

滋肾止血片治疗大鼠原位免疫复合物性肾炎的实验研究*

刘宏伟¹ 李彩熙² 金龙² 刘志云² 董晓霞²

滋肾止血片是时振声教授多年来治疗肾炎的有效方剂,经剂型改革后制成的纯中药制剂,本研究应用阳离子化牛血清白蛋白(C-BSA)改良复制大鼠膜性肾炎模型,观察了滋肾止血片对该模型的治疗作用。

材料与方法

1 实验材料

1.1 实验动物 选用雄性SD大鼠,体重 246.3 ± 16.8 g,由首都医科大学实验动物中心提供。

1.2 主要试剂 牛血清白蛋白(BSA,德国进口)、无水乙二胺(EDA,日本进口)、碳化二亚胺(EDC,军事医学科学院提供)、卡介苗(北京药品生物制品检定所提供)等。

1.3 实验药物 滋肾止血片(由女贞子、旱莲草、白花蛇舌草、石韦、益母草等组成),每片含生药2.3 g(由中国中医研究院西苑医院实验药厂提供)。

2 实验方法

2.1 C-BSA的制备 参照文献^[1]方法。

2.2 模型复制 参照文献^[2,3],选用由腹腔注射过渡到尾静脉注射C-BSA的方法复制大鼠膜性肾炎模型。

2.3 实验分组及给药剂量 实验动物购回适应性喂养1周后,按体重随机分为空白对照组(正常组)、病理对照组(病理组)和滋肾止血片组(治疗组),每组各10只。滋肾止血片的给药剂量为7 g/kg(生药),在造模后2周开始灌胃给药,每日1次,正常组(不造模)和病理组(造模后2周)分别给予等量的自来水。

3 观察项目 实验动物的一般情况,尿蛋白定性、定量,血肌酐(SCr)、尿素氮(BUN)、总胆固醇(Tch)、甘油三酯(TG)、血浆蛋白含量、红细胞免疫功能以肾组织形态学检查(光镜、免疫荧光、电镜)。

4 统计学处理 组间比较用t检验。

结 果

1 一般情况 病理组和治疗组大鼠于造模后均有不同程度的摄食减少、精神不振、体重减轻等现象,特别是病理组更为显著,其中有3只大鼠出现阴囊水肿和腹水。

2 尿蛋白测定 造模后第2周病理组和治疗组大部分大鼠出现蛋白尿,至第3周两组所有大鼠均出现蛋白尿,尿蛋白定量(mg/24 h)病理组为 17.09 ± 4.57 ,治疗组为 8.44 ± 2.37 ,经统计学处理,有非常显著性差异($P < 0.001$)。至第4周末尿蛋白定量达高峰(病理组为 303.68 ± 100.71 ,治疗组为 64.85 ± 49.99),两组仍有非常显著性差异($P < 0.001$)。提示滋肾止血片具有显著降低蛋白尿的作用。

3 肾功能检查 结果见附表。病理组SCr和BUN含量均明显高于正常组(P 均 < 0.05),而治疗组SCr和BUN均明显降低(接近正常),与病理组均有显著性差异($P < 0.05$)。提示滋肾止血片具有保护肾功能的作用。

4 对血浆白蛋白、Tch、TG的影响 结果见附表。病理组血浆白蛋白明显低于正常组,差异非常显著($P < 0.01$),而治疗组则比病理组明显提高($P < 0.05$);病理组Tch和TG均明显高于正常组,差异非常明显($P < 0.01$ 和 0.05),而治疗组Tch和TG均比病理组降低,有统计学差异($P < 0.05$),但尚未恢复到正常水平。

5 红细胞免疫功能测定 结果见附表。病理组红细胞C₃b受体花环(RCR)和红细胞免疫复合物花环(RICR)百分率明显低于正常组,有非常显著性差异($P < 0.001$),而治疗组RCR升高到正常水平,RICR稍高于正常水平,均与病理组有非常显著性差异($P < 0.001$);病理组血循环免疫复合物(CIC)含量明显高于正常组($P < 0.001$),而治疗组则明显低于病理组($P < 0.01$),但还未恢复到正常值水平。提示滋肾止血片具有提高红细胞C₃b受体活性、清除CIC的作用。

*国家自然科学基金资助课题部分内容

1. 中国中医研究院研究生部(北京 100091); 2. 中国中医研究院西苑医院基础免疫室

附表 各组间实验室检验指标比较 ($\bar{x} \pm S$)

项 目	正常组	病理组	治疗组
SCr (mg/dl)	0.64±0.11 [△]	1.49±0.48	0.92±0.39*
BUN (mg/dl)	15.66±1.61*	34.15±12.83	18.97±3.29*
白蛋白 (g/L)	22.8±4.1 [△]	9.4±0.5	13.7±3.4*
Tch (mmol/L)	1.41±0.13 [△]	7.46±3.41	3.67±2.29*
TG (mmol/L)	0.46±0.14*	7.54±1.78	2.08±1.55*
RCR (%)	32.90±4.87 [▲]	15.50±5.18	31.38±6.05 [▲]
RICR (%)	33.50±5.14 [▲]	19.58±3.01	44.70±9.57 [▲]
肾小球直径 (μm)	89.4±5.9 [▲]	116.8±4.1	99.5±5.3 [▲]
肾小球细胞数 (个)	54.1±4.1 [▲]	106.6±8.1	69.9±12.1 [▲]
CIC	0.48±0.04 [▲]	4.93±1.83	1.62±0.37 [△]

注: 与病理组比较, * $P < 0.05$, [△] $P < 0.01$, [▲] $P < 0.001$; 每组均为 10 只动物

6 肾脏病理形态学观察

6.1 光镜观察 病理组织切片结果显示: 病理组大鼠肾小球肿胀, 体积明显增大, 肾小球内细胞数增多(结果见附表)。多数肾小球囊腔内有渗出物, 严重者充满整个囊腔, 压迫肾小球毛细血管; 肾小管肿胀变形, 肾小管内有大量蛋白管型等病理改变, PASM+HE 染色高倍镜下可见肾小球毛细血管基底膜上皮下有嗜复红样物质沉积, 并有“钉突”形成。而治疗组肾小球肿胀较轻, 细胞数相对较少(结果见附表), 个别肾小球内有少量渗出物, 肾小管内管型也较少。

6.2 免疫荧光观察 正常组大鼠肾小球内均无 IgG 及 C₃ 沉积(阴性), 而病理组大鼠肾小球内 IgG 和 C₃ 沉积均为阳性(其中 IgG 沉积: (+)1 只, (++)1 只, (+++)5 只; C₃ 沉积: (+)4 只, (++)3 只)。治疗组大鼠只有部分大鼠 IgG 和 C₃ 沉积阳性(其中 IgG 阳性 3 只, C₃ 阳性 5 只), 而且其荧光强度明显弱于病理组。

6.3 电镜观察 病理组肾小球基底膜明显不规则增厚, 上皮细胞足突广泛性融合甚至消失, 上皮细胞下可见大量电子致密物沉积; 而治疗组病理改变明显轻于病理组, 而且大多数大鼠肾小球基本接近于正

常大鼠。

讨 论

自 1982 年以来, Border 等⁽⁴⁾用 C-BSA 成功诱发了家兔膜性肾炎之后, 阳离子抗原已被广泛地应用于肾炎的实验研究。该模型与人类膜性肾炎颇为相似, 而膜性肾炎主要见于成人, 如特发性肾病综合征患者中约有 1/4~1/3 见此类病变⁽⁵⁾, 所以该模型具有一定的代表性。鉴于血清病性肾炎有一定的种属特异性, 与家兔比较, 大鼠的某些生物学特性与人类更为接近⁽⁶⁾, 故本研究选用了 C-BSA 诱发的大鼠膜性肾炎模型。

本实验结果提示病理组大鼠的临床表现和肾组织病理改变与文献的报道^(2,3)一致。治疗组的各项检测结果表明: 滋肾止血片可以显著降低大鼠膜性肾炎的蛋白尿, 改善肾功能(降低血肌酐和尿素氮), 而且还可以明显改善肾小球的病理改变。其作用机理可能与其提高红细胞免疫粘附功能、抑制补体系统的活化、抑制肾小球上皮下免疫复合物的沉积、减轻肾小球囊腔内渗出等有关。确切机理尚有待今后进一步深入研究。

参 考 文 献

1. 章友康, 王叔咸, 杜学海, 等. 用阳离子化牛血清白蛋白制作原位免疫复合物型肾炎模型. 中华肾脏病杂志 1985; 1(1): 7-9.
2. 袁伟杰, 崔若兰. 大鼠原位性肾炎肾皮质前列腺素的变化及抗栓素、川芎对其影响. 中华肾脏病杂志 1992; 8(6): 356.
3. Shogo T. Induction of membranous nephropathy in rats by daily immunisation with cationic BSA. Jap J Nephrol 1985; 27: 11103-1109.
4. Border WA. Induction of membranous nephropathy in rabbits by administration of an exogenous cationic antigen. J Clin J Invest 1982; 69: 451-461.
5. 邹万忠编著. 肾脏病理与临床. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1993: 44-46.
6. Humphrey JH, Jaques R. The histamine and serotonin content of the platelets and polymorphonuclear leukocytes of various species. J Physiol 1954; 124: 305-309.

(收稿: 1995-08-20 修回: 1996-03-05)