15 Andersson R, Deng XM, Wang XD. The role of macrophage overactivation in the development of acute pancreatic injury in rats. *Br J Surg*, 1997, 84(6):775-780

16 O'Brien PJ. Peroxidases. *Chem Biol Interact*, 2000, 129(1):113-139

17 Podrez EA, Poliakov E, Shen Z, *et al.* A novel family of atherogenic oxidized phospholipids promotes macrophage foam cell formation via the scavenger receptor CD36 and is enriched in atherosclerotic lesions. *J Biol Chem*, 2002, 277(41):38517-38523

18 李惠. 髓过氧化物酶及其多态性与冠状动脉疾病的研究进展. *中国心血管病研究杂志*, 2007, 5(1):70-72

19 Trush MA, Kensler TW. An overview of the relationship between oxidative stress and chemical carcinogenesis. *Free Radic Biol Med*, 1991, 10(3):201-209

20 Yu K, Masahiko H, Akihiro O, *et al.* Dynamic aspects of granulocyte activation in rat severe acute pancreatitis. *Pancreas*, 2003, 27(2):127-132

21 Bhatia M, Brady M, Zagorski J, *et al.* Treatment with neutralising anti-body against cytokine induced neutrophil chemoattractant (CINC) protects rats against acute pancreatitis associated lung injury. *Gut*, 2000, 47(6):838-844

22 Werner H, Edward AC, Ramon EJ, *et al.* Neutrophil metabolic activity but not neutrophil sequestration reflects the development of pancreatitis associated lung injury. *Crit Care Med*, 2002, 30(9):2075-2082
(收稿:2010-01-07)
(修回:2010-03-12)

雷公藤甲素对大鼠垂体促肾上腺皮质激素含量的影响

张 武 朱建华 关 伟

摘要 目的 了解较长期使用雷公藤甲素对正常大鼠血浆促肾上腺皮质激素(ACTH)含量的影响。方法 雄性SD大鼠20只随机分为2组,连续灌胃7周,其中空白对照组10只;2%丙二醇2ml/kg,bid;雷公藤甲素组10只;2%丙二醇雷公藤甲素混悬液20μg/kg,bid。用放射免疫分析法检测两组大鼠血浆促肾上腺皮质激素(ACTH)含量,用免疫细胞化学染色法观察ACTH在两组大鼠垂体中的表达。结果 雷公藤甲素组血浆ACTH含量与空白对照组有显著差异;ACTH在雷公藤甲素组大鼠垂体中的表达高于空白对照组。结论 雷公藤甲素对下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPAA)可能作用机制之一是兴奋垂体ACTH神经细胞,使垂体分泌、释放ACTH增加。

关键词 雷公藤甲素 大鼠 血浆促肾上腺皮质激素

Effect of Triptolide on Content of Adreno-Corticotrophic Hormone in Pituitary of Rats. Zhang Wu, Zhu Jianhua, Guan Wei. *Department of Forensic, Wannan Medical College, Anhui 241002, China*

Abstract Objective To Study the effect of long-term triptolide use on the content of the normal rat plasma ACTH. **Methods** 20 male SD rats were divided into 2 groups randomly, and gavaged for 7 weeks. The control group was 10 with 2% propylene glycol 2ml/kg, bid; the group of Triptolide was 10 with 2% the mixture of propylene glycol and Triptolide 20μg/kg, bid. We used radioimmunoassay to detect the content of ACTH in rat's plasma and immunocytochemistry to detect the expression of ACTH in pituitary. **Results** The content of ACTH in the group of the Triptolide had significant difference as compared with control group. The expression of ACTH in the group of the Triptolide was higher than that of control group. **Conclusion** These results suggested that one of the possible mechanism of the Triptolide in the HPAA might be exciting pituitary ACTH neurons, thus causing the content of ACTH increasing.

Key words Triptolide; Rat; ACTH

为进一步从单体水平了解雷公藤对下丘脑-垂体-肾上腺轴的影响,本研究采用放射免疫分析法和免疫细胞化学染色法检测较长期使用雷公藤甲素后正常大鼠血浆促肾上腺皮质激素(ACTH)含量,从形

态和功能两方面观察雷公藤甲素对正常大鼠垂体的影响,现报告如下。

材料与方法

1. 实验材料:(1)实验动物:清洁级雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 20 只,体重 160~180g,由浙江省实验动物中心提供,许可证号:SCXK(浙)2003-0001。(2)主要试剂及其来源:雷公藤甲素(雷公藤内酯醇, Triptolide, 纯度 99.3%);购自北京美迪克斯生物技术有限公司;促肾上腺皮质激素(ACTH)放射免疫检测试剂盒:购自北京北方生物技术研究所;兔抗人

基金项目:安徽省教育厅自然科学研究项目(2006KJ413B)

作者单位:241002 芜湖,皖南医学院法医学专业

通讯作者:张惠云,电子邮箱:zhhuiyun@163.com

ACTH 抗体,即用型 SABC 免疫组化染色试剂盒;购自武汉博士德公司;无冰醋酸的 Bouin 氏固定液;饱和苦味酸水溶液(1.2%)75ml + 甲醛(40%)25ml。(3)主要仪器及型号:EX-POSURE 全自动显微摄影系统,日本奥林巴斯(Olympus)公司;CMIAS 病理图像分析系统 4.10,北京麦克奥迪图像技术有限公司;自动 γ 免疫计数器,GC-911。

2. 实验方法:(1)实验分组:将实验 SD 大鼠随机分为两组,每组 10 只。包括:空白对照组($n=10$),雷公藤甲素组($n=10$)。(2)药物配制和给药方法:将雷公藤甲素用 2% 丙二醇混溶,4℃ 保存。大鼠适应性喂养 1 周后称体重。空白对照组:2% 丙二醇 2ml/kg, bid;雷公藤甲素组:2% 丙二醇雷公藤甲素混溶液 20 μ g/kg, bid。实验期间,动物自由饮水进食。每 3 天称体重一次,以调整用药剂量。室温 25℃,自然光线。两组用大鼠灌胃器连续灌胃 7 周后第 2 天断头处死。(3)放射免疫分析法测定两组大鼠血浆促肾上腺皮质激素(ACTH)含量:大鼠快速断头取血(1min 内完成),分别注入含肝素抗凝剂的试管和含 10% EDTA. 2Na 30 μ l 的试管中,混匀,血样尽快低温高速离心机离心(4℃, 3000r/min, 离心 10min),分离血浆,待测。其余按试剂盒说明书操作。(4)免疫细胞化学法测定两组大鼠垂体中 ACTH 表达水平:取出大鼠脑垂体,放入无冰醋酸的 Bouin 氏固定液中固定 24h。取出固定液中脑垂体标本,室温下 50% ~ 100% 乙醇梯度脱水、氯仿透明、石蜡包埋。全垂体做水平切片,每片均厚 10 μ m,依次放置于载玻片上,免疫细胞化学 SABC 法染色(操作过程按试剂盒说明书进行)。

3. 统计学分析:实验数据均采用 SPSS11.5 统计软件进行统计学处理,以上资料均为计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,全部数据经方差齐性分析后,采用单因素方差分析进行显著性检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 大鼠血浆促肾上腺皮质激素(ACTH)含量测定结果:空白对照组 ACTH 为 23.09 $\pm$ 7.07ng/L,雷公藤甲素组为 29.96 $\pm$ 4.30ng/L,雷公藤甲素组血浆促肾上腺皮质激素含量均数高于空白对照组,差异有统计学意义,与空白对照组比较, $P < 0.05$ 。

2. ACTH 在两组大鼠垂体中的表达结果:见表 1。用 CMIAS 病理图像分析系统测定各组大鼠垂体细胞中 ACTH 的含量:形态计量结果表明雷公藤甲素组大鼠 ACTH 阳性细胞平均灰度值与空白对照组相比增大,差异有统计学意义($P < 0.05$);平均光密度(OD 值)与空白对照组相比增强,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

ACTH 细胞的免疫细胞化学观察:免疫组织化学染色后,垂体 ACTH 阳性细胞胞质呈棕褐色阳性反应细胞,ACTH 细胞多为不规则形或星形,有突起,少数细胞为圆形。ACTH 细胞呈弥散分布于垂体远侧部。

表 1 两组大鼠 ACTH 在垂体中表达
平均灰度值比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	ACTH(平均灰度值)	ACTH(OD 值)
空白对照组	125.478 $\pm$ 7.073	0.195 $\pm$ 0.005
雷公藤甲素组	134.923 $\pm$ 5.276*	0.272 $\pm$ 0.012*

与空白对照组比较,* $P < 0.05$

空白对照组有少量 ACTH 细胞表达(封三彩图 6);雷公藤甲素组大鼠垂体 ACTH 细胞免疫反应较空白对照组增强(封三彩图 7)。两组大鼠垂体 HE 染色未见明显差异。

讨 论

雷公藤(tripterygium wilfordii Hook. f.)系卫矛科雷公藤属木质藤本植物,是我国拥有的一种资源较为丰富的药用植物,有清热解毒,祛风除湿,消肿止痛,通经活络、杀虫止血等功效。现代药理及临床研究证实,雷公藤具有抗炎、抗肿瘤、免疫抑制及抗生育等作用。因此,引起国内外的广泛重视^[1]。自 1936 年首次报道从雷公藤根部提取分离得萜类色素雷公藤红素以来,已从雷公藤属植物中分离得 100 多种成分^[2],属生物碱类成分 16 种、二萜类成分 14 种、三萜类成分 17 种、倍半萜类 12 种,还有有机酸、卫柔醇、卫柔碱、多糖等成分^[3,4]。雷公藤的化学组成相当复杂,其各组分在整体内可引起多种生物学效应,相互间有些协同,有些拮抗^[5]。

雷公藤醋酸乙酯提取物(TWEE)是雷公藤的有效部位,有动物实验表明其对大鼠肾上腺在形态和功能两方面均具有促进作用,可通过兴奋下丘脑-垂体-肾上腺轴发挥抗炎作用^[6]。TWEE 是一种复合物,除含雷公藤甲素外,还含有生物碱、苷类、其他萜类等成分。

雷公藤甲素为白色晶体,是一种有 3 个环氧基团以及一个 α, β -不饱和五元内酯环结构的构型独特的松香烷型二萜化合物^[7],从雷公藤甲素的分子结构与抗炎激素氢化可的松的分子结构比较中不难看出雷公藤甲素的分子结构与抗炎激素的分子结构极为相似。李波等通过对雷公藤甲素与氢化可的松等抗炎激素的结构、药效及不良反应的对比,初步可以得出雷公藤具有的抗炎、免疫作用及部分不良反应均是由于其特定的分子结构所产生的结果。雷公藤甲素在 TWEE 中虽是微量成分,但却是发挥疗效(抗炎、抗免疫作用)和产生不良反应的主要活性成分^[8,9]。因此,有必要进行雷公藤的单体成分雷公藤甲素对下丘脑-垂体-肾上腺轴影响的研究。

下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴 (HPAA) 是人体内分泌系统的重要组成部分,它的主要调节物质有肾上腺皮质分泌的 GC、垂体分泌的 ACTH、下丘脑分泌的 CRH,主要功能是调节蛋白质、糖、脂肪三大营养物质及水盐代谢,它与中枢神经系统、免疫系统一起构成复杂精细的内分泌 - 神经 - 免疫网络,共同协调机体的功能,维护内环境稳定。糖皮质激素对 CRH 和 ACTH 分泌的负反馈调节作用,是通过抑制下丘脑 CRH 及腺垂体 ACTH 的合成和降低腺垂体 ACTH 细胞对 CRH 的反应性等方式实现的。由于存在这种复杂的反馈调节,长时间应用人工合成的皮质激素制剂的最终结果是腺垂体 ACTH 分泌的抑制,以及因 ACTH 不足而致的肾上腺皮质束状带和网状带的萎缩,久之,受抑制的下丘脑 - 腺垂体 - 肾上腺轴将失去对刺激的反应性^[10]。

本实验用雷公藤甲素行正常大鼠连续灌胃 7 周后处死,用放射免疫分析法测定大鼠血浆 ACTH 含量,雷公藤甲素组大鼠血浆 ACTH 含量高于空白对照组,从机能上反映较长期使用雷公藤甲素对大鼠垂体合成、分泌 ACTH 呈促进作用;用免疫细胞化学法测定各组大鼠垂体中 ACTH 表达水平,雷公藤甲素组大鼠垂体中 ACTH 表达高于空白对照组,从形态上亦反映较长期使用雷公藤甲素对大鼠垂体合成、分泌 ACTH 具有促进作用。

综上所述,在整体实验条件下,从机能和形态两

方面观察较长期使用雷公藤甲素对大鼠垂体促肾上腺皮质激素含量的影响,发现雷公藤甲素对下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴 (HPAA) 可能作用机制之一是兴奋垂体远侧部 ACTH 细胞,使其合成、分泌 ACTH 增加。

参考文献

- 1 朱建华. 有毒植物中毒//: 黄光照. 法医毒理学. 3 版,北京:人民卫生出版社,2004:223
- 2 Zhang QW, Jian L. Advance of the Research on Tripterygium wilfordii Hook. F. to a New Height. CJM, 2005, 11(2): 87 - 88
- 3 Gu WZ, Chen R. Isolation, purification, and characterization of immunosuppressive compounds from tripterygium: triptolide and triptodioid. Int J. Immunopharmac, 1995, 17(5): 351 - 359
- 4 Duan H, Takaishi Y. Immunosuppressive Diterpenoids from Tripterygium wilfordii. J Nat Prod, 1999, 62(5): 1522 - 1525
- 5 陈龙,黄光照. 雷公藤与下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴的研究. 中国中西医结合杂志, 2001, (21) 8:633 - 635
- 6 陈龙,黄光照. 雷公藤醋酸乙酯提取物对大鼠肾上腺影响的实验研究. 中国药理学杂志, 1999, (34)9:592 - 594
- 7 张凡,李援朝. 雷公藤内酯醇的结构修饰研究进展. 药学学报, 2004, 39(10): 857 - 864
- 8 刘明星,董静,杨亚江,等. 雷公藤甲素的研究进展. 中国中药杂志, 2005, 30(30): 170 - 174
- 9 刘劝,王友群. 雷公藤甲素的药理作用研究. 药学进展, 2005, 29(4): 156 - 161
- 10 孙丽丽,王志文,赵文毅. 类风湿关节炎与下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴关系的研究概况. 研究进展, 2007, 15(4): 11 - 12

(收稿:2010 - 01 - 04)

(修回:2010 - 03 - 15)

系统性红斑狼疮中 EB 病毒感染研究

史振军 王 涛 刘跃华 曹鸿玮

摘要 目的 了解系统性红斑狼疮(SLE)的发病与 EB 病毒(epstein - barr virus, EBV)感染的相关性。**方法** 通过荧光定量 PCR 方法检测 40 名 SLE 患者和 40 名正常人 EBV - DNA 的表达。**结果** 40 名 SLE 患者中 11 例阳性;40 名正常人对照组 3 例阳性,两组对比有显著差异性($P < 0.05$)。**结论** SLE 患者 EBV 感染率高于正常人,EBV 感染可能是 SLE 发生发展因素。

关键词 系统性红斑狼疮 Epstein - Barr 病毒 PCR

Study of Epstein - Barr Virus Infection in Systemic Lupus Erythematosus. Shi Zhenjun, Wang Tao, Liu Yuehua, Cao Hongwei. Department of Nephrology, Zhengzhou Central Hospital, Henan 450007, China

Abstract Objective To investigate the relationship between systemic lupus erythematosus and Epstein - Barr virus infection. **Methods** Expression of EBV - DNA was detected by fluorescent quantitative PCR assay in SLE patients ($n = 40$) and normal control individuals ($n = 40$). **Results** EBV - DNA in 11 were positive of the 40 patients and 3 were positive of the 40 normal control individual,

基金项目:河南省 2004 科技攻关计划项目(424410164)

作者单位:450007 河南省郑州市中心医院肾内科(史振军);100730 中国医学科学院北京协和医院皮肤科(王涛、刘跃华);450052 郑州大学第五附属医院皮肤科(曹鸿玮)

通讯作者:刘跃华,电子邮箱:yuehualiu@263.net