

线叶菊抗感染有效部位对大鼠肾盂肾炎的疗效

匡海学, 吕邵娃, 刘玉婕, 王秋红*

(黑龙江中医药大学省教育部共建北药基础与应用研究重点实验室,
黑龙江省中药天然药物药效物质基础研究重点实验室, 哈尔滨 150040)

[摘要] **目的:**探讨线叶菊抗感染有效部位抗炎及对肾盂肾炎大鼠的治疗作用。**方法:**采用小鼠耳肿胀法和棉球肉芽肿试验,分正常组、模型组、线叶菊总黄酮组,分别 ig 生理盐水、地塞米松($153.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、线叶菊总黄酮($144.0, 288.0, 576.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)连续 3 d,观察其抗炎作用。采用大鼠单侧输尿管结扎并同时向膀胱内注射大肠杆菌的方法造成肾盂肾炎的病理模型,分模型组、线叶菊有效部位高、中、低剂量组和阳性药对照组。采用线叶菊抗感染有效部位高($403.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,相当于线叶菊生药 $5.6 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、中($201.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,相当于生药 $2.8 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、低剂量($100.8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,相当于生药 $1.4 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)组及头孢克肟胶囊($36.87 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)阳性对照组进行干预,空白对照组给同体积水($10 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)。观察给药前后大鼠尿 *N*-乙酰- β 氨基葡萄糖胺酶(NAG)/尿肌酐(UCr),给药后大鼠胸腺和脾脏的脏器指数及血清白介素-2(IL-2)的含量,并观察其肾脏病理改变。**结果:**线叶菊抗感染有效部位高、中、低剂量组对小鼠耳肿胀度抑制率分别为 41.8%, 20.20%, 12.20%,降低棉球肉芽肿,抑制率分别为 26.79%, 16.39%, 10.82%。线叶菊抗感染有效部位各组对大鼠尿 NAG/尿肌酐变化无统计学意义,但高剂量组的左肾指数和血清 IL-2 值均高于模型组($P < 0.05$),说明线叶菊抗感染有效部位具有免疫促进作用。光镜观察结果亦显示线叶菊抗感染有效部位能明显改善大鼠肾脏的病理变化。**结论:**线叶菊抗感染有效部位具有抗炎作用;能减轻肾小球炎症损害,改善肾功能,对肾盂肾炎模型大鼠具有治疗作用,同时能够提高大鼠免疫能力,增强免疫系统的功能。

[关键词] 线叶菊;抗感染;肾盂肾炎;白介素-2; *N*-乙酰葡萄糖胺酶/尿肌酐;脏器系数

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)20-0141-04

[DOI] CNKI:11-3495/R.20110823.1117.004 **[网络出版时间]** 2011-08-23 11:17

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110823.1117.004.html>

Effects of Anti-infective Part of *Filifolium sibiricum* on Pyelonephritis in Rats

KUANG Hai-xue, LV Shao-wa, LIU Yu-jie, WANG Qiu-hong*

(Key Laboratory of Chinese Materia Medica, Heilongjiang University of Chinese Medicine; Ministry of Education, Heilongjiang key Laboratory of TCM Pharmacodynamic Material Bases, Harbin 150040, China)

[Abstract] **Objective:** To explore effect of the anti-infective part of *Filifolium sibiricum* (FS) on pyelonephritis. **Method:** Pyelonephritis model was established by unilateral ureteral obstruction and *Escherichia coli* injection into the bladder. The rats were divided into 6 groups: normal group (sham group), model group, three dose groups of anti-infective part of FS ($403.2, 201.6, 100.8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and positive control group (Cefixime capsules, $36.87 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). Serum creatinine (Scr), ureanitrogen (BUN), albumin (Alb) and urine protein was monitored at different time point. ELISA was used to examine the content of circulating immune complex. The activity of

[收稿日期] 20110118(008)

[基金项目] 国家十一五重大新药创制项目(2009x09103-358);黑龙江省自然科学基金项目(D2007-40);黑龙江省教育厅科学技术研究项目(11531345);哈尔滨市科技创新人才研究专项资金项目(2010RFQXS051)

[第一作者] 匡海学,教授,博士生导师,从事中药及天然药物药效物质基础、中药药性理论研究, Tel:0451-82110803, E-mail: hxkuang@hotmail.com

[通讯作者] *王秋红,教授,从事中药及天然药物药效物质基础、中药炮制研究, Tel:0451-82195994, E-mail: qhwang668@sina.com

interleukin-2(IL-2) was measured. Renal biopsy was performed to study the pathology changes. **Result:** There was no difference in Scr and BUN between FS groups and the model group. Compared with the model group, the left kidney coefficient increased in high dose group of FS. The activity of IL-2 was significantly enhanced in the FS groups ($P < 0.05$). The optical microscopy outcome showed FS. anti-infective part could improve kidney pathological changes. **Conclusion:** FS had the effect of anti-inflammatory, furthermore FS could reduce glomerular inflammation and improve renal function, and had some therapeutic effects on pyelonephritis.

[Key words] *Filifolium sibiricum*; anti-infection; pyelonephritis; interleukin-2; *N*-acetylglucosaminidase/urine creatinine; organ coefficient

线叶菊为菊科线叶菊属植物线叶菊 *Filifolium sibiricum*(L.) Kitam. 的干燥全草,又名西伯利亚艾菊、惊草^[1]等。该药是一种清热解毒药,全草均可药用,既可以内服又可以外用。其性味苦寒,具有清热解毒、抗菌消炎、安神镇惊、调经止血的功能。线叶菊水煎液在内蒙古医学院、齐齐哈尔医学院、黑龙江中医药大学附属医院的临床上广泛应用^[2-3],用于治疗传染性高热、上呼吸道感染、世界疑难疾病周围血管病的脱疽(血栓闭塞性脉管炎)及臃疮腿等症的治疗,外用治疗疔肿、中耳炎及其他外科化脓性感染疾病。主产于内蒙古等草原,民间将线叶菊晒干代茶饮,用于治疗肾盂肾炎。肾盂肾炎是指肾实质和肾盂的炎症,是泌尿系统的常见病,大都由细菌直接感染,常伴有下泌尿道炎症。本文在前期研究基础上对已筛选的线叶菊抗感染有效部位进行了抗炎和抗肾盂肾炎的作用研究。

1 材料

1.1 动物 昆明种小白鼠 50 只,体重(20±2)g,雌雄各半,合格证号 SCXK(黑)20082003 号。SD 大鼠 50 只,体重(180±20)g,雌雄各半,合格证号 SCXK(黑)20082004 号。均由黑龙江中医药大学药物安全性评价中心提供。

1.2 试剂与试药 IL-2 购于 Adlitteram Diagnostic Laboratories, Inc。大肠杆菌由黑龙江省微生物检验检疫所菌种保藏中心提供,配制菌液浓度为 2.19×10^7 CFU·mL⁻¹。头孢克肟胶囊,哈尔滨三精海灵药业有限公司,产品批号 081008。线叶菊抗感染有效部位由本项目组自行制备。线叶菊采自黑龙江省大庆市草原,取线叶菊粗粉,加入 20 倍生药质量的 50% 乙醇,加热回流提取 3 次,每次 1.5 h。合并提取液,回收溶剂,加 50% 乙醇,醇沉,过滤,回收滤液,进行 AB-8 型大孔吸附树脂吸附,充分吸附后,先用水洗至流出液不浑浊,再用 30% 乙醇洗脱,收集

18 倍柱体积的洗脱液,干燥,即得线叶菊有效部位,得率 2.3%,总黄酮含量超过 70%。

2 方法

2.1 分组及给药

2.1.1 小鼠抗炎试验 耳肿胀试验分为 5 组,每组 10 只。分别为模型组、阳性药对照组(醋酸地塞米松片 152.97 mg·kg⁻¹)、线叶菊抗感染有效部位高剂量组(576 mg·kg⁻¹,相当于线叶菊生药 8 g·kg⁻¹)、中剂量组(288 mg·kg⁻¹,相当于生药 4 g·kg⁻¹)和低剂量组(144 mg·kg⁻¹,相当于生药 2 g·kg⁻¹),各组均 ig 给药,模型组 ig 同体积水,连续 3 d。致炎剂为二甲苯,浓度 100%。

2.1.2 大鼠肾盂肾炎试验 大鼠分为 5 组,即模型组、线叶菊有效部位高、中、低剂量组(403.2, 201.6, 100.8 mg·kg⁻¹)和阳性药对照组(头孢克肟胶囊 36.87 mg·kg⁻¹)。各组均 ig 给药,空白对照组给同体积水(10 mL·kg⁻¹)。

2.2 小鼠耳肿胀模型 分组与给药同 2.1.1。于末次给药后 30 min 小鼠用乙醚麻醉,在右耳的前后两面涂布二甲苯 20 μL/只,左耳不作任何处理。造模后 2 h 将动物麻醉处死,剪下双耳,用直径 9 mm 打孔器在同一部位打下圆耳片,电子天平称质量,用右耳片质量减去左耳片质量即为肿胀度。

2.3 棉球肉芽肿模型 取小鼠分组与给药同 2.1.1。乙醚麻醉后,腋下去毛,碘酒消毒,再用 75% 酒精脱碘,然后切 0.3~0.5 cm 长小口,用眼科镊子将头孢曲松钠注射液(1 g·L⁻¹)浸泡,烘干,重 5 mg 左右的高压灭菌棉球从切口处置入皮下,随即缝合皮肤。从手术当日开始,模型组用生理盐水,其余各组按 2.1 所示给药剂量给药,连续给药 10 d,第 11 天打开原切口,将棉球连同周围结缔组织一起取出,剔除结缔组织,在 60℃ 烘箱中烘干,称质量减去原棉球质量即为肉芽肿净重。

2.4 肾盂肾炎模型 分组与给药同 2.1.2。大鼠术前禁水 24 h,10%水合氯醛按 $350 \sim 400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip 麻醉后,先用线扎住大鼠阴茎或尿道口,沿下腹部正中剪开,充分暴露左侧输尿管及膀胱,在输尿管中段水平用 10 号半圆针、0 号黑线向侧腹部穿针,两针尽量保持相近,暂不结扎。向膀胱内注射大肠杆菌菌液 0.5 mL,关闭腹腔,以适度松紧结扎左侧腹部黑线,松开扎住阴茎的线,术后恢复正常饮水。24 h 后解除左侧输尿管的结扎线^[8-9]。术后大鼠依据尿 NAG/尿肌酐的值进行分组,连续给药 30 d。给药结束后,取大鼠尿液测量尿 NAG 和尿肌酐 UCr 的值,并进一步计算尿 NAG/尿肌酐。将大鼠 ip 2%戊巴比妥钠 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 麻醉,取颈动脉血,离心后取血清采用酶联免疫法(ELISA 法)检测 IL-2 的值,同时取出大鼠的脾脏计算脏器指数,并取出大鼠的肾脏进行 HE 染色,光镜下观察。

2.5 统计方法 所有数据均由 SPSS 统计软件包处理, $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 *t* 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠耳肿胀实验 结果见表 1。线叶菊有效部位各给药组同模型组相比,均能抑制小鼠耳肿胀,而且呈现一定的量效关系,表明线叶菊有效部位具有明显的抑制二甲苯所致的小鼠耳肿胀作用。

表 1 线叶菊有效部位对小鼠耳肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	耳肿胀度 /mg	抑制率 /%
模型	-	10.53 ± 1.29	0
线叶菊有效部位	576.0	6.13 ± 1.30 ²⁾	41.80
	288.0	8.40 ± 1.38 ²⁾	20.20
	144.0	9.25 ± 1.09 ¹⁾	12.20
地塞米松	153.0	3.48 ± 1.29 ²⁾	67.00

注:与模型组比较 ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

3.2 棉球肉芽肿实验 结果见表 2。线叶菊有效部位高、中、低剂量组实验结果均小于模型组,具有统计学意义,说明线叶菊有效部位能够抑制肉芽的生长,对由棉球刺激引起的炎症具有治疗作用。

表 2 线叶菊有效部位对小鼠棉球肉芽肿的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	肉芽肿干质量 /mg	抑制率 /%
模型		15.62 ± 1.89	
线叶菊有效部位	576.0	11.44 ± 2.10 ²⁾	26.79
	288.0	13.06 ± 1.71 ²⁾	16.39
	144.0	13.93 ± 1.14 ¹⁾	10.82
地塞米松	153.0	8.47 ± 1.93 ²⁾	45.77

3.3 大鼠肾盂肾炎模型实验

3.3.1 大鼠肾盂肾炎模型建立的评价 造模后大鼠毛发失去光泽,没有食欲,光镜下可见肾小球硬化,肾小管萎缩,部分胞质溶解,肾小球囊壁细胞局部增生。肾小管管腔缩小,上皮细胞核萎缩,部分上皮细胞脱落,肾间质部分纤维化。表明大鼠肾盂肾炎模型造模成功。

3.3.2 尿 NAG/尿肌酐指标及 IL-2 的含量指标 结果见表 3。由表 3 结果可知,给药前后尿 NAG/尿肌酐的比值变化无统计学意义,说明大鼠的尿液参数还不能反映模型大鼠的肾小管是否产生病变。由表 3 可知空白组 IL-2 的值高于模型组,具有统计学意义,说明该模型会降低大鼠血清中 IL-2 的含量,破坏免疫系统的正常功能。线叶菊抗感染有效部位高剂量组的 IL-2 的值大于模型组,具有统计学意义,说明线叶菊抗感染有效部位能够提高模型大鼠的免疫能力,增强免疫系统功能。

表 3 线叶菊有效部位对模型大鼠 NAG/UCr 及 IL-2 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	给药前 NAG/UCr		IL-2/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
		U/mmol·C	U/mmol·C	
模型	-	1.87 ± 0.59	1.92 ± 0.35	1.84 ± 0.69
线叶菊有效部位	403.2	1.82 ± 0.47	1.64 ± 0.46	2.66 ± 0.78 ¹⁾
	201.6	1.85 ± 0.39	1.73 ± 0.33	2.31 ± 0.81
	100.8	1.78 ± 0.38	1.79 ± 0.44	2.09 ± 0.84
头孢克肟	36.87	1.91 ± 0.47	1.52 ± 0.32	1.92 ± 0.85
空白	-	1.28 ± 0.35	1.30 ± 0.28	3.31 ± 0.72 ²⁾

3.3.3 脏器指数 结果见表 4。空白组的脾脏和左肾的脏器指数均高于模型组,具有统计学意义。说明该模型不但对免疫系统有损伤,而且会导致左肾萎缩。线叶菊抗感染有效部位高剂量组大鼠的左

肾的脏器指数大于模型组,说明线叶菊抗感染有效部位能在治疗的同时改善大鼠免疫系统功能。阳性对照组左肾系数明显高于模型组,表明头孢克肟胶囊对模型大鼠的肾脏具有保护作用。

表 4 线叶菊有效部位对肾盂肾炎模型大鼠的脏器指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	脾脏指数 /%	左肾指数 /%	右肾指数 /%
模型	-	1.82 ± 0.28	2.74 ± 0.61	3.327 ± 0.351
线叶菊有效部位	403.2	2.04 ± 0.47 ¹⁾	3.19 ± 0.24 ¹⁾	3.432 ± 0.525
	201.6	1.96 ± 0.46	3.34 ± 0.98	3.515 ± 0.512
	100.8	1.91 ± 0.41	3.25 ± 0.71	3.534 ± 0.544
头孢克肟	36.87	1.93 ± 0.24	3.57 ± 0.90 ¹⁾	3.798 ± 0.653
空白	-	2.12 ± 0.26 ¹⁾	3.22 ± 0.29 ¹⁾	3.604 ± 0.316

3.3.4 肾脏的光镜结果 模型组大鼠肾脏的肾小球硬化,肾小管萎缩,部分胞质溶解,肾小球囊壁细胞局部增生。肾小管管腔缩小,上皮细胞核萎缩,部分上皮细胞脱落。肾间质部分纤维化。线叶菊抗感染有效部位低剂量组肾小球硬化,少量肾小管管腔缩小,无肾间质纤维化,有散在炎细胞。线叶菊抗感染有效部位中剂量组肾小管管腔局部胞质深染,管腔内有散在分泌物,肾小球无固缩。线叶菊抗感染有效部位高剂量组肾纤维化,肾小球硬化,肾小管管型消失,嗜酸性物质增多。头孢克肟胶囊阳性对照组肾纤维化,肾小球硬化,肾小管管型消失,嗜酸性物质增多。

管管腔缩小,说明肾小管已经产生病变,大鼠脾脏指数和血清 IL-2 都小于空白组,说明模型组大鼠的免疫器官功能下降,机体免疫能力降低,说明造模成功。尿液的参数未见显著变化,显示肾盂肾炎模型大鼠属于轻度肾盂肾炎,随造模时间延长,模型大鼠的尿 NAG/尿肌酐的比值会明显升高。

线叶菊抗感染有效部位给药后,能够显著增强免疫系统的功能,降低肾间质纤维化程度,减少炎细胞,抑制肾脏萎缩及改善肾脏的病理状态,对大鼠肾盂肾炎模型起到一定的治疗和保护作用。

4 讨论

线叶菊抗感染有效部位对小鼠耳肿胀法和棉球肉芽肿均显示较强的抑制作用,该有效部位主要含有黄酮类成分,黄酮类成分推测其能够通过调节下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴功能,干扰花生四烯酸代谢,对抗抗炎介质的作用,抑制白细胞趋化、移动和活化,抗细胞粘附,抑制一氧化氮合成酶活性,以及免疫调节等作用,起到抗炎作用。

[参考文献]

[1] 傅沛云. 东北植物检索表[M]. 北京:科学出版社, 1995:681.

[2] 吴景时,姚志国,秦泗军,等. 中草药线叶菊药理初步研究[J]. 药学通报, 1979,14(2):87.

[3] 龚学忠,郑平东,杨践,等. 慢性肾盂肾炎大鼠模型的建立[J]. 北京医学,2004 26(6):391.

[4] 周栋,孙伟,何伟明,等. 急性肾盂肾炎大鼠模型的建立与观察[J]. 中国中医药信息杂志,2007,14(1) 30.

[责任编辑 聂淑琴]

肾盂肾炎模型^[3-4]的建立中从光镜下可见肾小