·实验研究·

马钱子总碱治疗重症肌无力大鼠模型的机制研究

刘涵星[1],黄　醒[1],吴雪纯[1],李　璐[1],代斌斌[1],张新庄[1],曹　亮[1],张永文[2],肖　伟[1*]
(1 中药制药过程控制与智能制造技术全国重点实验室(江苏康缘药业股份有限公司),南京 211112;
2 南京中医药大学,南京 210023)

[摘要] **目的:**探讨马钱子总碱对实验性自身免疫性重症肌无力(experimental autoimmune myasthenia gravis,EAMG)大鼠的疗效及其作用机制。**方法:**Lewis 雌性大鼠采用 R97-116 肽段免疫法构建 EAMG 模型,马钱子总碱(0.35、0.7、1.4 mg·kg^{-1})和泼尼松(4.2 mg·kg^{-1})分别对其进行分组给药治疗。通过记录大鼠 Lennon 评分和跌落时的转棒速度,测定血清抗乙酰胆碱受体抗体(anti-acetylcholine receptor antibody,AChR-Ab)、免疫球蛋白 G(immunoglobulin G,IgG)、免疫球蛋白 G1(immunoglobulin G1,IgG1)、免疫球蛋白 G2b(immunoglobulin G2b,IgG2b)、干扰素-γ(interferon-γ,IFN-γ)、白细胞介素-17(interleukin 17,IL-17)和转化生长因子-β(transforming growth factor-β,TGF-β)水平,检测外周血淋巴细胞 CD4$^+$/CD8$^+$比例等相关指标,考察其药效并探究可能的作用机制。**结果:**马钱子总碱能显著降低 Lennon 评分,显著升高跌落时的转棒速度,显著降低血清 AChR-Ab、IgG 和 IgG2b 亚型水平。马钱子总碱显著降低了血清 IL-17 和 IFN-γ 含量,升高血清 TGF-β 含量,显著降低外周血淋巴细胞 CD4$^+$/CD8$^+$比例。**结论:**马钱子总碱能明显改善 EAMG 大鼠肌无力的症状,其作用机制可能与抑制 AChR-Ab 的生成、降低 CD4$^+$/CD8$^+$比例、调节免疫功能紊乱和机体异常炎性状态有关。

[关键词] 重症肌无力;马钱子总碱;抗乙酰胆碱受体抗体;CD4$^+$/CD8$^+$;细胞因子
[中图分类号] R965　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1003－3734(2026)18－1968－09

Investigating the mechanisms of total alkaloids of Strychnos against myasthenia gravis in a rat model

LIU Han-xing[1], HUANG Xing[1], WU Xue-chun[1], LI Lu[1], DAI Bin-bin[1], ZHANG Xin-zhuang[1], CAO Liang[1], ZHANG Yong-wen[2], XIAO Wei[1*]
(1 *State Key Laboratory of Technologies for Chinese Medicine Pharmaceutical Process Control and Intelligent Manufacture (Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd.), Nanjing* 211112, *China*; 2 *Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing* 210023, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To investigate the therapeutic effect of MQZZJ (total alkaloids of Strychnos) on experimental autoimmune myasthenia gravis (EAMG) rats and to elucidate its underlying mechanisms. **Methods**: The EAMG rat model was established by immunizing female Lewis rats with the R97-116 peptide fragment. Rats were assigned to different groups and treated with MQZZJ (0.35, 0.7, and 1.4 mg·kg^{-1}) or prednisone (4.2 mg·kg^{-1}). The therapeutic effects and potential mechanisms were evaluated by monitoring the Lennon score and rotarod falling speed, measuring serum levels of acetylcholine receptor antibody (AChR-Ab), IgG, IgG1, IgG2b, IFN-γ, IL-17, and TGF-β, and detecting the CD4$^+$/CD8$^+$ ratio in peripheral blood lymphocytes. **Results**: MQZZJ significantly reduced the Lennon score, increased the rotarod falling speed, and reduced serum levels of AChR-Ab, IgG, and the IgG2b subtype. It also significantly decreased serum IL-17 and IFN-γ levels, increased serum TGF-β levels,

[基金项目] 江苏省基础研究计划自然科学基金资助项目:前沿引领技术基础研究专项资助项目(BK20232014);中药制药过程控制与智能制造技术全国重点实验室目标资助项目(SKL2023D01001)

[作者简介] 刘涵星,男,硕士,主要从事中药新药药理毒理研究。E-mail: 2864111766@qq.com。
[通讯作者] *肖伟,男,教授,博士生导师,主要从事中药新药研发及过程质量控制研究。E-mail: kanionlunwen@163.com。

[DOI]10.20251/j.cnki.1003-3734.2026.18.009

and reduced the $CD4^+/CD8^+$ ratio. **Conclusion**: MQZZJ can markedly ameliorate myasthenic symptoms in EAMG rats. The mechanism may be related to inhibiting AChR-Ab production, reducing the $CD4^+/CD8^+$ ratio, modulating immune dysfunction, and alleviating abnormal inflammation.

[**Key words**] myasthenia gravis; total alkaloids of Strychnos; AChR-Ab; $CD4^+/CD8^+$; cytokines

重症肌无力(myasthenia gravis,MG)是一种横纹肌神经肌肉接头点处传导障碍的自身免疫性疾病,临床上以肌肉易疲劳和肢体无力为特征[1],症状晨轻暮重,活动后加重,休息后可减轻。MG 是一种罕见病,全球患病率为 150 ~ 250/100 万,年发病率为 4 ~ 10/100 万,我国 MG 年发病率约 6.8/100 万[2]。其中女性患病率高于男性,各年龄段均可发病。MG 发病机制较为复杂,至今仍不完全明确。研究表明,体液和细胞免疫、抗体、补体及细胞因子等均参与了 MG 的发病过程。这些因素相互作用,共同导致 MG 的发生和发展[3]。目前,MG 主要治疗方法包括胆碱酯酶抑制剂、胸腺切除术、免疫抑制剂以及通过血浆交换和静脉注射免疫球蛋白用于短期免疫调节[4-6],然而这些治疗方法仅产生暂时疗效,耗时长且费用高昂,免疫抑制治疗也会产生严重不良反应。MG 的发病与机体的自身免疫平衡被打破相关,尤其是 T 淋巴细胞亚群比例失衡有关,目前针对 T 淋巴细胞的免疫学研究已成为 MG 的研究热点。研究发现,MG 患者的病情严重程度与抗乙酰胆碱受体抗体(anti-acetylcholine receptor antibody, AChR-Ab)、$CD4^+$ 和 $CD4^+/CD8^+$ 水平呈正相关,与 $CD8^+$ 水平呈负相关[7]。因此,T 淋巴细胞亚群水平可能作为 MG 患者治疗的重要参考指标,从而对药效结果进行合理评估。本研究旨在采用 R97-116 肽段免疫 Lewis 大鼠制备实验性自身免疫性重症肌无力(experimental autoimmune myasthenia gravis,EAMG)模型,揭示马钱子总碱对 EAMG 大鼠 T 淋巴细胞亚群分布的影响,探讨其不同剂量下的疗效及调节免疫平衡的作用机制,以期为马钱子治疗 MG 提供客观的科学依据。

材料与方法

1 实验动物

SPF 级雌性 Lewis 大鼠,6 ~ 8 周龄,体质量 110 ~ 130 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司湖北分公司,实验动物生产许可证号:SCXK(鄂)2022-0030。本实验经江苏康缘药业股份有限公司实验动物伦理委员会批准,批准号:2024070907。

2 药品与试剂

醋酸泼尼松(华中药业股份有限公司,批号:20230301,5 mg × 100 片);鼠源 AChR-α 亚基 97-116 肽(R97-116 肽,氨基酸序列为 DGDFAIVKFTKVLL-DYTGHI,委托金斯瑞生物科技公司合成,批号:C0143APDG0-1);H37Ra 灭活冻干粉(美国 BD 公司,批号:3187321);完全弗氏佐剂(complete Freund's adjuvant,CFA,美国 Sigma 公司,批号:1003314217);不完全弗氏佐剂(incomplete Freund's adjuvant,IFA,美国 Sigma 公司,批号:0000263649);磷酸缓冲液(PBS,Bio-Channel 公司,批号:BC20240228);4% 多聚甲醛溶液(北京索莱宝科技有限公司,批号:240002005);FITC-anti rat CD4(eBioscience 公司,批号:2442254);PE-anti rat CD8(eBioscience 公司,批号:2422334);APC-anti rat CD3(eBioscience 公司,批号:2514151);大鼠外周血淋巴细胞分离液试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号:240005002);大鼠 AChR-Ab 试剂盒(金益柏生物科技有限公司,批号:202408);大鼠干扰素-γ(interferon-gamma,IFN-γ)、白细胞介素-17(interleukin 17,IL-17)、转化生长因子-β(transforming growth factor-β,TGF-β)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号:20240823);大鼠 IgG、IgG1、IgG2b 试剂盒(江苏睿捷生物科技有限公司,批号:Y20240701);马钱子总碱(江苏康缘药业股份有限公司自制,批号:20240826)。

3 实验仪器

Cytoflex 型流式细胞仪(贝克曼库尔特生物科技有限公司);YLS-4C 型转棒疲劳仪(济南益延科技发展有限公司);PerkinElmer EnSpire 型酶标仪(珀金埃尔默企业管理有限公司);BSM-220.4 型电子分析天平(上海卓精电子科技有限公司);BY-R20 型高速冷冻离心机(北京白洋医疗器械有限公司);Millipore-elix5 型纯水仪(Millipore 公司)。

4 EAMG 大鼠模型的建立

Lewis 大鼠于室温(22 ± 2)℃、相对湿度 50% ~ 70% 的环境下饲养,12 h 光照/12 h 黑暗交替,自由摄食、饮水,大鼠实验前 1 周适应环境。48 只 Lewis 大鼠随机分为对照组、模型组、马钱子低剂量组、马钱子中剂量组、马钱子高剂量组和泼尼松组,每组 8 只。将 R97-116 肽、H37Ra 干粉溶解于 PBS 中,与 CFA 等比例充分混匀制成乳剂,d 0 分别于大鼠后

足垫及背部皮下多点注射 0.2 mL CFA 混合乳剂(含 50 μg R97-116 肽、1 mg H37Ra 干粉),对照组大鼠等量注射 PBS 与 CFA 的混合乳剂。在 d30 和 d45 分别进行第 2 次和第 3 次免疫,于首次免疫相同部位注射 0.2 mL PBS 与 IFA 等体积充分混匀的乳剂(含 50 μg R97-116 肽),对照组大鼠等量注射 PBS 与 IFA 的混合乳剂。

5 给药方法

第 2 次免疫后,对马钱子低、中、高剂量组(马钱子总碱剂量分别为 0.35、0.7、1.4 mg·kg^{-1})和泼尼松组(4.2 mg·kg^{-1})大鼠进行灌胃给药,对照组和模型组给予等量体积的生理盐水。各组大鼠均按 10 mL·kg^{-1}给药体积灌胃,*qd*,持续 30 d。

6 体质量监测和一般状态观察

于造模前以及 0、7、15、22、30、37、45、52、60 d 测量各组大鼠体质量,并观察大鼠进食、饮水、毛色变化、活动神态等情况。

7 肌无力 Lennon 评分

于造模前以及 0、7、15、22、30、37、45、52、60 d 测量各组大鼠肌无力 Lennon 评分,检测方法为:抓住大鼠尾部,让其前爪反复抓握鼠笼持续 30 s,参照 Lennon 分级法观察大鼠的肌无力症状进行评分,症状介于相邻评分等级之间者取其平均值。评分标准见表 1。

表 1 Lennon 评分标准

评分	大鼠肢体病变程度
0 分	无明显肌无力表现
1 分	撕咬无力,抓握力或叫声弱,活动轻度减少,易疲劳
2 分	身体隆起,头尾下垂,大腿外展,前肢趾弯曲,动作不协调
3 分	严重无力表现,无撕咬动作,肌肉震颤,呼吸困难,濒死或死亡

8 转棒疲劳仪行为学检测

于 d60 对各组大鼠进行转棒疲劳仪行为学检测。启动转棒疲劳仪,转棒转速设置逐渐加速至 4 ~ 40 r·min^{-1},时间最长为 5 min,同时记录大鼠跌落时的转棒速度。在正式实验前对大鼠进行 2 ~ 3 次预训练。

9 ELISA 检测血清 AChR-Ab、IgG、IgG1、IgG2b 水平

实验结束后麻醉大鼠,腹主动脉取血,于促凝管中静置 1 h 后,4 ℃温度下 3 000 r·min^{-1}离心 15 min,取上清分装,-80 ℃低温冰箱保存备用。按照 ELISA 说明书测定大鼠血清中 AChR-Ab、IgG、IgG1、IgG2b 水平。

10 ELISA 检测血清 IFN-γ、IL-17 和 TGF-β 水平

按照 ELISA 说明书测定大鼠血清中 IFN-γ、IL-17 和 TGF-β 水平。

11 流式细胞术测定外周血 T 淋巴细胞亚群 $CD4^+/CD8^+$ 比例

实验结束后麻醉大鼠,取 2 mL EDTA 抗凝外周血,按照大鼠外周血淋巴细胞分离液试剂盒说明书进行 PBMC 提取分离操作。将得到的 PBMC 用 PBS 重悬后,将流式抗体(CD3、CD4、CD8)按说明书推荐用量混合,并用 PBS 稀释,使最终体积每管细胞加入 50 μL 抗体稀释液,用移液枪轻轻吹匀,避光孵育 1 h。加入 500 μL PBS 混匀,3 000 r·min^{-1}离心 5 min。倒去上清,加入 300 μL PBS 将细胞吹匀,流式细胞仪上机检测。

12 脾脏、胸腺质量分数测定

各组大鼠收取血液后处死,分别取出脾脏、胸腺,使用滤纸去除剩余血液,将其置于无菌平皿中分别称重并记录,计算脾脏、胸腺质量分数(mg·g^{-1})。

13 腓肠肌组织 HE 染色

剔除后肢局部肌肉和皮毛,取大鼠左腿腓肠肌组织,置于 4% 多聚甲醛中固定 48 h,经脱水、石蜡包埋、切片后进行 HE 染色,中性树胶封片,在光学显微镜下观察组织病理学变化。

14 统计学处理

数据采用 SPSS 26.0 统计软件进行分析,使用 Graphpad prism 9 软件作图,实验数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。其中,多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),组间两两比较采用 LSD 检验(方差齐性)或 Dunnett's *T*3 检验(方差不齐性)。$P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结　果

1 体质量监测和一般状态观察

在第 2 次免疫后,EAMG 大鼠出现不同程度肌无力症状,表现为接种处皮肤出现脱毛、溃烂、结痂,足垫明显肿胀并伴有炎性渗出物,自发活动明显减少,毛发枯燥无光泽,精神萎靡,撕咬、鸣叫力弱,静止状态下呈隆背姿态。在第 3 次免疫后,以上肌无力症状更明显。马钱子低、中、高剂量和泼尼松治疗后,EAMG 大鼠肌无力症状均有一定程度好转。

造模前各组大鼠的体质量无显著性差异($P >$

0.05)；与对照组比较，模型组大鼠体质量在 15～37 d 显著降低（$P<0.01$ 或 $P<0.001$）；与模型组比较，马钱子低、中、高剂量组和泼尼松组大鼠体质量在 0～60 d 均无显著性差异（$P>0.05$）。结果见表 2。

表 2 马钱子总碱对 EAMG 大鼠体质量的影响 g，$\bar{x}\pm s$，$n=7$

时间点	对照组	模型组	马钱子低剂量组	马钱子中剂量组	马钱子高剂量组	泼尼松组
造模前	147.34±3.06	150.50±6.17	148.74±3.85	149.30±5.39	147.87±3.29	148.76±4.32
7 d	163.33±7.03	154.36±7.70	151.76±6.76	148.77±4.29	150.81±4.96	151.07±3.21
15 d	174.01±6.61	153.24±4.59[b]	152.74±8.82	150.93±4.03	150.87±5.80	154.01±0.81
22 d	183.19±8.25	155.49±4.68[b]	155.39±10.17	154.94±5.12	153.53±4.33	157.81±5.71
30 d	188.70±9.64	163.79±7.15[b]	156.63±6.20	159.91±7.81	160.10±6.16	165.40±4.02
37 d	194.03±10.18	175.80±6.17[a]	172.24±7.77	170.49±6.32	171.40±6.32	172.27±4.50
45 d	196.96±10.60	188.60±8.24	184.91±11.61	179.93±5.49	182.03±5.24	184.14±4.96
52 d	205.87±9.98	194.67±7.59	190.50±14.18	191.07±8.43	186.34±7.48	189.91±5.29
60 d	209.40±9.88	206.62±8.86	197.87±23.82	202.77±13.65	195.06±28.76	206.30±8.73

与对照组比较，a：$P<0.01$，b：$P<0.001$

2 肌无力 Lennon 评分

第 3 次免疫后，模型组大鼠 Lennon 评分＞1 分，提示 EAMG 大鼠模型构建成功。与对照组比较，模型组大鼠 Lennon 评分在 15～60 d 显著增高（$P<0.05$ 或 $P<0.001$）；与模型组比较，马钱子中剂量组和泼尼松组大鼠 Lennon 评分在 45～60 d 显著降低（$P<0.05$ 或 $P<0.001$），马钱子高剂量组大鼠 Lennon 评分在 52～60 d 明显降低（$P<0.05$），而马钱子低剂量组大鼠 Lennon 评分在 30～60 d 均无显著性差异（$P>0.05$）。结果见表 3。

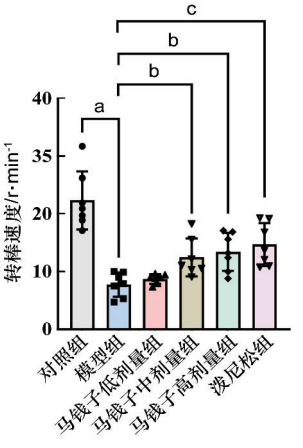
表 3 马钱子总碱对 EAMG 大鼠 Lennon 评分的影响 分，$\bar{x}\pm s$，$n=7$

时间点	对照组	模型组	马钱子低剂量组	马钱子中剂量组	马钱子高剂量组	泼尼松组
7 d	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
15 d	0.00±0.00	0.43±0.17[a]	0.36±0.23	0.29±0.25	0.50±0.00	0.29±0.25
22 d	0.00±0.00	0.71±0.25[b]	0.71±0.25	0.79±0.25	0.71±0.25	0.50±0.38
30 d	0.00±0.00	0.93±0.17[b]	0.93±0.17	0.79±0.25	0.86±0.23	0.79±0.25
37 d	0.00±0.00	1.07±0.17[b]	1.07±0.17	0.93±0.17	0.93±0.17	0.79±0.25
45 d	0.00±0.00	1.50±0.27[b]	1.43±0.32	1.07±0.32[c]	1.14±0.23	1.07±0.32[c]
52 d	0.00±0.00	1.79±0.36[b]	1.71±0.59	1.14±0.44[d]	1.29±0.45[c]	1.00±0.38[d]
60 d	0.00±0.00	1.86±0.35[b]	1.79±0.70	1.21±0.52[d]	1.36±0.52[c]	1.00±0.46[d]

与对照组比较，a：$P<0.05$，b：$P<0.001$；与模型组比较，c：$P<0.05$，d：$P<0.001$

3 转棒疲劳仪行为学检测

与对照组比较，模型组大鼠跌落时的转棒速度显著降低（$P<0.001$）。与模型组比较，马钱子中、高剂量组和泼尼松组大鼠跌落时的转棒速度显著升高（$P<0.05$ 或 $P<0.01$）。结果见图 1。

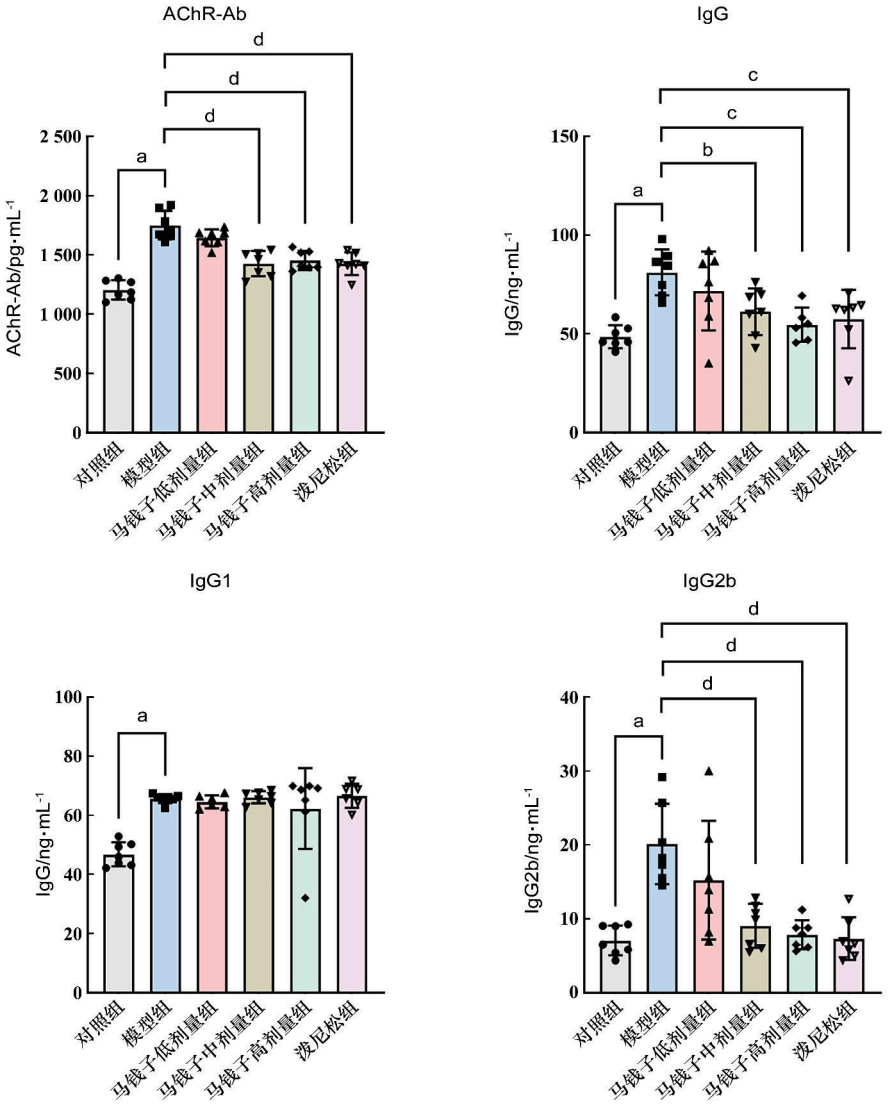


与对照组比较，a：$P<0.001$；与模型组比较，b：$P<0.05$，c：$P<0.01$

图 1 马钱子总碱对大鼠跌落时的转棒速度影响（$\bar{x}\pm s$，$n=7$）

4 马钱子总碱对 AChR-Ab、IgG、IgG1 和 IgG2b 水平的影响

与对照组比较，模型组大鼠血清 AChR-Ab、IgG、IgG1 和 IgG2b 水平均显著升高（$P<0.001$）。与模型组比较，马钱子中、高剂量组和泼尼松组大鼠血清 AChR-Ab 和 IgG2b 水平显著降低（$P<0.001$），马钱子中、高剂量组和泼尼松组大鼠血清 IgG 水平显著降低（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），马钱子低、中、高剂量组和泼尼松组大鼠血清 IgG1 水平无显著性差异（$P>0.05$）。结果见图 2。



与对照组比较，a：$P<0.001$；与模型组比较，b：$P<0.05$，c：$P<0.01$，d：$P<0.001$

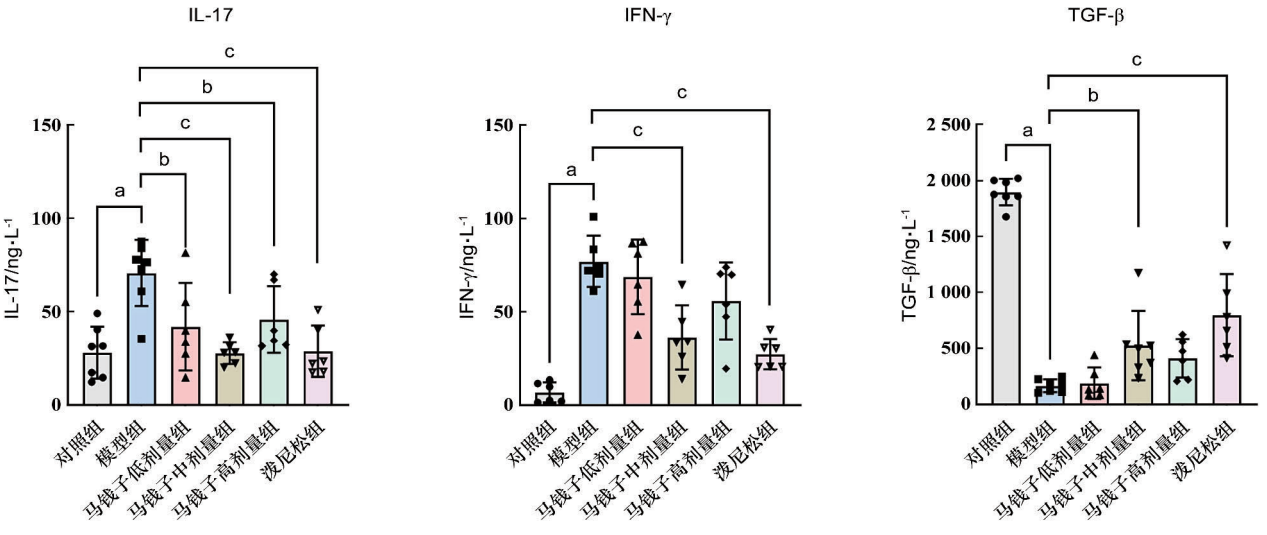
图 2　马钱子总碱对 EAMG 大鼠血清 AChR-Ab、IgG、IgG1 和 IgG2b 水平的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=6\sim7$）

5　马钱子总碱对 IFN-γ、IL-17 和 TGF-β 水平的影响

与对照组比较，模型组大鼠血清 IL-17、IFN-γ 水平显著升高（$P<0.001$），TGF-β 水平显著降低（$P<0.001$）。与模型组比较，马钱子低、中、高剂量组和泼尼松组大鼠血清 IL-17 水平显著降低（$P<0.05$ 或 $P<0.001$）；马钱子中剂量组和泼尼松组大鼠血清 IFN-γ 水平显著降低（$P<0.001$）；马钱子中剂量组和泼尼松组大鼠血清 TGF-β 水平显著升高（$P<0.05$ 或 $P<0.001$）。结果见图 3。

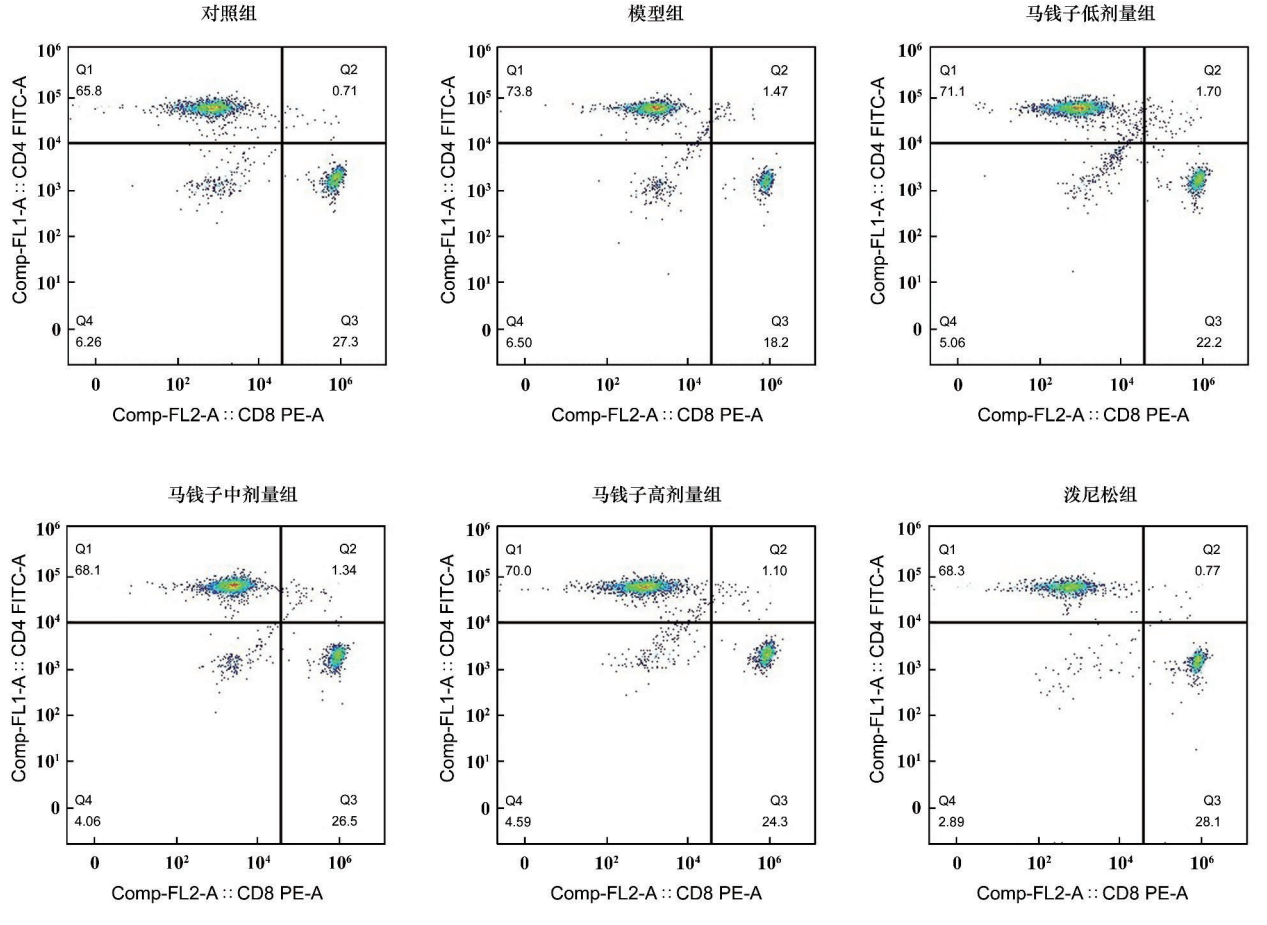
6　马钱子总碱对外周血 $CD4^+$、$CD8^+$ T 淋巴细胞分布的影响

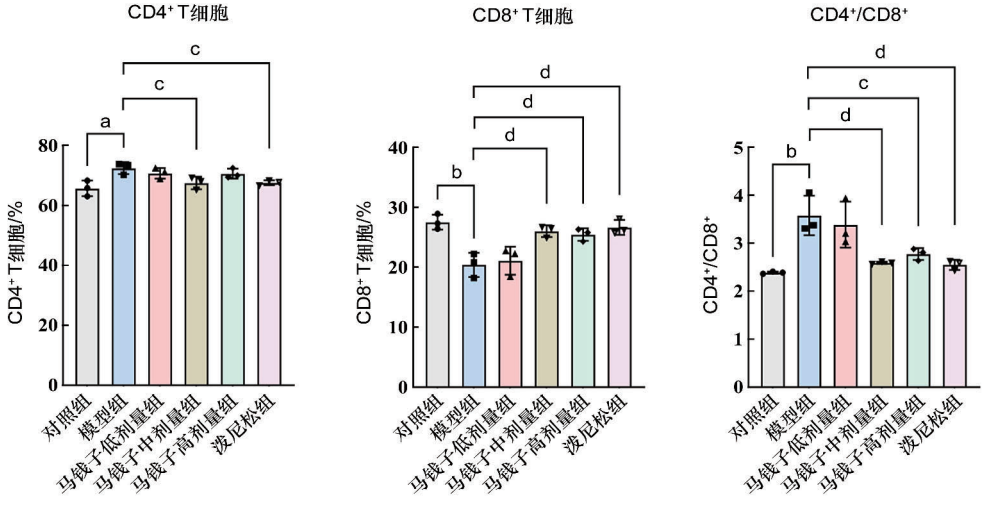
与对照组比较，模型组大鼠外周血 $CD4^+$ T 细胞占比、$CD4^+/CD8^+$ 比例显著升高（$P<0.01$ 或 $P<0.001$），$CD8^+$ T 细胞占比显著降低（$P<0.001$）。与模型组比较，马钱子中剂量组和泼尼松组大鼠外周血 $CD4^+$ T 细胞占比显著降低（$P<0.05$），马钱子中、高剂量组和泼尼松组大鼠外周血 $CD8^+$ T 细胞占比显著升高（$P<0.01$），马钱子中、高剂量组和泼尼松组大鼠外周血 $CD4^+/CD8^+$ 比例显著降低（$P<0.05$ 或 $P<0.01$）。结果见图 4。



与对照组比较，a：$P<0.001$；与模型组比较，b：$P<0.05$，c：$P<0.001$

图 3　马钱子总碱对 EAMG 大鼠血清 IL-17、IFN-γ 和 TGF-β 水平的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=6\sim7$）



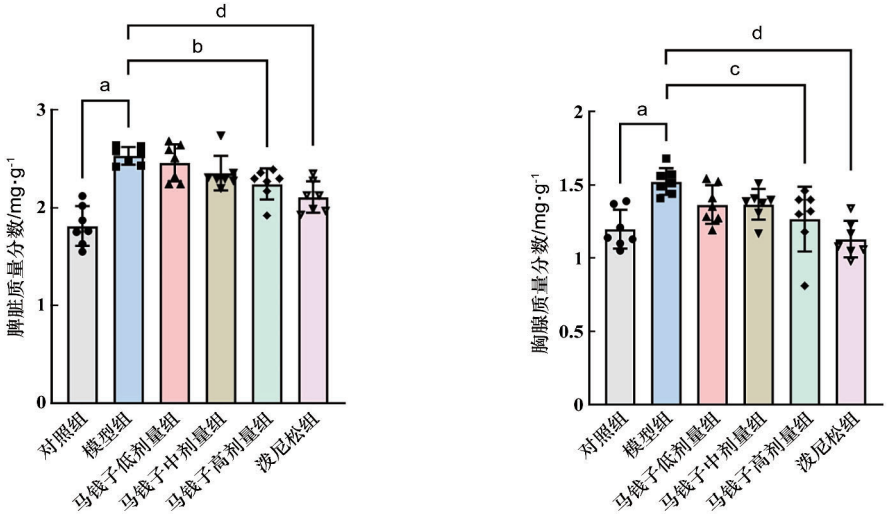


与对照组比较，a：$P<0.01$，b：$P<0.001$；与模型组比较，c：$P<0.05$，d：$P<0.01$

图 4　马钱子总碱对 EAMG 大鼠外周血 $CD4^+$、$CD8^+$ T 淋巴细胞分布的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

7　马钱子总碱对 EAMG 大鼠脾脏、胸腺质量分数的影响

与对照组比较，模型组大鼠脾脏和胸腺质量分数显著升高（$P<0.001$）。与模型组比较，马钱子高剂量组和泼尼松组大鼠脾脏质量分数显著降低（$P<0.05$ 或 $P<0.001$）；马钱子高剂量组和泼尼松组大鼠胸腺质量分数显著降低（$P<0.01$ 或 $P<0.001$）。结果见图 5。

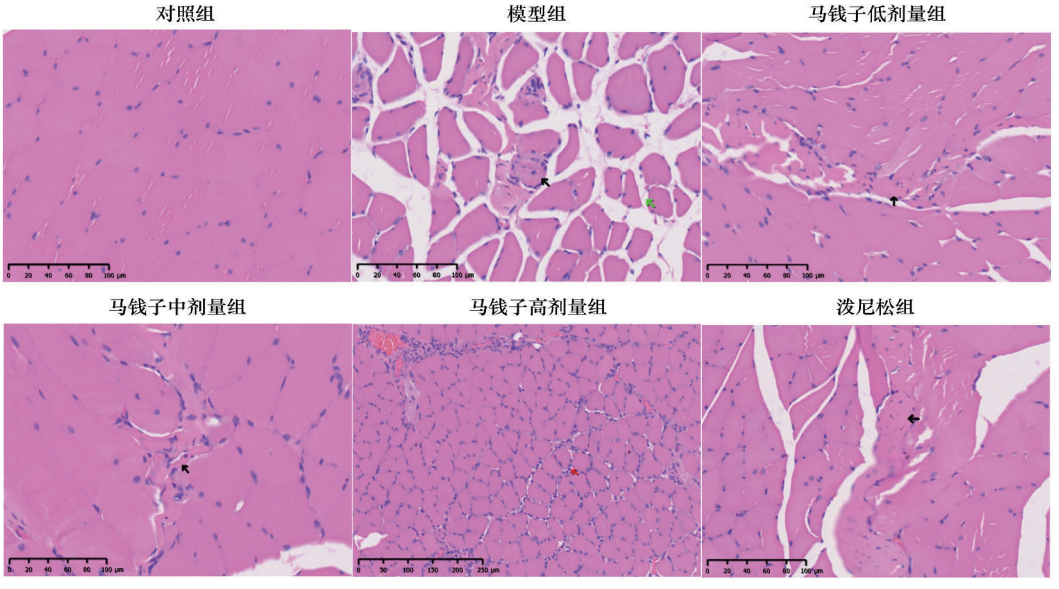


与对照组比较，a：$P<0.001$；与模型组比较，b：$P<0.05$，c：$P<0.01$，d：$P<0.001$

图 5　马钱子总碱对 EAMG 大鼠脾脏、胸腺质量分数的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=7$）

8　马钱子总碱对 EAMG 大鼠腓肠肌组织形态学的影响

对照组大鼠腓肠肌细胞形态正常，细胞核、细胞质均正常，肌内膜、肌束膜结构和形态均正常。模型组大鼠腓肠肌肌束膜坏死，肌肉间及肌间血管周围炎性细胞浸润，肌纤维间隙变大。与模型组相比，马钱子低、中、高剂量组和泼尼松组大鼠腓肠肌肌束膜坏死、肌肉间及肌间血管周围炎性细胞浸润、肌纤维间隙变大等现象得到不同程度改善，且马钱子中剂量组大鼠腓肠肌恢复效果最优，见图 6。



黑色箭头:腓肠肌细胞变性、坏死;红色箭头:肌纤维间炎性细胞浸润;绿色箭头:肌纤维间隙变大

图 6 马钱子总碱对 EAMG 大鼠腓肠肌组织形态学的影响(HE 染色,×200)

讨　论

MG 发生的关键是机体针对位于神经肌肉接头处 AChR 发生的免疫应答异常,AChR 多存在于神经肌肉接头的突触后膜、部分前膜、神经节细胞突触表面等,AChR-Ab 与 AChR 结合后使得 AChR 降解加快,导致突触后膜 AChR 数量减少,影响神经肌肉接头功能,因此 AChR-Ab 是引起 MG 的重要因素之一[8]。据研究报道[9-10],AChR 抗体以 IgG 型为主,其中 IgG1 和 IgG2b 亚型可以高效地与神经肌肉接头处突触后膜上的 AChR 结合并激活补体,最终导致 MG 的发生和发展。本研究使用 Lewis 大鼠,通过 R97-116 肽段免疫法构建 EAMG 大鼠模型。EAMG 大鼠是广泛使用的 MG 动物模型,该模型与 MG 具有相似的临床和病理生理学相关性[11]。在 EAMG 模型基础上,运用马钱子总碱不同剂量进行干预,结果表明马钱子总碱可通过降低血清 AChR-Ab、IgG 和 IgG2b 水平,起到治疗 MG 的作用。

马钱子又称番木鳖,为马钱科植物马钱(*Strychnos nux-vomica* L.)的干燥成熟种子。据中医药文献记载[12],马钱子味苦、性温,能通络止痛、散结消肿,可开通经络、透达关节,虽毒性强烈,但适量给药有起痿振颓之效[13]。马钱子含多种生物碱,其中马钱子碱和士的宁既是主要成分也是毒性成分,均能作用于神经中枢。研究表明[14],其主要成分士的宁作为甘氨酸受体特异性拮抗剂,可选择性阻断脊髓运动神经元和中间神经元的突触后抑制,提高脊髓兴奋功能,治疗剂量下能使脊髓反射的应激性提高,加快神经冲动在脊髓中的传导,缩短反射时间,增加肌张力,从而改善肌无力状态。马钱子碱能通过血脑屏障进入中枢神经系统,改善大脑皮层感觉中枢功能,可直接作用于脊髓的前角细胞,导致反射兴奋性显著增加;能增强乙酰胆碱与毒蕈碱 M1 受体的结合,降低血液中乙酰胆碱酯酶的含量,减少乙酰胆碱的分解。此外,马钱子碱能有效抑制 T 淋巴细胞增殖,减轻小鼠耳廓肿胀程度,表明其具有一定的细胞免疫抑制作用[15]。但是,大剂量的马钱子总碱可导致感觉多动、呼吸困难、全身强直性痉挛,最终可因呼吸肌痉挛或中枢神经系统衰竭引起死亡[16]。因此,采用马钱子总碱治疗 MG 时,安全剂量的判定非常重要,在一定范围内的高剂量用药能够增强疗效;反之,不良反应也会相应增加。

在 MG 的发生发展过程中,机体自身免疫稳态的失衡、致病抗体的产生均与 T 淋巴细胞密切相关,Th1、Th17、Treg 细胞亚群的平衡在 MG 中发挥重要作用[17]。T 淋巴细胞包括辅助性 T 细胞($CD4^+$)和细胞毒性 T 细胞($CD8^+$),两者相互制约,维持机体的免疫平衡[18-19]。$CD4^+$ T 细胞可以促进 B 淋巴细胞分化产生抗体,而 $CD8^+$ T 细胞可以抑制 T 细胞的分化和抗体的产生,作用的主要靶细胞是 Th 细

胞。IFN-γ是由 Th1 细胞分泌的促炎性细胞因子，能够介导多种信号转导使 T 细胞迁移至炎性反应部位并放大炎性反应，导致促炎因子的增加[20]。AChR 特异性 $CD4^+$ T 细胞在主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex，MHC)Ⅱ类分子协助下识别 AChR 表位，IFN-γ能够增加 MHC Ⅱ类分子的表达，并激活巨噬细胞，诱导 B 淋巴细胞成熟，促进 AChR-Ab 的生成[21-23]。IL-17 由另一种参与免疫调节反应的 Th17 细胞分泌，IL-17 可以作用于自身抗原，增强自身免疫应答引起自身免疫反应，MG 病程中 B 淋巴细胞介导的自身免疫、AChR-Ab 的产生依赖于 IL-17 的表达[24]。研究表明[25]，MG 患者血清 AChR-Ab 水平与 IL-17 呈正相关，且对 MG 发病起促进作用。TGF-β是主要由 Treg 细胞分泌的内源性免疫抑制性细胞因子，已被证实可通过抑制 Th1、Th2 细胞和 B 淋巴细胞的增殖，减少 IFN-γ的生成[26]。TGF-β作为 MG 的负性调节因素，其表达与 AChR-Ab 含量变化呈负相关。

本研究结果显示，EAMG 大鼠经马钱子总碱干预后 Lennon 评分显著降低，中剂量组降低更显著。马钱子总碱可明显提高 EAMG 大鼠跌落时的转棒速度，降低血清 IFN-γ、IL-17 水平，降低外周血 $CD4^+$ T 细胞占比及 $CD4^+/CD8^+$ 比例，降低胸腺和脾脏质量分数，血清 TGF-β水平和外周血 $CD8^+$ T 细胞占比显著升高。经药物干预后 EAMG 大鼠腓肠肌具有不同程度的改善，其中马钱子中剂量组大鼠腓肠肌组织恢复效果最优。

综上所述，马钱子总碱可能通过抑制 AChR-Ab 的生成，减少促炎性细胞因子 IFN-γ和 IL-17 的分泌，降低外周血 $CD4^+/CD8^+$ 比例，进而改善 EAMG 大鼠的肌无力症状。本研究为马钱子临床应用治疗 MG 提供了重要的理论基础，关于马钱子总碱对 EAMG 最佳疗效的具体剂量范围，在后续研究中有待进一步明确。

[参 考 文 献]

[1] BERRIH-AKNIN S. Myasthenia gravis: paradox versus paradigm in autoimmunity[J]. *J Autoimmun*, 2014, 52: 1-28.

[2] CARR AS, CARDWELL CR, MCCARRON PO, *et al*. A systematic review of population based epidemiological studies in Myasthenia Gravis[J]. *BMC Neurol*, 2010, 10(1): 46.

[3] HUDA R. Inflammation and autoimmune myasthenia gravis[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1110499.

[4] 常婷. 中国重症肌无力诊断和治疗指南(2020 版)[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2021, 28(1): 1-12.

[5] VANOLI F, MANTEGAZZA R. Current drug treatment of myasthenia gravis[J]. *Curr Opin Neurol*, 2023, 36(5): 410-415.

[6] KAMINSKI HJ, SIKORSKI P, CORONEL SI, *et al*. Myasthenia gravis: the future is here[J]. *J Clin Investig*, 2024, 134(12): e179742.

[7] 罗婷, 张艺凡, 楚兰, 等. 重症肌无力患者外周血淋巴细胞亚群水平及其临床意义[J]. 贵州医科大学学报, 2021, 46(6): 712-718.

[8] CONTI-FINE BM, MILANI M, KAMINSKI HJ. Myasthenia gravis: past, present, and future[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(11): 2843-2854.

[9] 王艳君, 孟庆芳, 王思, 等. 青蒿素对实验性自身免疫性重症肌无力大鼠 R97-116 抗体及细胞因子的影响[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2016, 23(3): 167-171.

[10] SAOUDI A, BERNARD I, HOEDEMAEKERS A, *et al*. Experimental autoimmune myasthenia gravis may occur in the context of a polarized Th1- or Th2-type immune response in rats[J]. *J Immunol*, 1999, 162(12): 7189-7197.

[11] LOSEN M, MARTINEZ-MARTINEZ P, MOLENAAR PC, *et al*. Standardization of the experimental autoimmune myasthenia gravis (EAMG) model by immunization of rats with Torpedo californica acetylcholine receptors: Recommendations for methods and experimental designs[J]. *Exp Neurol*, 2015, 270: 18-28.

[12] 黎明全, 王洪峰, 张炜煜, 等. 马钱子治疗痿病的的现状分析及思考[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(4): 954-955.

[13] 邹莹, 裘涛, 杨峰. 炙马钱子对实验性自身免疫性重症肌无力大鼠免疫调节机制研究[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(8): 2994-2998.

[14] 李凤霞, 胡致平, 聂富意, 等. 马钱子治疗神经系统疾病研究进展[J]. 新中医, 2020, 52(13): 17-20.

[15] 吴攀锋, 方居正. 马钱子药理毒理作用及减毒机理研究进展[J]. 江苏中医药, 2024, 56(3): 81-85.

[16] 谢阳, 伍淳操, 杨宗发, 等. 马钱子药理和毒性机制的研究进展[J]. 华西药学杂志, 2022, 37(1): 102-107.

[17] 王小冬, 孙博, 王菁华, 等. 辅助性 $CD4^+$ T 细胞亚群失衡在实验性自身免疫性重症肌无力大鼠发病机制中的作用[J]. 中国生物制品学杂志, 2010, 23(9): 930-934.

[18] 朱洁, 程杨, 许骏尧, 等. 升陷汤对实验性自身免疫性重症肌无力大鼠免疫机制研究[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(3): 717-720.

[19] JUTEL M, AKDIS CA. T-cell subset regulation in atopy[J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2011, 11(2): 139-145.

[20] WANG Z. Role of IFN-g in induction of Foxp3 and conversion of $CD4^+$ CD25-T cells to $CD4^+$ Tregs[J]. *J Clin Investig*, 2006, 116(9): 2434-2441.

[21] 王炜, 南振鸿, 凌振芬, 等. 干扰素-γ对重症肌无力患者自身抗体的调节作用及相关性分析[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2000(4): 234-236, 262.

[22] 李潇, 张艳华. 免疫检查点抑制剂致肌炎、心肌炎和重症肌无力重叠综合征 4 例临床特征分析[J]. 中国新药杂志, 2025, 34(23): 2570-2576.

[23] DALAKAS MC. Novel future therapeutic options in Myasthenia Gravis[J]. *Autoimmun Rev*, 2013, 12(9): 936-941.

[24] WANG CC, LI H, ZHANG M, *et al*. Caspase-1 inhibitor ameliorates experimental autoimmune myasthenia gravis by innate dendric cell IL-1-IL-17 pathway[J]. *J Neuroinflam*, 2015, 12(1): 118.

[25] SCHAFFERT H, PELZ A, SAXENA A, *et al*. IL-17-producing $CD4^+$ T cells contribute to the loss of B-cell tolerance in experimental autoimmune myasthenia gravis[J]. *Eur J Immunol*, 2015, 45(5): 1339-1347.

[26] KONG QF, SUN B, BAI SS, *et al*. Administration of bone marrow stromal cells ameliorates experimental autoimmune myasthenia gravis by altering the balance of Th1/Th2/Th17/Treg cell subsets through the secretion of TGF-β[J]. *J Neuroimmunol*, 2009, 207(1-2): 83-91.

编辑：姚佳敏/接受日期：2026-01-05