

二十五味儿茶丸对痛风性关节炎大鼠炎症反应的影响

陈兰英*, 周星, 骆瑶, 王木兰, 崔亚茹, 李雪亮, 官紫祎
(江西中医药大学 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006)

[摘要] **目的:**探讨二十五味儿茶丸对尿酸钠诱导的大鼠急性痛风性关节炎的防治作用及炎症反应机制。**方法:**80只SD大鼠,随机分为正常组,模型组,秋水仙碱组($0.3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),氢化可的松组($4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)及二十五味儿茶丸高、中、低剂量组($2.4, 1.2, 0.6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),除正常组外,其余各组采用向大鼠踝关节内注入尿酸晶体建立急性痛风性关节炎模型,测定造模前及造模后3,6,9,12,15 h关节肿胀度,同时经眼眶静脉丛取血测定白细胞(WBC)和中性粒细胞(NEUT)数目,取滑膜组织测定炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-1 β (IL-1 β),IL-8,环氧化酶-2(COX-2)含量,并采用蛋白质免疫印迹(Western bolt)检测滑膜组织中COX-2蛋白水平的表达。**结果:**与正常组比较,模型组各时间点大鼠关节肿胀度明显升高,WBC,NEUT数目明显升高,TNF- α ,IL-1 β ,IL-8,COX-2含量明显升高($P < 0.05, P < 0.01$),COX-2蛋白水平有所升高,但无统计学差异;与模型组比较,二十五味儿茶丸高、中、低剂量组肿胀度明显降低,抑制率明显升高,可明显减少WBC,NEUT数目,明显降低炎症因子TNF- α ,IL-1 β ,IL-8,COX-2含量,并可明显降低COX-2蛋白水平表达($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:**二十五味儿茶丸通过减少白细胞、中性粒细胞数目,抑制炎症因子的释放,从而达到抗急性痛风性关节炎炎症反应作用。

[关键词] 二十五味儿茶丸;尿酸钠晶体;急性痛风性关节炎;炎症反应

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)09-0128-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017090128

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170214.1625.062.html>

[网络出版时间] 2017-02-14 16:25

Effect of Ershiwuwei Ercha Pill on Acute Gouty Arthritisrats Induced by Sodium Urate Crystals

CHEN Lan-ying*, ZHOU Xing, LUO Yao, WANG Mu-lan, Cui Ya-ru, LI Xue-liang, GUAN Zi-yi
(National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation of Chinese Herbal Medicine,
Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Ershiwuwei Ercha pill in acute gouty arthritis rats induced by sodium urate crystals. **Method:** A total of 80 SD rats were randomly divided into blank group, model group, colchicine group ($0.3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), hydrocortisone group ($4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and twenty-five taste tea pill different dose group ($2.4, 1.2, 0.6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$). Except for blank group, all of the remaining groups were included into the acute gout arthritis model by injecting uric acid into the rat ankle joint. The joint swelling degree was measured after making model at 0, 3, 6, 9, 12, 15. At the same time, white blood cell (WBC) and neutrophil (NEUT) were determined by analyzing blood cell from orbital venous plexus, and the levels of tumour necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), IL-8, cyclooxygenase-2 (COX-2) in synovial tissues were determined by ELISA, and the expression of COX-2 protein in synovial tissues was detected by Western blot. **Result:** Compared with the blank group, the joint swelling degree of rats in the model group was significantly increased at each time point. The numbers of WBC and NEUT were significantly increased, the level of TNF- α , IL-1 β , IL-8, COX-2 were significantly increased ($P < 0.05, P < 0.01$), the expression of COX-2 protein were slightly increased, but

[收稿日期] 20161228(010)

[基金项目] 江西省民族传统药现代药现代科技与产业发展协同创新中心开放基金项目(JXXT201402007)

[通讯作者] *陈兰英,博士,教授,从事中药药效评价与新药研究,Tel:0791-87119611,E-mail:clyxy2513@163.com

with no statistical difference. Compared with the model, the joint swelling degree of rats in the high, middle and low-dose Ershiwuwei Ercha pill groups were significantly reduced, with a significant increase in inhibition ratio. The numbers of WBC and NEUT were significantly reduced. The level of TNF- α , IL-1 β , IL-8, COX-2 were significantly decreased. The expression of COX-2 protein were significantly reduced ($P < 0.05$, $P < 0.01$).

Conclusion: Ershiwuwei Ercha pill can reduce joint swelling degree, leukocyte, neutrophil cell number and inflammatory factors release to resist inflammatory reaction.

[**Key words**] Ershiwuwei Ercha pill; sodium urate crystal; acute gouty arthritis; inflammatory reaction

急性痛风性关节炎是痛风的一种常见表现形式,因关节内尿酸浓度过饱和而形成结晶,进而沉积于关节囊、骨质、软骨及滑膜等关节组织,反复刺激关节而表现出局部关节红、肿、热、痛等炎症反应^[1-5]。目前临床上常采用非类固醇类抗炎药治疗急性痛风性关节炎,但易出现胃肠道反应、肝损伤及骨髓抑制等不良反应^[6]。因此,积极探索疗效好且毒性低的药物具有重要意义。藏族医学中的“叱乃”,相当于西医的“痛风”病,藏族医认为,人固有的血、“隆”、“赤巴”和“培根”等物质因内外因素的影响引起紊乱而发生此病,藏族药在临床上对“叱乃”(痛风)病的急性期能够达到明显治疗效果^[7]。藏族药二十五味儿茶丸收载于藏族药部颁第一册中,也是西藏多家藏医院研制的治疗痛风、风湿性关节炎等疗效确切的医院制剂^[8]。但目前对藏族药二十五味儿茶丸的抗痛风作用认识不清。本研究将尿酸钠晶体注入大鼠踝关节腔,建立急性痛风性关节炎大鼠模型^[9-10],观察二十五味儿茶丸对急性痛风性关节炎大鼠踝关节肿胀及炎症因子的影响,研究二十五味儿茶丸抗急性痛风性关节炎作用,以探讨其治疗“叱乃”(痛风)病的科学内涵。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠(SPF 级)80 只,体重(200 \pm 20) g,雄性,购自于湖南斯莱克景达实验动物有限责任公司提供,动物合格证号 SCXK(湘)2014-1217,适应性饲养 7 d,自由饮食。本研究获得江西中医药大学实验动物伦理委员会批准(江中 20160011)

1.2 药物及试剂 二十五味儿茶丸处方由儿茶、诃子、黄精、蒺藜等二十五味藏族药组成,西藏自治区藏医院制剂室提供;秋水仙碱片(西双版纳版纳药业有限责任公司,批准文号国药准字 H53021369),氢化可的松注射液(天津金耀药业有限公司,国药准字 H12020885),尿酸钠(美国 Sigma 公司,批号 20151202);白细胞介素-1 β (IL-1 β),IL-8,肿瘤坏死因子- α (TNF- α)试剂盒(武汉优尔生生物科技有限

公司,批号分别为 L160105143, L160111360, L151201102);环氧合酶-2(COX-2)试剂盒(上海西塘生物科技有限公司,批号 20140813),5 \times 加样缓冲液、聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶配制试剂盒、电泳液、转膜液(碧云天生物技术有限公司,批号分别为 1106121511, 0612151506, 1115081511, 1216101512),兔抗 COX-2 抗体(美国 CST 公司,批号 2);小鼠 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(美国 Affinity 公司,批号 19U71);脱脂奶粉, TBS, Tween-20(北京普利莱生物技术有限公司,批号分别为 PLL201601, 20151130, 713B041);羊抗兔免疫球蛋白 G(IgG),羊抗小鼠 IgG 蛋白质免疫印迹(Western blot)试剂盒(北京全式金生物技术有限公司,批号分别为 I31203, I31107, J31124)。

1.3 仪器 YLS-7B 型足趾容积仪(淮北正华生物仪器设备有限公司),UV-1800 型紫外分光光度计(北京瑞利分析仪器公司),SpectraMax i3 型多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司),BS124S 型分析天平(美国 Sartorius 公司),TDL-5C 型低速台式离心机(上海安亭科学仪器厂),T10 型组织匀浆机(德国 IKA 公司),GERMINATOR 型凝胶成像仪及 PowerPac 型电泳仪(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 尿酸钠晶体的制备^[3-4] 称取尿酸钠粉末 0.8 mg,以量筒量取 1 mol \cdot L⁻¹的 NaOH 溶液 5 mL 并加入,再加入纯水煮沸,用玻璃棒不断搅拌溶解尿酸钠粉末,放置室内冷却,再逐滴加入 1 mol \cdot L⁻¹的 HCl,采用 pH 仪将 pH 调节至 7.0,溶液中出现乳白色絮状物后停止滴加并置于离心机中 3 000 r \cdot min⁻¹离心 3 min,弃去上清液后将乳白色絮状物倒置于平皿中,再于烘箱中烘烤 6 h(60 $^{\circ}$ C),将干燥的晶体粉末装于洁净的离心管中待用。以磷酸盐缓冲液(PBS)配制前将尿酸钠晶体高压灭菌 30 min,121 $^{\circ}$ C。

2.2 模型建立^[9-10]、分组及给药 采用随机数表法将 70 只 SD 大鼠分为 7 组,分别为正常组,模型组,秋水仙碱组(0.3 mg \cdot kg⁻¹),氢化可的松组

($4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 及二十五味儿茶丸高、中、低剂量组 ($2.4, 1.2, 0.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 10 只/组。药物组灌胃对应药物 $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 模型组和正常组灌胃 $0.5\% \text{ CMC-Na}$ 溶液, $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 每天 1 次, 连续 5 d, 12 h 后造模, 模型组及药物组在大鼠右侧踝关节背侧注射尿酸钠混悬液 $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 每只 0.2 mL , 正常组注射 0.2 mL 无菌生理盐水。

2.3 关节肿胀度和肿胀率的测定 分别于造模前, 造模后 3, 6, 9, 12, 15 h 以足趾容积仪测定关节容积。测量过程中将大鼠右趾浸入液面, 使液面与划线重合, 视线平行液面下读取足趾容积仪显示的读数, 每次测量前校零, 取 3 次测量结果的平均值作为最终结果, 每次重复测量前擦拭干大鼠足趾部。按照下列公式计算肿胀度、抑制率。

$$\text{肿胀度} = [(\text{造模后关节容积} - \text{造模前关节容积}) / \text{造模前关节容积}] \times 100\%$$

$$\text{抑制率} = [(\text{模型组平均肿胀度} - \text{给药组平均肿胀度}) / \text{模型组平均肿胀度}] \times 100\%$$

2.4 白细胞 (WBC) 和中性粒细胞 (NEUT) 的测定 大鼠眼眶静脉丛取血加入放有抗凝剂 EDTA 的离心管中, 采用血球仪测定白细胞和中性粒细胞含量。

2.5 踝关节组织相关炎症因子的测定 剪去腿部鼠毛及皮肤, 以右后肢踝关节为中心上下 0.5 cm 划线, 从划线处剪断, 称质量得读数 A_1 , 剔除骨头并用 $100 \mu\text{L}$ 生理盐水冲洗, 称取骨头质量得 A_2 , 按 1:9 比例加生理盐水稀释, 需加入的生理盐水的体积为 $[9(A_1 - A_2) - 0.1] \text{ mL}$, 充分匀浆, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下 $2500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min , 取上清液, 分装于离心管中, 于 $-70 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存待测。根据试剂说明书进行 IL-1 β , IL-8, TNF- α , COX-2 的含量检测。

2.6 Western bolt 法对滑膜组织中 COX-2 的表达水平的检测 取滑膜组织, 置于含 PMSF 的 RIPA buffer 裂解液中, 在冰块中充分搅拌研磨 3 次, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 下离心 10 min , $1 \text{ 万 r} \cdot \text{min}^{-1}$, 取上清, 置于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中保存待用。采用 BCA 蛋白定量法测定样蛋白浓度, 用细胞裂解液调整上样蛋白浓度一致, 使蛋白变性后依次上样品。SDS-PAGE 电泳分离蛋白, 浓缩胶条件: $90 \text{ V}, 25 \text{ min}$, 分离胶条件为 $120 \text{ V}, 60 \text{ min}$ 。电泳完毕后, 将蛋白转移至 PVDF 膜, 转膜湿转条件为 $200 \text{ mA}, 90 \text{ min}$ 。采用 0.5% 脱脂奶粉封闭 PVDF 膜 2 h , 然后将膜浸入含一抗的稀释液中, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 下过夜, 弃去反应液, 以 TBST 洗涤, 共 5 次, $10 \text{ min}/\text{次}$ 。将膜转移至酶标二抗中, 室温, 1.5 h , 再以 TBST 洗涤 PVDF 膜 $4 \text{ 次}, 10 \text{ min}/\text{次}$, 显色, 采

用凝胶成像系统进行检测及和分析。

2.7 统计学分析 采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析组间比较, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对尿酸钠致急性痛风性关节炎大鼠踝关节肿胀度和抑制率的影响 与正常组比较, 模型组造模后 3, 6, 9, 12, 15 h 关节肿胀度均显著性升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 秋水仙碱组、氢化可的松组造模后 3, 6, 9, 12, 15 h 关节肿胀度均显著性降低 ($P < 0.01$); 二十五味儿茶丸高、中剂量组造模后 3, 6, 12, 15 h 与模型组比较显著性降低 ($P < 0.01$); 二十五味儿茶丸高、中、低剂量组造模后 9 h 与模型组比较明显降低 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 1。

3.2 对尿酸钠致急性痛风性关节炎大鼠 WBC, NEUT 的影响 与正常组比较, 模型组 WBC, NEUT 均明显升高 ($P < 0.05, P < 0.01$), 与模型组比较, 秋水仙碱组、氢化可的松组 WBC, NEUT 均明显降低 ($P < 0.05, P < 0.01$); 二十五味儿茶丸高、中剂量组 WBC 与模型组比较明显降低 ($P < 0.05$); 二十五味儿茶丸高剂量组 NEUT 与模型组比较显著性降低 ($P < 0.05$)。见表 2。

3.3 对尿酸钠致急性痛风性关节炎大鼠踝关节组织 IL-1 β , IL-8, TNF- α 及 COX-2 含量的影响 与正常组比较, 模型踝关节组织 IL-1 β , IL-8, TNF- α 及 COX-2 水平显著性升高 ($P < 0.01$), 与模型组比较, 秋水仙碱组、氢化可的松踝关节组织 IL-1 β , IL-8, TNF- α 及 COX-2 含量均明显降低 ($P < 0.05, P < 0.01$); 二十五味儿茶丸高、中、低剂量组 IL-1 β 和 COX-2 含量与模型组比较显著性降低 ($P < 0.01$); 二十五味儿茶丸高、中剂量组 IL-8 含量与模型组比较明显降低 ($P < 0.05$); 二十五味儿茶丸高剂量组 TNF- α 含量与模型组比较显著性降低 ($P < 0.05$)。见表 3。

3.4 对尿酸钠致急性痛风性关节炎大鼠滑膜组织中 COX-2 蛋白表达的影响 与正常组比较, 模型组大鼠滑膜组织 COX-2 蛋白表达增多; 与模型组比较, 秋水仙碱组、氢化可的松组大鼠滑膜组织 COX-2 蛋白表达减少 ($P < 0.01$); 二十五味儿茶丸高、中、低剂量组大鼠滑膜组织 COX-2 蛋白表达与模型组比较减少 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见图 1, 表 4。

4 讨论

急性痛风性关节炎是由于尿酸合成增多和 (或) 排泄减少而引起尿酸盐结晶沉积于关节腔

表 1 二十五味儿茶丸对尿酸钠致急性痛风性关节炎大鼠踝关节肿胀度和抑制率的影响 ($n = 10$)

Table 1 Effect of Ershiwuwei Ercha pill on anklejointtissue swelling degree induced by sodium urate in rats ($n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	造模后各时间点大鼠关节肿胀度 ($\bar{x} \pm s$)				
		3 h	6 h	9 h	12 h	15 h
正常	-	0.09 ± 0.16	0.06 ± 0.18	-0.04 ± 0.19	-0.08 ± 0.19	-0.26 ± 0.24
模型	-	0.38 ± 0.13 ¹⁾	0.42 ± 0.29 ¹⁾	0.46 ± 0.33 ¹⁾	0.48 ± 0.38 ¹⁾	0.20 ± 0.09 ¹⁾
二十五味儿茶丸	2.4	0.27 ± 0.14 ³⁾	0.31 ± 0.27 ³⁾	0.28 ± 0.09 ³⁾	0.26 ± 0.13 ³⁾	0.09 ± 0.02 ³⁾
	1.2	0.26 ± 0.16 ³⁾	0.29 ± 0.18 ³⁾	0.33 ± 0.10 ²⁾	0.28 ± 0.12 ³⁾	0.12 ± 0.01 ³⁾
	0.6	0.37 ± 0.06	0.40 ± 0.22	0.28 ± 0.08 ³⁾	0.41 ± 0.27	0.19 ± 0.12
秋水仙碱	3×10^{-4}	0.21 ± 0.10 ³⁾	0.23 ± 0.12 ³⁾	0.24 ± 0.08 ³⁾	0.30 ± 0.12 ³⁾	0.16 ± 0.11 ³⁾
氢化可的松	4×10^{-3}	0.18 ± 0.09 ³⁾	0.19 ± 0.10 ³⁾	0.23 ± 0.12 ³⁾	0.20 ± 0.09 ³⁾	0.13 ± 0.10 ³⁾

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	抑制率/%				
		3 h	6 h	9 h	12 h	15 h
正常	-	-	-	-	-	-
模型	-	0	0	0	0	0
二十五味儿茶丸	2.4	28.9	26.2	39.1	45.8	55.0
	1.2	31.6	31.0	28.3	41.6	40.0
	0.6	2.6	4.8	39.1	14.6	5.0
秋水仙碱	3×10^{-4}	44.7	45.2	47.8	37.5	20.0
氢化可的松	4×10^{-3}	52.6	54.8	50.0	58.3	35.0

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

表 2 二十五味儿茶丸对尿酸钠致急性痛风性关节炎大鼠 WBC, NEUT 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of Ershiwuwei Ercha pill on number of WBC, NEUT of acute gouty arthritis induced by sodium urate in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	WBC/ $\times 10^9$ 个/L	NEUT/%
正常	-	4.83 ± 1.11	16.86 ± 3.04
模型	-	8.31 ± 1.22 ²⁾	19.02 ± 5.65 ¹⁾
二十五味儿茶丸	2.4	7.60 ± 1.71 ³⁾	15.78 ± 3.46 ³⁾
	1.2	7.79 ± 1.59 ³⁾	19.38 ± 3.43
	0.6	8.24 ± 2.51	23.34 ± 3.08
秋水仙碱	3×10^{-4}	7.61 ± 1.31 ³⁾	17.00 ± 2.01 ³⁾
氢化可的松	4×10^{-3}	6.58 ± 1.17 ⁴⁾	13.24 ± 2.13 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 3 同)。

所致的一种代谢性疾病。痛风性关节炎目前尚无根治办法,秋水仙素、消炎痛、保泰松等虽然可暂时缓解症状,但服后大部分患者有恶心、呕吐、腹泻等副作用,且停药后常会复发^[11]。

藏族医药学很早就对痛风有较系统的认识,认为痛风是由隆与血功能紊乱引起机体功能代谢异常,加之食用促进隆偏盛之食物或行为失当引起隆邪逆行,堵塞血液循环脉道而引发所导致的一种

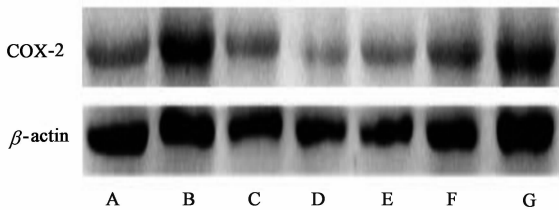
疾病,藏族药在治疗急性痛风性关节炎方面有一定疗效。二十五味儿茶丸方中配伍大量解毒祛湿、清热燥湿的药物,祛除关节鞘膜间的多余黄水,活血化瘀,改善尿酸代谢,从而降低血液中尿酸盐的含量,藏族药通过平衡隆、赤巴、培根三因素,可以平衡尿酸、清流泄浊、清热解毒、消肿止痛等,在临床上有确切的疗效^[12],阐释藏族药治病的机制对藏族药进行科学的解释是藏族药实现现代化的基础。

本实验采用急性痛风性关节炎大鼠模型,研究二十五味儿茶丸抗痛风作用的科学内涵。急性痛风性关节炎属于关节腔内尿酸钠晶体沉积导致的炎症级联反应^[13-14],因此,向动物关节部位注入尿酸结晶,使结晶沉积于关节组织,可建立急性痛风性关节炎模型,且病理表现与人类类似。本实验模型组造模后 3,6,9,12,15 h 关节肿胀度较正常组均显著性升高,表明尿酸钠晶体沉积于踝关节腔内可以成功复制急性痛风性关节炎大鼠模型。注入关节组织的尿酸晶体可以趋化白细胞,其引发的炎症反应高峰时白细胞聚集高达 90%。中性粒细胞介导的炎症反应是痛风性关节炎发生的关键环节。其被激活后进入组织并游走于炎症部位,进而导致急性炎症损伤。因此,白细胞和中性粒细胞数目增加表明机体

表 3 二十五味儿茶丸对尿酸钠致急性痛风性关节炎大鼠踝关节组织 IL-1 β , IL-8, TNF- α , COX-2 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of Ershiwuwei Ercha pill on levels of IL-1 β , IL-8, TNF- α , COX-2 in ankle joint tissue of acute gouty arthritis induced by sodium urate in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	IL-1 β	IL-8	TNF- α	COX-2
正常	-	277.66 ± 105.84	26.60 ± 18.45	37.48 ± 15.22	5.26 ± 1.57
模型	-	377.86 ± 75.25 ²⁾	37.48 ± 15.22 ²⁾	52.82 ± 22.46 ²⁾	6.30 ± 1.30 ¹⁾
二十五味儿茶丸	2.4	331.39 ± 33.88 ³⁾	31.79 ± 18.82 ³⁾	46.25 ± 15.82 ³⁾	2.96 ± 1.93 ⁴⁾
	1.2	349.61 ± 92.29 ³⁾	32.79 ± 16.88 ³⁾	57.66 ± 10.62	2.26 ± 0.80 ⁴⁾
	0.6	337.20 ± 147.20 ³⁾	41.92 ± 26.90	51.92 ± 26.90	2.18 ± 0.56 ⁴⁾
秋水仙碱	3 × 10 ⁻⁴	329.13 ± 103.41 ³⁾	20.94 ± 12.19 ⁴⁾	39.61 ± 9.22 ³⁾	3.75 ± 0.01 ³⁾
氢化可的松	4 × 10 ⁻³	298.56 ± 85.20 ⁴⁾	17.58 ± 13.65 ⁴⁾	34.52 ± 10.23 ⁴⁾	2.45 ± 1.31 ⁴⁾



A. 正常组; B. 模型组; C. 秋水仙碱组; D. 氢化可的松组; E. 二十五味儿茶丸 2.4 g·kg⁻¹ 组; F. 二十五味儿茶丸 1.2 g·kg⁻¹ 组; G. 二十五味儿茶丸 0.6 g·kg⁻¹ 组

图 1 二十五味儿茶丸对尿酸钠致急性痛风性关节炎大鼠滑膜组织中 COX-2 蛋白表达的影响

Fig. 1 Effect of Ershiwuwei Ercha pill on expression of COX-2 in synovial tissue of acute gouty arthritis induced by sodium urate in rats

表 4 二十五味儿茶丸对尿酸钠致急性痛风性关节炎大鼠滑膜组织中 COX-2 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of Ershiwuwei Ercha pill on expression of COX-2 in synovial tissue of acute gouty arthritis induced by sodium urate in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	COX-2
正常	-	1.00 ± 0.00
模型	-	1.19 ± 0.14
二十五味儿茶丸	2.4	0.69 ± 0.07 ²⁾
	1.2	0.89 ± 0.03 ¹⁾
	0.6	0.75 ± 0.12
秋水仙碱	3 × 10 ⁻⁴	0.76 ± 0.03 ²⁾
氢化可的松	4 × 10 ⁻³	0.50 ± 0.03 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01。

免疫系统失衡,炎症反应加重,是急性痛风性关节炎的表现之一,研究表明二十五味儿茶丸能显著减少白细胞和中性粒细胞数量,能够降低机体炎症反应。

痛风急性发作时尿酸盐在关节腔内沉积,被白细胞吞噬,炎性细胞释放 IL-1 β , TNF- α 等炎症因子,这些因子使环氧合酶合成活性增加,促使前列腺素

E 合成的免疫反应^[5,14]。IL-1 是一个非常重要的前炎症细胞因子,IL-1 类型中以 IL-1 β 为主,IL-1 β 主要由单核巨噬细胞、中性粒细胞、淋巴细胞等产生。IL-1 β 可加速炎症反应进展,使氧自由基、白三烯、前列腺素等炎性物质的释放增多,进而表现出局部关节红、肿、热、痛。TNF- α 主要由活化的辅助性 T 细胞和单核巨噬细胞产生,其表达升高可导致 IL-1 β 水平升高,而 IL-1 β 水平升高又可提高 TNF- α 活性。IL-8 主要由中性粒细胞和单核-巨噬细胞产生,属于 IL-1 β 和 TNF- α 诱导的二级前炎症细胞因子,其在尿酸钠晶体致炎建立急性痛风性关节炎过程中具有重要地位。前列腺素尤其前列腺素 E,是参与上述病理变化的主要介质,故作为前列腺素合成和起始步骤关键酶的环氧合酶对于关节炎的发病和发展具有重要作用和影响,在炎症反应中环氧合酶-1 表达的影响甚小,环氧合酶-2 表达急剧上调,病理性前列腺素 E 合成增多,促使和加重了炎症发展和关节损害^[15]。实验研究表明二十五味儿茶丸可显著降低炎症因子 IL-1 β , IL-8 及 TNF- α 水平,并可明显降低 COX-2 蛋白表达水平,从而可以减少前列腺素的生成。

可见,二十五味儿茶丸可以通过减少白细胞、中性粒细胞数目,抑制炎症因子的释放,从而达到缓解和抑制急性痛风性关节炎炎症反应发作,本研究结果有助于揭示二十五味儿茶丸治疗“吡乃”(痛风)病的科学内涵。

[参考文献]

[1] 中华医学会风湿病学分会. 原发性痛风诊断和治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志, 2011, 6(15): 410-413.
[2] 邹和建, 姜林娣. 2012 年美国风湿病学会痛风治疗指南评析[J]. 内科理论与实践, 2012, 7(6): 458-460.
[3] 邹晋梅, 杨静, 董建玲, 等. 血清及关节液中炎症细胞

- 因子在老年急性痛风性关节炎中的变化及其意义 [J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(21): 5420-5422.
- [4] 袁艳平, 李长贵. 痛风性关节炎患者血清白细胞介素-1 β 、肿瘤坏死因子、环氧合酶-2 水平的动态变化研究 [J]. 中华风湿病学杂志, 2013, 17(12): 818-822.
- [5] Busso N, So A. Mechanisms of inflammation in gout [J]. Arthritis Res Ther, 2010, 12(2): 206-212.
- [6] 付德红, 钟琴, 刘正奇, 等. 急性痛风性关节炎的中医药治疗进展 [J]. 世界中西医结合杂志, 2013, 8(2): 204-206.
- [7] 索朗欧珠, 次旦朗杰. 叱乃(痛风)病的藏医特色诊疗方案 [J]. 中国民族医药杂志, 2011, 17(7): 23-44.
- [8] 郑彩霞, 龙桢桢, 乔媛媛, 等. 一测多评法同步测定藏族药二十五味儿茶丸中的 6 种成分 [J]. 华西药学杂志, 2015, 30(5): 592-595.
- [9] 刘绍龔, 苗明三. 痛风动物模型研究现状及其中医药治疗特点 [J]. 中医学报, 2011, 26(1): 114-118.
- [10] Orlowsky E W, Stabler T V, Montell E, et al. Monosodium urate crystal induced macrophage inflammation is attenuated by chondroitin sulphate: pre-clinical model for gout prophylaxis? [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2014, 15: 318-324.
- [11] 陈灏株. 内科学 [M]. 北京: 人民卫生出版, 2014: 856-859.
- [12] 于福山, 东继芳. 藏医药治疗痛风 120 例临床体会 [J]. 中国民族民间医药, 2015, 24(18): 2-3.
- [13] Cronstein B N, Sunkureddi P. Mechanistic aspects of inflammation and clinical management of inflammation in acute gouty arthritis [J]. J Clin Rheumatol, 2013, 19(1): 19-29.
- [14] 杨保林, 丁岗. 芪桂痛风舒颗粒治疗痛风性关节炎 16 例疗效观察 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2): 276-277.
- [15] Mitroulis I, Kambas K, Ritis K. Neutrophils, IL-1 β , and gout: is there a link? [J]. Semin Immunopathol, 2013, 35(4): 501-512.

[责任编辑 周冰冰]