

约为 3 亿,由于该病具有死亡率高、致残率高等特点,不仅威胁患者的身体健康,还严重影响患者的生存质量。高血脂症、糖尿病、高血压等疾病已经成为诱发心血管并发症的重要因素,所以重视冠心病治疗和积极控制血压已经成为当前医学界迫切需要解决的问题^[2]。氨氯地平是一种长效钙拮抗剂,对血管具有较强的选择性,它可以直接使血管平滑肌松弛,通过对外周血动脉和冠状动脉进行扩张,使冠状动脉血流量增加,外周血管阻力降低,抑制血小板聚集,避免形成动脉粥样硬化,从而充分发挥抗心绞痛和降血压的作用,同时还具有半衰期长、起效快、不良反应少以及药效稳定等优点^[3]。现代药理学研究表明,氨氯地平进入人体后,可以对晨峰血压进行持久、强效、有效、平稳的控制,是降压联合用药的首选^[4]。阿托伐他汀作为一种比较有效的调脂药物,具有较好的调节血脂效果。氨氯地平阿托伐他汀主要由阿托伐他汀钙和氨氯地平构成,两种药物相互

兼容,共同发挥作用,起效快,药效稳定,服药无时间限制,不良反应发生率低,并且具有保护血管内皮细胞和抗氧化的作用,从而达到治疗目的^[5]。本次研究结果显示,与对照组相比,观察组的血压和血脂变化明显,治疗效果显著。综上所述,运用氨氯地平阿托伐他汀治疗高血压合并冠心病,不仅不良反应小、安全性高,还能降低患者的血脂水平,改善患者生活质量,值得临床推广和运用。

参考文献

[1]漆军华.氨氯地平阿托伐他汀钙片治疗高血压合并冠心病的临床价值[J].河北医学,2012,18(6):835-837
[2]刘希德,刘佳.氨氯地平阿托伐他汀钙片治疗高血压合并冠心病的疗效观察[J].当代医学,2012,18(26):144-145
[3]余盛龙,陈次滨.氨氯地平阿托伐他汀钙片治疗高血压合并冠心病的疗效观察[J].广东医学,2011,32(18):2458-2460
[4]陈丹,王哲.氨氯地平阿托伐他汀钙片治疗高血压合并冠心病的价值研究[J].医药论坛杂志,2013,34(4):119-121
[5]侯旭红,王新武.应用氨氯地平阿托伐他汀钙片治疗高血压合并冠心病的临床疗效观察[J].当代医药论丛,2014,12(1):154-155

(收稿日期: 2015-03-25)

黄芩素靶向 p38 MAPK 通路抗肺纤维化的作用机制研究

顾文菊 邱波

(湖北省黄石市第五医院普内科 黄石 435005)

摘要:目的:探讨黄芩素(baicalein)抗肺纤维化(PF)的疗效,并通过测定 p38 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)的活化程度,探讨其可能的作用机制。方法:6 周龄健康 SD 雄性大鼠 96 只,随机分为正常对照组(C 组)、肺纤维化模型组(M 组)、p38 MAPK 抑制剂 SB 203580 组(S 组)和黄芩素组(B 组),每组 24 只。造模或治疗后利用 ELISA 法检测血浆中促炎细胞因子高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)及细胞因子诱导的中性粒细胞趋化因子 1(CINC-1)的水平;比色法测定肺组织髓过氧化物酶(MPO)活性;Real-time PCR 法观察结肠组织 p38 及 p-p38 基因表达水平。结果:M 组大鼠血浆 HMGB1、CINC-1 均明显升高($P<0.01$),肺组织 MPO 活性升高($P<0.01$),p38 磷酸化程度显著升高($P<0.05$);与 M 组比较,S 组和 B 组大鼠血浆 HMGB1、CINC-1 均明显降低($P<0.01$),肺组织 MPO 活性下降($P<0.01$),p38 磷酸化程度显著下调($P<0.05$)。结论:黄芩素减轻博来霉素(BLM)诱导的大鼠肺纤维化,其作用机制可能与抑制 p38 MAPK 信号通路有关。

关键词:肺纤维化;黄芩素;靶向 p38 MAPK 通路;作用机制

中图分类号:R563

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2015.08.009

肺纤维化(Pulmonary Fibrosis, PF)是一种病因不明的慢性肺部疾病,属于肺间质纤维化的一种^[1],主要表现为纤维结缔组织在肺泡间隔弥漫增生引起肺组织结构毁损、顺应性减低、弥散功能障碍,最终导致呼吸衰竭^[2-3]。肺纤维化的发病机理不明,也缺乏有效治疗,因此研究肺纤维化的发生、发展规律以及探讨新的有效防治手段是目前基础和临床关注的热点。本文对黄芩素(baicalein)治疗 PF 做了初步探讨,现报道如下:

1 材料和方法

1.1 动物及分组 6 周龄健康 SD 雄性大鼠 96 只,购自河南大学实验动物中心,所有操作程序获得河

南大学医学伦理委员会批准。实验前禁食不禁水 12 h,随机分为正常对照组(C 组)、肺纤维化模型组(M 组)、p38 MAPK 抑制剂 SB 203580 组(S 组)和黄芩素组(B 组),每组 24 例。

1.2 模型制备及处理 参照李玉花等^[4]的方法,M 组以 BLM 制备 PF 模型,即大鼠乙醚吸入麻醉,操作台仰卧位固定,颈部消毒,切开颈部皮肤,逐层剥离,暴露气管,用一次性 1 ml 注射器抽取 0.2~0.3 ml 博来霉素生理盐水溶液(5 mg/kg 体重),向气管内注入,注射后立即将大鼠直立并左右旋转,使药液在肺内均匀分布,缝合皮肤,手术过程严格无菌操作。C 组给予等体积生理盐水,S 组和 B 组模型分别在

BLM 造模后第 1 天开始前连续腹腔注射 SB 203580、黄芩素。

1.3 方法

1.3.1 ELISA 法检测血浆 HMGB1、CINC-1 水平 采用酶联免疫吸附试验法(ELISA)进行血浆促炎细胞因子高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)及细胞因子诱导的中性粒细胞趋化因子 1(CINC-1)水平测定,严格按照说明书操作。

1.3.2 比色法测定肺组织 MPO 活性 准确称量各待检大鼠肺组织,用 0.9%生理盐水按 1:9 制成 10%匀浆,匀浆液直接分为两部分:一部分根据 Bradford's 方法,用蛋白定量分析试剂盒测上清液中蛋白浓度;另一部分用市售 MPO 检测试剂盒,按照说明书操作对肺脏组织中 MPO 活性进行检测。

1.3.3 Real-time PCR 法检测 p38、p-p38 MAPK mRNA 表达 留取部分肺组织立即投入液氮。从组织中提取总 RNA:将整个胃组织剪碎,放入 2 ml 试管内,用 Trizle 法提取 RNA;用分光光度法测定所提取 RNA 的浓度;RNA 电泳检测其完整性(1%琼脂糖凝胶);mRNA 反转录:严格按照反转录试剂盒操作;PCR 检测:采用 primer premier 5.0 设计 p38、p-p38 MAPK 及 GAPDH 基因引物序列,将每个 cDNA 样品 2 L 进行实时荧光定量 PCR 扩增,每个标本做复孔检测。用 FTC 3000 系统软件进行数据采集、分析。根据标准曲线计算各样本 mRNA 拷贝数,p38、p-p38 MAPK mRNA 的相对表达量分别用 p38、p-p38 MAPK mRNA 拷贝数与 GAPDH mRNA 拷贝数的比值表示。

1.4 统计学处理 所有数据采用 SPSS13.0 统计软件进行分析,计量资料以均数±标准差表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK-q 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血浆 HMGB1、CINC-1 水平改变 M 组的 HMGB1 和 CINC-1 水平与 C 组比较明显升高,差异均具有显著意义($P<0.01$),S 组和 B 组 HMGB1、CINC-1 水平均比 M 组明显降低($P<0.01$)。见表 1。

表 1 血浆 HMGB1、CINC-1 水平改变(%, $\bar{x} \pm s$)			
组别	n	HMGB1	CINC-1
C 组	24	100.00± 39.73	100.00± 64.59
M 组	24	1 097.63± 150.09 [*]	503.28± 63.57 [*]
S 组	24	479.22± 56.89 [#]	201.37± 28.91 [#]
B 组	24	626.39± 73.48 [#]	337.29± 41.82 [#]

注:与 C 组比较,^{*} $P<0.01$;与 M 组比较,[#] $P<0.01$ 。

2.2 肺组织 MPO 活性变化 与 C 组比较,M 组大鼠 MPO 活性明显升高,而 SB 203580 和黄芩素处

理可明显降低 M 组大鼠肺组织 MPO 活性。见表 2。

表 2 肺组织 MPO 活性改变		
组别	n	MPO(U/mg prot)
C 组	24	0.010± 0.003
M 组	24	0.057± 0.006 [*]
S 组	24	0.030± 0.004 [#]
B 组	24	0.037± 0.003 [#]

注:与 C 组比较,^{*} $P<0.01$;与 M 组比较,[#] $P<0.01$ 。

2.3 p38、p-p38 mRNA 表达的改变 p38 和 p-p38 基因表达情况,M 组 p-p38/p38 比值较对照组明显升高($P<0.05$),而 SB 203580 和黄芩素处理组较 M 组显著降低($P<0.05$)。见表 3。

表 3 p38、p-p38 mRNA 表达的改变(%, $\bar{x} \pm s$)		
组别	n	p-p38/p38
C 组	24	100.00± 14.80
M 组	24	210.04± 35.41 [*]
S 组	24	106.31± 12.57 [#]
B 组	24	123.67± 15.79 [#]

注:与 C 组比较,^{*} $P<0.05$;与 M 组比较,[#] $P<0.05$ 。

3 讨论

PF 加重期病情进展快,发生呼吸衰竭和死亡的风险明显升高,目前尚无特效疗法。慢性炎症是纤维化的早期阶段,因此控制炎症可有效阻断纤维化进程。随着全世界对天然药物的开发越来越重视,从天然产物中寻找安全、有效、低毒的活性成分已经成为抗肺纤维化药物研发的新方向。黄芩是一味具有抑炎、抗菌、抗病毒、抗氧化作用的中药,黄芩素和黄芩苷是其主要组成及活性成分,其中以黄芩苷的含量最高,其次是黄芩素,而黄芩苷通过在体内代谢转化成黄芩素发挥作用。研究^[9]发现,黄芩总黄酮对博莱霉素致大鼠肺纤维化具有明显的干预作用,为了进一步探索黄芩素的抗纤维化作用。本研究观察了黄芩素对博莱霉素致大鼠肺纤维化的治疗作用,发现黄芩素明显降低大鼠血浆 HMGB1、CINC-1 水平、肺组织 MPO 活性变化。

多条信号通路参与了对炎症反应的调节,其中 p38 MAPK 信号通路发挥了非常重要的调控作用。P38 MAPK 信号通路激活后,促使下游 IL-1、IL-6、TNF- α 等炎症介质基因表达上调、炎症因子释放,导致炎症反应^[6];同时促进细胞间黏附分子、趋化分子的表达上调^[7]。本研究发现,M 组大鼠肺组织 p38 磷酸化程度明显升高,说明肺纤维化时 p38 MAPK 被激活,应用其特异性抑制剂明显抑制 p38 激活,并降低大鼠血浆 HMGB1、CINC-1 水平、肺组织 MPO 活性;黄芩素在降低大鼠血浆 HMGB1、CINC-1 水平、肺组织 MPO 活性的同时抑制 p38 MAPK 激活。综上所述,黄芩素对肺纤维化大鼠具有保护作用,其机制可能与阻断 p38 MAPK 通路有关。(下转第 31 页)

情严重程度分布相对平均,均无其他严重的重症疾病。两组患者在性别、年龄、病程病情、治疗时间、其他疾病和文化水平等方面比较差异无统计学意义, $P>0.05$,具有可比性。

1.2 治疗方法 对照组 40 例患者采用西药(曲安奈德注射液、庆大霉素、利多卡因)注射治疗,观察组 40 例患者在对照组的基础上加用中药熏洗疗法。

1.2.1 对照组 首先对关节腔积液患者进行积液抽出处理,然后将浓度为 2%的利多卡因、庆大霉素 80 000 U 和 5 ml 的曲安奈德注射液稀释到 20 ml 生理盐水中,注射入患者的膝关节腔内,1 次 / 周,治疗 2 周。

1.2.2 观察组 在西药注射治疗过程中加用中药熏洗疗法,熏洗药材类型和剂量依照患者具体病情而定。基本组方:透骨草、威灵仙、独活、红花、川芎等各 50 g,生大黄 30 g。水煎汤汁倒入熏洗槽内,对患者膝关节进行熏洗,熏洗时加强保温措施,保证熏洗药汤 50℃左右以发挥药力疗效。中药熏洗 1 次 / d,每次熏洗 0.5 h,持续半个月^[4-5]。

1.3 观察指标 治疗期间观察患膝的病情恢复状况,严格检查并发症和不良反应,观察并记录治疗效果^[6]。治疗前后患者的膝关节功能评分、治疗总有效率和患者治疗满意度。

1.4 统计学分析 采用 SPSS22.0 统计软件进行统计,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 治疗结果

2.1 两组治疗前后膝关节功能评分比较 见表 1。

表 1 两组治疗前后膝关节功能评分比较(分, $\bar{x} \pm s$)				
组别	n	治疗前	治疗后	
观察组	40	14.7± 4.6	3.5± 2.8*	
对照组	40	14.6± 4.7	6.2± 4.0*	

注:与治疗前比较,* $P<0.05$ 。

2.2 两组临床疗效比较 见表 2。

表 2 两组临床疗效比较[例(%)]						
组别	n	治愈	好转	未愈	总有效	总满意度
观察组	40	29(72.5)*	6(15.0)	5(12.5)	35(87.5)*	38(95.0)*
对照组	40	23(57.5)	9(22.5)	8(20.0)	32(80.0)	34(85.0)

注:与对照组比较,* $P<0.05$ 。

(上接第 18 页)

参考文献

[1]Katzenstein AL,Myers JL.Idiopathic pulmonary fibrosis:clinical relevance of pathologic classification[J].Am J Respir Crit Care Med, 1998,157(4 Pt 1):1301-1315
[2]Prasse A,Holle JU,Muller-Quernheim J,et al.Pulmonary fibrosis [J]. Internist (Berl),2010,51(1):6-13
[3]Kuwano K.Involvement of epithelial cell apoptosis in interstitial lung diseases[J].Intern Med,2008,47(5):345-353
[4]李玉花,许先荣,潘庆,等.大黄素对肺纤维化大鼠 TGF-β1 及 smad3/7

3 讨论

膝关节是人体中负重较大且活动量较为频繁的关节,因此受到创伤的可能性也较大。膝关节滑膜炎的发生原因为膝关节受到内部或外部损伤后滑膜血管出现充血、渗血、肿胀及腔内积液,从而引起关节内部压力升高,关节腔内碱性滑液转化为酸性而导致膝关节肿胀疼痛。

采用穿刺疗法和西药注射疗法疗效较好,但是对患膝的损伤和副作用较明显,而且有一定的药物依赖性,很难达到根治目的。临床研究表明,利用中药熏洗疗法辅助西药注射治疗的方式,可以提高治疗效率,保障治疗效果。中药熏洗疗法中所用的药材具有清热止痛、活血化瘀以及祛风功效,可以促进患膝处血液循环、血管扩张和细胞组织代谢,起到极好的减轻炎症的作用^[7-8]。

本研究结果表明,中药熏洗治疗膝关节滑膜炎临床效果显著,治疗过程中能发挥利关节、祛风湿和消肿止痛等多种功效,消除炎症,促进关节滑膜修复,治疗效率高,操作简便,具有临床推广应用的价值。

参考文献

[1]黎意丰.四妙散加味联合中药熏洗治疗急性膝关节滑膜炎 30 例[J]. 中医药导报,2013,19(3):108-109
[2]王钢,姚建英,徐敏,等.医用臭氧关节内注射配合中药内服熏洗治疗膝关节滑膜炎 30 例[J].大家健康(中旬版),2013,7(7):70-71
[3]匡忠斌.中西医结合治疗膝关节骨性关节炎的临床研究[D].沈阳: 辽宁中医药大学,2012.1-4
[4]连福水.益气渗湿法中药内服配合熏洗治疗慢性膝关节滑膜炎[J]. 广西中医药,2011,34(4):22-23
[5]吴岩.健骨强筋汤配合熏蒸治疗膝骨性关节炎的疗效研究[D].沈阳: 辽宁中医药大学,2013.1-4
[6]熊震坤.膏摩治疗木瓜蛋白酶诱导兔膝关节炎性滑膜炎的实验研究[D].南京:南京中医药大学,2013.3-25
[7]陈金辉,胡新阳,诸霞群.附桂骨痛胶囊辅以中药熏洗与吲哚美辛治疗膝关节创伤性慢性滑膜炎效果比较[J].中国乡村医药,2011,18 (7):31-32
[8]刘祁军.筋骨痛消丸及附桂骨痛胶囊联合中药熏洗治疗膝关节骨性关节炎对照研究[J].实用中医内科杂志,2013,27(6):48-50

(收稿日期: 2015-02-16)

信号通路的影响[J].中华中医药学刊,2010,28(2):346-347
[5]马荣林,王尉平,蒋小岗,等.黄芩总黄酮对博莱霉素致大鼠肺纤维化的干预作用[J].中国药理学通报,2011,27(4):537-542
[6]Feng YJ,Li YY.The role of p 38 mitogen-activated protein kinase in the pathogenesis of inflammatory bowel disease[J].J Dig Dis,2011,12 (5):327-332
[7]Scaldaferri F,Sans M,Vetrano S,et al.The role of MAPK in governing lymphocyte adhesion to and migration across the microvasculature in inflammatory bowel disease[J].Eur J Immunol,2009,39(1):290-300
(收稿日期: 2015-03-23)