

参芪补肺汤对慢性阻塞性肺疾病肺气虚证大鼠气道平滑肌中乙酰化组蛋白 H4、HDAC2 和 NF- κ B p65 表达的影响

吴桂英¹, 张葵¹, 闫萍¹, 周佐涛¹, 李琼¹, 张纯娟¹, 万晓春¹, 费小强²(1. 贵州省人民医院, 贵州 贵阳 550002; 2. 贵阳中医学院第一附属医院, 贵州 贵阳 550001)

摘要: **目的** 观察参芪补肺汤对慢性阻塞性肺疾病(COPD)肺气虚证大鼠支气管平滑肌(ASM)中乙酰化组蛋白 H4、组蛋白去乙酰化酶-2(HDAC2)和核因子- κ B p65(NF- κ B p65)表达的影响。**方法** 取 SD 大鼠 40 只, 随机分为正常组、模型组、参芪补肺汤组、氨茶碱组, 每组 10 只。运用气管内注射脂多糖加烟熏 28 d 的方法建立 COPD 肺气虚证大鼠模型。光镜下观察肺组织的病理形态学变化, 运用图像分析法测量小气道管壁和 ASM 的厚度, 采用免疫组化和 Western blot 方法检测大鼠 ASM 中乙酰化组蛋白 H4、HDAC2 和 NF- κ B p65 的蛋白表达, 实时荧光定量 PCR 方法检测大鼠 ASM 组织中 HDAC2 mRNA 和 NF- κ B p65 mRNA 的表达。**结果** 与正常组比较, 模型组大鼠气道管壁和 ASM 厚度明显增高($P < 0.05$); 与模型组比较, 参芪补肺汤组和氨茶碱组气道管壁和 ASM 厚度明显降低($P < 0.05$); 参芪补肺汤组与氨茶碱组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。与正常组比较, 模型组乙酰化组蛋白 H4 的蛋白表达、NF- κ B p65 mRNA 和蛋白的表达明显增高($P < 0.05$); HDAC2 mRNA 和蛋白的表达均明显降低($P < 0.05$); 与模型组比较, 参芪补肺汤组和氨茶碱组乙酰化组蛋白 H4 的蛋白表达、NF- κ B p65 mRNA 和蛋白的表达明显增高($P < 0.05$); HDAC2 mRNA 和蛋白的表达明显降低($P < 0.05$)。参芪补肺汤组与氨茶碱组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 参芪补肺汤可抑制 COPD 肺气虚证模型大鼠 ASM 增殖, 其机制与其提高 HDAC2 的表达, 使组蛋白 H4 去乙酰化, 从而抑制 NF- κ B p65 的表达有关。

关键词: 慢性阻塞性肺疾病; 气道平滑肌; 乙酰化组蛋白 H4; 组蛋白去乙酰化酶-2; 核因子- κ B p65

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)06-0688-06

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.06.010

Effects of *Shenqi Bufei* Decoction on Expression of Acetylated Histone H4, Histone deacetylase-2 and Nuclear Factor- κ B p65 in Airway Smooth Muscle of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Rat Model with Lung-*Qi* Deficiency Syndrome.

Wu Guiying¹, ZHANG Kui¹, YAN Ping¹, ZHUO Zuotao¹, LI Qiong¹, ZHANG Chunjuan¹, WAN Xiaochun¹, FEI Xiaoqiang²(1. Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang 550002 Guizhou, China; 2. The First Affiliated Hospital of Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550001 Guizhou, China)

Abstract: **Objective** To observe the effects of *Shenqi Bufei* Decoction(SBD) on expression of acetylated histone H4, histone deacetylase-2(HDAC2) and nuclear factor- κ B p65(NF- κ B p65) in the airway smooth muscle of chronic obstructive pulmonary disease(COPD) rat model with lung-*Qi* deficiency syndrome. **Methods** Forty male rats were randomly divided into normal group, model group, SBD group, aminophylline group. The rat model with lung-*Qi* deficiency syndrome of COPD was established by intratracheal instillation of lipopolysaccharide(LPS) combined with passive smoking for 28 days. Image analysis was used to measure the airway smooth muscle(ASM) layer thickness of

收稿日期: 2014-07-30

作者简介: 吴桂英, 女, 副主任医师, 研究方向: 中西医结合防治老年病。Email: 1152362398@qq.com。通讯作者: 张葵, 女, 主任医师, 研究方向: 中西医结合防治老年病。Email: zky0696@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金(81160450); 贵州省科技计划项目(黔科合 SY 字 2012-3142)。

small airway after examination under light microscope. Immunohistochemistry and Western blotting were applied to detect the expression of acetylated histone H4, NF- κ B p65 and HDAC2 in rat bronchial smooth muscle tissue. Real-time fluorescent quantitation PCR was used to detect the expression of HDAC2 mRNA and NF- κ B p65 mRNA in ASM tissue of rats. **Results** Compared with the normal group, the thickness of airway wall and ASM were obviously increased in the model group ($P < 0.05$). Compared with the model group, the thickness of airway wall and ASM were obviously decreased in SBD group and aminophylline group ($P < 0.05$), the difference between SBD group and aminophylline group being insignificant ($P > 0.05$). Compared with the normal group, expression levels of acetylated histone H4 protein and NF- κ B p65 mRNA and protein were significantly increased in the model group ($P < 0.05$), while the expression levels of HDAC2mRNA and protein were significantly decreased ($P < 0.05$). After treatment with SBD or aminophylline, the expression levels of the above indexes were counteracted ($P < 0.05$), and the effect of SBD was similar to aminophylline ($P > 0.05$). **Conclusion** Shenqi Bufei Decoction can inhibit bronchial smooth muscle proliferation in rats with COPD of lung-*Qi* deficiency syndrome, and its mechanisms may be related to the increase of HDAC2 expression, which enables the deacetylation of histone H4 and results into the inhibition of NF- κ B p65 expression.

Keywords: Chronic obstructive pulmonary disease; Airway smooth muscle; Acetylated histone H4; Histone deacetylase-2; Nuclear factor- κ B p65

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种以持续气流受限为特征的可以预防和治疗的疾病,其气流受限多呈进行性发展,与气道和肺组织对烟草烟雾等有害气体或有害颗粒的慢性炎症反应增强有关。外周气道内,慢性炎症反应导致气道壁损伤和修复的过程反复发生,修复过程导致气道壁结构重构^[1]。支气管平滑肌(ASM)增殖是气道重构的重要组成部分,也是造成气流受限的主要原因之一。核心组蛋白修饰在所有基因表达的调控中起着非常重要的作用,组蛋白去乙酰化酶-2(HDAC2)可通过使乙酰化组蛋白 H4 去乙酰化来调控炎症基因的转录,其活性和表达下降可促进肺部炎症基因的表达^[2]。核因子- κ B(NF- κ B)是细胞内生物信号传导中关键性炎症因子,活化后的 NF- κ B 可促进 ASM 增殖^[3]。我们认为肺气虚是 COPD 发生的首要条件,且贯穿疾病始终^[4]。参芪补肺汤从《永类铃方》中的补肺汤化裁而来,是治疗肺气虚证稳定期 COPD 患者的有效方剂,前期研究^[5]证实参芪补肺汤可部分抑制 COPD 肺气虚证大鼠 ASM 增殖,但机制不明确。本实验通过观察乙酰化组蛋白 H4、HDAC2 和 NF- κ B p65 的表达,探讨参芪补肺汤抑制 ASM 增殖的机制。

1 材料与方法

1.1 动物 健康 SD 大鼠, SPF 级, 雄性, 12 周龄,

体质量 180 ~ 220 g, 由重庆第三军医大学实验动物中心提供, 动物许可证号: SCXK(渝)2007-0003, 实验开始前适应性饲养 1 周。

1.2 主要试剂及仪器 脂多糖(LPS), 美国 Sigma 公司; 非生物素二步法免疫组化试剂盒, 北京中杉金桥公司; Trizol, 美国 GIBCO 公司; 逆转录试剂盒、SYBR Green PCR 试剂盒, Thermo 公司; NF- κ B p65、HDAC2、GADPH 引物, 生工生物工程上海股份有限公司; 乙酰化组蛋白 H4、HDAC2、GADPH 一抗为多克隆兔抗, 英国 Abcam 公司; NF- κ B p65 一抗为单克隆鼠抗, 美国 CST 公司; BCA 蛋白定量试剂盒、辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔二抗、羊抗鼠二抗, 上海碧云天公司; ECL 化学发光液, 美国 Millipore 公司。酶标仪, 芬兰雷勃公司; BG-verMINI 型垂直电泳仪, 北京百晶生物公司; Real-time PCR 检测仪, 美国 ABI 公司; 倒置光学显微镜, 重庆澳浦光电技术有限公司。

1.3 药品 参芪补肺汤药材购自贵阳中医学院第一附属医院。处方: 黄芪 30 g, 党参 15 g, 补骨脂 15 g, 丹参 30 g, 百部 15 g, 桑白皮 30 g, 紫苑 15 g。上药加水浸泡 2 h, 自煎煮沸 30 min, 次煎 20 min, 两煎合一, 纱布过滤后, 装入烧杯, 在 40 ℃ 的恒温水浴箱中浓缩, 浓缩至含生药 1 g·mL⁻¹ 置冰箱保存。

注射用氨茶碱, 常州兰陵制药有限公司, 批号: 0911022, 购自贵阳中医学院第一附属医院。雄狮牌香烟(焦油量: 13 mg, 烟气烟碱量: 1.2 mg, 烟气一氧化碳量: 13 mg), 杭州利群卷烟厂。

1.4 分组、模型复制及给药 取 SD 大鼠 40 只, 随机分为正常组、模型组、参芪补肺汤组和氨茶碱组, 每组 10 只。除正常组置于正常无烟环境中饲养外, 其余各组采用气管内注射脂多糖加香烟烟熏方法复制大鼠 COPD 肺气虚证模型^[6]。自制被动吸烟染毒箱(50 cm × 70 cm × 70 cm, 有机玻璃制成, 侧壁上留有 4 个 1.5 cm × 1.5 cm 通气孔)。第 1 天和第 14 天以 25 % 的乌拉坦(4 mL · kg⁻¹)腹腔内注射麻醉, 气道内注射 200 μg · μL⁻¹ 脂多糖溶液 0.2 mL, 当天不予香烟烟熏, 其余时间每次烟熏 1 h (每次 20 支香烟), 每天 2 次, 同日间隔至少 4 h。模型组每天给予生理盐水 10 mL · kg⁻¹ 灌胃并腹腔注射生理盐水 5 mg · kg⁻¹。参芪补肺汤组予参芪补肺汤煎剂 35.2 g · kg⁻¹ · d⁻¹ 灌胃(相当成人给药量的 4 倍)^[5], 腹腔注射生理盐水 5 g · kg⁻¹。氨茶碱组每天腹腔注射氨茶碱 5 g · kg⁻¹, 并予生理盐水 10 mL · kg⁻¹ 灌胃。

1.5 检测指标

1.5.1 大鼠的一般情况 观察各组大鼠的活动情况、毛发色泽、饮食、体质量等。

1.5.2 支气管肺组织病理学观察 用 25 % 的乌拉坦腹腔内注射麻醉, 迅速取出左上肺浸泡于 10 % 中性福尔马林溶液中, 固定 24 h。常规脱水、包埋、切片、HE 染色, 光镜下观察。用 Image-Pro Plus 6.0 软件测量大鼠气道壁和平滑肌肌层的面积, 管壁总面积(WAt)= 气道外壁面积(Ao)- 管壁内侧面积(Ai), 平滑肌层面积(WAsm)= 平滑肌层外侧面积(Asmo)- 平滑肌层内侧面积(Asmi), 以支气管管腔及支气管平滑肌层的周长(Pi)校正。结果以 WAt/Pi(μm²/μm)表示管壁厚度, 以 WAsm/Pi(μm²/μm)表示平滑肌层厚度。每张切片选取 3 个视野, 测量的数值用于统计分析。

1.5.3 大鼠 ASM 组织中乙酰化组蛋白 H4、HDAC2 和 NF-κB p65 的蛋白表达 采用免疫组化法将 1.5.2 项下的切片脱蜡, 枸橼酸盐缓冲液热修复后, 采用非生物素二步法进行检测, 按照试剂盒说明书操作, 光学显微镜下观察着色情况。乙酰化组蛋白 H4、HDAC2 和 NF-κB p65 表达主要位于细胞核。采用 Image-Pro

Plus 6.0 软件分别检测每个视野 ASM 的截面积、累计光密度值, 再将累计光密度值 / 截面积得出平均光密度值, 每张切片选取 5 个视野, 取平均值用于统计分析。

免疫印迹法 (Western blot): 取 2~4 级支气管的 ASM 组织 (约 100 mg), 充分匀浆, 加裂解液 200 μL, 13000 r · min⁻¹, 4 ℃, 离心 15 min, 取上清, 按 BCA 蛋白定量试剂盒说明书进行蛋白定量, 每孔取 20 μg 总蛋白加入上样缓冲液, 煮沸 5 min 变性后, 10 % SDS-PAGE 电泳, 90 V 恒压下电泳至溴酚蓝接近分离胶顶端, 然后 120 V 恒压电泳至溴酚蓝刚出胶底部。100 mA 恒电流转 2 h。5 % 脱脂奶粉室温封闭 1 h, 分别加入 1 : 1000 稀释的乙酰化组蛋白 H4、HDAC2 和 NF-κB p65 一抗, 4 ℃孵育过夜, 加入 1 : 1000 稀释的 HRP 标记的二抗, 室温孵育 1 h, 洗膜, 滴入 ECL 混合液, X 胶片曝光, 以 GAPDH 为内参, 用 Image J 图像分析软件分析乙酰化组蛋白 H4、HDAC2、NF-κB p65 及 GAPDH 灰度值。乙酰化组蛋白 H4、HDAC2、NF-κB p65 和 GAPDH 的灰度比值分别表示乙酰化组蛋白 H4、HDAC2 和 NF-κB p65 的蛋白相对表达量。

1.5.4 实时荧光定量 PCR 检测大鼠 ASM 组织中 NF-κB p65 mRNA、HDAC2 mRNA 的表达 按 Trizol 氯仿抽提的方法提取 ASM 总 RNA, 紫外分光光度计测定 RNA 浓度和纯度, 按逆转录试剂盒操作说明合成 cDNA, 反应体系 20 μL, 反应条件: 37 ℃孵育 1 h, 95 ℃变性 5 min。实时定量 PCR 反应按照说明书操作, 反应体系 50 μL, 利用 NF-κB p65、HDAC2 及内参 GAPDH 基因特异引物和 SYBR Green 荧光染料在 PCR 仪上进行实时荧光定量扩增。NF-κB p65 上游引物序列: 5'-AGACCTGGAGCAAGCCATTAG-3', 下游引物序列: 5'-CGGACCGCATTCAGTCATAG-3', 扩增片段 102 bps; HDAC2 上游引物序列: 5'-CGCCTGGTGTTCAAATGC-3', 下游引物序列: 5'-GCCTCCTTCTTGCTTCC-3', 扩增片段 232 bps; 内参基因上游引物序列: 5'-GTCGGTGTGAACGGATTTG-3', 下游引物序列: 5'-TCCCATTCTCAGCCTTGAC-3', 扩增片段 181 bps。实时荧光定量 PCR 反应条件为预变性 95 ℃, 7 min, PCR 反应条件: 95 ℃变性 10 s, 60 ℃退火 30 s, 72 ℃延伸 30 s; 40 个扩增循环, 72 ℃后延伸 10 min, 记录 CT 值, 并用 2^{-ΔCT} 公

式进行相对定量计算。

1.6 统计学处理方法 采用 SPSS18.0 统计软件进行统计分析, 计量资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间差异采用单因素方差分析, 组间差异两两比较采用 LSD 检验。

2 结果

2.1 大鼠一般情况 与正常组比较, COPD 肺气虚证模型组大鼠出现进食减少, 毛色枯槁暗黄, 体质量增幅明显下降, 20 d 后出现咳嗽、气急, 症状符合 COPD 肺气虚证的表现; 参芪补肺汤组和氨茶碱组较模型组症状减轻。

2.2 支气管肺组织病理改变 光镜下观察, 与正常组相比较, 模型组大鼠支气管黏膜上皮细胞变性、坏死, 纤毛倒伏、部分脱落, 有大量炎性细胞浸润, 部分管腔内有黏液栓形成及炎性细胞渗出, 平滑肌增厚, 气道狭窄。肺泡结构紊乱, 肺泡壁变薄或断裂,

肺泡弹性减弱, 呈囊状扩张, 肺泡腔扩大, 部分融合成肺大泡, 符合 COPD 病理改变^[7]。参芪补肺汤组和氨茶碱组病理改变较模型组减轻, 见图 1。

2.3 气道平滑肌形态学测量 与正常组比较, 模型组气道管壁和 ASM 的厚度明显增高($P < 0.05$); 与模型组比较, 参芪补肺汤组、氨茶碱组的气道壁及 ASMC 的厚度明显降低($P < 0.05$)。参芪补肺汤组与氨茶碱组差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 1 和图 1。

表 1 各组大鼠支气管管壁和气道平滑肌层的形态学测量($\bar{x} \pm s$)
Table 1 The thickness of small airway wall and smooth muscle layer in each group

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	WAt/Pi/μm ² ·μm ⁻¹	WAsm/Pi/μm ² ·μm ⁻¹
正常组	10	-	50.38 ± 9.27	20.72 ± 5.05
模型组	8	-	130.11 ± 12.88 ^Δ	44.98 ± 5.73 ^Δ
参芪补肺汤组	9	35.2	81.91 ± 7.5 ^Δ	34.69 ± 4.45 ^Δ
氨茶碱组	9	5	84.17 ± 6.9 ^Δ	36.26 ± 4.6 ^Δ

注: 与正常组比较, ^Δ $P < 0.05$; 与模型组比较, ^Δ $P < 0.05$ 。

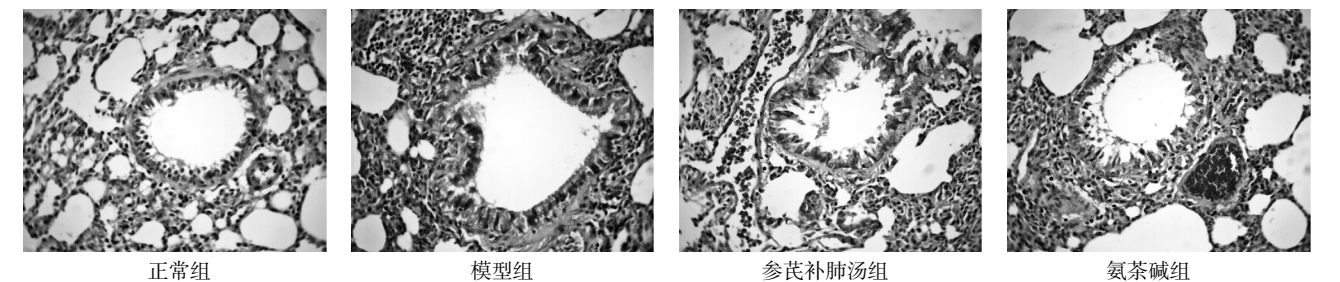


图 1 各组大鼠支气管肺组织病理改变(HE 染色, 400 ×)
Figure 1 The pathological of airway wall in each group(HE staining, 400 ×)

2.4 免疫组化检测 ASM 中乙酰化组蛋白 H4、HDAC2 和 NF-κB p65 蛋白表达 与正常组比较, 模型组乙酰化组蛋白 H4、NF-κB p65 的蛋白表达明显增高($P < 0.05$), HDAC2 的蛋白表达明显降低($P < 0.05$); 与模型组比较, 参芪补肺汤组和氨茶碱组乙酰化组蛋白 H4、NF-κB p65 的蛋白表达明显降低($P < 0.05$), HDAC2 的蛋白表达明显增高($P < 0.05$); 参芪补肺汤组和氨茶碱组差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2 和图 2。

2.5 Western blot 检测 ASM 中乙酰化组蛋白 H4、HDAC2 和 NF-κB p65 的蛋白表达 与正常组比较, 模型组乙酰化组蛋白 H4 及 NF-κB p65 的表达明显增高($P < 0.05$); HDAC2 的蛋白表达显著降低($P < 0.05$); 与模型组比较, 参芪补肺汤组及氨茶碱组乙酰化组蛋白 H4 及 NF-κB p65 表达明显降低($P < 0.05$),

表 2 各组大鼠 ASM 中乙酰化组蛋白 H4、HDAC2 及 NF-κB p65 的平均光密度值比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The average optical density value of acetylated histone H4, HDAC2, NF-κB p65 in ASM in 4 groups

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	乙酰化组蛋白 H4	HDAC2	NF-κB p65
正常组	10	-	0.103 ± 0.0082	0.193 ± 0.012	0.143 ± 0.014
模型组	8	-	0.163 ± 0.01 ^Δ	0.149 ± 0.007 ^Δ	0.235 ± 0.016 ^Δ
参芪补肺汤组	9	35.2	0.148 ± 0.011 ^Δ	0.176 ± 0.017 ^Δ	0.177 ± 0.008 ^Δ
氨茶碱组	9	5	0.138 ± 0.0062 ^Δ	0.167 ± 0.012 ^Δ	0.169 ± 0.01 ^Δ

注: 与正常组比较, ^Δ $P < 0.05$; 与模型组比较, ^Δ $P < 0.05$ 。

HDAC2 的表达明显增高($P < 0.05$); 参芪补肺汤组与氨茶碱组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3 和图 3。

2.6 实时荧光定量 PCR 检测大鼠 ASM 组织中 HDAC2 mRNA 和 NF-κB p65 mRNA 的表达 与正常组比较, 模型组 HDAC2 mRNA 表达明显降低(P

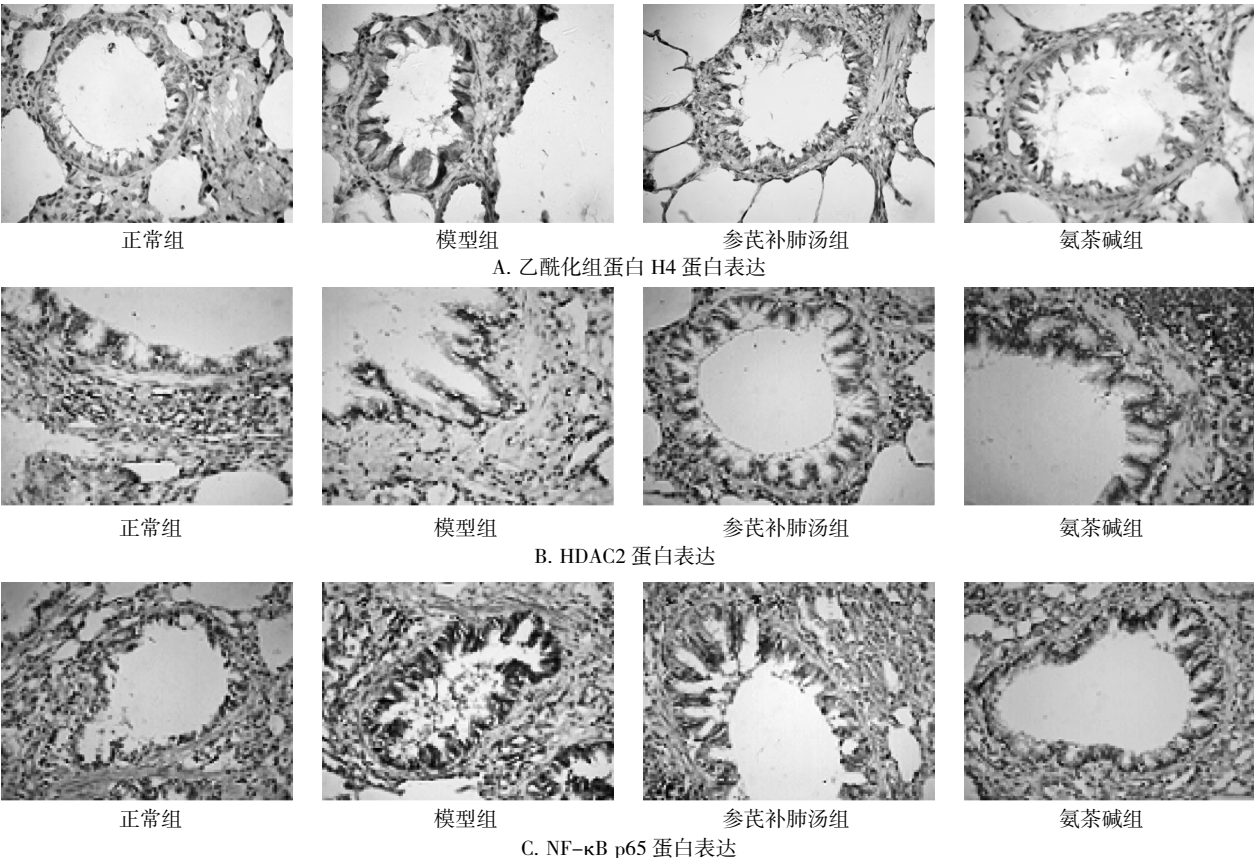


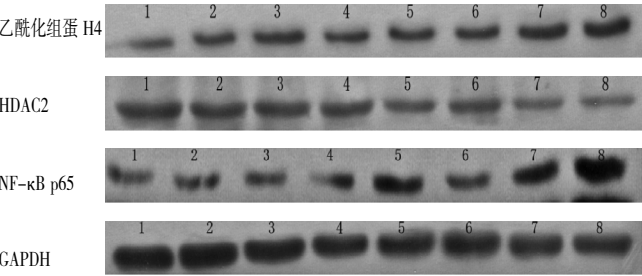
图 2 ASM 中乙酰化组蛋白 H4、HDAC2、NF-κB p65 蛋白表达(DAB, 400 ×)
Figure 2 The expressions of acetylated histone H4 protein, HDAC2 and NF-κBp65 in ASM in each group

表 3 各组 ASM 乙酰化组蛋白 H4、HDAC2 和 NF-κB p65 蛋白的表达(̄x±s)

Table 3 The grey value of acetylated histone H4, HDAC2 and NF-κB p65 in ASM in each group

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	乙酰化组蛋白 H4	HDAC2	NF-κB p65
正常组	10	-	0.236±0.036	0.421±0.097	0.212±0.067
模型组	8	-	0.473±0.068 ^Δ	0.23±0.022 ^Δ	0.399±0.081 ^Δ
参芪补肺汤组	9	35.2	0.363±0.041 [▲]	0.341±0.072 [▲]	0.273±0.064 [▲]
氨茶碱组	9	5	0.349±0.076 [▲]	0.334±0.08 [▲]	0.314±0.023 [▲]

注：与正常组比较，^ΔP < 0.05；与模型组比较，[▲]P < 0.05。



1, 2 正常组；3, 4 参芪补肺汤组；5, 6 氨茶碱组；7, 8 模型组
图 3 大鼠 ASM 组织中乙酰化组蛋白 H4、HDAC2、NF-κB p65 的蛋白电泳图
Figure 3 The expression of acetylated histone H4, HDAC2 and NF-κB p65 protein in ASM from four groups(Western blotting)

< 0.05), NF-κB p65 mRNA 表达显著增高(P < 0.05); 与模型组相比较, 参芪补肺汤组和氨茶碱组 HDAC2 mRNA 表达明显升高(P < 0.05), NF-κB p65 mRNA 表达明显降低 (P < 0.05)。参芪补肺汤组与氨茶碱组比较, 差异均无统计学意义(P > 0.05)。见表 4。

表 4 各组大鼠 ASM 中的 HDAC2 mRNA、NF-κB p65 mRNA(2^{-ΔCT} 值)的表达(̄x±s)

Table 4 The expression of HDAC2 and NF-κB p65 (2^{-ΔCT} 值) (× 10⁻³) in ASM in 4 groups

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	HDAC2	NF-κB p65
正常组	10	-	10.089 ± 0.775	0.707 ± 0.058
模型组	8	-	3.379 ± 0.199 ^Δ	1.268 ± 0.076 ^Δ
参芪补肺汤组	9	35.2	7.73 ± 0.722 [▲]	0.938 ± 0.006 [▲]
氨茶碱组	9	5	7.301 ± 0.428 [▲]	0.975 ± 0.048 [▲]

注：与正常组比较，^ΔP < 0.05；与模型组比较，[▲]P < 0.05。

3 讨论

ASM 增殖和肥大会导致气道管壁增厚, 引起气道狭窄, 从而加重气流的受限程度。各种因素导致 ASM 异常增殖在 COPD 气道重构中起决定性的作用。ASM 增殖的本质是慢性炎症下气道反复损伤与修复

的结果,在这过程中有大量的炎症介质和基因被激活^[8]。

基因的转录调控是一个多步骤的复杂过程。核心组蛋白共价修饰可通过改变核小体的构型而调控基因转录。组蛋白乙酰化是组蛋白共价修饰的主要方式,主要受到 HAT/HDAC 共同调控^[9]。香烟烟雾可引起机体氧化/抗氧化失衡,从而降低 COPD 模型大鼠肺组织中 HDAC2 活性和表达,并使组蛋白 H4 乙酰化水平增高,促进多种炎症细胞因子与炎症介质的表达^[2,10]。HDAC2 的表达增高使乙酰化组蛋白 H4 去乙酰化,从而抑制炎症基因转录^[11]。

NF- κ B 作为信号转导途径中关键性炎症因子,与机体免疫、炎症反应、细胞的增殖与凋亡等有着密切联系。吸烟引起的氧化应激和肺部炎症反应都可活化细胞内 NF- κ B。NF- κ B 信号通路的激活在 ASM 的增殖过程中起着重要的作用^[12],是 ASM 增殖过程中重要的激活通路^[13],NF- κ B 的表达增高可促进 ASM 增殖^[14]。

本实验结果表明,与正常组比较,模型组气道管壁和 ASMC 厚度明显增高($P < 0.05$),提示模型组大鼠存在 ASM 异常增殖;模型组乙酰化组蛋白 H4 的蛋白表达、NF- κ B p65 mRNA 和蛋白的表达均明显增高($P < 0.05$),HDAC2 mRNA 和蛋白的表达却明显降低($P < 0.05$),提示 HDAC2 表达降低,促进组蛋白 H4 乙酰化,进一步促进 NF- κ B p65 基因转录和表达,导致 ASM 增殖。

肺虚卫气不足,卫外不固,呼吸道防御机能和免疫调节能力下降,则易受邪侵而发病。随病情的发展,又常累及它脏,肺病及脾,肺虚及肾,三脏相互作用,其功能失调导致痰瘀的产生。COPD 形成并持续发展会进一步加重肺气虚。因此,重视 COPD 肺气虚证的治疗尤为重要。参芪补肺汤由黄芪、党参、补骨脂、丹参、紫菀、百部、桑白皮组成。诸药合用以补肺气为首要,共奏补肺健脾益肾兼化痰活血化瘀之功。本实验结果表明,与模型组比较,参芪补肺汤组和氨茶碱组气道管壁和 ASM 增厚明显降低($P < 0.05$),乙酰化组蛋白 H4 的蛋白表达、NF- κ B p65 mRNA 和

蛋白的表达均明显降低($P < 0.05$);HDAC2 mRNA 和蛋白的表达明显升高($P < 0.05$)。提示参芪补肺汤能提高 HDAC2 的表达,促使乙酰化组蛋白 H4 去乙酰化,从而降低 NF- κ B p65 的基因转录,阻断 NF- κ B 途径,从而抑制模型大鼠 ASM 增殖。

参考文献:

- [1] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2013, 36(4): 255-264.
- [2] 王丽静, 罗百灵, 李秀英. 组蛋白乙酰化转移酶/组蛋白去乙酰基酶在慢性阻塞性肺疾病发病机制和治疗中的研究进展[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2010, 33(1): 67-68.
- [3] 张杰, 冷传礼, 于文成. COPD 病人肺组织中 NF- κ B 的表达及意义[J]. 青岛大学医学院学报, 2011, 5(47): 429-430.
- [4] 张葵, 滕久祥. 参芪补肺汤治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期肺气虚证的临床及实验研究[D]. 湖南: 湖南中医药大学, 2009.
- [5] 张培琴, 张葵, 刘瑶, 等. 参芪补肺汤对 COPD 模型大鼠气道结构和肺功能的影响[J]. 中国药房, 2010, 7(21): 595-597.
- [6] 李泽庚, 彭波, 张杰根, 等. 肺气虚证模型大鼠的建立[J]. 北京中医, 2005, 24(1): 53-55.
- [7] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2013, 36(4): 1-10.
- [8] 胥武剑, 宁允叶, 洪伟峻, 等. 慢性哮喘肺组织组蛋白去乙酰化酶活性降低对气道平滑肌细胞表型转变的影响[J]. 第二军医大学学报, 2010, 31(9): 937-941.
- [9] 邹志. 组蛋白乙酰化/去乙酰化与肺部疾病[J]. 医学综述, 2007, 13(23): 1763-1765.
- [10] Adcock IM, Tsaprouni L, Bhavsar P, et al. Epigenetic regulation of airway inflammation[J]. Curr Opin Immunol, 2007, 19: 694-700.
- [11] 王丽静, 罗百灵, 李秀英. 组蛋白乙酰化转移酶/组蛋白去乙酰基酶在慢性阻塞性肺疾病发病机制和治疗中的研究进展[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2010, 1(33): 67-68.
- [12] 许淑云, 徐永健, 张珍祥. NF- κ B 在平滑肌细胞增殖信号转导中的调控作用[J]. 国外医学呼吸杂志, 2005, 25(4): 285-288.
- [13] 宋颖芳, 张耀亭, 李焕章. 核因子 NF- κ B 对气道平滑肌细胞增殖的影响[J]. 西北国防医学杂志, 2007, 28(1): 32-34.
- [14] 韦江红, 莫碧文, 黄剑伟. TLR4/NF- κ B 对哮喘大鼠气道平滑肌细胞增殖、凋亡的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2011, 21(25): 3110-3115.

(编辑: 宋威)