基础研究 文章编号:0253-3626(2009)10-1371-03

地塞米松对脂多糖致大鼠急性肺损伤的治疗作用

李 敏,张 程,张湘燕
(贵州省人民医院呼吸内科,贵阳 550002)

【摘 要】目的:探讨急性肺损伤(Acate lung injury,ALI)发生早期给予地塞米松的治疗作用。方法:大鼠尾静脉注射 5 mg/kg 脂多糖(Lipopolysacharide,LPS),造成 ALI 模型。于注射 LPS 1 h 后,腹腔注射地塞米松(10 mg/kg),1 h 后采集标本,分别测定血清蛋白含量、肺泡灌洗液(Broncho alveolar lavage fluid, BALF)中蛋白、TNF-α、IL-8、ICAM-1 的含量,计算肺通透指数(Lung alveolar permeability index, LPI)、肺湿/干重比,检查肺组织病理学变化情况。实验平行设置生理盐水对照组和 LPS 损伤组。结果:肺组织病理切片检查表明,LPS 组肺间质水肿、出血,大量炎性细胞浸润,而地塞米松组肺组织损伤显著轻于 LPS 组。地塞米松组肺湿/干重比、BALF 中 PMN 比、LPI 均显著低于 LPS 组 ($P<0.05$),与正常对照组相比没有显著差异。LPS 组 BALF 中 TNF-α、IL-8、ICAM-1 浓度高于正常对照组($P<0.05$),而地塞米松组与对照组相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:在 ALI 发生早期给予大剂量地塞米松,可以减轻肺组织损伤,减少肺组织液渗出和中性粒细胞聚集。

【关键词】急性肺损伤;糖皮质激素;地塞米松;炎症;脂多糖
【中国图书分类法分类号】R563.8 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-09-16

Therapeutic effect of dexamethasone on acute lung injury in rats induced by lipopolysacharide

LI Min, et al
(*Department of Respiratory Diseases, Guizhou Provincial People's Hospital*)

【Abstract】*Objective*: To evaluate the therapeutic effect of dexamethasone (Dex) on acute lung injury (ALI) induced by lipopolysacharide (LPS). *Methods:* To form ALI model in rats, 5 mg/kg of LPS were injected into rats by tail vein. After 1 h, rats were given intraperitoneal Dex injection with a dose of 10 mg/kg. One hour later, samples were collected from rats to measure lung permeability, wet-to-dry weight ratio, TNF-α, IL-8 and ICAM-1 in broncho alveolar lavage fluid (BALF), and lung histopathology was also performed. Besides Dex group, control group receiving traperitoneal normal saline injection and LPS injury group were also set in the experiment. *Results*: Lung injury in rats received Dex treatment was significantly attenuated compared with that in LPS group by histopathology. In Dex group, wet-to-dry weight ratio, PMN count, lung alveolar permeability index were significantly decreased compared with those in LPS group. No significant difference was shown between control and Dex groups in parameters mentioned above. The levels of TNF-α, IL-8 and ICAM-1 in BALF of LPS group were significantly higher than that of control group. Meanwhile, no significant difference was shown between Dex and control groups at the concentrations of TNF-α, IL-8 and ICAM-1 in BALF. *Conclusion*: Dexamethasone can attenuate lung tissue damage and inhibit neutrophil migration to the lung and bronchoalveolar vascular leakage in the early period of ALI induced by LPS.

【Key words】Acute lung injury; Glucocorticoids; Dexamethasone; Inflammation; Lipopolysacharide

急性肺损伤(Acute lung injury,ALI)是机体在遭受严重感染、创伤、休克等打击后出现的一种以肺泡毛细血管损伤导致肺水肿和微肺不张为病理特征的肺部炎症与通透性增加综合征,是临床常见的危重症[1,2]。目前临床上还缺乏治疗 ALI 的有效手段。糖皮质激素因具有较强的抗炎作用,临床上普遍用于治疗 ALI,但其治疗效果一直存在争议。因此,对糖皮质激素治疗 ALI 的作用进行全面深入的研究评价具有重要的现实意义。在这类激素中,地塞米松是普遍使用的药物。在评价其治疗 ALI 效果的动物实验中,一般多采用损伤前预防性给药或同步给药[3-6]。而这类预防性给药或同步给药的研究与临床治疗急性肺损伤的实际情况差别较大。从临床治疗的角度考虑,本研究采用脂多糖(Lipopolysacharides,LPS)诱导大鼠急性肺损伤后再给予地塞米

作者介绍:李 敏(1967-),女,副主任医师,硕士,
研究方向:急性肺损伤诊断与治疗。

基金项目:贵州省优秀教育科技人才省长专项资金资助项目(编号:黔省专合字 2006-65 号)。

松,观察其对 ALI 的治疗作用。

1 材料和方法

1.1 试剂

脂多糖购自 Sigma 公司; TNF-α、IL-8、ICAM-1 检测试剂盒为美国 ADL 公司产品;BCA 蛋白定量试剂盒购自江苏碧云天生物技术研究所;地塞米松为临床使用注射剂。

1.2 实验动物及分组

健康雄性 SD 大鼠,体重 180~230 g,鼠龄 10 周,由第三军医大学附属医院实验动物中心提供,合格证号 SCXK(渝)2007-0005。将大鼠随机分为生理盐水对照组(Control)、脂多糖损伤组(LPS 组)、地塞米松干预组(Dex 组)。大鼠经 10%水合氯醛腹腔注射麻醉。对照组:尾静脉注射生理盐水,2 h 后采集标本。LPS 组:尾静脉注射 LPS 5 mg/kg,于 2 h 后采集标本。(3)Dex 组:尾静脉注射 LPS 5 mg/kg 1 h 后,腹腔注射地塞米松 10 mg/kg,1 h 后采集标本。

1.3 标本收集和指标测定

各组大鼠在预定时间麻醉后,打开腹腔,从下腔静脉抽取 5 ml 血,用于制备血清,分装后置于 -80℃冰箱中保存。用于测定血清中蛋白含量。打开胸腔,切开气管,经气管插入 12 号针头行右肺肺泡灌洗,每次 2 ml,共 3 次,总回收量约为 3.6 ml。显微镜下计数肺泡灌洗澡液 (Broncho alveolar lavage fluid,BALF) 中多形核白细胞 (Polymorphonuclear leucocyte,PMN)百分比。BALF 离心后,取上清分装,保存于 -80℃冰箱。分别用于蛋白含量测定和 TNF-α、IL-8、ICAM-1 测定。计算肺泡通透指数(BALF 蛋白/血浆蛋白)。取出左上肺,称取湿重后,置于 80℃烤箱中烤至恒重,称干重,计算湿/干重比。取左下肺,经 10%中性福尔马林固定,石蜡包埋切片,HE 染色,行病理学检查。

1.4 统计学处理

正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布的计量资料以中位数(四分位间距)表示。采用方差分析或秩和检验(Kruskal-Wallis 法);多个样本间两两比较采用 q 检验(Newman-Keuls 法)或秩和检验(Nemenyi 法)。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肺组织病理学检查

LPS 损伤组:肺间质水肿,弥漫性出血,微血管内有血栓形成,可见大量炎性细胞浸润;Dex 组:肺泡膨胀,肺组织各种渗出明显减少,炎性细胞显著减少;生理盐水对照组:肺间质有轻度的炎性细胞浸润(图 1)。

2.2 肺湿/干重比和 BALF 中 PMN 比、肺泡通透指数的变化

LPS 组肺湿/干重比、BALF 中 PMN 比、LPI 均显著高于对照组和地塞米松组。地塞米松组肺湿/干重比和 BALF 中 PMN 比与对照组相比,差异无统计学意义,而 LPI 则介于对照组和 LPS 组之间(表 1)。

2.3 肺泡灌洗液 TNF-α、IL-8、ICAM-1 浓度变化

LPS 组 BALF 中 TNF-α、IL-8、ICAM-1 浓度明显高于正常对照组,但地塞米松干预组与 LPS 组比较,差异无显著性(表 2)。

3 讨 论

ALI 是临床急危重症治疗的难点,多年来虽取得了相当的研究进展,但目前仍然缺乏有效的治疗手段。利用急性肺损伤动物模型开展相关研究是目

表 1 肺湿/干重比和 BALF 中 PMN 比、肺泡通透指数的变化($\bar{x} \pm s$)

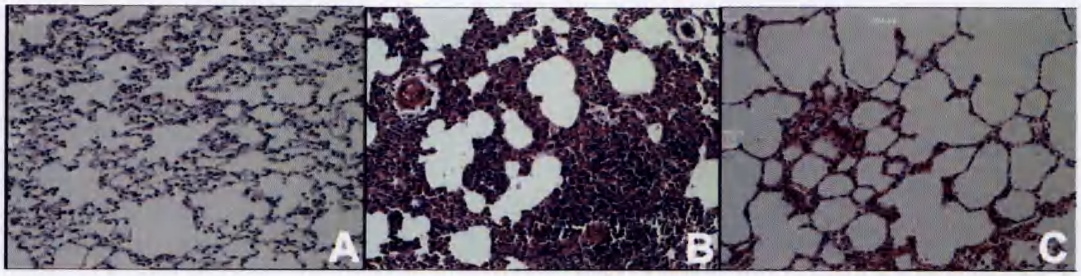
组别	n	湿重/干重	n	PMN 比 (%)	n	LPI($\times 10^{-3}$)
对照	6	4.35 ± 0.20	6	0.42 ± 0.66	5	1.83 ± 0.25
LPS	8	4.68 ± 0.16[a]	5	2.60 ± 0.55[a]	5	3.22 ± 0.54[a]
Dex	6	4.42 ± 0.17	6	0.33 ± 0.52	6	2.56 ± 0.53
F		6.90		25.83		11.28

注:[a] 与 control、Dex 组比较,$P<0.05$

表 2 BALF 中 TNF-α、IL-8、ICAM-1 浓度变化($\bar{x} \pm s$ 或中位数及四分间距)

组别	n	TNF-α (pg/ml)	n	IL-8(pg/ml)	n	ICAM-1(pg/ml)
对照	6	2.33 ± 2.18	5	11.68 ± 5.38	5	2.27(1.40)
LPS	6	12.97(18.98)[a]	6	55.69 ± 52.83[a]	6	29.77(130.76)[a]
Dex	5	50.05 ± 67.21	6	29.50(36.18)	6	9.96 (9.43)
H		9.84		7.21		7.91

注:[a] 与 control、Dex 组比较,$P<0.05$



A. 对照组　　B. LPS 损伤组　　C. Dex 组

图 1 大鼠肺组织病理学检查结果（HE 染色）

前探讨 ALI 发病机理及治疗方法的主要途径。在本研究中，我们采用 LPS 在大鼠上复制 ALI 模型。结果表明：大鼠尾静脉注射 LPS（5 mg/kg）2 h 后，大鼠肺间质水肿明显，肺泡腔内可见大量细胞浸润，血浆蛋白渗出增多，肺泡灌洗液中 TNF-α、IL-8、ICAM-1 浓度增加。上述病理学改变符合 ALI 特征。

急性肺损伤的本质是炎症反应[1]，因此抗炎成为治疗 ALI 的积极策略。糖皮质激素能通过抑制 NF-kB 的活性，减弱炎症介质的转录表达，从而减轻炎症反应[7]。基于糖皮质激素具有较强的抗炎作用，因而临床上常用于治疗 ALI 或 ARDS，但在治疗应用上一直存在争议。国外学者认为预防性给予糖皮质激素对治疗 ALI 无益[8,9]，而尝试将其用于 ALI 的晚期治疗，并取得了初步的临床效果[1,2]。国内多数临床前研究均关注于预防给药的效果，且实验结果表明了预防性给予大鼠地塞米松可减轻肺损伤[3-6]。但这类预防性给药的研究对于临床治疗 ALI 来说，参考价值有限。因此，近年来国内学者开始重视ALI 发生后糖皮质激素治疗作用的研究评价[10]，但这类研究报道较少。开展 ALI 发生后糖皮质激素治疗时机和作用的研究对于指导 ALI 的临床治疗具有积极的意义。

在本研究中，ALI 发生后 1 h 给予地塞米松干预，可以使 BALF 中蛋白和细胞渗出减少，肺水肿程度和病理改变减轻，表明在 ALI 发生早期给予地塞米松治疗可以减轻肺损伤症状和中性粒细胞聚集。在实验中观察到对照组在注射生理盐水后肺组织有轻度的炎性细胞浸润，与文献[10]就此的报道一致。同时，我们的实验结果表明 BALF 中 TNF-α、IL-8、ICAM-1 浓度没有明显改变。糖皮质激素具有较强的抗炎作用，早期使用应该能减轻 ALI 炎症[11]。但本实验中没有观察到炎症介质 TNF-α、IL-8 有明显变化。这一情况可能与本研究中地塞米松剂量、干预时机及观测时间有关。鉴于当前 ALI 有效治疗手段的匮乏和地塞米松所表现出的治疗 ALI 的潜在价值，有必要对 ALI 发生后给予糖皮质激素类药物治疗的策略和效果开展更全面、更深入的研究与评价。

参 考 文 献

[1] Ware L B, Matthay M A. The acute respiratory distress syndrome [J]. N. Engl. J. Med., 2000, 342(18): 1334-1349.

[2] Brower R G, Ware L B, Berthiaume Y, et al. Treatment of ARDS [J]. Chest, 2001, 120(4): 1347-1367.

[3] 阎锡新，李宏林，刘丽娟，等. 不同原因致大鼠急性肺损伤炎性因子水平及地塞米松干预效果的差异[J]. 中国病理生理杂志，2006，22(4)：734-737.

[4] 陈水珍，傅水桥，李立斌. 地塞米松对脂多糖诱导急性肺损伤大鼠的保护作用[J]. 全科医学临床与教育，2007，5(4)：308-310.

[5] 何新华，李春盛，苏锡铭，等. 已酮可可碱及地塞米松对内毒素致急性肺损伤的保护作用[J]. 中华急诊医学杂志，2001，10(4)：241-243.

[6] 焦光宇，张晓晔，刘春利，等. 激素对急性肺损伤大鼠 BALF 及血清 SP-A 的影响[J]. 中国医科大学学报，2007，36(5)：520-522.

[7] Tak P P, Firstein G S. NF-kappa B: a key role in inflammatory diseases[J]. J. Clin. Invest, 2001, 107(1): 7-11.

[8] Bernard G R, Luce J M, Sprung C L, et al. High-dose corticosteroids in patients with the adult respiratory distress syndrome[J]. N. Engl. J. Med, 1987, 317(25): 1565-1570.

[9] Luce J M, Montgomery A B, Marks J D, et al. Ineffectiveness of high-dose methy lprednisolone in preventing parenchymal lung injury and improving mortality in patients with septic shock[J]. Am. Rev. Respir. Dis., 1988, 138(1): 62-68.

[10] 林　琴，王广发，汤秀英，等. 地塞米松对内毒素致急性肺损伤大鼠肺的保护作用[J]. 北京大学学报（医学版），2006，38(4)：393-396.

[11] 李文华，宋志芳. 糖皮质激素在急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征应用中的新进展[J]. 中华急诊医学杂志，2005，14(5)：435-437.

（责任编辑：关蕴良）