

酸脂清胶囊对尿酸盐结晶致急性痛风性关节炎 IL-4 的影响

陈雅静 文绍敦

(青海大学医学院, 西宁市昆仑路 16 号, 810001)

摘要 目的: 观测酸脂清胶囊对急性痛风性关节炎大鼠模型血清中 IL-4 (白介素-4) 表达的影响。方法: 采用 Coderre 方法造模建立急性痛风性关节炎大鼠模型, 造模后分别于 3h、6h、9h 取血, 应用 Elisa 法测定 IL-4 的含量。结果: 中药组的 IL-4 表达明显高于西药组及模型组 ($P < 0.05$)。结论: 酸脂清胶囊能明显促进急性痛风性关节炎大鼠模型血清中 IL-4 的表达, 对急性痛风性关节炎具有良好的治疗作用。

关键词 急性痛风性关节炎/中医药疗法; @ 酸脂清胶囊

Effect of Suanzhiqing Capsule on Level of IL-4 in the Serum of Rat Model with Urate Crystal Caused Acute Gouty Arthritis

Chen Yajing, Wen Shaodun

(Medical College of Qinghai University, Xining 810001)

Abstract **Objective:** Effect of Suanzhiqing Capsule on the Interleukin-4 (IL-4) level was observed. **Methods:** IL-4 Content was determined by Elisa method, in blood serum collected at 3-, 6-, 9-hour interval from acute gouty arthritis rat model established by the Coderre Method. **Results:** The IL-4 level of Chinese materia medica group was significantly higher than that of biomedicine group and of model group ($P < 0.05$). **Conclusions:** with an obvious increase of IL-4 expression, Suanzhiqing Capsule showed satisfactory therapeutic effect for acute gouty arthritis.

Key Words Acute Gouty Arthritis/ Chinese Medical Therapy; @ Suanzhiqing Capsule

痛风是由嘌呤代谢紊乱及(或)尿酸排泄减少所致, 特点是高尿酸血症伴痛风急、慢性关节炎反复发作, 肾实质性损害, 尿酸结石形成及痛风石沉积。多数痛风患者的最初临床表现是反复发作的急性痛风性关节炎^[1]。由文绍敦教授研制的酸脂清胶囊在临床上对急慢性痛风性关节炎有良效。本文旨在通过动物模型实验探讨其作用机理。

1 材料

1.1 实验动物: SD 大鼠 40 只, 雄性, 体重 200 ± 20 g, 一级动物, 由西安交通大学医学院实验动物中心提供。

1.2 实验试剂及药物: IL-4 测试盒: R&D. USA, 批号 0703086; 尿酸: Sigma 公司出品, 批号 so5000-044; 别嘌呤醇: 广东彼迪药业有限公司, 批号: 国药准字 H44021368; 酸脂清胶囊: 由青海大学医学院中药实验室制备。

2 方法

2.1 尿酸盐结晶(MSU)及尿酸钠溶液的制备: 将 5g 尿酸置 1000ml 沸水中, 用 NaHCO_3 调 PH 至 7.4, 再加热至 95°C 。室温冷却并轻轻搅拌, 4°C 冰箱冷却, 过滤, 得微晶型尿酸钠结晶。临用前高温灭菌, 用无菌生理盐水配成 100mg/ml 尿酸钠溶液^[2]。

2.2 分组与处理: 将 40 只大鼠随机分成 4 组: 酸脂清

胶囊治疗组(A组)10只; 别嘌呤醇治疗组(B组)10只; 模型组(C组)10只(只造模, 不治疗); 空白对照组(D组)10只。自然照明, 室温(22 ± 2) $^\circ\text{C}$, 适应性喂养 7 天。然后分别给 A 组酸脂清胶囊、B 组别嘌呤醇每日灌胃, 空白对照组与模型组每日正常喂养, 连续 9 天。除空白对照组外, 其他各组动物最后 1 次给药后 2h 采用改良的 Coderre 等方法造模^[3-6]。即用 1ml 无菌一次性注射器配 5 号针头, 倾斜 45° 进针, 注入大鼠右后肢足跖皮下 0.11ml MSU 混悬液(浓度 100mg/ml)。造模前测量各组足跖的容积。造模 3h、6h、9h 后, 分别从各组随机取 3 只大鼠, 麻醉, 从鼠尾或眼眶静脉丛取血, 然后处死动物。测量足跖的容积及 IL-4 的含量。

2.3 IL-4 含量的测定: 取大鼠血清, 用双抗体夹心 ABC-ELISA 法测定 IL-4 的含量。

2.4 统计学处理方法: 所有数据采用 SPSS 软件作统计分析并以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 经多样本均数的比较后行组间 q 检验, $P < 0.05$ 为有显著性差异。

3 结果与分析

3.1 药物对大鼠血清中 IL-4 含量的影响: 大鼠造模后 3h 比较 IL-4 含量, A 组明显高于 B、C 组, 有显著差异 ($P < 0.05$), 与 D 组无明显差异 ($P > 0.05$); B、C 组

与 D 组有显著差异 ($P < 0.05$)。6h 时 A 组明显高于 B、C 组, 低于 D 组有显著差异 ($P < 0.05$)。9h 时 4 组无明显差异 ($P > 0.05$)。B、C 组造模后由于炎症刺激使炎性因子大量增多, 抗炎因子减少, IL-4 水平明显低于 D 组; 而酸脂清胶囊治疗组抗炎因子 IL-4 水平较 B、C 组明显增高, 与 D 组无显著性差异, 说明中药治疗起到了抑制炎症反应的作用, 随后在抗炎过程中大量消耗抗炎因子, 故 IL-4 水平下降。其他两组则在炎症反应中逐渐刺激产生抗炎因子, 引起 IL-4 升高, 但仍低于 A 组。见表 1。

表 1 各组血清中 IL-4 的含量比较 (pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组数	样本数	时间		
		3h	6h	9h
A 组	3	21.158 $\pm$ 0.716 $^{\Delta}$ *	19.785 $\pm$ 0.157 $^{\Delta}$ *	20.723 $\pm$ 0.329
B 组	3	18.191 $\pm$ 0.236*	18.997 $\pm$ 0.152*	20.469 $\pm$ 0.837
C 组	3	18.563 $\pm$ 0.762*	19.239 $\pm$ 0.016*	21.435 $\pm$ 1.432
D 组	3	21.394 $\pm$ 0.395	21.406 $\pm$ 0.136	21.385 $\pm$ 0.308

注: 与 D 组比较, * $P < 0.05$; 与 C 组比较, $^{\Delta}$ $P < 0.05$; 与 B 组比较, * $P < 0.05$ 。

3.2 造模前后大鼠的足跖容积变化: 造模后 3h、6h、9h 比较大鼠足跖容积 A 组与 B、C 两组均有显著差异 ($P < 0.05$)。说明 A 组大鼠的足跖肿胀程度较其他两组要轻, 佐证了酸脂清胶囊对于防治急性痛风性关节炎有显著效果。见表 2。

表 2 造模前后大鼠的足跖容积变化 (cm, $\bar{x} \pm s$)

组数	样本数	时间		
		3h	6h	9h
A 组	3	0.400 $\pm$ 0.000 $^{\Delta}$ *	0.400 $\pm$ 0.100 $^{\Delta}$ *	0.467 $\pm$ 0.058 $^{\Delta}$ *
B 组	3	0.667 $\pm$ 0.208	0.767 $\pm$ 0.153	0.833 $\pm$ 0.153
C 组	3	0.833 $\pm$ 0.153	0.733 $\pm$ 0.058	0.900 $\pm$ 0.100

注: 与 B 组比较, * $P < 0.05$; 与 C 组比较, $^{\Delta}$ $P < 0.05$ 。

4 讨论

本实验中, 造模动物的局部表现与人类急性痛风性关节炎相类似, 为探求中药防治急性痛风性关节炎的研究及 IL-4 在炎症反应中的作用提供了可靠的动物模型。

急性痛风性关节炎应属于中医“湿热痹证”, 多由于素体肥胖, 过食膏粱厚味、醇酒肥甘, 而致湿热内蕴; 或由湿热之邪壅盛, 以致热极生毒, 湿热毒邪阻于经络, 流注关节, 血脉痹阻, 而出现红、肿、热、痛等症状, 故治疗当以清热祛湿、活血止痛为主。实验中酸脂清胶囊由大黄、姜黄、土茯苓 3 种药物组成。大黄为方中君药, 具有泻热通肠、凉血解毒、逐瘀通经之效。重用

大黄, 取其能通肠解毒之效, 通大便, 利小便, 是使邪有出路的有效途径。姜黄为方中佐药, 具有破血行气、通经止痛之功效。土茯苓为方中使药, 具有除湿解毒、通利关节之效, 并且土茯苓根茎中含有的多种苷、酸、醇类化学成分可降低血尿酸。其与大黄配伍开泻前后二阴, 使浊毒随大小便而出, 邪去正安, 同时通经络、止痹痛。

临床和实验均证实, MSU 在滑膜组织沉积并脱落是引起急性痛风的病理基础, PGE2 (前列腺素 E2)、LTB4 (白三烯 B4)、IL-1 (白介素 -1)、IL-6 (白介素 -6)、IL-8 (白介素 -8)、TNF (肿瘤坏死因子) 等参与炎症过程。近年来一些研究表明痛风受累程度与单核吞噬细胞的状态有关, MSU 结晶诱导未分化单核细胞 TNF-2、IL-1 β (白介素-1 β) 以及 IL-6 的分泌, 从而使内皮细胞选择素 E 得以表达和中性粒细胞的二次浸润^[7]。本实验利用 MSU 结晶诱发急性痛风发作, 结果显示中药治疗急性痛风性关节炎能引起 IL-4 显著的变化, 说明 IL-4 在炎症过程中起到了抗炎因子的作用。具体原因与 IL-4 的功能有关: IL-4 主要由活化的 Th2 细胞和肥大细胞产生。IL-4 是重要的抗炎性细胞因子, 具有强烈抑制 IL-1、IL-6、IL-8 和 TNF-a (肿瘤坏死因子-a) 等炎性细胞因子合成作用, 能在 mRNA 水平上阻断单核细胞、CD4 $^{+}$ 或 CD8 $^{+}$ T 细胞。

本研究的结果表明, 酸脂清胶囊能降低足跖肿胀程度、升高 IL-4 的含量, 其机制可能与大黄、姜黄等药物的生物活性成分相互作用于其效应靶有关, 但酸脂清胶囊影响 IL-4 变化的具体机理还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 施桂英, 栗占国. 关节炎概要. 北京: 中国医药科技出版社, 2000; 349-534.
- [2] 姜宏, 惠祁华, 陈咏真, 等. 痛风平对实验性急性痛风性关节炎抗炎消肿镇痛作用的研究. Chinese Journal of Information on TCM, 2005, 12 (3): 30.
- [3] Couser WG. Mediation of glomerular immunine injury. J Am Soc Nephrol, 1990, 1: 13.
- [4] Coderre TJ, Wall PD. Ankle joint urate arthritis in rat: an alternative animal model of arthritis to that produced by freund's Adjuvant. Pain, 1987, 28: 379.
- [5] 中华人民共和国卫生部药政局. 中药新药研究指南 (药学, 药理学, 毒理学), 1997; 120-121.
- [6] 张均田. 现代药理实验方法. 北京: 北京医科大学, 中国协和医科大学联合出版社, 1998; 1156.
- [7] Landis RC, Yagnik DR, Florey O et al. Safe disposal of inflammatory monosodium urate monohydrate crystals by differentiated macrophages. Arthritis Rheum, 2002, 46 (11): 3026-3033.

(2007-09-19 收稿)