人工蟲草粉對慢性馬兜鈴酸腎損害

——大鼠尿液生化學影響的實驗研究

王冠明(1) 指導：塗晉文(2) 邵朝弟(2) 王小琴(2)

(1. 香港中醫腎病中心 2. 湖北中醫藥大學)

[摘 要] 目的 從尿液生化方面探討馬兜鈴酸腎病的發病機理及其防治。 **方法** 採用關木通煎劑不間斷灌胃及馬兜鈴酸純品皮下注射法制作慢性馬兜鈴酸腎病（ＣＡＡＮ）大鼠模型，隨機分為四組：正常組、木通組、治療組、馬兜鈴酸（AA）組，給藥時間為八周。以大鼠體重增長率，尿NAG酶，24小時尿蛋白定量，尿β_{2}-微球蛋白為觀察指標。 **結果** 八周後，木通組、治療組、AA組與正常組相比，大鼠體重明顯降低（P<0.01），24小時尿蛋白定量增加（P<0.05，P<0.01），尿NAG酶明顯增加（P<0.01），尿β_{2}-微球蛋白明顯增加（P<0.01）。 **結論** 關木通煎劑及馬兜鈴酸純品均可導致腎小管功能損傷，而中草藥關木通所引起的腎損害與其所含主要成分之一馬兜鈴酸有密切關係。治療組對降低尿NAG酶明顯優於木通組及AA組（P<0.01）。人工蟲草菌絲粉對緩解慢性馬兜鈴酸腎病所引起的腎損害具有一定的防治作用。

[關鍵詞] 馬兜鈴酸腎病 ；關木通； NAG酶 ；人工蟲草菌絲粉

[ABSTRACT] Objective：From the urine biochemical to researches pathogenesis of aristolochic acid nephropathy(CAAN) prevention. Methods：Wistar rats were distributed into four groups. Group1 was normal control，Group 2 and 4 were model control，3 treated group. Group 2 was received Aristolochia manshuriensis Kom. Decoction 10g/kg body weight，Group 3 was received Aristolochia manshuriensis Kom. decoction 10g/kg and Chinense Caterpillar Fungus mycelium powder 5g/kg body weight once daily for 8 weeks. Group 4 was subcutaneous injected aristolochic acid 10mg/kg body weight once daily for 8 weeks . After administration ,urine samples were obtained for NAG, β_{2}-MG and protein evaluation. Result：It was found that body weights in group 2、3and group 4 were decreased compare with group 1. Protein of 24 hours urine、NAG and β_{2}-MG of the two groups were higher than group1 （P<0.05，P<0.01）. There for，the results of study suggest that Aristolochia manshuriensis Kom.decoction and aristolochic acid could result in tubulopathy. We also found that rats of Chinense Caterpillar Fungus mycelium powder treated resulted in improved body weights, Protein of 24 hours urine、NAG and β_{2}-MG at eight weeks point compared with Group 2 that rats were received Aristolochia manshuriensis Kom. Conclusion：The decoction and aristolochic acid manshuriensis pure tubular function can lead to injury, while the the herbal medicine manshuriensis caused kidney damage and its contained aristolochic acid is closely related to one of the main ingredients. The treatment group of lower urinary NAG enzyme was significantly better than the Akebia group and AA group (P<0.01). Chinense Caterpillar Fungus mycelium powder to alleviate chronic aristolochic acid nephropathy kidney damage caused to have a preventive effect.

[Key words] Aristolochic Acid Nephropathy ；Aristolochia Manshuriensis Kom；NAG Chinense；Caterpillar Fungus Mycelium Powder

天然蟲草在治療慢性腎臟疾病方面的療效已見諸文獻報導，但因藥源匱乏，價格昂貴，很難在臨床上推廣應用。國家一類新藥發酵人工蟲草菌絲粉，是採用微生物深層液體培養方法生產的，具有與天然蟲草基本一致的藥理作用，是補虛損、益精氣的理想中成藥。本文透過觀察大鼠尿液生化指標變化的實驗研究，探討馬兜鈴

香港註冊中醫學會 版權所有 Copyright HKRCM All Rights Reserved

酸腎病的發病機理及人工蟲草粉對該病的防治作用。

1 材料與方法

1.1 主要藥品、試劑及儀器

1.1.1 關木通：系馬兜鈴科馬兜鈴屬木通馬兜鈴（Aristolochia Manshuriensis Kom）的木質莖，製成每毫升含生藥1g的水煎劑，由湖北省中醫院藥劑科煎制。

1.1.2 人工蟲草菌絲粉：由中美合資華東製藥有限公司生產，批號050919BL。使用時用生理鹽水配製成0.5g/l的混懸液。

1.1.3 馬兜鈴酸A純品：由中國藥品生物製品檢定所提供，使用時用生理鹽水配製成每毫升含馬兜鈴酸A1毫克的溶液。

1.1.4 主要儀器：全自動生化分析儀，AU-560；分光亮度計，723型。

1.2 實驗動物分組，造模及給藥劑量

雄性Wistar大鼠，體重110-150g，由湖北省疾病預防控制中心實驗動物中心提供；飼料為全價純鼠顆粒飼料，由湖北省疾控中心飼料加工廠提供；飲用水為清潔自來水。大鼠共40隻，隨機分為四組：①正常組（10隻）：自來水灌胃。②關木通組（10隻）：每日灌胃關木通煎劑一次，劑量10g/（kg.·d），共8周。③治療組（10隻）：每日灌胃關木通煎劑一次，劑量10g/（kg.·d），同時灌胃人工蟲草菌粉混懸液5 g/（kg.·d），共8周。④馬兜鈴酸A組（10隻）：每日皮下注射AA，劑量10mg/（kg），共8周。

1.3 觀察指標

1.3.1 一般情況：大鼠精神狀況，活動度，皮毛色澤和體重增長率。

1.3.2 尿液生化：24小時尿蛋白定量（三氯醋酸比濁法），尿β_2-MG（同位素放免法），尿NAG（酶-底物直接顯色法）

1.4 統計學方法

計量資料用t檢驗，組間比較用多因素方差分析。計算用SPSS12.0軟體。

2 結果

2.1 一般情況

實驗期間，正常組大鼠表現機警，活潑，反應快，毛髮光滑，皮毛緻密，整齊，有光澤，尾部色澤光亮，進食及二便均正常。其它各組大鼠不同程度精神萎靡，活動遲緩，皮毛蓬鬆，枯槁無光澤，尾部色澤蒼白，食欲不振，其中尤以馬兜鈴酸A組最為明顯。

2.2 大鼠體重

表1 造模前及造模後8周各組大鼠體重增長情況（±s）

組 別	n	造模前（g/隻）	造模後（g/隻）	增長率（%）
正常組	10	138.00±7.44	338.80±15.48	145.51
AA組	10	134.20±6.70	212.90±12.25$^{**\triangle\triangle}$	58.64
木通組	10	132.90±7.56	298.30±22.31**	124.45
治療組	10	130.70±11.60	301.90±21.07**	130.97

香港註冊中醫學會 版權所有 Copyright HKRCMP All Rights Reserved

注：＊＊與正常組比較P<0.01 △△與木通組比較P<0.01

根據表1，造模後8周，AA組、木通組和治療組體重明顯低於正常組（P<0.01）；木通組增長率雖低於治療組，但兩組體重無統計學差異（P>0.05）；AA組體重明顯低於木通組（P<0.01）。

2.3 24小時尿蛋白定量

表2 造模前及造模後8周各組大鼠24小時尿蛋白定量結果（±s）

組別	n	造模前（mg）	造模後（mg）
正常組	10	2.23±0.55	3.52±0.33
AA組	10	2.26±0.45	4.37±0.56＊＊
木通組	10	2.32±0.30	4.00±0.48＊
治療組	10	2.22±0.33	3.92±0.38＊

注：＊＊與正常組比較P<0.01 ＊與正常組比較P<0.05

根據表2，造模後8周，AA組、木通組和治療組24小時蛋白定量平均值高於正常組（P<0.05, P>0.01）；木通組分別與治療組及AA組相比24小時尿蛋白定量平均值雖大小不同，但無統計學差異（P>0.05）。

2.4 尿β_2-MG

表3 造模前及造模後8周各組大鼠尿β2-MG結果（±s）

組別	n	造模前（ng/ml）	造模後（ng/ml）
正常組	10	1.62±0.54	4.37±0.46
AA組	10	1.65±0.50	5.41±0.45＊＊
木通組	10	1.59±0.36	5.24±0.59＊＊
治療組	10	1.67±0.41	5.38±0.38＊＊

注：＊＊與正常組比較P<0.01

根據表3，造模後8周，AA組、木通組和治療組尿β_2-MG平均值明顯高於正常組（P<0.01）；木通組分別與治療組及AA組相比尿β_2-MG平均值雖大小不同，但無統計學差異（P>0.05）。

2.5 尿NAG酶

香港註冊中醫學會 版權所有 Copyright HKRCMP All Rights Reserved

表4 造模前及造模後8周各組大鼠尿NAG酶結果（±s）

組別	n	造模前（U/l）	造模後（U/l）
正常組	10	2.00±0.47	3.41±0.48
AA組	10	1.99±0.47	5.27±0.29** △△
木通組	10	2.05±0.39	4.83±0.17**
治療組	10	2.03±0.52	4.37±0.45** △△

注：** 與正常組比較P<0.01 △△與木通組比較P<0.01

根據表4，造模後8周，AA組、木通組和治療組尿NAG酶平均值明顯高於正常組（P<0.01）；治療組尿NAG酶平均值明顯低於木通組（P<0.01）；AA組尿NAG酶平均值明顯高於木通組（P<0.01）；治療組尿NAG酶平均值明顯低於AA組（p<0.01）

3 討論

馬兜鈴屬植物全世界有600餘種，中國有40餘種[1]。關木通性寒，味苦；能清心火，利小便，通經下乳。主要成分含馬兜鈴酸木通甲素（Aristolochic acid）。裘奇[2]等學者在國內首次建立了關木通所致大鼠急性腎損傷的動物模型，並觀察了中毒時大鼠腎功能指標的變化。藥代動力學研究提示，服藥後馬兜鈴酸（AA）在人體各組織器官內蓄積。可引起腎小管上皮細胞轉分化、凋亡或壞死[3]。AAN的臨床與病理表現多種多樣[4, 5]，近年國內報告多呈慢性病程演變[6, 7]。故本文以馬兜鈴酸的慢性腎毒性為主要研究物件。

馬兜鈴酸性腎病的中醫病機特點為本虛標實、內外相感、寒熱錯雜；脾腎虛衰為本，損及他臟氣血陰陽，水濕雍盛為標，變生痰濁、瘀血、溺毒。臟腑傳變規律為，腎先受邪，封藏失職，為病之始；授之於肺，通調失司，為病之表；傳之於脾，樞機不利，為病之裡；傷之於肝，氣機不疏，為病之重；陷之於心，血脈淤阻，為病之凶；還之於腎，五臟俱虛，為病之終。冬蟲夏草菌絲體乾粉入肺、腎經。功能益肺腎，拯虛損；脾腎同調，固本培元[8]。具有促進腎小管功能改善，縮短少尿期，加快腎功能恢復之作用[9]。能修復腎小管上皮，改善腎功能，減輕蛋白尿，調節免疫，糾正蛋白質、氨基酸代謝紊亂等多種作用。特別是對急性腎功能衰竭、藥物腎毒性損害及小管間質病變患者，具有較好的預防和治療作用[10]。並改善患者的營養狀況，延緩病情進展。

本實驗選擇觀測的尿液生化學資料，均是反映腎小管受損的非常靈敏和較特異性指標。其中NAG存在于腎小管和泌尿道上皮細胞的溶酶體中，故尿中NAG升高主要見於腎小管損傷。本研究的尿液生化學的結果顯示，採用關木通煎劑不間斷灌胃及馬兜鈴酸純品皮下注射法制作慢性馬兜鈴酸腎病（ＣＡＡＮ）大鼠模型，八周後，木通組、治療組、AA組與正常組相比，大鼠體重明顯降低，24小時尿蛋白定量增加，尿β_2-微球蛋白及尿NAG酶明顯增加，其中尤以馬兜鈴酸純品組變化最為明顯。證明關木通煎劑及馬兜鈴酸純品均可導致腎小管功能損傷，而中藥關木通所引起的腎損害與其所含主要成分馬兜鈴酸有密切關係。治療組與木通組相比，體重降低，24小時尿蛋白定量及尿β_2-MG定量降低，兩者雖無統計學差異，但對降低尿NAG酶明顯優於木通組及AA組，提示人工蟲草菌絲粉對緩解慢性馬兜鈴酸腎病所引起的腎損害具有一定的防治作用。

版權所有 All Rights Reserved

參考文獻
[1] 張萬帆, 謝守霞. 馬兜鈴酸腎病. 中國綜合臨床，2001；5；（17）：325
[2] 裘奇. 木通所致大鼠急性腎損傷的實驗觀察. 腎臟病與透析腎移植雜誌, 1999;8(1)：15
[3] 王鋼, 鄒燕勤, 周恩超. 鄒雲翔實用中醫腎病學，中國中醫藥出版社，2013：28
[4] Tanaka A, Nishida R, Maeda K, etal1chinese herb Nephropathy in Japan presents adult onset Fanconi Sydrome could different components of aristolochic acid cause a different type of Chinese herbs nephropathy[J].Nephrol,2000，53(4):301-306
[5] Reginster F, Jadoul M, Struhou VY .Chinese herbs Nephropathy presentation, natural history and fate after Transplantation Nephrol Dial Transplant 1997,12(1):81-86
[6] 李曉玫, 楊莉, 於洋, 等. 木通所致腎小管間質腎病及臨床表現病理特點分析[J]. 中華內科雜誌, 2001, 40(10)684
[7] 陳文, 譙貽璞, 李安, 等. 馬兜鈴酸腎病的臨床與病理表現[J]. 中華醫學雜誌, 2001,81(18):1103-1105
[8] 王琛, 秦軍燕, 邵命海, 等. 腎衰II號方對腎衰大鼠腎組織形態及對AngII和nNOS蛋白表達的影響[C]. 世界中聯第七屆國際腎病學術大會, 2013,356-361
[9] 莊乙君, 陳文. 冬蟲夏草菌絲體乾粉製劑對急性腎小管壞死治療的影響[J]. 中國中西醫結合腎病雜誌, 2003,4(5) :292—293
[10] 周恩超. 鄒燕勤教授最常用治腎中藥介紹[C]. 鄒燕勤教授執教從醫55周年學術論文集, 2013，191-194

（編委：張群湘審校2014.03.30）

香港註冊中醫學會 版權所有
Copyright HKRCMP All Rights Reserved