

鲜鱼腥草提取物对脂多糖所致小鼠肺部炎症的影响

洪佳璇¹,汪柏尧¹,高雅文¹,冯丙江¹,莫金海¹,王砚²,姚红伊²,徐小青²,赵玮²,唐法娣² (1.杭州市萧山区中医院,杭州 311201; 2.浙江大学医学院呼吸药物研究实验室,杭州 310058)

摘要:目的 研究鲜鱼腥草提取物对脂多糖所致小鼠肺部炎症的影响。方法 采用 ICR小鼠鼻滴脂多糖 (LPS)建立肺部炎症模型,检测小鼠支气管肺泡灌洗液 (BALF)中炎症细胞数和病理学观察肺组织炎症程度。结果 鲜鱼腥草提取物 40 ~ 400 mg·kg⁻¹可减少小鼠 LPS所致的 BALF中白细胞增高,还可减轻肺组织病理炎症细胞浸润。结论 鲜鱼腥草提取物可以减轻 LPS所致的小鼠肺部炎症反应,减少炎症细胞浸润。提示鲜鱼腥草提取物对脂多糖所致小鼠肺部炎症有抑制作用。

关键词:鱼腥草提取物;脂多糖;肺部炎症

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2008)05-0376-03

基金项目:浙江省中医药管理局课题 (2004C138);杭州市科技局医学重点专科专病资助项目 (2005633Q29)

作者简介:洪佳璇,女,主任医师 Tel: (0571) 82722701 E-mail: 616hxx@163.com

HONG Jia-xuan¹, WANG Bo-yao¹, GAO Ya-wen¹, FENG Bing-jiang¹, MO Jin-hai¹, WANG Yan², YAO Hong-yi², XU Xiao-qin², ZHAO Wei², TANG Fa-di² (1. Hangzhou Xiaoshan Hospital of TCM, Hangzhou 311201 China; 2. Laboratory of Respiratory Drugs Research, College of Medical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effect of fresh herba houttuyniae extract on lipopolysaccharide (LPS)-induced lung inflammation in mice. **METHODS** ICR mice were injected with LPS through nose to establish lung inflammation model. The number of inflammatory cells in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was examined, and the degree of the inflammation of lung tissue by pathology was observed. **RESULTS** 40 ~ 400 mg·kg⁻¹ of Fresh herba houttuyniae extract reduced the increase of LPS-induced leucocytes in BALF in mice, and alleviated the infiltration of inflammatory cells in pathological lung tissue. **CONCLUSION** Fresh herba houttuyniae extract can alleviate LPS-induced lung inflammation, and reduce the infiltration of inflammatory cells, which show that fresh herba houttuyniae extract inhibits the LPS-induced lung inflammation in mice. **KEY WORDS:** Herba houttuyniae extract; lipopolysaccharide; lung inflammation

鱼腥草为三白草科蕺菜属植物蕺菜 (*Houttuynia cordata* Thunb.)之全草,主要含挥发油及黄酮类成分。挥发油主要成分为鱼腥草素(即癸酰乙醛),黄酮类化合物主要有槲皮素、异槲皮苷、槲皮苷、瑞诺苷、金丝桃苷和芸香苷。癸酰乙醛是鱼腥草挥发油中的主要抗菌物质,鱼腥草中的各种黄酮类成分具有显著的抗炎作用^[1]。尽管鱼腥草注射液和合成鱼腥草素及其复方制剂已广泛应用于上、下呼吸道疾病,如急性慢性支气管炎、肺炎、支气管肺炎、哮喘等,但鱼腥草提取物的肺部抗炎作用还不是很清楚,本研究拟对此进行探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

健康雄性 ICR 小鼠,体重 (20 ± 2) g,由浙江省实验动物中心提供 [SCXK(浙) 2003 - 0001]。鲜鱼腥草提取物:含挥发油和黄酮类化合物,批号 20041231,杭州市萧山区中医院。鱼腥草素钠(阳性药物):上海天平胃舒平制药厂 批号: 040902。LPS (脂多糖, *Esherichia coli* O111: B4,美国 Sigma 公司)。

1.2 方法

LPS 鼻腔滴入诱发小鼠肺部炎症模型的制作:取健康 ♂ ICR 小鼠,用移液枪以 10 mg·kg⁻¹ 鼻腔滴入 6 g·L⁻¹ LPS 生理盐水溶液,分别制备供支气管肺泡灌洗和病理组织学检查用模型。将小鼠随机分为正常对照组、模型组、鲜鱼腥草提取物 400, 200 和 40 mg·kg⁻¹ 组,阳性药物为鱼腥草素钠 150 mg·kg⁻¹,后五组小鼠根据体重以 10 mg·kg⁻¹ 剂量鼻腔滴入 6 g·L⁻¹ 浓度的 LPS 液,连续 3 d。自第一天鼻腔滴入起,模型组用生理盐水灌胃,后四组按鲜鱼腥草提取物不同剂量及鱼腥草素钠剂量灌胃,灌胃量为 30 mL·kg⁻¹,连续灌胃 5 d。

小鼠 BALF 白细胞计数: LPS 鼻腔滴入诱发的小鼠肺部炎症模型,至第 6 天行股动脉放血处死,分离并暴露小鼠气管并插管,以生理盐水 50 mL·kg⁻¹ 灌洗,收集支气管肺泡灌洗液 (BALF),BALF 收集后以 1 500 r·min⁻¹ 离心 10 min,将细胞沉淀溶于 0.2 mL 生理盐水中混匀,用白细胞计数液倍比稀释后进行白细胞计数。

病理组织学检查: LPS 鼻腔滴入诱发的小鼠肺部炎症模型,至第 6 天行股动脉放血处死,取气管与肺组织置于 10% 甲醛固定,漂洗、脱水、透明和石蜡包埋做病理切片、HE 染

色。病理切片观察:根据炎症细胞浸润情况分“ -、+、++、+++”四个等级。“ - ”未见明显炎症细胞浸润,“ + ”少量炎症细胞浸润,“ +++ ”较多的炎症细胞浸润,充血明显有脓肿形成,“ ++ ”介于“ + ”和“ +++ ”之间。

统计学处理:计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用两组间 *t* 检验;等级资料采用 *u* 检验。

2 结果

2.1 鲜鱼腥草提取物对 LPS 致小鼠肺部炎症 BALF 中白细胞数增高的影响

模型组小鼠 BALF 中白细胞计数高于正常对照组,两者具有显著性差异 (*P* < 0.01),鲜鱼腥草提取物各给药组 BALF 中白细胞计数低于模型组,其中鲜鱼腥草提取物 200 mg·kg⁻¹ 和 400 mg·kg⁻¹ 与模型组比较显著减少,表明鲜鱼腥草提取物对 LPS 致小鼠肺部炎症时 BALF 中白细胞数增高有抑制作用。见表 1。

表 1 鲜鱼腥草提取物对 LPS 致小鼠 BALF 中白细胞数增高的影响

Tab 1 Effect of fresh herba houttuyniae extract on the LPS-induced increase of leucocytes in BALF in mice

组别	<i>n</i>	白细胞计数 / × 10 ⁸ · L ⁻¹
nomal group	10	1.28 ± 0.27
model group	32	5.85 ± 3.85 ¹⁾
fresh herba houttuyniae extract 40 mg·kg ⁻¹	15	4.97 ± 2.97
fresh herba houttuyniae extract 200 mg·kg ⁻¹	18	2.47 ± 1.80 ²⁾
fresh herba houttuyniae extract 400 mg·kg ⁻¹	24	3.07 ± 1.48 ²⁾
Sodium Houttuynifonate	17	4.63 ± 1.66

注: *t* 检验:与正常组比较, ¹⁾ *P* < 0.01;与模型组比较, ²⁾ *P* < 0.01
Note: *t* test: ¹⁾ *P* < 0.01, vs nomal group, ²⁾ *P* < 0.01 vs model group

2.2 鲜鱼腥草提取物对 LPS 致病理组织学炎症细胞浸润的影响

光镜观察到模型组肺内毛细血管扩张充血,部分肺组织内支气管周围,血管周围及肺泡间隔中可见嗜酸性粒细胞、嗜中性粒细胞浸润,亦有少量淋巴细胞及单核细胞出现,鲜鱼腥草提取物组炎症反应比模型组明显减轻,炎症细胞浸润减少。病理切片炎症细胞浸润分级观察并经统计,模型组小鼠肺部

炎症程度明显高于正常组,鲜鱼腥草提取物 40 ~ 400 mg·kg⁻¹可使肺部炎症程度比模型组明显减轻。表明鲜鱼腥草提取物对 LPS所致的肺部炎症细胞浸润有抑制作用。见表 2。

表 2 鲜鱼腥草提取物对 LPS致肺组织病理炎症细胞浸润的影响

Tab 2 Effect of fresh houttuyniae extract on the LPS-induced infiltration of inflammatory cells in pathology of lung tissue

组别	n	炎症程度					U值
		+++	++	+	-		
nomal group	10	0	0	2	8		
m odel group	9	6	3	0	0	3.89 ¹⁾	
fresh herba houttuyniae extract 40 mg· kg ⁻¹	9	3	1	5	0	2.02 ³⁾	
fresh herba houttuyniae extract 200 mg· kg ⁻¹	10	1	3	6	0	2.99 ²⁾	
fresh herba houttuyniae extract 400 mg· kg ⁻¹	10	1	0	8	1	3.41 ²⁾	
Sodium Houttuynfonate	10	1	2	7	0	3.13 ²⁾	

注: u检验:与正常组比较,¹⁾ P < 0.01;与模型组比较,²⁾ P < 0.01,³⁾ P < 0.05(u < 1.96, P > 0.05; 1.96 < u < 2.58, P < 0.05; u > 2.58, P < 0.01)

Note: u-test ¹⁾ P < 0.01 vs normal group; ²⁾ P < 0.01, ³⁾ P < 0.05 vs model group(u < 1.96, P > 0.05; 1.96 < u < 2.58, P < 0.05; u > 2.58, P < 0.01)

3 讨论

脂多糖通常用于复制与细菌感染有关的实验动物模型,并根据给药途径与剂量不同可导致急性肺损伤或各种慢性炎症发生。脂多糖尾静脉注射(5 mg· kg⁻¹)也可制急性肺损伤模型^[2],但其经血液循环会引起全身性反应。气管内注入 LPS(2 g· L⁻¹)可制备大鼠慢支模型,气管支气管及肺组织病理学和 BALF细胞学改变符合人类该病的病理表现^[3]。本实验中,采用鼻腔滴入 LPS(10 mg· kg⁻¹)探索建立小鼠肺部炎症模型,检测小鼠 BALF中炎症细胞数的变化和观察病理学改变。研究表明模型组 BALF中白细胞计数比正常对照组明显升高(表 1),肺部病理组织学检查模型组小鼠肺内毛细血管扩张充血,部分肺组织内支气管周围,血管周围及肺泡间隔中可见嗜酸性,嗜中性粒细胞浸润,亦有少量淋巴细胞及单核细胞出现,病理切片炎症细胞浸润分级观察并经统计,模型组小鼠肺部炎症程度明显高于正常组(P < 0.01,表 2)。说明鼻滴

LPS制作小鼠肺部炎症模型是可行的。

LPS是革兰阴性菌细胞壁的最外层结构,由 o特异性多糖侧链,核心寡聚和类脂 A组成。类脂 A是 LPS的“毒力中心”,在生物活性中起关键作用。LPS最重要的靶细胞单核 / 巨噬细胞被其激活后释放各种如 TNF-α 等前炎症因子与抗炎炎症介质^[4-5]。TNF-α 等其他细胞因子释放后导致继发性呼吸上皮细胞炎症因子产生致使炎症加重^[5]。因此,笔者采用 LPS鼻腔滴入建立小鼠肺部炎症模型,观察鲜鱼腥草提取物对 LPS所致肺部炎症的作用,表明鲜鱼腥草提取物对 LPS致小鼠肺部炎症时 BALF中白细胞数增高有抑制作用。病理切片观察鲜鱼腥草提取物组炎症反应比模型组明显减轻,炎症细胞浸润减少,表明鲜鱼腥草提取物 40 ~ 400 mg· kg⁻¹对 LPS所致的肺部炎症细胞浸润有抑制作用。

综上所述,鲜鱼腥草提取物对脂多糖所致小鼠肺部炎症有抑制作用。

REFERENCES

[1] WANG Y S, DENG W L, XUE C S. Pharmacology and Application of Chinese Materia Medica (中药药理与应用) [M]. Beijing: People Health Publishing House, 1998: 738-744.

[2] XU T, ZENG B X, LI X W. The Role of Neutrophil Collagenase in Endotoxic Acute Lung Injury[J]. J Huangzhong Univ Sci Technol (Med Sci) (华中科技大学学报:医学英德文版), 2004, 24 (2): 196-198.

[3] MA N, CUI D J, LIANG Y J, et al. Establishment of rat chronic bronchitis model by intratracheal instillation or lipopolysaccharide [J]. Basic Med Sci Clin(基础医学和临床), 2000, 20 (4): 87-90.

[4] ZHOU H, DING G F, LIU W, et al. Lipopolysaccharide could be internalized into human peripheral blood mononuclear cells and elicit TNF-alpha release, but not via the pathway of toll-like receptor 4 on the cell surface[J]. Cell Mol Immunol, 2004, 1 (5): 373-377.

[5] FREEDMAN S D, WEINSTEIN D, BLANCO P G, et al. Characterization of LPS-induced lung inflammation in cfltr-/- mice and the effect of docosahexaenoic acid[J]. J Appl Physiol, 2002, 92 (5): 2169-2176.