

天花粉引起被动肺过敏的大鼠模型

吴若林 张淑敏 马佳雯 (中国医学科学院药物研究所, 北京 100050)

提要 用植物蛋白天花粉 1 mg 及佐剂氢氧化铝和百日咳死菌致敏大鼠, 可得高滴度抗天花粉血清。以此抗天花粉血清被动致敏大鼠 24-96 h 后, 用天花粉攻击能引起过敏性支气管收缩, 使肺溢流量增加, 该大鼠 PLA 反应与致敏所用的抗天花粉血清效价、剂量及抗原攻击量有关。异丙肾上腺素、色甘酸二钠及氨茶碱均能抑制大鼠天花粉 PLA 反应。

关键词 被动肺过敏反应; 天花粉; 肺溢流; 色甘酸二钠

吸入性哮喘与速发型过敏反应有关^(1,2)。文献^(3,4)报道用巴西线虫致敏大鼠引起主动及被动肺过敏(PLA)的方法, 但操作麻烦, 实验时间也长。天花粉系由栝楼根提取的植物蛋白, 抗原性强, 易溶于水。我们以天花粉为抗原与佐剂氢氧化铝、百日咳疫苗致敏大鼠, 可获得高效价抗天花粉血清。以该血清被动致敏大鼠后, 用天花粉攻击能引起 PLA 反应, 此模型可用于抗过敏药及平喘药的研究。

材料和方法

大鼠 ♀♂ 兼用, 除观察体重对 PLA 形成的影响实验外, 其他实验均用 $265 \pm SD 43$ g 的大鼠。

抗原 将抗原天花粉(上海生化制药厂产品)溶于 6% Al(OH)₃ 凝胶液中, 使天花粉含量为 2.5 mg/ml。

抗天花粉血清的制备 大鼠每足掌 sc 抗原 0.1 ml (天花粉 1 mg/鼠), 随即 ip 百日咳杆菌疫苗死菌 10 亿, 致敏后第 10 d 断头取血, 收集混合血清保存于 -20℃ 备用, 3 个月内未见活性改变。抗血清滴度以 48 h 被动皮肤过敏反应为指标⁽⁵⁾, 直径 > 5 mm 者为阳性。抗

血清滴度一般在 500 以上, 有时可高达 2000。如在天花粉致敏的同时, 不 ip 百日咳杆菌疫苗, 抗血清滴度一般在 100 左右。

被动致敏大鼠 给大鼠 iv 高效价抗天花粉血清 0.5-2.5 ml/kg。抗血清剂量随效价高低而异, 抗血清效价越高用量越小, 反之则大。

PLA 反应 取被动致敏 2-96 h 的大鼠, ip 戊巴比妥钠 15 mg/kg, 麻醉后插入气管插管, 连接人工呼吸器(67 次/min)及改良的 Konzett-Rössler 氏⁽⁶⁾肺溢流装置, 借浮标气鼓记录肺溢流量于烟鼓上。iv 天花粉(天花粉 10 mg/ml 生理盐水)攻击致敏大鼠, 可引起过敏性支气管收缩, 使肺溢流量明显增加。

实验结果

影响被动肺过敏的因素

1. 抗天花粉血清效价的影响 分别 iv 滴度为 125, 500, 1000 的抗天花粉血清 1 ml/kg 致敏大鼠, 每滴度用大鼠 2-3 只, 24 h 后 iv 天花粉 2 mg 进行攻击, 如图 1 所示, 以滴度为 125 的抗血清致敏大鼠, 用天花粉攻击时不易引起 PLA 反应, 在同样实验条件下随着抗血

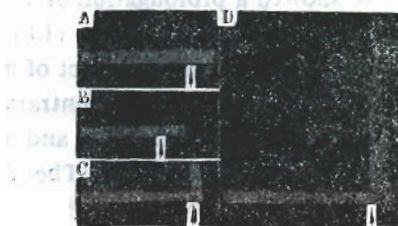


Fig 1. Effect of anti-trichosanthin serum titre on rat passive lung anaphylaxis (PLA): The sensitized rats (iv antisera 1 ml/kg 24 h previously) were challenged with iv trichosanthin 2 mg (\uparrow). A. Control (unsensitized). B. Antisera titre 125 (B), 500 (C), 1000 (D).

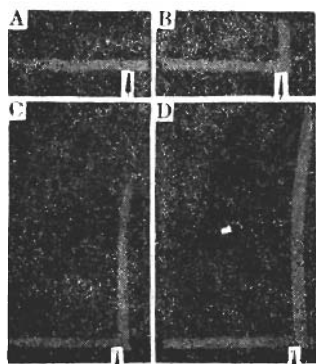


Fig 2. Effect of anti-trichosanthin serum on rat PLA: The rats (iv pooled anti-trichosanthin sera 24 h previously) were challenged with iv trichosanthin 2 mg(↑). A. Control (unsensitized). B. Antisera 0.5 (B), 2.5(C),and 5.0 (D) ml/kg.

清效价的增高, PLA 反应逐渐形成。抗血清滴度为 500 时可见 PLA 反应, 引起肺溢流量增加。抗血清滴度为 1000 时 PLA 反应引起肺溢流量增加更为明显。

2. 抗天花粉血清用量的影响 取滴度为 500 的同批混合抗天花粉血清, 分别给大鼠 iv 0.5, 2.5, 5 ml/kg(每剂量用鼠 2-3 只), 致敏 24 h 后再 iv 天花粉 2 mg 进行攻击, 如图 2 所示, 抗血清用量为 0.5 ml/kg 时 PLA 反应较弱, 用量 2.5 ml/kg 时, PLA 引起肺溢流量明显增加, 当用量增至 5 ml/kg, 抗原攻击后肺溢流增加更多。

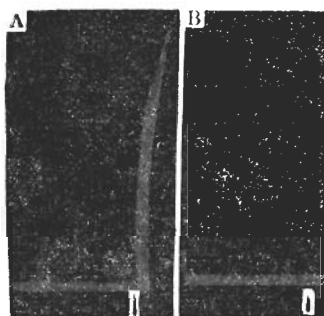


Fig 3. Effect of temperature on the activity of antitrichosanthin serum for inducing PLA. A, Serum 5 ml/kg iv. B. The serum had been incubated at 56°C for 2 h. A and B were both challenged with trichosanthin 10 mg/kg iv (↑) 24 h after sensitization.

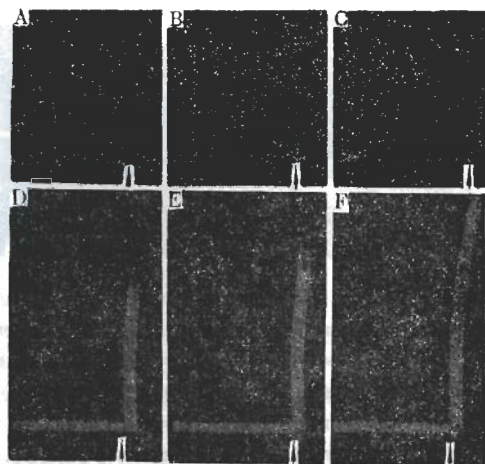


Fig 4. PLA induced by anti-trichosanthin, serum: The sensitized rats were challenged with trichosanthin iv. A. Control (unsensitized). 2 (B), 24 (C), 48 (D), 72 (E) and 96 (F)h after iv anti-trichosanthin serum.

3. 温度对抗天花粉血清活性的影响 将能形成大鼠 PLA 反应的同批抗天花粉混合血清置于 56°C 保温 2 h, 取该加热抗血清或未加热抗血清, 分别依法致敏大鼠(各 3 只), 致敏后 24 h 再 iv 天花粉进行攻击, 如图 3 所示, 加热后的抗血清不能形成 PLA 反应。

4. 形成 PLA 反应的潜伏期 取同批混合抗天花粉血清(滴度为 250)分别给 15 只大鼠 iv 5 ml/kg, 于致敏后 2, 24, 48, 72, 96 h 分别取 3 只致敏大鼠 iv 天花粉 2 mg 进行攻击, 如图 4 所示, 在被动致敏后 2 h 已能逐渐形成 PLA 反应, 支气管收缩使肺溢流量明显增加。于被动致敏 96 h 仍有明显的 PLA 反应。

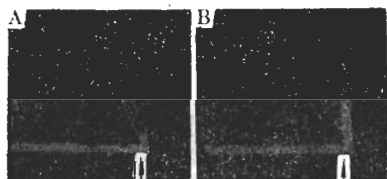


Fig 5. Effect of the challenging dose of antigen on the development of PLA: Rats (sensitized by anti-trichosanthin serum 1 ml/kg iv 24 h previously) were challenged with iv trichosanthin 10 (A) and 20 (B) mg/kg (↑),

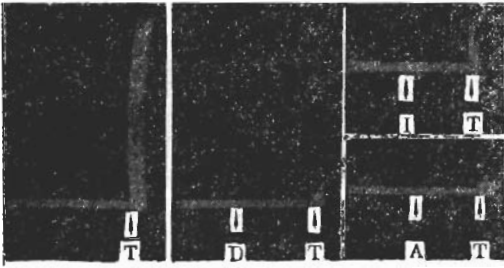


Fig 6. Effect of anti-asthmatic drugs on PLA in rats: Rats (sensitized by iv anti-trichosanthin serum 24 h previously) were injected iv disodium cromoglycate 10 mg/kg (D), isoprenaline 250 μ g/kg (I) and aminophylline 60 mg/kg (A). After 10 min the rats were challenged with iv trichosanthin 2 mg (T).

5. 抗原攻击量的影响 取同批天花粉混合血清按 1 ml/kg 致敏大鼠，致敏 24 h 后 iv 天花粉进行攻击。如图 5 所示，当天花粉攻击量为 10 mg/kg 时，肺溢流量无明显变化；如将攻击量增至 20 mg/kg，则可见肺溢流量明显增加。

6. 动物体重的影响 取体重 130-290 g 大鼠分别用同批抗天花粉血清以相同剂量致敏，观察大鼠在抗原攻击后肺溢流的变化。结果表明，130 g 的大鼠在抗原攻击后，看不出肺溢流的变化。170 g 的大鼠肺溢流变化较小，而以体重 200 g 以上大鼠为宜。

色甘酸二钠、异丙肾上腺素及氨茶碱对大鼠 PLA 反应的影响 给被动致敏大鼠分别 iv 色甘酸二钠 10 mg/kg，异丙肾上腺素 250 μ g/kg 或氨茶碱 60 mg/kg，均能明显对抗因抗原天花粉攻击引起的过敏性支气管收缩，使肺溢流不出现明显改变，如图 6 所示，多次重复得到类似结果。

讨 论

我们以天花粉为抗原，以氢氧化铝及百日咳疫苗为佐剂致敏大鼠，10 d 即可得到高滴度抗天花粉血清，用该抗血清被动致敏大鼠，24 h 后可因天花粉攻击引起明显的 PLA 反应，

而 Farmer 等^(4,7)形成大鼠 PLA 反应所用的高滴度抗血清，需致敏大鼠 24 d 后方能得到，且致敏时需用巴西线虫。我们的方法不仅可免去培养巴西线虫及致敏时计数线虫等繁杂操作，而且缩短实验时间 14 d。

IgE 为亲细胞的热不稳定性抗体，于 56°C 加热后即丧失活性，我们所制备的抗天花粉血清于 56°C 加热后即不能形成大鼠 PLA 反应，提示抗天花粉血清引起大鼠 PLA 反应很可能系 IgE 类抗体所介导。另外，PLA 反应的形成与抗天花粉血清滴度、被动致敏时所需抗天花粉血清剂量以及抗原攻击量均有关系。这三方面的因素彼此又相互影响，如抗天花粉血清滴度稍低时，则可增加被动致敏抗血清剂量，或增加抗原攻击量以促成 PLA 反应。此外，动物体重亦影响 PLA 反应。实验结果表明，大鼠体重在 200 g 以上为宜，因体重小的动物，过敏反应时气道张力改变范围亦小，肺溢流量改变不明显。

地塞米松、色甘酸二钠对大鼠过敏性支气管狭窄有抑制作用⁽⁹⁾。我们的实验结果表明不同类型的平喘药色甘酸二钠、异丙肾上腺素、氨茶碱均能抑制大鼠天花粉 PLA 反应引起的肺溢流量增加。因此，我们认为大鼠天花粉 PLA 反应对研究平喘药是一种较好的动物模型。

参 考 文 献

- 1 Rebeck AS. *Drugs* 1974; 7: 344
- 2 Warren S. *Ann Allergy* 1976; 36: 337
- 3 Church MK, Collier HOJ, James GWL. *Br J Pharmacol* 1972; 46: 56
- 4 Farmer JB, Richards IM, Sheard P, Woods AM. *Naunyn Schmiedergs Arch Pharmacol* 1973; 279 (suppl): R 35
- 5 少年红协作组药理小组. 中华医学杂志 1977; 57: 81
- 6 邢文铨、周仲达. 中华医学杂志 1977; 57: 708
- 7 Farmer JB, Richards IM, Sheard P, Woods AM. *Br J Pharmacol* 1975; 55: 57

Acta Pharmacologica Sinica 1985 Mar; 6 (1) : 68-71

RAT MODEL OF PASSIVE LUNG ANAPHYLAXIS INDUCED BY TRICHOSANTHIN

WU Ruo-shu, ZHANG Shu-min, MA Jia-wen

(*Inst Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050*)

ABSTRACT Rats were sensitized by sc injection of 0.25 mg trichosanthin, a protein extracted from *Radix Trichosanthin*, and an adjuvant $Al(OH)_3$ gel into each paw. This was followed by ip injection of pertussis vaccine (1×10^9 dead pertussis bacilli). High titre antisera containing heat labile antibody were obtained from the rats on d 10 after sensitization. Rats weighing 265 ± 43 g were passively sensitized by iv injection of the high titre antisera 0.5-2.5 ml/kg and then challenged with trichosanthin in 24-96 h. The airway resistance measured by lung-overflow technique was increased. Owing

to anaphylactic bronchoconstriction, the degree of rat passive lung anaphylaxis was closely related to antisera titre, dosage of antisera as well as the challenging dose of the antigen. Three types of anti-asthmatic drugs (isoprenaline, disodium cromoglycate and aminophylline) prevented the increase of lung overflow. It appears that this is a useful and simple model for screening anti-asthmatic drugs.^{††}

KEY WORDS passive lung anaphylaxis; trichosanthin; lung overflow; disodium cromoglycate