

通痹化纤方对肺纤维化大鼠肺功能及 uPA、PAI-1、TNF- α 表达的影响

樊茂蓉 韩克华 张燕萍 张旭丽 王书臣

【摘要】 目的 观察通痹化纤方对肺纤维化大鼠肺功能及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、尿激酶纤溶酶原激活剂(uPA)和纤溶酶原激活剂抑制剂-1 (PAI-1)表达的影响,探讨该方治疗肺纤维化大鼠的作用机制。**方法** 将 70 只大鼠随机分为空白组、模型组、激素组、中药组,气管内注射博来霉素造成肺纤维化大鼠模型,造模后 28 天予以相应药物灌胃给药,连续给药 21 天。检测各组大鼠肺组织病理形态学、肺功能、血清及支气管肺泡灌洗液 uPA 和 PAI-1 水平、血清 TNF- α 水平的变化。**结果** 模型组呈中重度肺纤维化改变,中药和激素组肺泡炎和肺纤维化程度均较模型组明显减轻;与模型组比较,中药和激素组 TNF- α 水平明显降低($P<0.05$);与空白组比较,其余各组大鼠血清 uPA 水平明显降低($P<0.05$);与空白组比较,模型组大鼠 MVV 水平明显降低($P<0.05$);与空白组比较,模型组大鼠 Cydn 水平明显降低($P<0.05$),与模型组比较,中药和激素组 Cydn 水平明显升高($P<0.05$);与空白组比较,模型组大鼠 RL 水平明显升高($P<0.05$),与模型组比较,中药组 RL 水平明显降低($P<0.05$);与空白组比较,模型组大鼠 RE 水平明显升高($P<0.05$)。**结论** 通痹化纤方可能通过降低肺纤维化大鼠血清中 TNF- α 水平,改善肺纤维化大鼠 Cydn 及 RL,从而延缓肺纤维化的进程。

【关键词】 通痹化纤方; 肺纤维化; 肺功能; uPA; PAI-1; TNF- α

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2012.09.004

Effect of Tongbi Huaxian Decoction on lung function of rats with pulmonary fibrosis and expression of uPA, PAI-1 and TNF- α FAN Mao-rong, HAN Ke-hua, ZHANG Yan-ping, et al. *Respiration Department, Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China*
Corresponding author: WANG Shu-chen, E-mail: fanmr1974@gmail.com

【Abstract】 Objective To investigate the mechanism of the treatment of pulmonary fibrosis in rats through examining the effect of Tongbi Huaxian Decoction on expression of lung function of rats with pulmonary fibrosis and tumor necrosis factor- α (TNF- α), urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1). **Methods** Seventy rats are randomly divided into the untreated group, the control group, the hormone treatment group, and the Chinese herbs treatment group. We make the pulmonary fibrosis rat model by intratracheal injection of bleomycin. We start the treatment by giving the appropriate drugs on gavage for 21 continuous days 28 days after the start of the model. We examine lung tissue pathology, changes in lung function, serum and bronchoalveolar lavage fluid of uPA and PAI-1 levels, and serum levels of TNF- α level for each group. **Results** The control group has severe pulmonary fibrosis while the Chinese herbs and hormone groups have significantly less severe alveolitis and pulmonary fibrosis. Compared to the control group, both treatment groups have significantly lower TNF- α level ($P<0.05$). Compared with the untreated group, all other groups have significantly lower serum uPA level ($P<0.05$). Compared with the untreated group, the control group has significantly lower MVV level ($P<0.05$). Compared with the untreated group, the control group has significantly lower Cydn level

基金项目:国家自然科学基金(30901948);中国中医科学院西苑医院院内课题(xyky-mp-05)

作者单位:100091 北京,中国中医科学院西苑医院呼吸科(樊茂蓉、张燕萍、张旭丽、王书臣);山东省潍坊市中医院呼吸科(韩克华)

作者简介:樊茂蓉(1974-),女,硕士,副主任医师。研究方向:中西医结合呼吸病学。E-mail:fanmaorong1025@yahoo.cn

通讯作者:王书臣(1945-),硕士,主任医师。研究方向:中西医结合呼吸病学。E-mail:fanmr1974@gmail.com

文献标引:

樊茂蓉,韩克华,张燕萍,等.通痹化纤方对肺纤维化大鼠肺功能及uPA、PAI-1、TNF- α 表达的影响[J].环球中医药,2012,5(9):654-659.

($P < 0.05$) while both treatment groups have significantly higher Cydn level ($P < 0.05$). Compared with untreated group, the control group has significantly higher RL level ($P < 0.05$) while the Chinese medicine treatment group has significantly lower RL level ($P < 0.05$). Compared with the untreated group, the control group has significantly higher RE level ($P < 0.05$). **Conclusion** Tongbi Huaxian Decoction may improve Cydn and RL in rats with pulmonary fibrosis through reducing serum TNF- α levels, thereby delaying the process of pulmonary fibrosis.

【Key words】 Tongbi Huaxian Decoction; Pulmonary fibrosis; Pulmonary function; uPA; PAI-1; TNF- α

肺纤维化(pulmonary fibrosis, PF)是以弥漫性肺泡炎、肺泡结构紊乱和纤维化为特征的一组渐进性的致死性疾病^[1],研究表明^[2],肺纤维化损伤后的正常修复反应依赖于凝血、炎症、肉芽组织生成、上皮和内皮再生这一系列反应的有机结合,损伤和修复的任何一环节异常都可能导致过量的胞外基质沉积、肺实质结构破坏和肺纤维化。文献报道^[3-4]:肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、尿激型纤溶酶原激活剂(urokinase-type plasminogen activator, uPA)和纤溶酶原激活剂抑制剂-1(urokinase-type plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)等在组织的损伤修复过程中起重要作用。通痹化纤方是全国名老中医王书臣教授的临床经验方,在临床应用取得了较好的疗效。本实验从肺纤维化大鼠肺组织病理形态学、肺功能、血清及支气管肺泡灌洗液 uPA 和 PAI-1 水平、血清 TNF- α 水平的变化,探讨通痹化纤方治疗肺纤维化的疗效及可能作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康雄性 SD 大鼠 70 只,体重(120 \pm 10)g。购自北京市维通利华实验动物技术有限公司(许可证编号:SCXK(京)2007-2008)。在中国中医科学院西苑医院二级动物室适应性喂养一周(饲养设施合格证号 SYXK(京)2003-2008),开始实验。

1.2 分组方法

造模前随机选取 10 只大鼠作为空白组,造模第 28 天时,将存活的模型大鼠随机分为模型组、激素组、中药组,共 3 组。

1.3 药物及主要试剂

通痹化纤方由生黄芪 30 g、南沙参 20 g、威灵仙 15 g、络石藤 15 g、丹参 15 g、红花 10 g、穿山龙 30 g、黄芩 10 g、生甘草 10 g 组成,配伍后,冷水浸泡 30 分钟,水煎两次后混匀,过滤并浓缩成溶液(每毫升

约含生药 5 g),由中国中医科学院西苑医院制剂室提供;博莱霉素(批号:080501):天津太河制药有限公司;强的松片(批号:0806044):天津力生制药股份有限公司;10%水和氯醛(批号:20081003):西苑医院制剂室,生理盐水稀释为浓度 3.5%后用于实验;戊巴比妥钠(批号:20081003):西苑医院制剂室,生理盐水稀释为浓度 1%后用于实验;大鼠肿瘤坏死因子(TNF)放免试剂盒(批号:20081201):北京普尔伟业生物科技有限公司;大鼠尿激型纤溶酶原激活剂(uPA)ELISA 试剂盒(批号:ELA06262):美国 RD 公司分装;纤溶酶原激活剂抑制剂-1(PAI-1)ELISA 试剂盒(批号:ELA06209):美国 RD 公司分装。

1.4 建立大鼠肺纤维化模型

参照文献造模^[5-6],3.5%水合氯醛腹腔麻醉大鼠(10 ml/kg)后,将其仰卧固定于鼠板,剪去颈毛,常规消毒皮肤,无菌操作下作长约 1 cm 的颈中切口,以血管钳逐层钝性分离暴露气管,用 1 ml 注射液在环状软骨间刺入气管腔,按 5 mg/kg 体重,向气管内注射博莱霉素溶液(浓度为 5 g/L),然后将大鼠直立并左右旋转,使药物在大鼠肺内分布均匀,缝合皮肤,局部消毒防止感染,待动物自然清醒后置笼内常规饲养。

1.5 主要仪器和设备

AniRes2005 动物肺功能分析系统、RES3020 动物呼吸机,北京贝兰博科技有限公司;图像分析系统:LEICA-Q550CW,德国;Wellscan MK3 全自动酶标仪:芬兰 Wellscan MK3 酶标仪器公司。

1.6 给药方法

各组实验动物均于术后 28 天开始灌胃给药,每天 1 次,连续给药 21 天,给药剂量参考成人每日常规服药量进行换算^[7]。各组大鼠药物灌胃剂量如下:(1)空白组:每日给予 2 ml 蒸馏水灌胃;(2)模型组:每日给予 2 ml 蒸馏水灌胃;(3)激素组:将强的松片溶于蒸馏水,每日给药剂量 3 mg/kg 体重;

文献标引:

樊茂蓉,韩克华,张燕萍,等.通痹化纤方对肺纤维化大鼠肺功能及uPA、PAI-1、TNF- α 表达的影响[J].环球中医药,2012,5(9):654-659.

(4) 中药组: 每日给药剂量 20 g 生药/kg 体重。

1.7 观察指标

1.7.1 大鼠一般状态观察 每日观察大鼠有无死亡, 一般状态(包括体重、活动情况、毛发光泽度、精神状态、进食饮水情况、大便及呼吸情况、有无紫绀等)。

1.7.2 肺功能 于术后第 56 天, 做大鼠用力肺通气功能(FVC)实验。大鼠肺功能操作步骤:(1) 打开压缩机、动物呼吸机和信号调节器电源, 运行 Ani-Res2005 系统, 选择动物的潮气量为 5 ml/kg, FVC 量选潮气量的 4 倍;(2) 动物麻醉: 实验动物用新鲜配制的 1% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(起始量为 60 mg/kg, 因大鼠个体差异, 若麻醉过浅可逐渐加量, 直到气道压力和肺容量曲线变化与动物呼吸机同步, 气道阻力曲线比较平滑, 几乎没有毛刺);(3) 大鼠气管插管: 麻醉后, 分离暴露气管, 在第 3、4 气管环中间切开倒 T 形切口, 将制备好的气管插管插入气管中, 然后用线系紧;(4) 将实验动物放入大鼠体描箱、将气管插管与体描箱气路相连;(5) 开始采集数据, 测量大鼠用力肺通气功能, 指标选择参考文献^[8-10]: FVC(用力肺活量)、FEV_{0.3}/FVC% (0.3 秒内的平均流速)、PEF(用力最大呼气流速)、MVV(每分钟通气量)、Cdyn(动态顺应性)等, 存储数据。

1.7.3 血清及支气管肺泡灌洗液 uPA 和 PAI-1 水平及血清 TNF- α 水平 固定大鼠, 用 5 ml 生理盐水经气管插管处注入肺组织, 每次气道内反复注入、回抽 3 次, 获得支气管肺泡灌洗液(BALF), 将灌洗液静置 1 小时后离心 10 分钟(1000 r/min), 取上清液, 保存至 -70℃ 冰箱中备检, 测定 uPA、PAI-1 含量。暴露胸腔, 腹主动脉取血, 静置 1 小时后离心 15 分钟(2500 r/min), 取血清保存至 -70℃ 冰箱中备检, 测定 uPA、PAI-1、TNF- α 含量。

1.7.4 大鼠组织病理学观察 抽取动脉血后迅速摘取肺脏, 选取大鼠左肺下叶同一部位, 于福尔马林中固定, 石蜡包埋, 切片进行组织病理学检查。

肺泡炎和纤维化分级标准: 根据 Szapiel 等^[11]的方法确定肺泡炎和肺纤维化的程度。将肺泡炎分为四级: 0 级, 无肺泡炎(-); 1 级, 轻度肺泡炎(+), 肺泡隔因细胞浸润增宽, 病变范围局限在全肺的 20% 以下, 但肺泡结构正常; 2 级, 中度肺泡炎(++), 病变范围占全肺的 20% ~ 50%; 3 级, 重度肺泡炎(+++), 呈弥漫性分布, 病变范围大于 50%。将肺间质纤维化分为四级: 0 级, 无纤维化; I 级, 轻度纤维化, 受累面积 < 10%; II 级, 中度纤维化, 病变范

围占全肺的 10% ~ 25%; III 级, 重度纤维化, 病变范围占全肺的 26% ~ 40%; IV 级, 极重度纤维化, 病变范围 > 40%。

1.8 统计学方法

实验数据采用 SPSS 13.0 统计软件包进行分析处理, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。P < 0.05 认为存在显著性差异, 有统计学意义。

2 结果

2.1 动物一般情况

2.1.1 大鼠一般形态 空白组大鼠精神良好, 发育正常, 活泼好动, 反应灵敏, 强壮肥硕, 皮毛光泽, 纳食较佳, 体重增加快。造模大鼠均于 7 天内出现明显的精神不振, 体重增长缓慢, 呼吸急促, 食量减少, 行动迟缓, 拱背蜷缩, 皮毛枯槁, 唇舌及尾根部紫绀现象, 14 ~ 28 天时有所好转, 体重增加较前增快, 仍有呼吸急促。从造模第 28 天开始药物干预后, 中药组大鼠大便偏稀, 于灌胃前将药液加温后, 大便转至正常。中药组大鼠精神状态尚可, 活动灵敏, 皮毛欠润泽, 呼吸急促不明显, 体重逐渐增加。激素组大鼠, 精神稍差, 活动尚可, 皮毛欠润泽, 气促不明显, 纳食可, 体重逐渐增加。模型组大鼠精神差, 反应迟钝, 行动缓慢, 皮毛枯槁无光泽, 多见倒竖现象, 喜拱背蜷缩, 呼吸较急促, 体重增长慢。

2.1.2 大鼠死亡情况 共造模 60 只大鼠, 造模时死亡 3 只, 造模后 28 天内共死亡 10 只模型大鼠; 第 28 天至 56 天, 空白组大鼠死亡 1 只, 模型组死亡 4 只, 激素组死亡 4 只, 中药组死亡 3 只。

2.2 肺组织病理形态学变化

2.2.1 肉眼观察 空白组双肺呈淡粉色, 表面光滑, 弹性良好。模型组双肺体积缩小, 颜色暗红, 表面凹凸不平, 可见小片状的苍白灶, 质地较硬, 弹性差。中药组及激素组较模型组均有一定程度的改善。

2.2.2 光镜观察肺组织病理学改变 空白组肺内结构清晰, 肺泡壁薄且光滑, 肺泡结构完整, 肺泡间隔未见增厚, 无炎性细胞浸润, 肺泡腔透亮, 无明显炎性细胞渗出(见图 1)。模型组呈中重度肺纤维化改变, 肺泡结构破坏或消失, 少量炎症细胞浸润, 肺泡壁明显增厚, 纤维组织增生, 有纤维瘢痕形成, 病变区肺泡结构破坏, 肺泡隔变薄或断裂, 一部分肺泡腔萎陷或消失, 由胶原纤维、成纤维细胞占据, 大量胶原沉积, 多呈 2、3 级肺纤维化和 1 级肺泡炎改

变(见图2)。与文献报道一致,提示本实验造模成功。中药组、激素组肺泡炎和肺纤维化程度均较模型组明显减轻,肺泡隔轻度增宽,部分有少量炎性细胞浸润,成纤维细胞增殖减轻,多呈轻中度肺纤维化改变(见图3、图4)。

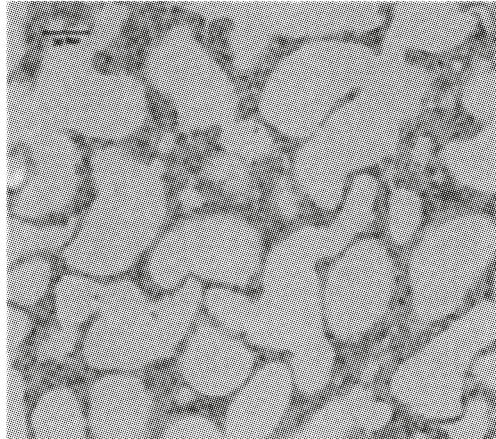


图1 空白组肺组织形态(HE染色,200倍镜下)

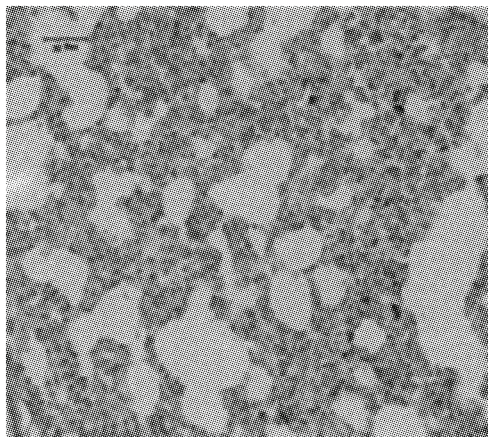


图2 模型组肺组织形态(HE染色,200倍镜下)

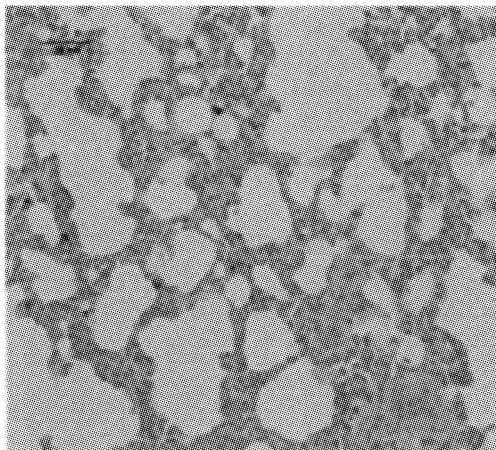


图3 激素组肺组织形态(HE染色,200倍镜下)

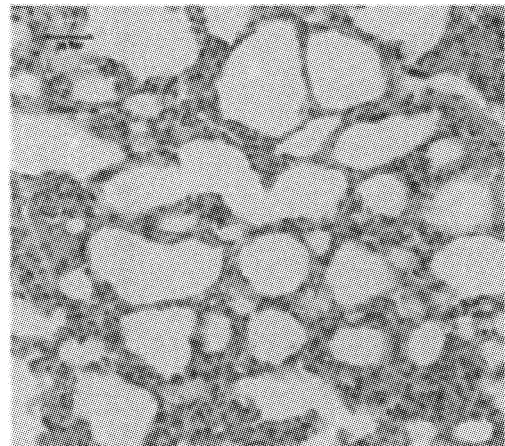


图4 中药组肺组织形态(HE染色,200倍镜下)

2.3 放免法检测血清中 TNF- α 的含量

如表2所示,模型组大鼠血清 TNF- α 水平较空白组有显著升高($P<0.05$);中药组和激素组 TNF- α 水平升高均轻于模型组,与模型组比较有显著性差异($P<0.05$);中药组 TNF- α 水平较激素组低,但无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

表2 各组大鼠血清 TNF- α 水平的比较

组别	<i>n</i>	TNF- α (ng/ml)
空白组	9	0.428 \pm 0.074 ^a
模型组	10	0.578 \pm 0.074 ^b
激素组	11	0.520 \pm 0.068 ^{ab}
中药组	10	0.487 \pm 0.083 ^{ab}

注:与模型组比较:^a $P<0.05$,与空白组比较:^b $P<0.05$

2.4 酶免法检测血清及支气管肺泡灌洗液 uPA、PAI-1 含量

模型组、中药组及激素组大鼠血清 uPA 水平较空白组均有显著降低($P<0.05$);中药组及激素组血清 uPA 水平降低均轻于模型组,但无统计学意义($P>0.05$);中药组血清 uPA 水平降低轻于激素组,但无统计学意义($P>0.05$)。各组大鼠支气管肺泡灌洗液 uPA 水平从高到低依次为空白组、中药组、激素组、模型组,但各组间比较均无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

表3 各组大鼠 uPA 水平的比较

组别	<i>n</i>	血清 uPA (OD 值)	灌洗液 uPA (OD 值)
空白组	9	2.174 \pm 0.271	0.236 \pm 0.095
模型组	10	1.606 \pm 0.105 ^a	0.170 \pm 0.043
激素组	11	1.662 \pm 0.206 ^a	0.192 \pm 0.079
中药组	10	1.800 \pm 0.191 ^a	0.221 \pm 0.054

注:与空白组比较:^a $P<0.05$

文献标引:

樊茂蓉,韩克华,张燕萍,等.通痹化纤方对肺纤维化大鼠肺功能及uPA、PAI-1、TNF- α 表达的影响[J].环球中医药,2012,5(9):654-659.

各组大鼠血清及支气管肺泡灌洗液 PAI-1 水平从低到高依次为空白组、中药组、激素组、模型组,但各组间比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 4。

表 4 各组大鼠 PAI-1 水平的比较

组别	n	血清 PAI-1 (OD 值)	灌洗液 PAI-1 (OD 值)
正常组空白组	9	26.918±1.867	2.695±0.069
模型组	10	29.094±1.733	2.991±0.246
激素组	11	27.575±2.251	2.848±0.156
中药组	10	27.050±2.724	2.644±0.215

2.5 肺功能检测结果

各组大鼠 FVC 水平从高到低依次为空白组、中药组、激素组、模型组,模型组、中药组、激素组与空白组比较有显著降低($P<0.05$),但各组间比较无统计学意义($P>0.05$);大鼠 FEV_{0.3} 水平模型组与空白组比较有显著性差异($P<0.05$),其余各组组间比较差异不显著($P>0.05$);FEV_{0.3}/FVC 水平各组间比较均无显著性差异($P>0.05$)。见表 5。

表 5 各组大鼠肺功能指标
(FVC, FEV_{0.3}, FEV_{0.3}/FVC%) 比较

组别	n	FVC (ml)	FEV _{0.3} (ml/min)	FEV _{0.3} /FVC%
空白组	9	9.37±0.44	6.17±0.26	65.93±3.88
模型组	10	7.39±0.32 ^a	5.31±0.30 ^a	71.93±0.94
激素组	11	7.84±0.84 ^a	5.55±0.31	71.35±6.27
中药组	10	7.88±0.49 ^a	5.86±0.66	74.47±7.35

注:与空白组比较:^a $P<0.05$

PEF 水平各组间比较均无显著性差异($P>0.05$);FEF75 水平模型组与空白组比较有显著性差异($P<0.05$),其余各组组间比较差异不显著($P>0.05$);MVV 水平模型组与空白组比较有显著性差异($P<0.05$),其余各组组间比较差异不显著($P>0.05$)。见表 6。

模型组大鼠 Cydn 水平较空白组有显著降低($P<0.05$);中药组和激素组 Cydn 水平降低均轻于模型组,与模型组比较有显著性差异($P<0.05$);中药组 Cydn 水平降低轻于激素组,但无统计学意义($P>0.05$)。模型组大鼠 RL(吸气气道阻力)水平较空白组有显著升高($P<0.05$);中药组 RL 水平升高轻于模型组,与模型组比较有显著性差异($P<0.05$);激素组 RL 水平升高轻于模型组,但与模型组比较无显著性差异($P>0.05$);中药组 RL 水平高于空白组,但与空白组比较无显著性差异($P>0.05$)。模型组大鼠 RE(呼气气道阻力)水平较空白组有显著性升高($P<0.05$),其余各组组间比较差异不显著($P>0.05$)。见表 7。

表 6 各组大鼠肺功能指标
(PEF, FEF75, MVV) 比较

组别	n	PEF (ml/min)	FEF75 (ml/min)	MVV (ml/min)
空白组	9	27.31±1.91	14.49±0.72	275.68±5.74
模型组	10	24.47±2.17	11.67±0.63 ^a	225.50±35.17 ^a
激素组	11	25.09±1.73	12.69±1.03	242.86±25.44
中药组	10	27.83±4.19	13.62±2.27	240.25±20.68

注:与空白组比较:^a $P<0.05$

表 7 各组大鼠肺功能指标
(Cydn, RL, RE) 比较

组别	n	Cydn (ml/cmH ₂ O)	RL (cmH ₂ O · s/ml)	RE (cmH ₂ O · s/ml)
空白组	9	0.266±0.007 ^a	1.273±0.044 ^a	1.454±0.599
模型组	10	0.183±0.013 ^b	1.811±0.013 ^b	2.168±0.129 ^b
激素组	11	0.226±0.039 ^{ab}	1.563±0.033 ^b	1.975±0.479
中药组	10	0.229±0.011 ^{ab}	1.463±0.058 ^a	1.846±0.237

注:与模型组比较:^a $P<0.05$;与空白组比较^b $P<0.05$

3 讨论

间质性肺病主要临床症状为干咳,进行性呼吸困难,活动后气短,面色、口唇紫绀,杵状指(趾),双下肺 Velcro 啰音。近年来中医一般将其列入“肺痹”、“肺痿”、“络病”、“咳嗽”等门。根据患者的临床症状以及病理改变,结合中医基础理论,课题组认为,间质性肺病为存在本虚标实的基本病机,本虚以气阴两虚为主,标实以痰瘀阻络为主。本病早期多表现为肺痹,后期多表现为肺痿,常可见到痹中有痿(因实致虚),痿中有痹(因虚致实)的复杂病理状态,但肺络闭阻贯穿于疾病的始终。

通痹化纤方由生黄芪、南沙参、威灵仙、络石藤、丹参、红花、穿山龙、黄芩、生甘草等组成,犹重活血通络,用药具有鲜明的特色。肺主气,为娇脏,喜润恶燥,以黄芪、南沙参相配令气阴旺盛则血行通利;丹参、红花活血化瘀通经;威灵仙性猛善走,通行十二经脉,配合络石藤、穿山龙既能活血通络,又能防补药之瘀滞(以治疗风湿痹证的药物治疗肺间质纤维化,取其通络行痹之功效);黄芩、南沙参、穿山龙配伍清肺化痰;甘草止咳化痰,调和诸药,为佐使之品。全方攻补兼施,气血并调,攻不伤正,补而不滞,功能益气养阴、活血通络。

3.1 组织病理形态的观察

模型组大鼠呈中重度肺纤维化改变,肺组织破坏呈进行性发展,成纤维细胞明显增多,肺泡间隔增厚,肺泡结构破坏、消失,肺组织纤维化形成,与文献报道一致^[5-6],中药组及激素组肺炎和肺纤

维化程度均较模型组明显减轻,肺泡隔轻度增宽,部分有少量炎性细胞浸润,成纤维细胞增殖减轻,多呈轻中度肺纤维化改变。

3.2 对血清 TNF- α 水平的影响

TNF- α 可增加中性粒细胞和噬酸粒细胞的功能,产生超氧化物及溶酶体酶对其周围细胞产生毒性作用,并可介导其他细胞因子和炎症因子的表达,放大并扩展其自身的免疫效应,还可刺激成纤维细胞的增殖,最后导致纤维化。本实验中血清 TNF- α 水平检测结果显示,ILD 模型组大鼠存在 TNF- α 水平显著升高;中药和激素一定程度上能抑制 TNF- α 水平升高,中药组 TNF- α 水平升高水平低于激素组,但无统计学意义。提示通痹化纤方可能通过降低 TNF- α 水平,来达到延缓肺纤维化进程的作用。

3.3 对凝血纤溶系统的影响

凝血纤溶失衡是 ILD 发生、发展的重要机制,本实验中模型组、中药组及激素组大鼠血清 uPA 水平较空白组均有显著降低,提示 ILD 模型大鼠存在纤溶活性的降低;各组大鼠支气管肺泡灌洗液 uPA 水平从高到低依次为空白组、中药组、激素组、模型组,但各组间比较均无统计学意义。各组大鼠血清及支气管肺泡灌洗液 PAI-1 水平从低到高依次为空白组、中药组、激素组、模型组,但各组间比较均无统计学意义,上述实验结果说明各组大鼠血清与支气管肺泡灌洗液中 uPA、PAI-1 水平呈现一致性,提示可能以操作简单的血清学指标代替支气管肺泡灌洗液指标。本研究中造模后大鼠血清及支气管肺泡灌洗液中 uPA、PAI-1 水平均较空白组高,但无统计学差异,表明凝血纤溶失衡机制可能在 ILD 的发病中发挥作用,中药组上述指标水平低于激素组及模型组,但亦无统计学差异,说明通痹化纤方可能通过调节凝血纤溶失衡机制而达到治疗 ILD 的目的,但上述假想有待进一步研究。

3.4 对肺功能的影响

肺功能指标的选取主要依据 ILD 患者的肺功能特征——限制性通气功能障碍和气体交换障碍。由于动物肺功能实验技术的限制,只能对大鼠进行用力肺功能的实验及肺顺应性和气道阻力的测定,无法进行弥散功能及静态肺容积的测定。实验结果显示:ILD 大鼠模型存在 FVC、MVV 显著降低,FEV0.3/FVC% 正常或增加的限制性通气功能障碍,并且 Cydn 显著降低、RL 显著升高,符合 ILD 肺功能特点,说明本实验中 ILD 大鼠模型不仅存在病

理上的改变,而且肺功能方面也发生了相应的变化,肺功能改变与病理变化相一致,进一步证实了 ILD 大鼠模型造模成功。在改善 Cydn 方面,中药及激素均有显著疗效,中药效果更好,但中药组与激素组经统计学检验无显著性差异。RL 方面,模型组大鼠 RL 水平较空白组明显升高,并有统计学差异,中药组 RL 水平明显低于模型组,并有统计学差异,激素组 RL 水平与模型组比较无显著性差异,由此推断在改善 RL 方面中药可能比激素效果更明显。

综上所述,通痹化纤方可以明显改善 ILD 大鼠 Cydn 及 RL,其疗效优于激素组,其机制可能通过降低血清中 TNF- α 水平,从而延缓肺纤维化的进程。通痹化纤方是否通过调节凝血纤溶系统失衡而达到治疗 ILD 的效果,尚需进一步研究。本研究为治疗肺间质纤维化提供了新思路,拓展了中医药治疗肺间质纤维化的思路。

参 考 文 献

- [1] American Thoracic Society/European Respiratory Society. American thoracic society/european respiratory society international multi-disciplinary consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2002, 165 (2): 277-304.
- [2] 翁心植,王辰.北京朝阳医院呼吸内科专题讲座[M].郑州:郑州大学出版社,2005:171-173.
- [3] Sisson TH, Hanson KE, Subbotina N, et al. Inducible lung-specific urokinase expression reduces fibrosis and mortality after lung injury in mice[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2002, 283:1023-1032.
- [4] Fujimoto H, Gabazza EC, Hataji O, et al. Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor and protein C inhibitor in interstitial lung disease[J]. Am J Res Critical Care Med, 2003, 167:1687-1694.
- [5] Clark JG. BLM-induced Pulmonary fibrosis in hamster[J]. J Clin Invest, 1983, 72:20.
- [6] Thrall RS. Differential cellular during the development of bleomycin induced Pulmonary in the rat[J]. Am Rev Respir Dis, 1982, 126:488.
- [7] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1982:178-179.
- [8] 周刚,王继峰,牛建昭.姜黄素对肺纤维化大鼠肺功能的影响[J].中药新药与临床药理,2008,7(19):4.
- [9] 汤军,徐志瑛,陈璐,等.苏金抗纤饮对肺纤维化大鼠凝血-纤溶系统的影响[J].浙江中西医结合杂志,2007,17(3):138-142.
- [10] 张伟,姜良铎,张晓梅,等.肺纤方对博来霉素致肺间质纤维化大鼠肺系数与肺组织病理的影响[J].北京中医药大学学报,2008,31(8):544-547.
- [11] Szapiel SV, Elson NA, Fulmer JD, et al. Bleomycin-induced interstitial pulmonary disease in the nude, athymic mouse[J]. Am Rev Respir Dis, 1979, 120:893-899.

(收稿日期:2012-08-07)

(本文编辑:秦楠)