

用胶原性关节炎模型探讨中药治疗类风湿性关节炎作用机制的研究进展

姜旭光^{1*}, 姜明霞², 孙永显¹, 黄学英¹, 宋学玲¹

(1. 山东中医药高等专科学校, 山东 烟台 265200; 2. 山东省烟台市莱阳中心医院, 山东 烟台 265200)

[摘要] 目的: 了解中药治疗胶原性关节炎的研究进展及中药治疗类风湿性关节炎(RA)的作用机制。方法: 检索中国学术期刊全文数据库 1987-01/2007-01 全部有关中药治疗胶原诱导性关节炎模型的作用效果的文献, 并参考部分国外有关胶原性关节炎模型研究的文献。结果: 中药治疗 RA 的作用机制比较复杂, 可以通过多环节, 多靶点的途径发挥疗效: 抑制免疫反应, 调节 T 细胞亚群, 调整致炎或抑炎的细胞因子、酶蛋白、基因的表达水平及平衡。结论: 与作用途径相对单一的西药相比, 中药治疗 RA 具有广阔的前景, 其作用机制有待于进一步研究。

[关键词] 类风湿性关节炎; 胶原诱导性关节炎; 作用机制; 中药; 细胞因子

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2007)12-0062-04

Advances of Mechanism on Traditional Chinese Medicine of Anti-rheumatoid Arthritis by Using Collagen-induced Arthritis

JIANG Xu-guang^{1*}, JIANG Ming-xia², SUN Yong-xian¹, HUANG Xue-ying¹, SONG Xue-ling¹

(1. Shandong College of Traditional Chinese Medicine, Yantai 265200, Shandong Province, China;

2. Central Hospital of Laiyang Yantai Municipality, Yantai 265200, Shandong Province, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of traditional Chinese medicine on treating collagen-induced arthritis, so as to find out its mechanism. **Methods:** Review relevant article about the effect which traditional Chinese medicine treat collagen-induced arthritis from Chinese Academic periodical Full-text Database from January 1987 to January 2007. Meanwhile, review many English articles related to collagen-induced arthritis. **Results:** The mechanism that rheumatoid arthritis treated with traditional Chinese medicine is a complex process, which may have therapeutic effects through many ways and poly-target: inhibiting immune responses, adjusting T-cell subgroup, regulating the cytokine of promoting or restraining inflammatory and the balance of enzymes-proteins and the level of genes expression. **Conclusion:** Comparing with single western medicine treatment, traditional Chinese medicine is full of bright prospect in treating RA and the mechanism need to be further studied.

[Key words] rheumatoid arthritis (RA); collagen-induced arthritis (CIA); mechanism; traditional Chinese medicine; cytokine

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种累及周围关节为主的多系统性炎症性的自身免疫疾

病。是一种发病原因不明, 预防治疗效果不理想的疾患, 发病率高, 长期反复发作可以使劳动力丧失和致残。

中药在长期的临床实践中积累了很多经验, 国内许多学者用胶原诱导性关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)动物作为人类 RA 研究对象, 用中药复

[收稿日期] 2007-02-27

[通讯作者] * 姜旭光, Tel: 13176929750; E-mail: jianxuguanghao

@ 163.com

方或有效成分治疗 CIA 动物后, 症状和病情缓解明显, 骨质破坏减轻, 有的中药复方疗效优于西药。中药的作用机制比较复杂, 可能通过多环节, 多靶点的作用途径, 本文归纳国内对中药治疗 CIA 的作用机制研究, 现综述如下。

1 CIA 动物病理模型的特点

胶原诱导性关节炎^[1]是用同源或异源性 II 型胶原免疫动物而引发的一种慢性、多发性关节炎, 它表现为多发性外周关节炎, 关节局部红肿, 严重可致关节畸形。病理变化为增生性滑膜炎, 关节软骨破坏、骨侵蚀, 关节腔内有炎性细胞浸润。体内可检出针对自身 II 型胶原的高滴度的 IgG 抗体。这种动物病理模型在临床表现、病理学、免疫学改变和病理机制等方面与人类 RA 有许多相似特征, 是研究治疗 RA 的理想动物模型。现在已广泛应用在 RA 及中医痹证的实验研究。

2 中药对关节炎的作用机制探讨

2.1 中药对免疫功能的影响

近来研究发现, 辅助性 T 细胞(helper T cell, Th) 亚群 1(Th1) 和亚群 2(Th2) 细胞及其分泌细胞因子的水平失衡与 RA 的发生密切相关。有资料表明, T 细胞处于激活状态, 对 RA 病理的持续发展起重要作用。RA 患者的滑膜组织中滑膜细胞大量增生, 多种炎性细胞浸润, 其中淋巴细胞、巨噬细胞占多数。T 淋巴细胞中, CD4⁺ T 细胞远多于 CD8⁺ T 细胞(抑制性 T 细胞), CD4⁺ T 细胞中 Th1 细胞占绝大多数。因此, RA 滑膜中主要是 Th1 细胞占优势, Th1/Th2 比例失衡, 能产生过量的致炎性细胞因子, 诱发滑膜炎症。CIA 动物体内有相似的 T 细胞亚群的变化。

吕爱平^[2,6]比较 CIA 小鼠分别用生理盐水和高浓度桂枝汤灌胃 4 周后对 T 淋巴细胞的影响, 高浓度桂枝汤灌胃组外周全血中 CD4⁺ T 细胞增高, CD8⁺ 明显降低, CD4⁺/CD8⁺ 之比上升; 说明桂枝汤具有抑制外周细胞免疫的作用, 同时小鼠肠道黏膜局部的 CD4⁺ 细胞和 SIgA 上调, 说明桂枝汤能上调黏膜局部的细胞免疫和防御能力; 从现代医学来看, 肠道的黏膜免疫属于中医的“营卫”, 这一定程度上解释了桂枝汤“调节营卫”的作用。吕爱平等又先后多次研究宣发膜原法^[4,6]对 CIA 大鼠和小鼠免疫的影响, 并选用达原饮为代表方, 显示宣发膜原法具有免疫抑制和免疫调节的作用。宣发膜原法可以抑制机体对 II 型胶原的免疫应答, 使抗 II 型胶原抗体 IgG

及其亚型下降, 将关节炎以 Th1 型反应为主的 T 细胞反应转为以 Th2 为主的免疫反应, 控制了病情的发展。还有研究表明: 桂枝芍药知母汤^[7]能明显抑制 CIA 转基因小鼠 T 淋巴细胞的增殖, 提示本方治疗 RA 的机制之一, 是通过抑制 T 细胞增殖, 减少 T 细胞的激活及一系列免疫介质的释放, 维持机体免疫稳态, 防止关节损伤而达到治疗作用。

魏伟^[8]等研究发现 CIA 小鼠不仅有 T 细胞功能紊乱, 而且 B 细胞增殖功能增强, 抗 C II 抗体增高。说明 T 细胞和 B 细胞共同参与 CIA 的发病过程, 木瓜苷(GCS)能抑制 CIA 小鼠增高的 T 细胞、B 细胞增殖反应, 抑制血清中抗 C II 抗体的产生, 提示 GCS 对 CIA 小鼠可能影响 T 细胞和 B 细胞的功能。

2.2 中药对细胞因子的作用

细胞因子是由细胞分泌的具有生物活性的小分子蛋白物质的统称。国内外研究发现, RA 的发生与细胞因子的水平失衡密切相关^[9-11], 其中肿瘤坏死因子 α(TNF-α)、白细胞介素 1(IL-1)、干扰素(IFN-γ)等都是重要的促炎症细胞因子, 刺激并增强炎症反应, 介导关节炎的发生; 而白细胞介素 4(IL-4)、白细胞介素 10(IL-10)等抑炎因子可以促进 Th2 细胞分化, 抑制 Th1 细胞分化, 转化生长因子 β(TGF-β)可以抑制促炎因子如 TNF-α、IL-1β 的破坏作用。李兴琴等^[12]用动物实验说明: 在 CIA 大鼠发病过程中, 细胞因子网络的失调, 即促炎细胞因子和抑炎细胞因子的不平衡占有重要地位, 这与人 RA 发病过程的表现一致。

实验研究显示: 许多对 RA 有治疗效果的方剂能调节 CIA 动物细胞因子水平, 可以使多种促炎因子同时下调, 抑炎因子上调, 说明了中药复方具有多靶点的治疗作用。如宣发膜原法^[4,6]上调血清 IL-10 的水平, 下调 IFN-γ 和 TNF-α 的含量。以《金匱要略》中的桂枝芍药知母汤为基础加减而成的通痹片^[13]在临床上治疗 RA 疗效显著, 动物实验证明通痹灵^[13]明显地抑制了 CIA 大鼠软骨细胞中过度活跃的 TNF-α 表达, 促进 TGF-β 的表达, 使之接近正常范围。梁清华等^[14]研究痹肿消汤能下调 CIA 大鼠血清的 TNF-α 和 IL-1β 水平, 而且其作用优于西药甲氨喋呤。还有研究发现: CIA 小鼠用木瓜苷或青藤碱^[8]灌胃治疗后, 其细胞因子 IL-1 和 IL-2 水平均与模型组有明显差异。由白毛藤、蒲公英等组成的问荆合剂^[15]能调节 IL-1β 和 TNF-α 水平, 从而减轻滑膜炎症, 丹参注射液能下调滑膜细胞的 IL-1β 水平。

2.3 中药对酶、蛋白的影响 近年来研究发现, 基质金属蛋白酶系^[16-17]对 RA 发病有重要作用, 它可分为 5 大类, 结构上具有极大同源性。在关节炎等病理状态下, 基质金属蛋白酶系可使基质发生不可逆的降解以及关节内炎症反应的逐步加重, 并涉及血管重构。其中, 明胶酶 A (MMP-2) 和 B (MMP-9) 就属于基质金属蛋白酶系的一类, 是水解细胞外基质导致关节破坏的关键酶。沈晓燕^[18]等实验研究说明中药复方通痹灵能明显抑制明胶酶 A 和 B 的表达, 降低小鼠 CIA 的病情严重程度, 改善症状的同时还明显抑制了关节骨质破坏。

膜联蛋白-1^[19] (Annexin I) 是一种钙离子依赖性磷脂结合蛋白, 被公认为糖皮质激素参与抗炎反应的调控因子。类风湿关节炎发病过程中, Annexin I 主要分布于滑膜衬里层巨噬细胞, 可通过不同途径发挥抗炎效应。实验结果显示, Annexin I 在实验性关节炎模型组表达下调, 痹肿消汤可能上调关节炎大鼠关节滑膜 Annexin I 表达水平发挥类糖皮质激素样抗炎作用, 抑制炎症进展。梁清华等同时还通过蛋白质组学研究技术检测发现了 CIA 大鼠关节滑膜腔内其他蛋白质 Peroxiredoxins、醛缩酶 aldolase、载脂蛋白 apoA1 等蛋白质表达异常, 而痹肿消汤能调节它们的表达水平, 减轻炎症。总之, 痹肿消汤可通过调控 CIA 大鼠滑膜组织的蛋白质表达, 发挥多靶点治疗作用, 阻断关节病变的进展。

2.4 中药对基因表达的调节 随着分子生物学技术的进展, 对 RA 的分子和细胞病理机制也不断深入, 许多学者开始利用 cDNA 微阵列技术^[20], 分析中药复方干预 CIA 大鼠后的差异表达基因, 期望从众多基因中找到中药作用的靶基因, 以探索中药复方治疗 RA 的可能机制。梁清华等利用痹肿消汤治疗的 CIA 大鼠与 CIA 模型大鼠比较发现: 包括 IL-1 β 转化酶、基质金属蛋白酶、TNF- α 等多种有促炎效应的基因经痹肿消汤治疗后表达下调; 而 IL-10 基因和金属蛋白酶组织抑制剂基因表达上调, 二者都能抑制炎症反应。说明痹肿消汤对多基因表达有调控作用, 发挥多靶点的治疗作用。

3 小结

中药复方或中药有效成份治理 RA 前景广阔, 积极探索中药治疗 RA 的作用机制是一个重要课题。CIA 动物模型被认为是中医药治疗 RA 药效学研究用的较理想动物模型。中药对 CIA 动物的治疗

作用可能是多环节、多靶点的途径, 首先可以抑制免疫反应, 抑制 T 细胞、B 细胞功能, 其次调节免疫, 使 Th1 为主的 T 细胞反应转变 Th2 为主的免疫反应。其三, 调节细胞因子, 下调促炎因子, 上调抑炎因子, 起到调整失衡的细胞因子网络作用。其四, 影响酶及蛋白的表达, 某些中药复方能有效抑制基质金属蛋白酶系的表达, 保护滑膜, 或调节滑膜组织表达异常的蛋白质。其五, 调整促炎或抑炎的细胞因子或蛋白酶的基因表达水平。由于中药复方的作用机制可以同时兼有以上多种途径, 而且可同时调整多种细胞因子或蛋白酶, 与单纯通过阻断某一致炎因子或抑制免疫反应的西药相比, 中药复方或有效成份具有不可比拟的优势。所以, 探索中药的作用机制, 发现疗效更为显著的中药复方或有效成份对治疗类风湿性关节炎具有重要的临床意义, 同时也要注意, 由于中药复方的成份复杂, 其作用机制还有必要深入探讨。

[参考文献]

- [1] 吕爱平, 吴萍, 鞠大宏, 等. 用胶原诱导性关节炎探讨中药治疗类风湿性关节炎的方法学研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(6): 505-507.
- [2] 吕爱平, 周桂琴, 周静, 等. 桂枝汤对痹证(胶原诱导免疫性关节炎)小鼠肠黏膜免疫系统中 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞及 SIgA 的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 17(4): 336-338.
- [3] 周桂琴, 张浩, 周静, 等. 桂枝汤对痹证小鼠 T 淋巴细胞的调节作用[J]. 中国中医基础医学杂志, 2004, 10(3): 47-48.
- [4] 贾红伟, 吕爱平, 徐世杰, 等. 宣发膜原法对胶原诱导性关节炎大鼠免疫功能的实验研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2002, (5): 35-37.
- [5] 吕爱平, 刘振丽, 张枢明, 等. 宣发膜原法对免疫性关节炎(痹证)小鼠免疫功能的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 1997, 17(11): 679-681.
- [6] 贾红伟, 吕爱平, 赵宁, 等. 宣发膜原法和雷公藤制剂对大鼠胶原诱导性关节炎影响的对比研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, (4): 21-24.
- [7] 张琦, 吴轰, 江泳, 等. 桂枝芍药知母汤对转基因小鼠胶原诱导性关节炎 T 淋巴细胞增殖的影响[J]. 成都中医药大学学报, 2006, 29(3): 24-26.
- [8] 张玲玲, 魏伟, 严尚学, 等. 木瓜昔对小鼠胶原性关节炎的预防作用及初步机制[J]. 中国药理学通报, 2004, 20(1): 95-100.
- [9] 程惠丽. Th1/Th2 细胞因子平衡与类风湿关节炎的研

- 究进展[J]. 吉林医学, 2006, 3(27): 334-336.
- [10] Okamoto Y, Nishida M. Cytokine balance in the pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. *Y Akugaku Zasshi*, 2001, 121(2): 131.
- [11] Sale m ML. Estrogen, a double edged sword: modulation of Th1 and Th2 mediated inflammations by differential regulation of Th1/Th2 cytokine production[J]. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 2004, 3(1): 97-104.
- [12] 李兴琴, 杨德华, 钱玉中, 等. 胶原性关节炎大鼠血清中炎症细胞因子的表达[J]. *河北医药*, 2006, 28(3): 166-167.
- [13] 陈纪藩, 叶柳忠, 陈光星, 等. 通痹灵对胶原诱导性关节炎大鼠软骨破坏的对抗作用[J]. *广州中医药大学学报*. 2003. 20(1): 8-11.
- [14] 王安宇, 梁清华, 陈疆, 等. 痹肿消汤对实验性关节炎大鼠血浆 TNF- α 及 IL-1 β 的影响[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2004, 29(3): 266-269.
- [15] 何东仪, 姜婷, 冯伟, 等. 问荆合剂对 II 型胶原诱导大鼠关节炎模型 IL-1 β 、TNF- α 及滑膜的影响[J]. *上海中医药杂志*, 2006, 40(6): 62-63.
- [16] 汤天凤, 梁清华, 罗徐, 等. 痹肿消汤对活动期类风湿关节炎患者血清基质金属蛋白酶 3 及其组织抑制剂 1 的影响[J]. *中国临床康复*, 2005, 9(15): 114-116.
- [17] Klimiuk PA, Yang H, Goronzy JJ, *et al.* Production of cytokines and metalloproteinases in rheumatoid synovites is T cell dependent[J]. *Clin Immunol*, 1999, 11: 553.
- [18] 沈晓燕, 小林裕太, 赵会芳, 等. 通痹灵对抗胶原诱导性关节炎小鼠骨质破坏的作用研究[J]. *广州中医药大学学报*, 2003, 20(1): 13-16.
- [19] 杨波, 梁清华, 谢薇, 等. 痹肿消汤对胶原性关节炎大鼠滑膜双向电泳蛋白质表达的影响[J]. *中南大学学报(医学版)*. 2006. 31(3): 329-335.
- [20] 王安宇, 梁清华, 唐发清, 等. 痹肿消汤对胶原诱导性关节炎滑膜基因表达谱的影响: cDNA 微阵列研究[J]. *中国临床康复*, 2005, 9(11): 42-43.