

中藥對狼瘡性腎炎之療效

Herbal Medicine Effects on Lupus Nephritis

國防醫學院

張德明

摘要

以免疫抑制劑或大量類固醇治療狼瘡性腎炎已成為模式，但繼發而來的副作用，卻在臨牀上造成極大困擾。

目前已知狼瘡性腎炎的產生與細胞激素關係密切，本實驗採用該兩種藥物做研究主要題材，並加入白刺杏、白粗糠、水丁香、咸豐草、紅色見笑根、黑乃爾等常用治療腎臟疾患的中藥一併研究。

本實驗使用狼瘡性腎炎的老鼠模型，即 MRL/lpr 每周一、三、五以胃管灌食，同時收集其尿液，血液(眼窩後採血)，冰凍存放，以為進一步分析。

尿蛋白以全自動血液生化分析儀，血清中第一介白質濃度以免疫酵素分析法測定。同時最後再取出老鼠腎組織及脾臟，以觀察其病理組織變化，及第一介白質在腎組織上的基因表現。

結果顯示，中藥對尿蛋白及體重皆無影響，但雷公藤可有效抑制血清中第一介白質濃度，甚至抑制腎臟第一介白質基因表現，但對脾臟中第一介白質則無影響。在動物實驗中，此為極重要發現。

鑑於已有相當紅斑性狼瘡患者使用雷公藤等中藥自我醫療，這方面的研究將提供患者正確知識，並為中醫藥研究深入基礎，走入臨床奠下根基。

關鍵詞：中藥、全身性紅斑性狼瘡、細胞激素

ABSTRACT

Nephritis has long been considered one of the most ominous components of systemic lupus erythematosus. The availability of inbred mice that spontaneously develop a disease similar to systemic lupus erythematosus in humans has facilitated numerous studies of the immunopathogenesis and therapy of this clinically important entity. Some traditional Chinese herbal medicines have been reported to be effective in immunoregulation. The purpose of this study was to assess the effect of these herbal medicines on the preservation of renal function in mice with lupus glomerulonephritis. MRL-lpr/lpr mice were randomized to receive those medicines which include Pai Tzu Hsing, Pai Tsu Kang, Shui Ting Hsiang, Hsien Feng Tsao, Chien Hsiao ken (red), Hai Nai Erh, Tripterygium Wilfordii Hook f (TWHf), and Tetrandrine in serial diluted concentrations. The clinical, renal, and serologic characteristics of the mice at study entry were recorded, and be followed up every week. In addition to the routine histologic assessment of renal tissue, the cytokine (interleukin-1) gene expression also was determined based on its definite role in the pathogenesis of lupus nephritis. The results demonstrated that TWH could inhibit both serum and tissue IL-1 gene expression. However, all of the tested medicines had no effects on urine protein loss, body weight. This study is the first trial with Chinese herbal medicines to observe their effects on lupus nephritis in animal models, and will provide scientific basis for clinical usiog of herbal medicine in lupus nedhritis.

前言

全身性紅斑性狼瘡在 1800 年中葉首先被描述，其病程和自然史已有許多修正。腎炎首先被 William Osler 先生認為是全身性紅斑性狼瘡的一部份 (1)，但嚴重的腎臟侵犯卻始終不受重視直至 1940 年 (2)，繼之而來的醫學發展改變了全身性紅斑性狼瘡的預後，病人的生命因為醫療照顧，抗生素，類固醇，和抗血等藥物的發明和應用而得到著足進步，但腎炎和進行省腎衰竭卻成為狼瘡患者罹病和死亡的重要因素。令人欣喜的是在此期間，無論對腎臟病變致病機轉及臨床醫療而言卻有相當進展 (3)。然而，雖然病人的存活，較之始用類固醇之前時期已有令人印象深刻的改變，但繼發

於全身性紅斑性狼瘡的腎炎，卻仍然與罹病率和死亡率關係密切(4-5)。

在人類全身性紅斑性狼瘡的研究中，要預測治療的反應是極為困難的。原因至少部份是因為狼瘡患者背景的異質性和免疫病理機轉的分歧。因此之故，以老鼠為模式來研究全身性紅斑性狼瘡即顯得相當重要且獲益良多。

一些人類狼瘡的動物模式已被描寫，且相當程度反應了疾病本身的異質性。無論是人類的全身性紅斑性狼瘡，或相似的老鼠模式皆因遺傳的因子自發性的產生病變。紐西蘭黑/白第一子代可產生嚴重腎炎，肺浸潤及陽性抗雙鏈何核甘酸抗體，而 MRL/lpr/lpr 鼠則可產生淋巴病變，血管炎，關節炎，致死的腎絲球腎炎，及血清中的抗核抗體，此兩類老鼠即被用為人類全身性紅斑性狼瘡的研究模式(6)。

雷公藤為藤狀植物，生長於南中國的廣大地區，其根部純化的粹取物，已做成錠劑，並用以治療類風濕性關節炎及全身性紅斑性狼瘡等慢性疾病。此藥在動物實驗中並以證明其療效(7,8)。此外，漢防己甲素亦已廣泛用於治療類風濕性疾病；其他尚包含本地中醫界常用之如白刺杏、白粗糠、水丁香、咸豐草、紅色見笑根、黑乃爾等藥材。

第一介白質是有多重生理、病理作用的蛋白質，其為免疫和發炎反應的重要介質。第一介白質包含至少兩種多類，阿爾發和貝他，皆主要由與單核球有關的細胞分泌，但也可由其他包括內皮、表皮、B 淋巴球等細胞分泌(9)。以此一細胞間素對不同細胞皆有相當影響，故一般認為與組織傷害有密切關係(9)。

材料與方法

老鼠

選用 4 週大 MRL/lpr 雌鼠，由 7 週起記錄其體重及收集尿液至 21 週。

中藥製備

中藥來源為原植物磨粉或已純化的製劑。中藥將先以酒精二毫克/毫升溶解後，再用 RPMI 1640 細胞培養液稀釋為所需的濃度。酒精最後濃度(0.5%) 已知不致細胞功能造成傷害。

中藥對細胞活性的影響

藥物對細胞活性的影響由 0.5% trypan blue來判讀，其毒性濃度則分別以人類單核球和老鼠胸腺細胞來測定。

實驗設計 老鼠（3隻一組）以胃管給予一毫升中藥（含 10, 100, 1000 毫克/毫升）或水，由 7週大開始餵食直到 21 週。每週餵 3 次。劑量的選用將以用於人類的劑量依人與鼠體表面積換算後給予。

尿蛋白評估 以全自動血液生化分析儀測試尿蛋白。

組織評估 在實驗過程中，老鼠自然死亡或至 21 週老鼠犧牲後即取得腎臟，腎組織切片後以 hematoxin 和 eosin 染色，並以下列分類加以計分。0 謂之正常，1 謂之輕微增加腎斯球細胞數及血管周邊單核球浸潤。2 謂之中度增加，3 為明顯增加，並有硬化，腎小管萎縮，血管炎等變化。

第一介白質在腎組織上的表現

此乃用 Quick Clean TMRNA 分離系統取得 RNA。再以 PCR 方法取 DNA，加入第一介白質 Primer 跑 2% 凝膠後以密度儀定量。

結果

老鼠體重由 7週的 30 克左右，在 14 週時增加約 7 克，於 21 週時，則再增約 7 克，但各組間並無差異（圖一）。尿蛋白經收集測量後，也無差異（表一）。但血清中第一介白質量，在對照組，即未經治療的狼瘡鼠，第一介白質濃度由 4.68 4.51 升至 18.88 2.49 pg/ml，但餵食雷公藤鼠的一組，則血清中第一介白質的濃度幾無任何改變，亦即表示受到明顯抑制，其他各組則無明顯差異（圖二）。表二及表三為中藥對第一介白質基因表現的影響，結果顯示，唯雷公藤可有效抑制腎臟第一介白質基因表現，但對脾臟則無影響。

討論

儘管全身性紅斑性狼瘡患者的存活率近來已有明顯的上升。但毫無疑問狼瘡性腎炎仍然伴隨著高罹病率及高死亡率，且與全身性紅斑性狼瘡的預後息息相關。

以免疫抑制劑或大量類固醇治療狼瘡性腎炎已成為模式，但繼發而來的副作用，卻在臨牀上造成極大困擾。

雷公藤、漢防己甲素在先前實驗中已證明可明顯抑制第一、六、八介白質，及免疫球蛋白產生，而前者更可抑制前列腺素製造。目前已知狼瘡性腎炎的產生與細胞激素關係密切。

本實驗使用狼瘡性腎炎老鼠模型，即 MRL-/lpr/lpr。經餵以混合或不含中藥的食物後，證明雷公藤確可有效抑制第一介白質的產生，因為第一介白質在發炎性病變上扮演了重要角色，本實驗的結果將極有建設性，不但指引了未來研究的方向，也證明了中藥在臨床使用的可行性。

結論與建議

本實驗主要的目的即利用一些常用中藥為基礎，測試其對腎功能保存，疾病活躍性，第一介白質基因表現，和對全身性紅斑性狼瘡老鼠存活的影響，從而為未來治療開啟新的方向。

實驗結果令人振奮，但因 MRL/lpr 鼠在台灣地區，包括國家動物中心皆無法提供，需由日本進口，時效上延誤甚久，且隻數，週數皆受限，造成困擾，希望能引進後，由國家動物中心飼養，以利後續研究進行。

(六) References: 參考文獻

1. Osler W. On the visceral manifestations of the erythema group of skin diseases. Am J Med Sci. 1904; 127:1-23.
2. Muehrcke RC, Kark RM, Pirani CL, Pollak VE. Lupus nephritis: a clinical and pathologic study based on renal biopsies. Medicine (Baltimore). 1957; 35:1-145.
3. Balow JE. Lupus nephritis: natural history, prognosis and treatment. Clin Immunol Allergy. 1986; 6: 353-65.
4. Wallace D, Podell T, Weiner J, Cox J, Klinenberg J, Forouzesh S, Dubois E: lupus nephritis, experience with 230 patients in a private practice. Am J Med 72:209-19, 1982.
5. Austin H, Muenz L, Joyce K, Antonovych T, Kullik M, Klipper J, Decker J: Prognostic factors in lupus nephritis: contribution of renal histologic data. Am J Med 75:382-91, 1983.
6. Andrews BS, Eisenberg RA, Theofilopoulos AN, Izui S, Wilson CB, McConahey PJ, Murphy ED, Roths JB, Dixon FJ. Spontaneous murine-like syndromes. J Exp Med 148:1198-1215, 1978.
7. Gu WZ, Banerjee S, Rauch J, Brandwein SR., Suppression of renal disease and arthritis, and prolongation of survival in MRL-lpr mice treated with an extract of Tripterygium Wilfordii Hook F. Arthritis Rheum 35(11): 1381-6, 1992.
8. Zhang XY, Tsuchiya N, Dohi M, Yamamoto K, Ishihara K, Okudaira H, Ito K, Miyamoto T. Prolonged survival of MRL-lpr/lpr mice treated with Tripterygium Wilfordii Hook-F. Clin Immunol Immunopathol 62(1pt 1): 66-71, 1992.
9. Dinarello CA. 1985. An update on human interleukin-1: from molecular biology to clinical relevance. J Clin Immunol. 3: 287.
10. Gu WZ, Brandwein SR, Banerjee S. Inhibition of type II collagen-induced arthritis in mice by an immunosuppressive extract of tripterygium wilfordii Hook f. J Rheumatol 19:682-8, 1992.

Table 1. Herbal Medicine Effects on the Body Weight (gm) of Lupus Mice.

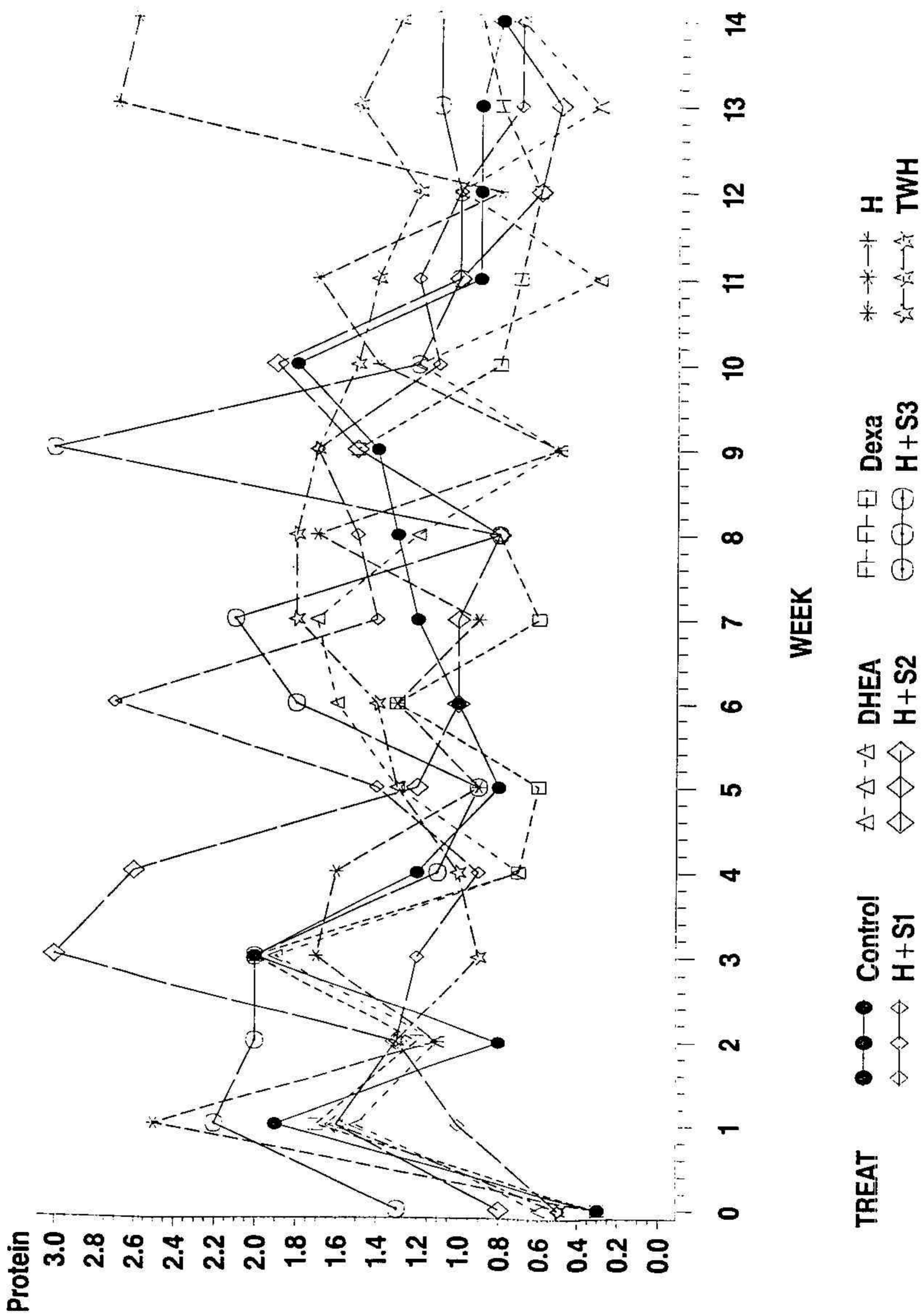
	7wk	14wk	21wk
1. Control	30.6 ±2.1	37.7 ±3.5	43.7 ±2.5
2. TWH	27.0 ±1.7	35.7 ±2.3	36.0 ±1.6
3. TTD	26.7 ±1.2	39.0 ±1.0	42.7 ±2.3
4. H+S1	25.7 ±1.5	34.0 ±2.0	40.3 ±1.2
5. H+S2	29.0 ±1.0	32.7 ±1.5	39.3 ±1.2
6. H+S3	29.3 ±2.3	35.7 ±2.3	39.0 ±5.6

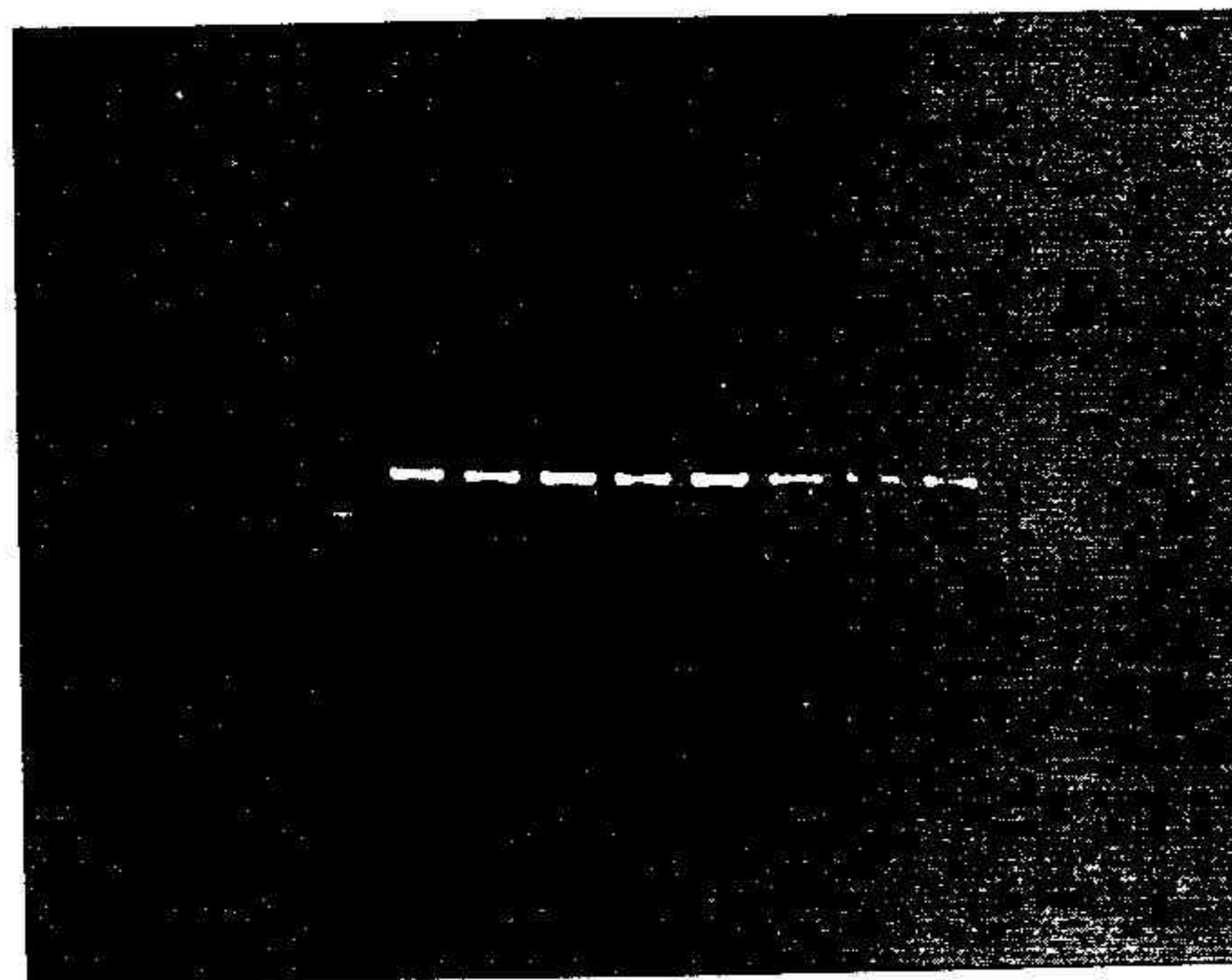
Data are presented by mean±SD (gm).

Table 2. Herbal Medicine Effects on Serum Interleukin-1 in Lupus Mice

	7wk	21wk
1. Control	4.68 ±4.51	18.88 ±2.49
2. TWH	3.81 ±8.41	3.82 ±2.66*
3. TTD	2.95 ±1.23	11.64 ±6.97
4. H+S1	2.85 ±2.34	13.24 ±4.09
5. H+S2	4.97 ±0.82	16.13 ±4.01
6. H+S3	3.52 ±2.87	14.97 ±1.64

Data are presented by mean±SD (pg/ml). *p<0.01 by Student's t-test compared to control group.





表二、中藥對脾臟第一介白質基因表現的影響。線一為
DNA 標記，線二為未服藥 7 週對照組，線三為
服藥 14 週對照組，線四為未服藥 21 週對照組，
線五為服用雷公藤 21 週，線六為服用漢防己甲素
21 週，線七為服用白刺杏 21 週，線八為白粗糠
21 週，線九為服用水丁香 21 週。



表三、中藥對腎臟第一介白質基因表現的影響。線一為DNA 標記，線二為未服藥 7 週對照組，線三為未服藥 14 週對照組，線四為未服藥 21 週對照組，線五為服用雷公藤 21 週，線六為服用漢防己甲素 21 週，線七為服用白刺杏 21 週，線八為白粗糠 21 週，線九為服用水丁香 21 週。