

关节炎丸对大鼠佐剂性关节炎治疗作用的实验研究

俞小芬 薛盟举 郑烈

(甘肃中医学院,兰州市定西东路 35 号,730000)

摘要 目的:探讨关节炎丸治疗类风湿性关节炎的作用机制。方法:制作实验性关节炎(Adjuvant Arthritis, AA)大鼠动物模型,观察关节炎丸对大鼠血浆 TNF- α 及 IL-1 β 影响,并与雷公藤阳性对照组进行比较。结果:关节炎丸组抑制炎症组织中 TNF- α 及 IL-1 β 优于雷公藤组。结论:关节炎丸提高免疫通过影响炎症介质的释放而产生抗炎镇痛和抗风湿作用。

关键词 类风湿性关节炎/中医药疗法; @ 关节炎丸

Labotaray Study on Therapeutic Effect of Arthritis Pill on Rats with Adjuvant Arthritis

Yu Xiaofen, Xue Mengju, Zheng Lie

(Gansu College of Chinese Medicine, Lanzhou 730000)

Abstract **Objective:** to explore the action mechanism of Arthritis Pill for rheumatoid arthritis. **Methods:** Impact of the pill on TNF- α and IL-1 β was observed on plasma of rats with adjuvant arthritis, and compared with positive control group which were treated with Tripterygii wilfordii Radix. **Results:** The pill was superior to the control medicinal in suppressing TNF- α and IL-1 β of inflammatory tissue. **Conclusion:** Immunity Enhancement, anti-inflammatory and anti-rheumatism action of the Arthritis pill acts on arresting releasing of inflammatory mediators.

Key Words Rheumatoid Arthritis/ Chinese Medical Therapy; @ the Arthritis Pill

类风湿性关节炎(Rheumatoid Arthritis, RA)是一种以关节滑膜炎为特征的慢性全身性自身免疫性疾病。牟慧琴教授通过对临床经验的总结,研制出便于 RA 患者服用并可巩固疗效的中成药“关节炎丸”,在临床中疗效显著。为进一步探讨关节炎丸治疗 RA 的作用机理,我们用 Wistar 大鼠制作实验性关节炎(Adjuvant Arthritis, AA)模型,观察关节炎丸抗风湿的作用机理,现将实验资料报道如下。

1 材料与方

1.1 实验动物与分组:Wistar 大鼠 50 只,雌雄各半,年龄为 45~50 天,体重(200 $\pm$ 20)g,购于甘肃中医学院动物科研实验中心(实验动物质量合格证编号和实验动物使用许可证号:SCXK(H)2004-0006-0000005),动物饲料:由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供。50 只大鼠雌雄分开于实验前驯养 1 周后,按体重编号,随机分为 5 组(每组雌雄各半):正常对照组、模型对照组、关节炎丸高剂量治疗组(GJYWH 组)、关节炎丸低剂量治疗组(GJYWL 组)、雷公藤治疗组各 10 只。

1.2 药品与试剂:关节炎丸由制附子、制川乌、细辛、党参、黄芪、桂枝、白芍、甘草等配伍组成,其中制附子、制川乌、细辛应先煎 30min 后,再把其余药放入一起水煎、过滤并加热浓缩至相应浓度。雷公藤片剂给药时临时研粉调制,将 5mg 的雷公藤片研末再加入 50ml 的水配成溶液。完全福氏佐剂(CFA)购于 Sigma 公司;TNF- α 试剂盒由北京科美东雅生物技术有限公司提供

(生产批号:20060725),IL-1 β 由北京华英生物技术研究所提供。

1.3 AA 大鼠模型制备与检测方法:在实验第 1 天进行造模:用 75%酒精对除正常对照组外大鼠右足跖进行消毒,将 CFA0.1ml/只注射于大鼠右足跖皮下(于后肢足跖皮内注射 FCA 0.1ml 的量能明显提高 AA 大鼠造模的成功率,较以前文献报道的 FCA0.05ml 注射量,背部多点注射法等有较大的改进^[1])。正常对照组大鼠则注射生理盐水 0.1ml/只。各组动物最后一次灌胃后,禁食不禁水 24h 后全部处死取材。血清标本的制备:股动脉采血 5ml,37℃ 水中静置 30min,以 3000r/min,离心 15min,取上清液放入尖底试管中,置于 4℃ 冰箱内保存,送兰州解放军总院药物研究所待测 TNF- α 及 IL-1 β 。

1.4 给药方法:给药第 3 天起开始定时灌胃给药,每日 1 次,根据人和动物间按体表面积折算的等效剂量比值,关节炎丸浓煎液 GJYWH 组 3ml/次/只, GJYWL 组 1.5ml/次/只,灌胃前将药液静置到室温,摇匀给药;雷公藤多苷片溶液研制后给予 2ml/次/只,摇匀给药;正常组、模型组给予等量生理盐水。

1.5 统计学处理:对所有符合实验方案要求的数据均输入计算机,用 SPSS11.0 统计软件处理,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,根据方差齐性采用单因素方差分析(One-Way-ANOVA), $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

结果显示,与正常组比较,模型组大鼠血清中的

IL-1 β 、TNF- α 含量显著升高;与模型组比较,GJYWH 组、GJYWL 组及雷公藤组均可显著降低大鼠血清中的 IL-1 β 、TNF- α 含量,且以 GJYW 大剂量组治疗效果为优(数据资料略)。

表1 各组大鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 含量的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	IL-1 β (ng/ml)	TNF- α (ng/ml)
正常组	10	0.031 $\pm$ 0.011	0.706 $\pm$ 0.142
模型组	10	0.074 $\pm$ 0.014 [*]	1.056 $\pm$ 0.191 [*]
GJYWH 组	10	0.035 $\pm$ 0.011 ^{Δ}	0.720 $\pm$ 0.128 ^{Δ}
GJYWL 组	10	0.042 $\pm$ 0.012 ^{Δ}	0.767 $\pm$ 0.166 ^{Δ}
雷公藤组	10	0.039 $\pm$ 0.013 ^{Δ}	0.786 $\pm$ 0.131 ^{Δ}

注:与空白组比较^{*} $P < 0.05$;与模型组比较 ^{Δ} $P < 0.05$ 。

3 讨论

RA 的病因与发病机制目前尚未完全阐明,但随着细胞分子学和免疫学的深入研究,RA 动物模型的建立,人们发现细胞因子、TH1/TH2 细胞平衡、性激素等在 RA 的发病中起重要作用。其中人们已证实 TNF- α 及 IL-1 β 在 RA 进展中起着决定性作用^[2]。我们在实验中发现,造模后第 28 天,关节红肿明显,TNF- α 和 IL-1 β 水平明显升高,提示这两种细胞因子在 RA 的病

理过程中扮演了关键角色,与上述报道相符合。经雷公藤多苷片和关节炎丸治疗后,随着 TNF- α 和 IL-1 β 水平下降,关节红肿现象也有不同程度的减轻,显示了抑制这两种细胞因子在 RA 治疗中的重要作用。

关节炎丸是牟教授治疗 RA 活动期的经验方,具有温经散寒、益气通阳除湿、养阴清热、和营行痹、缓急止痛等功效。该方用于治疗 RA 活动期具良好临床效果,尤其是改善患者的晨僵、关节疼痛、关节肿胀、关节压痛等均较雷公藤多苷片为优,且起效较快。关节炎丸是通过调节全身免疫功能,抑制 TNF- α 的表达或通过和 TNF- α 受体的特异性结合而阻断其生物学效应,阻断了炎症反应的核心环节,从而打断细胞因子的“瀑布效应”,降低 IL-1 β 水平,减轻关节炎症而达到治疗效果。

参考文献

- [1] 冯芳,丁志建,刘俊.佐剂性关节炎大鼠模型的实验研究.天津药学,2004,4,16(2):1-3.
- [2] Cvetkovic JT, Wallberg-Jonsson S, Stegmayr B, et al. Susceptibility for and clinical manifestations of RA are associated with polymorphisms of the TNF- α , IL-1 β and IL-1Ra genes. J Rheumatol, 2002, 29(2): 212-219.

(2007-05-21 收稿)

肿胀治验医案 2 则

王立忠

(河南省中医院,郑州市金水区东风路 6 号,450002)

关键词 肿胀/中医药疗法

1 肢体肿胀

王某,女,26 岁。两上肢肿胀,时肿时消,间断性发作 10 年之久。现每周发作 1 次,发作时两上肢肿甚,两手面及手指肿胀、坚硬,上肢活动不便,两手活动受限,工作中操作困难,于 2006 年 9 月 17 日就诊。症见:右上肢肿甚,连及手部、手指,按之坚硬,活动受限,舌质暗淡,苔薄白而腻,脉弦细而滑。辨证:病初气结在经,病久血伤入络,气滞血瘀,气化功能失常,水湿停滞,发为肢肿。治以解郁行滞,健脾补肾利水,佐以安神之品。方药:丹参、淫羊藿、白芍、泽泻各 15g,白术、郁金、肉苁蓉各 12g,三棱、莪术、甘草各 6g,巴戟天、防己、泽兰、柏子仁各 10g,酸枣仁 20g,7 剂,水煎服,日服 1 剂,分 2 次服。

9 月 18 日复诊:服上药后上肢肿胀发作次数减少,肿胀减轻,睡眠较前好转,舌脉同前。方药:制香附、白术、防己、柏子仁各 10g,柴胡、郁金、泽兰各 10g,三棱、莪术各 9g,白芍、酸枣仁各 20g,淫羊藿、丹参、泽泻各 15g,茯苓皮 30g,甘草 5g,7 剂。

10 月 2 日三诊:两上肢肿胀基本消失,睡眠如常人。按上方去柏子仁、酸枣仁,三棱、莪术减为 6g,加生薏苡仁 30g、桂枝 9g,继服 7 剂。

10 月 11 日四诊:偶有轻微发作,余无其他不适,舌质淡红,苔薄白。再以益气健脾、活血通络利水治之。方药:生黄芪、白术、赤芍、昆布、海藻各 12g,防己、牡丹皮各 10g,白芍 20g,茯苓皮、薏苡仁、忍冬藤、丝瓜络、生牡蛎各 30g,连翘 15g,10 剂。药后肿胀完全消退。

按语:本例肢体肿胀,由于病久失治,日渐加重,此乃肝失疏泄,气滞血凝,影响血液正常运行,遂有体液结聚而肢肿。因此,方中重用柴胡、香附、郁金、三棱、莪术、丹参、泽兰等,疏肝解郁、行滞化痰;白芍养血柔肝利水;黄芪、白术、防己、茯苓皮健脾利水;淫羊藿、肉苁蓉、巴戟天补肾以增强气化功能;其中昆布、海藻、薏苡仁、连翘、忍冬藤、丝瓜络等,消痰通络利水。

2 血管神经性水肿

李某,女,52 岁。3 天前,突然出现颜面、头皮、口唇、耳部浮肿瘙痒,继则遍及全身浮肿,瘙痒尤甚,经某医院诊为“血管神经性水肿”,经用扑尔敏、强的松等药物治疗,未见好转,于 2006 年 5 月 14 日前来就诊。症如前述,舌红,苔薄白而滑,脉滑数。辨证:感受风热之邪,脉络挛急,血瘀水停所致。治以祛风清热,活血利水,消肿止痒。方药:荆芥、防风、防己、升麻、蝉蜕、牛蒡子、浮萍、地肤子各 10g,当归、连翘各 20g,川芎、赤芍各 12g,甘草 6g,7 剂,服法同上。

5 月 22 日复诊:服上药浮肿明显消退,瘙痒渐止。舌淡红,苔薄白,脉滑缓。仍按上方继服 7 剂。

6 月 29 日三诊:上述症状完全消失。仍按上方将当归、连翘减为 15g,继服 5 剂,以资巩固。

按语:本病突然发生,多为风邪为患。方中荆芥、防风、防己、升麻、蝉蜕、牛蒡子、浮萍、地肤子祛风解表、清热透疹止痒、利水消肿;重用当归配芍药、川芎活血祛瘀;重用连翘以疏风散热、消肿散结;佐以甘草调和诸药。

(2007-04-26 收稿)