

附子和鸦胆子并用对高尿酸血症小鼠免疫调节作用的研究

崔友名¹ 任彦 杜毅 龚婷 杨树 谢梦星 罗玥信^{(通讯作者)²}

(长沙医学院 湖南 长沙 410219)

摘要: 实验采用氧嗉酸钾造模的高尿酸血症小鼠,对生附子和鸦胆子的水提液进行了毒理学、药效学及免疫调节方面的研究。将生附子和鸦胆子的水提液按高剂量:中剂量:低剂量=4:2:1,以鸦胆子生药含量标记分别为0.5g kg⁻¹ d⁻¹、0.25g kg⁻¹ d⁻¹、0.125g kg⁻¹ d⁻¹。结果显示,半数致死量为高剂量组。高剂量组和中剂量组对氧嗉酸钾导致的高尿酸血症均有不同程度的降尿酸作用,中剂量组 p<0.05,高剂量组 p<0.01,具有统计学意义。但高剂量组与中剂量组降尿酸效果差别不明显,提示中剂量组效果较好且副作用小。实验组单核细胞数目是正常的2~10倍,提示水提液可促进单核细胞增殖。

关键词: 鸦胆子;附子;高尿酸血症;单核细胞

高尿酸血症是指尿酸合成增加和(或)排泄减少所引起的代谢性疾病。[1]并发症包括慢性肾病、心血管等疾病。[2]目前我国约有高尿酸血症者1.2亿,约占总人口的10%,且近年来有年轻化趋势。特别是在经济发达的城市和沿海地区高尿酸血症患病率达5%~23.5%,已接近西方发达国家的水平。[3]大约10%的高尿酸血症患者最终会出现痛风临床症状,表现为关节红肿、热、痛。[4]然而痛风临床药物的治疗效果却不理想,药物副作用较大。其在中医文献中属“痹症”“历节”。[5]目前对中药治疗高尿酸血症的研究还缺乏系统认识。

鸦胆子性寒味苦,具有清热解毒、截疟、止痢、腐蚀赘疣之功效。[6]附子味辛、甘,性大热。我们希望借助附子温热的药性,减小鸦胆子过于寒凉导致的毒副作用,并从免疫学角度为新型痛风药物筛选提供新的方法。本课题从免疫系统与肝药酶转化的双重作用出发,初步对生附子和鸦胆子的水提液进行了毒理学、药效学及免疫调节方面的研究。

1 材料

1.1 药材

生附子来自四川江油,经鉴定为毛茛科乌头属植物 *Aconitum carmichaeli* Debx.的子根加工品。鸦胆子来自成都市荷花池药材专业市场,经鉴定为苦木科鸦胆子属植物 *Brucea javanica* 的果实。

1.2 动物

30只 C57BL/6 雄性小鼠、体重 18~22g。

1.3 试剂与仪器

氧嗉酸钾盐,尿酸测定试剂盒,其他试剂均为分析纯。电热恒温水箱,电子分析天平,分光光度计。

2 方法

2.1 生附子与鸦胆子水提液制备

取鸦胆子 4.0g,生附子 20.0g,加入 500ml 蒸馏水煮至 200ml,冷藏备用。鸦胆子生药含量为 0.02g/ml,生附子生药含量为 0.1g/ml。给药剂量均按饮片量计算。

2.2 对高尿酸血症小鼠的影响

2.2.1 小鼠分组及给药 将 30 只小鼠随机分为 5 组,每组 6 只,分别为空白对照组、高尿酸血症模型组、水提液高、中、低剂量组(以鸦胆子生药含量标记分别为 0.5gkg⁻¹d⁻¹、0.25gkg⁻¹d⁻¹、0.125gkg⁻¹d⁻¹)。空白对照和模型组按 15mL·kg⁻¹ 灌胃相应体积的生理盐水。连续给药 7d,每天 1 次,最后 1 次于造模 1h 后给药。

2.2.2 采用尿酸酶抑制剂氧嗉酸钾盐为化学诱导剂 抑制小鼠体内尿酸分解,造成高尿酸血症模型。给药前 1h 按 400mg·kg⁻¹ 腹腔注射氧嗉酸钾盐(混悬于 0.8% CMC-Na 溶液)。空白对照组腹腔注射相应体积 0.8% CMC-Na 溶液。给药 1h 后,小鼠眼眶后静脉丛采血,放入 EDTA 管中,立即送检。

2.2.3 小鼠形态学观察

高剂量组死亡 3 只(第 5 天),中剂量组死亡 2 只(第 5 天),低剂量组死亡 1 只(第 4 天)。死亡前呈现眩晕现象,全身肌肉张力、活动能力与抓握能力下降,爬行如醉酒样,呼吸深慢,全身感觉迟钝。死亡小鼠肝肿大无血色,部分脾肿大。

2.2.4 快速分离肝脏组织块制成 HE 切片。

2.2.5 血清尿酸水平检测采用尿酸测定试剂盒

2.3 数据处理

采用 SPSS26.0 统计软件进行处理,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用单因素方差分析, P<0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对血尿酸水平的影响

高尿酸血症模型组小鼠血清尿酸水平显著高于正常小鼠(P<0.01)。生附子和鸦胆子并用高、中剂量组均可显著降低高尿酸血症小鼠血清尿酸水平(中剂量 P<0.05,高剂量 P<0.01),但低剂量组效果不显著,提示在此剂量范围内剂量和效果正相关。见表 1。

表 1 水提液对高尿酸血症小鼠血清尿酸水平和单核细胞数目的影响

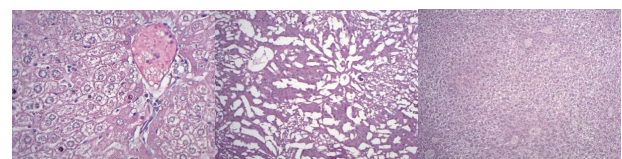
组别	剂量 /g·kg ⁻¹	尿酸 μmol·L ⁻¹	单核细胞数目 /10 ⁹ ·L ⁻¹
空白对照	-	172.67 ± 13.06	0.52
模型	-	226.33 ± 11.58	0.16
生附子和鸦胆子 并用	0.5	177.36 ± 15.65	5.15
	0.25	182.67 ± 11.17	1.49
	0.125	196.33 ± 12.99	0.83

3.2 对高尿酸血症小鼠单核细胞数目的影响

小鼠静脉血的血常规结果显示:采用氧嗉酸钾诱导的高尿酸血症模型,单核细胞数目约为对照组的 1/3。而实验组在腹腔注射氧嗉酸钾情况下,高、中、低剂量组单核细胞数目反而分别是对照组的 5.2 倍、2.9 倍、1.6 倍,提示水提液可促进单核细胞增值。见表 1。

3.3 水提液对高尿酸血症小鼠肝的影响

实验组肝组织缺乏血色,质脆且肿大。HE 染色镜下观,实验组肝细胞水肿,血液中有大量白细胞。肝细胞变性坏死,甚至溶解。但模型组同样有肝组织水肿的情况,表明实验组的肝损伤情况并非单独由水提液所为(图一)。



组织水肿(高) 细胞变性坏死(高) 组织水肿(模)

图一 小鼠肝组织切片 HE 染色(×100)

(下转第 29 页)

(上接第9页)

4 讨论

氧嗪酸钾可使小鼠体内的黄嘌呤氧化酶/脱氢酶 mRNA 的表达水平上升 2.14 倍。^[8,9]因为鸦胆子油乳具有多药耐药逆转和拓扑异构酶 II 抑制作用,^[7]血液高尿酸水平与肝黄嘌呤化酶系密不可分,故水提液可能对肝黄嘌呤化酶有不同程度的调节作用。如何调控肝药酶活性是痛风药物开发的关键。高剂量组和中剂量组对氧嗪酸钾导致的高尿酸血症均有不同程度的降尿酸作用,且随着剂量升高而越来越显著,但高剂量组死亡率更高,为半数致死量。结合药物增加单核细胞数的作用,生附子与鸦胆子配伍或可运用于肝肿瘤治疗。

参考文献:

- [1] Rizzo, Manfredi, et al. "Uric acid metabolism in pre-hypertension and the metabolic syndrome." *Current vascular pharmacology* 12.4 (2014): 572-585.
- [2] Sheikhabaei, S , et al. (2014). Serum uric acid, the metabolic syndrome, and the risk of chronic kidney disease in patients with type 2 diabetes. *Metabolic syndrome and related disorders*, 12(2), 102-109.

[3] 中华医学会内分泌分会.高尿酸血症和痛风治疗中国专家共识.中华内分泌代谢杂志,2013,29(11):913-920

[4] Vitart, Veronique, et al. "SLC2A9 is a newly identified urate transporter influencing serum urate concentration, urate excretion and gout." *Nature genetics* 40.4 (2008): 437.

[5]朱春胜 等.中医药治疗高尿酸血症的研究进展[J].中华中医药杂志,2015,30(12):4374-4376.

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015:254-255.

[7] 汤涛 等.鸦胆子油乳具有多药耐药逆转和拓扑异构酶 II 抑制作用[J].中国药理学通报,2001(05):534-539.

[8] 刘李玖韬 等.高尿酸血症动物模型研究述评[J].湖南中医药大学学报,2017,37(12):1431-1436.

1. 王陈芸 等.氧嗪酸钾致小鼠急性高尿酸血症动物模型的研究及评价[J].中药药理与临床,2019,35(01):176-180.

通讯作者: 罗玥倩, 副教授, 主要研究方向为药用植物分子标记及成分分析