DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.06.024
第25卷第6期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 6
522 2003年3月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Mar. 2003

论著

文章编号:1000-5404(2003)06-0522-03

三七总甙对大鼠肺纤维化过程中血浆MIP-1α、MCP-1含量的影响

李学军[1],崔社怀[2] (第三军医大学:[1]附属西南医院呼吸内科,重庆 400038;[2]附属大坪医院野战外科研究所呼吸内科,重庆 400042)

提 要:目的 初步探讨三七总甙(PNS)对肺纤维化大鼠血浆中MIP-1α、MCP-1的抑制作用及其机制。方法 应用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定各实验组大鼠不同时相点血浆中MIP-1α、MCP-1含量的动态变化。结果 肺纤维化模型组各时相点血浆中MIP-1α、MCP-1水平均高于三七总甙组,并随病情进展而逐渐升高,第28天达最高水平。PNS组MIP-1α、MCP-1受到明显抑制,接近对照组。结论 PNS能有效抑制血浆中MIP-1α、MCP-1水平,减轻肺泡炎症程度,从而达到防治纤维化的作用。

关键词:三七总甙;肺纤维化;巨噬细胞炎症蛋白-1α;单核细胞趋化蛋白-1
中图法分类号:R282.71;R392.11;R563.13 文献标识码:A

Effects of *Panax notoginseng* saponin on macrophage inflammatory protein-1α and monocyte chemoattractant protein-1 in plasma in rats with pulmonary fibrosis

LI Xue-jun, CUI She-huai (Department of Respiratory Diseases, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of *Panax notoginseng* saponin (PNS) on macrophage inflammatory protein-1α(MIP-1α) and monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1) in plasma in rats with pulmonary fibrosis. Methods The dynamic changes of the contents of MIP-1αand MCP-1 in plasma were determined with ELISA. Results The contents of MIP-1α and MCP-1 in plasma were significantly higher in PF group than those in PNS group at most time points(125 pg/ml and 298 pg/ml), and correlated with the development of fibrosis. The contents of MIP-1α and MCP-1, close to those in the control group, were inhibited obviously in PNS group. Conclusion PNS may have effect on the prevention and cure of fibrosis by minimization of the alveolar inflammation due to the effective inhibition of the contents of MIP-1α and MCP-1 in plasma.

Key words: *Panax notoginseng* saponin; pulmonary fibrosis; macrophage inflammatory protein-1α; monocyte attractant protein-1

趋化因子可分为C-C家族和CXC家族。MIP-1α、MCP-1是C-C家族成员,它们对免疫/炎症反应细胞有明显的趋化活性,并能调节效应细胞功能,是调控肺损伤、肺的免疫功能和与之有关的细胞因子网络的重要成员[1,2]。实验研究表明MIP-1α、MCP-1可以显著刺激肺成纤维细胞合成胶原,并可导致具有成纤维特性的细胞因子或介质产生[3]。MIP-1α、MCP-1对肺纤维化的形成有重要的促进作用。三七总甙(*Panax notoginseng* saponins, PNS)是以三七为原料,采用现代科学方法精密提取的有效成分,保留了三七中的有效成分单体皂甙共18种,统称PNS。本研究旨在初步探讨三七总甙防治肺纤维化的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组

选取健康雄性Wistar大鼠75只,体重180~200 g。随机分为对照组、模型组、PNS组,每组25只。模型组、PNS组以1%戊巴比妥钠(0.4 ml/100 g)经腹腔内注射麻醉,在无菌操作下行颈部正中切口,暴露气管,经穿刺向气管内缓慢注入博莱霉素(BLM) 5 mg/kg(浓度4 mg/ml),注入后立即旋转动物,使药液在体内分布均匀。对照组同法支气管内注入等量生理盐水。PNS组以PNS标准品用无菌生理盐水制成水溶液,浓度为0.6%。于造模后当天开始,按1 ml/100 g的剂量给已制成的肺纤维化动物PF灌胃,1次/d(相当于60 mg/Kg)。对照组和PF组同法胃内灌注等量生理盐水。

作者简介:李学军(1970-),女,重庆市人,硕士研究生,主治医师,主要从事肺纤维化发病机制及治疗方法的研究,发表论文5篇。电话:(023)65387412

收稿日期:2001-03-11;修回日期:2001-07-08

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.2　主要试剂及药品

博莱霉素粉针: 日本化药株式会社 X960392-(1)。兔抗鼠 MIP-1α 抗体: 英国 PEPROTECH EC LTD。MCP-1 免疫试剂盒: Bio-Source 公司, 美国。三七总甙粉: 云南金泰德制药总公司(含 PNS 99.2%, 每 1 g 三七总甙相当于生药 10 g)。

1.3　观察指标

1.3.1　双抗夹心 ELISA 行大鼠血浆 MIP-1a、MCP-1 含量测定[4]

加入兔抗大鼠 MIP-1α 抗体, 每孔 50 μl, 16 h 4 ℃湿盒孵育, PBS 充分洗涤, 每孔加入 2% 小牛血清白蛋白 50 μl, 封闭非特异性结合, 37 ℃孵育 90 min, PBS 充分洗涤, 加入待测血浆样本, 37 ℃孵育 60 min; PBS 充分洗涤; 加入生物素化羊抗兔 MIP-1α 50 μl, 37 ℃孵育 30 min; PBS 充分洗涤; 加链霉亲和素-过氧化物酶 50 μl/孔, 37 ℃孵育 30 min; PBS 洗涤后加入底物溶液, 室温下充分反应后以 3 mol/L 硫酸终止显色反应, 然后 490 nm 酶联免疫分析仪检测光密度值。

MCP-1 含量测定参照试剂盒说明进行, 方法同上。

1.3.2　病理学检查

按 Szapiel 方法评价肺泡炎及肺纤维化程度[5]

肺泡炎的判断: 0 级 无肺泡炎; 1 级 轻度肺泡炎, 单核细胞浸润面积<20%, 肺泡结构正常; 2 级 中度肺泡炎, 单核细胞浸润面积 20%~50%; 3 级重度肺泡炎, 单核细胞浸润面积>50%。

肺纤维化程度判断: 参照肺泡炎受累面积的判断标准。0 级 无肺纤维化; 1 级 轻度肺纤维化, 受累面积少于全肺 20%; 2 级 中度肺纤维化, 受累面积占 20%~50%; 3 级 重度肺纤维化, 受累面积>50%, 肺泡结构紊乱。

1.4　统计学处理

计量资料采用 t 检验, 等级计数资料转化为计量资料, 方法如下: 0 级计 0 分, 1 级计 1 分, 以此类推, 然后进行 t 检验。

2　结果

2.1　大鼠肺组织肺泡炎、肺纤维化形成情况

PF 组大鼠于造模后 1 d 开始肺泡腔内有巨噬细胞、中性粒细胞渗出。3 d 肺泡腔内巨噬细胞、中性粒细胞及淋巴细胞渗出增多, 肺泡隔增宽, 肺泡炎加重。7 d 肺泡炎最重。14 d 肺泡炎逐渐减轻, 肺泡壁增厚, 肺纤维组织增生。28 d 肺纤维化完全形成。PNS 组大鼠肺泡炎及肺纤维化程度明显减轻, 发生时间推迟, 7 d 时 PNS 组大鼠产生轻微肺泡炎, 14 d 开始有少量纤维组织增生, 28 d 大鼠肺组织残留少许肺泡炎及轻度肺纤维化。对照组大鼠肺组织无肺泡炎和肺纤维化形成, 见表 1。

表 1　实验大鼠肺泡炎、肺纤维化等级分析($\bar{x}\pm s$)

Tab 1　The grades of alveolitis and pulmonary fibrosis in rats($\bar{x}\pm s$)

Group	n	1 d	3 d	7 d	14 d	28 d
Model	25	2.17±0.48	2.48±0.96	2.81±1.10	2.97±1.27	2.38±1.32
Control	25	0.89±0.21	1.08±0.15	0.87±0.37 *	0.75±0.33 **	0.92±0.36 *
PNS	25	1.08±0.51	1.13±0.75	1.71±0.78	0.84±0.43 **	1.27±0.34 *

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* model

2.2　大鼠血浆 MIP-1α、MCP-1 含量变化

随着造模时间的延长, PF 组大鼠血浆中 MIP-1α、MCP-1 含量呈逐渐上升趋势, 与对照组比较于第 7 d 有显著性差异($P<0.05$), 第 14、28 天差异极为显著($P<0.01$); PNS 组大鼠血浆中 MIP-1α、MCP-1 含量于 3 d 开始升高, 7 d 达峰值, 以后逐渐下降。从第 7 天起 PNS 组大鼠血浆中 MIP-1α、MCP-1 含量与 PF 组比较差异显著($P<0.05$, $P<0.01$), 见表 2、3。

表 2　实验大鼠血浆 MCP-1 含量变化(pg/ml, $\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Changes of MCP-1 content in plasma(pg/ml, $\bar{x}\pm s$)

Group	n	1 d	3 d	7 d	14 d	28 d
Model	25	197.3±24.6	294.0±35.5	568.2±54.9	907.0±83.8	1373.0±77.2
PNS	25	182.9±23.1	239.6±27.3	423.2±53.5	385.4±39.1 **	345.0±28.7 **
Control	25	133.6±29.4	234.3±41.8	223.6±35.1 *	301.8±42.7 **	298.4±43.8 **

*: $P<0.05$ *vs* model, **: $P<0.01$ *vs* model

表 3　实验大鼠血浆 MIP-1α 含量变化(pg/ml, $\bar{x}\pm s$)

Tab 3　Changes of MIP-1α content in plasma(pg/ml, $\bar{x}\pm s$)

Group	n	1 d	3 d	7 d	14 d	28 d
Model	25	234.4±36.5	458.8±47.2	809.3±79.6	1326.9±109.7	1680.0±131.8
PNS	25	277.4±31.5	457.6±89.2	687.4±71.7	531.1±43.5 **	485.7±29.4 **
Control	25	225.9±50.1	321.3±57.5	352.7±61.5 *	301.2±37.6 **	278.6±32.3 **

*: $P<0.05$ *vs* model, **: $P<0.01$ *vs* model

3　讨论

肺纤维化的发生是以细胞因子网络调控失衡导致大量趋化因子释放从而引起炎性细胞聚集、活化为基础, 如何调控趋化因子的表达至关重要。MIP-1α、MCP-1 是近年来发现的生物体内一种新型的趋化因子和免疫/炎症调节因子。在肺纤维化早期以 PMN 渗出为主, 引起 MIP-1α 高表达, MIP-1α 又引起各种炎性细胞在肺内募集, 促进 MCP-1 表达; 抑制 MIP-1α、MCP-1 的生物活性可以引起肺纤维化早期 PMNs 在肺内聚集显著减少, 后期 AM 聚集减少[6]。实验研究表明 MIP-1α、MCP-1 可以显著刺激肺成纤维细胞合成胶原, 并可导致具有成纤维特性的细胞因子或介质产生。MIP-1α 可以引起胶原基因表达伴肺内异常胶原沉积; MCP-1 升高可以引起成纤维细胞胶原合成增加, 并通过诱导外源性 TGF-β 基因表达间接刺激胶原合成, 然后通过自分泌/旁分泌途径刺激胶原基因表达[7]。实验表明抑制 MIP-1α、MCP-1 过表达可能在一定程度上抑制炎性细胞渗出从而延缓肺纤维化的进程, 对肺纤维化的临床治疗具有一定的指导意义。

PNS 是以三七为原料, 采用现代科学方法精密提取的有效成分, 保留了三七中的有效成分一单体皂甙共 18 种, 统称 PNS。药理研究证实, PNS 具有止血散瘀、活血生肌、消炎镇痛、补虚强壮四大功效。张荣华

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

等[8]报道PNS具有抗脂质过氧化、改善肝脏微循环、抑制肝脏胶原合成和促进胶原降解，从而具有抗肝纤维化作用。本实验观察到PNS组大鼠血浆及BALF中MIP-1α、MCP-1产生受到明显抑制，其含量较PF组显著降低。从形态学观察PNS组大鼠肺组织肺泡炎发生时间推迟，进展缓慢，程度明显较PF组为轻，几乎不形成肺纤维化。表明PNS具有较强的抗肺纤维化作用，推测其抗肺纤维化的可能机制为：①抑制炎性细胞渗出与趋化，减少细胞因子产生和释放；②抑制肺成纤维细胞增殖，减少胶原合成和分泌[9]；③调节肺的免疫功能，减轻细胞损伤，减轻肺泡炎症程度，从而抗肺纤维化形成。

参考文献：

[1] Iyonaga K, Takeya M, Saita M, *et al*. Monocyte chemoattractant protein-1 in idiopathic pulmonary fibrosis and other interstitial lung diseases[J]. Hum Pathol, 1994, 25(5): 455-463.

[2] Smith R E, Strieter R M, Phan S H, *et al*. Production and function of murine macrophage inflammatory protein-1 alpha in bleomycin-induced lung injury[J]. J Immunol, 1994, 153(10): 4704-4712.

[3] 李学军，崔社怀，韩根成. 肺纤维化大鼠血浆MIP-1α、MCP-1水平动态变化的观察[J]. 解放军医学杂志，2001，26(10)：745-747.

[4] Tsai W C, Strieter R M, Zisman D A, *et al*. Nitric oxide is required for effective innate immunity against Klebsiella pneumoniae[J]. Infect Immun, 1997, 65(5): 1870-1875.

[5] Szapiel S V, Elson N A, Fulmur 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] Hashimoto S, Nakayama T, Gon Y, *et al*. Correlation of plasma monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and monocyte inflammatory protein-1α (MIP-1α) levels with disease activity and clinical course of sarcoidosis[J]. Clin Exp Immunol, 1998, 111(7): 604-610.

[7] Hasegawa M, Sato S, Takehara K. Augment production of chemokines monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), macrophage inflammation protein-1α (MIP-1α) and MIP-1β in patients with systemic sclerosis: MCP-1 and MIP-1α may be involved in the development of pulmonary fibrosis[J]. Clin Exp Immunol, 1999, 117(1): 159-165.

[8] 张荣华. 三七抗肝纤维化的实验研究[J]. 第三军医大学学报，2000，22(4)：307-310.

[9] 熊 磊，刘 平，谭英姿，等. 三七总甙抗肝纤维化活性的实验研究[J]. 中国中医药科技，1999，6(5)：317-319.

（编辑 郭建秀）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2003)06-0524-01

曲马朵注射剂致四肢软瘫1例

Limbs of flaccid paralysis after injected Tramadol in a fire brigade soldier

王小红，冯 平 （重庆市北碚区中医院，重庆 400700）

患者，男，20岁，因腰痛1个月入院。患者于1个月前出现腰痛、活动不便，CT示：腰3、4椎间盘脱出。入院查体：生命体征正常，意识清楚，步入病房，心肺(－)，四肢肌力、肌张力正常，直腿抬高试验(＋)，腰3、4椎有压痛。辅助检查无异常。入院第4天晚11：00，患者述腰痛不适，即给予曲马朵100 mg肌肉注射。注射后50 min，患者述四肢沉重无力，逐渐加重至完全不能活动。查体：意识清楚，能对话，生命体征无异常，四肢肌力Ⅰ级，感觉存在。遂予以特别监护。至次日晨，患者四肢肌力恢复正常，无不适反应。

讨论

曲马朵注射剂为近年来新合成的非阿片类中枢性镇痛药，是有μ受体激动剂活性的环己酚衍生物。曲马朵虽然也可与阿片受体结合，但亲和力较弱，对μ受体的亲和力相当于吗啡的1/6 000，对κ和δ受体的亲和力则仅为μ受体的1/25。曲马朵其镇痛作用不能完全用阿片受体机制来解释。现知曲马朵是一消旋混合体，其(＋)对映体作用于阿片受体，而(－)对映体则抑制神经元突触对去甲肾上腺素的再摄取，并增加神经元外5-羟色胺浓度，从而影响痛觉传递而产生镇痛作用[1]。不良反应如恶心、便秘显著低于吗啡[2]。其治疗剂量不抑制呼吸，大剂量可引起呼吸减慢。本例患者注射曲马朵后，出现类似于急性多发性神经根炎的症状，即四肢对称性软瘫。因该病例病情诊断明确，无癔病发作的思想基础。我们考虑该病例为曲马朵注射剂一特殊表现，其机制可能是由于曲马朵影响到运动传导道锥体系统神经元的突触传递，作用为兴奋性效应的去甲肾上腺素减少，呈抑制性效应的5-羟色胺浓度增加的缘故。

关键词：曲马朵；软瘫；中枢性镇痛药

中图法分类号：R746.302 文献标识码：B

参考文献：

[1] 陈伯銮. 临床麻醉药理学[M]. 北京：人民卫生出版社，2000. 191.

[2] 沈七襄，孙增勤. 麻醉药物手册[M]. 北京：科学技术文献出版社，2000. 135.

（编辑 冯崇英）

作者简介：王小红(1959－)，女，四川省大竹县人，主治医师，主要从事静脉复合麻醉方面的研究，发表论文8篇。电话：(023)68868187

收稿日期：2002-08-23；修回日期：2003-02-17

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net