

麻素作为一种新型的肝细胞保护药物,其抗肝癌作用也受到人们的关注,日本东京大学石川隆俊研究证实芝麻素能抑制前期肝癌病变。采用二乙基亚硝胺对大鼠进行诱发肝癌试验,同时在癌细胞形成期、生长期饲料中投入芝麻素,喂养大鼠17周,结果发现食用芝麻素的大鼠癌症发病率降到对照组的50%以下,且大鼠的体质量、肝脏质量均无变化^[2]。这一研究结果首次证实了芝麻素的抗癌功效。

本研究采用MTT法检测了芝麻素对体外培养的肝癌H₂₂细胞的杀伤作用,结果表明8、16、32 μg/mL芝麻素在作用24 h后即表现出抑制H₂₂细胞生长的作用,48 h后抑制作用更强,此3个剂量在两个时间点对H₂₂细胞的杀伤作用均无显著差异。64、128 μg/mL芝麻素组在24、48 h均未表现出抑制作用。证实了较低质量浓度的芝麻素对H₂₂肝癌细胞有较好的抑制作用。本研究还观察了芝麻素对H₂₂肝癌荷瘤小鼠的抑癌作用以及对荷瘤小鼠白细胞的影响,结果表明小剂量的芝麻素对H₂₂肝癌细胞的

生长有一定的抑制作用,小鼠瘤质量明显低于模型组,但其作用不及传统抗癌药物环磷酰胺,较高剂量芝麻素对肿瘤的抑制作用较小,但芝麻素对人体正常免疫细胞(白细胞)的杀伤作用较环磷酰胺小。本实验结果提示芝麻素有望成为治疗肿瘤的一种新药。

芝麻作为天然植物在我国资源丰富,但我国对芝麻素的利用仅处于其保健作用,作为药物使用的研究极少。目前芝麻素的提供纯度已高达99%,所以芝麻素有可能成为一种新型的肝细胞保护药物,其抑制肝癌细胞生长的机制有待研究和深入。

参考文献:

- [1] 张世卿,张水成.芝麻素的研究进展[J].氨基酸和生物资源,2005,27(3):17-21.
- [2] 沈旭丽.芝麻的营养成分及保健价值[J].中国食物与营养,2006,(7):51-52.
- [3] Kiso Y. Antioxidative role of sesamin, a functional lignan in sesame seed and its effect on lipid- and alcohol-metabolism in the liver: a DNA microarray study[J]. Biofactors, 2001, 21(1-4):191-196.
- [4] 汪五三,宋建国.芝麻素保肝作用的实验研究[J].中药药理与临床,2006,22(3,4):27-31.

咳喘灵对实验性哮喘模型豚鼠支气管肺泡灌洗液嗜酸性粒细胞凋亡的影响

朱振刚,刘贵颖,乔亚珍

(天津中医药大学第一附属医院 呼吸科,天津 300193)

支气管哮喘是一种以嗜酸性粒细胞(EOS)浸润为主,多种细胞(肥大细胞、T淋巴细胞、中性粒细胞、气道上皮细胞等)和细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病^[1],无论是急性期还是缓解期,肺组织内均有明显的EOS浸润,并与病情的严重程度相平行。EOS释放的各种介质可发挥其炎症效应,并可以在气道重塑中起一定作用。近年来,中药治疗哮喘的实验研究日渐增多,但着眼点在支气管肺泡灌洗液EOS的并不多。咳喘灵是本院多年临床经验积累的院内制剂,已应用多年,临床疗效显著,多年的临床观察未发现不良反应,临床治疗哮喘有效率达86%。为进一步探讨咳喘灵的作用机制,本实验进行了咳喘灵对实验性哮喘模型豚鼠支气管肺泡灌洗液EOS凋亡的影响,从分子水平上阐明咳喘灵治疗哮喘是通过诱导EOS凋亡实现的。

1 材料

1.1 主要试剂和仪器:强的松(天津氨基酸公司)用生理盐水配成10%混悬液备用;卵白蛋白(华美生物工程公司,批号990218)实验前用生理盐水配成1%和10%的卵白蛋白溶液;EOS分离液、细胞凋亡检测试剂盒均购自武汉博士德生物工程公司;PA18067雾化器,美国;Leitz切片机,德国;Olympus CH显微镜,日本;Olympus, Vanox PM-10AD摄影显微镜,日本;HPIAS-100病理图文分析系统,同济医科大学千屏影像工程公司。

1.2 咳喘灵制备:黄芩、地龙、当归、蝉衣、细辛、半夏、五味子等,水提取,浓缩至含生药1、2、3 g/L,本院药厂自制。

2 方法

按Barnes^[2]和吕宝璋^[1]方法略加改良造模。豚

鼠100只,随机取14只作为对照组。其余86只以10%卵白蛋白溶液ip 1 mL致敏,而后以1%卵白蛋白溶液雾化吸入,每天2次,每次10 min或致出现咳嗽、喘息、呼吸道梗阻等症状为止,连续3 d。随机取模型豚鼠1只处死,取右肺中叶组织,HE染色、制片,光镜下观察,出现EOS浸润为造模成功。将剩余85只豚鼠随机分为模型组,强的松(0.5 g/kg)组,哮喘灵低、中、高剂量(15、30、45 g/kg)组,每组17只。模型组每日ig生理盐水5 mL,强的松组每日ig 10%强的松混悬液5 mL,哮喘灵组每日ig中药5 mL,对照组不雾化,连续14 d。最后1次激发并用药后24 h,用3%戊巴比妥钠1 mL ip处死动物,气管插管,Hanks液灌洗,每次5 mL,共6次,计30 mL。收集灌洗液离心制成细胞悬液。取右叶肺组织用10%中性甲醛固定、石蜡包埋、HE制片、染色。右肺中叶组织EOS以HE染色计数:细胞核呈蓝色,细胞浆、红细胞及嗜伊红颗粒呈不同程度的红色;细胞悬液调亡EOS以免疫细胞化学法染色:细胞核中有棕黄色颗粒者为阳性细胞,即调亡的EOS。在400倍高倍镜下,各组随机选取10个视域,用HPIAS-1000彩色病理图文分析系统进行计数分析。使用SPSS 11.0统计软件进行统计学处理。全部数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 对哮喘模型豚鼠支气管-肺组织EOS计数的影响:镜下可见经HE染色,EOS胞浆中的嗜伊红颗粒被染成浅红色,模型组EOS多且染色较深;对照组EOS少且染色较浅;哮喘灵组与强的松组EOS多于对照组,但明显少于模型组,哮喘灵中、高剂量组EOS少于强的松组。结果见表1。模型组、强的松组及哮喘灵低剂量组EOS计数明显高于对照组($P < 0.05$);强的松组及哮喘灵中、高剂量组EOS计数明显低于模型组($P < 0.05$);哮喘灵中、高剂量组EOS计数略低于强的松组($P < 0.05$)。

3.2 对哮喘模型豚鼠支气管-肺泡灌洗液调亡

EOS计数的影响:镜下可见细胞核中有棕黄色颗粒者为阳性细胞,即调亡细胞,模型组调亡细胞多且染色较深,对照组调亡的细胞少且染色较浅,哮喘灵组较强的松组略多。结果见表1。模型组调亡EOS计数略高于对照组,但两组比较无显著差异($P > 0.05$);强的松组及哮喘灵中、高剂量组调亡EOS计数明显高于模型组及对照组,组间比较有显著差异($P < 0.05$);哮喘灵中、高剂量组调亡EOS计数略高于强的松组,哮喘灵低剂量组调亡EOS计数低于强的松组($P < 0.05$),哮喘灵低剂量组调亡EOS计数低于哮喘灵中、高剂量组($P < 0.05$)。

表1 各组豚鼠支气管-肺组织EOS计数的比较
($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Comparison of EOS counts in broncha-lung tissue and bronchoalveolar lavage fluid of guinea-pig among groups ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	动物/ 只	EOS计数	
			支气管-肺组织	支气管-肺泡灌洗液
对照	—	14	3.8±1.4	2.00±1.38
模型	—	17	23.3±36.7*	3.50±1.10
强的松	0.5	17	10.0±1.2*△	4.83±0.75*
哮喘灵	15	17	15.5±14.2*△	3.92±1.69*▲
	30	17	7.0±2.8*△▲	5.83±1.33*△
	45	17	7.1±3.5*△▲	6.15±2.41*△

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: △ $P < 0.05$;
与强的松组比较: ▲ $P < 0.05$
* $P < 0.05$ vs control group; △ $P < 0.05$ vs model group;
▲ $P < 0.05$ vs prednisone group

3.3 肺组织HE染色:对照组肺及支气管结构正常,各级支气管上皮完整,肺泡间隔正常,少量炎症细胞浸润;模型组支气管管腔狭窄,管壁增厚,黏膜皱襞增多,部分脱落;杯状细胞明显增加;气道壁大量EOS浸润;肺泡间隔增宽,其中可见多量EOS;部分肺泡腔变小,肺实变区扩大。强的松组支气管黏膜皱襞增多,部分脱落,管壁轻度增厚,管腔轻度狭窄。哮喘灵组支气管黏膜上皮轻度增厚,气道壁炎症细胞浸润较轻,肺泡间隔明显变薄,肺泡腔趋于正常,其间有少量EOS浸润。结果见图1。

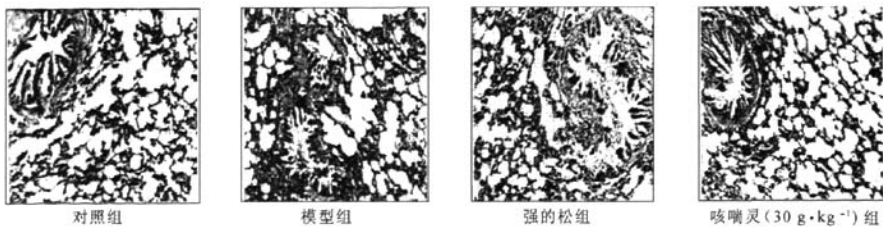


图1 哮喘模型豚鼠肺组织HE染色结果

Fig. 1 HE Staining of lung tissues in asthma model guinea-pig

3.4 肺组织电镜观察:对照组肺毛细血管管腔较正常,二型肺泡上皮细胞较少,肺泡隔有少量胶原纤维,EOS少见。模型组可见EOS增加,分布在肺泡毛细血管内、肺泡腔内或肺泡隔中;肺泡腔可见红细胞、单核性吞噬细胞及血浆性物质;肺泡二型上皮细胞体积较大,胞浆内板层小体较多(明显增生);大多数毛细血管管腔狭窄,有单核细胞、淋巴细胞、红细胞堵塞;较大的血管有血小板聚集,其中可见较多的EOS;肺泡隔可见较多的胶原纤维。强的松组可

见肺实质炎症细胞较多,主要是单核吞噬细胞;毛细血管管腔狭窄,二型肺泡上皮细胞增生如模型组,血管内和肺泡隔内EOS较多,肺泡隔胶原形成细胞较多,同时可见毛细血管腔较扩张,腔内可见较多的单核性吞噬细胞、血小板及红细胞。哮喘灵组可见肺泡较松散,肺泡血管管腔通畅,其腔内血浆性物质中散在红细胞;二型肺泡上皮细胞体积较小、数量较少;在血管腔内及肺泡腔中可见嗜酸细胞,同时肺泡腔内有EOS碎片以及颗粒释出。结果见图2。

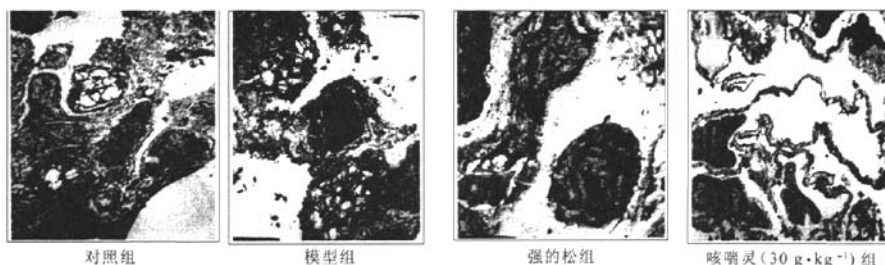


图2 哮喘模型豚鼠肺组织电镜观察结果

Fig. 2 Electromicroscope observation of lung tissues in asthma model guinea-pig

4 讨论

4.1 EOS凋亡与支气管哮喘:大量炎性细胞对气道黏膜浸润是气道炎症的特征,也是支气管哮喘(哮喘)病机的核心;其中以EOS最为显著,最近发现哮喘患者气道中EOS是中性粒细胞的50~100倍^[3],EOS所释放的炎症介质通过损伤气道上皮细胞,导致纤毛功能降低、细胞丢失,引起气道高反应性,目前普遍认为EOS是哮喘炎症中的主要致炎细胞,EOS凋亡及其调控在哮喘发生、发展中起重要作用。EOS作为介导哮喘气道炎症的根本特征,其数量的减少有助于炎症消退。现代医学以糖皮质激素为主的抗炎治疗,被认为是抑制哮喘反复气道炎症的关键措施。皮质激素不仅可减少哮喘患者EOS的趋化及黏附作用,亦可促进气道中EOS凋亡,被巨噬细胞所消除。巨噬细胞靠近凋亡的EOS,其胞浆内有嗜酸性物质,推测由于巨噬细胞对凋亡的EOS的吞噬,可促进气道炎症的消退。

4.2 哮喘灵对哮喘模型豚鼠肺组织及支气管-肺泡灌洗液EOS凋亡的影响

4.2.1 支气管肺组织中,哮喘灵组与强的松组均较模型组豚鼠EOS显著减少($P < 0.05$),可能的原因:①外周血中EOS向气道内转移减少;②气道内EOS分布至其他组织;③EOS发生坏死;④细胞凋亡机制,被巨噬细胞所消除。但是如果仅是EOS从外周血转移入气道的数量减少,难以完全解释已进

入气道内的EOS细胞数的减少,亦未证实EOS向肝、脾、淋巴结及外周血中重新分布。细胞坏死虽可部分解释细胞数的迅速减少,但其胞浆内毒性物质的释放增多,气道炎症应不能见减轻,且有加重可能。因此,可能为外周血中EOS向气道内转移减少;EOS凋亡被巨噬细胞所消除。

4.2.2 支气管-肺泡灌洗液中,哮喘灵组与强的松组均较对照组及模型组EOS凋亡显著增多($P < 0.05$),模型组凋亡EOS略高于对照组,但无显著差异($P > 0.05$),哮喘灵组及强的松组凋亡EOS明显高于对照组($P < 0.05$),说明强的松与哮喘灵对哮喘模型豚鼠支气管-肺泡灌洗液存在的EOS凋亡不同于对照组和模型组的自然凋亡,同时证明哮喘灵组与强的松组均较模型组豚鼠支气管-肺组织EOS显著减少与细胞凋亡密切相关。哮喘灵中、高剂量组作用明显,但无明显量效关系。

综上所述,哮喘灵治疗支气管哮喘的机制主要是减少支气管EOS浸润,从而减少各种炎症介质对组织的损害,而EOS浸润减少的主要原因是诱导EOS凋亡,哮喘灵作用与强的松接近。

参考文献:

- [1] 吕宝琦, 刘林英, 田 英, 等. 豚鼠肺组织中 β 和M受体的检定及其在实验性过敏性哮喘时的变化[J]. 中华医学杂志, 1985(7): 385.
- [2] Bame P T. Increased pulmonaxy α -adrenergic and reduced β -adrenergic receptor in experimental asthma[J]. *Nature*, 1980, 285: 569.
- [3] Wardlaw A J. Molecular basis for selective eosinophil trafficking in asthma: A multistep paradigm[J]. *J Allerg Clin Immunol*, 1999, 104: 917-926.

哮喘灵对实验性哮喘模型豚鼠支气管肺泡灌洗液嗜酸性粒细胞凋亡的影响

作者: [朱振刚](#), [刘贵颖](#), [乔亚珍](#)
作者单位: [天津中医药大学第一附属医院呼吸科, 天津, 300193](#)
刊名: [中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39 (8)
被引用次数: 1次

参考文献(3条)

1. [吕宝璋](#), [刘林英](#), [田英](#) [豚鼠肺组织中 \$\beta\$ 和M受体的检定及其在实验性过敏性哮喘时的变化](#)[期刊论文]-[中华医学杂志](#) 1985 (07)
2. [Bame P T](#) [Increased pulmonaxy \$\alpha\$ -adrenergic and reduced \$\beta\$ -adrenergic receptor in experimental asthma](#) 1980
3. [Wardlaw A J](#) [Molecular basis for selective eosinophil trafficking in asthma: A multistep paradigm](#) 1999

本文读者也读过(10条)

1. [阮君](#), [刘小玲](#), [张国俊](#) [支气管哮喘患者血清和BALF中IL-8水平检测及意义](#)[期刊论文]-[山东医药](#) 2008, 48 (29)
2. [杨丹蕾](#), [徐永健](#), [张珍祥](#), [李超乾](#) [一氧化氮对香烟烟雾提取物诱导大鼠肺泡巨噬细胞核因子 \$\kappa\$ B活化的影响](#)[期刊论文]-[细胞与分子免疫学杂志](#) 2003, 19 (1)
3. [熊瑛](#), [李国平](#), [杨礼腾](#), [王宋平](#), [于欣](#) [IL-5介导支气管上皮细胞STAT1表达及其信号传导途径对哮喘豚鼠气道炎症的研究](#)[会议论文]-2006
4. [谢柏梅](#), [江玲](#), [王昕欣](#), [XIE Bai-mei](#), [JIANG Ling](#), [WANG Xin-xin](#) [地塞米松对哮喘模型豚鼠肺泡灌洗液IL-4、IFN- \$\gamma\$ 水平及肺组织NF- \$\kappa\$ B的影响](#)[期刊论文]-[西北国防医学杂志](#) 2008, 29 (5)
5. [王向红](#), [王红伟](#), [张中乐](#), [郑海燕](#), [王颖](#), [赵云华](#), [WANG Xiang-hong](#), [WANG Hong-Wei](#), [Zhang Zhong-le](#), [ZHENG Hai-yan](#), [WANG Ying](#), [ZHAO Yun-hua](#) [镁可防治哮喘豚鼠气道重塑](#)[期刊论文]-[中国现代医学杂志](#) 2008, 18 (5)
6. [林科雄](#), [王长征](#), [钱桂生](#), [LIN Ke-xiong](#), [WANG Chang-zheng](#), [QIAN Gui-sheng](#) [地塞米松及雷公藤甲素对哮喘CD4⁺CD8⁺细胞凋亡的影响](#)[期刊论文]-[第三军医大学学报](#) 2000, 22 (2)
7. [王向红](#), [刘声远](#), [张中乐](#), [余上斌](#), [叶仕乔](#), [陈琪玲](#), [王迪浔](#), [WANG Xiang-hong](#), [LIU Sheng-yuan](#), [ZHANG Zhong-le](#), [YU Shang-bin](#), [YE Shi-qiao](#), [CHEN Qi-ling](#), [WANG Di-xun](#) [组胺受体拮抗剂可防治哮喘豚鼠气道重塑和酸碱平衡紊乱](#)[期刊论文]-[中国病理生理杂志](#) 2007, 23 (3)
8. [吕波](#), [黄瑾](#), [曾红科](#), [L\(U\) Bo](#), [HUANG Jin](#), [ZENG Hong-ke](#) [豚鼠哮喘模型支气管舒张反应曲线的研究](#)[期刊论文]-[中国实验诊断学](#) 2011, 15 (4)
9. [李锋](#), [刘荣玉](#) [基质金属蛋白酶-9与支气管哮喘](#)[期刊论文]-[国外医学\(呼吸系统分册\)](#) 2004, 24 (5)
10. [曹永孝](#), [龙静雯](#), [马卓](#), [刘静](#), [吕社民](#) [不同品系大鼠哮喘模型的比较](#)[会议论文]-2009

引证文献(1条)

1. [中药抗支气管哮喘作用机制的研究进展](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2009 (12)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200808036.aspx