

· 论 著 ·

红霉素对哮喘豚鼠气道炎症的影响

卢红艳, 镇春先, 毛开心, 周雄飞

(咸宁医学院儿科教研室, 湖北 咸宁 437100)

[摘 要] 目的 探讨红霉素对哮喘豚鼠气道炎症的影响。方法 以卵蛋白(OVA)致敏的过敏性哮喘豚鼠为模型, 诱喘后 24 h 取支气管肺泡灌洗液(BALF)进行细胞分类及右肺中叶 HE 染色, 镜下观察支气管肺组织形态学改变并对 BALF 及气道壁嗜酸粒细胞、中性粒细胞、单核细胞进行计数。结果 哮喘组 BALF 及支气管管壁嗜酸粒细胞、中性粒细胞、单核细胞数分别为: [BALF $(10.9 \pm 1.2) \times 10^8/L$, $(3.9 \pm 0.7) \times 10^8/L$, $(4.2 \pm 1.0) \times 10^8/L$; 支气管管壁 (73.6 ± 8.8) 个/HP, (7.1 ± 1.9) 个/HP, (3.5 ± 0.7) 个/HP], 分别与正常对照组比较 [BALF $(0.5 \pm 0.1) \times 10^8/L$, $(0.4 \pm 0.1) \times 10^8/L$, $(2.0 \pm 0.4) \times 10^8/L$; 支气管管壁 (5.5 ± 1.6) 个/HP, (1.2 ± 0.9) 个/HP, (0.7 ± 0.5) 个/HP], 均显著增高 ($P < 0.01$ 或 0.05), 红霉素组 BALF 及支气管管壁嗜酸粒细胞、中性粒细胞、单核细胞数分别为 [BALF $(3.3 \pm 0.5) \times 10^8/L$, $(1.7 \pm 0.2) \times 10^8/L$, $(3.1 \pm 0.7) \times 10^8/L$; 支气管管壁 (38.7 ± 5.6) 个/HP, (3.7 ± 0.8) 个/HP, (2.2 ± 1.0) 个/HP], 较哮喘组明显下降 ($P < 0.01$ 或 0.05), 但较正常对照组仍显著增加 ($P < 0.01$ 或 0.05)。结论 红霉素能减轻哮喘豚鼠气道炎症反应, 具有抗炎作用, 但红霉素不能完全阻断这种气道炎症反应。
[中国当代儿科杂志, 2003, 5(2): 123-126]

[关 键 词] 红霉素; 支气管哮喘; 气道炎症

[中图分类号] R-332; R562.2⁺5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2003)02-0123-04

Effect of Erythromycin on Airway Inflammation in Asthmatic Guinea Pigs

Hong-Yan LU, Chun-Xian ZHEN, Kai-Xin MAO, Xiong-Fei ZHOU. Department of Pediatrics, Xianning Medical College, Xianning, Hubei 437100, China (Email: dxychl@sohu.com)

Abstract: **Objective** To study the effect of erythromycin on airway inflammation in asthmatic guinea pigs. **Methods** A model of allergic asthma was developed by sensitizing guinea pigs with ovalbumin. Twenty-four hours after the induction of asthma, cells in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were categorized, the right lung was processed for histopathological examination and the numbers of eosinophils, neutrophils and monocytes in the BALF and bronchial lumen were counted. Eight normal guinea pigs were used as the controls. **Results** The numbers of eosinophils, neutrophils and monocytes in the BALF [(10.9 ± 1.2) , (3.9 ± 0.7) and $(4.2 \pm 1.0) \times 10^8/L$, respectively] and bronchial lumen [(73.6 ± 8.8) , (7.1 ± 1.9) and (3.5 ± 0.7) high powered field (HP), respectively] of the asthma group were significantly higher compared to those in the BALF [(0.5 ± 0.1) , (0.4 ± 0.1) and $(2.0 \pm 0.4) \times 10^8/L$, respectively] and bronchial lumen [(5.5 ± 1.6) , (1.2 ± 0.9) and (0.7 ± 0.5) /HP, respectively] of the controls ($P < 0.01$ or 0.05). After pretreatment with erythromycin, eosinophils, neutrophils, and monocytes in the BALF [(3.3 ± 0.5) , (1.7 ± 0.2) and $(3.1 \pm 0.7) \times 10^8/L$, respectively] and bronchial lumen [(38.7 ± 5.6) , (3.7 ± 0.8) and (2.2 ± 1.0) /HP, respectively] of the asthma group decreased significantly ($P < 0.01$ or 0.05), but remained higher than those of the controls. **Conclusions** Erythromycin alleviates but does not block completely airway inflammatory reactivity.

[Chin J Contemp Pediatr, 2003, 5(2): 123-126]

Key words: Erythromycin; Bronchial asthma; Airway inflammation; Guinea pig

红霉素是大环内酯类抗生素, 近年研究发现其具有抗炎和免疫调节作用^[1]。支气管哮喘的主要病理改变是气道慢性炎症, 因此, 我们利用以卵蛋白致敏的过敏性哮喘豚鼠为模型, 探讨红霉素对哮喘

[收稿日期] 2002-09-26; [修回日期] 2002-12-25

[作者简介] 卢红艳(1970-), 女, 硕士, 讲师, 主治医师。主攻方向: 呼吸系统疾病。

[通讯作者] 卢红艳, 湖北省咸宁市温泉桂花路3号, 咸宁医学院儿科教研室, 邮编: 437100。

豚鼠气道炎症的影响,为红霉素的临床应用开辟新途径。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康成年豚鼠,体重(300 ± 50) g,由湖北省医学科学院实验动物中心提供。

1.2 主要药品和试剂

红霉素(北京第六制药厂),0.25 g/瓶,批号:000113;地塞米松注射液(湖北恒生药业股份有限公司),5 mg/ml,批号:0106025;卵蛋白(OVA,美国Sigma公司),其它药品与试剂均为市售分析纯。

1.3 实验分组

豚鼠32只,按体重大小分为4组,每组8只。哮喘组:参照郭鹏的方法^[2]复制哮喘模型,实验开始日给豚鼠腹腔注射10%卵蛋白生理盐水1 ml致敏豚鼠,2周后将豚鼠置于4 L密闭玻璃罩内,雾化吸入1%卵蛋白生理盐水诱发其哮喘发作;红霉素组:致敏与诱发同哮喘组,诱发前半小时腹腔注射红霉素50 mg/kg;地塞米松组:致敏与诱发同哮喘组,诱发前半小时腹腔注射地塞米松10 mg/kg;正常对照组:用同等量生理盐水代替卵蛋白腹腔注射和雾化吸入,余处理同哮喘组。

1.4 支气管肺泡灌洗液及肺组织切片制备

豚鼠诱喘后24 h用10%水合氯醛400 mg/kg腹腔注射麻醉,气管插管,以50 ml无菌生理盐水灌洗肺脏(10 ml/次,共5次),收集支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF),将BALF以1 500 r/min离心10 min,离心沉淀细胞即刻涂片,吹干进行Wright-Giemsa染色,油镜下行细胞分类,灌洗后的肺组织从气管内缓慢灌入4%多聚甲醛0.1 M pH 7.4磷酸盐缓冲液至右肺膨胀,然后结扎右支气管,置同一固定液固定12~24 h。取右肺中叶组织,常规石蜡包埋、切片,用于HE染色、光镜观察,每只豚鼠肺组织切片选择结构较完整的支气管,光镜下计数10个高倍镜下($\times 400$)支气管壁内嗜酸性粒细胞、中性粒细胞及单核细胞数,计算其平均数。

1.5 统计学分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,并作组间 q 检验。

2 结果

2.1 各组豚鼠支气管肺组织结构的变化

正常对照组支气管、肺组织结构正常,各级支气管上皮完整,支气管及肺泡区炎性细胞浸润少见;哮喘组支气管粘膜上皮及肺泡上皮部分脱落、中断,支气管及周围肺组织炎性细胞浸润明显增多,伴局灶性肺气肿,支气管腔内有时可见粘液栓。红霉素组和地塞米松组粘膜上皮脱落明显好转,粘膜上皮排列渐规整,管腔内无粘液栓形成,支气管及肺泡区炎性细胞浸润明显减少。见图1~4。

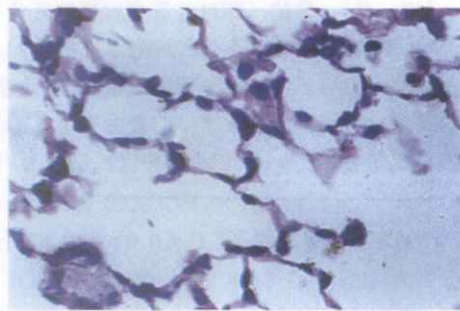


图1 正常对照组肺组织无明显炎性细胞浸润,HE $\times 400$
Figure 1 There was no infiltrated inflammatory cells in the alveolus of the normal control group (HE $\times 400$)

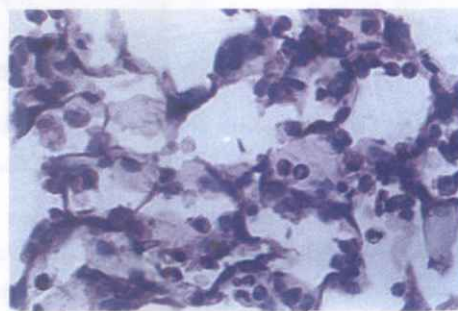


图2 哮喘组肺组织大量炎性细胞浸润,HE $\times 400$
Figure 2 There were many infiltrated inflammatory cells in the alveolus of the asthma group (HE $\times 400$)

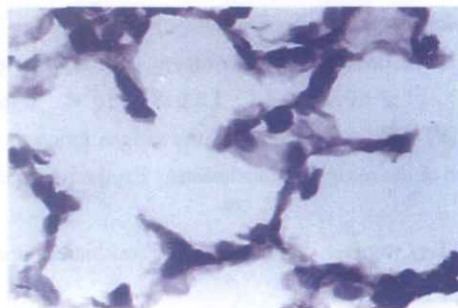


图3 红霉素组肺组织炎性细胞浸润较哮喘组明显减少,HE $\times 400$

Figure 3 The number of infiltrated inflammatory cells in the alveolus of the erythromycin group decreased significantly compared with that of the asthma group (HE $\times 400$)

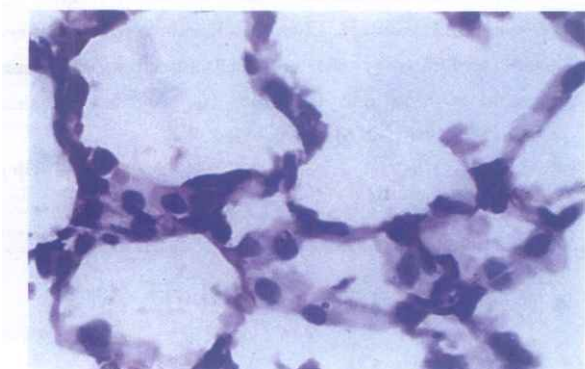


图4 地塞米松组肺组织炎性细胞浸润较哮喘组明显减少, HE×400

Figure 4 The number of infiltrated inflammatory cell in the alveolus of the dexamethasone group decreased significantly compared with that of the asthma group (HE×400)

2.2 各组豚鼠 BALF 中细胞成分的变化

哮喘组 BALF 中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、单核细胞较正常对照组明显增加 ($P < 0.01$ 或 0.05), 用红霉素或地塞米松早期干预后, 上述 3 项指标较哮喘组明显下降, 差异有显著性 ($P < 0.01$ 或 0.05), 红霉素组嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、单核细胞数较正常对照组仍显著增加 ($P < 0.01$ 或 0.05), 地塞米松组单核细胞与正常对照组相比差异无显著性。结果见表 1。

表1 各组 BALF 中细胞成份的变化
Table 1 Profile of cells in the BALF of each group
($\bar{x} \pm s \times 10^8/L$)

组别	嗜酸性粒细胞	中性粒细胞	单核细胞
正常对照组	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	2.0 ± 0.4
哮喘组	10.9 ± 1.2^b	3.9 ± 0.7^b	4.2 ± 1.0^a
红霉素组	$3.3 \pm 0.5^{b,d}$	$1.7 \pm 0.2^{a,c}$	$3.1 \pm 0.7^{a,c}$
地塞米松组	$2.1 \pm 0.5^{b,d}$	$1.3 \pm 0.3^{a,c}$	2.4 ± 0.7^c

注: a 与正常对照组比 $P < 0.05$; b 与正常对照组比 $P < 0.01$; c 与哮喘组比 $P < 0.05$; d 与哮喘组比 $P < 0.01$

2.3 各组豚鼠支气管壁炎性细胞浸润的变化

哮喘组嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、单核细胞在气道壁的浸润较正常对照组明显增多 ($P < 0.01$), 且主要以嗜酸性粒细胞浸润为主, 红霉素组和地塞米松组上述炎性细胞较哮喘组明显下降 ($P < 0.01$ 或 0.05), 但较正常对照组仍显著增高 ($P < 0.01$ 或 0.05)。结果见表 2。

表2 各组支气管壁炎性细胞浸润的变化

Table 2 Changes of inflammatory cells in the bronchial mucus of each group ($\bar{x} \pm s$, 个/HP)

组别	嗜酸性粒细胞	中性粒细胞	单核细胞
正常对照组	5.5 ± 1.6	1.2 ± 0.9	0.7 ± 0.5
哮喘组	73.6 ± 8.8^b	7.1 ± 1.9^b	3.5 ± 0.7^b
红霉素组	$38.7 \pm 5.6^{b,d}$	$3.7 \pm 0.8^{a,c}$	$2.2 \pm 1.0^{b,c}$
地塞米松组	$29.2 \pm 5.3^{b,d}$	$3.3 \pm 0.6^{b,d}$	$1.4 \pm 0.6^{a,d}$

注: a 与正常对照组比 $P < 0.05$; b 与正常对照组比 $P < 0.01$; c 与哮喘组比 $P < 0.05$; d 与哮喘组比 $P < 0.01$

3 讨论

气道的慢性非特异性炎症反应是哮喘形成发展的主要环节, 多种炎症细胞和细胞因子参与了这一过程^[3,4]。嗜酸性粒细胞、中性粒细胞及单核细胞是参与哮喘发病的主要炎性细胞。本实验发现, 红霉素组 BALF 中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞及单核细胞数显著低于哮喘组, 病理标本上, 红霉素组支气管肺组织嗜酸性粒细胞、中性粒细胞及单核细胞浸润较哮喘组明显减少, 说明红霉素能抑制上述炎性细胞在气道的浸润, 提示红霉素具有抗菌以外的抗炎作用。有资料表明^[5]小剂量红霉素口服时, 血清内的红霉素浓度低于治疗病原菌所必需的最小浓度, 但中性粒细胞和单核巨噬细胞内的浓度是血清的 10~20 倍, 因此认为红霉素可能作用于细胞内信号传导, 直接或间接降低细胞趋化性, 抑制气道炎症的形成。Kawasaki^[6]发现红霉素在治疗剂量时可抑制人支气管上皮细胞产生白细胞介素 8 (IL-8)、粒细胞单核细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 和白细胞介素 6 (IL-6), 降低细胞间粘附分子 1 在上皮细胞的表达, 因此推测红霉素也可能通过抑制这些炎症细胞因子而发挥其抗炎作用。

与正常对照组比, 红霉素组 BALF 及气道中上述炎性细胞仍显著增高, 说明红霉素仅可在一定程度上减轻哮喘的气道炎症, 不能完全阻断气道炎症反应。红霉素组与地塞米松组相比, 嗜酸性粒细胞及中性粒细胞在气道的浸润没有明显差异, 说明红霉素与地塞米松有着某些类似的抗炎作用, 因此红霉素与地塞米松联用是否可减少激素用量, 发挥最佳抗炎效果有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 茅宝山. 大环内酯类药物的抗炎作用——一个新的治疗动向

- [J]. 临床儿科杂志, 2002, 20(1): 49-50.
- [2] 郭鹂. 人类疾病的动物模型 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982, 247-248.
- [3] 曾泽成, 崔德健, 梁延杰, 等. 哮喘豚鼠模型细支气管和肺组织的病理学研究 [J]. 中华内科杂志, 2001, 40(3): 159-161.
- [4] 李明华, 杨丽华, 叶世泰. 与支气管哮喘发病有关的细胞因子 [J]. 国外医学内科学分册, 1997, 24(12): 507-510.
- [5] Hand WL, King-Thompson NL. Interactions of antibiotics and phagocytosis [J]. Antimicrob Chemother, 1993, 12(Suppl): 1-11.
- [6] Kawasaki S, Takizawa H, Ohtoshi T. Roxithromycin inhibits cytokine production by and neutrophil attachment to human bronchial epithelial cells in vitro [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1998, 42(6): 1499-1502.

(本文编辑: 吉耕中)

· 病例报告 ·

新生儿先天性甲状旁腺功能亢进症 1 例

王军, 庞琳, 张绍美

(徐州医学院附属医院儿科, 江苏 徐州 221002)

[中图分类号] R722; R582⁺1 [文献标识码] E

患儿, 男, 45 d。生后因“青紫窒息后 1 d”入当地医院住院, 诊断为“新生儿缺氧缺血性脑病, 新生儿肺炎”。入院后给予氧疗、脱水降颅压、保护脑细胞功能等治疗。入院期间多次查电解质均提示血钙较高, 血磷正常或偏低, 至生后 45 d 因“发现高钙血症 1 月余”转入我院。病中精神较差, 表情淡漠, 大小便正常, 吃奶稍差, 无呕吐及腹泻, 不发热, 无抽搐等。患儿系第 1 胎第 1 产, 足月产, 出生时青紫窒息。家族中无类似患者。查体: 神志清楚, 反应稍差, 营养发育一般, T 36.7℃, P 140 次/min, R 32 次/min, 体重 3 500 g, 头围 36 cm, 前囟平软 3.5 cm × 3.5 cm, 后囟未闭, 头颅无畸形, 颅缝无开裂, 浅表淋巴结不肿大, 眼、耳、鼻、口无畸形, 颈软, 胸廓无畸形, 两肺呼吸音清晰, 未闻及罗音, 心率 140 次/min, 律齐, 无杂音, 腹软, 肝脾肋下未及, 四肢肌张力不高, 吸吮反射、拥抱反射、觅食反射可引出, 巴氏征阴性, 克氏征阴性。辅助检查: 血钙 (共 4 次) 5.40 mmol/L、5.53 mmol/L、4.96 mmol/L、5.03 mmol/L (正常值为 2.10 ~ 2.55 mmol/L); 血磷 (共 4 次) 1.09 mmol/L、0.58 mmol/L、0.75 mmol/L、0.8 mmol/L (正常值为 0.82 ~ 1.60 mmol/L); 碱性磷酸酶 675 U/L (正常值为 42 ~ 128 U/L); 甲状旁腺素 504 pg/ml (正常值为 12 ~ 72 pg/ml); 血气分析 pH 7.402、PaCO₂ 32 mmol/L、PaO₂ 103.5 mmol/L、HCO₃⁻ 19.5 mmol/L、

TCO₂ 20.5 mmol/L、BE -3.8 mmol/L、SaO₂ 97.8%; 24 h 尿钙 (共 2 次) 4.29 mmol、1.56 mmol (正常值为 <1.0 mmol/24 h 尿)、24 h 尿磷 (共 2 次) 0.276 mmol、0.264 mmol (正常值为 <6.4 mmol/24 h 尿)、24 h 尿肌酐 210.6 μmol (正常值为 88 ~ 176 μmol/kg)、24 h 尿蛋白 0.014 g (正常值为 <0.04 g/24 h 尿)、T₃ 0.76 ng/L (正常值为 0.60 ~ 1.81 ng/L)、T₄ 59.87 ng/L (正常值为 52 ~ 127 ng/L)、TSH 8.98 IU/ml (正常值为 0.6 ~ 10 IU/ml); 膝关节正位片未示异常, 头颅 CT 检查未示异常, ECT 检查未探及甲状旁腺腺瘤征象, 肝胆 B 超未示异常。确诊为先天性甲状旁腺功能亢进症, 予密钙息、磷酸盐治疗, 血钙降至 2.34 mmol/L 出院。

先天性甲状旁腺功能亢进症, 新生儿期发病少见。大多由于甲状旁腺腺瘤或增生引起, 也可为家族遗传性疾病, 是由腺体 Clear cell 增生所致, 为常染色体隐性遗传, 多在婴儿期发病, 病情凶险。先天性甲状旁腺功能亢进症主要表现为: ①高血钙, 使神经肌肉兴奋性降低, 精神不振; ②泌尿系统, 主要为多饮多尿, 泌尿系结石; ③骨骼软化等症状。新生儿先天性甲状旁腺功能亢进症可有肌张力低下, 哭声低弱, 喂养困难, 便秘, 呼吸困难等。临床较少见, 诊断多依靠高血钙, 低血磷, PTH 增高。治疗根据不同病因采取磷酸盐、降钙素或手术治疗。

(本文编辑: 吉耕中)