

实验研究

苓丹片、青蒿琥酯对系统性红斑狼疮小鼠
白细胞介素 2 水平的影响张剑勇¹ 林培政² 廖枣园² 徐秋英²

摘要 目的:进一步研究系统性红斑狼疮(SLE)的免疫发病机理。方法:腹腔注射大肠杆菌脂多糖(LPS)100 μ g/只,诱导 BALB/C 小鼠多克隆 B 细胞活化致免疫机能紊乱的 SLE 样模型。结果:造模各组白细胞介素 2(IL-2)水平均显著降低;复合给药组与模型组比较,IL-2 水平明显升高,而单独给药组较之模型组指标无明显改善。结论:该模型能较好地模拟人类 SLE 热毒炽盛,内伏营血为患的伏气病机。苓丹片配青蒿琥酯及少量激素既可起协同作用,又可减少激素用量。

主题词 青蒿素/药理学 中成药/药理学 红斑狼疮,系统性/中医药疗法

我们于 1997 年 10 月~1998 年 3 月用细菌脂多糖(LPS)诱导小鼠多克隆 B 细胞活化致免疫机能紊乱的 SLE 动物模型,观察了苓丹片、青蒿琥酯的作用,现将结果报告如下。

1 材料

1.1 动物 BALB/C 纯种小鼠,20~22g,8~10 周龄,雌性,由第一军医大学实验动物中心提供。

1.2 药物:苓丹片(由土茯苓、牡丹皮、青蒿、鳖甲、生地黄、知母、猪苓、秦艽、玄参、甘草等组成),由广州中医药大学第一附属医院制剂室提供,规格 0.3g $\times$ 72 片/瓶,批号为 960920。青蒿琥酯,广西桂林第二制药厂生产,规格 50mg $\times$ 12 片/盒,批号为 961102。强的松由仙居制药股份有限公司出品,规格 5mg $\times$ 100 片/瓶,批号为 961216。实验动物每日给药量相当于人体用量的 25 倍。

1.3 试剂:LPS 购于北京天象人生物工程有限公司广州分公司,目录号为 CH0050-1。

2 方法

2.1 模型复制:参照 WHO 免疫研究教学中心(WHO Immunology Research and Training Centre) Cavallo^[1]、Francisco 等^[2,3]报道方法,腹腔注射

LPS100 μ g/只(溶于 0.9%生理盐水 0.2ml),于造模前 1.5h 按分组灌胃给予相应药物,于 168h 后用割尾采血法制备标本,检测各项指标:症状与体征、实验动物死亡情况、IL-2 水平^[4]、光镜下有关脏器组织的形态学检查。

2.2 动物分组及治疗方法:90 只小鼠随机分 9 组,设正常对照组及 SLE 模型对照组,给药各组分别为:A 组:苓丹片水溶液 50ml $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹,溶液浓度为 4.5%;B 组:青蒿琥酯水溶液 50ml $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹,溶液浓度为 0.1%;C 组:强的松水溶液 50ml $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹,溶液浓度为 0.05%;D 组:即 A 组药+B 组药,予 50ml $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹,浓度为 4.6%;E 组:即 A 组药+1/2C 组药,予 50ml $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹溶液,浓度为 4.525%;F 组:即 B 组药+1/2C 组药,予 50ml $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹,溶液浓度为 0.125%及 G 组:即 A 组药+B 组药+1/2C 组药,予 50ml $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹,溶液浓度为 4.625%。均于每日上午 8 时灌胃给药或等量生理盐水,共 7 天。

2.3 统计学方法:两均数差别的显著检验用 *t* 检验,率差别的显著检验用 χ^2 检验。

3 结果

3.1 动物主要症状、体征:小鼠于造模前 1 天上、下午各测肛温 1 次,取均值作为基础体温。造模后 6h 动物活动度降低,蜷曲,不欲觅食、饮水,体温略有升高;12h 后症状、体征明显,且逐渐加剧;造模后 24h 造模组小鼠均呈现体温升高,呼吸急促,心率加快,且精神萎靡不振,喜拥挤成团,饮食减少,懒动,大便稀溏,被毛散乱,且出现动物抽搐死亡现象。动物死亡多发生于造模后 24~60h 内,尤以模型组为甚。从造模第 72h 起,除模型组外,各组小鼠一般状况均有不同程度的恢复,体温降低,饮食增加,大便成形,精神状况逐步好转,其中尤以复合给药组一般状况改善最为明显,其次是两药合用组,再次是一药物组。

3.2 动物死亡率:各组小鼠死亡率以模型组最高(40%),其次是两药合用组(20%),再次是一药物组(10%),而复合给药组无 1 例死亡。

3.3 脏器组织的形态学变化:正常对照组动物肾组织

基金项目:广东省科委重点科技攻关项目(96021),广东省中医药管理局资助课题(96032,97074)

1 深圳市中医院风湿免疫科,深圳市福华路 1 号(518033)

2 广州中医药大学

收稿日期:2000-08-08;修回日期:2001-08-29

结构正常,肝小叶结构清晰,肝细胞浆红,汇管区未见炎性细胞浸润。模型组动物肾小血管内膜增生,肾集合管腔内见蛋白管型,肾小球毛细血管丛增生、充血,基底膜增厚;肝脏可见小灶性肝细胞坏死,肝内坏死区可找见大量狼疮细胞。说明所造动物模型符合 SLE 病理改变特点。单一给药组动物肾小球毛细血管轻度充血,基底膜稍增厚,肾间质血管轻度充血,个别管腔见少量蛋白;肝细胞呈细胞内水肿,见小灶性坏死。两药合用组动物肾小球毛细血管轻度充血,近曲小管上皮细胞内水肿,部分集合管腔内可见少量蛋白;肝细胞呈细胞内水肿,个别区域见小灶状坏死。而三药合用组肾小管细胞内水肿极轻,管腔内未见蛋白,肾小球毛细血管充血;肝细胞内水肿极轻。

3.4 IL-2 水平检测情况比较:由表 1 可知,造模各组(除 G 组外)IL-2 水平值均显著降低($P<0.05\sim 0.01$);复合给药组(D、E、F、G 组)与模型组比较,IL-2 水平明显升高($P<0.05\sim 0.01$),而单独给药组(A、B、C 组)较之模型组指标无明显改善($P>0.05$)。

附表 SLE 各组动物 IL-2 水平变化比较(ng/ml, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	IL-2 水平
正常对照组	10	8.29±0.75 ^{△△}
模型对照组	6	5.94±1.52 ^{**}
A 组	8	6.11±0.72 ^{**}
B 组	8	6.31±0.99 ^{**}
C 组	8	6.21±0.67 ^{**}
D 组	9	7.10±0.56 ^{*△}
E 组	9	7.15±0.43 ^{*△}
F 组	9	7.23±0.68 ^{*△}
G 组	10	7.99±0.61 ^{△△}

与正常组对照比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与模型对照组比较, △ $P<0.05$, △△ $P<0.01$

4 讨论

SLE 动物模型模拟 SLE 动物模型的研究已有 20 余年的历史,目前已主要建立了两类:自发型 SLE 样小鼠模型和诱导型 SLE 样小鼠模型。国内高春芳等^[5]诱导出了免疫复合物介导的肾小球肾炎等 SLE 样小鼠模型,并观察了青蒿琥酯的影响。本文采用 WHO 免疫研究教学中心建立的方法造模。该模型在造模后迅

速出现体温升高,呼吸急促,心跳加速等“热”象,且见神疲食少,懒动等症,与活动期 SLE 患者临床表现出热炽毒盛,损伤津气之高热、疲乏无力、倦怠懒言,腹胀纳呆等症相吻合。造模组自然死亡动物解剖后见肝脏瘀血,肠粘膜广泛出血点,表现出与人类 SLE 热毒深伏营血,血络受损,瘀血形成而见斑疹、瘀斑或瘀点、紫癜等出现见症的一致性。病理镜下观察可见模型组动物肾小血管内膜增生、充血,基底膜增厚,肾集合管腔内见蛋白管型;肝脏坏死区内可找见大量狼疮细胞。实验室检测造模各组 IL-2 水平显著异常。上述结果与有关文献报道是一致的,该模型不仅可模拟人类 SLE 表现,且亦能较好地模拟人类 SLE 热毒炽盛,内伏营血为患的伏气病机。

苓丹片、青蒿琥酯的作用:实验结果表明,单一给药组在降低体温,改善饮食、活动状况,大便及降低死亡率等方面均有一定的影响,但对 IL-2 异常的矫正无统计学意义。二药合用有协同作用,三药合用在改善小鼠一般状况,降低死亡率及升高 IL-2 水平方面均显著为优,初步认为苓丹片和青蒿琥酯、激素联用,可起协同作用,但其作用机理还有待于进一步工作加以揭示。

参考文献

- 1 Cavallo T, Goldman M, Lambert PH. Animal model of human disease. Proliferative glomerulonephritis associated with polyclonal B-cell activation. Animal model of human disease. Am J Pathol, 1984, 114(2): 346-348.
- 2 Ramos - Niembro F, Fournie G, Lambert PH. Induction of circulating immune complexes and their renal localization after acute or chronic polyclonal B-cell activation in mice. Kidney Int Suppl, 1982, 11: 29-38.
- 3 Izui S, Lambert PH, Fournie GJ, et al. Features of systemic lupus erythematosus in mice injected with bacterial lipopolysaccharides: identification of circulating DNA renal localization of DNA-anti-DNA complexes. J Exp Med, 1977, 145(5): 1115-1130.
- 4 吴元芳, 张雨龙, 贺战军, 等. 白细胞介素 2 放射免疫测定及其初步应用. 上海免疫学杂志, 1996, 16(4): 192.
- 5 高春芳, 高玉祥. 青蒿琥酯对红斑狼疮样小鼠模型的影响. 中华皮肤科杂志, 1995, 28(1): 17-19.

(上接第 137 页)

附表 胆石症中医不同证型全血粘度等指标检测值比较($\bar{x}\pm s$)

中医证型	例数	高切变率 (230g ⁻¹)	中切变率 (46g ⁻¹)	低切变率 (5.75g ⁻¹)	血浆粘度 (mPa·s)	红细胞压积 (%)	血沉 (mm/h)
肝郁气滞型	20	4.95±0.38 ^{**}	8.16±0.12 ^{**}	12.58±1.60 ^{**}	1.82±1.70	48.20±2.30 ^{**}	21.00±3.50 ^{**}
肝胆湿热型	15	4.12±0.26	7.80±1.80 ^{**}	10.20±2.10	1.60±0.90	46.00±1.70 ^{**}	20.00±2.80 ^{**}
肝郁脾虚型	10	3.90±0.31	6.90±2.20 ^{**}	10.10±1.80	1.60±0.40	46.20±0.80	16.00±0.90
正常对照组	30	3.88±1.50	4.55±1.96	10.39±1.10	1.46±1.50	43.00±4.01	15.00±2.20

(与正常对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$)