

· 实验研究 ·

雷公藤单体 T_4 及人工麝香对实验变态反应性神经炎的治疗作用

北京医院神经内科(北京 100730) 王翠娣 郭玉璞*

内容提要 雷公藤单体 T_4 及人工麝香具有调节免疫机制及抗炎作用, 人工麝香越早应用其抗炎作用越强, 根据此两种药的药理特性及实验变态反应性神经炎(EAN)的发病机制, 本实验设立了5组进行比较: 即发病假治组、人工麝香预防及治疗组、地塞米松及雷公藤单体 T_4 治疗组。结果: T_4 单体可使 EAN 动物模型发病免临床评分减低, 对炎细胞渗出及脱髓鞘均有明显改善, 与地塞米松相似, 尽管人工麝香对 EAN 的临床和病理变化有轻微的预防及治疗作用, 但与假治组无统计学差别。提示地塞米松及 T_4 单体有肯定的治疗价值, 而人工麝香的预防及治疗价值不肯定。

关键词 实验变态反应性神经炎 雷公藤单体 T_4 人工麝香

近年来, 国内许多文献报道, 雷公藤对免疫机制引起的各种疾病已取得了显著疗效^[1, 2], 亦有人用雷公藤治疗豚鼠实验变态反应性脑脊髓炎(EAE), 病理证实其有效^[3]。但用雷公藤单体 T_4 来研究对 EAN 动物模型的病理变化还未见报道。麝香亦有对免疫功能的调节作用及抗炎作用^[4], 人工麝香是医科院药物所研制出并得到卫生部准许的人工合成且具有麝香药理作用的新药。EAN 已公认为细胞及体液免疫介导的人格林-巴利综合征(GBS)的动物模型, 治疗上主要对抗其免疫机制, 为此, 我们选用雷公藤单体 T_4 及人工麝香治疗 EAN, 观察其临床效果及其对病理的影响, 为今后临床能否应用来治疗人的 GBS 提供提据。

材料与方法

一、实验材料与动物 碱性髓鞘蛋白(MBP): 从北京大红门牛羊肉联加工厂刚处死的牛中取其两侧坐骨神经, 医科院基础所协助提取 MBP。卡介苗: 北京生物制品所提供。羊毛脂: 上海市松江县新桥化工厂。液体石蜡: 北京化工厂。纯系新西兰白兔: 40 只, 体重 2.5~3.5 kg, 月龄 5 个月以上, 雌雄各半, 由医科院动物所提供。

二、EAN 的诱导 参照 Y London 方法^[5],

用新鲜牛坐骨神经提取的 MBP 与等量的福氏完全佐剂充分混合乳化后多点注入兔子背部皮下, 免疫 36 只兔, 每只 MBP 用量为 1.7 mg, 未发病动物第 21 天用初次免疫半量的 MBP 与福氏不完全佐剂混合乳化后腹腔作追加免疫。另外 4 只用生理盐水代替 MBP 同样方法免疫作为对照。

三、治疗方法 建立了五组试验来预防及治疗 EAN 进行对比比较。(1)人工麝香预防组: 随机选 5 只动物作为一组, 初次免疫后 1 天就开始给药, 按每日 250 mg/kg 灌胃, 连续 5 天, 未发病者第 21 天仍腹腔追加免疫。(2)地塞米松治疗组: 按每日 2.5 mg/kg 皮下注射。(3)雷公藤单体 T_4 治疗组: 按每日 40 μ g/只皮下注射。(4)人工麝香治疗组: 按每日 250 mg/kg 灌胃。(5)假治组: 按地塞米松治疗剂量的等体积量生理盐水皮下注射。各治疗组均在动物发病后随机选择分组, 发病第 2 天开始给药, 连续 5 天。

四、病理研究 观察 30 天后陆续将动物处死进行病理检查。脊髓取材: 颈、胸、腰段。脑取材: 额、顶、颞叶、基底节、中脑、桥脑、延髓、小脑。脑和脊髓做 HE 及 Last fast blue 髓鞘染色; 坐骨神经近、中、远三段做 HE 染色, 1% 银酸染色单根神经纤维分离及 618 环氧树脂包埋, 半薄切片甲苯胺蓝染色, 超薄切片铅油染色; 颈神经根、腰神经根、马尾神经做 HE 染色。

*北京协和医院神经内科(北京 100730)

结 果

一、一般表现 免疫后第2天开始每天观察其一般表现,判断其疾病过程。对照组4只未发病,实验组的36只兔子有27只出现了不同程度的疾病症状,发病率达75%。根据参考文献⁽⁶⁾,将EAN兔的症状分为0~4级。0级:未发病;1级:精神萎靡,后

肢轻微瘫痪;2级:后肢中度瘫痪;3级:后肢严重瘫痪伴前肢轻微受累;4级:四肢瘫痪伴有腱反射消失及尿便失禁。9只未发病兔中包括人工麝香预防组1只,27只发病动物去掉人工麝香预防组4只,另23只分别为人工麝香、地塞米松及雷公藤T₄治疗组各5只及假治组8只。我们将各组动物每天的评分加以平均后进行比较,结果如表1所示。

表1 5组动物表现平均评分比较 (分, $\bar{x} \pm S$)

组 别	免疫后不同时间评分					累计评分
	10天	15天	20天	25天	30天	
假 治	0.25±0.46	1.38±1.30	2.00±1.51	1.50±0.93	0.88±0.64	1.38±1.13
麝香预防	0.40±0.55	0.80±1.10	1.40±1.67	2.00±1.14	1.40±0.89	1.13±1.14*
麝香治疗	0	0.80±0.84	1.20±1.30	1.60±1.52	1.20±0.84	1.12±1.14*
地塞米松	0	0.40±0.55	0.80±0.84	1.00±1.22	0.80±0.84	0.72±0.90**
T ₄ 单 体	0	0.60±0.55	0.60±0.89	1.20±1.14	1.20±1.10	0.66±0.85**

注:与假治组比,* $P>0.05$,** $P<0.001$

二、EAN治疗后的病理改变

1. HE染色评定炎细胞浸润情况 评定标准:0级:未见炎细胞浸入;1级:白细胞附壁及小静脉周围有散在少数炎细胞;2级:外膜或束膜散在少量炎细胞;3级:外膜或束膜中等量炎细胞,少数可侵入束膜下或神经内膜;4级:广泛融灶性的静脉周围炎细胞并侵入内膜。将各组的动物炎细胞浸润级别评分平均后加以比较,结果见表2。

表2 5组动物不同部位炎细胞平均评分一览表 (分)

组别	坐骨神经			颈神经根	腰神经根	马尾神经
	近段	中段	远段			
假 治	0.75	1.25	0.63	2.50	3.25	3.63
麝香预防	1.00	0.80	0.80	2.20	3.00	3.40
麝香治疗	0	1.00	1.40	2.00	3.40	3.40
地塞米松	0	0.60	0	1.00	2.00	2.40
T ₄ 单 体	0.80	0	0	1.00	1.80	1.40

2. 单根神经纤维的病理变化 将坐骨神经的近、中、远段在解剖镜下分离成单根神经纤维,每个标本撕20根。对照及未发病的动物未发现有脱髓及轴索变性,其余5组共28只动物显示脱髓为主要病理改变,轴索变性少见,主要集中在发病达到3、4级动物身上。根据参考文献⁽⁷⁾,结合我们实验的具体情况作如下评分。评分标准:0级:20根均正常;1级:异常者<5根,主要表现郎飞氏结附近脱髓;2级:异常者5~10根,除了郎飞氏结附近有脱髓外,有节段性脱髓;3级:异常者>10根,除了郎飞氏结附近及节段性脱髓外,可有球型或卵圆形髓球形成。我们将各组的评分平均后进行比较,结果见表3。

3. 半薄切片的病理改变 参考有关文献⁽⁸⁾,对半薄切片中各组髓鞘的改变加以评定,将每组动物的总和评分平均后加以比较,评分标准:0级:无脱髓;1级:散在静脉周围少数脱髓;2级:许多静脉

表3 5组动物单根神经纤维分离平均评分比较 ($\bar{x} \pm S$)

组 别	动物数量	坐骨神经评分			累计评分
		近段	中段	远段	
假 治	8	2.22±0.83	1.63±0.52	1.13±0.35	1.63±0.71
麝香预防	5	1.20±1.30	1.00±0.71	0.40±0.55	0.87±0.92*
麝香治疗	5	1.80±1.64	1.20±0.84	0.40±0.89	1.30±1.25**
地塞米松	5	0.40±0.55	0.40±0.55	0.20±0.45	0.33±0.49***
T ₄ 单 体	5	0.40±0.55	0.40±0.55	0.20±0.45	0.33±0.49***

注:与假治组比,* $P<0.01$,** $P>0.05$,*** $P<0.001$

周围的脱髓或广泛薄髓鞘;3级:广泛融合性静脉周围脱髓。其结果发现:地塞米松治疗组(平均评分1.0分)及T₄单体治疗组(1.5分)明显低于假治组

(3.5分), $P<0.01$,人工麝香预防组(3.2分)及治疗组(3分)略低于假治组,但与假治组无统计学差别, $P>0.05$ 。

4. 电镜下病理改变 电镜下表现为: 毛细血管通透性增加, 吞饮小泡增多; 单核吞噬细胞游离出血管, 并向髓鞘靠近, 吞噬细胞的胞浆附着在髓鞘上, 并可见吞噬细胞胞浆内有吞噬物及次级溶酶体; 可见薄髓鞘及脱髓的轴索及脱髓不完全的轴索; 少数动物可见轴索变性。这些改变均以发病假治组、人工麝香预防组及治疗组出现频率高, T_4 单体及地塞米松治疗组出现频率相对低, MBP 免疫未发病的动物电镜下亦可见到炎细胞浸润及薄髓鞘改变, 正常对照组电镜下无病理改变。

5. 脑脊髓的改变 少数动物脑脊膜可见少量的炎细胞浸入, 但发现有一只动物的炎细胞浸入脑实质, 其余动物脑脊髓实质内均未见炎细胞浸入, 髓鞘染色亦未发现脑脊髓内有脱髓改变。

讨 论

目前国际上对 EAN 的治疗研究比较多, 血浆置换是有效的方法之一, 皮质类固醇, 环氧合酶阻断剂(如消炎痛), 环孢霉素 A 治疗 EAN 也有显效^(9, 10), 对抗干扰素的单克隆抗体(单抗), 抗白细胞介素-2 受体的单抗(ART 18)以及针对不同 T 细胞亚类及免疫相关抗原的各种单克隆抗体治疗 EAN 的疗效进行了探索⁽¹¹⁾, 而用雷公藤单体 T_4 以及人工麝香治疗 EAN 还未有报道。我们根据这两种药的药理性设置的五组试验结果显示: 临床上, 27 只发病动物一般在 10~14 天开始发病, 发病的高峰期在 20~22 天, 与文献报道⁽¹²⁾(15 天左右)稍有差异, 人工麝香预防组及治疗组发病高峰期(21~23 天)比假治组略晚(20 天), 但发病的严重程度及恢复期基本接近, 雷公藤单体 T_4 及地塞米松治疗组免发病表现的平均评分明显低于假治组, 说明 T_4 单体及地塞米松治疗 EAN 可以改善其临床表现, 病理上, 本组实验从 HE, 单根神经纤维分离, 半薄及电镜几个角度来评定各实验组的病理变化: HE 切片各组的炎细胞浸入情况从直方图上可看出, T_4 单体及地塞米松治疗组明显轻于另三组, 说明这两种药可以减轻血管通透性及抑制炎细胞的渗出, 且 T_4 单体的作用比地塞米松强, 但人工麝香预防及治疗作用不明显。从单神经纤维分离所示的脱髓及轴索变性各组的平均评分上发现, T_4 单体及地塞米松治疗组脱髓鞘改变明显比假治组轻($P < 0.001$), 而人工麝香预防组及治疗组脱髓虽然没有假治组明显, 但却比 T_4 单体及地塞米松治疗组明显, 从电镜情况看结果亦是如此。脑脊髓

切片提示, 除了脑脊膜有少数炎细胞浸润及一只动物脑实质有一处有炎细胞浸润外, 其余均未见炎细胞浸入及脱髓鞘改变, 提示重要的病理变化还是在周围神经, 因为我们用的抗原并未经进一步纯化为 P_2 蛋白而是用 MBP, 故脑脊髓伴有轻微的变化是可以理解的, 不影响对周围神经的评价。

总之, 从我们的结果来看, 地塞米松和雷公藤单体 T_4 对 EAN 的治疗有肯定的疗效, 而人工麝香的预防及治疗作用不肯定。至于雷公藤单体 T_4 今后能否应用于临床, 我们认为若更多的实验证明其有效, 可探索性地试用于临床。

参 考 文 献

1. 白人骁, 等. 雷公藤酊治疗类风湿性关节炎和强直性脊柱炎双盲法临床观察. 中华骨科杂志 1988; 8(4): 290.
2. 刘慰祖, 等. 雷公藤多甙治疗肾小球肾炎 30 例疗效观察. 上海中医药杂志 1990; (2): 5.
3. 李春光, 等. 雷公藤治疗实验性变态反应性脑脊髓炎的病理组织学观察. 中西医结合杂志 1989; 9(2): 98.
4. 宋秀媛, 等. 麝香的药理研究 I: 麝香对巴豆油引起小鼠耳部炎症的抗炎作用. 药学学报 1979; 14(11): 685.
5. London Y. Ox peripheral nerve myelin membrane, Purification and partial characterization of two basic proteins. Biochim Biophys Acta 1971; 249: 188.
6. Ota K, et al. Effect of corticosteroid on passively transferred experimental allergic neuritis. Jpn J Exp Med 1987; 57: 299.
7. Tuck RR, et al. Autonomic neuropathy in experimental allergic neuritis; an electrophysiological and histological study. Brain 1981; 104: 187.
8. Hahn Af, et al. Demyelination and axonal degeneration in Lewis rat experimental allergic neuritis depend on the myelin dosage. Lab Invest 1988; 59: 115.
9. Hartung HP, et al. The role of macrophages and eicosanoid in the pathogenesis of experimental allergic neuritis. serial clinical, electrophysiological, biochemical and morphological observations. Brain 1988; 111: 1039.
10. McCombe PA, et al. The effects of prophylactic cyclosporin A on experimental allergic neuritis (EAN) in the Lewis rat, induction of relapsing EAN using low dose cyclosporin A. J Neuroimmunol 1990; 28: 131.
11. Strigard K. Experimental allergic neuritis; studies on pathogenesis and immunoregulation. Acta Neurol Scand Suppl 1989; 80: 7.
12. Nomura K, et al. Cell-mediated immunity to bovine P_2 protein and neuritogenic synthetic peptide in experimental allergic neuritis. J Neuroimmunol 1987; 15: 25.

suffocation, fatigue, chest pain, improved in reducing the size of enlarged heart, the effective rate of EKG, particularly ST-T and various blocks, as well as in improving the function of left ventricular and abnormal systolic time interval (STI), the 1st group was better than that of 2nd one in all above-mentioned five aspects ($P < 0.05-0.01$). Therefore, it was assumed that therapy of activating the blood circulation to relieve stasis, the Tong-Mai oral liquid might be a good approach in treating infantile acute viral myocarditis.

Key words infantile viral myocarditis, activating the blood circulation to relieve stasis, Tong-Mai oral liquid

(Original article on page 216)

Significance of Brainstem Auditory Evoked Potential Determination in Chronic Renal Failure and Maintenance Hemodialysis Patients

Fan Ya-ping (范亚平), Jiang Ji-jie (蒋季杰), Qian Tong-sun (钱桐荪)
Affiliated Hospital of Nantong Medical College, Nantong (226001)

Brainstem auditory evoked potentials (BAEP) were measured in 20 chronic renal failure patients and 8 maintenance hemodialysis patients. The BAEP in chronic renal failure patients was showed that wave I, III, V peak latencies (PL) and I-III, I-V interpeak latencies (IPL) were markedly increased. The significant reductions, although not to normal, of wave III, IV PL and I-III, I-V IPL were recorded in postdialysis (average 4.2 months) compared with that in predialysis. A correlation analysis revealed no consistent relationships between plasma proteins, hemoglobin, urea, creatinine serum electrolytes and BAEP PL or IPL. The authors realize that BAEP could be used as a subjective index in deciding the inner ear and nervous system damage in chronic renal failure, and it also provided an electrophysiologic evidence for the relationship of Kidney and ear in traditional Chinese medicine.

Key words chronic renal failure, hemodialysis, brainstem auditory evoked potentials

(Original article on page 220)

Effects of T_4 Monomer of *Tripterygium Wilfordii* and Artificial Musk on Experimental Allergic Neuritis

Wang Cui-di (王翠娣), Guo Yu-pu (郭玉璞)*
Dept. of Neurology, Beijing Hospital, Beijing (100730)
* Peking Union Medical College Hospital

Both T_4 monomer of *Tripterygium wilfordii* and artificial musk had effects in regulating immune system and anti-inflammation. The effect of using artificial musk was the earlier the stronger. According to pharmacological features of the two drugs and pathogenesis of experimental allergic neuritis (EAN), 5 experimental groups were established, i.e., artificial musk prevented and treated groups, dexamethasone and T_4 monomer treated groups, and control group. Results: T_4 monomer could reduce the clinical score of model rabbits of EAN and significantly ameliorated inflammatory cell infiltration and demyelination. It was similar to dexamethasone. Although artificial musk had mild preventing and treating effects on the clinical and pathological changes of EAN, but was not statistically significant in comparing with control group. Our clinical or pathological data suggested that T_4 monomer and dexamethasone were effective in the treatment of EAN, and that of artificial musk in preventing and treating EAN as indefinite.

Key words experimental allergic neuritis, T_4 monomer of *Tripterygium wilfordii*, artificial musk

(Original article on page 224)