

痹清胶囊对大鼠急性痛风性关节炎 白细胞介素 12 及诱导型环氧化酶表达的影响

周 敏¹, 董 娜¹, 韩玉生¹, 万丽鹤¹, 杨伟鹏^{2*}
(1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040;
2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 采用尿酸钠(MUS)诱导的大鼠急性痛风性关节炎模型, 研究痹清胶囊治疗急性痛风性关节炎作用机理。方法: 采用 ELISA 方法测定踝关节液白细胞介素 12(IL-12)的含量及采用免疫组化方法测定大鼠踝关节诱导型环氧化酶(COX-2)的表达。结果: 痹清胶囊明显降低痛风性关节炎模型大鼠踝关节 IL-12 的含量, 抑制大鼠踝关节 COX-2 的表达。结论: 痹清胶囊治疗痛风性关节炎有确切疗效, 可能与降低 IL-12 的含量、抑制 COX-2 的表达有关。

[关键词] 痹清胶囊; 尿酸钠; 痛风性关节炎; 白细胞介素 12; 诱导型环氧化酶

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)11-0053-03

Influence of Biqing Capsule on IL-12 and COX-2 Expression in Mouse with Acute Gouty Arthritis

ZHOU Min¹, DONG Na¹, HAN Yu-sheng¹, WAN Li-he¹, YANG Wei-peng^{2*}

(1. Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

2. Institute of China Materia, China Academy of China Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** By uric acid sodium (MUS)-induced acute gouty arthritis model, to observe Biqing Capsule treatment for acute gouty arthritis. **Methods:** The IL-12 content in joint fluid of ankle was measured by ELISA method. Mouse ankle COX-2 expression was determined by immunohistochemical methods. **Results:** Biqing Capsule obviously decreased ankle IL-12 levels and restrained rat ankle COX-2 expression. It indicated that Biqing Capsule for acute gouty arthritis had some anti-inflammatory effects. **Conclusion:** The Biqing Capsule's anti-inflammation and analgesia mechanism may be related to decreased ankle IL-12 level and restrained ankle COX-2 expression.

[Key words] Biqing Capsule; MUS; gouty arthritis; IL-12; COX-2

痹清胶囊具有利水渗湿, 通络除痹, 消肿止痛之功效。本文从痹清胶囊对痛风性关节炎模型大鼠踝关节 IL-12、COX-2 因子的影响等抗炎机制方面对其进行实验研究。

1 材料

1.1 动物 Wister 大鼠 50 只, 雄性, 体重(230~250)g 黑龙江中医药大学实验动物中心提供。

1.2 药物及试剂 痹清胶囊由豨薟草、金钱草、薏苡仁、黄柏、牛膝、丹参、土茯苓、蜂房等组成, 用药比例为 3:3:3:1:2:2:3:1, 黑龙江中医药大学药理教研室提供, 0.5 g/粒, 于试验前加蒸馏水配制成一定浓度的混悬液; 秋水仙碱片, 由西双版纳版纳药业有限责任公司生产; 大鼠白细胞介素-12(IL-12) ELISA 试剂盒, 由深圳晶美生物工程有限公司生产; 大鼠诱导

[收稿日期] 2008-04-01

[基金项目] 黑龙江自然科学基金项目(D0318)

[通讯作者] * 杨伟鹏, Tel: (010) 64014411-2981; E-mail: hrbywp@sina.com

型环氧化酶(COX-2)多抗试剂盒,由美国 SantaCruz 公司生产。

1.3 主要仪器 精密电子天平、电子天平;低温离心机;低温冰箱;酶标仪。

2 方法

2.1 实验方法 取健康 Wistar 大鼠 50 只,雄性,体重(230~ 250) g,随机分为 5 组,即痹清胶囊高剂量组(6.4 g·kg⁻¹)、低剂量组(3.2 g·kg⁻¹)、秋水仙碱组(0.135 mg·kg⁻¹)、模型对照组和空白对照组。各组动物同时 ig,每日 1 次,连续 7 d。模型组和空白组给予等容积生理盐水。于第 5 天除空白组外动物按国外 Coderre 等经典方法^[1,2]略作改进造模,将尿酸钠溶液 0.2 mL/只(浓度 25 mg·mL⁻¹)分别注入大鼠左右踝关节。

2.2 观察指标 末次给药后 30 min 大鼠断头处死,于置有冰块的干燥托盘内快速分离受试左关节周围软组织及关节液,投入匀浆管,加入 4℃生理盐水匀浆制成 2% 匀浆液,在低温(-20℃)冰箱中保存。在 4℃条件下,取 5 mL 匀浆液,加入 0.2 mL pH7.2 PBS 缓冲液,低温离心(4 000 r·min⁻¹ × 5 min),取上清液作样本,采用双抗体夹心酶联免疫吸附实验(ELISA)检测内含物 IL-12 的含量,按试剂盒说明书操作;取右踝关节,用 FAA 液(70% 酒精 90 mL,福尔马林 5 mL,冰醋酸 5 mL)灌注固定,EDTA 脱钙,采用免疫组织化学(ABC)法检测踝关节滑膜细胞 COX-2 的表

达。

2.3 数据统计学处理 所有数据均用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 对痛风性关节炎大鼠踝关节周围软组织及关节液 IL-12 的影响 结果见表 1。模型组 IL-12 的含量升高,与空白对照组比较有极显著性差异, *P* < 0.01。痹清胶囊高、低剂量组 IL-12 的含量与模型组比较有显著降低(*P* < 0.01)。

表 1 痹清胶囊对痛风性关节炎踝关节周围软组织及关节液 IL-12 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	IL-12(pg·mL ⁻¹)
空白组	—	43.18 ± 12.85 ¹⁾
模型组	—	79.86 ± 14.52
秋水仙碱组	1.35 × 10 ⁻⁴	55.60 ± 12.21
痹清胶囊	6.4	56.23 ± 12.15 ¹⁾
	3.2	50.38 ± 14.13 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ *P* < 0.01(下同)

3.2 对痛风性关节炎模型大鼠踝关节滑膜细胞 COX-2 表达的影响 结果见表 2 和图 1。模型组 COX-2 的含量明显升高,与空白对照组比较 *P* < 0.01;痹清胶囊高剂量组、低剂量组、阳对组与模型对照组比较 *P* < 0.01。表明痹清胶囊高、低剂量能显著抑制大鼠实验性痛风性关节炎踝关节 COX-2 的产生,具有统计学意义。

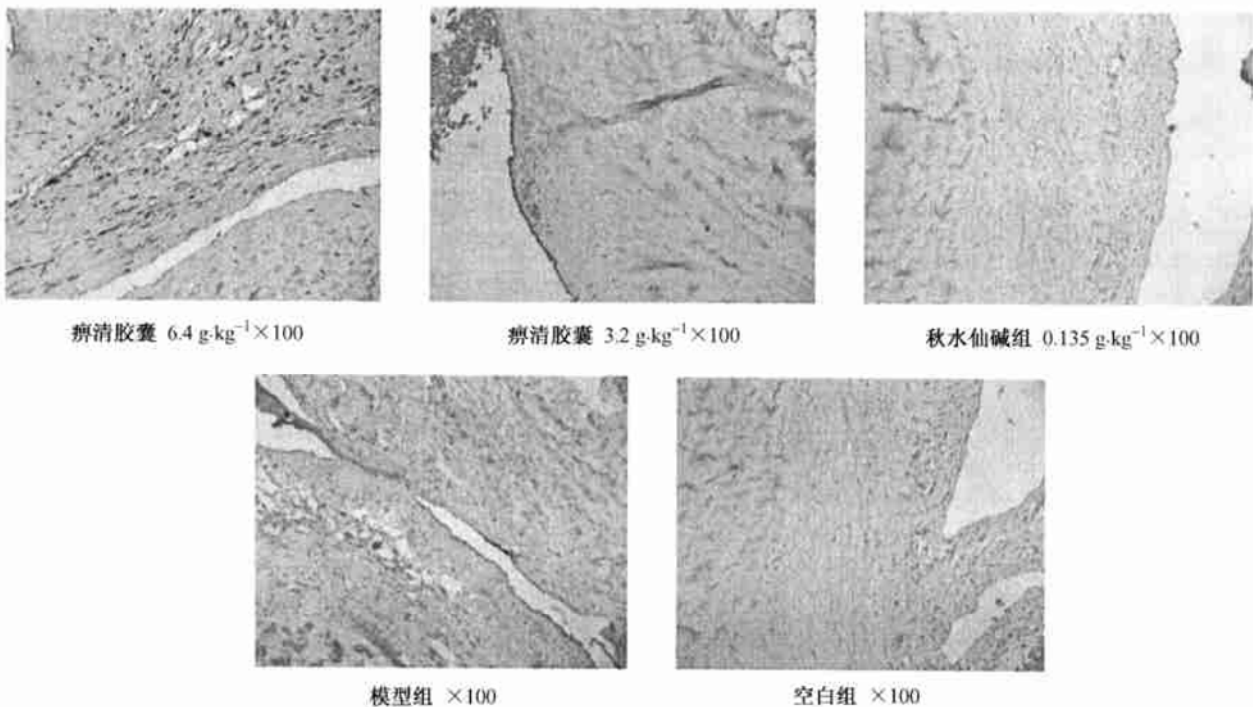


图 1 大鼠踝关节滑膜细胞 COX-2 免疫组化(ABC 法)结果

表2 痹清胶囊对痛风性关节炎模型大鼠踝关节滑膜
细胞 COX-2 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	COX-2 平均积分光密度
空白组	—	0.413 \pm 0.097 ¹⁾
模型组	—	0.901 \pm 0.080
秋水仙碱组	1.35×10^{-4}	0.454 \pm 0.104 ¹⁾
痹清胶囊	6.4	0.652 \pm 0.109 ¹⁾
	3.2	0.527 \pm 0.086 ¹⁾

4 讨论

IL-12 能促进 CD4⁺ T 细胞增殖。诱导 NK 细胞和 T 细胞产生细胞因子, 主要是 γ 干扰素, 提高 NK 细胞的细胞毒性, 促进细胞毒性 T 细胞的形成等等, 从而参与炎症免疫调节。COX-2 是引起炎症中 PGs 合成增加的主要同工酶, 对其表达和活性的抑制可有效控制炎症的进展。实践证明, 应用选择性 COX-2 抑制剂能明显减轻炎症, 同时一定程度上可能避

免因生理性 PGs 的抑制带来的不良作用。前期实验结果表明, 痹清胶囊具有抗炎、消肿等作用。本研究针对痹清胶囊治疗尿酸钠(MUS) 诱导的大鼠急性痛风性关节炎作用机理进行观察。实验结果表明, 痹清胶囊显著降低痛风性关节炎模型大鼠踝关节 IL-12 的含量、抑制踝关节 COX-2 的表达。通过实验, 验证了痹清胶囊对实验性痛风性关节炎具有良好的保护作用, 为临床应用提供参考依据。

[参考文献]

- [1] Coderre TJ, Wall PD. Ankle joint urate arthritis in rat-an alternative animal model of arthritis to that produced by Freund's adjuvant[J]. Pain, 1987, 28: 379.
- [2] Coderre TJ, Wall PD. Ankle joint urate arthritis in rat: provide a useful tool for the evaluation of analysis and antiarthritis agents[J]. Pharm Biochem Behav, 1988, 29(3): 461.