

刀豆蛋白 A 诱导小鼠实验性肝肾共损伤模型的建立

崔佳丽^{1,2}, 山丽梅^{1*}, 张萍¹, 王伽伯¹, 李宝才², 肖小河^{3*}

(1. 解放军 302 医院全军中医药研究所, 北京 100039; 2. 昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明 650224; 3. 解放军 302 医院中西医结合医学中心, 北京 100039)

[摘要] **目的:** 筛选并初步建立能够诱导小鼠肝肾同时损伤的实验动物模型, 为评价肝肾损伤治疗药物提供实验动物模型。**方法:** 考察尾静脉注射刀豆蛋白 A (Con A) 10, 15, 20, 40 mg·kg⁻¹, 造模时间 12 h; ig 给药 D-半乳糖胺 (D-Gal) 1 g·kg⁻¹ 及腹腔注射 0.3% 四氯化碳 (CCl₄) 20 mL·kg⁻¹ 60 mg·kg⁻¹, 造模时间 24 h; 药物对模型小鼠肝脏、肾脏的损伤作用, 通过检测肝肾功能相关的生化指标, 肝脏及肾脏病理组织学改变, 确定有效的造模方案。为进一步确定该模型是否能有效评价治疗肝肾损伤药物的药效, 考察了大黄甘草汤对小鼠肝肾损伤模型的保护作用。**结果:** 给予小鼠 1 g·kg⁻¹ D-Gal, CCl₄ 60 mL·kg⁻¹ 造模后, 其血清直接胆红素 (DBIL)、总胆红素 (TBIL)、丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST) 活性与对照组比较均显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 而尿素氮 (BUN)、肌酐 (CRE)、总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG), 血清总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB) 含量无明显变化, 组织病理变化与血清生化指标结果相同, 说明上述两种药物可诱发小鼠肝损伤模型, 但未检测到肾损伤相关生化指标及病理变化; 给予小鼠 Con A 20 mg·kg⁻¹ 造模后, 小鼠血清 DBIL, TBIL, ALT, AST, BUN, TC, TG, CRE, TP, ALB 值与对照组相比较差异显著 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 说明 Con A 20 mg·kg⁻¹ 可诱发小鼠肝肾同时损伤, 进一步优化模型, 确定 15 mg·kg⁻¹ Con A 为诱发小鼠肝肾损伤的最佳剂量; 给予模型验证方药大黄甘草汤干预后, 肝肾损伤小鼠的生化和组织学检查均有显著改善。**结论:** 初步建立尾静脉注射 Con A 15 mg·kg⁻¹ 诱导小鼠实验性肝肾同时损伤模型, 用大黄甘草汤验证说明模型建立成功。

[关键词] 肝肾损伤; 动物模型; 刀豆蛋白 A; 大黄甘草汤

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0210-05

Establishment of Simultaneous Liver and Kidney Lesion Model Induced by Concanavalin A in Mice

CUI Jia-li^{1,2}, SHAN Li-mei^{1*}, ZHANG Ping¹, WANG Jia-bo¹, LI Bao-cai², XIAO Xiao-he^{3*}

(1. China Military Institute of Chinese Materia Medica, 302 Military Hospital, Beijing 100039, China;
2. Kunming University of Science and Technology, Kunming 650224, China;
3. Integrative Medical Center of Traditional Chinese and Western Medicine, 302 Military Hospital, Beijing 100039, China)

[Abstract] **Objective:** To screen and establish the experimental animal model of simultaneous liver and kidney lesion in mice, and to provide experimental animal models for screening drugs which used to cure kidney and liver damage. **Method:** We investigated the damage effect of concanavalin A (Con A), D-galactosamine (D-Gal) and carbon tetrachloride (CCl₄) in the mouse liver and kidney, and we established the effective modeling method by determining the biochemical indicators and the histopathological changes related to the liver and kidney function. To further inspect if the model is able to effectively evaluate the efficacy of drugs for kidney and liver

[收稿日期] 20120228(001)

[基金项目] 国家公益性行业科研专项基金项目(200807020); 军队后勤科研项目(司科专 201089)

[第一作者] 崔佳丽, 在读硕士, 从事中药新药的研究与开发, E-mail: cuijiali19870626@126.com

[通讯作者] * 山丽梅, 博士, 主管药师, 从事中药药理研究, E-mail: slm0909@yahoo.com

* 肖小河, 博士, 研究员, 从事面向临床的中药标准化研究, E-mail: pharmacy302@126.com

damage, we study the protective effect of Dahuang Gancao decoction on liver and kidney damage using the established model. **Result:** $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ *D*-Gal, CCl_4 ($60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) could induce liver injury in mice, but there is no evident about the renal injury; $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Con A could induce liver and kidney damage simultaneously, and we determine the best dose of Con A to built simultaneous liver and kidney damage model as $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ after further optimization. The biochemical index and histological examination of kidney and liver damage mice were significantly improved after giving the prescription Dahuang Gancao decoction. **Conclusion:** We initially established the experimental model of simultaneous liver and kidney damage by injecting Con A $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ through tail vein, and proved to be successful by verification of Dahuang Gancao decoction.

[**Key words**] simultaneous liver and kidney lesion; animal model; concanavalin A; Dahuang Gancao decoction

肝肾损伤为临床常见疾病病理表现,如乙型肝炎病毒相关性肾炎(HBV-GN)、系统性红斑狼疮(SLE)、肝肾综合征(HRS)、重金属中毒、药物滥用致病等。肝肾同病的病死率高,临床治疗难度大,可用药物种类少。使用动物模型研发有效治疗药物是药物研究中极为重要的实验方法和手段^[1],但现有肝肾同时损伤的动物模型建立操作复杂、花费高昂^[2-3],滞后了对肝肾同时具有保护作用的药物的筛选,因此,经济、方便、操作简单的肝肾同时损伤动物模型建立问题亟待解决,本研究模型的建立,可为评价肝肾损伤治疗药物提供实验动物模型。

大黄甘草汤是临床常用经典方(张仲景,《金匮要略》),解放军302医院在长期临床应用中总结出应用大黄甘草方治疗HBV-GN的协定处方,临床效果显著。其有效治疗HBV-GN的机制可能与大黄和甘草均具有明确的抗乙肝病毒和免疫调节^[4-8]双重作用相关。

本研究对常规建立肝损伤的动物模型的方法进行研究,检测加大剂量是否会同时出现肾功能损伤。通过测定血清总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、直接胆红素(DBIL)、总胆红素(TBIL)、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、尿素氮(BUN)、肌酐(CRE)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)值及观察小鼠肝、肾组织的病理改变特点,明确肝肾功能改变。与文献报道不同,刀豆蛋白A(Con A)在大于 $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 静脉给药的情况下,可同时出现肝肾功损伤,为确定造模强度是否能用于治疗肝肾损伤的药物筛选,进一步考察并确定了不同剂量大黄甘草汤提取物对Con A造成的小鼠肝肾损伤模型的保护作用。

1 材料

1.1 动物 SPF级雄性昆明种小鼠112只,体重(22 ± 2)g,解放军军事医学科学院实验动物中心提供,动物许可证号SCXK(军)2007-004,实验前适应

性饲养3d,给予标准饲料、水。随机分为13组,每组8只。

1.2 药物 Con A(Sigma公司产品,批号C 2010)、*D*-半乳糖胺(*D*-Gal, Sigma公司产品,批号G0500)、四氯化碳(CCl_4 ,分析纯)。

1.3 试剂 血清总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、直接胆红素(DBIL)、总胆红素(TBIL)、尿素氮(BUN)、肌酐(CRE)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)(批号140710026, 140510023, 140210029, 140210017, 140410021, 140610025, 141610024, 141710026),试剂盒购于深圳迈瑞生物医疗有限公司。

1.4 仪器 BS 300全自动生化仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)。

2 方法

2.1 药物的制备 大黄、甘草饮片由解放军第302医院中药房提供,经肖小河研究员鉴定为蓼科植物药用大黄*Rheum officinale* Baill.的干燥根及根茎;光果甘草*Glycyrriza glabra* L.的干燥根和根茎。大黄与甘草2:1(大黄甘草汤)称重,8倍量水提取3次,每次1h。合并滤液,浓缩干燥备用。

2.2 小鼠实验性肝肾损伤模型的筛选

2.2.1 造模药物的筛选 Con A模型组:小鼠尾静脉注射Con A $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,造模后禁食不禁水,12h后,摘眼球取血,分离血清分别测定血清TP, ALB, DBIL, TBIL, ALT, AST, BUN, CRE, TC, TG, 留取肝脏、肾脏作病理切片观察。

D-半乳糖胺模型组:腹腔注射*D*-Gal $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,造模24h后处死,其余步骤与Con A模型组同。 CCl_4 模型组:腹腔注射0.3% CCl_4 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,造模24h后处死,其余步骤与Con A模型组同^[1]。空白对照组以等体积生理盐水代替静脉给药。

2.2.2 Con A剂量筛选 将Con A模型组小鼠按

给药剂量分为: Con A 模型组 1, Con A 10 mg·kg⁻¹; Con A 模型组 2, Con A 15 mg·kg⁻¹; Con A 模型组 3, Con A 20 mg·kg⁻¹; Con A 模型组 4, Con A 40 mg·kg⁻¹。空白对照组小鼠尾静脉注射等体积生理盐水。按 2.2.1 Con A 模型组项下步骤进行操作。

2.3 大黄甘草汤对小鼠肝肾损伤的保护作用研究

采用“防+治”原则,空白对照组和 Con A 模型对照组给予双蒸水,大黄甘草汤给药组分别给予对应大黄甘草汤提取物,给药组分别给予大黄甘草汤生药量 0.81, 1.22, 1.62 g·kg⁻¹·d⁻¹。连续 ig 3 d, 第 3 天给药前 1 h 除空白对照组外各组尾静脉注射 Con A 15 mg·kg⁻¹。其余步骤与 2.2.1 中 Con A 模型组同。

2.4 血清生化指标检测 取血后,在 3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,分离得血清,由中国人民解放军 302 医院检验科检测血清 TP, ALB, DBIL, TBIL, ALT, AST, BUN, CRE, TC, TG 水平。

2.5 病理检查 小鼠处死后即摘取肝、肾组织,固定于 10% 甲醛溶液内,经不同浓度的乙醇梯度脱水 and 二甲苯透明后,以石蜡包埋,切片,HE 染色,光镜观察。病理切片由北京雪邦科技有限公司制作、出具诊断报告。

2.6 统计学分析 数据处理采用 SPSS 18.0 统计

软件进行处理,各组数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组样本两两比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 血清生化指标改变

3.1.1 造模药物筛选 分别给予 3 种不同的造模药物后,与空白对照组比较,模型组血清 DBIL, TBIL, ALT, AST 均明显升高,差异显著 ($P < 0.01$, $P < 0.05$),说明上述 3 种药物均可引发小鼠肝损伤,其中仅 Con A 模型组 BUN, TC, TG 显著升高 ($P < 0.01$), CRE, ALB 显著降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。见表 1。

3.1.2 Con A 诱导小鼠肝肾损伤的剂量优选 Con A 40 mg·kg⁻¹ 组 8 只死亡 4 只,表明该剂量对小鼠毒性太大,不适合用于模型的建立,且由于数据太少无统计学意义,故不计入统计分析,且尾静脉注射 Con A 20 mg·kg⁻¹ 模型动物状态不佳,与空白对照组比较, Con A 10 mg·kg⁻¹ 模型组仅血清 TC, TG 明显升高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), Con A 15, 20 mg·kg⁻¹ 模型组 DBIL, TBIL, ALT, AST, BUN, TC, TG 均明显升高, CRE, TP, ALB 均降低,与对照组相比较差异显著 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。见表 2。

表 1 不同造模药物对小鼠血清生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	TP/g·L ⁻¹	ALB/g·L ⁻¹	DBIL/μmol·L ⁻¹	TBIL/μmol·L ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹
空白对照	-	49.33 ± 3.80	27.63 ± 2.79	0.35 ± 0.10	0.47 ± 0.16	43.83 ± 8.84
Con A 模型	20	44.78 ± 3.34	23.87 ± 1.74 ¹⁾	2.1 ± 1.02 ²⁾	4.83 ± 2.67 ²⁾	1031.17 ± 364.82 ²⁾
D-gal 模型	1 000	49.69 ± 1.72	29.33 ± 1.23	0.54 ± 0.18 ¹⁾	0.84 ± 0.26 ²⁾	116.88 ± 78.06 ¹⁾
CCl ₄ 模型	60	48.93 ± 3.30	28.47 ± 2.32	2.55 ± 1.21 ^{ΔΔ}	3.82 ± 1.42 ²⁾	4 959.67 ± 1 711.77 ²⁾

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	BUN/mmol·L ⁻¹	CRE/μmol·L ⁻¹	TC/mmol·L ⁻¹	TG/mmol·L ⁻¹
空白对照	-	105.83 ± 19.47	7.47 ± 1.18	32.83 ± 2.14	2.76 ± 0.24	0.90 ± 0.08
Con A 模型	20	1005.17 ± 291.42 ²⁾	12.05 ± 2.47 ²⁾	25.50 ± 5.75 ¹⁾	3.31 ± 0.41 ¹⁾	1.59 ± 0.18 ²⁾
D-gal 模型	1	161.50 ± 54.52 ¹⁾	8.35 ± 1.61	35.50 ± 3.16	2.47 ± 0.47	0.86 ± 0.32
CCl ₄ 模型	60	3 138.17 ± 1 706.9 ¹⁾	8.75 ± 2.01	34.67 ± 4.55	2.77 ± 0.68	0.89 ± 0.09

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

表 2 不同剂量 Con A 对小鼠血清生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	TP/g·L ⁻¹	ALB/g·L ⁻¹	DBIL/μmol·L ⁻¹	TBIL/μmol·L ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹
空白对照	-	49.33 ± 3.80	27.63 ± 2.79	0.35 ± 0.10	0.47 ± 0.16	43.83 ± 8.84
Con A 模型	10	46.20 ± 3.35	27.60 ± 1.95	0.38 ± 0.26	0.74 ± 0.62	125.40 ± 186.84
	15	41.60 ± 4.16 ²⁾	24.00 ± 1.00 ¹⁾	4.08 ± 0.69 ²⁾	2.36 ± 1.67 ¹⁾	728.80 ± 199.66 ²⁾
	20	44.78 ± 3.34	23.87 ± 1.74 ¹⁾	2.10 ± 1.02 ²⁾	4.83 ± 2.67 ²⁾	1 031.17 ± 364.82 ²⁾

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	BUN/mmol·L ⁻¹	CRE/μmol·L ⁻¹	TC/mmol·L ⁻¹	TG/mmol·L ⁻¹
空白对照	-	105.83 ± 19.47	7.47 ± 1.18	32.83 ± 2.14	2.76 ± 0.24	0.90 ± 0.08
Con A 模型	10	252.20 ± 271.45	12.32 ± 8.70	33.00 ± 1.00	3.62 ± 0.60 ¹⁾	3.67 ± 1.12 ²⁾
	15	818.60 ± 138.80 ²⁾	26.74 ± 14.72 ¹⁾	26.20 ± 15.82 ¹⁾	3.86 ± 0.81 ¹⁾	5.74 ± 1.10 ²⁾
	20	1 005.17 ± 291.42 ²⁾	12.05 ± 2.47 ²⁾	25.50 ± 5.75 ¹⁾	3.31 ± 0.41 ¹⁾	1.59 ± 0.18 ²⁾

3.1.3 大黄甘草汤对小鼠肝肾损伤模型的保护作用 与空白对照组比较,模型对照组血清 DBIL, TBIL, ALT, AST, BUN, CRE 均有明显变化,差异显著($P < 0.01$),表明尾静脉注射 Con A $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 成功复制了小鼠实验性肝肾同时损伤模型,模型重

复性良好。

给予大黄甘草汤干预后,与模型对照组对比,给药组血清 DBIL, TBIL, ALT, AST, BUN, CRE 均明显降低($P < 0.01, P < 0.05$),且中、高剂量组效果优于低剂量组,呈现出一定的剂量依赖关系。见表 3。

表 3 大黄甘草汤对 Con A 致肝肾损伤小鼠血清生化指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	DBIL/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	TBI/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	ALT/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	AST/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	BUN/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	CRE/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
空白对照	-	0.35 ± 0.10	0.47 ± 0.16	43.83 ± 8.84	105.83 ± 19.47	7.47 ± 1.18	32.83 ± 2.14
模型对照	-	$4.08 \pm 0.69^{2)}$	$2.36 \pm 1.67^{1)}$	$728.80 \pm 199.66^{2)}$	$818.60 \pm 138.80^{2)}$	$26.74 \pm 14.72^{1)}$	$14.86 \pm 9.04^{1)}$
大黄甘草汤	0.81	$1.69 \pm 1.39^{3)}$	$1.05 \pm 0.89^{3)}$	$374.02 \pm 299.16^{3)}$	448.82 ± 378.39	18.38 ± 7.86	19.43 ± 9.93
	1.22	$0.85 \pm 0.58^{4)}$	$0.44 \pm 0.23^{4)}$	$309.25 \pm 238.02^{4)}$	$313.46 \pm 331.01^{3)}$	$16.62 \pm 6.64^{3)}$	16.50 ± 8.26
	1.62	$0.66 \pm 0.25^{4)}$	$0.43 \pm 0.15^{4)}$	$240.54 \pm 161.77^{4)}$	$335.39 \pm 235.25^{4)}$	$18.57 \pm 3.38^{3)}$	$27.14 \pm 2.85^{4)}$

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型对照组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ 。

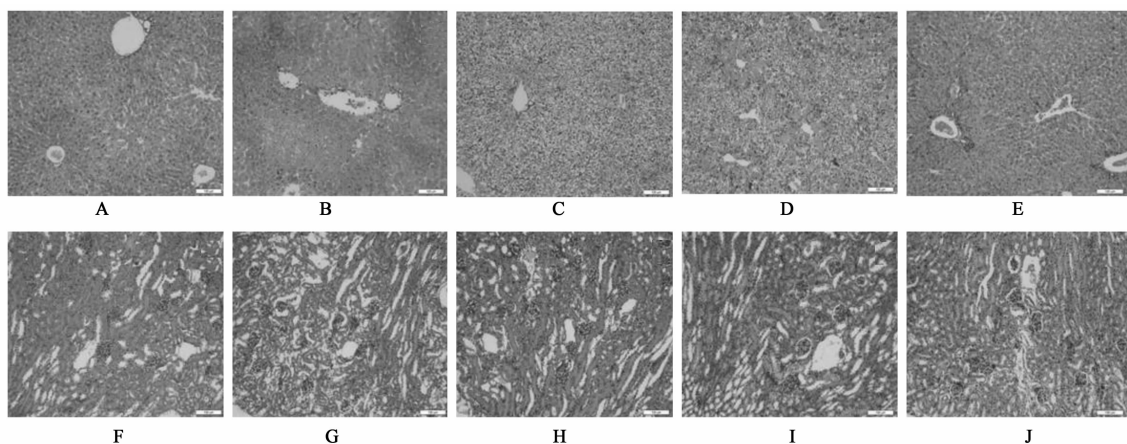
3.2 肝、肾组织形态学改变 空白对照组:肝小叶、汇管区结构清晰,肝细胞结构及形态正常。肾小球、肾皮质及肾髓质结构正常,近曲小管及远曲小管上皮细胞无变性,管腔大小正常,腔内未见各种管型。

Con A, D-gal 及 CCl_4 模型组肝组织均出现明显病变,肝小叶结构模糊,肝细胞索排列紊乱,肝细胞肿胀、呈气球样变,坏死灶及炎性细胞浸润可见,汇管区和中央静脉周围坏死灶明显,Con A 模型组肝窦内可见红细胞瘀积, D-gal 及 CCl_4 模型组可见肝小叶周边肝细胞脂肪变性。仅有 Con A 模型肾组织

出现病变,肾小球萎缩、细胞数量增多;肾小管上皮细胞可见核固缩、细胞空泡变性坏死,小管管腔扩张,腔内可见蛋白管型及絮状物。

Con A 3 个剂量模型组肝、肾组织损伤状况与 Con A 模型组相似,且损伤程度随 Con A 剂量增大而加重。

给予验证药物大黄甘草汤干预后,肝、肾损伤较 Con A 模型组明显减轻,肝小叶内少数肝细胞肿胀,炎性细胞浸润显著减少,肝组织巨核或双核肝细胞多见。肾小球萎缩及小管上皮细胞变性状况均明显减轻,肾小管腔内絮状物显著减少。见图 1。



A, B. 空白对照; C, D. Con A 模型组; E, F. D-gal 模型组; G, H. CCl_4 模型组; I, J. 大黄甘草汤 $1.22 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组

图 1 3 种造模方法对小鼠肝(A, C, E, G, I)、肾(B, D, F, H, J)组织形态学改变的影响(HE 染色, $\times 200$)

4 讨论

小鼠尾静脉注射 Con A 后,通过激活 T 淋巴细胞引发免疫介导的肝损伤。Con A 诱导的肝损伤模

型涉及 T 细胞、巨噬细胞的活化,细胞因子的释放,肝细胞的凋亡,自由基的产生等多种因素^[10-12]。

本文通过检测肝肾功能相关的生化指标,肝脏

及肾脏病理组织学改变,考察提高剂量后,3 个经典的诱导肝损伤的药物(Con A, *D*-Gal, CCl_4)是否会对小鼠肝、肾产生同时损伤作用,并确定药物的最佳剂量,确定有效造模方案。结果表明 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ *D*-Gal, CCl_4 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可诱发小鼠肝损伤模型,但未检测到肾损伤相关生化指标及病理变化,尾静脉注射一定量 Con A 能够诱发小鼠实验性肝肾损伤,优选其最佳剂量为 $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。其中 Con A, CCl_4 模型组的血清 DBIL, TBIL, ALT, AST 升高较 *D*-Gal 模型组更为明显,其中 Con A 模型组 ALT, AST 的升高尤为显著,提示小鼠腹腔注射 $0.3\% \text{ CCl}_4$ $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 造模时间 24 h, 更适宜作为高转氨酶实验动物模型。目前,尚无 Con A 引起肾损伤的相关报道^[9], 但本文发现并验证了尾静脉注射 $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Con A 能够诱发小鼠实验性肝肾同时损伤。实验发现经 Con A $15, 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 诱导后,小鼠血清 CRE 显著降低,与临床肾损伤表现为 CRE 显著升高相反,但二者组织病理切片均表现为肾组织损伤。由于 Con A 诱导肝损伤机制即 T 细胞诱导造成肝细胞损伤。推测其肾损伤机制可能为 T 淋巴细胞的激活导致自身免疫性肾损伤。Con A 诱发肾损伤及对血清 CRE 影响的机制有待进一步研究。

HBV-GN 为常见肝肾同时损伤的疾病,大黄甘草汤临床用于治疗 HBV-GN 疗效确切,因此本研究采用大黄甘草汤作为小鼠肝肾同时损伤模型验证的方药。大黄甘草汤作用后,Con A 诱导小鼠实验性肝、肾损伤的生化和组织学检查均有所改善,且呈剂量依赖性关系。用药物反证说明模型的成功建立^[13]。

本研究筛选并初步建立能够诱导小鼠肝肾同时损伤的实验动物模型,并考察大黄甘草汤对模型的疗效。建立了尾静脉注射 Con A $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 诱导小鼠实验性肝肾损伤模型的方法,并应用大黄甘草汤进一步确定,该模型可以有效评价治疗肝肾损伤药物的药效,推荐将该模型应用于肝肾同时损伤治疗

药物的筛选。

[参考文献]

- [1] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1993:57.
- [2] Santiago-Raber M L, Laporte C, Reiuinger L, et al. Genetic basis of murine lupus[J]. *Autoimmun Rev*, 2004,3:33.
- [3] Qu W M, Miyazaki T, Terada M, et al, Genetic dissection of vasculitis in MRL/lpr lupus mice; a novel susceptibility locus involving the CD7⁺ allele[J]. *Eur J Immunol*, 2000,30:2027.
- [4] 刘丽萍,仁翠爱,赵宏艳. 甘草酸的免疫调剂作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,12(6):272.
- [5] 南海江,许旭东,陈士林,等. 大黄属植物研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2009,21:690.
- [6] 胡志厚. 甘草酸类药物的研制及应用[J]. 药学学报,1988,23(7):553.
- [7] 马迪,唐阁. 大黄免疫功能的研究进展[J]. 中医学刊,2006,8:1505.
- [8] 掘笼大之. 甘草酸对自身免疫性疾病的治疗作用[J]. 国外医学:中医中药分册,2002,24(2):126.
- [9] 陈晓萌,陈畅,李德凤. 中药有效成分辨识的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(12):249.
- [10] CHISARI F V. Cytotoxic T cells and viral hepatitis[J]. *J Clin Invest*, 1997, 99: 1472.
- [11] GANTNER F, LEIST M, LOHSE A W, et al. Concanavalin A-induced T-cell-mediated hepatic injury in mice: the role of tumor necrosis factor [J]. *Hepatology*, 1995, 21(1):190.
- [12] ZHAO D M, LIU G T. Protective effect of bicyclol on concanavalin A-induced liver nuclear DNA injury in mice[J]. *Natl Med J China*, 2001, 81: 844.
- [13] 山丽梅,赵艳玲,孔维军,等. 大鼠胃热证动物模型的建立[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(2):30.

[责任编辑 聂淑琴]