维普资讯 http://www.cqvip.com



文章编号:0253－3626(2001)03－0261－04

# 双氢青蒿素治疗实验大鼠卡氏肺孢子虫肺炎的疗效观察

刘成伟,陈雅棠,李文桂,余登高

(重庆医科大学临床学院传染病寄生虫病研究所　重庆　400016)

【摘　要】目的:研究双氢青蒿素治疗实验大鼠卡氏肺孢子虫肺炎的疗效。方法:Wistar 大鼠皮下注射醋酸可的松建立卡氏肺孢子虫肺炎动物模型。用双氢青蒿素治疗实验大鼠同时设有感染组和正常组作为对照。通过存活数、存活率、肺重、肺重/体重比、包囊计数和肺组织病理学变化考核药物疗效。结果:治疗组大鼠存活数、存活率均高于感染组,而低于正常组;治疗组大鼠平均肺重、平均肺重/体重比和包囊数均低于感染组,肺组织炎症反应明显减轻。结论:双氢青蒿素是一种治疗大鼠卡氏肺孢子虫肺炎的有效药物。

【关键词】双氢青蒿素;卡氏肺孢子虫;治疗

【中国图书分类法分类号】R382.3　　【文献标识码】A　　【收稿日期】2000－11－20

## A primary observation of therapeutic effect of dihydroartemisinin on experimental rats infected with Pneumocystis carinii

*LIU Cheng－wei, et al*

(Institute of Infectious and Parasitic Diseases, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】 ***Objective***: To study the therapeutic effect of dihydroartemisinin(DHA)on experimental rats infected with Pneumocystis carinii. ***Methods***: Wistar rat model of Pneumocystis carinii pneumonia (PCP) was established by subcutaneous injection with cortisone acetate and treated orally with dihydroarteminsinin. PCP rats and normal rats served as control. The therapeutic effect of DHA was evaluated by rat survival numbers, survival rate, lung weight, ratio of lung weight to body weight, cyst count and pathological changes. ***Results***: Rat survival numbers, survival rate in the treatment group were much higher than that in the infection group, but lower than in the normal group. Average lung weight, average ratio of lung weight to body weight and cyst numbers in the treatment group were lower than in the infection group. Lung inflammation remarkably lightened in the treatment group. ***Conclusion***: DHA was one of the useful drugs to treat PCP.

【Key words】 Dihydroartemisinin; Pneumocystis carinii; Treatment

卡氏肺孢子虫肺炎(Pneumocystis carinii pneumonia, PCP)是由卡氏肺孢虫(Pneumocystis carinii, Pc)引起的一种常见机会性寄生虫病,多发生于免疫功能缺陷病人,特别是 AIDS 病人。据国外报告 60%以上的 AIDS 病人并发 PCP, PCP 是 AIDS 病人致死的重要原因[1]。目前防治 PCP 的常用药物为甲氧磺胺嘧啶－磺胺甲基异噁唑(TMP－SMZ)和喷他脒,但均存在明显的毒副作用。因此,研究高效、低毒、价廉的抗 PCP 药物成为当前防治工作的迫切需要。

青蒿素是从菊科艾属黄花蒿中提取的一种新型倍半萜内酯药物,双氢青蒿素(dihydroartemisinin, DHA)是青蒿素用硼氢化钠还原而成的一种衍生物,商品名为科泰新。人们发现双氢青蒿素有抗疟原虫[2]、血吸虫[3]、弓形虫[4]和杜氏利什曼原虫[5]的作用,提示该药物对寄生虫具有杀灭作用。因此,本文研究 DHA 治疗试验大鼠 PCP 的疗效,从而为 PCP 防治开创一条新的途径。

作者介绍:刘成伟(1973－　),男,技师,重庆市人。主要研究方向:寄生虫的分子免疫学

维普资讯 http://www.cqvip.com



## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物 纯系 Wistar 大鼠,雌性,体重 200～250g,由重庆医科大学实验动物中心提供。

1.1.2 药物 醋酸可的松注射液购自上海第九制药厂,批号 960801;盐酸四环素购自西南制药厂,批号 990404;双氢青蒿素购自北京第六制药厂,批号 960701。

### 1.2 方法

1.2.1 PCP 大鼠模型建立 参照陈雅棠等[6]方法进行。

1.2.2 实验分组及治疗 大鼠经皮下注射醋酸可的松 6 周后,随机选 2 只处死,取肺作切面印片,采用六亚甲基四胺银染色法(GMS)染色,油镜下观察 Pc 包囊,证实大鼠诱发 Pc 感染后,然后将其他实验大鼠随机分为 2 组,每组 10 只。第一组为治疗组,每只大鼠以 DHA 60mg/kg 的剂量灌胃,每天一次,连续用药 5 天,停药观察 1 周。第二组为感染组,继续饲养 2 周至第 8 周末。另有 10 只健康大鼠不给予醋酸可的松注射和 DHA 治疗作为正常组。

1.2.3 疗效考核 在整个实验过程中,记录各组大鼠的存活数、治疗后的体重,各组大鼠于第 8 周末全部剖杀取全肺,称全肺湿重,记录各鼠肺重,计算肺重/体重比。取各组大鼠的右肺下叶作上下横断,以横切面在干净载玻片上作 $2cm^2$ 大小的印片,玻片编号,然后空气干燥,甲醇固定,采用 GMS 染色,油镜观察。每张印片随机观察 100 个视野,记录包囊数,计算每肺每视野的包囊均数,再计算出每组包囊均数。由公式:包囊减少率 =(感染组包囊均数 − 治疗组包囊均数)/感染组包囊均数 × 100%,算出治疗组的包囊减少率。

1.2.4 组织病理学观察 取各组大鼠的右肺上叶,10% 福尔马林固定,石腊切片,HE 染色后置光镜下观察大鼠肺组织病理学变化。

## 2 结 果

2.1 PCP 大鼠模型建立 大鼠经连续皮下注射醋酸可的松 6 周后,肺印片中发现大量卡氏肺孢子虫包囊(图 1),表明 PCP 大鼠模型已成功建立。此时大鼠出现呼吸急促,体重减轻,活动和进食减少,精神萎靡,体毛松散无光泽并有斑片状脱落等症状。

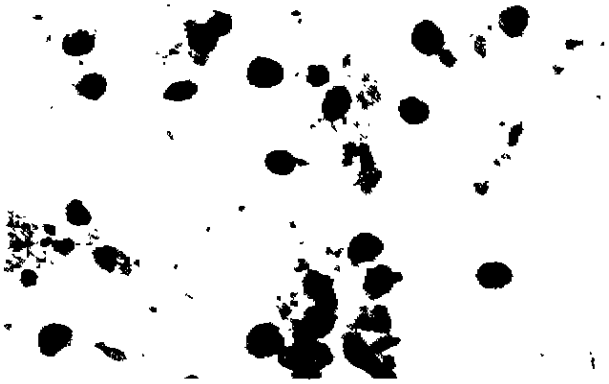


图 1 PCP 大鼠肺印片发现许多卡氏肺孢子虫包囊(×1000)

### 2.2 疗效考核

2.2.1 大鼠存活状态 其结果见表 1,感染组大鼠存活率明显低于正常组,U 检验发现两者有显著性差别($P<0.05$);治疗组大鼠存活率略低于正常组,但高于感染组,U 检验发现均无显著性差别。

表 1 各组大鼠的存活率

| 组别 | 实验鼠数 | 存活数 | 存活率(%) |
|---|---|---|---|
| 治疗组 | 10 | 8 | 80% |
| 感染组 | 10 | 5 | 50%* |
| 正常组 | 10 | 10 | 100% |

与正常组相比,* $P<0.05$

2.2.2 大鼠肺重和肺重/体重比 其结果见表 2。感染组的平均肺重和平均肺重/体重比最高,显著高于治疗组和正常组,统计学分析发现均有极显著差异($P$ 均 $<0.01$);治疗组的平均肺重和平均肺重/体重比也高于正常组,统计学分析发现也有极显著性差异($P$ 均 $<0.01$)。

表 2 各组大鼠的肺重和肺重/体重比

| 组别 | 实验鼠数 | 平均肺重(g) | 平均肺重/体重比 |
|---|---|---|---|
| 治疗组 | 10 | 2.66±0.15**△△ | 1.68±0.26(×10⁻²)**△△ |
| 感染组 | 10 | 3.53±0.27** | 2.45±0.22(×10⁻²)** |
| 正常组 | 10 | 2.01±0.11 | 0.83±0.09(×10⁻²) |

与正常组相比,** $P<0.01$;与感染组相比,△△ $P<0.01$

注:实验中途死亡的大鼠,将死亡时的体重和肺重作为实验结束时的体重和肺重。

2.2.3 包囊计数 其结果见表 3。治疗组每视野包囊均数低于感染组,统计学分析发现有显著性差异($P<0.05$),治疗后的大鼠包囊减少率为 64.4%。

表 3 各组大鼠 Pc 包囊均数

| 组别 | 检查鼠数 | 每视野包囊均数 | 包囊减少率 |
|---|---|---|---|
| 治疗组 | 8 | 1.19±0.91* | 64.4% |
| 感染组 | 5 | 3.34±2.26 | |
| 正常组 | 10 | 0 | |

与感染组相比,* $P<0.05$

注:实验中途死亡的大鼠,未作肺印片、GMS 染色和 Pc 包囊计数。

### 2.3 组织病理学观察

2.3.1 正常大鼠肺组织学结构 肺泡大小不一,肺泡壁很薄,表面覆以单层扁平上皮,相邻肺泡上皮之间为肺泡间隔,由密集的毛细血管网和薄层结缔组织构成,肺泡间隔内有巨噬细胞(图 2)。

维普资讯 http://www.cqvip.com





图 2 正常大鼠肺组织学结构(×400)

2.3.2 PCP 大鼠肺组织病理学变化 肉眼观察肺脏体积增大,变重,质地稍硬,表面呈灰褐色,粗糙不平,表面及切面可见片状或点状灰白色病灶,挤压后切面有粘稠样渗出物流出。镜下可见肺泡间隔有不同程度增厚,间质充血、水肿,间质内有较多炎症细胞,主要为淋巴细胞和巨噬细胞浸润,肺泡腔内充满淡红色的泡沫样渗出物(图 3)。

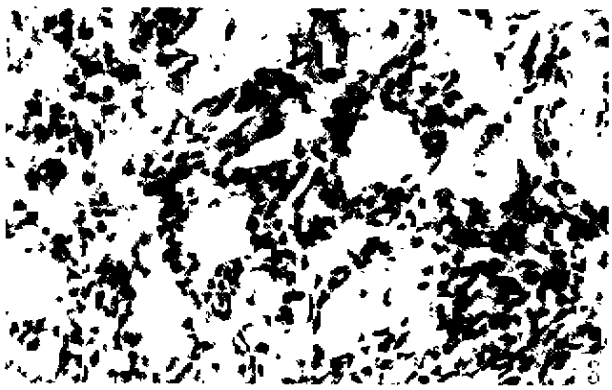


图 3 感染组大鼠肺组织有明显的炎症反应(×400)

2.3.3 DHA 治疗对 PCP 大鼠肺组织病理学影响 肺组织炎症减轻,肺泡腔内泡沫样渗出物减少(图 4)。

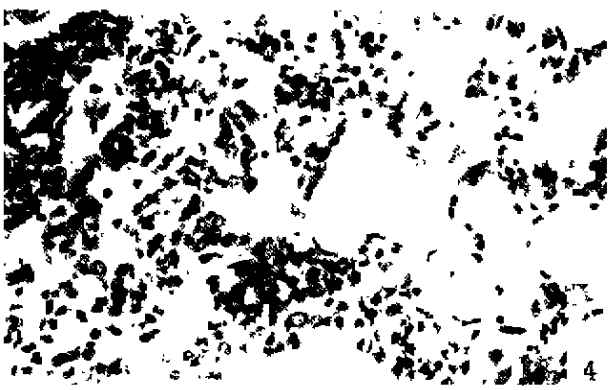


图 4 治疗组大鼠肺组织仅有少许炎症反应(×400)

## 3 讨 论

本文用醋酸可的松皮下注射大鼠 6 周建立 PCP 模型,肺印片中均可查见 Pc 包囊,表明建立的 PCP 模型是成功的,这与陈雅棠等的报道相一致[6],从而为 DHA 治疗 PCP 效果提供了较好的动物模型。

陈雅棠等[7]首次用青蒿素衍生物——蒿甲醚治疗大鼠 PCP,取得较好效果。由于 DHA 具有吸收良好、分布广、排泄和代谢迅速、高效、低毒等优点[8],因此我们选用 DHA 并参考其治疗疟疾等其他寄生虫病的剂量,选用 60mg/kg·次·d,×5d,试验治疗大鼠 PCP。

为综合评价 DHA 的疗效,我们选用存活数、存活率、肺重、肺重/体重比、包囊计数作为考核指标,并结合组织病理学变化来判断 DHA 的治疗效果。DHA 治疗后的大鼠的存活数、存活率均高于感染组大鼠,表明 DHA 治疗对大鼠 PCP 有一定效果。肺重、肺重/体重比是很好的评价指标,它直接反映大鼠肺部卡氏肺孢子虫的感染程度,而且操作简单,结果快速,适用经济[9]。感染 Pc 后的大鼠由于肺组织发生水肿、炎症、肺脏体积增大,因而肺重增加,但经 DHA 治疗后,肺重明显减轻,而接近于正常大鼠肺重。

包囊计数能准确地评价药物的疗效,是一项相对可靠的考核指标。本文发现经 DHA 治疗后的大鼠包囊减少率为 64.4%,提示 DHA 可能杀死 Pc,导致 Pc 包囊减少。病理组织学发现 DHA 治疗后的肺组织炎症、明显减轻,肺泡腔内渗出物也减少,进一步提示 DHA 治疗能减轻大鼠 PCP 的炎症反应。表明 DHA 治疗大鼠 PCP 有较好的效果,是一种有前途的抗 Pc 新药。

## 参 考 文 献

[1] Held M, Goebel FD. Primary and secondary prophylaxis for Pneumocystis carinii related complications in HIV patients [J]. Eur Respir J, 1996; 9(5): 868 - 871.

[2] 许炽燥,丁雨生,齐志群,等. 双氢青蒿素治疗 37 例疟疾患者的疗效观察[J]. 中华内科杂志, 1997; 36(3): 187 - 189.

[3] 沈光金. 青蒿素及其衍生物的抗血吸虫作用[J]. 中国寄生病防治杂志, 1997; 10(2): 145 - 147.

[4] 王崇功. 青蒿素治疗弓形虫病的研究(下转第 267 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com



受体介导作用,从而影响 ATP 合成、蛋白质合成等。核膜具有屏障作用及染色质定向功能,AR 也可能参与了核膜功能活动,导致核膜及染色质等正常功能的破坏。总之,受体全面参与肝细胞功能活动,在致癌过程中发挥重要作用。

在以后复制动物肝癌模型过程中,可使用免疫胶体金技术,动态观察肝癌的发生、发展与 AR、ER 存在部位与数量变化的关系,这对于深入研究受体参与致癌机制是有意义的。

## 参 考 文 献


[1] Chamness GC, Gostlow ME, McGaire WL. Estrogen receptor in rat liver and its dependence on prolactin[J]. Steroids, 1975;26:363 - 371.

[2] Bannister PC, Meystre MS, Losowsky. Androgen receptor concentrations in needls specimens of haman liver[J]. Liver, 1988;3:281 - 31.

[3] Bannister PC, Parsons MA, Ingleton P, et al. Androgen recptor concentration in the diethylinitrosamine model of hepatic carcinogenesis[J]. Br J Cancer, 1986;54:857 - 859.

[4] Ostrowski JL, Ingleton PM, Underwood, JC, et al. Increased hepatic androgen receptor expression in female rats during diethylitrosamine liver carcinogenesis: a possible correlation with liver tumor development[J]. Gastroenterology, 1988; 94: 1193 - 1200.

[5] Faulk WP, Taylor CM. An immunocollid method for electron - microscop[J]. Immunochemistry, 1971;8:1081.

[6] 倪灿荣. 免疫组织化学实验新技术及应用[M]. 第一版,北京. 北京科技出版社,1993:144.

[7] Patricia K, Mary S, Antonio F, et al. Quantitation of estrogen and androgen receptor in Hcc adjacent normal human liver[J]. Dig Dis Sci, 1991;36(9):1303 - 1308.

[8] Nagasue N, Yukaya Y, Ito H, et al. Androgen receptor in hepatocellular carcinoma and surrounding parenchgma[J]. Gastroenterology, 1985;89:643.


(上接第 263 页)和临床治疗效果的初步观察[J]. 中国人兽共患病杂志,1997;13(1):79 - 80.

[5] 芦殿梅,胡孝素,马 莹,等. 双氢青蒿素治疗杜氏利什曼原虫前鞭毛体作用体外实验研究[J]. 中国寄生虫病防治杂志,1999;12(1):23 - 26.

[6] 陈雅棠,刘约翰,沈际琨,等. 大鼠肺孢子虫肺炎动物模型建立及病原学病理学观察[J]. 重庆医科大学学报,1989;14(3):181 - 183.

[7] 陈雅棠,马 良,梅 芹. 青甲醚治疗实验大鼠肺孢子虫肺炎的初步观察[J]. 中国寄生虫病防治杂志,1994;7(4):278 - 280.

[8] 张自宽. 中国药品实用手册[M]. 第 1 版,北京:中国医药科技出版社,1999;79 - 80.

[9] Kim CK, Foy JM, Cushion MT, et al. Comparison of histologic and quantitative techniques in evaluation of therapy for experimental Pneumocystis carinii pneumonia [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1987;31(2):197 - 201.