

筋骨草总黄酮对 MsPGN 大鼠血清 IL-1、TNF- α 水平的影响彭卫华¹, 南丽红², 贾钊², 方泰惠³, 吴符火², 徐曾涛²(1. 南京军区福州总医院肾脏科, 厦门大学附属东方医院, 福建医科大学福总临床医学院, 福建 福州 350025;
2. 福建中医药大学药学院, 福建 福州 350108; 3. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210029)

摘要:目的: 探讨筋骨草总黄酮对系膜增生性肾小球肾炎(MsPGN)大鼠的干预作用机制。方法: 采用改良慢性血清病 MsPGN 大鼠模型, 于造模第5w末检测尿蛋白, 将尿蛋白阳性者随机分为模型组、雷公藤多甙(TWP)组、不同剂量筋骨草总黄酮(TFA)组, 另设正常对照组。于造模第6w起开始给药, 6w后测定各组大鼠的24h尿蛋白定量、血生化和肾组织病理变化, 放射免疫分析法观察 TFA 对 MsPGN 模型大鼠血清中白细胞介素-1(IL-1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的影响。结果: TFA 可显著降低尿蛋白, 明显减小系膜区面积占毛细血管丛面积的百分比, 减轻肾脏损害($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 高、中剂量的 TFA 治疗效果与 TWP 相近($P > 0.05$)。模型对照组大鼠血清中 IL-1($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)、TNF- α ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)的表达明显高于正常对照组(IL-1 0.829 ± 0.251 vs 0.238 ± 0.081 , $P < 0.01$; TNF- α 8.43 ± 2.50 vs 1.52 ± 0.55 , $P < 0.01$); 干预性治疗后, TFA 高、中剂量组、TWP 组大鼠血清中 IL-1、TNF- α 的表达较模型对照组明显降低(IL-1 0.497 ± 0.106 , 0.543 ± 0.116 , 0.474 ± 0.076 , $P < 0.01$; TNF- α 5.52 ± 1.74 , 5.86 ± 0.92 , 5.01 ± 1.78 , $P < 0.01$); TFA 高、中剂量组 IL-1、TNF- α 表达虽略高于 TWP 组, 但无统计学差异($P > 0.05$)。结论: 筋骨草总黄酮对 MsPGN 大鼠有较好的治疗作用, 降低 IL-1 和 TNF- α 的水平, 可能是其治疗作用机制之一。

关键词: 筋骨草; 总黄酮; 系膜增生性肾小球肾炎; 白细胞介素-1; 肿瘤坏死因子- α

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1673-7717(2013)07-1627-04

Experimental Effects Study of Total Flavonoids of Ajuga on Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor- α in Mesangial Proliferative Glomerulonephritis RatsPENG Weihua¹, NAN Lihong², JIA Ru², FANG Taihui³, WU Fuhuo², XU Zentao²(1. Nephrology Dept of Fuzhou General Hospital, Nanjing Command PLA, Fuzhou 350025, Fujian, China;
2. Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350108, Fujian, China;
3. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu, China)

Abstract: Objective: To investigate the effects of total flavonoids of Ajuga (TFA) in mesangial proliferative glomerulonephritis (MsPGN) rats and its mechanism. Methods: MsPGN rat was induced by the improved chronic serum sickness model after five weeks. The rats with positive urinary protein rats were randomly divided into model group, tripterygium wilfordii polyglycosidum (TWP) group and TFA group with different dosage, normal rats were considered as the control group. MsPGN rats were treated with drugs since the sixth week; six weeks after successfully modeling, six weeks later, all rats were detected 24 h urinary protein, and blood biochemistry, pathomorphological change in renal tissue, serum Interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were measured by radioimmunoassay. Results: Compared with model group, TFA can significantly reduce the urinary protein, decrease BUN, Scr, TG, Tch, mitigate the morphological damage, and significantly increase TP ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The effects of high-dosage ($2.160 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) TFA and middle-dosage ($1.080 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) TFA were as similar as those of TWP ($P > 0.05$). The serum levels of IL-1 and TNF- α ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$) in model control were significantly higher than that in normal control group [IL-1 (0.829 ± 0.251) vs (0.238 ± 0.081), $P < 0.01$; TNF- α (8.43 ± 2.50) vs (1.52 ± 0.55), $P < 0.01$]; With the intervention therapy of high-dosage TFA, middle-dosage TFA and TWP, the expressions of serum IL-1 and TNF- α were significantly decreased compared with model control group ([IL-1 (0.497 ± 0.106),

收稿日期: 2013-02-11

基金项目: 福建省卫生厅中医药科研重点课题资助项目(wzzsb0906); 陈可冀中西医结合发展基金·福建省中西医结合老年性疾病重点实验室开放课题资助项目(CKJ2008088); 福建中医药大学校管课题资助项目(X2009069)

作者简介: 彭卫华(1970-), 男, 江西人, 副主任医师, 硕士, 研究方向: 肾脏病的发病机制及中西医诊治研究。

通讯作者: 贾钊(1978-), 女(满族), 福建长乐人, 实验师, 研究方向: 中药药理学。E-mail: 4812613@qq.com。

(0.543 ± 0.116), (0.474 ± 0.076) $P < 0.01$; TNF- α (5.52 ± 1.74) (5.86 ± 0.92) (5.01 ± 1.78) $P < 0.01$]. The expressions of IL-1 and TNF- α in high-dosage TFA, and middle-dosage TFA groups were slightly higher than those in TWP group, with no significant differences ($P > 0.05$). Conclusion: Total flavonoids of Ajuga has a therapeutic effect on MsPGN rats; Reducing the expressions of serum IL-1 and TNF- α , which may be one of the mechanisms of MsPGN treatment.

Key words: Ajuga; Total flavonoids; mesangial proliferative glomerulonephritis; IL-1; TNF- α

筋骨草 (Ajuga decumbens Thunb) 又名白毛夏枯草、苦草、金疮小草等, 属唇形科植物, 为福建各地常见的一年生或多年生野生草本, 具有清热抗炎、抑制 I 型变态反应等作用, 进一步分析发现筋骨草的有效成分为木犀草素即黄酮类化合物^[1]。本文课题组前期研究发现筋骨草总黄酮 (total flavonoids of Ajuga, TFA) 对系膜增生性肾小球肾炎 (mesangial proliferative glomerulonephritis, MsPGN) 具有治疗作用^[2-4]。能有效降低蛋白尿、保护肾功能, 其具体作用机制有待进一步探明。本文拟从 TFA 对 MsPGN 大鼠白细胞介素-1 (Interleukin-1, IL-1)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 干预作用作一研究。

1 材料与方法

1.1 材料

①实验药物中筋骨草总黄酮的制备, 筋骨草购于福州药材站, 经福建中医学院中药鉴定教研室鉴定后, 将其水提醇沉, 再经大孔树脂富集黄酮, 制得每 mL 含黄酮 0.54 g, 相当于生药 3 g。雷公藤多苷 (tripterigium wilfordii polyglycosidum, TWP) 片, 批号: Z43020158, 浙江普洛康裕天然药物有限公司产品。②实验动物选择 SD 雄性 (δ) 大鼠, 6~8 周龄, 体重 (200 ± 20) g。由福建中医药大学实验动物中心提供, 合格证号: SCXK 沪 2007-0005。适应性喂养 1 周, 经检测尿蛋白为阴性者进入实验。③主要试剂和仪器有完全福氏佐剂, SIGMA 公司产品; 牛血清白蛋白 (BSA), 罗氏公司产品; 血清 IL-1、TNF- α 试剂盒 (RIA 法), 北京普尔伟业生物科技有限公司提供, 批号均为 20080829; 7230G 型紫外可见分光光度计 (上海), Olympus AU640 型全自动生化仪 (日本), Motic Images Advanced 3.2 图像采集分析系统 (麦克奥迪实业集团有限公司), DMBA400 型数码生物显微系统 (美国)。

1.2 实验方法

1.2.1 MsPGN 模型的制备及分组 参照文献^[2-5]。随机按体重取 10 只大鼠作为正常对照组, 其余大鼠腹腔麻醉消毒后, 背侧切除左侧肾脏, 休养 1 周。预免疫: 实验鼠足垫皮下注射完全福氏佐剂 0.1 mg 加 3 mg BSA 于 1 周末、2 周末各加强 1 次; 3 周末腹腔连续注射 BSA 4 次, 每次间隔 1 h。注射剂量分别为每只 0.5 mg、1.0 mg、1.5 mg、3.0 mg; 次日晨加强 1 次 (2.0 mg / 只)。免疫: 之后每日腹腔注射 BSA, 剂量从每只 1 mg 开始, 每日增加 1 mg 至 5 mg 为止, 继续每周加量 1 mg, 至 10 mg 为止。存活大鼠于造模第 5 周末, 进行尿蛋白检测。因麻醉意外和手术后出血死亡 3 只, 预免疫 1 周内 2 只死于超敏反应, 剔除 4 只尿蛋白阴性者, 共 49 只出现明显蛋白尿大鼠按体重随机分为以下各组: 模型对照组、TWP 组、TFA 高剂量 (2.160 g · kg⁻¹ · d⁻¹) 组、TFA 中剂量 (1.080 g · kg⁻¹ · d⁻¹) 组、TFA 低剂量 (0.540 g · kg⁻¹ · d⁻¹) 组, 各组尿蛋白定量匹配、无统计学差异。

1.2.2 给药方法 造模第 6 周开始给药, 按 1 mL/100 g 灌胃, 每日 1 次, 连续 6 周。经预试验后 TFA 组按以上高、中、低不同剂量给药, TWP 组按 0.018 g · kg⁻¹ · d⁻¹ 给药, 药量为成人每日每 kg 体重用量的 12 倍; MsPGN 各组灌服等量的生理盐水, 正常对照组不予处理。

1.2.3 测定指标 于给药第 6 周末留取大鼠 24 h 尿液, 考马斯亮蓝法检测 24 h 蛋白尿定量, 次日心脏取血行生化检测 (总蛋白 (TP)、丙氨酸转氨酶 (ALT)、血肌酐 (Scr)、尿素氮 (BUN)、甘油三酯 (TG)、总胆固醇 (Tch) 含量等, 及血清 IL-1、TNF- α 检测。

血清 IL-1、TNF- α 检测: 采用放射免疫分析法 (Radioimmunoassay, RIA) 检测, 测定原理: 利用液相竞争抑制原理, 采用平衡法对样品进行测定。待测样品或标准与限量的抗血清及标记抗原加在一起进行竞争性结合反应, 反应完全后, 加入免疫分离剂, 分离出抗原-抗体复合物, 测定复合物的放射性 (B), 计算各标准管的结合率 (B/B₀%)。作出标准曲线, 查出样品浓度。相关操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.2.4 肾组织标本制作及检测 留取上述标本后处死大鼠, 取右侧肾脏, 10% 中性福尔马林溶液固定, 石蜡包埋切片, HE、PASM 染色, 显微镜下观察拍照, Motic Images Advanced 3.2 图像分析软件对 PASM 染色的肾组织进行半定量分析。在上、下、左、右、中视野每份样本各取肾小球 2 个 (共 10 个) 检测毛细血管丛面积、系膜区面积, 并计算系膜区面积与整个毛细血管丛面积的百分比。

1.3 统计学方法

数据均以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 输入 SPSS 15.0 软件处理, 进行多组间单因素方差检验, 组间两两比较行 q 检验。 $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果

2.1 TFA 对 MsPGN 大鼠尿蛋白的影响 见表 1。

表 1 各组大鼠 24 h 尿蛋白定量检测情况 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 (g · kg ⁻¹)	尿蛋白 (mg · 24 ⁻¹ · h ⁻¹)	
			造模第 5 周末	给药第 6 周末
正常对照组	10	-	6.65 ± 2.17	9.96 ± 4.38
模型对照组	10	-	28.87 ± 5.64**	38.91 ± 10.62***
TWP 组	10	0.018	26.30 ± 7.32**	17.53 ± 7.37* $\Delta\Delta$
TFA 高剂量组	9	2.160	28.64 ± 5.73**	21.64 ± 6.59*** $\Delta\Delta$
TFA 中剂量组	10	1.080	27.12 ± 4.89**	18.28 ± 8.07* $\Delta\Delta$
TFA 低剂量组	10	0.540	26.12 ± 4.52**	30.01 ± 7.55*** $\Delta\Delta\#$

注: 与正常对照组比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与给药前比, $P < 0.05$, * $P < 0.01$; 与模型对照组比, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与 TWP 组比, $\# P < 0.01$ 。

模型对照组尿蛋白 (mg · 24⁻¹ · h⁻¹) 显著高于正常对照组 (38.91 ± 10.62 vs 9.96 ± 4.38, $P < 0.01$), 且较第 5 周末尿蛋白明显增加 (38.91 ± 10.62 vs 28.87 ± 5.64, $P < 0.05$); 而 TWP 组、TFA 高、中、低剂量组治疗

后尿蛋白均明显降低 ($P < 0.05$) ,且 TWP 组、TFA 高、中剂量组与模型组尿蛋白相比显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$) 有所降低。TFA 高、中剂量组尿蛋白虽略高于 TWP 组 ,但无统计学意义 ($P > 0.05$) ,而低剂量 TFA 组

降尿蛋白的作用不如 TWP 组 ($P < 0.01$) 。具体结果详见表 1。

2.2 TFA 对 MsPGN 大鼠 TP、肝肾功能、血脂的影响 见表 2。

表 2 各组大鼠血清 TP、TG、Tch、肝功能的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 (g·kg ⁻¹)	TP (g·L ⁻¹)	ALT (U·L ⁻¹)	BUN (mmol·L ⁻¹)	Scr (μmol·L ⁻¹)	TG (mmol·L ⁻¹)	Tch (mmol·L ⁻¹)
正常对照组	10	-	76.40±8.30	51.10±9.21	9.44±1.97	40.50±10.29	1.61±0.37	1.56±0.28
模型对照组	10	-	51.90±7.32**	58.50±11.03	15.76±3.57**	63.20±16.78**	2.39±0.47**	2.41±0.79**
TWP 组	10	0.018	65.10±15.30 [△]	83.40±11.53** ^{△△}	11.17±2.74* ^{△△}	45.62±9.86 [△]	1.98±0.40* [△]	1.95±0.37*
TFA 高剂量组	9	2.160	71.67±12.41 ^{△△}	50.78±6.78 ^{##}	11.62±1.78* ^{△△}	48.67±6.80 [△]	1.65±0.27 ^{△△#}	1.59±0.31 ^{△#}
TFA 中剂量组	10	1.080	68.33±14.05 ^{△△}	57.60±8.09 ^{##}	12.56±2.85* [△]	50.10±7.30* [△]	1.94±0.38 [△]	1.63±0.23 ^{△#}
TFA 低剂量组	10	0.540	60.80±10.88** [△]	52.20±8.60 ^{##}	13.37±4.01*	58.80±9.26** ^{##}	2.41±0.46**	2.18±0.65*

注:与正常对照组比 * $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型对照组比 [△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$;与 TWP 相比 [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ 。

TFA 各剂量组、TWP 组血清 TP 与模型对照组相比明显升高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$) ,且 TFA 各剂量组与 TWP 组相比无显著性差异 ($P > 0.05$) 。模型对照组血清 TG、Tch、BUN、Scr 明显高于正常对照组 ($P < 0.01$) ,而 TFA 高、中剂量组、TWP 组血清 TG、BUN、Scr 则明显降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$) ,且 TFA 高剂量组降低 TG 的作用优于 TWP ($P < 0.05$) ;TFA 高、中剂量组血清 Tch 明显低于模型对照组、TWP 组 ($P < 0.05$) 。TFA 高、中剂量组血清 BUN、Scr 虽略高于 TWP 组 ,但无显著差异 ($P > 0.05$) 。模型对照组、TFA 各剂量组 ALT 与正常对照组相比无统计学差异 ($P > 0.05$) ,提示 TFA 治疗过程中无明显肝损害。

2.3 TFA 对 MsPGN 大鼠肾脏组织改变的影响

表 3 TFA 对 MsPGN 大鼠血清中肾脏病理学改变、IL-1、TNF-α 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 (g·kg ⁻¹)	系膜区面积/ 毛细血管丛面积	IL-1 (ng·mL ⁻¹)	TNF-α (ng·mL ⁻¹)
正常对照组 (A 组)	10	-	0.140±0.026	0.238±0.081	1.52±0.55
模型对照组 (B 组)	10	-	0.304±0.059**	0.829±0.251**	8.43±2.50**
TWP 组 (C 组)	10	0.018	0.166±0.030 ^{△△}	0.474±0.076** ^{△△}	5.01±1.78** ^{△△}
TFA 高剂量组 (D 组)	9	2.160	0.179±0.056 ^{△△}	0.497±0.106** ^{△△}	5.52±1.74** ^{△△}
TFA 中剂量组 (E 组)	10	1.080	0.196±0.035* ^{△△}	0.543±0.116** ^{△△}	5.86±0.92** ^{△△}
TFA 低剂量组 (F 组)	10	0.540	0.258±0.058** ^{△#}	0.649±0.134** ^{##}	6.64±1.20** ^{##}

注:与正常对照组比 * $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型对照组比 [△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$;与 TWP 组相比 [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ 。

2.4 TFA 对 MsPGN 大鼠血清中 IL-1 含量的影响

模型对照组大鼠血清中 IL-1 (ng·mL⁻¹) 的表达明显高于正常对照组 (0.829±0.251 vs 0.238±0.081 , $P < 0.01$) ;干预性治疗后 ,TFA 高、中剂量组、TWP 组大鼠血清中 IL-1 的表达较模型对照组明显降低 (0.497±0.106 ,0.543±0.116 ,0.474±0.076 , $P < 0.01$) ;TFA 高、中剂量组 IL-1 表达虽略高于 TWP 组 ,但无统计学差异 ($P > 0.05$) ,而 TFA 低剂量组降低 IL-1 的作用则明显不如 TWP ($P < 0.01$) ,见表 3。

2.5 TFA 对 MsPGN 大鼠血清中 TNF-α 含量的影响

模型对照组大鼠血清中 TNF-α (ng·mL⁻¹) 的表达正常对照组明显升高 (8.43±2.50 vs 1.52±0.55 , $P < 0.01$) ;干预性治疗后 ,TFA 高、中剂量组、TWP 组大鼠血清中 TNF-α 的表达明显低于模型对照组 (5.52±1.74 ,5.86±0.92 ,5.01±1.78 , $P < 0.01$) ;TFA 高、中剂量组降低 TNF-α 表达效果稍逊 TWP ,但无统计学差异 ($P > 0.05$) 。而 TFA 低剂量组降低 TNF-α 的作用不如 TWP 则存在统计

模型大鼠肾小球病理改变经 HE 染色、PAS 染色及 Masson 染色和免疫组化等证实符合 MsPGN 改变 (插页 XI 图 1~2) ,肾脏病理图参见文献。PASM 染色图像 (插页 XI 图 3~6) 半定量分析结果显示:模型对照组中增生的肾小球系膜细胞 (GMC) 与系膜基质压迫毛细血管腔 ,并有广泛的毛细血管内皮细胞肿胀 ,系膜区面积占毛细血管丛面积的百分比明显大于正常对照组 (0.304±0.059 vs 0.140±0.026 , $P < 0.01$) ,药物干预治疗后 ,TWP 组和 TFA 各剂量组系膜区面积占毛细血管丛面积的百分比明显减小 (0.166±0.030 ,0.179±0.056 ,0.196±0.035 ,0.258±0.058 , $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$) ,其中 TFA 高、中剂量组的百分比虽高于 TWP 组 ,但无统计学差异 ,而 TFA 低剂量组的百分比要明显大于 TWP 组 ($P < 0.05$) ,见表 3。

差异 ($P < 0.05$) ,见表 3。

3 讨论

在 MsPGN 的病生理过程中的病生理进程中 ,有许多细胞因子参与有许多细胞因子参与 ,通过各种途径作用于肾脏 ,而 IL-1、TNF-α 是其中主要的免疫调节和炎症因子。IL-1 可由 T、B 细胞和 GMC 等多种细胞合成 ,且生成受多种因素的影响。1989 年 Suematsu 等将人免疫球蛋白 H 链基因增强子 (En) 与人 IL-1 染色体基因显微导入 G67 BL/6 鼠受精卵内 ,制备了 IL-1 转基因鼠 ,对肾组织标本 IL-1 蛋白表达行半定量分析 ,发现所有转基因鼠呈典型的 MsPGN 改变 ,MsPGN 肾组织中 IL-1 蛋白表达较正常肾组织表达增多 ,且表达量随病变程度而加重 ,发现所有转基因鼠呈典型的 MsPGN 改变 ,从而为 IL-1 与 MsPGN 发病相关寻找到了直接依据。该研究采用患者肾组织标本对 IL-1 蛋白表达行半定量分析 ,发现 MsPGN 肾组织中 IL-1 蛋白表达较正常肾组织表达增多 ,且表达量随病变程度而加重。证明了肾脏组织局部 IL-1 异常表达在 MsPGN

发病的作用。

IL-1可由T、B细胞和肾小球系膜细胞(GMC)等多种细胞合成,且生成受多种因素的影响。IL-1作为GMC自分泌调节因子,正常情况下,GMC分泌IL-1存在一种负反馈调节,当致病因子(诸如外来抗原)刺激作用可引起细胞因子网络失调,GMC自分泌IL-1的平衡调节被破坏,IL-1的分泌异常增多,IL-1反过来又刺激GMC的增殖,二者互为因果,形成一种恶性循环,从而导致GMC增殖不断加重。细胞因子网络中IL-1、TNF- α 均可促进GMC分泌IL-1,同时GMC能自分泌IL-1、IL-8、TNF- α 和PDGF,这些细胞因子相互作用,相互诱导,作用于肾小球GMC,使之进一步增殖,并刺激系膜细胞外基质的合成,导致肾小球局灶增殖发展成弥漫增殖以至肾小球硬化的发生。

本文课题组前期研究发现,TFA对MsPGN具有治疗作用^[2-4],能有效降低蛋白尿,抑制GMC增殖、减少细胞外基质积聚,减轻肾脏病理损害、促进肾小球病理改变恢复,但其具体作用机制有待进一步探明。本实验观察到模型对照组血清IL-1水平明显高于正常对照组,高、中剂量TFA及TWP干预性治疗后血清中IL-1的表达水平明显低于模型对照组。提示TFA保护肾脏、减少蛋白尿的作用可能与其抑制MsPGN大鼠IL-1的分泌释放有关的分泌释放有一定关系。

肾脏多种细胞均可产生细胞因子TNF- α ^[8],包括肾小球系膜细胞(GMC)、肾小管上皮细胞及肾脏中的血液细胞,MsPGN组织至少有4种细胞可产生TNF- α ,如GMC、肾小管上皮细胞、间质浸润的单核、淋巴细胞。病理情况下,免疫复合物沉积等多种因素作用刺激GMC过多表达TNF- α ,反过来可引起肾脏固有细胞的增殖,ECM及其他炎症介质过多表达,直接导致对GMC的损伤。在病变早期由于刺激因素弱,GMC的增生程度及TNF- α 的产生量都很少。随着病情的恶化及刺激因素的增加,GMC不断增多,合成TNF- α 的功能增强,已发现TNF- α 在GMC内的含量与MsPGN中系膜增生程度相关^[9]。TNF- α 通过自分泌和旁分泌,不仅刺激系膜细胞分裂增殖,还可以刺激GMC分泌IL-1、IL-6等多种炎症细胞因子,加重GMC的增殖。有实验证明TNF- α 能与IL-1一起在转录水平上刺激GMC合成前列腺素(PG)和花生四烯酸(AA),增强磷脂酶A和过氧化酶的活性,促进GMC增殖^[10]。

TNF- α 也可诱导系膜细胞产生血小板活化因子(PAF),使肾脏血流动力学发生改变,造成肾小球受损。本实验观察到增生的GMC与系膜基质压迫毛细血管腔,并有广泛的毛细血管内皮细胞肿胀,结果造成肾小球内毛细血管缺血现象,引起肾小球内血流动力学的改变。TNF- α 还可促使培养的肾小球系膜间的粘附分子-1的表达增加,使中型粒细胞与淋巴细胞相互黏附^[11],增加C₃受体CDII复合物表达刺激H₂O₂产生大量氧自由基,从而损伤肾小球。此外,TNF- α 也可改变GMC的功能,使其发生细胞收缩,导致细胞形态和细胞骨架的改变,刺激系膜细胞分裂增殖,诱导IL-1的产生,参与调节ECM的合成、分泌和降解,影响基质受体的表达。本实验结果显示模型对照组血清TNF- α 水平明显高于正常对照组,证实TNF- α 一定程度上参与了MsPGN的病理发展过程。高、中剂量

TFA干预性治疗后血清中TNF- α 的表达水平明显降低,提示TFA对MsPGN的治疗作用可能与其抑制TNF- α 的表达有关,可能在调节MsPGN的免疫炎症反应,抑制GMC增殖和ECM积聚,延缓MsPGN病情进展起一定作用。

MsPGN是一种临床常见的原发性肾脏疾患,是导致肾衰竭的最主要原因之一,中医药独特治疗优势可延缓肾小球进行性损伤的进程^[12]。本研究应用高、中剂量的TFA治疗MsPGN模型大鼠后,可显著降低模型大鼠的尿蛋白、血BUN、Scr,明显减小系膜区面积占毛细血管丛面积的百分比、减轻肾脏损害,升高血中TP水平,说明筋骨草总黄酮在降MsPGN尿蛋白、保护肾功能等方面具有治疗作用^[13]。高、中剂量的TFA干预性治疗后,血清中IL-1、TNF- α 的表达水平也明显低于模型对照组的表达水平也明显降低,提示TFA对MsPGN的治疗作用可能与其调节MsPGN的免疫炎症反应,抑制IL-1、TNF- α 的表达有关,在调节MsPGN的免疫炎症反应,延缓MsPGN病情进展起有一定作用关系。

参考文献

- [1] 金继曙,都述虎. 筋骨草中黄酮类成分的研究[J]. 安徽医学,1994,15(2):51-52.
- [2] 南丽红,彭卫华,方泰惠,等. 筋骨草对改良慢性血清病系膜增生性肾小球肾炎大鼠的影响[J]. 中华中医药学刊,2009,27(11):2366-2368.
- [3] 南丽红,彭卫华,方泰惠,等. 筋骨草黄酮类提取物治疗系膜增生性肾炎大鼠的实验研究[J]. 中国中医急症,2009,18(11):1849-1851.
- [4] 南丽红,彭卫华,郑省兰,等. 筋骨草总黄酮对慢性血清病肾炎大鼠自由基损伤的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2009,10(10):867-870.
- [5] 贾慧,邹万忠. 改良慢性血清病大鼠系膜增生性肾炎模型的建立[J]. 肾脏病与透析移植杂志,1996,5(3):21-25.
- [6] Zoja C, Wang JM, Bettoni S, et al. Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor- α induce gene expression and production of leukocyte chemotactic factors, colony-stimulating factors, and interleukin-6 in human mesangial cells[J]. Am J Pathol,1991,138(4):991-1003.
- [7] 周安宇,谏贻璞,高进. 肿瘤坏死因子 α 介导内皮素所致人肾小球系膜细胞增殖[J]. 北京大学学报:医学版,2001,33(6):529-531.
- [8] KACPRZY F. Serum concentration and urinary excretion of soluble receptors for TNF- α in patients with primary glomerulonephritis[J]. Pol Merkuriusz Lek,2003,15(2):383-396.
- [9] 梁东,黄志清,祝立志,等. 糖皮质激素对非IgA系膜增生性肾炎患者肿瘤坏死因子的影响[J]. 中国实用内科杂志,1999,19(4):207-208.
- [10] Tesch GH, Nikolic-paterson DJ, Mete CN, et al. Rat mesangial cells express macrophage migration inhibitory factor in vitro and in vivo[J]. J Am Soc Nephrol,1998,9(3):417-424.
- [11] Brennan DC, Jevnikar AM, Takei T, et al. Mesangial cell accessory functions: Mediation by intercellular adhesion molecule-1[J]. Kidney Int,1990,38(6):1039-1046.
- [12] 赵玉庸,陈志强,于春泉,等. 肾络通治疗系膜增生性肾小球肾炎的临床观察[J]. 中国中西医结合杂志,2002,22(12):909-911.

筋骨草总黄酮对 MsPGN 大鼠血清 IL-1、TNF- α 水平的影响

(正文见 1627-1630 页)

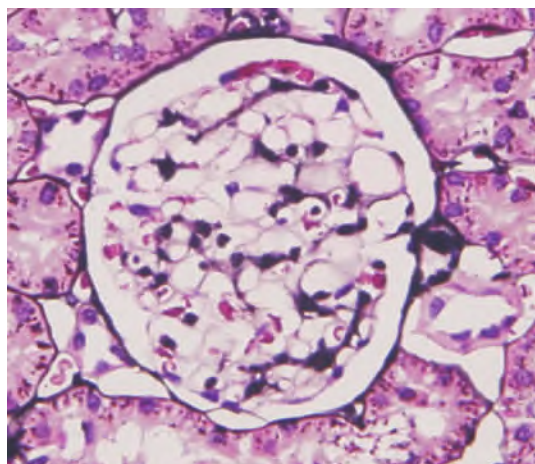


图1 正常对照组(PASM染色 $\times 400$)

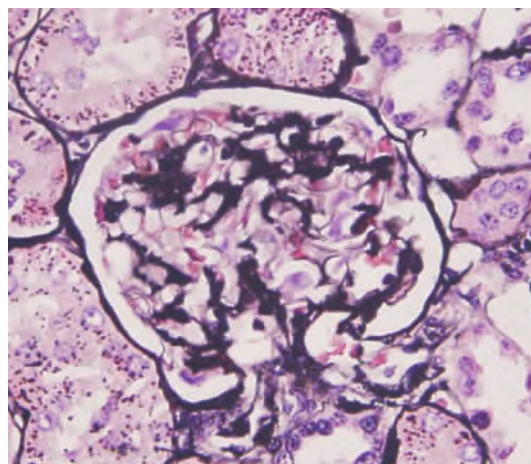


图2 模型对照组(PASM染色 $\times 400$)

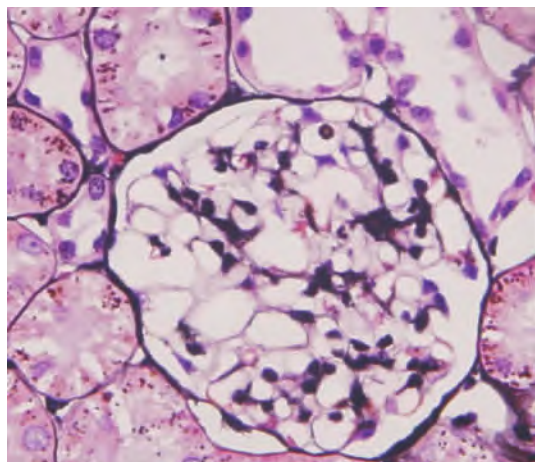


图3 TWP组(PASM染色 $\times 400$)

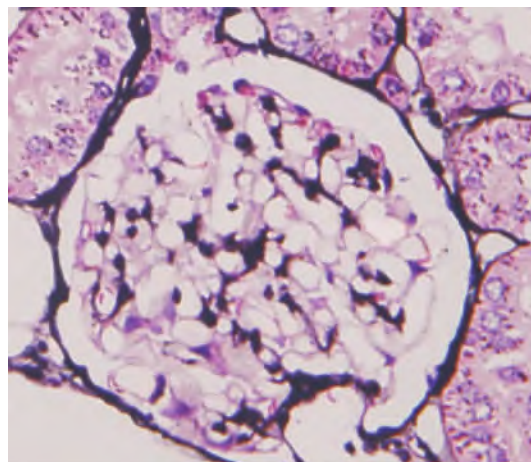


图4 TFA高剂量组(PASM染色 $\times 400$)

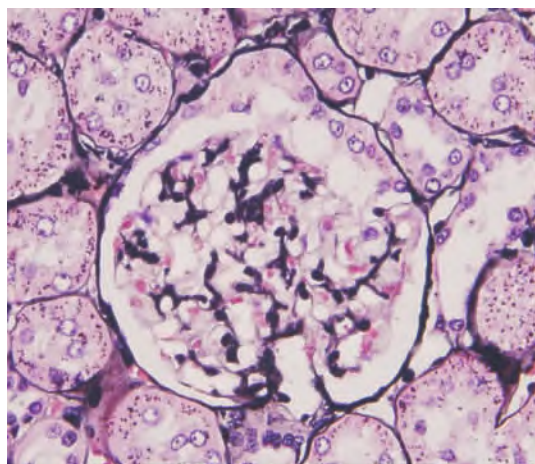


图5 TFA中剂量组(PASM染色 $\times 400$)

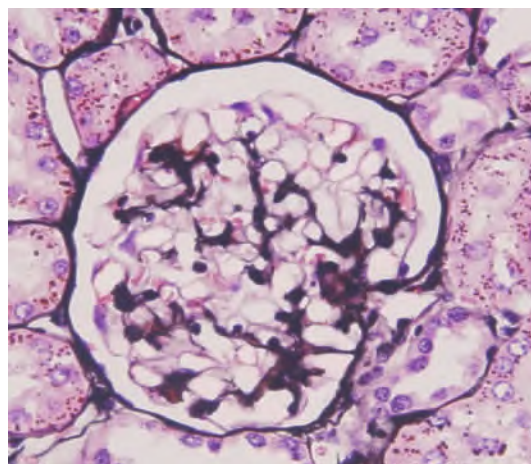


图6 TFA低剂量组(PASM染色 $\times 400$)