

• 基础研究 •

枸杞黄颗粒对 MRL/Lpr 狼疮小鼠肾损伤治疗作用的影响

汪 卫 于健宁 刘小贤

摘要 目的 研究枸杞黄颗粒对 MRL/Lpr 狼疮小鼠肾损伤病理进程发展的影响。方法 正常饲养 C57BL/6 小鼠 8 只为正常组。8 ~ 10 周龄 MRL/Lpr 狼疮小鼠 24 只随机分为模型组、枸杞黄颗粒组 (HQH 组)、地塞米松组 (DXM 组), 每组 8 只。MRL/Lpr 狼疮小鼠 12 周龄左右开始发病, HQH 组与 DXM 组分别给予枸杞黄颗粒 (4 g/kg) 及地塞米松 (2.5 mg/kg) 灌胃治疗, 每天 1 次, 共治疗 15 天。检测各组小鼠体重、24 h 尿蛋白、白蛋白、SCr、BUN 及抗核抗体 (ANA)、抗双链 DNA (dsDNA) 含量水平, HE 染色观察肾脏组织病理, 免疫荧光检测 IgG 及 C3。结果与正常组比较, 模型组体重增长差值减少, ANA、dsDNA、白蛋白、SCr、BUN 水平升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, DXM 组及 HQH 组体重差值增加 ($P < 0.01$), ANA、dsDNA、白蛋白、SCr、BUN 水平下降 ($P < 0.01$)。与治疗前比较, 治疗后 DXM 组及 HQH 组 24 h 尿蛋白量明显下降 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。HE 染色可见模型组肾小球细胞增生, 且肾小球毛细血管壁有明显损伤, 肾小球和肾间质炎细胞浸润, 同时肾小管肿胀明显; DXM 组和 HQH 组炎性细胞浸润明显减少, 肾小管肿胀有所减轻。免疫荧光检测显示与正常组小鼠比较, 模型组小鼠肾脏中 IgG 表达上升, C3 的表达下降; DXM 组及 HQH 组小鼠肾脏中 IgG 表达下降, C3 表达上升。结论 枸杞黄颗粒有改善 MRL/Lpr 狼疮小鼠肾脏病理的作用。

关键词 系统性红斑狼疮; 枸杞黄颗粒; 肾损伤; MRL/Lpr 狼疮小鼠

Effect of Huaiqihuang Granule on MRL/Lpr Lupus Erythematosus Mice with Renal Injury WANG Wei, YU Jian-ning, and LIU Xiao-xian Department of Rheumatology and Nephrology, Hangzhou Red Cross Hospital, Hangzhou (310003)

ABSTRACT Objective To explore the effect of Huaiqihuang Granule on the pathological process of renal injury in MRL/Lpr lupus mice. Methods Eight C57BL/6 mice were used as the normal group. Twenty-four 8-10-week-old MRL/Lpr lupus mice were randomly divided into three groups, i. e. model group, Huaiqihuang granule group (HQH group), dexamethasone group (DXM group), 8 in each group. MRL/Lpr lupus mice began to sicken at about 12 weeks old. The mice in the HQH group were treated by Huaiqihuang Granule (4 g/kg) and the mice in the DXM group were treated by dexamethasone (2.5 mg/kg), once a day, for 15 days. Body weight, 24 h urinary protein, albumin, SCr, BUN, antinuclear antibody (ANA) and double strand DNA (dsDNA) levels were detected in each group. HE staining was used to observe renal histopathology, and immunofluorescence was used to detect IgG and C3. Results Compared with the normal group, the difference in weight gain of the model group decreased, and the levels of ANA, dsDNA, albumin, SCr and BUN increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the weight gain of the DXM group and the HQH group increased ($P < 0.01$), and the ANA, dsDNA, albumin, SCr and BUN decreased ($P < 0.01$). The amount of 24 h urine protein in the DXM and HQH group decreased significantly after treatment ($P < 0.05$, $P < 0.01$). HE staining showed glomerular mesangial cells prolifera

基金项目: 杭州市科学技术发展计划项目 (No. 20140733Q25)

作者单位: 杭州市红十字会医院风湿免疫肾内科 (杭州 310003)

通讯作者: 汪 卫, Tel: 13868028740, E-mail: penpanpin@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20180314.067

tion in model group, glomerular capillary wall was obviously damaged, glomerular and interstitial inflammatory cells infiltrated, and renal tubular swelling could be seen clearly. In the DXM and HQH group, inflammatory cell infiltration decreased and renal tubular swelling decreased. Compared with normal group, immunofluorescence assay showed that the expression of IgG increased and the expression of C3 decreased in the model group, but the expression of IgG and the expression of C3 increased in DXM and HQH groups. Conclusion Huaiqihuang granule can improve the renal pathology of MRL/Lpr lupus mice.

KEYWORDS systemic lupus erythematosus; Huaiqihuang Granule; renal injury; MRL/Lpr lupus mice

系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 是一种典型的自身免疫性疾病,主要是因免疫耐受机制的失衡而导致的 T 细胞应答失调和 B 淋巴细胞功能亢进,使体内产生和沉积多种自身抗体和免疫复合物,从而引起组织损伤^[1-2]。槐杞黄颗粒是由槐耳菌丝体发酵的提取物,配伍中药枸杞子、黄精而制成的颗粒剂,具有补益精气、滋补肝肾、润养心肺和强壮筋骨的功效。槐杞黄的主要有效成分槐耳富含槐耳菌质多糖(PS-T),已证实 PS-T 可明显增强机体细胞的免疫应答,具有免疫调节、抗肿瘤及抗病毒等功能^[3]。槐耳菌还能诱生的一种理想的免疫调节剂 TH1 类细胞因子^[4-5]。

目前 SLE 仍无特异性的治疗方法,若想寻找到更有效的治疗方法,须将其发病机制研究的更深入^[6]。目前已有研究表明槐杞黄颗粒可作为一种免疫调节剂,其具有抗炎、抗过敏、改善微循环、减少尿蛋白、增强免疫力、促进组织修复的功效^[7-8]。本文通过 MRL/Lpr 狼疮小鼠模型,研究槐杞黄颗粒是否能起到改善 SLE 的指标和病理症状。

材料与方 法

1 实验动物 SPF 级 MRL/lpr 自发 SLE 模型小鼠 24 只,正常 C57BL/6 小鼠 8 只,雌性 8~10 周龄,购自广东省医学实验动物中心,由国家遗传工程小鼠资源库暨南京大学模式动物研究所提供,实验动物许可证号:SYXK(粤)2013—0002、SYXK(粤)2008—0002。环境温度稳定于 20~26℃,湿度 40%~70%,采用 10 h:14 h 昼/夜自动循环交替照明。实验按照动物实验要求进行。

2 实验药物 槐杞黄颗粒(批号: B20020074,10 g/袋)购自盖天力药业有限公司,其成分槐耳菌质、枸杞子、黄精、蔗糖、淀粉和矫味剂。

3 试剂及仪器 地塞米松购自美国 Sigma 公司(批号: 51601072);尿蛋白、白蛋白、血肌酐(serum cre-

atinine, SCr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)定量试剂盒购自南京建成生物工程研究所;抗核抗体(antinuclear antibody, ANA, CSB-E06264 m)、抗双链 DNA(double strand DNA, dsDNA, CSB-E06197 m)、TGF- β (EHJ-EJJ06324)、IL-17(EHJ-DBHZ-16137)试剂盒购自慧嘉生物科技有限公司; FITC 标记山羊抗小鼠 IgG(H+L)购自碧云天公司(批号: A0568); IgG 单抗购自 Abcam(批号: Ab6785); C3 单抗购自 Santa Cruz(批号: Sc-28294); Anti-Mouse CD3 APC 购自 Biolegend(批号: 100235); Anti-Mouse CD8 PE 购自 Biolegend(批号: 100707); Anti-Mouse/Rat IL-17A FITC 购自 Ebioscience(批号: 11-7177-80); 胎牛血清购自 Gibco 北美(批号: 16000-044); RMPI-1640 购自 Hyclone(批号: SH30809.01B); PMA 购自美国 Sigma 公司(批号: P1585); 钙离子霉素购自 Solarbio(批号: 18800-1 mg); Monensin(蛋白转运抑制剂)购自 Beyotime(批号: CAS 22373-78-0)。全自动酶标仪(Multiskan MK3 型, Thermo); 荧光显微镜(DM6000B 型, Leica); IMS 图象分析系统(基尔顿生物科技有限公司); 低速离心机(5702R 型, Eppendorf)。

4 分组及给药方法 正常 C57BL/6 小鼠 8 只为正常组, MRL/Lpr 狼疮小鼠 24 只根据随机数字表分为 3 组,即:槐杞黄颗粒(HQH)组、地塞米松(DXM)组、模型组,每组 8 只。槐杞黄颗粒成人一天用量采用 30 g,假设成人体重 70 kg,根据体重计算为 30/70 g/kg,小鼠和人的折算系数是 9.01,所以 $3/7 \times 9.01 = 3.86$ g/kg,最后取整为 4 g/kg; DXM 组以同样方法计算。MRL/Lpr 狼疮小鼠 12 周龄左右开始发病(与正常组对比,以出现蛋白尿为标志)。HQH 组给予槐杞黄颗粒 4 g/kg,每日 1 次灌胃,每次灌胃 0.4 mL; DXM 组地塞米松 2.5 mg/kg,每日 1 次,每次灌胃 0.4 mL; 模型组和正常组以生理盐水每日 1 次灌胃,每次 0.4 mL。连续灌胃 15 天。

5 检测指标及方法

5.1 小鼠体重 用电子秤称取小鼠体重。

5.2 24 h 尿蛋白的检测 考马斯亮蓝(CBB 法)检测 24 h 尿蛋白 ,G250 具有红色和青色两种色调,在游离状态下,呈红色型,一旦与蛋白质结合即变为青色,色素的最大吸收波长从 465 nm 转移到 595 nm。测定 595 nm 处的光密度值,即可进行定量。按照试剂盒说明书进行操作。

5.3 ANA、dsDNA 含量检测 用 ELISA 法测定。各组小鼠灌胃结束后 采用颈椎脱臼法处死小鼠 ,摘取眼球法取各组小鼠外周血,室温血液自然凝固 10 ~ 20 min ,离心约 20 min(2 000 ~ 3 000 r/min) ,仔细收集上清 ,按照试剂盒说明书进行操作。

5.4 白蛋白含量检测 血清中的白蛋白与溴甲酚绿在 pH 4.2 的条件下结合生成绿色复合物 ,溶液由黄色变为绿色 ,其颜色深浅与白蛋白浓度成正比,通过在 630 nm 处测定其吸光度可得出白蛋白的含量。

5.5 SCr 的检测 取血清(血浆) 0.2 mL 加入试剂二(钨酸蛋白沉淀剂) 2 mL 或取血清 0.1 mL 加入试剂二(钨酸蛋白沉淀剂) 1 mL ,充分混匀 β 500 r/min ,离心 10 min ,取上清。肌酐与碱性苦味酸产生 Jaffe 反应 ,生成橙红色的苦味酸肌酐复合物 ,在 510 nm 和 520 nm 间测定吸光度 ,与肌酐含量呈正比。按照试剂盒说明书进行操作。

5.6 BUN 含量测定 血清(或血浆)中的尿素 在尿素氮试剂的酸性环境中与二乙酰-肟(DAM) 共沸后,可缩合成一红色化合物 称为 fearon 反应。其颜色的深浅与血清(或血浆)中尿素的含量成正比,与同样处理的 BUN 标准液比色 ,即可测算出血清(或血浆)中 BUN 的含量。按照试剂盒说明书进行操作 ,计算。

5.7 肾脏组织病理 HE 染色 将已入蒸馏水后肾组织石蜡块切片 ,厚度 4 ~ 7 μ m ,放入苏木素水溶液中染色 5 min ,氨水中分色 ,数秒钟。流水冲洗 15 min ,入 70% 和 90% 酒精中脱水各 10 min。入酒精伊红染色液染色 1 ~ 2 min ,染色后的切片经纯酒精脱水。将玻片置于二甲苯中透明 3 min \times 2 次 ,中性树脂封片 ,放入 65 $^{\circ}$ C 烘箱中 15 min。通过显微镜拍照 ,采集分析样本相关部位。

5.8 IgG 及 C3 检测 采用免疫荧光染色。将玻片置于 65 $^{\circ}$ C 恒温烘箱中烤片 30 min;置于二甲苯 I 中浸泡 15 min ,再置于二甲苯 II 中浸泡 15 min。将脱蜡后的切片经 100% 酒精、95% 酒精、85% 酒精、75% 酒精分别浸泡 5 min ,自来水冲洗 10 min。采用 0.01 mol/L 柠檬酸钠缓冲溶液中高压修复 15 min ,自然冷

却后 0.02 mol/L PBS 洗 3 min \times 3 次。滴加一抗(选择最佳稀释比例) ,湿盒孵育 ,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。0.02 mol/L PBS 冲洗 3 min \times 3 次。滴加合适比例稀释的荧光二抗 ,湿盒孵育 ,室温下放置 1 h。0.02 mol/L PBS 冲洗 3 min \times 3 次(IgG 的检测略过此步)。防淬灭封片剂与 DAPI 1:500 稀释封片 , -20 $^{\circ}$ C 冰箱保存 ,荧光显微镜拍片。

6 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析 ,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示 ,不同组间两两比较采用 One-way ANOVA 中的 LSD 法 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组治疗前后小鼠体重比较(表 1) 各组小鼠在治疗后体重都有不同程度的增加。与正常组比较 模型组体重增长差值减少($P < 0.01$) ,DXM 组及 HQH 组体重差值较模型组增加($P < 0.01$)。

表 1 各组治疗前后小鼠体重比较 (g, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	治疗前	治疗后	体重差值
正常	8	16.97 \pm 0.15	18.00 \pm 0.20	1.03 \pm 0.06
模型	8	16.97 \pm 0.15	17.23 \pm 0.12	0.27 \pm 0.06*
DXM	8	17.17 \pm 0.35	17.73 \pm 0.32	0.57 \pm 0.15 $^{\Delta}$
HQH	8	16.83 \pm 0.31	17.30 \pm 0.30	0.47 \pm 0.06 $^{\Delta}$

注:与正常组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $^{\Delta}P < 0.01$

2 各组治疗前后小鼠 24 h 尿蛋白比较(表 2) 正常组及模型组在治疗前后 ,尿蛋白含量无显著变化;与本组治疗前比较 ,DXM 组及 HQH 组小鼠治疗后 24 h 尿蛋白量明显下降($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

表 2 各组治疗前后小鼠 24 h 尿蛋白含量变化情况 (mg/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	治疗前	治疗后
正常	8	184.66 \pm 18.40	170.61 \pm 25.07
模型	8	407.45 \pm 79.50	474.69 \pm 48.76
DXM	8	459.63 \pm 31.62	245.87 \pm 47.25**
HQH	8	451.60 \pm 66.44	333.18 \pm 22.19*

注:与本组治疗前比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3 各组血清中 ANA、dsDNA 含量比较(表 3) 与正常组比较 模型组小鼠血清中 ANA、dsDNA 含量上升($P < 0.01$) ;经地塞米松及槐杞黄治疗后 ,小鼠血清中 ANA、dsDNA 含量不同程度的下调($P < 0.01$)。

4 各组血清中白蛋白、SCr、BUN 水平比较(表 4) 与正常组比较 模型组血清中白蛋白、SCr、BUN 显著升高($P < 0.01$) ;治疗后 ,DXM 组和 HQH 组血清中白蛋白、SCr、BUN 水平下降($P < 0.01$)。

表 3 各组小鼠血清中 ANA、dsDNA 含量比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	ANA	dsDNA
正常	8	15.71 ± 1.16	172.08 ± 33.58
模型	8	55.31 ± 3.43*	739.94 ± 35.85*
DXM	8	30.63 ± 0.69 [△]	395.10 ± 83.54 [△]
HQH	8	36.85 ± 1.47 [△]	505.10 ± 83.08 [△]

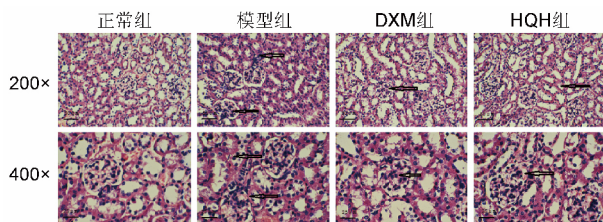
注:与正常组比较,**P* < 0.01;与模型组比较,[△]*P* < 0.01

表 4 各组小鼠血清中白蛋白、SCr、BUN 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	白蛋白(g/L)	Scr(μmol/L)	BUN(mmol/L)
正常	8	23.04 ± 3.95	31.16 ± 8.23	17.05 ± 2.08
模型	8	102.10 ± 6.74*	81.16 ± 14.47*	40.95 ± 3.29*
DXM	8	31.34 ± 4.29 [△]	45.65 ± 5.75 [△]	25.26 ± 1.65 [△]
HQH	8	46.16 ± 6.49 [△]	47.10 ± 8.23 [△]	29.77 ± 1.71 [△]

注:与正常组比较,**P* < 0.01;与模型组比较,[△]*P* < 0.01

5 各组肾脏病理变化(图 1) 正常组肾脏 HE 染色大致正常,无明显的病理改变;模型组肾脏组织 HE 染色可见肾小球细胞增生,且肾小球毛细血管壁有明显损伤,肾小球和肾间质炎细胞浸润,同时肾小管肿胀明显;DXM 组和 HQH 组,炎性细胞浸润明显减少,肾小管肿胀有所减轻。



注:箭头所指为典型变化处

图 1 各组小鼠肾脏组织病理染色结果 (HE)

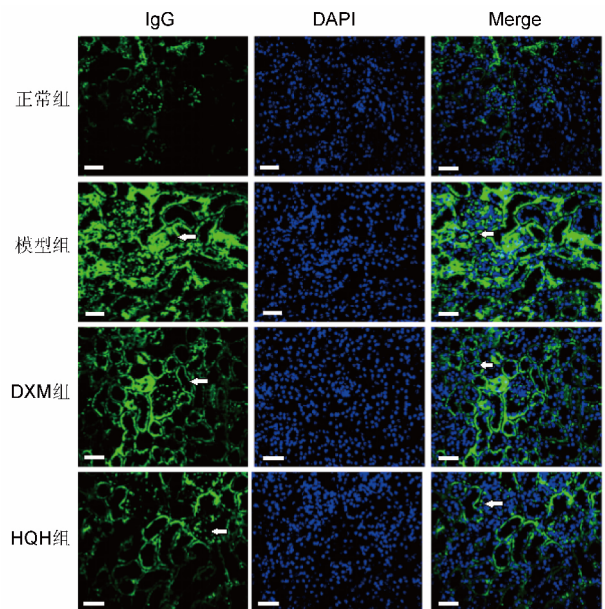
6 免疫荧光检测

6.1 各组小鼠肾脏中 IgG 的表达比较(图 2) 与正常组小鼠比较,模型组小鼠肾脏中 IgG 的表达上升;DXM 组及 HQH 组小鼠肾脏中 IgG 的表达显著下降。

6.2 各组小鼠肾脏中 C3 的表达比较(图 3) 与正常组比较,模型组小鼠肾脏中 C3 的表达下降;DXM 组及 HQH 组小鼠肾脏中 C3 的表达上升。

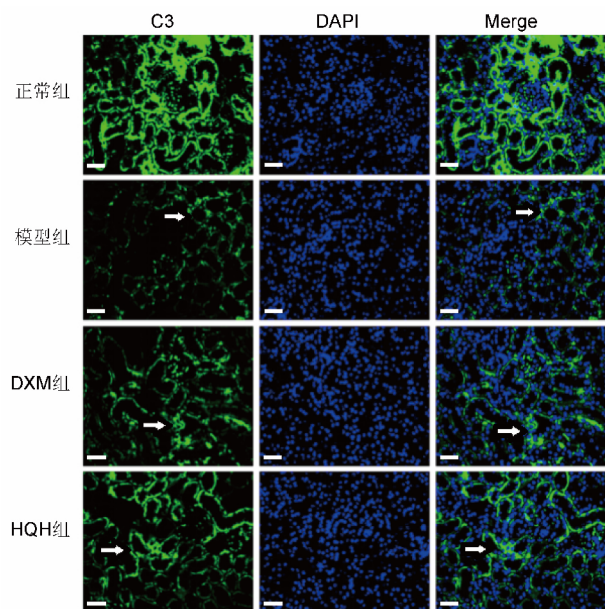
讨论

SLE 是一种复杂的弥漫性结缔组织病,主要是由自身免疫调节紊乱介导的多器官损伤,是自身免疫性疾病的一种。其主要症状为多个器官的免疫性炎症,主要累及系统或器官有皮肤黏膜、骨骼肌肉、肾及中枢



注:箭头所指为典型表达处

图 2 各组小鼠肾脏中 IgG 免疫荧光检测 (×400 标尺 = 25 μm)



注:箭头所指为典型表达处

图 3 各组小鼠肾脏中 C3 免疫荧光检测 (×400 标尺 = 25 μm)

神经系统,发病时间长且死亡率高。虽然随着现代医学的发展与进步,对 SLE 的认识也在不断的深入,但目前仍无有效根治 SLE 的方法^[9]。最早期应用抗疟药治疗皮肤红斑狼疮;在 20 世纪中期,开始使用皮质类固醇激素和其他免疫抑制剂治疗红斑狼疮;2011 年美国食品药品监督管理局批准贝利单抗用于治疗抗核

抗体阳性、活动期并已接受标准治疗的 SLE 患者^[10]。目前在 SLE 的治疗上应用糖皮质激素、免疫抑制剂、抗疟药以及生物制剂^[11],但是也有部分患者对这些药物并不敏感、或者容易复发、或者难以耐受药物的不良反应。因此,积极探寻新的治疗方法、治疗药物刻不容缓。狼疮性肾炎(lupus nephritis, LN)是 SLE 较为常见并发症,也被称为继发性肾炎,肾脏损害的严重程度直接影响 SLE 患者的预后,而终末期肾脏病缺乏有效的治疗是 SLE 患者的死亡的主要原因之一。美国风湿病学会 1997 年修订的 SLE 分类标准指出 LN 患者应同时有持续 2 周以上不同程度肾损害表现^[12],如蛋白尿、血尿、氮质血症、脓尿等。

SLE 在中医学文献中无相应病名,但从疾病的特点看,与中医学“阴阳毒”、“阳毒发斑”、“蝴蝶斑”以及“周痹”、“水肿”的描述类似。《金匱要略·百合狐惑阴阳毒病脉证治》记载“阳毒之为病,面赤斑斑如锦纹,咽喉痛,唾脓血”,“阴毒之为病,面目青,身痛如被杖,咽喉痛”,此类描述与 SLE 临床表现多样性一致,其辨证分型很难统一,但临床上以阴虚、气虚为最多见,而阴虚、气虚与瘀血有着必然的联系。槐杞黄颗粒属于复方中成药,主要由槐耳菌质、枸杞配伍黄精制成。槐耳具有扶正固本、活血消癥、祛风的功效,枸杞滋补肝肾,益精明目,用于肝肾阴虚证,黄精补气养阴,健脾、润肺,益肾,用于脾肾虚弱之证,三药共用,起祛风活血化痰,益气养阴之效。这与 SLE 常见病因病机是相符的。

本研究通过 MRL/Lpr 狼疮小鼠模型,治疗前后各组小鼠体重测量结果表明:HQH 组的体重比模型组有显著的增加,说明 HQH 能提高 MRL/Lpr 狼疮小鼠的体重。同时 24 h 尿蛋白实验结果表明, HQH 治疗组能明显降低 MRL/Lpr 狼疮小鼠尿蛋白含量。SCr 属于内生肌酐,能经肾小球滤过,不受尿量的影响,当患者肾功能受损时,会升高 SCr 水平,因此对患者的肾实质性损害情况能做出有效地反应。BUN 作为人体蛋白代谢的终末产物,在早期肾脏受损阶段, BUN 水平一般处于正常水平,一旦肾小球率过滤降低至一定程度时, BUN 水平会明显上升。本研究通过检测血清白蛋白、SCr 以及 BUN 含量的结果表明 HQH 能明显的降低血清中白蛋白、SCr、BUN 的含量,表明 HQH 能缓解 SLE 导致的肾损伤,可以促进组织修复,减少蛋白尿,能明显改善 MRL/Lpr 狼疮小鼠的肾功能。本研究结果与武青^[13]的研究结果一致。

本研究的 HE 染色观察肾脏病理变化实验结果表明:模型组肾脏组织 HE 染色可见肾小球细胞增生,且

肾小球毛细血管壁有明显损伤,肾小球和肾间质炎细胞浸润,同时肾小管肿胀明显;DXM 治疗组和 HQH 治疗组,炎性细胞浸润明显减少,肾小管肿胀有所减轻。表明了 HQH 可以明显减轻 MRL/Lpr 狼疮小鼠的肾病理损害。

SLE 发病机制主要是机体细胞和体液免疫功能紊乱,其特点是患者血清中有大量具有免疫活性的多种自身抗体,从而形成免疫复合物,继而引起组织器官的损伤,所以患者血清中自身抗体的检测是实验室诊断的重要指标^[14],尤其是抗双链 DNA(double strand DNA, dsDNA)抗体阳性时,多能结合补体、累及肾脏,从而发生狼疮性肾炎。ANA 是细胞内所有抗原成分的自身抗体的总称。ANA 在未治疗的 SLE 患者中滴度较高,且在大多数自身免疫性疾病中均呈阳性。主要是因为核酸的释放是由细胞凋亡、染色质断裂引起的,健康人体内染色质断裂的核酸在细胞内即被吞噬细胞吞噬,不会释放到细胞外。而 SLE 患者体内吞噬细胞吞噬作用受限,以及补体异常,从细胞释放出的核酸增多,从而产生较多的 ANA^[15]。本研究 ELISA 检测血清中 ANA、dsDNA 结果表明经 DXM 及 HQH 治疗后,小鼠血清中 ANA、dsDNA 含量不同程度的下调。说明 HQH 能显著降低 MRL/Lpr 狼疮小鼠血清中 ANA、dsDNA 的含量,从而减轻了对组织器官的损伤。此结果与 Wu JF 等^[15]、孙帅军等^[16]的研究结果一致。

免疫球蛋白包括 IgM、IgG 等蛋白,具有激活补体、吞噬炎症等生物学效应。补体是存在于健康人或动物血清中具有酶活性的一组球蛋白,是非特异性免疫中极为重要的组成部分之一,主要参与机体的免疫反应。补体系统激活后,其各成分便按一定顺序呈连锁酶促反应,大量的 C3、C4 因参与机体的防御功能被消耗,致血清 C3、C4 水平下降^[17]。SLE 的疾病的发生与血清中 dsDNA、ANA、IgM、IgG、C3、C4 等水平变化有关^[18,19]。本研究结果显示,经地塞米松和槐杞黄颗粒治疗后,狼疮小鼠肾脏中 IgG 的表达显著下降、C3 的表达显著上升,而模型组则表现为 IgG 的表达显著上升、C3 的表达显著下降的趋势。此结果与国内大部分文献报道的结论基本一致^[20-23],说明 SLE 患者体内存在多种致病性自身抗体和免疫复合物,形成沉积或激活补体造成肾功能损伤,从而导致 SLE 患者体内 Ig 水平增加以及补体水平下降,其变化程度与 SLE 病情有着密切相关。本研究结果表明槐杞黄颗粒对免疫性肾脏疾病具有一定的免疫调节作用,可显著降低感染发生率,促进肾病恢复。

综上所述 槐杞黄颗粒能起到改善 SLE 小鼠的临床指标和肾脏病理损伤的作用,可作为治疗 SLE 的候选药物。但其分子及基因方面的作用机制还需进一步的实验去探究,最终为槐杞黄颗粒成为一种可治疗 SLE 的药物提供更有利的依据。

利益冲突: 无。

参 考 文 献

- [1] La CA. T-regulatory cells in systemic lupus erythematosus [J]. *Lupus*, 2008, 17(5): 421-425.
- [2] Datta SK, Li Z, Xu L. T-helper cell intrinsic defects in lupus that break peripheral tolerance to nuclear autoantigens [J]. *J Mol Med*, 2005, 83(4): 267-278.
- [3] 陈慎宝, 丁如宁. 槐耳菌质成分对小鼠免疫功能的影响 [J]. *食用菌学报*, 1995, 2(1): 21-25.
- [4] 陆慧瑜, 张巧玲, 蒋小云, 等. 槐杞黄对 IgA 肾病大鼠蛋白尿及肾组织 nephrin 及 podocin 的影响 [J]. *中华妇幼临床医学杂志(电子版)*, 2009, 5(5): 458-465.
- [5] 孙楠. 槐杞黄颗粒治疗小儿哮喘 60 例临床观察 [J]. *中国现代医生*, 2010, 48(2): 36-44.
- [6] Cook HT, Botto M. Mechanisms of disease: the complement system and the pathogenesis of systemic lupus erythematosus [J]. *Nat Clin Pract Rheumatol*, 2006, 2(6): 330-337.
- [7] 程若川, 王建忠. 槐耳的研制及临床应用 [J]. *昆明医学院学报*, 2003, 24(1): 101-103.
- [8] 陈春宝, 王敏, 王小平. 槐杞黄颗粒治疗小儿反复呼吸道感染临床观察 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2009, 18(32): 3958-3959.
- [9] Askanase A, Shum K, Mitnick H. Systemic lupus erythematosus: an overview [J]. *Soc Work Health Care*, 2012, 51(7): 576-586.
- [10] Boyce EG, Fusco BE. Belimumab: review of use in systemic lupus erythematosus [J]. *Clin Ther*, 2012, 34(5): 1006-1022.
- [11] Merrill JT. Treatment of systemic lupus erythematosus: a 2012 update [J]. *Bull NYU Hosp Jt Dis*, 2012, 70(3): 172-176.
- [12] Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Rheumatol*, 1997, 40(9): 1725-1725.
- [13] 武青. 槐杞黄颗粒对过敏性紫癜性肾炎大鼠蛋白尿及肾组织 TGF- β 1 表达的影响 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2015.
- [14] 葛均波, 徐永健主编. 内科学 [M]. 第 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 815.
- [15] Wu JF, Yang YH, Wang LC, et al. Antinucleosome antibodies correlate with the disease severity in children with systemic lupus erythematosus [J]. *J Autoimmun*, 2006, 27(2): 119-124.
- [16] 孙帅军, 梁涛, 陆叶, 等. 狼疮清颗粒对系统性红斑狼疮的动物实验研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2016, 32(12): 1125-1128.
- [17] 朱瑞宗. 探讨几种血清学指标联合检测在系统性红斑狼疮早期肾损伤中的价值 [J]. *检验医学与临床*, 2015, 12(4): 502-504.
- [18] 梁涛, 瞿凌晨, 梁卫, 等. LCQG 对 MRL/lpr 狼疮鼠抗 ds-DNA 抗体、IgG、IgA 水平的影响 [J]. *中国免疫学杂志*, 2013, 29(3): 288-291.
- [19] 薛文娟. 龙血竭治疗对系统性红斑狼疮临床疗效及实验室指标的影响 [J]. *北方药学*, 2014, 11(11): 40-42.
- [20] 李湘英. 免疫球蛋白及补体的测定在系统性红斑狼疮中的意义 [J]. *国际检验医学杂志*, 2013, 34(2): 225-226.
- [21] Saisoong S, Eiam-Ong S, Hanvivatvong O. Correlations between antinucleosome antibodies and anti-double-stranded DNA antibodies, C3, C4, and clinical activity in lupus patients [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2006, 24(1): 51-58.
- [22] Zhu C, Huang S, Ding G, et al. Protective effects of Huang Qi Huai granules on adriamycin nephrosis in rats [J]. *Pediatr Nephrol*, 2011, 26(6): 905-913.
- [23] Hsu HC, Yang P, Wang J, et al. Interleukin 17-producing T helper cells and interleukin 17 orchestrate autoreactive germinal center development in autoimmune BXD2 mice [J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(2): 166-175.

(收稿: 2017-02-06 在线: 2018-04-03)

责任编辑: 汤 静