

补肾化痰中药对慢性支气管炎小鼠 垂体—性腺—免疫轴的影响

王淑玲[△] 宗全和^{△△}

内容提要 目的:研究补肾化痰中药对慢性支气管炎(慢支)小鼠垂体—性腺—免疫轴的影响。方法:建立烟熏致小鼠慢支模型,并设正常对照组、补肾化痰中药大、小剂量组和桂龙咳喘宁组,测定各组小鼠血清睾酮(T)、促黄体生成素(LH)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-8(IL-8)水平和睾丸、附睾、胸腺的脏器指数,观察睾丸组织的显微结构。结果:小鼠慢支模型组与正常对照组比较血清T、IL-2水平和睾丸、附睾、胸腺的脏器指数均有明显下降,血清IL-8水平升高,睾丸出现萎缩性改变。补肾化痰中药组各项指标均有不同程度改善。结论:烟熏致慢支小鼠伴有生殖内分泌功能紊乱和免疫功能低下,补肾化痰中药通过纠正紊乱的性激素水平和睾丸的病理性改变以及提高机体的免疫力,对垂体—性腺—免疫轴起到调节作用。

关键词 慢性支气管炎 补肾化痰中药 雄激素 白细胞介素-2 白细胞介素-8

Effect of Chinese Bushen Huatan Drugs on Pituitary-Sex Gland-Immune Axis in Smoking Induced Chronic Bronchitis Mice WANG Shu-ling, ZONG Quan-he *Hebei Medical University, Shijiazhuang (050017)*

Objective: To study the effect of Chinese Bushen Huatan Drugs (BSHT, Chinese drugs for Kidney tonifying and phlegm resolving) on pituitary-sex gland-immune axis in smoking induced mice model of chronic bronchitis. **Methods:** Model mice were induced by smoking and divided into the model control group, the large dosage of BSHT group, the small dosage of BSHT group and the positive control group (treated by Guilong Kechuaning, a proved effective Chinese patent drug). A blank group of normal mice was also set for control. Serum levels of testosterone (T), luteotropic hormone (LH), interleukin-2 (IL-2), interleukin-8 (IL-8), visceral indexes of testis, epididymis and thymus were measured and microstructure of testis tissue was also observed. **Results:** As compared with those in the blank group, serum T, LH and IL-2 levels, and testis, epididymis and thymus indexes were all lower, and IL-8 level was higher in the model control group, moreover, atrophic change of testis was present in the model mice. These abnormal changes were all improved in the BSHT groups. **Conclusion:** Smoking induced mice model of chronic bronchitis, which may cause reproductive endocrine disturbance and immunosuppression. BSHT could modulate the pituitary-sex gland-immune axis through adjusting the disturbed sex hormone, improve the pathological change of testis and enhance the immunity of organism.

Key words chronic bronchitis, Kidney tonifying and phlegm resolving, testosterone, interleukin-2, interleukin-8

自从 1997 年 Besedovsky 首次提出体内存在免疫—神经—内分泌网络假说,神经—内分泌—免疫网络的存在越来越受到重视,机体各系统无不受其影响和调控,呼吸系统也是如此,50 岁以上人群的慢性支气管炎(以下简称慢支)发病率由 3%~5% 急剧上升至 10%~15%⁽¹⁾,可能与 50 岁以后神经、免疫、内分泌三

大系统的功能逐渐衰退有关⁽²⁾。中医学则认为属年老肾虚所致。本课题旨在通过观察补肾化痰中药对烟熏致小鼠慢支模型垂体—性腺—免疫轴功能失调的保护作用,为慢支“缓解期补肾”的治疗原则提供依据。

材料与方法

1 动物 昆明种健康雄性小鼠 60 只,体重 18~22g,由河南省实验动物中心提供。随机分为 5 组,每组 12 只,分别为正常对照组、慢支模型组、桂龙咳喘宁组、补肾化痰大剂量组、补肾化痰小剂量组。颗粒饲料

喂养,自由饮水,每周称体重两次。

2 药物与试剂 补肾化痰中药由何首乌 20g 淫羊藿 20g 蛇床子 10g 五味子 10g 菟丝子 10g 覆盆子 10g 款冬花 15g 紫菀 15g 等组成。水煎浓缩至每毫升相当于生药 3g(大剂量),每毫升相当于生药 1.5g(小剂量),中药饮片由河南中医学院第一附属医院中药房提供。桂龙咳喘宁胶囊(厦门桂龙药业集团有限公司产品,批号 1001024)用蒸馏水配成每毫升含药物 0.375g 的混悬液。鸿禧牌 84mm 烤烟型香烟,河南汝州卷烟厂生产,焦油量 17mg,烟气烟碱量 1.1mg。睾酮(T)、促黄体生成素(LH)放免试剂盒为天津德普生物技术和医学产品有限公司产品。白细胞介素- α (IL-2)、白细胞介素- γ (IL-8)为北京东亚免疫技术研究所产品。

3 分组、模型建立及用药 将 60 只小鼠,随机分成 5 组,每组各 12 只,即正常对照组、慢支模型组、桂龙咳喘宁组、补肾化痰大剂量组和补肾化痰小剂量组。参照文献^[3,4]方法并进行改良,建立烟熏致小鼠慢支模型。自制一个 550mm×500mm×450mm 的带盖玻璃烟熏箱,箱中放置 4 个自制的支架,将除正常对照组以外的其余 4 组小鼠分别装于自制的钢丝笼内,并置于 4 个支架上,香烟点燃后悬挂于支架下面,每个支架下面各悬挂 1 支香烟。为避免缺氧,箱盖的 4 个角各留一缝隙。每天 2 次,每次 30min,30 天后改为每天 1 次,烟量和烟熏时间不变,共计 60 天。正常对照组不进行烟熏,常规饲养,蒸馏水(每天 20ml/kg)灌胃,慢支模型组按上述方法造模并灌胃蒸馏水(每天 20ml/kg),补肾化痰中药小剂量(每毫升含生药 1.5g)组每天 20ml/kg(相当于成人常规剂量的 5 倍)灌胃,补肾化痰中药大剂量(每毫升含生药 3g)组每天 20ml/kg 灌胃,相当于成人常规剂量的 10 倍,桂龙咳喘宁组每天 20ml/kg 相当于成人常规剂量的 10 倍灌胃药物混悬液。均从烟熏的第 1 天开始灌药,均每天灌胃 1 次,连续 60 天。

4 血清 T、LH、IL-2、IL-8 的测定和组织病理切片的制作 各组小鼠均于烟熏第 60 天的次日上午眼球取血,离心提取血清后分装, -20℃ 保存,待放免测定。眼球取血后脱臼处死小鼠,迅速剖取睾丸、附睾、胸腺,并称重,计算其各自的脏器指数(脏器指数=脏器重量/体重×100%),睾丸称重后和气管、肺一同放入 4% 的中性甲醛固定液中,24h 后取材,脱水、石蜡包埋,常规切片,HE 染色。血清 T、LH、IL-2、IL-8 含量的测定按试剂盒说明书进行操作。

5 统计学处理 数据处理用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组均

数比较用 t 检验,等级资料比较采用 $Ridit$ 分析。

结 果

1 对烟熏小鼠慢支模型建立的评价 烟熏造模 3 周后,慢支模型组小鼠精神萎靡。烟熏 60 天后,慢支模型组小鼠气管和肺的病理切片显示:纤毛粘连、脱落、部分出现鳞化或呈乳头状增生,杯状细胞增多,淋巴细胞浸润,甚者出现“套袖状”改变,肺泡壁充血水肿,部分伴有肺气肿改变。表明小鼠慢支模型复制成功。

2 各组小鼠血清中 T、LH、IL-2、IL-8 的测定结果 见表 1。与正常对照组比较,慢支模型组血清 T、LH 水平明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),IL-2 降低($P<0.01$),IL-8 则明显升高($P<0.01$)。与慢支模型组比较,各给药组的血清 IL-8 水平均有明显下降($P<0.05$),T、IL-2 均有明显升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。补肾化痰大剂量组血清 LH 水平有所提高($P<0.05$),补肾化痰小剂量组和桂龙咳喘宁组 LH 水平变化不大($P>0.05$)。

表 1 各组小鼠血清中 T、LH、IL-2、IL-8 测定结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | T (mmol/L) | LH (IU/L) | IL-2 (μ g/L) | IL-8 (μ g/L) |
|---------|---------------|--------------|----------------------|----------------------|
| 正常对照 | 2.39±1.34 ** | 2.53±0.24 * | 10.99±2.92 ** | 0.39±0.07 ** |
| 慢支模型 | 0.95±0.85 | 2.29±0.21 | 6.36±1.74 | 0.57±0.18 |
| 桂龙咳喘宁 | 1.78±0.99 * | 2.37±0.16 | 7.97±1.57 * | 0.41±0.09 * |
| 补肾化痰大剂量 | 2.43±1.19 ** | 2.47±0.18 * | 10.37±2.74 ** | 0.42±0.12 * |
| 补肾化痰小剂量 | 2.19±1.42 * | 2.45±0.20 | 7.86±1.61 * | 0.43±0.09 * |

注:与慢支模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;每组动物数 12 只;下表同

3 各组小鼠睾丸、附睾及胸腺的脏器指数比较 见表 2。补肾化痰中药和桂龙喘宁均能使烟熏小鼠睾丸、附睾和胸腺的脏器指数提高,与慢支模型组比较差异有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

表 2 各组小鼠睾丸附睾及胸腺的脏器指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 脏器指数 | | |
|---------|--------------|--------------|--------------|
| | 睾丸 | 附睾 | 胸腺 |
| 正常对照 | 6.74±0.25 ** | 2.52±0.35 ** | 2.89±0.20 ** |
| 慢支模型 | 6.43±0.17 | 2.11±0.28 | 2.58±0.22 |
| 桂龙咳喘宁 | 6.61±0.23 * | 2.37±0.28 * | 2.82±0.26 * |
| 补肾化痰大剂量 | 6.68±0.21 ** | 2.47±0.31 ** | 2.86±0.36 * |
| 补肾化痰小剂量 | 6.60±0.19 * | 2.35±0.26 * | 2.80±0.27 * |

4 睾丸的显微结构 正常对照组小鼠的睾丸结构无异常,曲细精管中各级生精细胞和精子均正常(见图 1)。其余 4 组小鼠睾丸病理改变的分级参考文献^[5]并略做改变,共数 100 个曲细精管,计数轻度病变(见图 2)、中度病变(见图 3)曲细精管,求出各种病变

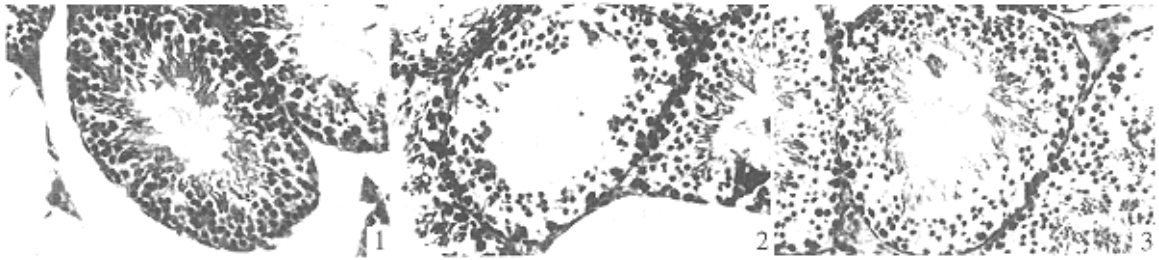


图 1 正常睾丸。曲细精管内各级生精细胞排列整齐,管腔内可见大量精子;HE×400 图 2 轻度病变的睾丸。曲细精管内各级生精细胞均存在,精子明显减少;HE×400 图 3 中度病变的睾丸。曲细精管内各级生精细胞明显减少,精子基本消失;HE×400

曲细精管的百分率并根据百分率分级。Ⅰ级:轻度病变的曲细精管>66%,或百分率>50%,而轻度加中度病变的曲细精管>75%;Ⅲ级:中度病变的曲细精管>66%,或百分率>50%,中度加轻度病变的曲细精管>75%,介于两者之间为Ⅱ级。各组小鼠睾丸的病变情况见表 3。经 Ridit 分析,补肾化痰中药和桂龙咳喘宁均对烟熏引起的小鼠睾丸萎缩有明显保护作用,以补肾化痰中药大剂量组效果最好,与慢支模型组比较差异有显著性($P<0.01$)。

表 3 各组小鼠睾丸病变情况比较 (只)

| 组别 | 基本正常 | Ⅰ级 | Ⅱ级 | Ⅲ级 |
|---------|------|----|----|----|
| 正常对照 | 12 | 0 | 0 | 0 |
| 慢支模型 | 0 | 1 | 5 | 6 |
| 桂龙咳喘宁 | 6 | 3 | 3 | 0 |
| 补肾化痰大剂量 | 8 | 3 | 1 | 0 |
| 补肾化痰小剂量 | 5 | 4 | 3 | 0 |

讨 论

慢支属于中医学“咳嗽”、“喘证”、“痰饮”范畴,其发病原因主要是肺脾肾三脏功能失调,多为本虚标实之证,脾肾气虚为本,痰饮阻肺为标。其治疗原则多为“缓解期补肾,发作期治肺”。本实验显示烟熏慢支小鼠不仅出现肺和气管的炎症性改变,而且还伴有生殖内分泌系统的损伤和免疫功能障碍,经用补肾化痰中药治疗后,支气管局部炎症减轻的同时各系统损害均明显减轻,可见慢支是以肺部病变为主,伴有多器官功能异常的全身性疾病。补肾化痰中药可作用于慢支小鼠垂体—性腺—免疫轴的多个环节。补肾纳气,通过调整生殖内分泌系统直接影响呼吸系统。烟熏所致慢支模型小鼠伴有不同程度的睾丸萎缩和血中睾酮水平下降,支气管炎症越重,睾丸的病理改变也越重,血清睾酮水平下降也越显著,反之亦然。研究资料表明,吸烟可以刺激气道平滑肌细胞(ASMC)释放内皮素(ET-1)^[6],而 ET-1 可显著抑制间质细胞睾酮的基础分泌^[7],这可能是慢支模型组小鼠 T 下降的原因之一。

补肾化痰中药能使水平低下的睾酮显著升高,使睾丸的病理损害明显减轻,支气管炎性病变也同时得到改善。性激素水平低下可能是呼吸系统慢性炎症反复发作的原因之一。补肾益气,通过调整内分泌而影响免疫功能。一般认为,雄激素是免疫抑制剂,对胸腺具有抑制作用,但生理情况下,性激素对于胸腺功能的维持又是不可缺少的^[8]。本研究出现的胸腺轻度萎缩和 IL-2 的显著降低,可能与睾酮水平低下,导致未成熟的 T 细胞增多有关。补肾化痰中药在使睾酮升高的同时,也能提高 IL-2 水平、降低 IL-8 的水平,从而对慢支起到扶正祛邪的治疗作用。

补肾化痰中药还可以通过补肾精、益脑髓以调节下丘脑—垂体功能,这可能与促进 LH 分泌及影响神经肽类物质等有关。它对垂体—性腺—免疫轴的调节是多靶点、多方位的,其作用机制还有待进一步探讨。

参 考 文 献

1. 李建生,李素云,袁效涵,等. 常见老年呼吸系统疾病现代治疗. 北京:中国中医药出版社,1998:33.
2. 史轶懿. 协和内分泌和代谢学. 北京:科学出版社,2000:1758.
3. 任 勃,陶庆丰,甘 萍,等. 慢性支气管炎动物模型的复制及病理形态学观察. 天津医药 1995 23(2):102—103.
4. 王伟明,佟喜勤,赵海波,等. 慢支颗粒剂的抗炎作用及对慢支模型小鼠病理形态的影响. 黑龙江医药 1998 (6):326—327.
5. 柴可夫,李 慧,季春莲,等. 益精方对腹腔注射环磷酰胺大鼠性腺组织的影响. 中医杂志 2001 42(6):366—368.
6. 方秋红,赵鸣武,任光民,等. 香烟烟雾提取物对气道平滑肌细胞增殖及内皮素释放的影响. 中华医学杂志 1997 77(3):201—204.
7. 周 琴,徐斯凡,郑月慧,等. 内皮素对大鼠间质细胞睾酮生成的影响. 中国男科学杂志 2001 15(3):160—162.
8. 谢启文. 现代神经内分泌学. 上海:上海医科大学出版社,1999:363—364.

(收稿 2002-01-11 修回 2002-02-18)