

脊痛宁胶囊对风寒湿痹型类风湿关节炎大鼠的治疗作用

熊丽¹, 杜肖², 陈宝忠¹, 王炎焱^{3*}, 贺晓丽^{2*}

- (1. 黑龙江中医药大学基础医学院, 哈尔滨 150040;
2. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193;
3. 中国人民解放军总医院, 北京 100853)

【摘要】 目的:探讨脊痛宁胶囊(JTN)对风寒湿痹型类风湿关节炎大鼠的治疗作用,为祛风通络活血法治疗风寒湿痹关节炎临床应用提供实验依据。方法:选取90只雄性Wistar大鼠,除正常组外,其余各组分2次在大鼠背部、尾根部多点皮内注射牛Ⅱ型胶原与完全弗氏佐剂,制备胶原诱导性关节炎(CIA)大鼠模型,在此基础上采用“风、寒、湿”环境因素连续刺激14 d复制类风湿关节炎风寒湿痹大鼠模型。设模型组、雷公藤多苷组(0.02 g·kg⁻¹)和脊痛宁低、中、高剂量组(0.2, 0.4, 0.8 g·kg⁻¹),ig给药,连续28 d。观察各组大鼠体重、关节肿胀和多发关节炎指数的影响,检测血清中白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平,苏木素伊红(HE)染色观察大鼠踝关节病理变化情况,并对病理损伤程度进行评分。结果:与正常组比较,模型组体重增长较慢,关节炎指数明显升高,后肢关节严重肿胀,血清IL-6和TNF- α 的水平明显升高($P < 0.05$),踝关节可见严重滑膜炎、软骨侵蚀及骨破坏。与模型组大鼠比较,各治疗组可改善风寒湿痹型类风湿关节炎大鼠体重,降低关节肿胀率、关节炎指数($P < 0.05, P < 0.01$),明显降低血清中IL-6和TNF- α 水平($P < 0.05$)。病理结果显示,脊痛宁和雷公藤组较模型组踝关节炎细胞浸润减轻,软骨及骨破坏减弱,病理评分降低($P < 0.05, P < 0.01$)。结论:脊痛宁胶囊可明显减轻风寒湿痹大鼠关节炎和病理损伤,降低血清中炎症因子水平,提示脊痛宁胶囊对风寒湿痹型类风湿关节炎大鼠有积极的治疗作用。

【关键词】 脊痛宁胶囊; 类风湿关节炎; 风寒湿痹; 祛风通络活血法

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2017)01-0140-06

【doi】 10.13422/j.cnki.syfjx.2017010140

【网络出版地址】 <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161027.1503.032.html>

【网络出版时间】 2016-10-27 15:03

Therapeutic Effect of Jitongning Capsule on Rats with Wind-cold-dampness Retention Type Rheumatoid Arthritis

XIONG Li¹, DU Xiao², CHEN Bao-zhong¹, WANG Yan-yan^{3*}, HE Xiao-li^{2*}

- (1. School of Basic Medical Sciences, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;
2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100193, China; 3. Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

【Abstract】 **Objective:** To explore the therapeutic effect of Jitongning capsule (JTN) on rats with wind-cold-dampness retention type rheumatoid arthritis, and provide experimental basis for the clinical application of dispelling wind, removing obstruction in the meridians and promoting blood circulation (Qufeng Tongluo Huoxue method) in the treatment of wind-cold-dampness retention type rheumatoid arthritis. **Method:** The 90 male Wistar rats were randomized into the normal group, control group, high dose (JTN, 0.8 g·kg⁻¹) group, middle dose

【收稿日期】 20160301(003)

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81373529)

【第一作者】 熊丽, 硕士, 从事中药药理学研究, Tel:010-57833504, E-mail:1058394625@qq.com

【通讯作者】 *王炎焱, 博士, 副主任医师, 从事中西医结合治疗风湿免疫性疾病的基础和临床研究, E-mail:wangyan1990@163.com;

*贺晓丽, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 从事中药药理学研究, Tel:010-57833233, E-mail:xlhe@implad.ac.cn

(JTN, $0.4 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) group, low dose (JTN, $0.2 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) group and tripterygium glycosides (TG, $0.02 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) group. Except those in normal group, bovine type II collagen and complete Freund adjuvant mixture emulsion was intracutaneously injected into the other rats on the 1st and 14th day to induce the rat Collagen-Induced Arthritis (CIA) model. Besides, the ‘wind, cold, wet’ environmental factors were used for stimulation for 14 consecutive days to duplicate rat models of wind-cold-dampness retention type rheumatoid arthritis. After model establishment, JTN ($0.2, 0.4, 0.8 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) or TG ($0.02 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) were administered intragastrically once a day, for 28 days in drug treatment groups. The body weight, articular swelling degree of rats and the arthritis index (AI) were observed. The levels of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in serum were detected. Hematoxylin-eosin (HE) staining method was used to observe the degree of articular histopathological changes and the pathology score of rat ankle joint damage was also evaluated. **Result:** As compared with the normal group, the joint of rats in model group showed swelling, with slower body weight growth, significantly increased AI, IL-6 and TNF- α levels in serum ($P < 0.05$), with joint synovial hyperplasia, inflammatory cells infiltration, and cartilage erosion. As compared with the model group, the body weight was increased in various treatment groups, with decreased articular swelling rate and AI ($P < 0.05, P < 0.01$), and significantly decreased levels of IL-6 and TNF- α in serum ($P < 0.05$). The pathological results also showed that JTN groups and TG group could alleviate inflammatory cells infiltration, destruction of bone and cartilage, and reduce pathological scores ($P < 0.05, P < 0.01$). **Conclusion:** The JTN capsule could significantly reduce joint inflammation and the degree of pathological damage of knee joints, and decrease the level of inflammatory factors, suggesting it has a positive therapeutic effect on model rats with wind-cold-dampness retention type rheumatoid arthritis.

[**Key words**] Jitongning capsule (JTN); rheumatoid arthritis; Wind-cold-dampness retention type rheumatoid arthritis; Qufeng Tongluo Huoxue method

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种慢性自身免疫性疾病,其主要病理特征是关节滑膜炎及软骨与骨组织的破坏,临床表现为关节疼痛、僵硬、变形甚至活动受限等功能障碍而致残。据统计,全球 RA 的发病率占 0.1% ~ 1%^[1],国内 RA 患病率 0.32% ~ 0.36%,其发病率居自身免疫性疾病的首位,未经治疗的 RA 患者 2 年致残率达 70%,是人类丧失劳动力和致残的主要病因之一^[2-3]。RA 的发病机制不明,临床上常用非甾体类抗炎药缓解症状,但长期服用存在副作用,以中医理论为指导的中成药复方及以有效成分为主的天然药物具有多环节、多层次、多靶点综合作用的特点,其在改善生活质量、缓解症状、降低致残率等方面体现出重要的临床价值和独特优势^[4-5]。

RA 属中医“痹证”的范畴,《素问·痹论篇》曰:“风寒湿三气杂至,合而为痹”,认为痹证的发生与风寒湿环境因素相关。脊痛宁胶囊 (Jitongning capsule, JTN) 为中国人民解放军总医院经验方,以祛风除湿散寒为主,兼可补益肝肾、活血通络止痛,临床上对强直性脊柱炎疗效确切^[6]。动物实验研究亦证实脊痛宁胶囊具有显著的抗炎镇痛作用^[7-8]。本研究模拟自然风寒湿环境,结合胶原诱

导性关节炎 (collagen-induced arthritis, CIA) 的方法建立风寒湿痹型类风湿关节炎大鼠模型。通过观察血清中致炎因子水平、滑膜炎及软骨的变化,探讨以祛风通络活血法为组方原则的脊痛宁胶囊对风寒湿痹型类风湿关节炎大鼠的治疗作用,并探讨其作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 Wistar 雄性大鼠 90 只,体重 (180 ± 20)g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,合格证号 SCXK(京)2014-0004。饲养于中国医学科学院药用植物研究所清洁级动物房,自由饮水和摄食。

1.2 药物及试剂 脊痛宁胶囊 (中国人民解放军总医院科技开发中心,批号 140801),制法为称取杜仲 700 g,独活 700 g,制川乌 450 g,延胡索 700 g,赤芍 450 g,葛根 450 g,甘草 280 g 等 7 味中药,加 75% 乙醇 6 倍量,回流提取 2 次,2 h/次,合并 2 次滤液,再浓缩至相对密度为 1.30 (40 °C 热测) 的浸膏,80 °C 减压干燥,粉碎成细粉,装胶囊,即得。经计算,提取物得率为 13.4%。临用前将胶囊打开,其内容物用生理盐水配成相应浓度后超声溶解。雷公藤多苷片 (tripterygium glycosides, TG, 湖南千金

协力药业有限公司,批号 Z43020138),研磨后用生理盐水配成相应浓度并在超声中溶解。牛 II 型胶原 (bovine type II collagen, C II),弗氏完全佐剂 (美国 Chondrex 公司,批号分别为 20022,7001);肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素 (IL)-6 酶联免疫吸附试验 (ELISA)试剂盒 (美国 RapidBio Lab 公司,批号分别为 3R080,3R035)

1.3 仪器 ELX800 型全自动酶标仪 (美国 Biotek 公司),鼠足趾容积测量仪 (实验室自制),游标卡尺 (中美得力工具有限公司),FINESSE ME + 型轮转式切片机 (美国 Thermo 公司),Scope A1 型正置显微镜 (德国 Zeiss 公司)。

2 方法

2.1 风寒湿痹型类风湿关节炎大鼠模型的建立 大鼠适应性喂养 1 周后,随机选取 13 只大鼠作为正常组,其余 77 只参考文献[9]造模。取 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ C II 置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中过夜。与含有 $3.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 卡介苗的完全弗氏佐剂 (CFA) 等体积混合,充分研磨至乳白色黏稠液体,使之乳化,胶原终质量浓度为 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。于大鼠的背部 2 或 3 点及尾根部 1 处进行皮内注射胶原乳化剂 0.3 mL 。14 d 后按初次致炎的方法和剂量重复致炎,正常组注射等剂量的生理盐水。风寒湿刺激条件:自致炎第 1 天起,将致炎大鼠置于 $5\sim 7\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水中,水深 2 cm ,伴以 3 档风力,站立其中 $20\text{ min}^{[10]}$,每天 1 次,连续 14 d。定期观察大鼠的一般情况、关节肿胀程度、颜色、关节活动情况等变化。

2.2 动物分组及给药 致炎 15 d,根据关节炎指数 (arthritis index, AI) ≥ 4 筛选模型建立成功的 65 只大鼠,随机分为模型组、雷公藤多苷 ($0.02\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组和脊痛宁低、中、高剂量 ($0.2, 0.4, 0.8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组,每组 13 只。ig 给药,连续 28 d。正常组和模型组按 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ ig 生理盐水。

2.3 检测指标

2.3.1 大鼠体重 致炎前起,每周称量并记录大鼠体重。

2.3.2 关节肿胀率 致炎前起,每周用自制关节容积测量器测量大鼠踝关节容积,并计算出肿胀率,肿胀率 = $(V_t - V_0)/V_0$,其中 V_0 为造模前的容积, V_t 为造模后的容积。

2.3.3 AI 致炎第 10 d 起,每周按大鼠多发性关节炎全身 5 级评分法对病变程度进行评分^[11],0 分,正常;1 分,足趾关节红肿;2 分,多个趾关节或趾跖关节肿胀;3 分,踝关节以下的足爪肿胀;4 分,全

部足爪肿胀。累计四肢关节炎积分为每只大鼠的关节炎指数,最高为 16 分。

2.3.4 血清炎症因子 致炎 35 d 从各组大鼠的球后静脉丛取血,收集全血,待凝固后离心取血清,于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。采用 ELISA 试剂盒测定各组大鼠血清中 TNF- α 和 IL-6 水平。

2.3.5 关节病理切片制备及病理评分^[12] 致炎 42 d 处死大鼠,留取右踝关节固定,脱钙,常规苏木素伊红 (HE) 染色。光镜下观察各组大鼠关节滑膜的病理变化,并进行评分。0 分,关节结构正常,关节间隙均匀,滑膜组织无炎症、增生,无软骨及骨破坏;1 分,关节结构基本完整,滑膜增生,血管增加,少量炎细胞浸润,可见轻度软骨表层破坏;2 分,关节间隙基本正常,形成血管翳,大量炎性细胞浸润,软骨侵蚀破坏明显,无骨破坏;3 分,关节结构破坏,大量血管翳形成,广泛软骨侵蚀及骨破坏。

2.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计软件,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间进行单因素方差分析,方差齐则采用 LSD 进行比较,方差不齐则采用秩和检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 脊痛宁胶囊对大鼠一般情况及体重的影响 致炎 7~9 d,风寒湿痹型类风湿关节炎大鼠皮内注射部位出现铜币大小的溃疡、化脓病灶,持续 10 d 左右开始结痂愈合形成瘢痕;致炎 10 d,足趾皮肤发红、发热,轻度肿胀,第 14 天再次致炎,足背及踝关节肿胀明显,部分出现关节僵硬,活动量减少,易激惹,饮食减少,体重增长缓慢,甚至下降,毛发失去光泽,甚至脱毛。与正常组比较,模型组大鼠的体重显著降低 ($P < 0.01$),之后又缓慢上升。自给药 14 d 开始,各治疗组体重较模型组明显升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 1。

3.2 脊痛宁胶囊对大鼠关节肿胀率的影响 致炎 14 d,模型组大鼠踝关节肿胀水平较正常组显著升高 ($P < 0.01$),提示模型复制成功,高峰出现在第 28 d 左右,之后肿胀有减轻趋势。第 28 天后,治疗组大鼠的关节肿胀率较模型组明显降低 ($P < 0.05$),随着脊痛宁剂量的提高可见关节肿胀有缓解的趋势,雷公藤组与脊痛宁各组间无明显差异。见表 2。

3.3 脊痛宁胶囊对大鼠 AI 的影响 模型组大鼠的 AI 升高,至 35 d 左右达到高峰。脊痛宁各组随着剂量的提高和时间延长 AI 有下降趋势,给药 35 d 后,治疗组 AI 较模型组明显降低 ($P < 0.05$)。见表 3。

3.4 脊痛宁胶囊对大鼠血清中 TNF- α 和 IL-6 含量

表 1 脊痛宁胶囊对大鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 13$)

Table 1 Effect of JTN on body weight in model rats ($\bar{x} \pm s, n = 13$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	d10	d14	d21	d28	d35	d42
正常	-	181.0 ± 9.3	308.2 ± 11.2	328.9 ± 14.4	357.7 ± 23.8	376.2 ± 36.5	411.3 ± 36.9
模型	-	180.6 ± 7.3	263.9 ± 21.2 ²⁾	248.0 ± 28.3 ²⁾	258.1 ± 27.5 ²⁾	295.7 ± 28.4 ²⁾	317.2 ± 28.9 ²⁾
雷公藤	0.02	179.3 ± 11.9	265.4 ± 15.7	256.9 ± 19.5	283.5 ± 18.9 ³⁾	316.7 ± 18.3 ⁴⁾	356.0 ± 30.8 ⁴⁾
脊痛宁	0.2	181.6 ± 5.8	266.8 ± 18.4	260.8 ± 19.1	280.0 ± 15.8 ³⁾	312.9 ± 16.7 ³⁾	352.8 ± 24.7 ⁴⁾
	0.4	177.7 ± 8.1	273.6 ± 21.4	268.5 ± 25.3	278.5 ± 24.3 ³⁾	320.5 ± 20.1 ³⁾	367.3 ± 33.4 ⁴⁾
	0.8	178.3 ± 8.6	270.1 ± 17.8	272.1 ± 18.0	296.7 ± 24.3 ⁴⁾	330.4 ± 25.3 ⁴⁾	365.3 ± 29.8 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2,3,图 1,3 同)。

表 2 脊痛宁胶囊对大鼠关节肿胀率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 13$)

Table 2 Effect of JTN on articular swelling rate in model rats ($\bar{x} \pm s, n = 13$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	d10	d14	d21	d28	d35	d42
正常	-	0.11 ± 0.04	0.21 ± 0.04	0.24 ± 0.03	0.30 ± 0.04	0.33 ± 0.05	0.38 ± 0.06
模型	-	0.13 ± 0.04	0.46 ± 0.25 ²⁾	1.26 ± 0.31 ²⁾	1.31 ± 0.31 ²⁾	1.18 ± 0.29 ²⁾	1.08 ± 0.24 ²⁾
雷公藤	0.02	0.14 ± 0.04	0.37 ± 0.23	1.11 ± 0.29	1.04 ± 0.29 ³⁾	0.86 ± 0.22 ⁴⁾	0.77 ± 0.14 ⁴⁾
脊痛宁	0.2	0.13 ± 0.04	0.42 ± 0.23	1.09 ± 0.26	1.07 ± 0.16 ³⁾	0.89 ± 0.14 ³⁾	0.79 ± 0.18 ⁴⁾
	0.4	0.13 ± 0.04	0.34 ± 0.18	1.05 ± 0.24	1.02 ± 0.25 ³⁾	0.84 ± 0.23 ⁴⁾	0.74 ± 0.17 ⁴⁾
	0.8	0.14 ± 0.04	0.42 ± 0.27	1.06 ± 0.34	1.02 ± 0.57 ³⁾	0.82 ± 0.23 ⁴⁾	0.73 ± 0.24 ⁴⁾

表 3 脊痛宁胶囊对大鼠 AI 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 13$)

Table 3 Effect of JTN on AI in model rats ($\bar{x} \pm s, n = 13$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	d10	d14	d21	d28	d35	d42
模型	-	2.77 ± 1.92	6.69 ± 2.53	10.77 ± 2.86	11.62 ± 2.99	11.77 ± 3.27	11.08 ± 3.23
雷公藤	0.02	2.69 ± 1.55	6.54 ± 3.02	9.38 ± 2.69	9.77 ± 2.80	8.85 ± 2.41 ³⁾	7.38 ± 1.89 ⁴⁾
脊痛宁	0.2	2.54 ± 1.13	6.54 ± 3.10	9.46 ± 3.04	9.92 ± 3.28	8.69 ± 3.30 ³⁾	7.46 ± 3.67 ⁴⁾
	0.4	2.46 ± 1.34	6.62 ± 2.92	9.69 ± 2.70	10.00 ± 2.57	8.92 ± 2.81 ³⁾	7.31 ± 3.12 ⁴⁾
	0.8	2.46 ± 1.13	6.50 ± 3.12	9.38 ± 3.31	9.92 ± 3.40	8.92 ± 3.45 ³⁾	7.23 ± 3.37 ⁴⁾

的影响 致炎 35 d,模型组大鼠血清中 TNF- α 和 IL-6 与正常组比较显著升高 ($P < 0.05$);与模型组比较,脊痛宁低、中、高剂量组大鼠血清中 TNF- α 和 IL-6 水平明显下降 ($P < 0.05$),且各组间无明显差异。见图 1。

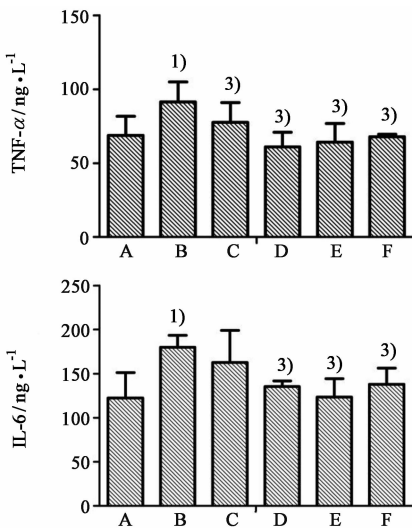
3.5 脊痛宁胶囊对大鼠踝关节病理改变的影响

正常组大鼠的踝关节结构完整,关节面光滑,无滑膜增生及炎性细胞浸润。模型组可见关节结构破坏,大量的滑膜组织增生,排列紊乱,腔内炎细胞浸润明显,以淋巴细胞、巨噬细胞和白细胞浸润为主,有丰富的血管翳形成,可见广泛的软骨侵蚀破坏,脱核甚至脱落,可见骨破坏,提示模型复制成功。给药干预后,脊痛宁低剂量组和雷公藤组关节滑膜组织增生较模型组明显减轻,血管增生和血管翳形成大大减少,关节软骨变性、坏死或剥脱减轻,骨破坏明显减

少。脊痛宁中、高剂量组滑膜组织可见轻度增生,少量炎性细胞浸润,未观察到血管翳形成,关节软骨表面尚光滑,软骨侵蚀显著减少,未见骨破坏。见图 2。与模型组比较,各治疗组大鼠踝关节病理评分明显降低 ($P < 0.05$),脊痛宁高剂量组能显著改善软骨的损伤程度 ($P < 0.01$)。见图 3。

4 讨论

《类证治裁·痹症》对痹证的认识:“诸痹,良由营卫先虚,腠理不密,风湿寒乘虚内袭。正气为邪所阻,不能宣行,因而留滞,气血凝涩,久而成痹。”中医认为,痹证发病的根本是正气不足、肝肾亏虚,外感风寒湿则是致病的重要原因,致使气血痹阻不通,筋脉失于濡养,不通或不荣则痛,所以痹证是以疼痛为主。辨证施治,临床上治疗痹证应扶正祛邪,兼顾活血通络。脊痛宁胶囊对风寒湿痹的疗效在临床已



A. 正常组; B. 模型组; C. 雷公藤组; D~F. 脊痛宁(0.2, 0.4, 0.8 g·kg⁻¹)组(图 2~3 同)

图 1 脊痛宁胶囊对大鼠血清中炎症因子的影响($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Fig.1 Effect of JTN on inflammatory cytokines of model rats in serum($\bar{x} \pm s, n = 7$)

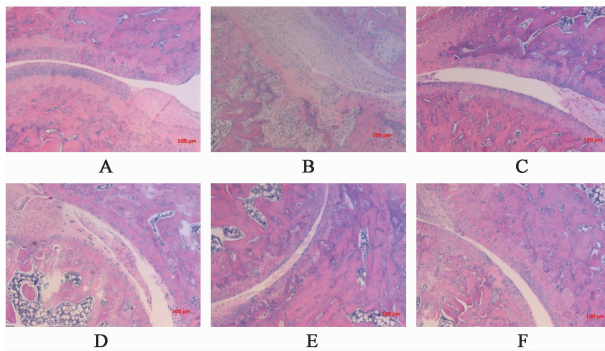


图 2 脊痛宁胶囊对大鼠踝关节病理改变的影响(HE, ×100)

Fig.2 Effect of JTN on ankle pathology in rats with wind-cold-dampness retention type rheumatoid arthritis(HE, ×100)

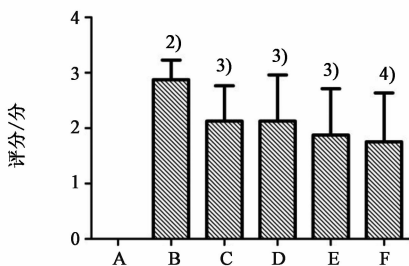


图 3 脊痛宁胶囊对大鼠病理评分的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig.3 Effect of JTN on joint histopathology score in rats($\bar{x} \pm s, n = 8$)

被证实。方以祛风活血通络法为组方原则,生杜仲和独活补肝益肾、祛风除湿,为方中主药,辅以制川乌、延胡索祛风湿、活血止痛,佐以活血止痛的赤芍、生津止渴的葛根,甘草和胃调中。诸药合用,使筋脉得荣,痹阻得通,则疼痛得除。现代药理研究表明杜

仲有抗炎镇痛作用,对细胞免疫有双向调节作用,对关节软骨有保护作用^[13];独活、制川乌、延胡索有较强的镇痛抗炎作用^[14-15],制川乌对细胞因子有调节作用,延胡索有一定的抗血管生成作用^[16],赤芍有良好的抗凝、抗血栓形成作用。

CIA 在特征上更适合研究 RA,主要表现为大鼠病变特征在滑膜增生及软骨破坏等方面更为明显,关节炎病变过程维持时间也较长;症状与 RA 的临床表现类似;有体液免疫和细胞免疫,体内存在针对 II 型胶原的抗体,CIA 成为治疗 RA 药物研究相对理想的模型^[17]。风寒湿痹型类风湿关节炎是在牛 II 型胶原和弗氏完全佐剂乳进行皮内多点注射的方法建立的 CIA 模型基础上,结合传统中医学“证”的特色而给予风、寒、湿环境因素建立的病证动物模型,充分发挥了中医的发病学说和西医的致病原理。本实验结合佐剂性关节炎(AA)的评价指标选取一般状况、体重、关节肿胀率、脚掌厚度、关节病理作为药效评价指标,旨在观察脊痛宁胶囊对风寒湿痹型 RA 大鼠的保护作用。李宝丽等^[18]从中医辨证的角度将 CIA 模型的症状表现归为寒湿痹型,佐剂性关节炎 AA 相对辨证为湿热痹型。风寒湿作为外在致病因素并非是直接的发病因素,多为诱发因素,加重局部炎症浸润的程度^[19],炎症反应持续时间长^[10],但对发病率并无影响,更贴近慢性炎症的研究。实验表明,致炎第 10 天,风寒湿痹型类风湿关节炎大鼠相继出现关节炎症状,足趾轻度肿胀,第 14 天足背及踝关节肿胀明显,部分关节僵硬变形,疼痛剧烈致大鼠活动量减少、易激惹及饮食减少,使体重增长缓慢,甚至下降。关节炎指数显著升高,结合其他指标,推测风寒湿痹型类风湿关节炎的炎症高峰期是在 21~28 d,之后炎症反应有下降趋势。病理结果显示模型大鼠关节结构破坏,大量的滑膜组织增生,排列紊乱,多种炎性细胞浸润明显,丰富的血管翳形成,可见广泛的软骨及骨组织破坏。

给药干预后,各治疗组大鼠体重增长较快,关节肿胀率、关节炎指数明显降低,而在给药 28 d 后与模型组比较差异显著。经脊痛宁治疗 28 d 后,各治疗组大鼠关节结构完整,软骨表面较光滑,细胞排列相对整齐,血管翳生成减少,少数炎症细胞浸润至软骨组织,软骨破坏减轻,病理评分也明显低于模型组。随着脊痛宁剂量的提高损伤症状改善明显,且脊痛宁高剂量组对各项指标改善显示优于其他组,但与雷公藤多苷的疗效没有明显差异。进一步说明

脊痛宁胶囊可以明显抑制风寒湿痹型类风湿关节炎大鼠关节滑膜的增生及炎性细胞的浸润,改善血管增生或血管翳形成及软骨侵蚀破坏,从而对类风湿关节炎风寒湿痹大鼠有较好的治疗作用。

研究表明,TNF- α 参与RA的发生发展全过程,是RA发病机制占中心地位的促炎症细胞因子^[20]。IL-6是RA滑膜炎症及关节损伤的重要介质之一,能诱导其他炎性因子包括IL-17发挥致病作用^[21]。实验中脊痛宁胶囊能降低血清中TNF- α 和IL-6水平,从而在一定程度上抑制RA发展。

雷公藤多苷是植物雷公藤根部的粗提物,抗炎和免疫抑制作用显著,临床上常用于多种关节疾病的治疗。虽然雷公藤多苷抗炎作用显著,但其不良反应的发生率也较高,存在引起骨髓抑制和生殖抑制的风险^[22]。多年临床应用表明,脊痛宁胶囊治疗寒湿痹痛性强直性脊柱炎有较好疗效,连续观察6个月其安全性都很好^[6],说明脊痛宁胶囊在安全性上,与雷公藤多苷比较具有突出优势。

综上所述,本实验证实脊痛宁胶囊改善风寒湿痹大鼠关节损伤,减轻关节肿胀,抑制血清中炎性细胞因子生成,提示以祛风通络活血法为组方原则的脊痛宁胶囊对类风湿关节炎风寒湿痹大鼠具有治疗作用,其作用机制可能与T细胞及其细胞因子有关,具体作用机制有待进一步深入研究。

[参考文献]

[1] 王银山. 类风湿性关节炎的研究进展[J]. 中国现代医药杂志, 2008, 10(10): 69-71.

[2] Veillette C J, Mehdian H, Schemitsch E H, et al. Survivorship analysis and radiographic outcome following tantalum rod insertion for osteonecrosis of the femoral head[J]. J Bone Joint Surg Am, 2006, 88(3): 48-55.

[3] Ramachandran M, Ward K, Brown, et al. Intravenous bisphosphonate therapy for traumatic osteonecrosis of the femoral head in adolescents[J]. J Bone Joint Surg Am, 2007, 89(8): 1727-1734.

[4] 胡长玲, 林兵, 郑承剑, 等. 抗类风湿性关节炎的天然药物及其作用机制研究进展[J]. 中草药, 2011, 42(7): 1435-1440.

[5] 郭齐, 王蒸, 苏冠宇, 等. 中医治疗类风湿关节炎组方配伍规律探析[J]. 中国中医基础医学杂志, 2010, 16(10): 927-928.

[6] WANG Y Y, LU H, ZHAO Z, et al. The efficacy and safety of Jitongning capsule in patients with ankylosing spondylitis[J]. Chin J Integr Med, 2013, 19(2): 98-103.

[7] 王炎焱, 赵征, 黄烽, 等. 脊痛宁胶囊抗炎镇痛作用的

实验研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(9): 28-29.

[8] 王炎焱, 黄烽, 孙永慧. 高效液相色谱法测定脊痛宁胶囊中绿原酸的含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2005, 12(9): 41-42.

[9] Stuart J M, Cremer M A, Townes A S, et al. Type II collagen-induced arthritis in rats. Passive transfer with serum and evidence that IgG anticollagen antibodies can cause arthritis[J]. Exp Med, 1982, 155(1): 1-16.

[10] 金祝秋, 郑建生, 彭芝配, 等. 大鼠风寒湿痹证模型的建立与前列腺素E₂的关系[J]. 湖南中医学院学报, 1996, 16(1): 40-42.

[11] Cuzzocrea S, McDonald M C, Mazzon E, et al. Beneficial effects of tempol, a membrane-permeable radical scavenger, in a rodent model of collagen-induced arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2000, 43(20): 320-328.

[12] 赵宏艳, 王燕, 肖诚, 等. 不同品系、不同性别对大鼠CIA发病情况的比较研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2010, 16(9): 761-764.

[13] 鲁海, 谢国平, 刘文刚, 等. 杜仲干预大鼠膝骨性关节炎关节软骨破坏的机理研究[J]. 内蒙古中医药, 2015, 34(11): 144-145.

[14] 邱明山, 陈进春, 徐振兴, 等. 独活对大鼠胶原诱导性关节炎的治疗作用[J]. 中医正骨, 2012, 24(2): 6-8.

[15] 张宏, 余成浩, 彭成. 制川乌煎煮时间和给药剂量与抗炎镇痛功效的相关性研究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(5): 1025-1027.

[16] 万莉. 延胡索醇提物和延胡索生物碱体内抗血管生成及其对VEGF调控作用的实验研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2012.

[17] 薛盟举. 类风湿性关节炎的中医实验动物模型及评价[J]. 中医杂志, 2012, 53(17): 1512-1515.

[18] 李宝丽, 唐方, 庞晓东. II型胶原诱导关节炎大鼠模型制备[J]. 中国免疫学杂志, 2006, 22(4): 350-352.

[19] 姬洁莹, 李晋奇, 郭阿霞. 类风湿性关节炎动物模型复制与评价[J]. 山西中医学院学报, 2013, 14(3): 73-76.

[20] Petrović Rackov L. Cytokines in rheumatoid arthritis and osteoarthritis[J]. Med Pregl, 2005, 58(5/6): 245-251.

[21] Nakahara H, Song J, Sugimoto M, et al. Anti-interleukin-6 receptor anti-body therapy reduces vascular endothelial growth factor production in rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2003, 48(6): 1521-1529.

[22] 莫惠平, 潘秋荣, 谭柳群. 雷公藤多苷的不良反应及防治措施[J]. 中国中西医结合杂志, 2003, 23(5): 386-387.

[责任编辑 张丰丰]