

· 实验研究 ·

益肺降纤方对减轻实验性大鼠矽肺纤维化的作用

Effect of a Chinese drug “profitting lung-reducing fibrosis recipe” on experimental silicosis in rats

王莉, 盛丽, 姚岚, 马智, 韩雪, 刘彤

WANG Li, SHENG Li, YAO Lan, MA Zhi, HAN Xue, LIU Tong

(辽宁中医学院, 辽宁 沈阳 110032)

摘要: 为了解益肺降纤方抗实验性大鼠矽肺纤维化的作用。将 60 只大鼠随机分为正常组、模型组、低剂量组、高剂量组。用非暴露式气管内注入法造模后, 15、30、60 d 分批处死动物, 测定动物肺指数及肺组织羟脯氨酸 (HYP) 含量, 观察肺组织病理形态变化, 并进行了分级判定。结果表明, 低剂量组、高剂量组与模型组比较, 肺指数明显低于模型组 ($P < 0.05$), 病理结果显示低剂量组、高剂量组病变明显轻于模型组。与模型组比较肺组织 HYP 含量明显降低 ($P < 0.05$)。提示, 益肺降纤方可减轻实验性大鼠矽肺纤维化, 高剂量优于低剂量。

关键词: 矽肺; 纤维化; 益肺降纤方; 大鼠

中图分类号: R135.2 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2006)03-0183-03

矽肺是由于粉尘所致弥漫性肺泡炎和肺泡结构紊乱并最终导致肺间质纤维化的疾病, 是常见的职业病, 目前尚无有效的治疗药物。我们通过研究临床经验“益肺降纤方”对减轻实验性矽肺大鼠肺纤维化的作用, 为该方药临床应用提供一定的实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验仪器及药品

石英粉尘 ($\leq 95\%$ 尘粒占 98% , 游离的 SiO_2 为 97%), 由中国预防医学科学院劳动卫生职业病研究所尘肺研究室提供。用前研磨 2 h, 用生理盐水配制成 40 mg/ml 的混悬液。羟脯氨酸 (HYP) 测试盒由南京建成生物工程研究所提供。益肺降纤方 (黄芪 500 g、沙参 250 g、当归 150 g、川芎 150 g、麦冬 200 g、丹参 250 g、杏仁 150 g、白术 200 g), 上述药物均符合《中国药典》(第一部) (2005 年版) 质量标准, 用煎药机煎煮提取, 浓缩至其终浓度为 1 g/ml (低剂量) 及 2 g/ml (高剂量) 两种。

FT-2 自动生化分析仪, OLYMPUS 光学显微镜, ZKPACS-G 型中科恒业病理图像分析仪, Metamorph 图像分析软件。

1.2 实验动物及方法

Wistar 大鼠 60 只, 雌性, 体重 $180 \sim 200 \text{ g}$, 由沈阳药科大学实验动物室提供。分为正常组、模型组、低剂量组、高剂量组, 每组 15 只大鼠。采用非暴露式气管内注入法, 模型组及各治疗组气管内注入石英粉尘悬浊液 1 ml (40 mg/只); 正

常组气管内注入 1 ml 生理盐水。造模后第 2 天, 益肺降纤方组的染毒容积为 $1 \text{ ml}/100 \text{ g}$ 浓缩液, 即低剂量组相当于 10 g/kg 生药量, 高剂量组相当于 20 g/kg 生药量灌胃; 正常组及模型组予以等容积生理盐水灌胃; 每天 1 次。分别于第 15 天、第 30 天、第 60 天处死动物, 每组每次取 5 只。取全肺组织称重, 测定肺质量系数=肺重/体重。取右肺下叶组织做病理, 用计算机图像分析仪对 HE 染色病理切片进行高倍镜下 (200 倍) 光密度 (OD 值) 测定, 按 OD 值大小分为无染区 (肺泡腔)、浅染区 (纤维沉积)、深染区 (炎症浸润)。取右肺中叶组织 0.02 g , 测定 HYP。

1.3 统计学处理

实验统计数据计量资料, 用 t 检验。使用 SPSS10.0 软件统计。

2 结果

2.1 肺质量系数

肺质量系数是反映肺纤维化程度的重要指标之一, 肺质量系数的高低与肺质量密切相关。在肺纤维化的形成过程中, 早期肺质量增加是由于细胞肿胀、毛细血管充血等因素造成的, 而疾病后期多是由于胶原纤维形成, 造成实质的肺质量增加, 均是肺质量系数升高的直接原因。本实验观察到, 第 15 天时, 模型组肺质量系数最高, 以后逐渐降低; 其他各组肺质量系数随时间延长也呈降低趋势。模型组在各时间点与其他组比较差异均有显著性 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。正常组在第 15 天、第 60 天与高剂量组比较, 差异无显著性 ($P > 0.05$); 其他各时间点与各组比较, 差异均有显著性 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。提示益肺降纤方染毒后不同天数的肺质量系数均有降低作用, 其作用效果以高剂量组为优。

2.2 肺病理形态学变化

肉眼观察正常组大鼠肺组织呈淡粉色, 表面光滑, 弹性好。模型组 15 d 时肺体积增大, 色暗红, 凹凸不平, 可见白色结节; 30 d 及 60 d 时, 肺组织白色结节增多增大、质地变硬, 肺组织呈灰白色。低剂量组肺组织略增大, 色红, 见散在的小结节。高剂量组肺组织增大不明显, 呈淡红色, 可见散在的点状结节。显微镜下病理所见, 正常组肺结构清晰, 仅有少量炎细胞浸润。模型组各期均有肺泡炎改变, 以 15 d 最重, 肺泡腔及间质大量炎细胞浸润、出血, 间隔水肿、增宽; 30 d、60 d 肺泡炎有所减轻, 间质胶原纤维增生形成矽肺结节, 间隔增厚, 肺泡腔变窄, 形成肺纤维化改变。低剂量组肺泡炎及肺纤维化较模型组轻, 15 d 呈中、重度肺泡炎改

收稿日期: 2005-12-16; 修回日期: 2006-02-25

作者简介: 王莉 (1959-), 女, 主任中医师, 博士在读。

变, 30 d、60 d 少量胶原纤维增生, 间隔轻度增宽, 散在的小矽肺结节。高剂量组 15 d 呈轻、中度肺泡炎改变, 30 d、60 d 胶原纤维增生, 间隔轻度增宽, 偶见小矽肺结节, 多数肺泡结构正常。如图 1 所示。定量变化见表 1。本实验结果显示,

益肺降纤方可以改善石英大鼠的肺泡炎程度, 不论高剂量组还是低剂量组 60 d 时深染区均明显缩小, 减轻肺纤维化的胶原纤维增生和堆积, 60 d 浅染区较模型组明显缩小, 而无染区明显增大, 且有高剂量组优于低剂量组的趋势。

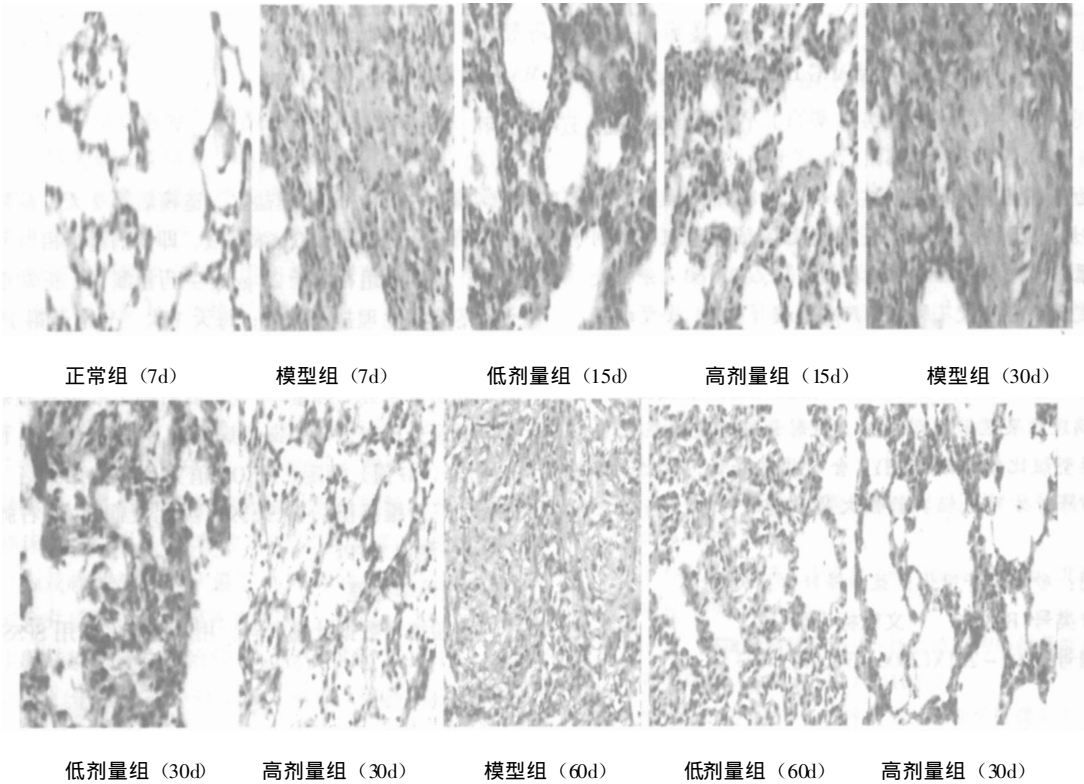


图 1 各组肺组织病理学改变 (HE10×10)

表 1 各组60 d HE 染色病理切片染区

面积测定比较 ($\bar{x} \pm s$) mm²

组别	n	无染区	浅染区	深染区
正常组	5	51.10±4.92	4.94±0.73	5.20±0.44
模型组	5	30.13±3.31**	14.72±1.61**	7.33±1.06**
低剂量组	5	41.25±2.85***	6.99±1.10***	5.96±0.88#
高剂量组	5	46.71±3.07##	6.08±0.95***	5.71±0.75#

经 t 检验, 与正常组比较, *P<0.05, **P<0.01; 与模型组比较, #P<0.05, ##P<0.01

2.3 肺组织 HYP 含量的比较

HYP 可以直观地反映胶原代谢的情况, 判断纤维化的程度^[1]。本实验结果表明, 15 d、30 d、60 d 模型组大鼠肺组织匀浆 HYP 含量显著增加, 与正常组比较差异有显著性 (P<0.05); 2 个剂量的益肺降纤方组 HYP 含量均较模型组有不同程度的降低, 60 d 与模型组比较, 差异有显著性 (P<0.05)。见表 2。

表 2 各组肺组织 HYP 变化比较 ($\bar{x} \pm s$) mg/g 肺组织

组别	n	15 d	30 d	60 d
正常组	5	0.95±0.20	1.02±0.31	0.87±0.22
模型组	5	1.48±0.39*	1.72±0.42*	1.82±0.47**
低剂量组	5	1.34±0.51	1.44±0.56	1.48±0.43*#
高剂量组	5	1.03±0.26	1.32±0.33	1.34±0.34#

经 t 检验, 与正常组比较, *P<0.05, **P<0.01; 与模型组比较, #P<0.05

3 讨论

益肺降纤方为导师马智教授临床上治疗矽肺的经验方, 临床中对缓解矽肺患者的胸痛、咳嗽、乏力等症状有良好的作用。方中的主要药物有黄芪、沙参、丹参、当归、川芎等。已有研究表明, 川芎中的主要成分川芎嗪可以明显减轻博来霉素大鼠的肺泡炎、肺纤维化程度^[2]。丹参可明显抑制博来霉素大鼠的肺纤维化, 使肺重、肺系数明显减少, HYP 明显降低, 肺泡壁胶原纤维明显较模型组少^[3]。当归可明显降低博来霉素大鼠的急性肺泡炎、肺纤维化的发生发展, 与早期应用激素疗效相近^[2,4]。这些活血化瘀药物对肺纤维化具有一定作用, 其可能的机制是改善了局部微循环, 使局部成纤维细胞生长、复制和分泌胶原的微环境改变, 使胶原沉积速度减慢, 降解及转运加快。本实验中所用方药, 注重活血化瘀, 据中医理论认为矽肺之病在于瘀、虚两方, 故还以益气养阴、活血通络为治疗大法, 为组成“益肺降纤方”的依据。本实验结果表明, 该方药可以降低矽肺大鼠的肺质量系数及肺组织中 HYP 含量, 减轻其肺泡炎及肺纤维化程度, 为矽肺纤维化的中药治疗及机制研究提供参考依据。

参考文献:

[1] Iyer S N, Gunjyalakshmi G, Giri S N. Effect of pifenidone on procollagen gene expression at the transcriptional level in bleomycin hamster model of lung fibrosis [J]. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 1999, 289 (1): 211-218.

- [2] 戴令娟, 侯杰, 蔡后荣, 等. 川芎嗪当归治疗肺间质纤维化的实验研究 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 1996, 19 (1): 26-28.
- [3] 朱建伟, 李贵海, 丹参、当归对小鼠肺纤维化的抑制作用 [J]. 山东中医学院学报, 1995, 19 (4): 267-269.

- [4] 刘卫敏, 徐启勇, 林宇辉, 等. 浓当归注射液对博来霉素致鼠肺纤维化治疗作用的研究 [J]. 医学新知杂志, 2001, 11 (1): 20-23.

水蛭、疏血通、甘利欣对博来霉素小鼠肺纤维化的干预作用

Intervention effect of leech and drugs "Shuxuetong" and "Ganlixin" on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice

盛丽, 王莉, 姚岚, 马智, 陈颖萍

SHENG Li, WANG Li, YAO Lan, MA Zhi, CHEN Ying-ping

(辽宁中医学院, 辽宁 沈阳 110032)

摘要: 采用气管内注入博来霉素 (BLM₅) 复制小鼠肺纤维化模型, 以肺指数、肺组织病理及肺组织羟脯氨酸 (HYP) 为观测指标, 观察水蛭、疏血通、甘利欣对小鼠实验性肺纤维化的干预作用。结果显示, 水蛭可以降低肺指数, 改善肺炎及肺纤维化程度, 降低肺组织 HYP 含量。提示水蛭粉剂能缓解 BLM₅ 所致的小鼠肺纤维化。

关键词: 肺纤维化; 水蛭; 疏血通; 甘利欣; 小鼠

中图分类号: R563 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2006)03-0185-03

肺间质纤维化是多种慢性肺部疾病的共同结局, 是一种终末性质的肺纤维化过程, 呈进行性发展, 最终因呼吸衰竭而死亡。本实验观察中药水蛭粉剂、疏血通注射剂、甘利欣注射剂对实验性小鼠肺纤维化的干预作用, 以探讨其临床价值。

1 材料与与方法

1.1 材料

昆明种小白鼠, 雌性 75 只, 体重 18~22 g, 中国医科大学实验动物室提供。博来霉素 (BLM₅), 哈尔滨博来制药有限公司生产, 批号: 04040201, 8 mg/支; 羟脯氨酸测试盒南京建成生物工程研究所。水蛭粉剂经沈阳市中医研究所中药鉴定室鉴定。疏血通注射液, 牡丹江友博药业有限责任公司, 批号: 041107-1。甘利欣注射剂, 正大天晴药业有限公司, 批号: DJ1224。

1.2 方法

将小鼠随机分为 5 组, 正常组、模型组、水蛭组、甘利欣组、疏血通组。按 Szapiel 法^[1]制造模型。模型组及各治疗组气管内注入 BLM₅ 8.5 mg/kg, 正常组气管内注入等容生理盐水。造模 24 h 后, 开始给药干预。正常组、模型组以等容积生理盐水灌胃, 水蛭组 1.28 g/kg 灌胃, 甘利欣组 16.2 mg/kg 腹腔注射, 疏血通组 0.8 ml/kg 腹腔注射。分别于 7、14、28 d 处死动物, 每组每次取 5 只。取全肺组织称重, 测定肺质量系数。肺质量系数=肺重/体重。取右肺下叶组织做病理。取右肺中叶组织 0.02 g, 于 -20℃ 冰箱保存, 备测定肺组织羟脯氨酸。

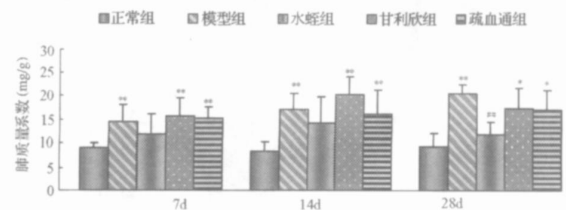
1.3 统计方法

实验统计数据计量资料, 用 *t* 检验。使用 SPSS10.0 软件统计。

2 结果

2.1 肺质量系数变化比较

7 d, 除水蛭组外各组与正常组比较肺质量系数均明显增加 ($P < 0.01$); 各用药组与模型组间差异无显著性 ($P > 0.05$)。14 d, 除水蛭组外, 各组与正常组比较差异均有显著性 ($P > 0.01$); 与模型组比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。28 d, 除水蛭组外, 各组与正常组间差异均有显著性 ($P < 0.05$); 水蛭组与模型组比较差异有显著性 ($P < 0.05$); 余各用药组与模型组比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。见图 1。



与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;

与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

图 1 各组肺质量系数比较

2.2 肺病理形态学变化

肉眼观察肺组织外观形态, 正常组双肺呈淡粉色, 表面光滑, 弹性好, 模型组肺体积缩小, 质地硬, 颜色暗红。各用药组肺颜色略暗, 触之弹性尚好, 体积无明显缩小。显微镜下病理学所见, 正常组各期肺结构清晰, 仅有少量炎细胞浸润。模型组各期均有肺炎改变, 以 7 d 最重。肺泡腔及间质大量炎细胞浸润、间隔水肿、增宽; 14 d、28 d 肺炎有所减轻, 间质胶原纤维增生呈带状, 间隔增厚, 肺泡腔变窄, 肺组织胶原沉积, 形成肺纤维化改变。水蛭组肺炎及肺纤维化均较模型组轻, 7 d 呈中、重度肺炎改变, 14 d、28 d 少量胶原纤维增生, 间隔轻度增宽, 肺泡结构接近正常。甘利欣组与疏血通组, 7 d 呈中、重度肺炎改变, 14 d、28 d 胶原纤维增生, 间隔增宽, 肺泡结构部分破坏, 呈中度肺纤维化改变。见图 2。

2.3 肺组织匀浆羟脯氨酸测定

收稿日期: 2005-10-10; 修回日期: 2006-02-16

作者简介: 盛丽 (1959-), 女, 主任中医师, 博士在读。