

## 固肾 1 号治疗大鼠抗肾小球基底膜肾炎及其机制研究

陈芙蓉, 姜 溪, 岳 南, 只德广\*

天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301

**摘要:**目的 观察固肾 1 号对大鼠抗肾小球基底膜(GBM)肾炎的治疗作用,并探讨其作用机制。方法 采用尾 iv 兔 GMB 血清免疫大鼠,制作大鼠 Masugi 肾炎实验模型。给药 3 周,观察固肾 1 号对大鼠尿蛋白含量、血液生化、肾脏系数、肾脏病理以及大鼠 IgG、兔 IgG 在肾小球基底膜上沉积的影响。**结果** 固肾 1 号能显著降低尿蛋白含量,降低血清尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)水平,升高血清总蛋白(Tp)、白蛋白(Alb)水平,并能降低肾脏系数,减轻肾脏病理改变及大鼠免疫球蛋白 G(IgG)、兔 IgG 在肾小球基底膜上的沉积。**结论** 固肾 1 号能通过减少大鼠 IgG、兔 IgG 在肾小球基底膜上的沉积,减轻肾脏病变,改善肾功能。

**关键词:** 固肾 1 号; 大鼠抗肾小球基底膜肾炎; 免疫球蛋白

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2015)02-0126-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2015.02.003

## Therapeutic of Gushen No. 1 on rat anti glomerular basement membrane nephritis in rats and its mechanism

CHEN Fu-rong, JIANG Xi, YUE Nan, ZHI De-guang

Center for Drug Evaluation and Research in Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300301, China

**Abstracts: Objective** To investigate the therapeutic effect of Gushen No. 1 on rat anti glomerular basement membrane (GBM) nephritis of rats, and study its possible mechanisms. **Methods** Rat anti-GBM antibody produced in rabbit was injected to rats to make Masugi nephritis model. After 3 weeks, index was observed after administrated Gushen No. 1, such as on urine protein, blood biochemistry, kidney index, kidney pathology, and IgG of rats and rabbit in GBM. **Results** Gushen No. 1 could significantly reduce rat's urine protein, serum urea nitrogen (BUN), serum creatinine (Cr), increase serum total protein (TP), and albumin (Alb). It also had therapeutic on significant reducing of renal index, improvement of kidney pathology, and reducing IgG of rats and rabbit in GBM. **Conclusion** It is obvious that Gushen No. 1 can alleviate kidney lesions and improve kidney function by reducing IgG of rats and rabbit in GBM.

**Key words:** Gushen No. 1; rat anti glomerular basement membrane nephritis; IgG

人类新月体肾炎是临床上常见的一类肾脏疾病,病因复杂,预后较差。目前在临床上治疗方法有限,以糖皮质激素及其他免疫抑制剂为主,但存在不良反应较多且易复发等问题,所以寻找有效且毒副作用少的治疗药物具有重要的现实意义。固肾 1 号为中药制剂,临床应用多年,取得了较好的治疗效果,处方主要由黄芪、丹参、五味子等组成,具有补脾肾、活血瘀、利湿浊功效,用于治疗气虚血瘀所致的水肿,症见浮肿、腰痛、乏力,慢性肾炎见上述证候者。本实验选用大鼠抗肾小球基底膜

(GBM)肾炎,也称 Masugi 肾炎,利用异体抗 GBM 抗体直接诱导产生具有典型人类新月体肾炎病理变化的动物模型,表现为蛋白尿、新月体形成和肾小球免疫复合物沉积<sup>[1]</sup>。前期实验中观察到固肾 1 号对微小病变型肾小球肾炎有明显的治疗作用<sup>[2]</sup>,本研究考察其对 Masugi 肾炎的治疗作用及作用机制,为临床提供可靠的实验依据。

### 1 材料与仪器

#### 1.1 药品与试剂

固肾 1 号,棕色粉末,批号 120207,每克粉末

收稿日期: 2014-09-18

作者简介: 陈芙蓉(1982—),女,天津人,硕士,从事药理药效学研究。Tel: (022)84845240 E-mail: chenfr@tjipr.com

\*通信作者 只德广 Tel: (022) 84845240 E-mail: zhidg@tjipr.com

相当于 3.16 g 生药, 由天津药物研究院中药现代部提供。肾炎康复片, 0.48 g/片, 天津同仁堂集团股份有限公司生产, 批号 B89134。醋酸地塞米松片, 天津力生制药股份有限公司, 批号 1201001。弗氏完全佐剂, 博美科生产, 批号 61185028。Anti-Rabbit IgG (whole molecule) (-FITC, Sigma-Aldrich, 货号 F9887; Anti-Rat IgG (whole molecule) -FITC, Sigma-Aldrich, 货号 F1763。

## 1.2 动物

Wistar 种大鼠, SPF 级, 北京维通利华实验动物科技有限公司提供, 许可证编号 SCXK (京) 2011-0011。大耳白种家兔, SPF 级, 北京维通利华实验动物科技有限公司提供, 许可证编号 SCXK (京) 2012-0001。

## 1.3 仪器

TU-1810 型紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司。Vitalab Selectra2 型全自动生化仪, 荷兰威图公司。显微镜, Olympus。TGL-16B 离心机, 上海安亭科学仪器厂。

## 2 实验方法

### 2.1 大鼠 GBM 的制备<sup>[3]</sup>

正常雄性健康 Wistar 大鼠, 常规灌洗肾脏后将肾皮质剪碎过 100 目筛网, 筛网下通过物再过 200 目筛网, 筛网上剩余物为肾小球。用 4 °C、0.01 mol/L PBS (pH 7.4) 冲洗 2 次 (3 000 r/min, 5 min), 然后用超声粉碎仪在冰浴中粉碎, 4 °C、1 500 r/min 离心 10min, 得 GBM 沉积物, -20 °C 保存备用。

### 2.2 兔抗大鼠 GBM 血清的制备<sup>[4]</sup>

将制得的大鼠 GBM 与完全弗氏佐剂 1:1 混合乳化, 制成大鼠 GBM 抗原, 给家兔皮下多点注射此抗原, 两周 1 次, 每次 3 点 (0.2 mL/点), 共 10 次。于末次注射后 7 d, 家兔颈动脉放血, 分离血清, 于 56 °C 水浴 30 min 灭活备用, 即制成兔抗大鼠 GBM 血清。采用免疫双扩散法测得抗血清滴度 > 1:32。

### 2.3 分组与给药<sup>[2]</sup>

选用 Wistar 种雄性大鼠 118 只, 体质量 12~140 g, 除 10 只大鼠做对照外, 其余大鼠用于造模。首先进行预免疫, 将兔 IgG 1 mg 用生理盐水溶解后与等量完全弗氏佐剂充分乳化后进行腹腔注射 (1 mg/只), 预免疫后 6 d, 给造模组大鼠均尾 iv 1 mL/只的兔抗大鼠 GMB 血清进行免疫, 对照组注射等量的正常兔血清。免疫后 3 d, 检测 24 h 尿蛋白定量、血清生

化指标, 将 24 h 尿蛋白定量大于 80 mg 的大鼠随机分为模型组、固肾 1 号低、中、高 (2.115、4.230、8.460 g 生药/kg) 剂量组 (分别相当于临床量的 1/2、1、2 倍) 及醋酸地塞米松 (0.067 5 mg/kg) 组、肾炎康复片 (1.296 g 药粉/kg) 组, 每组 12 只, 加上对照组共 7 组, ig 给药, 给药容积为 10 mL/kg, 1 次/d, 连续 3 周, 对照及模型组给予等容量 0.5% CMC-Na。

## 2.4 测定指标

2.4.1 24 h 尿蛋白 每周测定一次。

2.4.2 血清 BUN、Cr、TP、Alb、TC、TG 实验结束时, 腹腔注射 40 mg/kg 戊巴比妥钠麻醉, 腹主动脉取血, 3 000 r/min 离心 15 min, Vitalab Selectra2 型全自动生化仪测定。

2.4.3 肾系数 实验结束取血后, 取肾称量, 以 100 g 体质量的肾质量计算肾脏脏系数。

2.4.4 大鼠 IgG、兔 IgG 在肾小球基底膜上的沉积实验结束后, 1 个肾用生理盐水灌流干净后在 -80 °C 冰箱中冷冻保存, 用于荧光免疫检查。根据荧光强度分为 5 个等级, 0 级: 无荧光; 1 级: 荧光弱; 2 级: 荧光较明亮; 3 级: 荧光非常明亮; 4 级: 荧光闪亮。

2.4.5 肾脏病变 实验结束后, 另 1 个肾用 10% 福尔马林固定, 石蜡包埋, HE 染色, 光镜检查肾脏病变, 并用 IDA2000 图象分析系统测量肾小球等效直径、周长、面积, 计数肾小球内细胞数。

## 2.5 统计方法

实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 结果采用 Excel 软件进行 *t* 检验统计分析, 大鼠 IgG、兔 IgG 荧光强度比较采用等级序值进行统计分析。实验过程中, 死亡动物均为模型过重死亡, 不影响实验统计和结果。

## 3 实验结果

### 3.1 24 h 尿蛋白定量的变化

与对照组比较, 给药前各给药剂量组的 24 h 尿蛋白均明显升高, 各给药剂量组之间无明显差异, 表明造模成功, 分组合理。与模型组比较, 固肾 1 号 2.115、4.230、8.460 g/kg 组给药 2~3 周明显降低 24 h 尿蛋白定量, 醋酸地塞米松、肾炎康复片亦有明显作用。结果见表 1。

### 3.2 血清生化指标的变化

给药前, 与对照组比较, 各剂量组的 BUN、Cr、TC、TG 明显升高, TP、Alb 明显下降, 各给药剂量组之间无明显差异, 显示已制备成功慢性肾

炎模型。给药 3 周,与模型组比较,固肾 1 号 4.230、8.460 g/kg 剂量组明显降低 BUN、Cr, 升高 TP、Alb, 2.115 g/kg 剂量组明显降低 BUN, 显示对肾功

能有明显的改善作用。醋酸地塞米松作用相似, 肾炎康复片仅降低 BUN、Cr, 对 TP、Alb 无明显改善作用。结果见表 2。

表 1 固肾 1 号对大鼠 GBM 肾炎 24 h 尿蛋白定量的影响  
Table 1 Effects of Gushen No. 1 on urine protein of GBM nephritis in 24 h of rats

| 组别     | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )    | 24 小时尿蛋白/mg                   |                                |                                |                               |
|--------|-----------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
|        |                             | 给药前 (动物数)                     | 给药 1 周 (动物数)                   | 给药 2 周 (动物数)                   | 给药 3 周 (动物数)                  |
| 对照     | —                           | 11.8±4.7 (10)                 | 9.9±3.5 (10)                   | 10.6±3.0 (10)                  | 10.5±2.3 (10)                 |
| 模型     | —                           | 168.5±44.9 <sup>△△</sup> (12) | 286.5±121.3 <sup>△△</sup> (12) | 423.8±106.5 <sup>△△</sup> (10) | 493.1±138.0 <sup>△△</sup> (9) |
| 地塞米松   | 0.067 5 mg·kg <sup>-1</sup> | 168.0±51.7 (12)               | 267.3±80.4 (12)                | 298.3±66.9 <sup>**</sup> (10)  | 378.2±45.4 <sup>*</sup> (8)   |
| 肾炎康复片  | 1.296                       | 166.5±42.4 (12)               | 275.6±104.7 (12)               | 349.9±85.5 (11)                | 367.5±72.2 <sup>*</sup> (10)  |
| 固肾 1 号 | 2.115                       | 168.0±43.3 (12)               | 272.8±76.0 (12)                | 329.8±45.9 <sup>*</sup> (10)   | 372.3±58.4 <sup>*</sup> (10)  |
|        | 4.230                       | 167.9±50.8 (12)               | 266.1±50.4 (12)                | 306.2±105.5 <sup>*</sup> (11)  | 352.1±91.4 <sup>*</sup> (11)  |
|        | 8.460                       | 165.1±52.2 (12)               | 256.7±62.5 (12)                | 318.4±55.3 <sup>*</sup> (11)   | 333.7±55.2 <sup>**</sup> (10) |

与对照组比较: <sup>△△</sup>P<0.01; 与模型组比较: <sup>\*</sup>P<0.05 <sup>\*\*</sup>P<0.01

<sup>△△</sup>P<0.01 vs control group; <sup>\*</sup>P<0.05 <sup>\*\*</sup>P<0.01 vs model group

表 2 固肾 1 号对大鼠 GBM 肾炎血清生化指标的影响  
Table 2 Effects of Gushen No. 1 on serum biochemical indicators of rats GBM nephritis

| 组别     | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )    | BUN/(mmol·L <sup>-1</sup> ) |                            | Cr/(μmol·L <sup>-1</sup> )  |                             | TP/(g·L <sup>-1</sup> )         |                                |
|--------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
|        |                             | 给药前(动物数)                    | 给药后(动物数)                   | 给药前(动物数)                    | 给药后(动物数)                    | 给药前 (动物数)                       | 给药后 (动物数)                      |
| 对照     | —                           | 4.6±0.8 (10)                | 4.7±0.9 (10)               | 59.4±7.5 (10)               | 59.2±7.2 (10)               | 60.199±1.253(10)                | 60.467±1.372(10)               |
| 模型     | —                           | 12.9±4.6 <sup>△△</sup> (12) | 24.2±8.6 <sup>△△</sup> (9) | 70.7±14.7 <sup>△</sup> (12) | 91.9±17.7 <sup>△△</sup> (9) | 53.411±2.712 <sup>△△</sup> (12) | 43.304±2.203 <sup>△△</sup> (9) |
| 地塞米松   | 0.067 5 mg·kg <sup>-1</sup> | 11.3±2.9 (12)               | 16.5±3.8 <sup>*</sup> (8)  | 66.6±10.3 (12)              | 85.9±10.9 (8)               | 55.465±3.426(12)                | 48.512±4.829 <sup>*</sup> (8)  |
| 肾炎康复片  | 1.296                       | 12.9±3.9 (12)               | 16.5±5.1 <sup>*</sup> (10) | 66.6±7.6 (12)               | 76.4±12.2 <sup>*</sup> (10) | 53.019±3.854(12)                | 46.565±5.516(10)               |
| 固肾 1 号 | 2.115                       | 11.7±2.8 (12)               | 16.9±4.7 <sup>*</sup> (10) | 72.6±14.7 (12)              | 91.4±9.1 (10)               | 53.995±3.330(12)                | 46.813±4.883(10)               |
|        | 4.230                       | 11.2±2.6 (12)               | 16.5±4.4 <sup>*</sup> (11) | 72.2±9.9 (12)               | 74.0±18.3 <sup>*</sup> (11) | 53.523±3.396(12)                | 49.182±7.715 <sup>*</sup> (11) |
|        | 8.460                       | 13.4±2.9 (12)               | 15.5±5.8 <sup>*</sup> (10) | 70.4±10.7 (12)              | 72.6±12.8 <sup>*</sup> (10) | 53.692±3.266(12)                | 50.302±7.734 <sup>*</sup> (10) |

| 组别     | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )    | Alb/(g·L <sup>-1</sup> )    |                             | CHO/(mmol·L <sup>-1</sup> )  |                             | TG/(mmol·L <sup>-1</sup> ) |                           |
|--------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|
|        |                             | 给药前(动物数)                    | 给药后(动物数)                    | 给药前(动物数)                     | 给药后(动物数)                    | 给药前 (动物数)                  | 给药后 (动物数)                 |
| 对照     | —                           | 32.3±1.8 (10)               | 32.4±1.5 (10)               | 1.64±0.17 (10)               | 1.67±0.18 (10)              | 0.6±0.1 (10)               | 0.6±0.1 (10)              |
| 模型     | —                           | 28.5±2.3 <sup>△△</sup> (12) | 20.4±1.6 <sup>△△</sup> (9)  | 4.74±1.52 <sup>△△</sup> (12) | 8.00±2.28 <sup>△△</sup> (9) | 2.2±0.7 <sup>△△</sup> (12) | 3.3±1.6 <sup>△△</sup> (9) |
| 地塞米松   | 0.067 5 mg·kg <sup>-1</sup> | 29.0±2.5 (12)               | 24.9±4.1 <sup>*</sup> (8)   | 4.40±1.37 (12)               | 9.30±1.48 (8)               | 2.2±0.7 (12)               | 3.6±0.5 (8)               |
| 肾炎康复片  | 1.296                       | 28.7±3.1 (12)               | 22.9±3.5 (10)               | 4.04±1.48 (12)               | 7.61±1.48 (10)              | 2.5±0.6 (12)               | 3.7±1.3 (10)              |
| 固肾 1 号 | 2.115                       | 28.8±3.0 (12)               | 22.2±2.1 (10)               | 4.26±2.18 (12)               | 8.50±1.55 (10)              | 2.1±1.0 (12)               | 3.0±0.7 (10)              |
|        | 4.230                       | 29.8±1.3 (12)               | 23.6±4.0 <sup>*</sup> (11)  | 4.37±0.98 (12)               | 8.19±3.86 (11)              | 2.7±1.5 (12)               | 3.2±1.7 (11)              |
|        | 8.460                       | 29.9±2.2 (12)               | 24.8±4.0 <sup>**</sup> (10) | 4.27±0.96 (12)               | 9.34±2.96 (10)              | 2.5±0.8 (12)               | 3.5±1.9 (10)              |

与对照组比较: <sup>△△</sup>P<0.01; 与模型组比较: <sup>\*</sup>P<0.05 <sup>\*\*</sup>P<0.01

<sup>△△</sup>P<0.01 vs control group; <sup>\*</sup>P<0.05 <sup>\*\*</sup>P<0.01 vs model group

### 3.3 肾脏系数的变化

与对照组比较,模型组肾脏系数明显增大,显示肾脏病变明显。与模型组比较,固肾1号4.230、8.460 g/kg 剂量组明显减小肾脏系数,显示对肾脏病变有明显改善作用,醋酸地塞米松、肾炎康复片均有明显作用。结果见表3。

### 3.4 肾小球等效直径、周长、面积、细胞数的变化

与正常组比较,模型组肾小球等效直径、周长、面积明显增大、细胞数明显增多,显示肾小球病变明显。与模型组比较,固肾1号4.230、8.460 g/kg 剂量组明显减小肾小球等效直径、周长、面积,减少细胞数,显示对肾小球病变有明显改善作用,醋酸地塞米松、肾炎康复片只明显减少细胞数,对肾小球等效直径、周长、面积均无明显作用。见表4。

### 3.5 免疫荧光检测指标的变化

对照组肾小球未见IgG沉积,模型组兔IgG、大鼠IgG均沿GBM呈线性沉积。与模型组比较,固肾1号8.460、4.230 g/kg 荧光强度均显著减弱,

表明沉积减少,其余各组有减弱趋势,但未见显著变化。固肾1号对大鼠Masugi肾炎肾小球基底膜兔IgG含量和沉积的影响结果见表5、图1,对大鼠Masugi肾炎肾小球基底膜大鼠IgG含量和沉积的影响结果见表6、图2。

表3 固肾1号对大鼠Masugi肾炎肾脏系数的影响  
Table 3 Effects of Gushen No. 1 on kidney index indicators of rats Masugi nephritis

| 组别    | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )    | 动物数/只 | 肾系数/(g·100 g <sup>-1</sup> ) |
|-------|-----------------------------|-------|------------------------------|
| 对照    | —                           | 10    | 0.812±0.114                  |
| 模型    | —                           | 9     | 1.306±0.411 <sup>△△</sup>    |
| 地塞米松  | 0.067 5 mg·kg <sup>-1</sup> | 8     | 0.964±0.182*                 |
| 肾炎康复片 | 1.296                       | 10    | 0.956±0.201*                 |
| 固肾1号  | 2.115                       | 10    | 0.981±0.171                  |
|       | 4.230                       | 11    | 0.917±0.176*                 |
|       | 8.460                       | 10    | 0.894±0.244*                 |

与对照组比较: <sup>△△</sup>P<0.01; 与模型组比较: \*P<0.05  
<sup>△△</sup>P<0.01 vs control group; \*P<0.05 vs model group

表4 固肾1号对大鼠Masugi肾炎肾脏病理的影响  
Table 4 Effects of Gushen No. 1 on renal pathology of rats Masugi nephritis

| 组别    | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )    | 动物数/只 | 细胞数/个                    | 周长/μm                    | 面积/(μm <sup>-2</sup> ×10 <sup>2</sup> ) | 等效直径/μm                  |
|-------|-----------------------------|-------|--------------------------|--------------------------|---|--------------------------|
| 对照    | —                           | 10    | 74.7±9.6                 | 377.7±65.8               | 82.4±24.7                               | 100.1±20.7               |
| 模型    | —                           | 9     | 93.7±12.8 <sup>△△△</sup> | 461.6±50.8 <sup>△△</sup> | 125.8±34.4 <sup>△△</sup>                | 123.5±10.9 <sup>△△</sup> |
| 地塞米松  | 0.067 5 mg·kg <sup>-1</sup> | 8     | 79.6±11.8*               | 461.7±28.0               | 121.2±24.1                              | 124.2±12.4               |
| 肾炎康复片 | 1.296                       | 10    | 80.0±7.9*                | 429.9±45.0               | 115.0±21.6                              | 120.5±11.2               |
| 固肾1号  | 2.115                       | 10    | 82.2±13.8                | 416.6±82.1               | 96.5±27.8                               | 109.1±19.6               |
|       | 4.230                       | 11    | 79.6±7.7**               | 396.4±65.1*              | 96.4±21.9*                              | 109.4±17.8*              |
|       | 8.460                       | 10    | 74.0±7.7***              | 361.8±22.6***            | 76.5±12.1***                            | 98.7±7.8***              |

与对照组比较: <sup>△△</sup>P<0.01 <sup>△△△</sup>P<0.001; 与模型组比较: \*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001  
<sup>△△</sup>P<0.01 <sup>△△△</sup>P<0.001 vs control group; \*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001 vs model group

表5 固肾1号对大鼠Masugi肾炎肾小球基底膜兔IgG含量的影响  
Table 5 Effects of Gushen No. 1 on rabbit IgG in GBM of rats Masugi nephritis

| 组别    | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )    | 动物数/只 | 免疫荧光强度 |    |    |    |    | 显著性           |
|-------|-----------------------------|-------|--------|----|----|----|----|---------------|
|       |                             |       | 0级     | 1级 | 2级 | 3级 | 4级 |               |
| 对照    | —                           | 10    | 10     | 0  | 0  | 0  | 0  |               |
| 模型    | —                           | 9     | 0      | 0  | 1  | 4  | 4  | <sup>△△</sup> |
| 地塞米松  | 0.067 5 mg·kg <sup>-1</sup> | 8     | 0      | 0  | 1  | 5  | 2  |               |
| 肾炎康复片 | 1.296                       | 10    | 0      | 0  | 0  | 7  | 3  |               |
| 固肾1号  | 2.115                       | 10    | 0      | 0  | 1  | 9  | 0  |               |
|       | 4.230                       | 11    | 0      | 1  | 6  | 3  | 1  | *             |
|       | 8.460                       | 10    | 0      | 2  | 6  | 2  | 0  | **            |

与对照组比较: <sup>△△</sup>P<0.01; 与模型组比较: \*P<0.05 \*\*P<0.01  
<sup>△△</sup>P<0.01 vs control group; \*P<0.05 \*\*P<0.01 vs model group

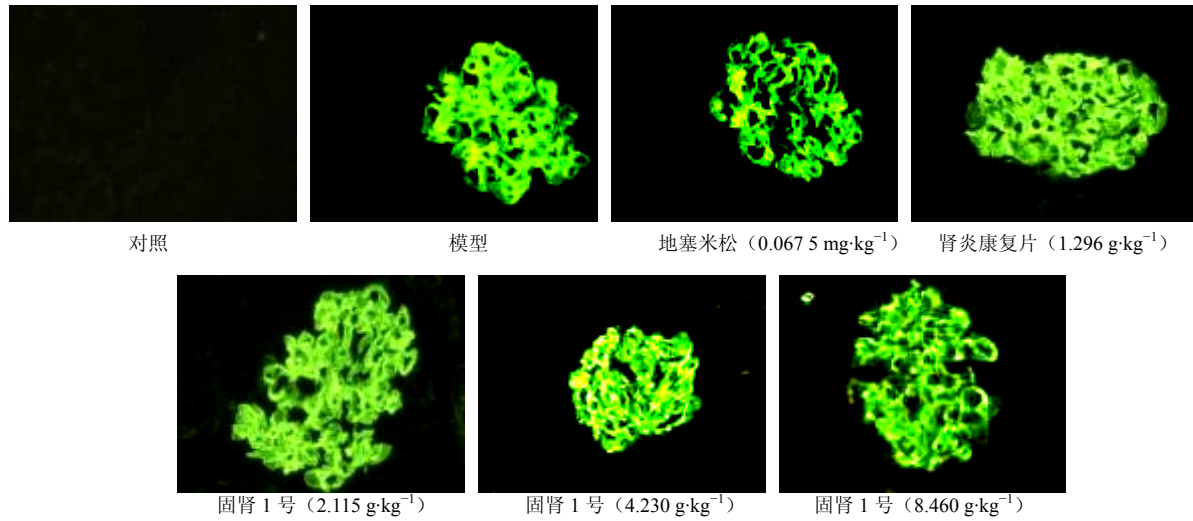


图 1 固肾 1 号对大鼠 Masugi 肾炎肾小球基底膜兔 IgG 沉积的影响

Fig. 1 Effects of Gushen1 on rabbit IgG in GBM of rats Masugi nephritis

表 6 固肾 1 号对大鼠 Masugi 肾炎肾小球基底膜大鼠 IgG 含量的影响

Table 6 Effects of Gushen No. 1 on rat IgG in GBM of rats Masugi nephritis

| 组别     | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )    | 动物数/只 | 免疫荧光强度 |     |     |     |     | 显著性 |
|--------|-----------------------------|-------|--------|-----|-----|-----|-----|-----|
|        |                             |       | 0 级    | 1 级 | 2 级 | 3 级 | 4 级 |     |
| 对照     | —                           | 10    | 10     | 0   | 0   | 0   | 0   |     |
| 模型     | —                           | 9     | 0      | 0   | 2   | 1   | 6   | △△  |
| 地塞米松   | 0.067 5 mg·kg <sup>-1</sup> | 8     | 0      | 0   | 0   | 5   | 3   |     |
| 肾炎康复片  | 1.296                       | 10    | 0      | 0   | 1   | 4   | 5   |     |
| 固肾 1 号 | 2.115                       | 10    | 0      | 0   | 1   | 6   | 3   |     |
|        | 4.230                       | 11    | 0      | 5   | 2   | 4   | 0   | **  |
|        | 8.460                       | 10    | 0      | 4   | 4   | 2   | 0   | **  |

与对照组比较: △△*P*<0.01; 与模型组比较: \*\**P*<0.01

△△*P*<0.01 vs control group; \*\**P*<0.01 vs model group

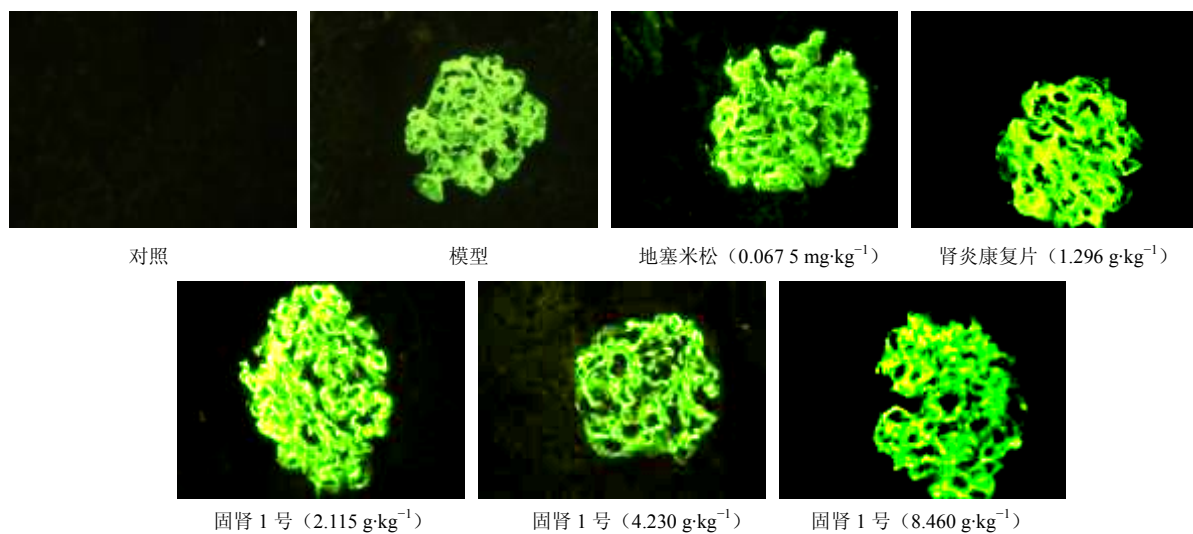


图 2 固肾 1 号对大鼠 Masugi 肾炎肾小球基底膜大鼠 IgG 沉积的影响

Fig. 2 Effects of Gushen No. 1 on rat IgG in GBM of rats Masugi nephritis

### 3.6 病理组织学检查的变化

对照组各肾组织形态未见显著性变化。模型组各肾病变明显，肾小球体积普遍增大、肾小球内细胞数增多，部分肾小球毛细血管扩张，基底膜增厚，肾小球囊扩大，肾小管扩张，肾小管均见轻重不等

的蛋白管型，肾间质弥漫炎细胞浸润。与模型组比较，固肾1号4.23、8.46 g/kg 剂量组、地塞米松组、肾炎康复片组肾病减轻，肾小球体积有所缩小，细胞数亦减少，偶见肾小管扩张剂或管型，肾间质灶性炎细胞浸润，见图3。

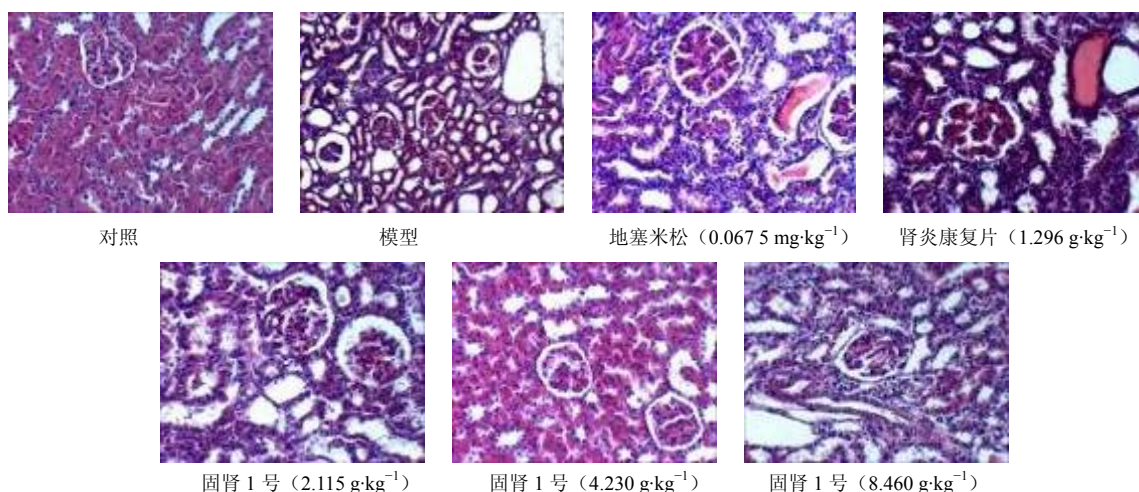


图3 固肾1号对大鼠 Masugi 肾炎肾脏病理的影响

Fig. 3 Effects of Gushen No. 1 on renal pathology of rats Masugi nephritis

### 4 讨论

大鼠尿蛋白、血肌酐、尿素氮明显升高，表明肾炎模型成功。GBM 肾炎的特点是肾小球基底膜异体与自体 IgG 的沉积。涉及到两个重要的免疫反应：兔抗大鼠 GBM 抗体与大鼠肾基底膜上的抗原结合，以及随后发生的大鼠抗兔 IgG 抗体与结合在肾基底膜上的兔抗大鼠 GBM 抗体的结合反应<sup>[5-6]</sup>。此外，用兔 IgG 预免疫大鼠，使大鼠体内产生大鼠抗兔 IgG 抗体，6 d 后给予大鼠亚剂量的兔抗大鼠 GBM 抗血清，两者发生免疫反应，在较短时间内产生自体相的一系列病理表现，最终导致肾损害<sup>[7]</sup>。

模型大鼠在注射抗血清 3 d 后即出现大量蛋白尿，且血肌酐、尿素氮显著升高，其后 3 周各项指标水平仍不断上升；肾组织病变明显，肾小球毛细血管扩张，基底膜增厚，肾小球囊扩大，肾小管扩张，肾小管均见轻重不等的蛋白管型，肾间质弥漫炎细胞浸润。免疫病理显示：兔 IgG、大鼠 IgG 均沿大鼠肾小球基底膜呈线性沉积，证实了肾损伤的所在，由于肾小球基底膜的损伤，致表面电荷屏障破坏，通透性增加，大量蛋白质从基底膜滤出<sup>[8]</sup>。

结果表明固肾1号能减少大鼠 IgG 及兔 IgG 在基底膜的沉积，改善肾脏功能，减少尿蛋白的排出，

降低血中肌酐、尿素氮水平，降低肾指数，对 Masugi 肾炎有明显的治疗作用。

### 参考文献

- [1] 濮雪华, 邢昌赢, 朱璇, 等. 来氟米特对大鼠 Masugi 肾炎的治疗作用 [J]. 江苏医药, 2008, 34(5): 497-499.
- [2] 陈芙蓉, 姜溪, 只德广, 等. 固肾1号对膜性肾小球肾炎的治疗作用 [J]. 药物评价研究, 2014, 37(4): 326-332.
- [3] 任国辉, 叶任高, 董秀清, 等. 大鼠加速型抗肾小球基底膜肾炎的研制 [J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 1994, 3(6): 451-454.
- [4] 张磊, 陈小娟, 金爱琼. 牛脾提取肽类对大鼠 Masugi 肾炎的治疗作用 [J]. 中药材, 2004, 27(6): 423-424.
- [5] Unanue E R, Dixon F J. Studies on the interaction of nephrotoxic antibodies with tissues of the rat [J]. *J Exp Med*, 1965, 121: 697.
- [6] Unanue E R, Lee S, Dixon F J, et al. Experimental glomerulonephritis. VII. The absence of an autoimmune antikidney response in nephrotoxic serum nephritis [J]. *J Exp Med*, 1965, 122(3): 565-578.
- [7] Unanue E R, Dixon F J. The autologous phase of nephrotoxic serum nephritis [J]. *J Exp Med*, 1965, 121: 715-725.
- [8] 陈重义, 刘利平. 蛋白尿大鼠肾小球基底膜阴离子位点变化 [J]. 中华病理学杂志, 1993, 22(6): 350-351.