

的重要因素之一^[8~10], DNA 损伤积累到一定程度, 可能会引起 p53 代偿性增加。而铬与绿茶共同作用组测定 p53 mRNA 含量比单独铬作用组表达下降 ($P < 0.05$), 提示绿茶可以拮抗 Cr(VI) 的毒性作用, 从而达到对细胞的保护作用。HEL 细胞经 Cr(VI) 处理后, bcl-2 mRNA 明显升高, 绿茶作用后细胞内 bcl-2 mRNA 的水平明显降低。

许多研究资料表明, 促癌因素在人类肿瘤发生中具有特别的意义^[11]。促癌阶段在早期是可逆的, 抑制促癌因素对人类肿瘤的预防具有特殊意义。绿茶作为一种具有还原作用的物质, 可降低染毒细胞内这两种基因的表达, 其机制可能是绿茶在细胞外直接将 Cr(VI) 还原为 Cr(III), 使 Cr(VI) 毒性降低, 逆转了 Cr(VI) 的促癌作用。因此, 经常饮用绿茶是十分有益的。

参考文献:

- [1] IARC: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, chromium, nickel and welding fumes [J]. France: IARC, 1990, 49: 187.
- [2] Liu K J, Shi X L. In vivo reduction of chromium (VI) and its related free radical generation [J]. Mol Cellular Biochem, 2001, 222: 41-47.
- [3] Bagehi D, Sidney J. Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different

forms of chromium [J]. Toxicology, 2002, 180: 5-22

- [4] Chen J, Thilly W G. Mutational spectrum of chromium (VI) in human cells [J]. Mutat Res, 1994, 323: 21-27.
- [5] Heibum L K, Nomura A. Black tea consumption and cancer risk: A prospective study [J]. Brit J Cancer, 1986, 54 (4): 277.
- [6] 沈靖, 叶本法, 张振宇, 等. 绿茶与肝癌关系的流行病学调查 [J]. 中华预防医学杂志, 1989, 23 (2): 105.
- [7] Kono S, Ikeda M, Tokudome M, et al. A case-control study of gastric cancer and diet in northern kyushu [J]. Jpn J Cancer Res, 1998, 79 (2): 1067-1074.
- [8] Carlisle D L, Pritchard D E, Singh J, et al. Apoptosis and p53 induction in human lung fibroblasts exposed to chromium (VI): effect of ascorbate and tocopherol [J]. Toxicol Sci, 2000, 55 (8): 60-68.
- [9] Carlisle D L, Pritchard D E, Singh J, et al. Chromium (VI) induces p53-dependent apoptosis in diploid human lung and mouse dermal fibroblasts [J]. Mol Carcinog, 2000, 28 (5): 111-118.
- [10] D'Agostini F, Izzotti A, Benicelli C, et al. Induction of apoptosis in lung but not in the liver of rats receiving intra-tracheal instillations of chromium (VI) [J]. Carcinogenesis, 2002, 23 (4): 587-589.
- [11] 程书钧. 绿茶多酚抑制突变和癌变的研究进展 [J]. 癌变·畸变·突变, 1989, 7 (1): 69-71.

沙参对肺纤维化大鼠 FN、LN 的影响

Effect of straight ladybell root on FN and LN in pulmonary fibrosis rats

姚岚¹, 盛丽¹, 王莉², 李东书¹, 马智³

YAO Lan¹, SHENG Li¹, WANG Li², LI Dong-shu¹, MA Zhi³

(1. 沈阳市中医院 辽宁 沈阳 110004; 2. 沈阳市九院 辽宁 沈阳 110024; 3. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110032)

摘要: 将大鼠按照性别、体重随机分为正常组、模型组、激素组、沙参 1.5 g/kg 组和 3.0 g/kg 组。按照博来霉素 (BLM) 5 mg/kg 体重复制大鼠肺纤维化模型。结果显示模型组肺组织羟脯氨酸 (HYP)、血清层粘连蛋白 (LN) 含量不断升高, 28 d 达最高峰; 血清纤维连接素 (FN) 含量第 7 天明显升高, 14 d 达最高峰。用药各组上升幅度较模型组低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。提示沙参可降低肺组织的 HYP、血清 FN、LN 含量, 对肺纤维化有一定的治疗作用。

关键词: 沙参; 博来霉素; 肺纤维化; HYP; FN; LN

中图分类号: R563 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2007)02-0118-02

肺纤维化的主要表现为肺间质细胞增生及细胞外基质 (ECM) 过度沉积, 在这一过程中, 作为 ECM 糖蛋白成分的纤维连接素 (FN)、层粘连蛋白 (LN) 参与了肺纤维化的发生、发展, 已被许多研究证明^[1~3]。细胞外基质最主要的有形成分是胶原蛋白, 而羟脯氨酸 (HYP) 是胶原中的一种特有的氨

基酸, 当胶原代谢发生异常时, 组织内 HYP 含量发生相应的变化, 故肺组织 HYP 的含量在一定程度上反应了肺胶原的合成水平^[4]。中药沙参是临床应用治疗肺纤维化常用的组方用药。但单味沙参治疗肺纤维化的实验研究尚未见报道。通过观察沙参治疗肺纤维化的作用机制, 为单味药的探索应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康 Wistar 大鼠 150 只, 雌雄各半, 体重 180~200 g, 沈阳药科大学实验动物室提供 [动物许可证编号: SYXK (辽) 2003-0012]。

1.2 药品与主要试剂

盐酸平阳霉素 (BLM): 哈尔滨博莱制药有限公司生产, 批号: 04040201, 8 mg/支; 北沙参: 沈阳市中医院药局, 批号: 20050411; 醋酸泼尼松片 (醋酸强的松片): 吉林制药股份有限公司生产, 批号: 20041001。羟脯氨酸测试盒, 南京建成生物工程研究所生产, 批号: 05061705; 大鼠纤维连接蛋白 ELISA 试剂盒, 批号: EK0350, 层粘连蛋白 ELISA 试剂盒, 批号: EK0435, 均由武汉博士德生物工程公司生产。

1.3 仪器设备

96 孔有盖酶标板: 武汉博士德生物工程公司生产, RT-

收稿日期: 2006-11-01; 修回日期: 2006-12-10

作者简介: 姚岚 (1970-), 女, 博士在读, 副主任医师, 主要从事呼吸疾病研究。

6000 Rayto 酶标仪; 深圳雷社生命科学股份有限公司生产, Cumeexper 1.3 数据分析软件。

1.4 方法

1.4.1 动物模型制备 参照文献 [5] 方法。麻醉大鼠, 暴露气管, 一次性注入 BLM 注射液 (5 mg/kg), 左右旋转鼠板, 使 BLM 注射液均匀分布于两肺, 制成模型。

1.4.2 动物分组及给药 实验动物按雌雄、体重分层随机分为 5 组, 即正常组、模型组、激素组、沙参 1.5 g/kg 组 (相当于成人剂量)、沙参 3.0 g/kg 组, 每组 30 只。每天灌胃 1 次, 每周复查体重, 调整给药量。共饲养 4 周, 分别于 7、14、28 d 3 个时间点取材, 每次处死 10 只动物。建模 24 h 后给药, 激素组予强的松 6.25 mg/kg 灌胃, 沙参组给予参鹵法 (沙参与 50% 乙醇按 1:4 混合, 浸泡 24h 后水浴取沙参醇提液) 沙参提取液 1.5 g/kg、3.0 g/kg 灌胃, 正常组、模型组给予等容生理盐水灌胃。

1.4.3 检测指标与统计学处理 HYP、LN、FN 测定均按试剂盒说明书操作。统计数据应用 SPSS13.0 统计软件进行方差分析及 *q* 检验。

2 结果

2.1 大鼠肺组织 HYP 的变化

模型组肺组织的 HYP 不断升高, 28 d 达最高峰, 而其他用药组不同时间点 HYP 均有不同的升高趋势, 且无明显高峰期。模型组肺组织 HYP 含量显著高于同期正常组 (*P* < 0.01); 经药物治疗后, HYP 含量明显下降, 与同期模型组比较 *P* < 0.05 或 *P* < 0.01, 激素组与沙参 3.0 g/kg 组比较差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。见表 1。

表 1 各组肺组织羟脯氨酸变化 ($\bar{x} \pm s$) $\mu\text{g}/\text{mg}$			
组别	7 d	14 d	28 d
正常组	1.02 ± 0.45	0.92 ± 0.29	1.03 ± 0.35
模型组	1.55 ± 0.25 **	1.67 ± 0.34 **	1.80 ± 0.35 **
激素组	1.48 ± 0.32 **	1.19 ± 0.34 ##	1.36 ± 0.43 #
沙参 1.5 g/kg 组	1.43 ± 0.31 **	0.99 ± 0.27 ##	1.38 ± 0.49 #
沙参 3.0 g/kg 组	1.20 ± 0.33 #	1.20 ± 0.32 ##	1.22 ± 0.34 ##

与正常组比较 * *P* < 0.05, ** *P* < 0.01; 与模型组比较 # *P* < 0.05, ## *P* < 0.01。下表同。

2.2 各组大鼠血清 FN 含量的变化

大鼠经 BLM 造模后, 第 7 天血清中 FN 明显升高, 于第 14 天达最高峰, 以后逐渐下降。模型组大鼠血清中 FN 含量明显升高, 各治疗组血清中 FN 含量明显下降, 组间比较均无差别。见表 2。

表 2 各组不同时间点大鼠血清 FN 含量变化 ($\bar{x} \pm s$, <i>n</i> = 10)			
组别	7 d	14 d	28 d
正常组	301.54 ± 43.26	300.43 ± 21.65	309.23 ± 54.52
模型组	591.45 ± 155.51 **	618.14 ± 134.27 **	521.40 ± 75.87 **
激素组	410.72 ± 73.77 * ##	408.70 ± 25.69 * * ##	371.80 ± 93.25 * ##
沙参 1.5 g/kg 组	415.36 ± 71.34 * * * ##	396.95 ± 67.52 * * * ##	396.01 ± 107.00 * * ##
沙参 3.0 g/kg 组	442.84 ± 45.27 * * * ##	409.82 ± 36.90 * * * ##	379.77 ± 63.86 * ##

2.3 各组大鼠血清 LN 含量的变化

大鼠经 BLM 造模后, 第 7 天血清中 LN 开始升高, 第 28

天为最高峰, 各用药组血清 LN 也随时间延长而升高, 但上升幅度较模型组低。7 d 时, 各组间差异无统计学意义; 在 14 d 和 28 d 时, 各治疗组 LN 含量高于正常组, 低于模型组, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05 或 *P* < 0.01), 见表 3。

表 3 各组不同时间点大鼠血清 LN 含量变化 ($\bar{x} \pm s$, <i>n</i> = 10)			
组别	7 d	14 d	28 d
正常组	8.46 ± 2.62	9.08 ± 1.21	7.95 ± 1.04
模型组	12.99 ± 4.62	15.86 ± 1.65 **	17.93 ± 1.86 **
激素组	9.88 ± 4.37	10.89 ± 1.75 * ##	13.96 ± 2.78 * * ##
沙参 1.5 g/kg 组	9.77 ± 4.20	11.66 ± 2.16 * * ##	15.47 ± 0.77 * * * ##
沙参 3.0 g/kg 组	10.10 ± 3.97	10.79 ± 1.90 * ##	14.75 ± 1.42 * * * ##

3 讨论

肺纤维化的病机复杂, 难以用单一病机来阐释, 肺肾亏虚为发病之本^[6]。阴虚内热为本病发病过程中常见病机。北沙参为治疗咳嗽的常用中药, 《中药志》谓其“养肺阴、清肺热、祛痰止咳, 治虚劳发热、阴伤燥咳、口渴咽干。”在本实验中, 应用单味沙参作为治疗中药, 结果显示其对 BIM 大鼠肺部的病理组织形态改变作用较为明显。

肺组织的细胞外基质 (ECM) 成分主要有 4 种: 胶原蛋白、弹性蛋白、蛋白多糖及糖粘连蛋白。肺组织的细胞外基质与肺纤维化关系最为密切。FN 与 LN 均为细胞外基质的糖蛋白, FN 是成纤维细胞的趋化和活化因子^[7], LN 对于维持肺泡和毛细血管基膜结构和功能的完整起着重要作用。在肺纤维化过程中二者均有明显的改变。本文采用 ELISA 法观察了肺纤维化大鼠血清 FN、LN 的动态变化。结果显示, FN 含量第 7 天明显升高, 第 14 天达高峰, 以后逐渐下降; LN 含量持续增高, 第 28 天达高峰。表明 FN 参与 BLM 肺纤维化大鼠早期肺泡炎性损伤的发生与发展; LN 参与了实验性肺纤维化的全过程, 在肺纤维化的形成过程中起重要作用。本研究以北沙参作为治疗中药, 可明显降低肺纤维化大鼠血清中 FN、LN 含量, 表明沙参对肺纤维化有治疗作用。

参考文献:

[1] 张月娥, 许祖德, 王新禾, 等. 实验性器官硬化细胞外基质及间质效应细胞的研究 [J]. 中华病理学杂志, 1994, 23(2): 111-114.

[2] 宋建平, 楚瑞芬, 刘方州, 等. 枯萎斑白汤对肺纤维化大鼠支气管肺泡灌洗液中层粘连蛋白、III 型胶原含量的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2002, 25 (4): 29-30.

[3] 姜莉, 陈佰义, 侯显明. 肺纤维化大鼠细胞外基质蛋白的变化 [J]. 中国医科大学学报, 1998, 27 (1): 26-28.

[4] 徐峥嵘. 细胞因子及其特异性抑制剂与肺纤维化的治疗 [J]. 中国公共卫生, 2005, 21 (6): 750-753.

[5] Szapiel S V, Elson N A, Fulmer J D, et al. Bleomycin-induced interstitial pulmonary disease in the nude, athymic mouse [J]. Am Rev Respir Dis, 1979, 120 (4): 893-899.

[6] 张天嵩. 特发性肺纤维化的中医病机探讨 [J]. 中医函授通讯, 1999, 18 (3): 14-15.

[7] Pietschmann P, Schemthaner G, Schnack C H, et al. Serum concentrations of laminin P1 in diabetics with advanced nephropathy [J]. J Clin Pathol, 1988, 41: 921-925.