

加味玉屏风散对慢性支气管炎鼠气管 粘膜表面细菌粘附的对抗作用

浙江医科大学杭州分校(杭州 310012) 沈永浩

国家海洋局第二研究所 张 敏

浙江省中医药研究院 孔繁智

内容提要 采用SO₂刺激法制成鼠慢性支气管炎(慢支)模型,通过绿脓杆菌气溶胶吸入的细菌气道粘附实验,观察加味玉屏风散对鼠气管粘膜细菌粘附的影响。扫描电镜下见服药的慢支模型鼠的气管粘膜表面病变及粘附的细菌数远少于不服药者,气管组织匀浆粘附细菌定量培养计数也相应显著减少。健康对照鼠在同样吸入绿脓杆菌气溶胶的情况下,其气管粘膜未受损,无细菌粘附。提示细菌粘附与气管粘膜受损密切相关,加味玉屏风散可能通过保护气管粘膜上皮或减轻气管粘膜损伤而对抗细菌粘附。

关键词 实验性慢性支气管炎 细菌粘附 加味玉屏风散 扫描电子显微镜

加味玉屏风散能减轻SO₂吸入法引起的慢性支气管炎(慢支)模型鼠下呼吸道病理改变^①。为进一步研究该药对呼吸道感染的防治作用,根据细菌感染理论最新提出的“粘附学说”^②,我们以绿脓杆菌为粘附菌,观察该药对慢支模型鼠气管粘膜表面细菌粘附的影响,现报告如下。

材料和方法

一、药物:加味玉屏风散:黄芪、焦白术、归身、防风按3:2:2:1的比例,由浙江省中医药研究院附属药厂制成口服液,每毫升相当于生药350mg。体外抑菌试验结果表明,本药无杀抑绿脓杆菌作用。

二、动物:(1)NIA品系小鼠45只,雌23只,雄22只,实验前体重20~22g,日龄为50~60d。(2)Wistar大白鼠:15只,体重200g左右,日龄50~60d。均分笼普通饲料喂养,饲养室控制在恒温恒湿。

三、实验用细菌:绿脓杆菌,从患者痰中分离培养。实验时将绿脓杆菌培养液上的菌落制成生理盐水混悬液,比浊法测定含菌量达10⁸/ml时,取2ml菌液放入玻璃雾化吸入器,加压0.3kg/cm²,使发生绿脓杆菌气溶胶。实验前分离培养的绿脓杆菌进行直接涂片革兰氏染色油镜检查、含菌液悬滴法透射电镜观察、含菌液涂片和气溶胶雾化片扫描电镜观察,结果证实实验用的绿脓杆菌的形态、染色、培养特性等生物学特性,气溶胶内细菌分布符合实验要求,在扫描电镜下易于识别。对含菌气溶胶进行培养,该菌能生

长繁殖。

四、气管组织匀浆绿脓杆菌培养:实验分3批进行,每批15只小鼠,均随机分成3组:(1)模型组:用SO₂动力刺激法制备慢支模型^①,SO₂动力吸入剂量为160~200mg/L,每日1次,每次1h,共40d。不给药以0.5ml温开水灌胃,一日2次,连续40d。(2)给药组:模型制备方法同第1组,模型制成的同日给服加味玉屏风散口服液,以0.5ml灌胃,一日2次,连续40d。(3)正常对照组:不接受SO₂刺激,不给药物,在同等条件下饲养,以0.5ml温开水灌胃。每日2次,连续40d。至实验40d后,3组小鼠同时置雾化罩内,以绿脓杆菌气溶胶吸入感染2min,20h后处死小鼠,无菌操作取出气管,制成匀浆后作绿脓杆菌定量培养22h,然后计数平板上的菌落并标出1ml原液中的菌落形成单位(cfu/ml)代表细菌数。

五、扫描电镜观察:为电镜取材方便,用Wistar大白鼠15只,随机分为3组:模型组、给药组和正常对照组。方法同小鼠,但正常对照组中有2只大鼠在处死前未进行雾化吸菌处理。采用气管活体原位固定法^③处死并切取气管标本。为了相对一致地观察气管粘膜在扫描电镜下形态变化及绿脓杆菌粘附情况,律在大鼠气管分叉处隆突上方开始精确量取3mm长的一段气管组织,纵形平分为面积约3×3mm²的3块粘膜组织供扫描电镜制备样品^④。在TSM-Ⅱ型扫描电镜下检查粘膜面上皮细胞形态及绿脓杆菌粘附情况(以粘附细菌个数表示)。

结 果

一、气管组织匀浆绿脓杆菌定量培养结果：慢支模型组、给药组及对照组的平均菌落数(cfu/ml, $\bar{x} \pm S$)分别为 3716.00 ± 520.56 、 18.67 ± 10.22 及 7.33 ± 3.58 。结果表明，给药组及对照组的菌落数较模型组都显著减少，经统计学处理，此二者之差异均非常显著(均 $P < 0.001$)，给药组与对照组相比则差异无显著性($P > 0.2$)。

二、扫描电镜检查结果：正常对照鼠的气管粘膜表面有大量纤毛细胞及少量散在的杯状细胞。纤毛细胞表面的纤毛直立，粗细均匀(约 $0.3 \sim 0.5 \mu\text{m}$)，长短一致($7 \sim 10 \mu\text{m}$)，末端稍细而钝圆。纤毛排列浓密而整齐，形成麦浪样起伏的绒毯状外观。杯状细胞表面呈半球形隆起，布满细短微绒毛，偶见粘液滴浮在其

表面。正常对照鼠中处死前无论有否进行雾化吸菌，其气管粘膜面所见均相似，亦未见到粘附的绿脓杆菌(图1)。模型组鼠气管粘膜面见到较广泛的损伤：纤毛变细、弯曲、变形、排列紊乱、倒伏、粘连等，严重者纤毛中断、脱落、纤毛细胞数量减少，出现成片的刷细胞，杯状细胞增多，分泌增加，可见灶性鳞化区域，在受损的粘膜面可发现散在的绿脓杆菌粘附(图2、3)，平均粘附菌数为 30.4 ± 3.51 (个/ 9 mm^2 , $\bar{x} \pm S$, 下同)。给药组鼠气管粘膜面受损情况明显轻于模型组鼠：纤毛细胞增多，纤毛恢复稠密直立状态，但局部仍有纤毛变细、弯曲和粘连现象，杯状细胞少见，未见成片刷细胞或鳞化的区域所形成的无纤毛缺损带(图4)，本组平均粘附菌数为 12.2 ± 2.39 ，与模型组鼠相比有明显减少，经统计学处理，二组间有显著差异($P < 0.01$)。

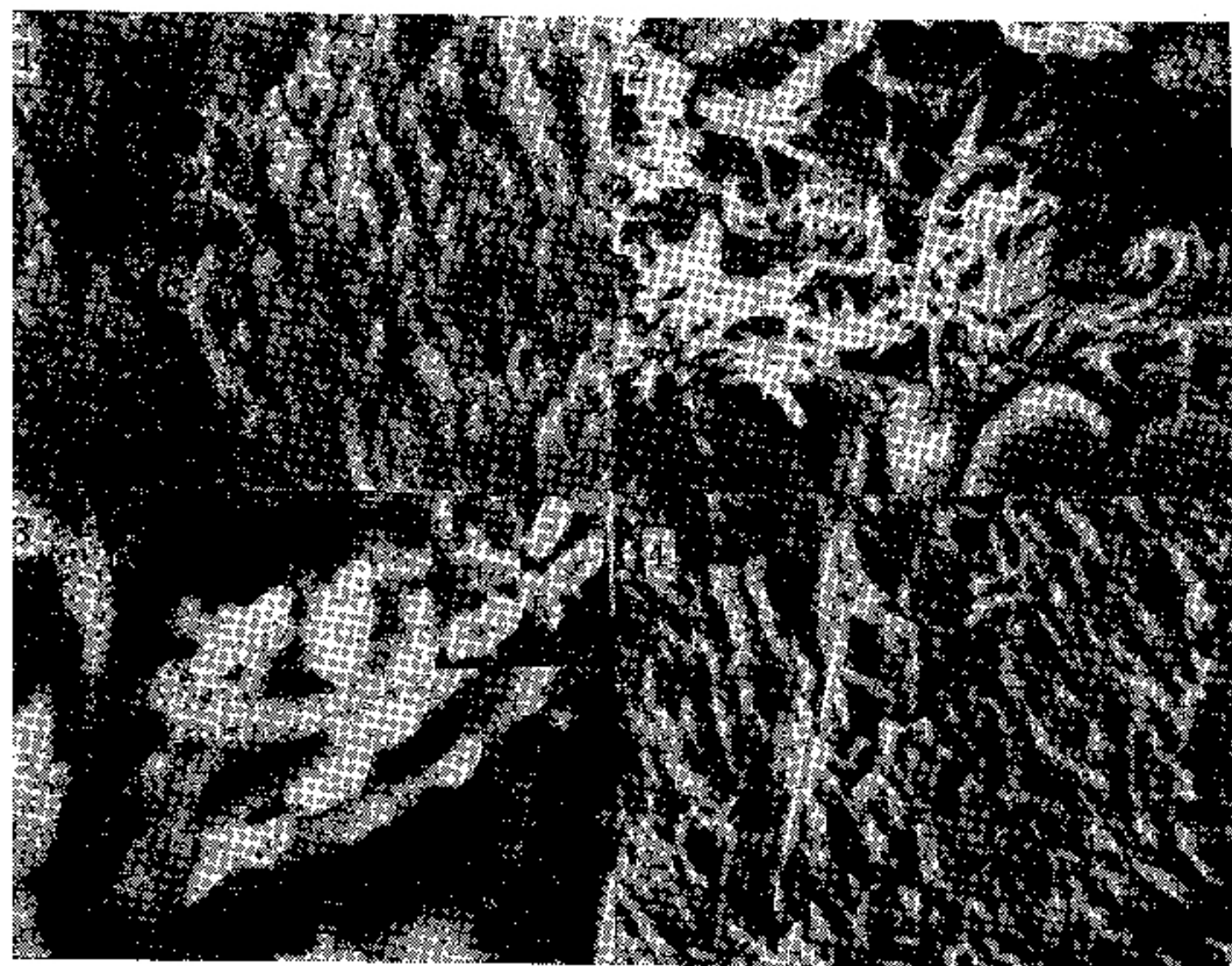


图1 正常对照组鼠气管粘膜，纤毛直立、稠密、无细菌粘附。 $\times 3000$

图2 慢支模型组鼠气管粘膜面纤毛细胞减少，纤毛变细、扭曲、倒伏、中断、脱落，杯状细胞增生，分泌亢进。 $\times 3000$

图3 慢支模型组鼠气管粘膜面杯状细胞增生、纤毛变性，有绿脓杆菌粘附。右上角为该菌气溶胶SEM形态。 $\times 5000$

图4 给药组鼠气管粘膜面纤毛增多，但仍有纤毛变细、弯曲、粘连的区域，未见细菌粘附。 $\times 3000$

讨 论

一、加味玉屏风散对呼吸道粘膜的抗细菌粘附作用：气管组织匀浆绿脓杆菌定量培养的结果提示，吸入含菌气溶胶后，健康鼠不易感染细菌，慢支模型鼠则很易感染，而给药组鼠则具有明显的抗感染作用。用扫描电镜观察进一步从形态学方面证实，健康鼠气管粘膜和纤毛形态结构正常，未见细菌粘附；模型组鼠经 SO_2 刺激可导致气管粘膜和纤毛广泛受损，有较多细菌粘附；给药组鼠尽管也经 SO_2 刺激，但其气管粘

膜和纤毛损伤明显减轻，粘附细菌数也明显减少。因此，我们认为，补益方药加味玉屏风散具有阻断绿脓杆菌在慢支模型鼠气管粘膜表面粘附的作用，而且从现代医药实验基础的角度反映出与中医“正气存内，邪不可干”、“邪之所凑，其气必虚”的理论是一致的。

二、关于加味玉屏风散抗呼吸道细菌粘附作用的机理问题：细菌粘附于宿主细胞上是感染发生的第一步，而粘附作用是细菌配体(粘附素)与粘膜受体的结合，受损的粘膜上皮因其受体暴露，有利于细菌的粘

附^(2,4)。我们的实验也证实细菌粘附与粘膜上皮受损密切相关。健康动物的气道粘膜屏障完整,由于粘液—纤毛装置的协调运动,使吸入的细菌微粒得以清除,而SO₂刺激后的气管粘膜受损,粘液—纤毛装置遭破坏,使吸入的细菌不仅不利于排出,反而促使其粘附于受损的粘膜上皮。加味玉屏风散体外无杀抑菌作用,体内能抗呼吸道细菌的粘附,其机理何在?除免疫调节之外,我们认为电镜所见值得注意:用药组动物气管粘膜的超微病变明显减轻,粘液—纤毛装置受损状况大为改善,细菌粘附数明显减少,提示该方剂还可能通过保护和恢复气道粘膜正常结构而起抗细菌粘附的作用,这与中医“扶正固本”、“扶正祛邪”的理论亦完全吻合,但其进一步机制则有待继续研究。

国外抗感染研究大多着眼于抗生素对细菌的作用,随着细菌粘附理论的进展,对粘附素的研究,亚致死量抗生素、封闭抗体的应用都受到重视。近年Robert等⁽⁵⁾对慢性阻塞性肺疾病患者通过“肺的营养”

研究,提高抗感染能力。我们认为以中医理论为指导,在慢性呼吸系统疾病患者的急性感染控制后,采用补益类方剂,持久稳定地恢复呼吸道的屏障功能,也是防治呼吸道感染的有效途径。

参 考 文 献

1. 沈永浩,等。加味玉屏风散对慢支小鼠下呼吸道病变的影响——病理形态学观察。浙江医科大学杭州分校学报 1991; 2:13。
2. Berkeley RCW, et al. Microbial adhesion to surface, 1st ed. London Ellis Horwood Ltd, 1980:19,47,473。
3. 沈永浩,等。气管活体原位固定法在鼠下呼吸道 SEM 样品制备中的应用。浙江医科大学杭州分校学报 1992; 1:22。
4. 梅木茂宣。呼吸器感染症にすける細菌性接着機構。呼吸 1988; 36(8):810。
5. Robert M, et al. Nutrition and COPD state of the art minireview. Chest 1984; 85(5):63s。

大疱性表皮松解萎缩型药疹治验1例报告

大兴安岭地区医院(黑龙江 165000) 冷廷芳 贺淑芬

病历简介 董某,男,13岁。全身皮肤潮红2d,疱疹1d。于1989年3月9日以药疹(大疱性表皮松解萎缩型)入院。入院前2天因结膜炎口服增效联磺片,次日全身皮肤潮红,继则出现高热,皮肤散在水疱和大疱,口腔糜烂,牙龈出血、坏死,双眼睑红肿。舌红苔黄厚,脉滑数。查体:体温38.7℃,皮肤广泛红斑,水疱,小如豆粒,大如鸡蛋,部分大疱表皮松解萎缩,尼氏征(+),疱壁易于推移,擦破后成大片糜烂,皮损面积约达90%。口腔、龟头、肛周皮肤粘膜糜烂溃疡。双肺中下野均可闻及干性罗音及中小水泡音及痰鸣音。尿常规:蛋白(++),白细胞1~2个,大便潜血(+).

治疗过程 应用足量皮质类固醇激素,氢化可的松300mg+5%葡萄糖500ml,每日1次静脉点滴,两种以上抗组织胺药、抗生素、维生素、能量合剂,调节水、电解质平衡。治疗4d,皮损无改善,遂配合中药治疗,投过敏煎加味,以疏风清热,解毒燥湿。药用柴胡10g 防风10g 五味子6g 乌梅15g 生甘草10g 蒲公英30g 连翘20g 紫草10g 生石膏50g 知母10g 土茯苓30g,每日1剂水煎服。同时皮肤大疱用无菌针头刺破,外用青黛散调香油,全身暴露以

无菌布罩盖。经以上处置皮肤无新疱疹出现,渗出减少,逐渐干燥。6日后仍发热,咳嗽,咳吐黄痰,纳少,泛酸,舌红,苔薄黄,脉滑数。两肺仍可闻干湿罗音。拟清热化痰兼解毒燥湿,方用千金苇茎汤加连翘10g,漏芦15g,桔梗10g,生石膏30g,黄芩15g,紫草15g,海螵蛸15g。进药5剂,发热、咳嗽、黄痰诸症悉平,肺罗音消失,疱疹干燥结痂,部分脱屑,仍有局部皮肤呈点片状糜烂、溃疡。拟益气养阴,固表托疮,投补中益气汤加金银花、连翘、蒲公英各20g。治疗34d,痊愈出院。

体会 磺胺致敏引起药疹时有发生,但此型药疹合并多器官、多脏器损害,皮损面积达90%。本例药疹发病前未服用或接触过其它药物,确系增效联磺片过敏所致,病情重笃,病程迁延。大剂量应用激素加重感染,长期应用抗生素又易双重感染,故宜中西医结合治疗。急性期疏风清热,解毒燥湿,兼治继发感染;恢复期益气养阴,固表托疮。过敏煎为过敏性皮炎,过敏性支气管哮喘常用有效方剂,但对这样严重过敏性疾患单独应用犹如杯水车薪,只有中西药同用,内外并治才能促其早日痊愈。对患者调护亦颇为重要,当嘱其多饮水,增加营养,忌食辛辣食物。

Ligusticum wallichii has the effects of increasing cerebral blood flow, accelerating the velocity of blood flow, dilating the spastic artery and decreasing peripheral arterial resistance. Both of them has the functions of decreasing the levels of thromboxane $B_2(TXB_2)$, β -thromboglobulin (β -TG) and platelet factor IV (PF_4) in plasma and increasing the concentration of 6-keto-prostaglandin $F_{1\alpha}$ (6 keto-PGF $_{1\alpha}$) in plasma, the effect of *Ligusticum wallichii* was significantly better than Aspirin ($P < 0.05$).

Key words transient ischemic attack, *Ligusticum wallichii*, Aspirin

(Original article on page 672)

Effect of Zea Pollinium on the Structure and Function of Erythrocyte Membrane in Rats

Guo Gui-wen(郭贵文), et al

Dept. of Sanitary Toxicology, Shanxi Medical College, Taiyuan(030001)

The aged-related changes of ATPase activity as well as the contents of MDA, sulfhydryl and sialic acid of erythrocyte membrane had been observed in many studies. In this paper, the effect of Zea pollinium on the structure and function of erythrocyte membrane in rats was observed. 12 male rats were divided randomly into pollen and control groups, the former was fed with diet containing 10% Zea pollinium; while no pollen for the latter. Results: After feeding for 10 weeks, the Na^+ , K^+ -ATPase and Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase activities were 311.5 ± 35.5 and 813.8 ± 43.4 nmolPi/mg protein $\cdot$ h respectively in pollen group, significantly higher than that of the control group (209.9 ± 23.9 and 624.9 ± 23.3 nmolPi/mg protein $\cdot$ h). The contents of sulfhydryl and sialic acid were also increased, but the content of MDA was markedly decreased with the use of Zea pollinium. These results indicated that Zea pollinium could inhibit formation of lipid peroxides, protect the structure and function of erythrocyte membrane from the injury of peroxide.

Key words Zea pollinium, erythrocyte membrane, ATPase, lipid peroxidation

(Original article on page 675)

Experimental Study of Modified Yu Ping Feng San(玉屏风散) on Antibacterial Adhesion of Tracheal Mucosa in Mice Model of Chronic Bronchitis

Shen Yong-hao(沈永浩), et al

Hangzhou Branch, Zhejiang Medical University, Hangzhou(310012)

In order to observe the influence of modified Yu Ping Feng San (MYPFS) on bacterial adhesion of tracheal mucosa, four experiments of bacterial adhesion in pneumatic tract were conducted, in which mice of chronic bronchitis model (CBM) induced by SO_2 stimulation and another health control group breathed in aerosol contained *Pseudomonas aeruginosa* under the same condition were observed. The results showed that, with scanning electron microscopy, ultrastructural lesions on tracheal mucosa surface and adhesive bacterial number in CBM administrated MYPFS were far less than that in CBM without MYPFS ($P < 0.001$), and quantitative culture of *Pseudomonas aeruginosa* with tracheal tissue homogenate was also markedly reduced. However, the tracheal mucosa of healthy control animals were intact, the adhesive bacteria were not found. It is suggested that bacterial adhesion was closely related to the injury of tracheal mucosa, and MYPFS could play a role of anti-bacterial adhesion through the protection of tracheal mucosa epithelium or reduction of pneumatic tract injury. These were quite in accordance with the theories of traditional Chinese medicine in "strengthening body resistance to eliminate the pathogenic factor", so that they provided experimental evidence for TCM tonics to prevent and treat infection of respiratory tract.

Key words experimental chronic bronchitis, bacterial adhesion, modified Yu Ping Feng San

(Original article on page 677)