

黄芪杂多糖调节 AA 小鼠红细胞免疫黏附功能的研究

杨丽华^{1**}, 邱建东^{1,2}, 李宏全^{1*}

(1. 山西农业大学动物科技学院, 山西 太谷 030801; 2. 山西省太原市动物卫生监督所, 山西 太原 030027)

摘要: 建立小鼠佐剂性关节炎 (AA) 模型, 以雷公藤多苷 (TG) 为阳性对照, 研究黄芪杂多糖 (AHPS) 对 AA 小鼠红细胞免疫黏附功能的影响及其效应机制。采用常规组织切片检查膝关节的病理组织学变化, PEG-6000 沉淀、P-S 染色法测定血清中循环免疫复合物 (CIC) 含量, 荧光免疫组织化学法测定关节滑膜组织中免疫复合物 (IC) 含量, 流式细胞术测定红细胞 CR1 数量, 并进行足爪容积测定和关节炎评分。结果显示: AHPS 可显著改善 AA 小鼠的原发性和继发性症状; AHPS (250、500 和 1 000 mg·kg⁻¹) 可增加 AA 小鼠红细胞 CR1 的数量 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 并降低 AA 小鼠血液中 CIC 的含量和抑制 IC 在 AA 小鼠膝关节滑膜中的沉积 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); AHPS 的作用呈浓度依赖性。结果表明, 提高 AA 小鼠红细胞 CR1 基因的表达可能是 AHPS 对 AA 小鼠治疗效应的机制之一。

关键词: 黄芪杂多糖; 佐剂性关节炎; 红细胞 CR1; 免疫复合物

中图分类号: R965

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 12-1364-07

Effects of Astragalus heteropolysaccharides on erythrocyte immune adherence function of mice with adjuvant-induced arthritis

YANG Li-hua^{1**}, QIU Jian-dong^{1,2}, LI Hong-quan^{1*}

(1. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Agricultural University of Shanxi, Taigu 030801, China;

2. Animal Sanitary Supervision Station of Taiyuan city of Shanxi Province, Taiyuan 030027, China)

Abstract: Astragalus heteropolysaccharides (AHPS) is obtained from the dried roots of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge var. *mongholious* (Bunge) Hsiao. In the present study, we observed its effects on erythrocyte immune adherence function in mice with adjuvant-induced arthritis (AA). The mice were treated intragastrically with AHPS of 1 000, 500, and 250 mg·kg⁻¹·d⁻¹ separately and treated with tripterygium glycosides (TG) of 60 mg·kg⁻¹·d⁻¹ as positive control. The number of complement receptor type 1 (CR1) on erythrocyte, the concentration of circulating immune complex (CIC) in serum and the amount of immune complex (IC) deposition in synovium of knee joint were determined by flow cytometry, polyethylene glycol (PEG-6000) precipitation and ponceau S (P-S) staining and fluorescent immunohistochemistry respectively. The pathological change of knee joint was evaluated by histological section. The results showed that both AHPS and TG improved significantly the primary and secondary local or systemic symptoms of the mice with AA and reduced the synovium hyperplasia, inflammatory cell infiltrate, pannus and cartilage demolish of knee joint, and AHPS of 1 000, 500, and 250 mg·kg⁻¹·d⁻¹ could significantly increase the number of CR1 on erythrocyte, improve the elimination of CIC in the peripheral blood and reduce the deposition of IC in joint synovium in a dose-dependent manner ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). The results indicate that one of the therapeutic effective mechanisms of AHPS on mice with AA could be to increase gene expression of CR1 of mice with AA.

收稿日期: 2009-06-29.

基金项目: 山西省科技攻关项目 (033021); 山西省自然科学基金资助项目 (20041093).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-354-6289568, E-mail: hongquanlijoe@yahoo.com.cn

**山西农业大学临床兽医学 2008 届硕士研究生

Key words: Astragalus heteropolysaccharide; adjuvant arthritis; E-CR1; immune complex

类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 的免疫发病机制已被普遍认同, 血液中的自身免疫复合物激活补体系统并沉积于关节滑膜是主要的致病机制^[1]。红细胞膜上 I 型免疫黏附受体 (erythrocyte complement receptor type 1, E-CR1) 的主要作用是免疫黏附血液中的循环免疫复合物 (circulating immune complex, CIC) 并迅速运送至肝脾中的吞噬细胞而将其加以清除, E-CR1 的活性和数量直接影响机体内 CIC 被清除的程度^[2]。有研究表明 RA 等自身免疫疾病的发生与红细胞免疫黏附功能的下降有关^[3, 4], 因而提高红细胞清除 CIC 的能力有可能成为治疗 RA 的一条新途径。近年来, 中药有效提取成分如雷公藤多苷 (tripterygium glycosides, TG) 等在 RA 及其实验动物模型的治疗中显示了良好的抗炎作用^[5, 6], 而黄芪多糖 (Astragalus polysaccharide, APS) 对人和动物机体的特异性和非特异性免疫功能有广泛的影响^[7, 8], 特别是能够增强红细胞免疫黏附功能、促进体内免疫复合物的清除^[9], 有可能对 RA 具有一定的治疗作用, 但目前尚未见相关研究报道。本课题从中药蒙古黄芪中获得一种黄芪杂多糖 (Astragalus heteropolysaccharide, AHPS)^[10, 11], 并建立佐剂性关节炎 (adjuvant arthritis, AA) 大鼠疾病模型, 证实 AHPS 能显著改善 AA 大鼠原发性和继发性临床症状及关节滑膜炎的炎性变化, 并能下调 Bcl-2 和上调 Bax 蛋白表达、抑制促炎因子分泌^[12]。因此, 本实验建立 AA 小鼠疾病模型, 对 AHPS 调节 AA 小鼠红细胞的免疫黏附功能进行研究。

材料与方法

实验动物 雄性昆明系小鼠 (Kunming mouse) 48 只, 清洁 II 级, 体重 (20 ± 2) g, 购自山西医科大学实验动物中心 (动物合格证号: SCXK (晋) 2003-0001)。小鼠饲养在 (22 ± 2) °C 环境里, 自由采食和饮水, 自然光照, 饲喂 1 周后开始试验。

主要试剂 TG 片 (10 mg/片, 上海复旦复华药业有限公司, 批号 070302); 皮内注射用卡介苗 (BCG, 80 mg/支, 成都生物制品研究所, 批号 200601a05-2); 弗氏不完全佐剂 (IFA, 10 mL/支, 美国 Sigma 公司, 批号 016k8900); 藻红蛋白 (PE) anti-mouse CD21/CD35 (美国圣地亚哥 eBioscience 公司, 批号 E025245); FITC 标记的山羊抗小鼠 IgG 抗体 (北京中杉金桥生

物技术有限公司, 批号 76616)。

主要仪器设备 荧光显微镜 (BX51, 日本 Olympus); 流式细胞仪 (FACScalibur, 美国 Becton Dickinson); 血液细胞分析仪 (BC-2000, 深圳迈瑞公司); 酶标仪 (ZS-2, 中国科学院生物物理研究所和航天二院二八三厂联合制造)。

AHPS 的制备 按照本课题组报道方法^[10, 11]制备: 蒙古黄芪粉碎后过 100 目筛, 按液料比 8 : 1 浸泡过夜后调至 pH 10, 在微波加热时间 20 min、加热温度 120 °C、乙醇沉淀浓度 70% 的工艺条件下制得 AHPS 粗提物; 经蛋白酶法脱除蛋白质、DEAE-cellulose52 和 Sephadex G-100 柱层析脱色及纯化后, 高效凝胶过滤色谱法 (HPGPC) 测定其分子质量为 1.1×10^4 D、纯度 97.16%; 柱前衍生化高效液相色谱法 (HPLC) 测定其单糖组成及分子摩尔比为 Rha : Glc : Gal : Ara = 1.19 : 72.01 : 5.85 : 20.95, 红外光谱和 ¹H NMR 显示主要构型为 α -吡喃构型, 主链部分由 Glu 1→6 糖苷键构成, 饱和溶液 pH 6.2。

小鼠 AA 疾病模型的建立 按照文献^[13]方法制备完全弗氏佐剂; 实验组 40 只小鼠分别用乙醚麻醉, 75%乙醇消毒右后足跖部, 皮内注射完全弗氏佐剂 (FA) 0.05 mL (10 mg BCG/mL); 空白组 8 只小鼠用等剂量生理盐水做同样处理。

实验设计 按照单因素完全随机设计, 未注射 FA 的 8 只健康小鼠为正常对照组; 40 只注射 FA 后达到实验要求的小鼠在致炎后的第 20 天随机分成 5 组, 每组 8 只, 分别为模型组、阳性对照组和 AHPS 高、中、低剂量组。正常对照组和模型组每日用生理盐水 (1 mL) 分两次灌胃, 阳性对照组每日用 TG (60 mg·kg⁻¹) 分两次灌胃, AHPS 高、中、低剂量组每日分别按 1 000、500 和 250 mg·kg⁻¹ 分两次灌胃, 试验期为 14 d。

样品采集及处理 末次用药 24 h 后, 经小鼠眼眶采集肝素抗凝血用于测定 E-CR1 数量, E-CR1 数量的测定在 48 h 内完成, 同时采集非抗凝血分离血清, -20 °C 保存, 用于检测 CIC; 处死采血后的小鼠, 采集膝关节滑膜层组织, 4 °C 条件下 4% 多聚甲醛固定 24 h, 用于病理组织学检查。

足爪肿胀度测定 按照刘健等^[14]报道的操作方法: 用配制好的苦味酸溶液, 在大鼠踝关节处作一标记。测量时将大鼠后肢浸入容积杯中使踝关节标记

与液面重叠,抽吸上升液体至原液面水平,读出所吸液体量,此即实测足爪容积,与造模前之差值即为足爪肿胀度。

关节炎评分 按照 Omoto 等^[15]报道的方法,全身病变程度按 5 级评分法评价:0 分为无红肿,1 分为小趾关节稍肿,2 分为趾关节和足跖肿胀,3 分为踝关节以下的足爪肿胀,4 分为包括踝关节在内全部足爪肿胀。根据未注射 FA 的其余 3 只肢体的病变程度累计积分,计算出关节炎指数 (arthritis index, AI)。

血常规检查 应用全自动血细胞分析仪对红细胞、白细胞和血小板计数及血红蛋白浓度等进行常规检查。

小鼠膝关节滑膜常规病理组织学检查 4%多聚甲醛液固定的组织块经 10% EDTA- Na_2 脱钙后,常规病理组织切片,HE 染色,光镜下观察,彩色显微摄影。

AA 小鼠红细胞 CR1 数量的测定 按照郭峰等^[16]报道的方法,采用流式细胞仪测定小鼠 E-CR1 的数量,获取 20 000 个红细胞进行分析,CellQuest Software 分析处理,以直方图统计结果,荧光强度代表小鼠 E-CR1 的相对数量。

小鼠血液循环免疫复合物的测定 采用唐先平等^[17]报道的聚乙二醇 (PEG-6000) 沉淀、丽春红 S (ponceau-S, P-S) 染色法测定。

荧光免疫组织化学染色 参照吕世静等^[18]报道的方法,对膝关节组织切片进行直接荧光免疫组织化学染色。采用 DP70-IPT 5.0 图像采集分析系统对各组的组织切片荧光表达水平进行定量分析,以荧光密度作为判断其表达量的指标。

统计学分析 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 SPSS 10.0 统计软件包,运用单因素方差分析对所有实验数据进行统计分析,组间两两比较采用 *t* 检验,组间多重复合比较采用新复极差法 (SSR)。

结果

1 AA 小鼠的临床表现

在建立模型的过程中,接种 FA 的小鼠在注射佐剂后第 2 天,小鼠右后足跖部即出现红肿的炎症变化,持续 5 d 后逐渐减轻;于第 13 天开始出现肢体关节部位的变化,表现为足趾小关节部位皮肤发红,局部皮温升高,之后出现关节红肿,伴软组织肿胀;于第 20 天左右反应更加明显,关节表面皮肤发亮充血,并因迟发型超敏反应而出现全身症状:对侧后肢、前肢明显肿胀,表现在踝关节,也累及整个脚趾,并于足跖关节间及前足跖出现关节肿大,严重影响四肢活动,耳部、头面部伴有红斑和炎性小结,提示 AA 小鼠模型复制成功。试验期间,接种 FA 小鼠的表现与 Chillingworth 等^[19]的报道相一致,表明小鼠 AA 疾病模型复制成功。本试验共给 51 只小鼠注射 FA,达到试验要求的 46 只,造模成功率 90.2%。试验中各组检测样本数 $n = 8$ 。

2 AHPS 对 AA 小鼠足爪肿胀度的影响

模型组小鼠实验期间二次反应明显,足爪肿胀度增加,在处死前高于正常对照组 ($P < 0.01$);阳性对照组 (TG, $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和 AHPS ($1\ 000$ 、 500 和 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组的小鼠用药期间足爪肿胀度均减小 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),且 AHPS (500 和 $1\ 000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组与阳性对照组的差异不显著 ($P > 0.05$),AHPS 的作用呈浓度依赖性 (表 1)。

3 AHPS 对 AA 小鼠关节炎评分的影响

模型组小鼠足爪 AI 持续升高,与足爪肿胀的发展一致;阳性对照组 (TG, $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和 AHPS ($1\ 000$ 、 500 和 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组 AI 呈明显下降趋势,在处死前均显著低于模型组 ($P < 0.05$),AHPS 降低 AI 的作用呈浓度依赖性 (表 2)。

Table 1 Effect of AHPS on the degree of claw swelling of AA mice

Group	Dose/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Days after the injection with FA				
		19 d	22 d	26 d	30 d	34 d
Normal		0.011 ± 0.002	0.013 ± 0.002	0.013 ± 0.003	0.012 ± 0.001	0.013 ± 0.003^a
Model		0.131 ± 0.011	0.138 ± 0.024	0.135 ± 0.019	0.140 ± 0.023	$0.141 \pm 0.020^{**b}$
TG	60	0.145 ± 0.012	0.073 ± 0.016	$0.056 \pm 0.025^{\#}$	$0.043 \pm 0.015^{\#}$	$0.042 \pm 0.021^{* \# c}$
AHPS	1 000	0.132 ± 0.020	0.080 ± 0.023	$0.057 \pm 0.019^{\#}$	$0.056 \pm 0.021^{\#}$	$0.049 \pm 0.019^{* \# c}$
	500	0.136 ± 0.025	0.085 ± 0.017	0.083 ± 0.016	$0.073 \pm 0.027^{\#}$	$0.063 \pm 0.011^{* \# cd}$
	250	0.130 ± 0.022	0.113 ± 0.030	0.103 ± 0.017	0.081 ± 0.014	$0.093 \pm 0.024^{* \# bd}$

$n = 8$, $\bar{x} \pm s$. In the same row, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$ vs normal group; $^{\#}P < 0.05$ vs model group; a, b, c, d for comparison among groups (the difference between averages with a same letter was not significant and the difference between average with a different letter was significant)

Table 2 Effect of AHPS on the arthritis index (AI) of AA mice

Group	Dose/mg·kg ⁻¹	Days after the injection with FA				
		19 d	23 d	27 d	31 d	34 d
Model		4.7 ± 0.7	5.6 ± 0.4	6.1 ± 1.1	6.8 ± 0.6	7.7 ± 1.0 ^b
TG	60	5.9 ± 0.6	5.5 ± 1.1	4.7 ± 1.1 [#]	4.2 ± 0.9 [#]	3.5 ± 0.6 ^{#a}
AHPS	1 000	5.7 ± 1.1	5.4 ± 0.8	4.9 ± 0.9 [#]	4.1 ± 0.6 [#]	3.7 ± 0.9 ^{#a}
	500	5.5 ± 1.0	5.4 ± 1.0	5.2 ± 0.6	5.0 ± 1.1	4.7 ± 0.7 ^{ab}
	250	5.5 ± 1.1	5.3 ± 1.1	5.2 ± 1.3	5.2 ± 0.7	5.1 ± 0.6 ^b

$n = 8$, $\bar{x} \pm s$. In the same row, [#] $P < 0.05$ vs model group; a, b for comparison among groups (the difference between averages with a same letter was not significant and the difference between average with a different letter was significant)

4 AHPS 对 AA 小鼠红细胞 CR1 数量及循环免疫复合物的影响

所有 AA 小鼠的 E-CR1 数量均低于正常对照组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 以模型组测定值最低; AHPS (1 000、500 和 250 mg·kg⁻¹) 组的 E-CR1 数量随剂量增加而升高, 阳性对照组 (TG, 60 mg·kg⁻¹) 和 AHPS (1 000 和 500 mg·kg⁻¹) 组的小鼠 E-CR1 数量组间差异不显著并高于模型组 ($P < 0.01$), AHPS 的作用呈浓度依赖性 (表 3)。

AA 可导致小鼠血清 CIC 显著升高 ($P < 0.01$), 而 AHPS 可降低 AA 小鼠 CIC ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 其作用呈浓度依赖性 (表 3)。

5 AHPS 对 AA 小鼠关节滑膜组织中免疫复合物的影响

模型组 AA 小鼠关节滑膜组织中 IC 的免疫荧光密度值高于其他各组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 阳性对

照组 (TG, 60 mg·kg⁻¹) 和 AHPS (1 000 和 500 mg·kg⁻¹) 组的组间差异不显著 ($P > 0.05$), 关节滑膜组织中 IC 的沉积量随 AHPS 剂量的增加而减少 (表 3 和图 1)。

6 AHPS 对 AA 小鼠膝关节组织病理变化的影响

小鼠膝关节病理组织切片可见: 正常对照组膝关节滑膜组织内膜由单层体积较大、核深染的扁平型或低立方型滑膜细胞组成, 滑膜及关节软骨表面光滑 (图 2A)。AA 小鼠膝关节滑膜增生, 充血、水肿, 细胞排列疏松、不规则, 可见大量炎性细胞浸润、血管翳形成、软骨表层组织破坏等慢性炎症改变 (图 2B)。AHPS 组滑膜增生减少, 炎性细胞浸润减少, 血管翳减轻, 无软骨破坏现象, 其中 AHPS 1 000 mg·kg⁻¹ 组比 500 和 250 mg·kg⁻¹ 剂量组的作用明显 (图 2C)。

7 AHPS 对 AA 小鼠血常规的影响

血常规各项测定值的显著变化主要发生在模型组和 AHPS 250 mg·kg⁻¹ 组, 模型组的 WBC 总数升高,

Table 3 Effect of AHPS on the number of E-CR1, the A value of CIC in serum and fluorescence intensity of IC in synovial tissue of AA mice

Group	Dose/mg·kg ⁻¹	Number of E-CR1	A value of CIC in serum	Fluorescence intensity of IC in synovial tissue
Normal		252.24 ± 15.15 ^a	0.032 ± 3.60E-03 ^a	0.303 7 ± 0.012 9 ^a
Model		150.53 ± 29.88 ^b	0.056 ± 6.25E-03 ^b	0.603 7 ± 0.073 3 ^b
TG	60	222.61 ± 12.87 ^c	0.040 ± 1.52E-03 ^{ac}	0.330 8 ± 0.009 9 ^{ac}
AHPS	1 000	219.15 ± 14.36 ^c	0.038 ± 5.77E-04 ^{ac}	0.365 4 ± 0.016 6 ^{ac}
	500	192.94 ± 10.66 ^{cd}	0.041 ± 1.15E-03 ^{ac}	0.407 1 ± 0.011 3 ^c
	250	168.02 ± 27.03 ^{bd}	0.046 ± 1.53E-03 ^c	0.443 1 ± 0.011 7 ^c

$n = 8$, $\bar{x} \pm s$. In the same row, a, b, c, d for comparison among groups (the difference between averages with a same letter was not significant and the difference between average with a different letter was significant)



Figure 1 Effect of AHPS on IC deposited on the surface of synovium of joint of AA mice. A: Normal group; B: Model (TG, 60 mg·kg⁻¹) group; C: AHPS 1 000 mg·kg⁻¹ group; ► indicates deposited IC

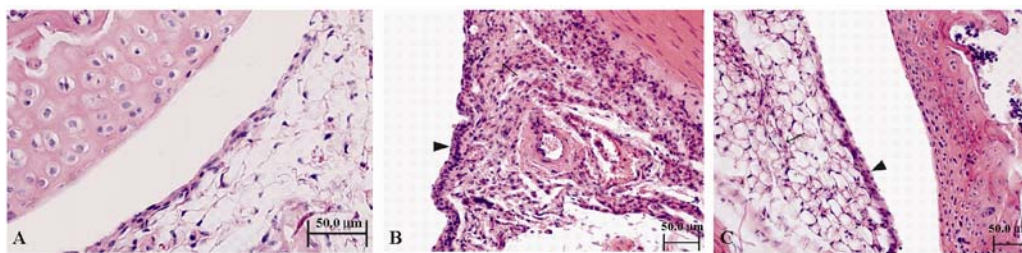


Figure 2 Effect of AHPS on histological section of synovium of joint of AA mice (HE). A: Normal group; B: Model (TG, 60 mg·kg⁻¹) group; C: AHPS 1 000 mg·kg⁻¹ group

Table 4 Effect of AHPS on hematology index of AA mice

Group	Dose/mg·kg ⁻¹	WBC/L (×10 ⁻⁹)	RBC/L (×10 ⁻¹²)	HGB/g·L ⁻¹	PLT/L (×10 ⁻⁹)	ESR/mm·h ⁻¹
Normal		3.6 ± 0.4 ^a	8.80 ± 0.38 ^a	144 ± 10 ^a	1 043 ± 79 ^a	24.32 ± 6.73 ^a
Model		8.7 ± 0.5 ^b	6.43 ± 0.29 ^b	104 ± 9 ^a	437 ± 50 ^b	45.58 ± 5.16 ^b
TG	60	4.2 ± 0.3 ^a	8.19 ± 0.54 ^a	135 ± 11 ^a	1 116 ± 73 ^a	29.40 ± 7.05 ^a
AHPS	1 000	4.7 ± 0.4 ^{ac}	8.20 ± 0.47 ^a	131 ± 10 ^a	1 296 ± 86 ^a	30.77 ± 5.82 ^a
	500	4.8 ± 0.3 ^{ac}	7.81 ± 0.31 ^a	129 ± 15 ^a	1 203 ± 101 ^a	32.63 ± 9.57 ^a
	250	5.2 ± 0.5 ^c	7.50 ± 0.53 ^a	126 ± 9 ^a	597 ± 68 ^b	42.51 ± 6.37 ^b

$n = 8$, $\bar{x} \pm s$. In the same row, a, b, c for comparison among groups (the difference between averages with a same letter was not significant and the difference between average with a different letter was significant). WBC: White blood cell count; RBC: Red blood cell count; HGB: Hemoglobin; PLT: Platelet count; ESR: Erythrocyte sedimentation rate

RBC 总数、HGB、PLT 下降, 血沉加快, 而 AHPS 250 mg·kg⁻¹ 组表现与之基本一致的变化 (表 4)。

讨论

本实验观察到 AA 小鼠 E-CR1 的数量显著减少, 表明 AA 小鼠红细胞的免疫黏附功能低下。虽然血常规检查显示 AA 小鼠红细胞总数下降, 但本实验采用流式细胞仪检测 AA 小鼠 E-CR1 的数量, 表明 AA 小鼠 E-CR1 数量的减少并不是由于血液中红细胞总数的减少造成的, 而是 AA 引起的获得性 (继发性) 减少。Reinagel 等^[20]认为在红细胞将黏附的 CIC 转移给吞噬细胞时, 可能存在一种与吞噬细胞相关的蛋白水解酶水解 CR1, E-CR1 与 CIC 同时被解离并被吞噬, 而红细胞免遭清除; Miot 等^[21]应用 RIA、ELISA 等技术没有在细胞外检测到 CR1 片段, 因而确证从 E-CR1-CIC 解离 CIC 的过程中, CR1 同时被吞噬细胞所吞噬并酶解。因此, 本实验 AA 小鼠 E-CR1 数量的减少是由于 CR1 与 CIC 从红细胞上同时被解离的结果。在给 AA 小鼠连续灌胃 AHPS 14 d 后, 可使其 E-CR1 的数量显著增加, AHPS 的作用效应呈浓度依赖性。AHPS 增加 E-CR1 数量的效应机制可能是促进了 AA 小鼠 CR1 基因的表达。

人类血液循环中 95% 以上的 CR1 存在于红细胞上, 红细胞清除血液循环中抗原-抗体-补体复合物的几率比白细胞大 500~1 000 倍, 几乎所有的 C3b-IC

都是由红细胞结合的^[22]。因此, 本实验 AA 小鼠血液循环和膝关节滑膜组织中 IC 含量的升高是由于红细胞上 CR1 的数量减少、不能及时黏附和清除 AA 发病过程中产生的 IC 所致。AA 小鼠经灌胃 AHPS 进行治疗后, 血液循环和关节滑膜组织中 IC 的含量显著减少, AA 的继发性临床症状也显著减轻, 表明 AHPS 能够促进红细胞对 IC 的免疫黏附, 加速 AA 疾病过程中所产生的 IC 的清除, 其效应机制可能是促进了 CR1 基因的表达, 从而增加了红细胞上 CR1 的数量。由于关节滑膜组织中 IC 沉积的减少, 减轻了关节局部的炎症反应, 缓解了 AA 小鼠的临床症状。

本实验期间, AHPS 组小鼠足爪肿胀度和关节炎评分均显著降低, 血液中白细胞总数显著降低, 膝关节滑膜组织病理切片观察到关节滑膜中炎性细胞浸润减少, 组织破坏减轻; 试验期间模型组和 AHPS 低剂量组各死亡 3 只小鼠, 而其他组没有任何伤亡。结果表明 AHPS 能够有效对抗 AA 小鼠各种原发性和继发性病变, 具有显著的抗炎症作用, 本课题组在 AA 大鼠的试验模型上也观察到了相同的结果, AHPS 可显著抑制促炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 的分泌^[12]。但是, AHPS 的抗炎症效应还可能与其促进红细胞的免疫黏附功能有关。E-CR1 是补体激活过程中补体转化酶的抑制因子, 它与配体的结合可加速 C3 和 C5 转化酶衰减而调节补体。在红细胞的免疫黏附过程中,

E-CR1 与 C4b 结合后, 通过取代 C2a 而加速经典途径 C3 转化酶 (C4b2a) 的衰减; E-CR1 与 C3b 结合后, 通过取代 Bb 而加速旁路途径 C3 转化酶 (C3bBb) 的衰减^[23], 从而减轻了机体的炎症反应。E-CR1 还是因子 I 在生理条件下将有致炎作用的 CIC 中的 C3b 连续降解为 iC3b、C3d、C3dg 或将 C4b 裂解为 C4c 和 C4d 的唯一辅助因子, 从而使 CIC 失去致炎性, 避免机体细胞、组织被炎症反应破坏而成疾患^[24]。研究证实, IC 经 CR1 结合到红细胞抑制了 IC 介导的嗜中性粒细胞的激活, 这种抑制作用可能是由于红细胞结合 IC 的物理缓冲作用和结合后 IC 中的 C3b 转变为 C3dg^[25], 从而阻断补体的激活反应, 阻止了炎症的发展。同时, C3b 水解为 iC3b 导致 IC 与 CR1 亲和力降低, 而肝脾吞噬细胞上有对 iC3b、C3dg 高亲和力的受体, 通过与解离 IC 中 C3b 降解物的连接, 达到 IC 的清除。

目前, 尚未见有关 AHPS 在体内发挥作用的药物形式的相关研究报告, AHPS 在体内是其原形还是其代谢物发挥作用值得进一步研究。

References

- [1] Cassidy JT, Petty RE. Immunogenetics and Rheumatic Disease [M]. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1995: 466-487.
- [2] Pilszczek FH, Nicholson-Weller A, Ghiran I. Phagocytosis of salmonella montevideo by human neutrophils: immune adherence increases phagocytosis, whereas the bacterial surface determines the route of intracellular processing [J]. J Infect Dis, 2005, 192: 200-209.
- [3] Ye L, Gong JW. The influence of the means of tempering the liver and the spleen on AA rats red blood cell immunity function [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2007, 18: 869-870.
- [4] Liu J, Guo W, Zhai ZM. Influence of Xinfeng capsule on complement regulator protein erythrocyte CR1 and CD59 in patients with rheumatoid arthritis [J]. Chin J Integr Tradit West Med Intensive Crit Care (中国中西医结合急救杂志), 2006, 13: 240-243.
- [5] Yang ZX, Li ZB, Song ZC, et al. Effects of TWP on the contents of MIF, IL-1 β and TNF- α in serum of CIA rats [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med (中药药理与临床), 2008, 24: 59-61.
- [6] Li NN. Effects of TWP on the contents of TNF- α and IL-6 in plasma of RA patients [J]. Acta Guangxi Med Univ (广西医科大学学报), 2005, 22: 681-683.
- [7] Shao BM, Xu W, Dai H. A study on the immune receptors for polysaccharides from the roots of *Astragalus membranaceus*, a Chinese medicinal herb [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 20: 1103-1111.
- [8] Li HQ, Wu CH, Gao H, et al. Effect of Astragalus polysaccharides on immune function of erythrocytes of chickens infected with IBVD [J]. Vet Sci China (中国兽医科学), 2006, 36: 74-79.
- [9] Li HQ, Reeve-Johnson L, Wang JD. Effect of Astragalus polysaccharides on erythrocyte immune adherence of chickens inoculated with infectious bursal disease virus [J]. Agric Sci China (中国农业科学), 2007, 6: 1402-1408.
- [10] Li HQ, Zhao MC. Optimizing microwave-assisted extraction technology of Astragalus polysaccharides with response surface methodology [J]. J Tradit Chin Vet Med (中兽医医药杂志), 2007, 26: 10-14.
- [11] Li HQ, Zhao WG, Lü XH. Analysis of chemical components and structure and bioactivity on immunopotentiator Astragalus polysaccharides [J]. J Tradit Chin Vet Med (中兽医医药杂志), 2008, 27: 5-8.
- [12] Li HQ, Qiu JD, Yang LH. Regulation of Astragalus heteropolysaccharides on synoviocytes apoptosis and proinflammatory cytokine secretion of rats with adjuvant arthritis [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2009, 44: 731-736.
- [13] Xü SY, Bian RL, Chen X. Pharmacology Experimental Methodology (药理学实验方法) [M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002: 890.
- [14] Lu J, Han MX, Zhang WD, et al. Influence of XINFENG capsule on serum level of IL-1, TNF- α , IL-4 and IL-10 in adjuvant arthritis rats [J]. J Anhui Tradit Chin Med Coll (安徽中医学院学报), 2002, 21: 44-46.
- [15] Omoto A, Kawahito Y, Prudovsky I, et al. Copper chelation with tetrathiomolybdate suppresses adjuvant-induced arthritis and inflammation-associated cachexia in rats [J]. Arthritis Res Ther, 2005, 7: R1174-1182.
- [16] Guo F, Qian BH, Zhang LZ. Modern Red Blood Cell Immunology (现代红细胞免疫学) [M]. Shanghai: The Second Military Medicine University Press, 2002: 56.
- [17] Tang XP, Meng JH, Sun GL, et al. Experimental study on new method determining immune complex assay [J]. Shaanxi J Med Lab Sci (陕西医学检验), 1995, 10: 19-20.
- [18] Lü SJ. Laboratory Procedure of Clinical Immunological Analysis (临床免疫分析实验手册) [M]. Beijing: Chinese Medicine Technology Press, 2004: 46.
- [19] Chillingworth NL, Donaldson LF. Characterization of a Freund's complete adjuvant-induced model of chronic arthritis

- in mice [J]. *J Neurosci Methods*, 2003, 128: 45-52.
- [20] Reinagel ML, Taylor RP. Transfer of immune complexes from erythrocyte CR1 to mouse macrophages [J]. *J Immunol*, 2000, 164: 1977-1985.
- [21] Miot S, Marfurt J, Lach-Trifilieff E, et al. The mechanism of loss of CR1 during maturation of erythrocytes is different between factor I deficient patients and healthy donors [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2002, 29: 200-212.
- [22] Siegel I, Liu TL, Gleicher N. The red-cell immune system [J]. *Lancet*, 1981, 2: 556-559.
- [23] Krych-Goldberg M, Hauhart RE, Subramanian VB, et al. Decay accelerating activity of complement receptor type 1 (CD35). Two active sites are required for dissociating C5 convertases [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274: 31160-31168.
- [24] Hess C, Schifferli JA. Immune adherence revisited: novel players in an old game [J]. *News Physiol Sci*, 2003, 18: 104-108.
- [25] Nielsen CH, Matthiesen SH, Lyng I, et al. The role of complement receptor type 1 (CR1, CD35) in determining the cellular distribution of opsonized immune complexes between whole blood cells: kinetic analysis of the buffering capacity of erythrocytes [J]. *Immunology*, 1997, 90: 129-137.

欢迎订阅 2010 年《药学报》

《药学报》(CN: 11-2163/R, ISSN: 0513-4870)是由中国药学会主办、中国医学科学院药物研究所承办、国内外公开发行的药学综合性学术期刊。辟有栏目: 述评和综述、研究论文、研究简报、学术动态。本刊自 1953 年创刊以来, 一直报道药学领域原始性、创新性科研成果, 旨在促进国内外学术交流。刊登论文内容包括药理学、合成药物化学、天然药物化学、药物分析学、药剂学、生药学等。

《药学报》为我国自然科学核心期刊, 据中国科学引文数据库的数据库的统计数据, 在中国科技核心期刊排行榜中, 《药学报》名列前茅, 在药学类期刊中居首位; 本刊已被世界主要检索系统收录, 为我国药学界高水平的学术刊物, 在国际上享有一定知名度。本刊 1999 年荣获首届“国家期刊奖”, 2001 年入选中国期刊方阵“双高”(高知名度、高学术水平)期刊; 2002 年被评为第二届“国家期刊奖百种重点科技期刊”, 并荣获第三届“中国科技优秀期刊奖”二等奖; 2002~2008 年连续 7 届荣获“百种中国杰出学术期刊”称号; 2008, 2009 年获得中国科协精品科技期刊工程项目资助(B类)。

本刊为 112 页, 月刊, 大 16 开本。每期定价 30 元, 全年定价 360 元。国内邮发代码: 2-233, 国外代码: M105。欢迎广大作者踊跃投稿, 欢迎广大读者订阅。可采用的订阅方式如下:

- 通过当地邮局;
- 通过 E-mail (yxxb@imm.ac.cn) 或从网上 (www.yxxb.com.cn) 下载订阅单, 填好后寄至编辑部;
- 通过本刊编辑部, 联系人: 李淑芬、张晓晔

电话: 86-10-63165208, 传真: 86-10-63026192

编辑部地址: 北京市先农坛街 1 号《药学报》编辑部

邮编: 100050