DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.03.003

地塞米松对家兔急性实验性血清病的调节作用

王顺友 朱锡华（免疫学教研室）

提 要 本实验观察了不同时间及剂量的地塞米松(DX)对家兔急性实验性血清病（AESS）的调节作用。结果发现DX并不抑制AESS家兔特异性抗体的产生。相反，早期给药组动物抗体水平还有增高趋势，循环免疫复合物（CIC）水平显著高于晚期给药及阳性对照组。晚期给药各组特异性抗体，CIC水平及肾组织超氧化物歧化酶活力与阳性对照组无显著差别，但肾组织非特异性酯酶染色及病理学改变明显减轻，提示DX可能是通过减少单核细胞在肾小球内的聚集而减轻AESS的病理改变。氧自由基在AESS发病中的作用尚待进一步探讨。

关键词 地塞米松；血清病；抗原-抗体复合物；超氧化物歧化酶

糖皮质激素具有强大的抗炎及免疫调节作用，并广泛用于肾炎的临床治疗。最近的研究表明，糖皮质激素能增加抗体合成[8]，对其调节机制有了新的认识。急性实验性血清病（Acute Experimental Serum Sickness，AESS）是免疫复合物性肾炎的经典模型，超氧化物歧化酶（Superoxide Dismutase，SOD）能明显减轻AESS家兔肾脏的病理变化，提示AESS性肾炎的发生可能与自由基有关。本实验观察了不同时间及剂量的地塞米松（Dexamethasone，DX）对AESS家兔特异性抗体及循环免疫复合物动态变化、SOD活力的影响，探讨了IC水平与肾脏病理学改变的关系，并通过组织学观察对DX减轻AESS肾脏病理学改变的机制进行了讨论。

材料和方法

一、家兔AESS模型的制备及实验分组

选用体重为1.5～2.5kg的健康大耳白兔。按照Dixon的方法[1]，以牛血清白蛋白（BSA，上海长阳制药厂）为抗原，以250mg／kg体重的剂量经兔耳缘静脉1次注射，造成“一过性”血清病。将57只家兔随机分成6组，早期用药组于BSA注射前2h经兔耳缘静脉注射地塞米松磷酸钠（天津华津制药厂），随后2～5天静注维持量；晚期给药组于BSA注射后第7天静注DX，第8～11天给予维持量（表1）。

表1 实验分组及DX用药方法

组别	例数	BSA	DX首剂		DX维持量	
			剂量	时间	剂量	时间
阴性对照组（NC）	7	—	—	—	—	—
阳性对照组（PC）	10	250mg/kg	—	—	—	—
早期小剂量组(EL)	10	250mg/kg	2mg/kg	第1天	0.5 mg/kg	2～5天
早期大剂量组(EH)	10	250mg/kg	5mg/kg	第1天	1.25mg/kg	2～5天
晚期小剂量组(LL)	10	250mg/kg	2mg/kg	第7天	0.5 mg/kg	8～11天
晚期大剂量组(LH)	10	250mg/kg	5mg/kg	第7天	1.25mg/kg	8～11天

二、标本采集及血清免疫学指标的测定

分别于BSA注射前（0天）及注射后的第4、6、8、10及12天由兔耳中央动脉采血，分离血清冻存于-20℃。于第12天颈动脉放血处死动物取左肾用于病理学及组织化学检查，右肾用于组织SOD活力测定。参照Mcleish及本室建立的ELISA法[2][3]，测定血清中特异性抗BSA抗体及循环免疫复合物（CIC）。

三、肾组织SOD活力测定

参照Bensiher和杨竟平等人的发光抑制方法[4][5]，以能抑制标准对照发光计数的50%SOD含量为1个SOD单位，SOD活力表示为SOD单位／mg蛋白质。

四、肾组织非特异性酯酶染色

参照Yam的方法[6]，将肾组织于恒冷切片机上作7μm之切片，风干后染色，根据Hunsicker的标准[7]分为（-）及（+）～（+++）。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

五、组织病理学检查

光镜：取肾组织常规固定，包埋，石蜡切片(5μm)，HE染色，光镜下观察肾小球有核细胞增多程度，肾小管管型形成程度及肾间质炎症细胞浸润程度等病理变化，并计算肾小球有核细胞均值。

电镜：常规固定，切片。随机选择NC组3例，PC、EH、LL组各4例动物肾组织超薄切片电镜下观察肾小球基底膜高电子密度物质沉积程度；肾组织细胞肥大、增生程度；肾小球内炎症细胞数量、类型及部位。

实验所得结果，计量及肾小球细胞计数资料结果以均值±标准误表示，采用多因素或单因素方差分析；等级资料采用秩和检验。

实验结果

一、血清抗BSA IgG抗体含量的动态变化

各组动物于BSA注射后第6天抗体水平开始增高，第10～12天达峰值。早期给药组于第12天呈增高趋势，但与PC组无显著差异($P>0.05$)。余各组间在各时相点均无统计学差异（表2）。

二、CIC动态变化

CIC动态变化与抗体相似，早期给药组于第12天显著高于PC及晚期给药组($P<0.05$)，余各组间在各时相点无统计学差异（表3）。

表2 DX对AESS家兔特异性抗BSA IgG抗体动态变化的影响

组别	BSA注射后时间（天）					
	0	4	6	8	10	12
PC	0.05±0.02	0.08±0.03	0.36±0.07	0.74±0.06	0.95±0.03	0.84±0.05
EL	0.19±0.10	0.09±0.06	0.10±0.04	0.54±0.14	0.93±0.04	1.08±0.06
EH	0.10±0.02	0.06±0.02	0.14±0.08	0.52±0.07	0.87±0.09	1.00±0.10
LL	0.04±0.01	0.11±0.04	0.29±0.07	0.57±0.09	0.85±0.05	0.80±0.08
LH	0.04±0.02	0.04±0.02	0.13±0.05	0.50±0.10	0.71±0.05	0.86±0.0

表3 DX对AESS家兔CIC动态变化的影响

组别	BSA注射后时间（天）					
	0	4	6	8	10	12
PC	0.13±0.02	0.12±0.02	0.26±0.04	0.61±0.07	0.96±0.09	1.05±1.02
EL	0.09±0.03	0.08±0.03	0.12±0.03	0.61±0.03	0.93±0.14	1.31±0.13●
EH	0.21±0.03	0.14±0.12	0.15±0.13	0.63±0.07	0.84±0.13	1.32±0.15●
LL	0.13±0.03	0.11±0.03	0.28±0.05	0.63±0.09	0.79±0.10	0.81±0.02
LH	0.15±0.05	0.26±0.05	0.36±0.03	0.77±0.08	1.02±0.06	1.01±0.08

●——与阳性对照组比较$P<0.05$。

三、DX对肾小球非特异性酯酶染色的影响

NC组主要呈阴性反应，PC及EL组呈强阳性反应，EH及晚期给药组呈弱阳性反应。统计分析表明EH及晚期给药组显著低于PC组($P<0.01$)(图1)。

四、肾组织SOD活力测定

NC组为352±55u／mg蛋白，PC组为483±24u／mg蛋白，两组间差异显著（$P<0.05$）。各用药组均高于NC组，但与PC组无显著差异（图2）。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

五、肾组织病理学检查结果

光镜：PC组及EL组可见肾小球肿大，有核细胞计数增多，肾间质炎症细胞浸润，肾小管内蛋白及颗粒管型。EH组及各晚期给药组上述病理变化皆有明显减轻。肾小球有核细胞计数结果：EH组及各晚期用药组均明显低于PC组（图3）。

电镜：EH组内可见肾小球基底膜高电子密度物质沉积，PC组肾小球毛细血管内可见大量单核细胞充塞于管腔，上皮、内皮细胞可见线粒体，内质网肥大、核糖体增多，呈细胞肥大表现。各用药组单核细胞聚集减轻，但细胞肥大常见，血管腔通畅。NC组肾小球内有时可见单个粒细胞，间或有上皮及内皮细胞肥大。

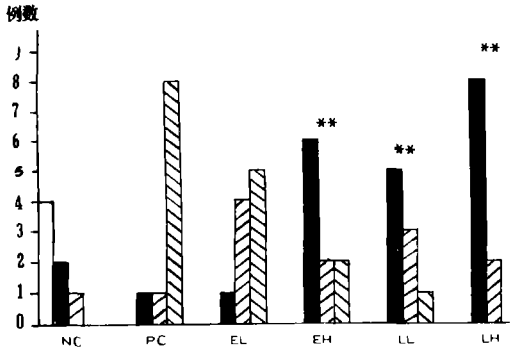


图1　DX对AESS家兔肾小球ANAE活力的影响

□-■+▨++▧+++

**—与阳性对照组比较P＜0.01

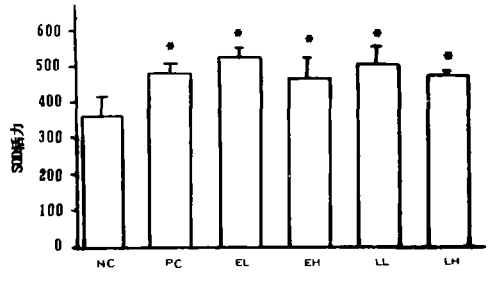


图2　DX对肾组织SOD活力的影响

*—与正常组比较P＜0.05

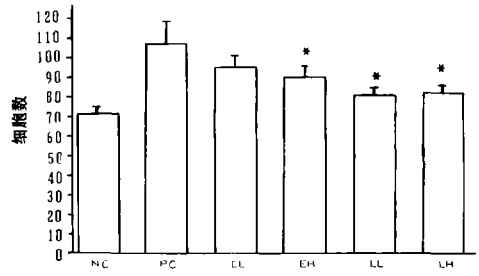


图3　DX对AESS家兔肾小球有核细胞计数的影响

*—与阳性对照组比较P＜0.05

讨　论

AESS是典型的免疫复合物性肾炎。DX并不抑制AESS家兔特异性抗体的产生，相反，在抗原注射后的第12天，早期给药组动物抗体水平还有增高的趋势。这一作用可能与DX抑制内源性花生四烯酸（AA）及三白烯B_4（LTB_4）产生有关。在体外培养的抗体产生系统中，AA及LTB_4能明显地抑制抗体生成[8]。各晚期给药组抗体水平不受DX影响，推测DX在体内的作用与用药时间有关。DX对IC水平的影响也与用药时间有关，早期给药能显著增加IC水平，这一作用与剂量无关。综合DX对抗体合成的影响推测，早期给药组IC水平的增高可能与抗体合成增加、IC形成增多有关。

许多IC引起的疾病都与活性氧(Reactive Oxygen Specise，ROS)增加有关[9][10]。IC激活吞噬细胞，肾组织细胞产生ROS[11][12]，并使AA代谢增强，产生前列腺素(PG)和白三烯，增加血管通透性、吸引炎症细胞，SOD可能通过保护DX诱生的抗炎蛋白免受ROS破坏而起作用。AESS家兔肾组织内SOD活力增高可能是机体的一种保护机制。晚期给药组虽能显著减轻AESS的病理变化，但肾组织SOD与PC无显著差别，提示DX并非通过增加SOD活力而减轻AESS的病理变化；SOD也不是唯一的保护机制。除O_2^-外，可能OH·、过氧化氢等也参与了致伤作用[9]。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

非特异性酯酶（酸性α-萘酚醋酸酯酶，ANAE）是T细胞及单核细胞内的一种特征性酶，AESS家兔肾小球内ANAE含量显著增加，表明肾小球内含有大量单核和／或T细胞。结合电镜所见，肾小球内ANAE染色阳性细胞主要为血管内的单核细胞。晚期给药组尽管并不影响AESS家兔特异性抗体，CIC水平及SOD活力，却能显著减轻肾组织ANAE染色及病理变化，表明DX可能是通过减少ANAE阳性细胞在肾小球毛细血管内的聚集而减轻肾脏的病理变化。这一作用可能与DX抑制AA释放，PG及LT产生有关。早期大量给药减轻AESS病理改变可能为DX半衰期较长，致使残留药物在晚期发挥作用之故。早期给药效果不如晚期给药与它不能抑制炎症过程有关。由于早期给药能增加CIC水平，所以其对AESS家兔免疫反应的调节对于减轻其病理变化并无益处。

参考文献

1. Dixon FJ, et al. J Exp Med 1961; 113:899
2. Mcleish KR, et al. Clin Immunol Immunopathol 1983; 26:18
3. 赵菲莎，等。应用酶联免疫吸附试验检测家兔循环中特异性免疫复合物的初步研究。第三军医大学学报1984；6：257
4. Bensinger RE, et al. Anal Biochem1981; 116:142
5. 杨竟平，等。白求恩医科大学学报 1987；13:169
6. Lowry OH, et al. J Bio Chem1951; 193:265
7. Hunsicker LG, et al J Exp Med 1979; 150:413
8. Goodwin JS, et al. J Immunol 1988; 136: 3455
9. Fligiel LE, et al. Am J Pathol 1984:155:375
10. Ward PA, et al. Acta Physiol Scand 1986; 548:79 suppl
11. Adker S, et al. J Clin Invest 1983; 77:762
12. Imagawa DK, et al. American Association of Immunology 1985; 136:4637

（收稿：1988.9.19；修回：1989.4.12）

The Regulatory Effects of Dexamethasone on the Acute Experimental Serum Sickness in Rabbits

Wang Shunyou and Zhu Xihua (Department of Immunology, Third Military Medical College)

This experiment takes the acute experimental serum sickness (AESS) in rabbits as an animal model to investigate the mechanism of the regulatory effects of Dexamethasone (DX). The results show: DX doesn't inhibit the production of anti-BSA antibody but induces the tendency to increase the level of antibody in rabbits with DX administration on early days (EL, EH); immune complexes(BSA-anti-BSA IGg, CIC) in the rabbits of EL and EH are significantly increased comparing with the later days (LE, LH) and positive controls. Non-specific esterase stainings and the pathological changes of kidney sections are markedly lessened though the amount of anti-BSA antibody, circulating immune complex (CIC) and superoxides dismutase activity in the rabbits of LE and LH are the same as the positive control. The outcome of protecting kidneys of AESS rabbits from injury by DX administration: probably results from the effects of that DX inhibits infiltration of monocytes into the glomeruli. The role of oxygen radicals in AESS needs further investigation.

Key words: Dexamethasone/PD; Serum sickness/DT; Antigen-antibody complex; Superoxide dismutase

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net