

# 葛根汤对大鼠佐剂性关节炎防治作用研究

周军<sup>1</sup>, 方素萍<sup>2</sup>, 齐云<sup>1</sup>, 霍海如<sup>1</sup>, 姜廷良<sup>1</sup>

(1 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700; 2 北京中医药大学, 北京 100029)

**摘要:** 探讨葛根汤对佐剂性关节炎的防治作用。结果表明, 葛根汤 8.2, 16.4g/kg 致炎前 3d 灌胃给药, 可显著抑制大鼠佐剂性关节炎急性足爪肿胀, 对于继发性的足肿胀也有明显的抑制作用。可降低继发性关节炎关节液中的 PGE<sub>2</sub> 的含量。提示葛根汤具有防治佐剂性关节炎的作用。

**关键词:** 葛根汤; 佐剂性关节炎; PGE<sub>2</sub>

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2001)02-0029-03

## Effects of GeGen Decoction in Preventing and Curing Adjuvant Arthritis in Rats

Zhou Jun, Fang Surping, Qi Yun, Huo Hai-ru, Jiang Ting-liang

(1 Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of TCM, Beijing 100700 2 Beijing University of Tcm, 100029)

**Abstract:** To study the effects of GeGen Decoction (GGD) in preventing and curing adjuvant arthritis in rats. The results showed GGD (8.2, 16.4g/kg, ig) could significantly inhibit primary acute inflammatory swelling and secondary inflammatory reaction by oral administration of GGD three days before modeling. And the level of PGE<sub>2</sub> in joint fluids of secondary arthritis could also decrease. The results indicate GGD can prevent and cure adjuvant arthritis in rats.

**Key words:** GgGen Decoction (GGD); Adjuvant Arthritis; Preventing and Curing Effects

葛根汤源于张仲景的《伤寒论》, 原方是为风寒表实兼太阳经脉失养的“项背强几几”及表证不解内陷阳明的“下利”证而设。该方由葛根、麻黄、桂枝、芍药、生姜、大枣、炙甘草等七味药物组成, 功用发汗解肌、升津舒脉、祛风除湿。有研究表明, 葛根汤具有一定的抗炎、抗过敏与免疫调节等作用<sup>[1,2]</sup>。临床多用于外感表证、颈椎病、肩周炎、风湿痹证及小儿腹泻、荨麻疹等疾病的治疗。大鼠佐剂性关节炎 (Adjuvant Arthritis, AA) 是一种免疫性炎症, 是筛选抗炎与免疫抑制药物的常规模型<sup>[3]</sup>。目前尚未见到运用该模型研究葛根汤的报道。本实验即采用 AA 大鼠动物模型, 初步探讨了葛根汤的抗炎作用及其机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料和试剂

**1.1.1 实验动物** Wistar 大鼠 40 只, 雄性, 体重 180 ± 20g, 由北京医科大学实验动物中心提供。

**1.1.2 药物来源与制备** 所用中药材均购于北京市药材公司, 经生药学鉴定, 其原植物分别为葛根

*Pueraria lobata* (willd) Ohwi, 麻黄 *E. equisetina* Bunge, 桂枝 *Cinnamomum cassia* Presl, 芍药 *Paeonia lactiflora* Pall, 甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch, 生姜 *Zingiber officinale* Rosc, 大枣 *Ziziphus jujuba* Mill。按原方比例配齐药物, 先煎麻黄、葛根去上沫, 然后纳诸药水煎 2 次合并药液, 过滤浓缩为含饮片 1.64g/ml, 用时蒸馏水稀释至所需浓度。芬必得胶囊, 中美天津史克制药有限公司产品 (批 99100582), 配制成 0.009g/ml 的混悬液。

**1.1.3 试剂与仪器** 弗氏完全佐剂, 为 GIBCO 公司产品。[<sup>3</sup>H] 前列腺素 E<sub>2</sub> 放免试剂盒, 由中国人民解放军总医院科技开发中心放免研究所提供。Beckman 公司 LS9800 液体闪烁计数器。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 动物分组** 40 只大鼠随机分为 4 组, 为葛根汤高剂量组 (葛高组), 葛根汤低剂量组 (葛低组), 芬必得组, 模型组。

**1.2.2 AA 大鼠模型的建立与防治方法** 参照文献<sup>[3]</sup>, 用排水法测定正常状态下大鼠右踝关节以下的容积 (ml), 然后于每鼠左后足跖皮内注射 0.1ml 弗氏完全佐剂致炎, 分别于致炎后 6、12、18、24、48h

同法测量致炎足的容积,以致炎前后差值表示其肿胀度,以观察药物对AA大鼠原发病变的影响。并分别于致炎后的第12、15、19d同法测定非致炎足(右足)的容积变化,以观察药物对AA大鼠继发性炎症肿胀的影响。致炎前3d开始以灌胃方式给药,葛高组16.4g/kg,葛低组8.2g/kg,芬必得组0.09g/kg,模型组给予等容量的生理盐水,每日一次,连续给药至取材之日的前一天。

**1.2.3 关节浸液的获取与PGE<sub>2</sub>的检则** 大鼠致炎19d后处死,在非致炎侧踝关节上方0.5cm处摘取肿

胀足爪,纵向切开,放入存有5ml生理盐水的试管中,4℃浸泡过夜,离心取上清,-20℃保存待测。PGE<sub>2</sub>的含量测定采用放免法,按试剂盒说明书操作。

**1.2.4 统计方法** 全部数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较t检验。

## 2 结果

**2.1 葛根汤对AA大鼠原发性关节炎的防治作用,**实验结果见表1。

表1 对AA大鼠原发性炎症的影响(n=10,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量(g/kg)	大鼠原发性足爪肿胀程度(ml)				
		6h	12h	18h	24h	48h
模型组	-	0.70 ± 0.12	0.98 ± 0.10	0.83 ± 0.22	0.92 ± 0.17	0.81 ± 0.15
葛高组	16.4	0.47 ± 0.10**	0.62 ± 0.13**	0.56 ± 0.13**	0.54 ± 0.12**	0.54 ± 0.10**
葛低组	8.2	0.61 ± 0.10	0.56 ± 0.16**	0.51 ± 0.13**	0.54 ± 0.09**	0.51 ± 0.09**
芬必得组	0.09	0.55 ± 0.09**	0.60 ± 0.10**	0.53 ± 0.16**	0.51 ± 0.12**	0.50 ± 0.11**

注:与模型组比较,\* P < 0.05, \*\* P < 0.01(下同)。

结果表明,与模型组比较,葛高组与芬必得组在致炎后6-48h均有显著抑制AA大鼠原发性足肿胀的作用(P < 0.01);葛低组在致炎后12-48h,也具有显著的抑制作用(P < 0.01)。

**2.2 葛根汤对AA大鼠继发性关节炎的防治作用**实验结果见表2。

表2 对AA大鼠继发性足肿胀的影响(n=10,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量(g/kg)	大鼠继发性足爪肿胀程度(ml)		
		11d	15d	19d
模型组	-	0.49 ± 0.22	0.62 ± 0.19	0.72 ± 0.23
葛高组	16.4	0.38 ± 0.09	0.38 ± 0.14**	0.42 ± 0.11**
葛低组	8.2	0.36 ± 0.09	0.43 ± 0.15*	0.45 ± 0.14**
芬必得组	0.09	0.38 ± 0.13	0.43 ± 0.14*	0.49 ± 0.17*

结果表明,对于AA大鼠多发性关节炎的足肿胀,与模型组比较葛高组在第15d、19d均有显著的抑制作用;葛低组在第15d显示抑制作用,第19d有显著的抑制作用;芬必得组在第15d、19d均显示出抑制作用。

**2.3 葛根汤对AA大鼠关节浸液内PGE<sub>2</sub>含量的影响**实验结果见表3。

表3 对AA大鼠关节浸液内PGE<sub>2</sub>含量的影响(n=10,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量(g/kg)	PGE <sub>2</sub> 含量(ng/ml)
模型组	-	14.06 ± 6.10
葛高组	16.4	8.21 ± 2.01*
葛低组	8.2	8.77 ± 3.61*
芬必得组	0.09	8.11 ± 3.81*

结果表明,对于治疗19d后的非致炎足关节液中PGE<sub>2</sub>的含量,葛高组、葛低组、芬必得组都有明显

的下调作用。

## 3 讨论

葛根汤方药七味,其组成是在桂枝汤药味的基础上减桂枝、芍药量加葛根、麻黄而成。其中葛根解肌升阳生津,为君药;麻黄助葛根发表散邪,为臣药;桂枝、芍药、生姜、大枣、甘草是为桂枝汤,可调和营卫阴阳以助祛邪为佐;甘草兼可调和诸药以为使。诸药合用既可解肌发表散邪、生津舒筋,又可调和气血阴阳,使邪祛而正不伤。

大鼠佐剂性关节炎是一种迟发型超敏反应,亦可能属于自身免疫性疾病。其原发病变主要表现为致炎局部的急性炎症反应,致炎后18h肿胀达峰值,持续3d后逐渐减轻。继发病变一般出现于致炎后10d左右,主要表现为多发性关节炎,病理组织学特征可见滑膜充血水肿增生、单核巨噬细胞浸润、纤维素沉着、关节软骨破坏等。这些组织病理学改变与人的类风湿性关节炎(RA)很相似,故多将其作为研究类风湿性关节炎的模型。这其中有一个主要病理变化是T细胞介导的迟发性超敏反应(DTH),Ts细胞功能缺陷在发病过程中占重要地位<sup>[4]</sup>。本实验表明,葛根汤与芬必得对AA大鼠原发性足肿胀均有明显的抑制作用,说明葛根汤对急性炎症有很好的抗炎作用;对于继发性足肿胀即免疫反应性炎症,葛根汤也有明显的抑制作用,这说明葛根汤有抗DTH反应与免疫抑制的作用,这与文献报道一致,如志贺

(下转第38页)

(上接第 30 页)

隆等<sup>[1]</sup>用 SRBC 致敏小鼠,于致敏后第 4d 在足跖皮下再次注入 SRBC 抗原攻击,观察葛根汤对 DTH 的作用,结果表明于致敏前 1 周开始连续灌胃给予葛根汤,给药组抑制率为 36%;而在致敏后立即开始用葛根汤及诱发反应后 2d 用药的实验组对 DTH 未见明显影响。其研究还发现,葛根汤对 DTH 反应的抑制作用能被环磷酰胺所对抗,从而认为葛根汤的抗过敏及抑制免疫性炎症的功能主要作用于致敏阶段,使 Ts 细胞活化。因此,用药应在致炎前,我们正是采用了致炎前三 d 开始给药的方式,探讨了葛根汤对继发性关节炎足肿胀的防治作用。

在 RA 发病过程中,由滑膜纤维母细胞和软骨细胞产生的炎症介质 PGE<sub>2</sub>,是导致关节软骨和骨质破坏的主要原因之一<sup>[5]</sup>。因此检测 PGE<sub>2</sub> 的水平高低,可在一定程度上反应 RA 的病情变化。本研究表明,葛根汤与芬必得均可明显降低继发性肿胀关节液中 PGE<sub>2</sub> 的含量。

综上所述,本实验进一步证实了葛根汤的抗炎作用不单是对急性炎症有明显的抑制作用,对于继发的多发性关节炎也有很好的防治作用,临床用本方治疗该类病症早期治疗是很重要的。在 RA 发病过程中,IL-1、INF 等细胞因子刺激免疫和炎症细胞,在磷脂酶 A<sub>2</sub> 的作用下使膜磷脂游离出花生四烯酸,又在还氧合酶的作用下产生 PGE<sub>2</sub>; PGE<sub>2</sub> 作为炎

症介质的同时,又是重要的炎症调节介质<sup>[6]</sup>。葛根汤与芬必得虽同有下调 PGE<sub>2</sub> 的作用,但抑制继发性肿胀的作用葛根汤要更加明显。这是否还与葛根汤在花生四烯酸代谢的另一条途径脂加氧酶-白三烯的作用有关,在这些过程和环节中,葛根汤究竟是如何发挥其抗炎与免疫抑制作用的,有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 志贺隆,小松靖弘,细谷英吉,等. 葛根汤对 Arthus 反应及迟发性变态反应的作用[J]. 国外医学·中医中药分册, 1989, 11(2): 30—41.
- [2] 么雅娟,李云,刘艳丽,等. 葛根汤抗过敏药理作用的实验研究[J]. 沈阳药科大学学报, 1995, 12(4): 283—286.
- [3] 周金黄. 药理学进展·抗炎免疫药物分册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1983. 182—183.
- [4] Piater TD. T suppressor lymphocytes regulation of adjuvant arthritis in two inbred strains of rats[J]. Clin Exp Immunol, 1982, 49: 645.
- [5] 路秀英. 免疫细胞、细胞因子及其抑制物在类风湿关节炎发生发展中的作用[J]. 国外医学·免疫学分册, 1993, 16(4): 183.
- [6] Dingle JT Prostaglandins in human cartilage metabolism[J]. J Lipid Mediat, 1993, 6(1—3): 303.