

消斑愈肾颗粒剂对大鼠 IgA 肾病免疫调节的研究

张 君, 姜 欣, 王 莉, 郑学民 (辽宁中医学院附属医院, 辽宁 大连 110032)

摘要: 目的: 观察消斑愈肾颗粒剂对大鼠实验性 IgA 肾病免疫调节作用。方法: 采用牛血清白蛋白和葡萄球菌肠毒素复合免疫法建立大鼠实验性 IgA 肾病模型, 检测红细胞 C3b 受体花环, CH50, 血清中 IgG IgA 含量。结果: 提示消斑愈肾颗粒剂对实验性大鼠 IgA 肾病 RBC-C3b 受体功能下降及 IgA 升高均有调节作用, 与对照组比较 $P < 0.01$ 。

关键词: 免疫调节; 消斑愈肾颗粒剂; IgA 肾病

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)04-0037-02

The Experimental Study of Xiaobanyushen Granule Immunoregulation on Treating Experimental Iga Nephropathy Rats

ZHANG Jun, JIANG Xin, WANG Li, ZHENG Xue-min

(The Affiliated Hospital of Liaoning College of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, 110032)

Abstract: To study the effect of xiaobanyushen granule immunoregulation on treating experimental IgA nephropathy rats induced by feeding Bovine Serum Albumin (BSA) and injecting staphylococcal Enter toxin B (SEB), rats were randomly divided into five groups. Results indicated xiaobanyushen granule showed obvious effects on the hypofunction of erythrocyte c3b receptor and the elevation of IgA on treating experimental IgA nephropathy rat's compared with that of controls ($P < 0.01$)

Key words: immune regulation; Xiaobanyushen granule; IgA nephropathy

消斑愈肾颗粒剂是在长期临床实践中总结出的治疗紫癜性肾炎的中药复方, 临床应用疗效较好^[1]。现已证实紫癜性肾炎的肾脏病理改变与 IgA 肾病的肾脏病理改变极为相似^[2], 故实验选择 IgA 肾病模型, 观察本药对实验性大鼠 IgA 肾病的免疫调节的影响, 并探讨其作用机理。

1 材料

1.1 受试药物 消斑愈肾颗粒剂: 由辽宁中医学院附属医院制剂室提供, 批号: 000730, 每克含生药量 3g。

阳性对照药: 强的松片, 由天津太平洋制药有限公司提供, 批号 000602。肾炎舒, 由中美合资吉林鹿王制药有限公司提供, 批号: 国准字(1999)Z-64 号。

造模试剂: 牛血清白蛋白 (BSA) 西德进口分装, 批号: 738328; 葡萄球菌肠毒素 B (SEB), 由军事医学科学院微生物流行病学研究所提供。

1.2 受试动物 清洁级 SD 纯种大鼠, 雌性, 体重 $180\text{g} \pm 10\text{g}$, 12 周龄, 由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供, (沪动合格证字 152 号)。实验在辽宁

中医学院附属医院 SPF 实验动物中心进行。大鼠随机分为模型组、正常对照组、消斑愈肾组、肾炎舒组、强的松组, 每组 10 只, 共 5 组。

2 方法

2.1 造模方法 IgA 肾病模型制备参照刘志红等报道的方法加以改良^[3], 即隔日口服含 0.1% BSA 的酸化水, 6 周后定期尾静脉注射 0.1% BSA 缓冲液 (每日 1 次, 连续 3 次) 8 周时复加尾静脉注射 SEB (每周 1 次, 连续 3 周), 然后观察至第 12 周。

2.2 给药方法 消斑愈肾组, 于第 8 周末静脉注射 BSA 缓冲液出现蛋白尿血尿后, 予消斑愈肾颗粒剂 $20\text{g}/\text{kg} \cdot \text{d}$, 灌胃给药至 12 周末。强的松组同上, 于 8 周末予强的松 $5.4\text{mg}/\text{kg} \cdot \text{d}$, 灌胃给药至 12 周末。肾炎舒组同上, 于 8 周末予肾炎舒 $6.3\text{g}/\text{kg} \cdot \text{d}$, 灌胃给药至 12 周末。正常组隔日口服酸化水 12 周, 正常自由饲养。实验结束时取血测试下述指标。

2.3 检测指标

2.3.1 红细胞 C₃b 受体花环实验 各组动物尾部静脉取血 1 滴, 加于 3ml 生理盐水中, 混合后离心, 将沉淀物和盐水再洗涤两次后, 用盐水稀释成 $1.25 \times 10^7/\text{ml}$, 即待测的红细胞使用液。

补体致敏酵母多糖(购自上海长海医院免疫室)按说明溶解后离心,取沉淀物用生理盐水洗涤一次,配成 1×10^8 /ml 使用液备用。

将红细胞使用液和酵母多糖使用液各取 0.075ml 在试管内摇匀,放入 37℃ 水浴 30min 后取出在手腕上轻轻摇匀,加生理盐水 0.15ml 和 0.25% 戊二醛 1 滴轻轻混匀,用滴管吸出 1/3 水平涂片,吹干,甲醇固定,瑞氏液染色,生理盐水冲洗后甩干,高倍镜观察,一个红细胞结上 2 个或以上酵母菌为一朵花环,取 100 个红细胞计算百分率^[4]。

2.3.2 血清中总补体含量测定 50% 溶血单位试验(肉眼判定法),50% 溶血单位标准管准备:取 2% 绵羊红细胞 2ml 加蒸馏水 8ml 混匀,溶血后为 100% 溶血,取全溶血液体加 pH7.2 巴比妥缓冲液 2ml,混匀后即为 50% 溶血标准管。

将各受试血清稀释成 1:20,每份受试血清用 10 支试管依次加入 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35ml,再依次加入巴比妥缓冲液 1.4, 1.35, 1.30, 1.25, 1.20ml,并等量加入 0.5ml 的溶血素(由卫生部上海生物制品研究所提供,批号:961101)及 5% 羊红细胞,将上述成分混匀后置 37℃ 水浴 30min,然后离心 2500 转/min,用上清与标准管对比。

结果判定:与标准管比色一致的管即为 50% 溶血的补体单位。

$$\text{计算: } \frac{1}{\text{血清用量}} \times \text{血清稀释位数} = \text{补体含量}$$

2.3.3 血清 IgG IgA 的测定 将玻璃板置于经校正的水平板上,融化 15g/L 琼脂置 56℃ 水浴保温,免疫血清根据预测效价以硫抑汞盐水进行稀释,置 56℃ 水浴中预热 10min,将稀释的免疫血清倾入已融化的琼脂中,充分混匀,迅速倾注玻璃板上,待凝固后,打孔,孔径 3mm,孔间距离 1cm,孔内准确加 10μl 样品,然后将加样品的琼脂板放入湿盒,加盖,经 37℃,24h 后取出,测定沉淀环直径,同时用大鼠 IgG, IgA 标准血清制成标准曲线,将测定结果与标准曲线对照确定^[5]。实验结果见表。

3 结果

消斑愈肾颗粒剂对实验性大鼠 IgA 肾病的 RBC-C3b 花环、CH50、IgG、IgA 等免疫指标的影响。见附表。

4 讨论

消斑愈肾颗粒剂是治疗紫癜性肾炎的有效中药复方,过敏性紫癜性肾炎是儿童期重要的继发性肾小球疾病。其发病是由 IgA 的免疫复合物引起的一

附表 消斑愈肾颗粒剂对实验性大鼠 IgA 肾病免疫指标的影响($\bar{x} \pm s; n=10$)

分组	RBC3b 花环(%)	CH50(IU/ml)	IgG(g/l)	IgA(g/l)
正常组	11.01 ± 1.2	38.9 ± 1.6	5.13 ± 0.2	0.6 ± 0.06
模型组	5.75 ± 0.7	35.81 ± 0.4	5.61 ± 0.4	1.2 ± 0.1
强的松组	7.29 ± 1.0	37.1 ± 0.7	4.0 ± 0.2	0.9 ± 0.04
肾炎舒组	7.06 ± 0.8	36.24 ± 0.7	5.1 ± 0.2	1.06 ± 1.13
消斑愈肾组	10.11 ± 1.11*	38.97 ± 1.2	4.8 ± 0.2	0.7 ± 0.02*

注:与模型组比较 $P < 0.01$

种循环免疫复合物病,肾脏损害是由 IgA 或其免疫复合物通过旁路途径激活补体并造成组织的免疫病理损伤。IgA 肾病又称 IgA 系膜肾病,其特点是肾组织免疫病理检查在系膜区有以 IgA 为主的沉积。临床肾穿资料显示,紫癜性肾炎与 IgA 肾病的肾脏病理改变极为相近。因此选择实验性大鼠 IgA 肾病模型,观察本药对其免疫功能的影响。

消斑愈肾颗粒剂是由黄芪、丹参、生地、白茅根等组成的中药复方,具有益气化瘀之功。RBC-C3b 有调控补体活性、清除循环免疫复合物及对细胞免疫有调节作用。研究表明,IgA 肾病中约 5% 左右患者血清 IgA 水平升高,或 RBC-C3b 受体水平下降。本实验是采取复合免疫法建立的大鼠 IgA 肾病模型,实验结果证实,消斑愈肾颗粒剂对 IgA 肾病出现的免疫功能失调具有明显的调节作用。对 RBC-C3b IgA 水平的影响,与模型组及中西对照组比较,经统计学处理差异非常显著。据此可以认为消斑愈肾颗粒剂是通过调节 RBC-C3b 受体水平和血清 IgA 水平,以减轻肾组织的免疫病理损伤,为本药治疗 IgA 肾病提供了免疫学的实验依据。同时亦为中医“异病同治”提供了依据。

参考文献:

[1] 张君、郭振武、董娜,等.消斑愈肾剂治疗小儿紫癜性肾炎的临床研究[J].中国中西医结合杂志,1994,5(14):298-299.

[2] White RHR. Henoch-Schonlein nephritis: a disease with significant late sequelae[J]. Nephron, 1994, 68: 1.

[3] 刘志红、黎磊石、李莉,等.葡萄球菌肠毒素诱发的 IgA 肾病模型[J].中华肾脏病杂志,1989,5(1):6.

[4] 郭峰、骆永珍、凌昌全,等.红细胞免疫学新探[M].南京大学出版社,1982.89.

[5] 李影林、鲁长豪、卢淑文,等.中华医学检验全书[M].人民卫生出版社,1993.142.