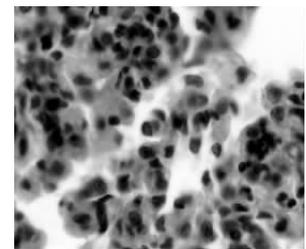


图8 芪红合剂治疗组(HE  $\times 400$ )

### 2.2 肺组织中TGF- $\beta_1$ 检测结果

结果见表1。由表可见,与假手术组比较,其余3组大鼠肺组织中TGF- $\beta_1$ 含量显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,两治疗组TGF- $\beta_1$ 含量显著降低( $P<0.01$ );而两治疗组间比较无显著差异( $P>0.05$ )。

表1 各组大鼠肺组织中TGF- $\beta_1$ 含量比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	TGF- $\beta_1$ (pg/mL)
假手术组	8	79.79 $\pm$ 44.03
模型组	8	200.31 $\pm$ 42.22 <sup>*</sup>
泼尼松治疗组	8	136.56 $\pm$ 55.94 <sup>#</sup>
芪红合剂治疗组	8	144.10 $\pm$ 52.37 <sup>#</sup>

注:与假手术组比较,<sup>\*</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.01$

## 3 讨论

肺间质纤维化是多种相关和触发因素参与的慢性肺疾病的共同结局,早期常常表现为肺炎,肺泡内有大量炎症细胞浸润,随后在炎症细胞、血小板等分泌的致纤维化因子的作用下,细胞外基质(ECM)成分合成降解失衡,间质胶原增生、沉积,最终导致肺纤维化。

根据中医理论,结合现代医学的发病机理,从中西医结合的角度,我们认为肺纤维化时,患者出现的进行性呼吸困难,肺顺应性降低,肺容量减少,通气/血流比例失调和弥散功能障碍,这些表现与中医学中的气虚血瘀、气虚生痰、痰瘀互结,不荣肺络,久而渐致肺络枯萎,痰瘀阻结肺络成毒为害的病机理论相符。因此,临床上我们配用益气活血化痰、解毒通络的黄芪、红花、大黄等治疗多种肺系疾病,取得

了满意疗效。芪红合剂中黄芪扶正顾本,能够抗炎抗病毒,是一种肯定的免疫功能调节剂,还能够抑制血小板聚集,对血小板聚集有一定的解聚作用<sup>[3,16]</sup>。有研究报道,黄芪能抑制人胚肺成纤维细胞表达细胞间黏附分子-1及白介素-6受体,进而减少ECM的合成<sup>[4]</sup>。红花活血化痰,可使全血凝固时间延长,研究表明红花所含成分红花黄色素具有抑制血小板聚集和增加纤溶酶活性的作用,如果以胶原诱导血小板聚集,则红花黄色素有明显的拮抗作用<sup>[3,16]</sup>。大黄解毒泻热,多方研究表明他能够通过多种途径对纤维化疾病起一定的防治作用,如保护细胞,减轻组织损伤,抑制ECM产生细胞的增殖,并诱导其凋亡等<sup>[5-6]</sup>。地龙清热平喘通络,并能“搜剔络邪”,芦根味甘性寒,凉润爽口,清热生津,养阴润肺。综观全方,黄芪以补气之虚、红花以通络之瘀、地龙以平肺之喘、大黄以泻热之毒、芦根以润肺之阴,补通兼施,补中有泻,共促肺之阴阳调和,窍络贯通,其翕辟(呼吸)之力自适均也。

在本研究中,我们在肉眼直视下将博来霉素A5缓慢注入大鼠气管内制造模型,然后检测了致纤维化因子TGF- $\beta_1$ 的表达变化。大鼠肺组织经博来霉素作用15d后取材,可见明显的肺间质病变。HE染色肺组织学改变显示肺泡隔明显增宽,间质水肿,炎性细胞浸润增多,成纤维细胞和肌成纤维细胞增殖。模型组肺组织中的TGF- $\beta_1$ 表达明显增强,此结果与国内外文献报道一致。而经过药物干预后的两治疗组TGF- $\beta_1$ 表达均有所下降,与模型组相比有统计

学意义( $P<0.01$ ),且中药芪红合剂的作用与泼尼松相比无显著性差异( $P>0.05$ )。这一结果提示中药芪红合剂与泼尼松均能够有效缓解肺纤维化的早期病变进展,而且可能通过抑制TGF- $\beta_1$ 在模型大鼠病变早期肺组织中表达的上调来延缓病变的进展。中药芪红合剂能够抑制TGF- $\beta_1$ 在博来霉素诱发肺间质纤维化模型大鼠肺组织中表达的上调,推测其抑制TGF- $\beta_1$ 表达上调的作用可能是其抗肺间质纤维化的作用机制之一。我们推测,在肺泡损伤、炎症及纤维化过程中进行早期合理的干预可以延缓肺间质纤维化的进展。

#### 参考文献

- [1] 高春芳, 陆伦根. 纤维化疾病的基础和临床[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004: 439-447.
- [2] Snider G L, Hayes J A, Korthy A L. Chronic interstitial pulmonary fibrosis produced in hamsters by endotracheal bleomycin: pathology and stereology[J]. Am Rev Respir Dis, 1978, 117(6): 1 099-1 108.
- [3] 康永. 中药药理学[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [4] 王要军, 孙自勤, 权启镇. 黄芪对人成纤维细胞ICAM-1, CD135表达及合成ECM的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学杂志, 1999, 4(3): 209-210.
- [5] 张喜平, 李宗芳. 大黄的药理作用研究概况[J]. 中国药理学通报, 2003, 19(8): 851-854.
- [6] 屈云, 姚平, 李廷谦. 大黄素对成纤维细胞增殖及细胞周期的影响[J]. 四川大学学报(医学版), 2004, 35(1): 73-76.

( 本文责编: 张文平 )

## 巨大声带息肉手术的改进

声带息肉是耳鼻咽喉科的常见病、多发病,但巨大的声带息肉临床上比较少见。传统的治疗多采用喉裂开术,近几年多采用支撑喉镜下手术。我们在没有支撑喉镜的条件下,2000年~2005年对纤维喉镜检查的126例声带息肉中5例巨大声带息肉患者采用环甲膜切开,鼻内窥镜下行声带息肉切除术,手术创伤小,疗效显著,现报道如下。

### 1 临床资料

5例患者均为男性,年龄54岁~68岁,有吸烟史30年~40年,声音嘶哑,病程最短者1年,最长者3年。间接喉镜检查:2例左声带前1/3处广基型灰白色息肉,3例右侧前联合处粉红色息肉垂向声门下。

### 2 治疗方法

术前清洁口腔,行喉部雾化吸入。手术在全麻下进行。患者取平卧头后仰位,肩部略垫高,于甲状软骨、环状软骨间隙作一长4cm纵行皮肤切口,从颈白线分离颈前肌层,切开环甲膜约1.5cm,气管内喷入1%地卡因溶液,插入0或30鼻内窥镜,引导切除喉内息肉组织,电凝止血,依次缝合环甲膜、带状肌、皮下组织和皮肤。术后标本送病理检验,给予止血抗感染治疗,雾化吸入,静脉点滴地塞米松注射液5mg 3d,以防喉水肿。同时备好气管切开包,密切观察患者术后呼吸情况,以防止呼吸困难的出现。7d后拆线。

### 3 结果

全部病例颈部切口愈合良好,呼吸平稳,声音嘶哑减轻或好转。术后10d纤维喉镜检查喉内创面愈合良好,

无肉芽组织。标本病检均为声带息肉。

### 4 讨论

声带息肉多数与用声不当及用声过度、上呼吸道疾病、吸烟、变态反应等有关<sup>[1]</sup>。本组5例巨大声带息肉患者都与长期吸烟有关。目前常用间接喉镜、直接喉镜、纤维电子喉镜、支撑喉镜或悬吊喉镜等治疗,治疗效果良好。

巨大声带息肉,传统治疗方法是行喉裂开术,目前多在支撑喉镜下进行。喉裂开术颈部纵切口上自甲状舌骨膜,下至环状软骨膜下缘,充分暴露两侧甲状软骨板前部及环甲膜,从正中线裂开甲状软骨板后切除息肉<sup>[2]</sup>。这种术式术后可能有喉腔肉芽、喉软骨炎、喉狭窄等并发症,创伤大,并且给患者带来较大的经济负担。

在没有支撑喉镜的条件下,我们从微创、减少副作用而达同样治疗效果的设想出发,设计从环甲膜进路,在鼻内窥镜下切除声带息肉。经临床观察颈部切口小,不影响颈部美观,手术治疗效果良好,给患者减轻了痛苦及经济负担。因此从环甲膜进路的声带息肉切除术有一定的实用价值。

#### 参考文献

- [1] 黄选兆, 汪吉宝. 实用耳鼻咽喉科学[M]. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 466.
- [2] 王直中, 钱永忠. 耳鼻咽喉-头颈外科手术图解[M]. 第1版. 南京: 江苏科学技术出版社, 1997: 486.

( 王利利 山西中医学院中西医结合医院 )