

黄芩水提取物对急性肺损伤大鼠的保护作用及其与胆碱能抗炎通路的相关性研究

崔 蓉, 孟宪丽*, 王 平, 李 红, 于宜平

成都中医药大学, 四川 成都 611137

摘要: **目的** 探讨黄芩水提取物对急性肺损伤大鼠药效学指标及胆碱能抗炎通路的影响。**方法** 黄芩水提取物 ig 给药 1 周后, 大鼠尾 iv 给予脂多糖 (LPS) 建立急性肺损伤模型, 观察各组大鼠基本情况, 分别于注射 LPS 1、2、4 h 测定大鼠肛温, 测定血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、NO、乙酰胆碱 (ACh) 水平, 同时取肺组织测定湿质量与干质量比值, 制备肺组织匀浆, 测定匀浆液中乙酰胆碱转移酶 (ChAT)、乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活性。**结果** 与模型组比较, 黄芩水提取物高、低剂量组及加兰他敏组均不同程度地缓解肺损伤大鼠炎症反应的发生, 其中黄芩水提取物高剂量组在造模后 2 h 时能显著减轻大鼠肺组织水肿, 减轻体温变化幅度, 降低血清 NO 水平, 提高血清 ACh 水平 ($P < 0.05, 0.01$); 同时降低血清 TNF- α 的量, 增强肺组织匀浆液中 ChAT 的活性, 但差异无统计学意义。与对照组比较, 黄芩水提取物单独作用于正常大鼠时, 上述各项指标均无明显差异。**结论** 黄芩水提取物能提高急性肺损伤大鼠血清 ACh 水平, 降低血清 TNF- α 、NO 水平, 抑制炎症反应进一步恶化, 但对与 ACh 合成分解相关酶 ChAT 及 AChE 活性的影响并不显著, 因此黄芩水提取物对胆碱能抗炎通路的影响可能是通过促进 ACh 释放发挥作用的, 而与 ACh 的生物合成无关。

关键词: 黄芩; 急性肺损伤; 胆碱能抗炎通路; 脂多糖; 乙酰胆碱

中图分类号: R282.710.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2012)02-0321-06

Correlation between protection of *Scutellaria baicalensis* extract on rats' acute lung injury and cholinergic anti-inflammatory pathway

CUI Rong, MENG Xian-li, WANG Ping, LI Hong, YU Yi-ping

Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: **Objective** To explore the influence of *Scutellaria baicalensis* water extract (SBWE) on cholinergic anti-inflammatory pathway through acute lung injury (ALI) model. **Methods** The ALI model was set up by tail iv injection of lipopolysaccharide (LPS) after ig administration SBWE for a week and then to observe the basis situations of rats in each group. The rectal temperature was measured after injected with LPS for 1, 2, and 4 h, respectively. The changes of TNF- α , NO, and ACh levels in serum and ChAT and AChE activities in pulmonary tissues homogenate were detected by determining the lung wet/dry weight ratio. **Results** Compared with the model group, the high- and low-dose groups of SBWE as well as the group with galanthamine showed the different degrees of protection on inflammatory response. Among them the high-dose group of SBWE could reduce the edema of lung tissues, the magnitude of body temperature changes, and the NO level in serum, while improve ACh content in serum significantly ($P < 0.05, 0.01$) 2 h after model set up. Besides, it could reduce TNF- α content in serum and increase the activity of ChAT in the lung tissue homogenate, but there was no statistical significance. Compared with the control group, no obvious difference of indexes mentioned above was observed between the control group and the group with SBWE merely. **Conclusion** SBWE could increase the ACh level in serum of ALI rats, decrease TNF- α content and NO levels, and effectively inhibit the further deterioration of inflammatory response. But there is no significant influence on ACh synthesis and decomposition related enzyme, ChAT and AChE activities. Thus effect of SBWE on cholinergic anti-inflammatory pathway may be due to indirectly promoting the release of ACh but not relating to the biosynthesis of ACh.

Key words: *Scutellaria baicalensis* Georgi; acute lung injury (ALI); cholinergic anti-inflammatory pathway; lipopolysaccharide (LPS); acetylcholine (ACh)

收稿日期: 2011-09-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81073118); 四川省教育厅基金资助项目 (10.ZB072)

作者简介: 崔 蓉 (1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药理与毒理。Tel: 13402843116 E-mail: cuirongmanager@163.com

*通讯作者 孟宪丽 Tel: 13540488646 E-mail: xlm999@cdutcm.edu.cn

黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根, 具有清热燥湿、泻火解毒等功效, 临床上广泛用于治疗多种急性感染性疾病, 具有良好的解热、抗炎、改善热毒血瘀症状^[1]及一定的抗内毒素作用^[2-3]。有研究表明, 黄芩的抗炎作用与其抑制核因子- κ B (NF- κ B) 途径有密切关系^[4]。胆碱能抗炎通路^[5](cholinergic anti-inflammatory pathway) 是近年来发现的一条神经免疫调节通路, 神经系统通过迷走神经末梢释放乙酰胆碱 (ACh) 与巨噬细胞上的神经源性乙酰胆碱受体 (nAChR) 相互作用, 通过抑制细胞因子与趋化因子的产生与释放, 阻断 NF- κ B 活化、阻止 T 细胞的分化与成熟、抑制中性粒细胞和单核细胞的杀伤功能^[6]等下游炎症级联通路, 从而发挥机体自发的抗炎作用。黄芩发挥抗炎作用时, 阻断 NF- κ B 活化等机制是否受 nAChR 这一炎症通路的上游“阀门”所调控和介导, 是中药抗炎免疫研究中值得深入探讨的新课题。本实验采用大鼠内毒素致急性肺损伤模型, 研究黄芩提取物的抗炎作用, 并探讨其与胆碱能抗炎通路调控的相关性。

1 材料

1.1 药品与试剂

黄芩药材购自北京同仁堂, 经成都中医药大学民族药学院张艺研究员鉴定为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根。取黄芩, 加入 10 倍量的蒸馏水煎提 2 次, 每次 1 h, 合并 2 次水煎液, 减压浓缩至生药 1 g/mL, 随后配制成所需质量浓度即得受试药液, HPLC 法测定黄芩苷质量分数符合《中国药典》2010 年版规定 (按干燥品计算不少于 9%)。氢溴酸加兰他敏注射液, 上海旭东海普药业有限公司, 批号 H31020671; 脂多糖 (LPS), Sigma 公司; ACh、NO、乙酰胆碱转移酶 (ChAT)、乙酰胆碱酯酶 (AChE) 及总蛋白 (TP) 试剂盒均购自南京建成生物工程研究所; 肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 酶联免疫分析试剂盒, 成都博瑞克生物技术有限公司。

1.2 动物

SD 大鼠, 雄性, SPF 级, 体质量 (220 ± 20) g, 由四川省医学科学院实验动物研究所提供, 动物许可证号: SCXK (川) 2009-124。

1.3 仪器

Varioskan 全波长多功能酶标仪, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 电子体温计, 深圳市日精实

业发展有限公司。

2 方法

2.1 分组与给药

雄性 SD 大鼠 108 只按体质量随机分为 6 组: 分别为对照组、模型组、黄芩水提取物对照组、黄芩水提取物高剂量+LPS 组、黄芩水提取物低剂量+LPS 组及加兰他敏阳性对照组, 每组 18 只。实验前 1 周, 黄芩水提取物对照组、黄芩水提取物高和低剂量组每天 ig 给药 1 次, 剂量分别为 3.0、3.0、1.5 g/kg, 对照组给予等量蒸馏水, 加兰他敏组仅实验当天 ip 给予加兰他敏 5 mg/kg 1 次, 给药组均连续给药 1 周。

2.2 样本采集与处理

大鼠造模前 5 d, 每天测肛温预适应。造模前 10 h 禁食, 测 2 次肛温取平均值作为基础体温。各给药组末次给药后 1 h, 黄芩水提取物低和高剂量组、加兰他敏组大鼠尾 iv LPS 5 mg/kg, 对照组和黄芩水提取物对照组注射等体积生理盐水。分别于给予 LPS 1、2、4 h 测定各组动物肛温, 以体温变化值 (造模后肛温与基础体温的差值) 分析各组动物的体温变化; 各组动物按照上述时间点分别取 6 只以 20% 乌拉坦 (1.0~1.2 g/kg) ip 麻醉, 采取下腔静脉血, 立即开胸取左肺 200 mg 冰浴制成 10% 匀浆液, 4 °C、3 500 r/min 离心 10 min, 取上清以检测组织酶活性; 取右肺组织称质量, 以检测湿质量与干质量比值; 血液静置 30 min 后, 3 500 r/min 离心 10 min, 取上清, 按试剂盒说明书方法检测炎症因子。

2.3 统计学处理

数据采用 SPSS 13.0 软件进行统计学处理。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间显著性差异比较采用单因素方差分析 (One way ANOVA), 方差齐者组间比较采用 LSD 检验, 方差不齐者采用 Tamhane's T2 检验。

3 结果

3.1 对急性肺损伤大鼠基本状况的影响

模型组、黄芩水提取物高和低剂量组、加兰他敏组大鼠 iv LPS 后, 出现不同程度的自主活动减少、精神萎靡、呼吸频率增加、呼吸困难、有喘鸣音的症状, 并出现严重腹泻, 个别大鼠四肢和口唇发绀, 口鼻内涌出粉红色泡沫水肿液。对照组和黄芩水提取物对照组大鼠行为正常, 均未出现上述症状。结果见表 1。

表 1 黄芩水提取物对急性肺损伤大鼠基本状况的影响

Table 1 Effect of SBWE on basic situations of ALI rats

组 别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	动物 / 只	自主活动减少、精神萎靡 / 只	呼吸频率增加、出现喘鸣声 / 只	严重腹泻、便溏 / 只	发绀、口鼻有粉红色泡沫 / 只
对照	—	6	0	0	0	0
模型	—	6	6	6	6	4
黄芩水提取物对照	3.0	6	0	0	0	0
黄芩水提取物	3.0	6	6	3	3	2
	1.5	6	6	4	4	2
加兰他敏	0.005	6	6	4	3	1

3.2 对急性肺损伤大鼠肺组织质量的影响

与对照组比较,黄芩水提取物单独给药对正常大鼠肺组织湿质量与干质量比值无明显影响;模型组大鼠在给予 LPS 后 1 h 肺组织即出现明显水肿,在给予 LPS 后 1、2、4 h 后肺组织含水量均显著增加 ($P<0.01$)。与模型组比较,黄芩水提取物高、低剂量组肺组织在上述各时间点水肿现象减轻,其中以 2 h 时的效果较为显著 ($P<0.05$ 、 0.01);加兰他敏组大鼠肺组织水肿现象不明显,与对照组比较无显著差异,而与模型组 1、2 h 时情况相比差异明显 ($P<0.01$)。结果见表 2。

3.3 对急性肺损伤大鼠体温的影响

与对照组比较,黄芩水提取物单独给药对正常大鼠体温无明显影响;给予 LPS 后 1、2 h,模型组、加兰他敏组、黄芩水提取物高和低剂量组大鼠体温均不同程度地下降 ($P<0.05$ 、 0.01),黄芩水提取物高剂量组和加兰他敏组大鼠体温下降较模型组缓慢 ($P<0.05$ 、 0.01);给予 LPS 后 4 h,大鼠体温均出现明显升高,其中加兰他敏组体温升高较为明显 ($P<0.05$),与模型组比较,加兰他敏组、黄芩水提取物高和低剂量组大鼠在 4 h 体温上升幅度缓和,但差异无统计学意义,结果见表 3。

表 2 黄芩水提取物对急性肺损伤大鼠肺组织质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 2 Effect of SBWE on lung wet/dry weight ratio of ALI rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组 别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	肺组织湿质量与干质量比值		
		造模后 1 h	造模后 2 h	造模后 4 h
对照	—	4.55±0.18	4.54±0.13	4.60±0.15
模型	—	4.89±0.14 ^{▲▲}	5.18±0.19 ^{▲▲}	4.91±0.25 ^{▲▲}
黄芩水提取物对照	3.0	4.40±0.13	4.36±0.17	4.47±0.15
黄芩水提取物	3.0	4.76±0.14 [▲]	4.75±0.17 ^{▲**}	4.83±0.13 [▲]
	1.5	4.77±0.10 [▲]	4.92±0.18 ^{▲▲*}	4.83±0.16 [▲]
加兰他敏	0.005	4.55±0.12 ^{**}	4.62±0.12 ^{**}	4.79±0.11

与对照组比较: [▲] $P<0.05$ ^{▲▲} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$, 下表同

[▲] $P<0.05$ ^{▲▲} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group, same as below

表 3 黄芩水提取物对急性肺损伤大鼠体温变化的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 3 Effect of SBWE on rectal temperature changes of ALI rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组 别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	体温变化值 / °C		
		造模后 1 h	造模后 2 h	造模后 4 h
对照	—	0.22±0.39	0.32±0.24	0.22±0.15
模型	—	-1.13±0.77 ^{▲▲}	-1.70±0.53 ^{▲▲}	1.13±0.58
黄芩对照水提取物	3.0	0.32±0.28	0.32±0.28	0.25±0.10
黄芩水提取物	3.0	-0.28±0.37 ^{**}	-0.85±0.54 ^{▲▲*}	0.60±0.25
	1.5	-0.80±0.53 ^{▲▲}	-1.48±0.87 ^{▲▲}	0.63±0.29
加兰他敏	0.005	-0.63±0.55 ^{▲▲}	-1.02±0.39 ^{▲▲*}	0.88±0.31 [▲]

3.4 对急性肺损伤大鼠血清 TNF- α 水平的影响

与对照组相比, 黄芩水提取物单独给药对正常大鼠血清 TNF- α 无明显影响; iv LPS 后, 模型组大鼠血清 TNF- α 水平升高, 在 iv 4 h 时差异显著 ($P < 0.05$); 加兰他敏组及黄芩水提取物高和低剂量组大鼠血清中 TNF- α 水平与对照组比较无显著差异。与模型组比较, 在给予 LPS 后 4 h, 加兰他敏组及黄芩水提取物高和低剂量组大鼠血清中 TNF- α 水平明显下降 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结果见表 4。

3.5 对急性肺损伤大鼠血清 NO 水平的影响

与对照组相比, 黄芩水提取物单独给药对正常大鼠血清 NO 水平无明显影响; iv LPS 后 1、2、4 h, 模型组大鼠血清 NO 水平均显著升高 ($P < 0.01$), 4 h 时达峰值; 而加兰他敏组、黄芩水提取物高和低剂量组大鼠在给予 LPS 后 2、4 h 是血清 NO 水平也明显升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与模型组相比, 加兰他敏组和黄芩水提取物高剂量组于给予 LPS 1、2 h 血清 NO 水平明显降低 ($P < 0.05$)。结果见表 4。

表 4 黄芩水提取物对急性肺损伤大鼠血清中 TNF- α 和 NO 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Effect of SBWE on TNF- α and NO levels in serum of ALI rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组 别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	TNF- α / (pg·mL ⁻¹)			NO / (μ mol·L ⁻¹)		
		造模后 1 h	造模后 2 h	造模后 4 h	造模后 1 h	造模后 2 h	造模后 4 h
对照	—	29.75 ± 11.90	31.01 ± 15.74	31.32 ± 9.37	6.53 ± 2.44	6.99 ± 2.69	7.95 ± 2.45
模型	—	41.22 ± 10.48	32.35 ± 11.73	44.17 ± 7.28 [▲]	12.28 ± 4.67 ^{▲▲}	82.28 ± 22.39 ^{▲▲}	115.74 ± 15.93 ^{▲▲}
黄芩水提取物对照	3.0	30.86 ± 13.96	25.34 ± 8.20	34.30 ± 12.53	7.49 ± 2.06	8.80 ± 2.49	8.94 ± 3.96
黄芩水提取物	3.0	24.04 ± 1.10	26.43 ± 9.50	25.43 ± 8.37 ^{**}	7.81 ± 2.30 [*]	37.34 ± 15.23 ^{▲*}	129.89 ± 15.67 ^{▲▲}
	1.5	43.01 ± 14.57	26.20 ± 6.74	27.99 ± 8.19 ^{**}	9.55 ± 3.27	70.69 ± 8.52 ^{▲▲}	128.61 ± 18.59 ^{▲▲}
加兰他敏	0.005	29.40 ± 4.75	27.88 ± 4.26	31.56 ± 8.04 [*]	8.83 ± 1.74 [*]	33.11 ± 14.54 [*]	119.24 ± 16.49 ^{▲▲}

3.6 对急性肺损伤大鼠血清中 Ach 水平的影响

与对照组相比, 黄芩水提取物单独给药对正常大鼠血清 Ach 水平无明显影响; iv LPS 后 1、4 h, 模型组大鼠血清中 Ach 水平明显升高 ($P < 0.05$), 黄芩水提取物高、低剂量组大鼠血清 Ach 虽有升高, 但无统计学差异; 加兰他敏组大鼠血清 Ach 水平均显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与模型组相比, 给予 LPS 后 2 h, 黄芩水提取物高剂量组血清 Ach 水平明显升高 ($P < 0.05$) 而其低剂量组 Ach 水平升高不显著。结果见表 5。

3.7 对急性肺损伤大鼠肺组织匀浆液中 ChAT 和 AChE 活性的影响

与对照组相比, 黄芩水提取物单独给药对正常

大鼠肺组织匀浆中 ChAT 与 AChE 活性无明显影响; iv LPS 后, 模型组和黄芩水提取物低剂量组大鼠肺组织 ChAT 活性明显降低, 1、4 h 时差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01), 而对 AChE 活性无明显影响。与模型组相比, 黄芩水提取物高剂量组大鼠肺组织 ChAT 活性较模型组增强, 但差异无统计学意义, 在给予 LPS 后 1、4 h 时, 黄芩水提取物高剂量组大鼠肺组织 AChE 活性明显增强 ($P < 0.05$); 加兰他敏明显抑制大鼠肺组织 AChE 活性 ($P < 0.01$), 但对 ChAT 活性无明显影响。结果见表 6。

4 讨论

4.1 黄芩水提取物减轻内毒素性肺损伤药效学评价
有研究显示, 当内毒素进入体内, 作用于肠黏

表 5 黄芩水提取物对急性肺损伤大鼠血清中 Ach 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 5 Effect of SBWE on Ach level in serum of ALI rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组 别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	Ach / (μ g·mL ⁻¹)		
		造模后 1 h	造模后 2 h	造模后 4 h
对照	—	11.71 ± 1.83	12.46 ± 1.94	11.69 ± 1.99
模型	—	15.23 ± 3.27 [▲]	13.46 ± 2.17	14.70 ± 2.67 [▲]
黄芩水提取物对照	3.0	12.92 ± 2.45	12.56 ± 1.76	13.35 ± 2.61
黄芩水提取物	3.0	13.70 ± 2.94	17.40 ± 3.26 ^{▲▲**}	12.39 ± 1.56
	1.5	14.64 ± 3.40	10.94 ± 2.15	12.03 ± 2.56
加兰他敏	0.005	15.29 ± 3.53 [▲]	16.44 ± 2.43 ^{▲▲*}	14.46 ± 2.18 [▲]

表 6 黄芩水提取物对急性肺损伤大鼠肺组织匀浆中 ChAT 和 AChE 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 6 Effect of SBWE on ChAT and AChE activities in pulmonary tissues homogenate of ALI rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组 别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	ChAT / (U·g ⁻¹)			AChE / (U·mg ⁻¹)		
		造模后 1 h	造模后 2 h	造模后 4 h	造模后 1 h	造模后 2 h	造模后 4 h
对照	—	170.12±57.83	167.88±51.23	163.26±33.43	0.398±0.090	0.409±0.074	0.400±0.077
模型	—	113.85±50.18 [▲]	116.47±39.91 [▲]	93.68±43.29 [▲]	0.353±0.057	0.369±0.149	0.312±0.067
黄芩水提取物对照	3.0	164.91±31.65	122.34±53.03	123.91±25.27	0.419±0.080	0.339±0.090	0.415±0.106
黄芩水提取物	3.0	157.69±22.14	159.55±45.74	136.48±60.58	0.443±0.036 [*]	0.358±0.154	0.414±0.077 [*]
	1.5	96.66±23.69 ^{▲▲}	124.44±29.53	99.80±66.55 [▲]	0.418±0.081	0.425±0.073	0.430±0.097 [*]
加兰他敏	0.005	125.53±33.92	126.49±29.38	120.96±23.77	0.306±0.050 [▲]	0.177±0.036 ^{▲▲▲}	0.285±0.058 [▲]

膜上皮细胞后,促使腺苷酸环化酶增多,进一步催化环磷酸腺苷(cAMP),胞内 cAMP 增加加速了水、电解质分泌到肠腔内的过程,当小肠分泌液超过其吸收能力时,则出现腹泻^[7]。在本实验中,大鼠 iv LPS 后 2 h 内出现了明显的腹泻。内毒素引起发热的原因是由于 LPS 作用于体内巨噬细胞等,使之产生 TNF- α 等致热性细胞因子,这些细胞因子直接或间接作用于下丘脑体温调节中枢,使体温调节点上移,直到深部体温对应于体温调节点在较高水平上出现新的平衡,则机体出现发热^[8]。然而,给动物注射 LPS 时,注射量并不与发热反应强度呈正比,当给予的 LPS 超过一定剂量时,动物会出现感染性休克,如呼吸急促、紫绀等,此时机体的温度不会升高反而降低^[9]。在本实验中,iv LPS 后 2 h 内,大鼠体温呈现明显的下降过程,个别大鼠还出现四肢、口唇发绀的症状,随后体温开始回升,至 4 h 时各组均出现发热症状。LPS 除了对肺脏有直接损伤外,更重要的是可能激活多种炎症细胞或效应细胞,使其释放大量炎症介质或细胞因子进而间接导致肺组织损伤,并伴有间质水肿和强烈的炎症反应^[10]。从本实验中肺组织湿质量与干质量比值可以看出 LPS 致大鼠肺组织出现不同程度水肿现象。黄芩水提取物预先给药可以减轻 LPS 引起的上述炎症反应,使体温下降和上升的过程较模型组迟缓,尤以黄芩水提取物高剂量作用比较明显,肺组织水肿较模型组明显减轻。

4.2 黄芩水提取物对胆碱能抗炎通路的影响

胆碱能抗炎通路是自主神经系统监测炎症刺激及细胞因子存在并调节其产生的一条生理途径,由外周迷走神经及其释放的递质 Ach 为主构成,该通路对预防和拮抗过度的全身性炎症反应有重要作用。当创伤、感染等刺激作用于机体时,迷走神经

传入纤维被激活并将外周信息传递至脑,中枢接收到免疫刺激的信息后就将信号投射到各个迷走神经核团,激活迷走神经传出纤维,引起外周神经末梢释放 Ach。Ach 与单核细胞上烟碱样 $\alpha 7$ 受体或 M 受体结合后,通过细胞内信号传导途径显著抑制细胞产生 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-18 促炎因子的释放,调控炎症反应,其中 M 受体活性作用较弱,烟碱 $\alpha 7$ 受体活性较强;迷走神经刺激对 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体 ($\alpha 7nAChR$) 基因剔除小鼠不能产生抗炎作用^[11-14]。

TNF- α 和 NO 是 NF- κ B 信号通路下游的炎症因子,由 NF- κ B 活化转位后,激活它们的基因转录、翻译而分泌。它们上游的信号通路中任何某一环节的阻断,都将导致其基因表达、最终分泌的减少,故 TNF- α 、NO 等炎症因子最终分泌的多少,是其上游胆碱能抗炎通路转导效能的指标。对 $\alpha 7nAChR$ 被激活后抑制促炎因子产生的胞内机制研究表明,在内毒素血症和失血性休克的动物模型中, $\alpha 7nAChR$ 的激活可抑制 NF- κ B 的核转运,并且激活 JAK/STAT3 通路^[15],进而下调 TNF- α 、NO 等早期促炎因子的表达,但对 IL-4、IL-10 等抗炎因子却无抑制作用^[16]。因此,该炎症反射和抗炎因子可相互协同共同抑制炎症的发展。在本实验中,大鼠经尾 iv LPS 后 1 h,模型组大鼠血清 TNF- α 水平即升高,而黄芩水提取物高、低剂量组血清 TNF- α 水平与模型组相比则降低,但并无显著的差异,这可能是由于大鼠个体差异及测试方法等因素导致标准偏差较大所造成的;而在给予 LPS 后 2 h,黄芩水提取物高剂量组大鼠血清中 Ach 处于较高水平,而 TNF- α 处在较低水平。据文献报道,Ach 与 $\alpha 7nAChR$ 结合降低巨噬细胞对 LPS 的免疫活性,抑制 TNF- α 转录后蛋白质的合成发挥抗炎作用^[17],在给予 LPS

后 2 h, 大鼠血清中抗炎因子 IL-4、IL-10 水平显著升高, 达峰值^[18]。两方面共同作用抵抗 TNF- α 使其处于一个较低的水平, 这与本实验结果一致。另外, 黄芩水提取物高剂量组还能明显抑制炎症因子 NO 的释放, 与模型组比较差异显著, 这可能是由于 $\alpha 7nAChR$ 的激活抑制了 NF- κB 的核转运, 进而阻碍了 iNOS 基因的转录和翻译, 因此减少了 NO 的合成和释放。

ChAT 是 ACh 的生物合成酶, 仅存在于胆碱能神经元中, 是衡量胆碱能神经元活性的指标; AChE 是 ACh 的水解酶, 为观察胆碱能神经元的另一重要指标, 两者相辅相成共同维持血清 ACh 的动态平衡^[19]。本实验中, iv LPS 后模型组大鼠血清 ACh 水平较对照组升高, 肺组织匀浆液中 ChAT 及 AChE 的活性不同程度地降低, 这可能是因为机体受到 LPS 等外界刺激时由于负反馈调节促使神经末梢释放 ACh 入血抵抗炎症, 而此时肺组织受到损伤, 代谢紊乱导致酶的活性降低所致^[20]。黄芩水提取物预先给药促使血清中 ACh 进一步升高, 放大了机体抵抗炎症因子的作用, 从肺组织湿质量与干质量比值也可以看出, 黄芩水提取物预先给药对损伤的肺组织起到一定的保护作用, 故黄芩水提取物高剂量组 ChAT 及 AChE 的活性均较模型组增强。

总之, 本实验结果提示黄芩水提取物基于胆碱能抗炎通路抑制炎症反应可能是促进机体 ACh 的释放而发挥抗炎作用, 与其生物合成无关。

参考文献

- [1] 王浴生, 邓文龙, 薛春生. 中药药理与应用 [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2000.
- [2] 雷玲, 胡竟一, 余悦, 等. 黄芩的抗内毒素作用研究 [J]. 中药药理与临床, 2007, 23(3): 46-47.
- [3] 伏建峰, 曹红卫, 王宁, 等. 黄芩抗内毒素活性物质的分离提取与活性研究 [J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(5): 384-385.
- [4] 李明, 陈伟强, 李岩, 等. 黄芩苷对脂多糖诱导的巨噬细胞 NF- κB 活化和炎症因子表达的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(22): 4219-4221.
- [5] Tracey K J. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(2): 289-296.
- [6] 姚咏明, 吕艺. 胆碱能抗炎通路的调节作用与应用价值 [J]. 江苏大学学报: 医学版, 2009, 19(2): 93-96.
- [7] 房海, 陈翠珍, 王廷. 大肠杆菌内毒素对家兔致腹泻作用试验报告 [J]. 中国兽医杂志, 1990, 16(10): 6.
- [8] 章卓, 万敬员, 李洪忠, 等. 积雪草苷对脂多糖诱导大鼠发热的预防及对相关炎症因子的影响 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2007, 21(3): 229-234.
- [9] 唐晓峰, 薛漫清, 王晖. 大鼠发热模型及发热机制的研究进展 [J]. 广东药学院学报, 2009, 25(3): 327-331.
- [10] Bauss F, Droge W, Mannel D N. Tumor necrosis factor mediates endotoxic effects in mice [J]. *Infect Immune*, 1987, 55(7): 1622-1625.
- [11] Pavlov V A, Tracey K J. Controlling inflammation: the cholinergic anti-inflammatory pathway [J]. *Biochem Soc Trans*, 2006, 34(6): 1038-1039.
- [12] 柳垂亮, 招伟贤, 黄文起. 胆碱能性抗炎通路的研究进展 [J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2007, 28(1): 59-61.
- [13] Hong W, Man Y, Mahendar O, et al. Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit is an essential regulator of inflammation [J]. *Nature*, 2003, 421(1): 384-387.
- [14] David J V W, Ilona A G, Sandrine F, et al. The vagus nerve and nicotinic receptors modulate experimental pancreatitis severity in mice [J]. *Gastroenterology*, 2006, 130: 1822-1830.
- [15] Pavlov V A, Ochani M, Gallowitsch-Puerta M, et al. Central muscarinic cholinergic regulation of the systemic inflammatory response during endotoxemia [J]. *PANS*, 2006, 103(13): 5219-5223.
- [16] de Jonge W J, van der Zanden E P, The F O, et al. Stimulation of the vagus nerve attenuates macrophage activation by activating the Jak2-STAT3 signaling pathway [J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(8): 844-851.
- [17] 周国武, 田野苹. 炎症反射的研究进展 [J]. 现代医学研究进展, 2009, 9(7): 1359-1361.
- [18] 郑伟, 周虹. 刺激迷走神经抗炎的研究进展 [J]. 中国急救医学, 2005, 25(12): 911-912.
- [19] 张青, 李琦, 毛宝龄, 等. 内毒素致伤大鼠肺组织促炎与抗炎细胞因子 mRNA 表达的时相性研究 [J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16(10): 586-587.
- [20] 周丽莎, 朱书秀, 望庐山. 草苈蓉提取物对 AD 模型大鼠 ACh ChAT 及 AChE 的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(9): 1874-1876.