

蒿秦风湿胶囊对类风湿关节炎大鼠抗体生成细胞的影响

★ 侯静 杨军平 (江西中医学院附属医院 南昌 330006)

关键词:蒿秦风湿胶囊;抗体生成细胞;药理

中图分类号:R 965 文献标识码:A

蒿秦风湿胶囊由北京泽源科技有限责任公司研制,是以青蒿为君药的治疗类风湿性关节炎湿热痹阻证的处方,治疗类风湿性关节炎湿热痹阻证疗效显著。处方组成:青蒿 20 g,秦艽 6 g,生地 6 g,桂枝 3 g。功能清热除湿、消肿止痛。我们用Ⅱ型胶原诱发大鼠关节炎模型和抗体生成的检测方法进一步证明该方在减轻大鼠关节滑膜水肿、滑膜增生、血管翳生成、软骨破坏及抑制抗体过度生成的作用,以及利用绵羊红细胞致敏小鼠,使其脾细胞产生抗体,观察青蒿复方对体液免疫反应的抑制作用,及利用二硝基氟苯(DNFB)诱导大鼠产生迟发型变态反应,观察青蒿复方对迟发型变态反应的抑制作用。

1 材料

1.1 样品 蒿秦风湿胶囊(北京泽源科技有限公司提供),人体推荐量 35g/(60kg·d),由中药研究所制剂研究室制备。

1.2 试验动物 健康 Wistar 大鼠,二级,体重(220±10)g,雌雄各半。动物批号:0046087。

1.3 试验试剂 Freund's 完全佐剂,用卡介苗制

备,内含结核杆菌 5mg/mL。卡介苗:由卫生部北京生物制品研究所提供,规格:1 mL/支(含 80mg 结核杆菌),批号 20041109。Ⅱ型胶原:美国 Sigma 公司产品,批号:108C8015。

1.4 试验药物 湿热痹颗粒(辽宁华源本溪三药有限公司,批号:20031201);醋酸泼尼松片(天津力生制药股份有限公司,批号:0409026)。

2 方法

2.1 Ⅱ型胶原模型的建立^[1,2] 按常规方法进行,Ⅱ型胶原用 0.1 mol/L 乙酸溶解,按每 4 mg 加 1 ml Freund's 完全佐剂制成乳化剂(含Ⅱ型胶原 1 mg/mL)。给每只大鼠(除正常对照组)右后足跖皮下注射上述乳化后的混合抗原 0.1 mL(含 0.1 mg Ⅱ型胶原),正常对照组每只大鼠右后足趾皮下注射生理盐水 0.1 mL。1 周后以相同剂量于每只大鼠尾部加强注射 1 次,每天 1 次,连续 2 周。

2.2 分组 将大鼠随机分为 6 组(A 组:空白模型组;B 组:西药对照组;C 组:中药对照组;D 组:蒿秦小剂量组;E 组:蒿秦中剂量组;F 组:蒿秦大剂量

的辅助用药,此次实验证明它们都能增强奈福泮的镇痛作用,在联合用药时肯定很有意义。

参考文献

- [1]Crain SM,She KF, Antagonists of excitatory opioid receptor functions enhance morphine's analgesic potency[J].Pain,2000,84,(2~3):121~131
- [2]聂红. 镇痛药研究进展[J]. 中国新药杂志,2003,12(12):948~951
- [3]金有豫. 药理学[M]第 5 版.北京:人民卫生出版社,2001.129
- [4]赵高明,房延锦,李青. 维生素 K₃ 与盐酸平痛新在急性腹痛中的应用[J].医药导报,1994(04):170~171
- [5]袁明清,张艳萍,刘长松. 奈福泮及曲马多用于开腹术后病人自控镇痛效果的临床比较[J]. 中国厂矿医学,2005,18(6):487~489
- [6]关小平,徐群英,常翠,等. 复方曲马多注射剂的镇痛作用和急性毒性研究[J]. 药物流行病学,2004,13(6):301~303

(收稿日期:2006-07-31)

(1)采用小鼠醋酸扭体法对 NFP 与 PR、VitK₃、DLF、DZ、TR 5 种药物分别配伍后的药效进行考察,在药效实验基础上,通过多组均值的方差分析及两两比较,得出 NFP 与 TR 配伍药效具显著性差异,由此得到了 NFP 与 TR 配伍为最佳配伍。

(2)两种或两种以上能起协同作用的药物配伍组成复方制剂,可以达到提高疗效、降低毒副作用的目的,为复方制剂的处方筛选提供依据^[5]。

(3)本实验是初步摸索性研究,对临床联合用药可能有一定启示,有无实际意义,尚待深入研究。一个药物与奈福泮联合能否发展成奈福泮复方制剂,取决于多种因素,除药效作用外,还要研究最佳配比,化学配伍性能和化学稳定性等。本实验中选用的安定、双氯灭痛和维生素 K₃ 都可做镇痛应用时

组)

2.3 免疫检测 给药 10 天后,A、B、C、D、E、F 组动物以 2% 绵羊红细胞腹腔注射,每只 0.2 mL。

2.4 给药方法 A 组:给予 10 mL/kg 蒸馏水;B 组:给予 5 mg/kg 醋酸泼尼松;C 组:给予 5 g/kg 湿热痹颗粒;D 组:给予 0.60 g/kg 蒿秦风湿胶囊;E 组:给予 1.21 g/kg 蒿秦风湿胶囊;F 组:给予 2.43 g/kg 蒿秦风湿胶囊。每日 1 次,每次 0.8 mL,连续 14 天,灌胃。

2.5 补体的制备 豚鼠股静脉取血,分离血清后混合。将 1mL 压积绵羊红细胞加入到 5 mL 血清中。4℃ 放置 30 分钟。经常振荡,离心取血清,分装后保存于 -70℃。用时用 PBS 1:10 稀释。

2.6 脾细胞悬液的制备 大鼠断颈处死,PBS 中匀浆,调整细胞浓度至 2×10^7 /mL,PBS 洗一遍。1 mL 脾细胞悬液,1 mL 0.2% 绵羊红细胞,1 mL 补体混合,置 37℃ 1 小时。离心取上清于波长 540 nm 测 OD 值。

2.7 迟发型变态反应相关指标检测 除空白模型组外,各鼠腹部去毛,范围约 3 cm×3 cm 大小,并将 1% DNFB 溶液均匀涂抹于上,于次日再涂抹一次。致敏后第 5 天,将 1% DNFB 溶液 10 μ L 均匀涂抹于小鼠右耳(两面)进行攻击,正常对照组同样涂耳但未致敏。攻击后 24 小时,颈椎脱臼处死大鼠,剪下左右耳壳,用打孔器取下直径 8mm 的耳片,称重。同时取大鼠胸腺及脾脏称重。以左右耳片重量之差为肿胀度;分别以每克大鼠的胸腺重(mg)和脾重(mg)作为胸腺重量指数和脾重量指数。

3 结果

3.1 蒿秦风湿胶囊对大鼠脾细胞抗体产生的影响 见表 1。

表 1 蒿秦风湿胶囊对大鼠脾细胞抗体产生的影响

组别	动物数	测定光密度(OD)
空白模型组	10	1.263±0.096
西药对照组	10	1.133±0.071 ^{▲▲}
中药对照组	10	1.110±0.099 [▲]
蒿秦小剂量组	10	1.154±0.094 [▲]
蒿秦中剂量组	10	1.130±0.122 ^{▲▲}
蒿秦大剂量组	10	1.117±0.126 ^{▲▲}

▲与模型组比较 $P<0.05$,▲▲与模型组比较 $P<0.01$ 。

3.2 青蒿复方对二硝基氟苯诱导的大鼠迟发型变态反应的影响 见表 2。

4 讨论

B 细胞负责体液免疫,B 细胞受抗原刺激后,可行分裂增殖并分化成熟为抗体生成细胞,且分泌相

表 2 青蒿复方对二硝基氟苯诱导的大鼠迟发型变态反应的影响

组别	剂量/g·kg ⁻¹	动物数(n)	耳肿胀值/mg	胸腺指数	脾指数
空白模型组		10	8.40±6.15	3.13±0.76	8.12±1.25
西药对照组	0.007	10	1.70±0.82 ^{**}	1.90±0.51 ^{**}	4.06±0.84 ^{**}
中药对照组	7.0	10	2.00±1.56 ^{**}	2.84±0.44	6.93±1.02 [*]
蒿秦小剂量组	4.1	10	6.80±3.52	2.88±0.52	7.75±1.52
蒿秦中剂量组	8.1	10	4.20±2.86	2.81±0.59	6.95±1.24
蒿秦大剂量组	16.2	10	1.90±1.20 ^{**}	2.66±0.46	5.76±1.05 ^{**}

与模型组比较:^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ 。

应的抗体,因此通过检测抗体的水平可判断 B 细胞的功能。实验动物抗体形成的原理是由于脾细胞内的抗体生成细胞可释放抗绵羊红细胞抗体,使其周围的绵羊红细胞致敏,并在补体参与下导致绵羊红细胞溶血,经离心后取上清液测 OD 值,表示抗体生成细胞产生抗体的多少,反映特异性抗体应答反应的程度。从表 1 结果可见,蒿秦风湿胶囊各药物组光密度值均较模型组低,与西药对照组作用一致,说明蒿秦风湿胶囊降低了 II 型胶原诱发关节炎大鼠细胞免疫水平。优于中药对照组和蒿秦风湿胶囊小剂量组。本实验表明蒿秦风湿胶囊能明显降低绵羊红细胞致敏的大鼠脾细胞抗体产生量,即对特异性体液免疫反应有明显的抑制作用^[3]。

迟发型超敏反应的发生与效应 T 细胞和吞噬细胞及其产生的细胞因子或细胞毒性介质有关。是由效应 T 细胞与相应抗原作用后,引起的以单个核细胞浸润和组织细胞损伤为主要特征的炎症反应。由表 3 可见,模型组大鼠耳肿胀值明显高于正常组,说明大鼠产生了由二硝基氟苯诱导的大鼠迟发型变态反应,其胸腺指数和脾脏指数也明显高于正常组。与模型组比较,青蒿复方大剂量组耳肿胀值明显降低,以上结果说明蒿秦风湿胶囊对二硝基氟苯诱导的大鼠迟发型变态反应有明显的抑制作用,且其作用与药物剂量有关。实验结果表明,蒿秦风湿胶囊对二硝基氟苯诱导的大鼠迟发型变态反应有明显的抑制作用,即对特异性细胞免疫有抑制作用^[4]。

另外,蒿秦风湿胶囊治疗后滑膜组织充血水肿明显减轻,滑膜细胞增生缓解,浸润炎细胞显著减少,血管增生缓解,血管翳形成大大减少。

参考文献

- [1]苗旺三.实验动物和动物实验技术[M].北京:中国中医药出版社,1997.33
- [2]朱立平,陈学清.免疫学常用实验方法[M].北京:人民卫生出版社,2000.61
- [3]刘春芳,林娜.雷公藤甲素对 II 型胶原诱导性关节炎小鼠免疫功能的影响[J].中国中医药信息杂志,2004,11(7):602~604
- [4]陆意.类风湿关节炎发病机制的研究进展[J].国外医学免疫学分册,2001,24(5):256~259

(收稿日期:2006-08-04)