

# 全蝎注射液对大鼠原位性肾炎病理变化及血清 IL-1 的影响

中山医科大学肾脏研究所(广州 510080)

郑智华 叶任高 李幼姬 黄小平 姜 饶 何惠娟

**内容提要** 本实验在大鼠 C-BSA 原位肾炎模型基础上,用全蝎注射液(1.0 g/kg)每日 1 次腹腔注射,3 周后杀检。取肾皮质作病理检查,用胸腺细胞增殖法检测血清白细胞介素 1(IL-1)。结果发现:全蝎治疗组的尿蛋白含量比模型组明显减少( $P < 0.05$ ),血清 IL-1 活性比模型组显著下降( $P < 0.01$ ),光镜及电镜下病理变化也有所缓解。结果提示:全蝎注射液可能对大鼠 C-BSA 原位肾炎血清 IL-1 有抑制作用,并能缓解其病理改变过程。

**关键词** 全蝎注射液 白细胞介素 1 原位性肾炎

全蝎(Scorpion)系钳蝎科动物东亚钳蝎,据中医典籍所载,有通络散结,熄风攻毒之功效,为我们治疗肾炎的常用中药<sup>[1]</sup>。白细胞介素 1(Interleukin 1, IL-1)近年来被认为是肾炎发病过程中重要的炎症介质。本实验用全蝎注射液干扰大鼠 C-BSA 原位性肾炎,观察其临床及病理改变及血清 IL-1 活性改变,以探讨全蝎对肾炎的疗效及机制。

## 材料和方法

### 一、材料

1. 全蝎注射液 将全蝎用常规乙醇法提取,灭菌分装(0.2 g/8 ml,本校附属第一医院药厂制备)。

2. 羊抗大鼠 IgG 血清、荧光素标记兔抗羊抗体,军事医学科学院提供;荧光素标记羊抗大鼠 C<sub>3</sub> 抗体,本所自制;ConA, Sigma 公司产品。

3. 动物 雄性 Wistar 大白鼠,6~8 周,体重 150~180 g; C<sub>3</sub>H/HeJ 小鼠,4~6 周龄。以上动物均由第一军医大学动物中心提供。

### 二、方法

1. 大鼠原位性肾炎模型制作及药物干扰<sup>[2]</sup> 将 Wistar 大白鼠 24 只观察 1 周后随机分成 3 组,每组 8 只。A 组(模型组):先用 C-BSA 加弗氏佐剂皮下预免疫,1 周后尾静脉注射(C-BSA 2.5 mg, 3 次/周,共 3 周; B 组(模型+全蝎组):模型制作同 A 组,加用全蝎注射液(1.0 g/kg)腹腔注射,1 次/d,共 3 周; C 组(正常对照组):注射等量的 PBS 液(pH 7.4, 0.01 mol/L)。

2. 大鼠 24 小时尿蛋白测定 免疫后 1、2、3 周用考马斯亮蓝比色法测大鼠 24 小时尿蛋白的总量。

3. 血清 IL-1 活性剂测定<sup>[3]</sup> 第 3 周末杀检动物,无菌制备大鼠血清置-20℃冰箱待测。测定方法采取胸腺细胞增殖法,无菌状态下取 C<sub>3</sub>H/HeJ 小鼠胸腺细胞,在 150 目尼龙网纱轻轻挤压至 5%NBS-HBSS 液中,反复洗 2 次后离心(1000 r/min, 10 min),再用 RPMI-1640 液制成单个细胞悬液( $1.5 \times 10^7$  细胞/ml),将刀豆蛋白 A(ConA)3  $\mu$ g/ml 加入细胞悬液中混匀后加至 96 孔平板,100  $\mu$ l/孔,将待测血清按 1:10 稀释后加入 100  $\mu$ l/孔,一式三份,每孔胸腺细胞终浓度  $1.5 \times 10^6$  个细胞/孔,ConA 终浓度 1.5  $\mu$ g/ml,置 5%CO<sub>2</sub>、37℃ 温箱培养 66 h,再加入<sup>3</sup>H-TdR 0.25  $\mu$ Ci/孔后孵育 6 h,用 DyQ II 型细胞收获仪收集至 49 号玻璃纤维滤纸上,用液闪计数器(Beckman LS-9800)测各样本 60 s 的脉冲数(cpm 值),取三份均数为最终值,用  $\bar{x} \pm S$  表示。

4. 肾脏病理检查 第 4 周末取肾皮质作病理检查。(1)光镜:所有标本均作 HE、PASM、PAS 和 Masson 染色观察肾脏病理改变。(2)免疫荧光: IgG、IgA 抗体用间接免疫荧光法,补体 C<sub>3</sub> 用直接免疫荧光法检查。(3)电镜:在模型组和治疗组随机各取 2 例作透射电镜观察基底膜和免疫复合物沉积情况。

## 结 果

一、大鼠 24 小时尿蛋白 实验第 2 周末, A 组、B 组尿蛋白均明显上升,与正常对照组比较有显著性差

异; B组较A组上升幅度小, 但二组间无统计学差异。第3周末, A组尿蛋白继续大幅度上升, 但B组则尿蛋白上升较慢, 二组均值比较有显著性差异。见表1。

表1 24小时尿蛋白定量 (mg/h,  $\bar{x} \pm S$ )

| 组别 | 鼠数 | 尿蛋白定量     |         |                     |
|----|----|-----------|---------|---------------------|
|    |    | 第一周       | 第二周     | 第三周                 |
| A  | 8  | 5.07±1.04 | 128±77* | 234±97              |
| B  | 8  | 6.31±2.68 | 105±82* | 125±36 <sup>△</sup> |
| C  | 8  | 6.86±2.88 | 8.4±4.8 | 16±5                |

注: 与C组比, \* $P < 0.05$ ; 与A组比,  $\Delta P < 0.05$ 。下同

二、血清白细胞介素 I (IL-1) 活性 实验第四周, A组和B组血清 IL-1 活性(cpm)分别为 4941±2462 和 2149±484, 均显著高于C组 1240±206 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); A组则显著高于B组 ( $P < 0.05$ )。

三、肾脏病理 光镜: 见A组肾小球肿胀明显, 囊腔变狭小或闭塞, 毛细血管内大量血栓形成及闭塞, 细胞浸润增多, PASM染色见基底膜不规则增厚。B组则显示出明显的防治效应, 肾小球肿胀和囊腔狭窄程度均有所恢复, 部分毛细血管扩张, 基底膜接近正常, 细胞浸润也有所缓解(见表2)。免疫荧光: A、B二组均有 IgG、C<sub>3</sub>及部分 IgA 沉积, 荧光强度无明显差异。电镜: 模型组2只可见足突肿胀明显, 有融合, 电子致密物沉积较多, 部分钉突形成, 基底膜不规则增厚。全蝎组则见足突肿胀较轻、致密物少见, 基底膜接近正常。

表2 三组肾小球细胞数和直径比较 ( $\bar{x} \pm S$ )

| 组别 | 样本数 | 细胞数/肾小球           | 肾小球直径( $\mu m$ ) |
|----|-----|-------------------|------------------|
| A  | 8   | 72±6              | 112±7            |
| B  | 8   | 58±4 <sup>△</sup> | 105±6            |
| C  | 8   | 42±5              | 90±6             |

## 讨 论

大鼠原位性肾炎似人类膜性肾病。目前对其发病机制有众多探讨, 其中, 细胞因子被认为起了重要作用。IL-1是具有多种生物学功能的细胞因子, 它不仅

是白细胞间互相作用的免疫调节分子, 而且在炎症反应中起了重要的介导作用。它具有诱导T细胞分泌 IL-2 引起 T<sub>H</sub>和 T<sub>H</sub>细胞扩增, 促进内皮细胞和巨噬细胞的促凝血活性、增加肾小球系膜细胞蛋白激酶活性。IL-1主要来源于激活的巨噬细胞<sup>[4,5]</sup>, 业已证实, 肾小球系膜细胞也是 IL-1 来源之一。在许多同类研究中也发现 IL-1 在 IgA 肾病、狼疮性肾炎、肾毒血清性肾炎、肾硬化的发病过程中均显示出重要的作用<sup>[6]</sup>, 本实验在大鼠注射 C-BSA 3 周后 IL-1 水平明显高于对照组, 这提示 IL-1 可能参与了大鼠膜性肾炎的发病机理。

全蝎是我们治疗肾炎的常用中药, 有关全蝎的药理作用目前尚有探讨, 动物实验提示全蝎有通络散结及降血压作用。本实验结果显示全蝎可减少大鼠膜性肾炎蛋白尿, 抑制 IL-1 活性, 并可扩张肾毛细血管, 减轻肾脏病理变化。还提示全蝎液可能通过扩张血管, 抑制血栓形成或抑制炎性细胞因子释放, 从而影响肾炎的发生和发展过程。但从本实验结果可看出, 全蝎治疗组动物的尿蛋白、IL-1 病理改变等与正常对照组仍有明显差异。因此, 对于全蝎的药理作用机理、作用环节、剂量、成分分析及膜性肾炎的多因素发病机理等, 均尚需进一步探讨。

## 参 考 文 献

1. 万雪炎, 等. 肾炎合剂治疗原发性慢性肾小球肾炎 61 例报告. 广东医学 1985; 6(11): 26.
2. 黄小平, 等. 大鼠 C-BSA 原位性肾炎的建立. 中山医科大学学报 1992; 1: 22.
3. Lonnemann G, et al. Detection of endotoxin-like interleukin I inducing in vitro dialysis. Kidney Inter 1988; 33: 29.
4. Oppenheim J, et al. There is more than one interleukin I. Immunol Today 1986; 7: 47.
5. Warolle EN, et al. Cells and mediators in glomerulonephritis. Nephron 1988; 49: 256.
6. Ivanov AA, et al. Immunohistochemical features of nephrotoxic serum nephritis in the rat. Arkh-pathol. 1991; 53(7): 15.

indicated that Cinobufotalin had a significant effect in inhibiting the replication of HBV.

**Key words** Hepatitis B virus, chronic carriers, Cinobufotalin

(original article on page 473)

### Effects of Ilexonin A on Chemical Salpingitis Induced Tubal Obstruction in Rats

Liu Xiao-yu (刘小玉), Li Li-yun (李丽芸), et al

*Dept. of Gynecology, Guangdong Provincial TCM Hospital, Guangzhou (510120)*

Ilexonin A, a new drug in improving the blood circulation and microcirculation, is extracted from *Ilicis pubescentis*. The preventive and therapeutic effects of Ilexonin A on chemical salpingitis induced tubal obstruction (CSTO) with morphological and hemorheological change in rats was studied. Results showed that Ilexonin A was effective in treating CSTO by opposing the degeneration and necrosis of epithelium, inhibiting the hyperplasia of connective tissue, and reducing the infiltration of inflammatory cells. The improvement of morphology was more significant in treated groups than that in controls ( $P < 0.05 - 0.01$ ). The indices concerning model rat's hemorheology were also analysed between treated groups and controls. It indicated that Ilexonin A could improve the viscosity of blood and aggregation of red blood cells. It is suggested Ilexonin A could promote the absorption of inflammatory substances as a result of improving hemorheology.

**Key words** Ilexonin A, tubal obstruction, hemorheology, rat

(original article on page 478)

### Effects of Scorpion Injection on Interleukin 1 and Pathology in Experimental Glomerulonephritis in Situ

Zheng Zhi-hua (郑智华), Ye Ren-gao (叶任高), et al

*Kidney Research Inst., Sun Yat-sen University of Med. Sci., Guangzhou (510080)*

The model of experimental glomerulonephritis in situ in rats was established by administration of C-BSA. 24 male Wistar rats were randomly assigned to three groups: C-BSA, control and C-BSA+scorpion (scorpion injection, ip, 1.0g/kg, once/day). At the end of 4th week, the bioactivity of serum IL-1 was assayed by thymocyte proliferation method and the renal pathology was checked up. Urine sample was collected for 24 hour once/week for protein determination. Result: Quantity of proteinuria in scorpion group was reduced significantly in comparing with C-BSA group. Level of IL-1 was significantly lower in scorpion group than that in C-BSA group. Injury of renal tissue also was mild in the treated group. These results suggested that scorpion injection could suppress the activities of IL-1 and ameliorate the pathological injury in this experimental glomerulonephritis in situ.

**Key words** experimental glomerulonephritis, scorpion injection, interleukin 1

(original article on page 481)