DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.02.027
第24卷第2期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 2
2002年2月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Feb. 2002

文章编号:1000-5404(2002)02-0179-02

论著

孟鲁司特对慢性支气管炎大鼠气道粘蛋白高分泌的抑制作用

黄 勇,杨肇亨,刘维会,段绪伟,毕玉田 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所呼吸内科,重庆 400042)

提 要:目的 探讨半胱氨酸白三烯1受体拮抗剂孟鲁司特对慢性支气管炎大鼠气道粘蛋白高分泌的作用。方法 气管内注入0.2 mg脂多糖复制模型,采用图像分析、ELISA方法检测病理学改变、粘蛋白表达水平、支气管肺泡灌洗液(BALF)中粘蛋白量。结果 3周后出现慢性支气管炎的病理学特征,如杯状细胞、粘膜下腺体增生肥大,腺体细胞和气管上皮粘蛋白面积(%)、未分泌指数及BALF中粘蛋白量增加;孟鲁司特可显著抑制杯状细胞增生,降低分泌细胞粘蛋白表达水平、BALF中粘蛋白含量。结论 孟鲁司特可以在杯状细胞增生、粘蛋白合成、分泌等环节,抑制气道粘蛋白的高分泌。

关键词:白三烯受体,拮抗剂;慢性支气管炎;粘蛋白
中图法分类号:R562.21;R974 文献标识码:A

Inhibition of montelukast on hypersecretion of airway mucins in rats with chronic bronchitis

HUANG Yong, YANG Zhao-heng, LIU Wei-hui, DUAN Xu-wei, BI Yu-tian (Department of Respiratory, Daping Hospital, Third Military Medicine University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To investigate the inhibition of montelukast on hypersecretion of airway mucins in rats with chronic bronchitis. Methods Rat model was established by intratracheal instillation of lipopolysaccharide 0.2 mg. The changes of pathology, mucins expression levels, and mucins content in bronchoalveolar lavage fluid BALF were observed with image analysis and ELISA. Results The rats shared many features of chronic bronchitis weeks after instillation, such as goblet cells, submucosal glands hyperplasia and hypertrophy, increases of mucins area (%) of glands and trachea epithelium pre-secretion index and mucins overabundance in secretory cells and BALF. Montelukast remarkably inhibited goblet cells hyperplasia, decreased mucins area (%) of glands and trachea epithelium, pre-secretion index, and mucins content in BALF. Conclusions Through inhibiting goblet cells hyperplasia, excessive mucin synthesis and secretion, montelukast can inhibit the hypersecretion of airway mucins.

Key words: leukotriene receptors, antagonists; chronic bronchitis; mucins

慢性支气管炎过程中,中性粒细胞、肺泡巨噬细胞等产生大量的半胱氨酸白三烯(LTC4、D4、E4),引起气道平滑肌收缩及增殖重塑、血管通透性增加、粘液高分泌、纤毛活动减弱等[1]。粘液的粘弹性主要取决于粘膜下腺体和上皮杯状细胞合成分泌的粘蛋白[2],本实验旨在探讨半胱氨酸白三烯1受体拮抗剂孟鲁司特对慢性支气管炎大鼠气道粘蛋白高分泌的作用。

1 材料和方法

1.1 动物模型制作

体重200~250 g健康雄性Wistar大鼠28只随机分4组,每组7只:①正常对照组(C组):不做干预;②慢性支气管炎组(B组):留置针经声门插入气管,注入0.1%脂多糖(大肠杆菌血清型O111:B4, Sigma公司)0.2 ml,饲养3周[3]。③孟鲁司特组(M组):如B组注入脂多糖后第8~21天,孟鲁司特(默沙东公司)2 $mg\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$灌胃;④生理盐水组(N组):生理盐水0.4 ml灌胃,余同M组。

作者简介:黄 勇(1970-),男,四川省资中县人,硕士,主治医师,主要从事慢性阻塞性肺疾病方面的研究,发表论文6篇。电话:(023)68757245

收稿日期:2001-06-07;修回日期:2001-10-15

1.2 标本采集与检测

10 ml Hanks液经甲状软骨下插管分两次行支气管肺泡灌洗,BALF 1 000 r/min离心10 min,上清液-70℃保存。按ELISA方法,用RTE11小鼠抗大鼠气道粘蛋白单克隆抗体(美国SH Randell教授惠赠)测定粘蛋白含量。气管支气管及肺组织用4%多聚甲醛灌注固定,石蜡切片染色后,用重庆大学Tiger 920细胞图像分析系统行图像分析。每张HE染色切片随机测定3处腺体厚度、相应气管壁厚度,阿辛蓝-过碘酸雪夫氏染色切片测定3 mm长气管上皮中杯状细胞数目,ABC法RTE11单抗免疫组化染色切片测定3处腺体及5个高倍镜视野中杯状细胞阳性染色的平均吸光度、粘蛋白面积(阳性染色面积与腺体细胞面积或气管上皮面积之比,%)。

1.3 统计学方法

应用SPSS统计软件进行 t 检验。

2 结果

2.1 病理组织学改变

B组大鼠气管支气管上皮脱落,纤毛缺失、倒伏,杯状细胞、粘液腺增生肥大,分泌亢进,浆液腺粘液化生,气管壁增厚,淋巴细胞、浆细胞及少量中性粒细胞浸润,支气管平滑肌增厚,肺泡扩张,见图1。M组上皮损害减轻,炎症细胞浸润减少,而N组较B组无明显变化。

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

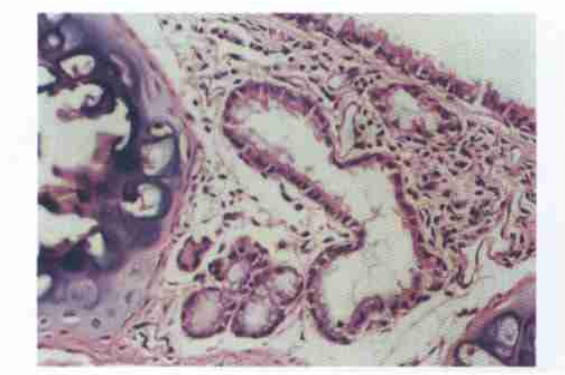


图1 慢性支气管炎大鼠气管上皮受损，粘膜下腺体增生肥大，炎症细胞浸润 (HE×200)

Fig 1 Tracheal epithelia damage, submucoal glands hyperplasia and hypertrophy, and inflammatory cells infiltration in chronic bronchitis rats (HE×200)

2.2 分泌细胞增生肥大水平

与C组比较，B组气管壁厚度、Reid指数(腺体厚度/气管壁厚度)、每1 mm上皮中杯状细胞数显著增加。M组仅上皮杯状细胞数显著少于B组，也显著少于N组，见表1。

表1 气管壁及分泌细胞增生肥大水平

Tab 1 Levels of hyperplasia and hypertrophy of tracheal wall and secretory cells

Group	n	Tracheal wall thick (μm)	Reid index	Goblet cells (mm^{-1})
C	7	353.57±25.12	0.061±0.015	11.05±1.94
B	7	533.31±42.29**	0.420±0.040**	52.81±7.72**
M	7	522.85±30.02	0.413±0.035	44.76±5.64#
N	7	527.16±28.40	0.426±0.034	51.57±4.19

**: $P<0.01$ *vs* C; #: $P<0.05$ *vs* B and N

2.3 气管上皮及腺体细胞内粘蛋白表达水平

各组分泌细胞免疫组化阳性染色处(粘蛋白)的平均吸光度无明显差异，但B组粘蛋白面积、未分泌指数(平均吸光度×粘蛋白面积)均较C组显著增加。M组气管上皮粘蛋白面积较B组显著降低，未分泌指数及腺体细胞粘蛋白面积、未分泌指数则极显著降低，N组与B组无明显差异，均明显高于M组，见表2。

表2 气管上皮及腺体细胞内粘蛋白表达水平

Tab 2 Levels of mucins expression of tracheal epithelia and submucosal gland cells

Group	n	Tracheal epithelia		Submucosal gland cells	
		Mucins area(%)	Pre-secretion index	Mucins area(%)	Pre-secretion index
C	7	0.060±0.004	0.068±0.005	0.120±0.023	0.135±0.017
B	7	0.404±0.053**	0.475±0.050**	0.556±0.121**	0.652±0.074**
M	7	0.377±0.048#	0.435±0.044##	0.390±0.087##	0.448±0.079##
N	7	0.395±0.046△	0.461±0.054△	0.554±0.076△△	0.643±0.054△△

**: $P<0.01$ *vs* C; #: $P<0.05$, ##: $P<0.01$ *vs* B; △: $P<0.05$, △△: $P<0.01$ *vs* M

2.4 BALF中粘蛋白相对含量

C组粘蛋白相对含量(吸光度值)为0.206±0.027，B组(0.535±0.098)较之显著增加($P<0.01$)，M组(0.390±0.043)较B组显著降低($P<0.01$)，N组(0.541±0.099)较B组无明显变化($P>0.05$)，但显著高于M组($P<0.01$)。

3 讨论

半胱氨酸白三烯受体至少有两型，其中能被传统受体拮抗剂，如FPL-55712所抑制的称为半胱氨酸白三烯1(cysLT1)受体，LTD4的激动效应强于LTC4、E4，人和大鼠气道主要为此型受体；半胱氨酸白三烯2(cysLT2)受体则不能被其所抑制[1]。cysLT1受体被激动后，通过Gq/11蛋白激活磷脂酶C及其他途径，影响Ca^{2+}、PKC、cAMP、cGMP等，进而作用于粘蛋白基因表达及合成分泌[1,2,4,5]。

本实验采用马楠等[3]的方法，气管内注入0.2 mg脂多糖，3周后即可复制出大鼠模型，病理学表现符合慢性支气管炎。除了杯状细胞、腺体增生肥大外，B组大鼠BALF中粘蛋白含量也明显增加，同时细胞内未分泌的粘蛋白仍多于C组，提示粘蛋白合成和分泌均亢进，合成的亢进程度大于分泌。

以往多采用促分泌素刺激或过敏性疾病模型，研究对气道粘蛋白及粘液的作用[5]。孟鲁司特对cysLT1受体选择性高、作用时间长、疗效好，广泛应用于哮喘的防治。本实验证实了孟鲁司特可以明显抑制慢性支气管炎大鼠气道粘蛋白高分泌，既作用于其病理基础，抑制杯状细胞增生，又可抑制粘蛋白合成，降低分泌细胞粘蛋白表达水平，并抑制分泌释放机制，最终使BALF中的粘蛋白极显著减少。同时也提示了半胱氨酸白三烯在慢性支气管炎气道粘蛋白高分泌中所起的介导作用。

参考文献：

[1] Dahlen S E. Pharmacological characterization of leukotriene receptors[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2000, 161(2 pt 2): S41—S45.

[2] Rogers D F. Mucus hypersecretion in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Novartis Found Symp, 2001, 234: 65—77.

[3] 马 楠, 崔德健, 梁研杰, 等. 气管内注入脂多糖法建立大鼠慢性支气管炎模型[J]. 中华结核和呼吸杂志, 1999, 22(6): 371—372.

[4] Bredenbroker D, Dyamand D, Meingast U, *et al*. Effects of the nitric oxide/cGMP system compared with the cAMP system on airway mucus secretion in the rat[J]. Eur J Pharmacol, 2001, 411(3): 319—325.

[5] Salvi S S, Krishna M T, Sampson A P, *et al*. The anti-inflammatory effects of leukotriene-modifying drugs and their use in asthma[J]. Chest, 2001, 119(5): 1 533—1 546.

(编辑 薛国文)

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