

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.19.007

二丁颗粒对急性痛风性关节炎大鼠的抗炎作用

李天旺,田 鹏,赵 力,姚会欣,陈金强

(中国人民解放军第252医院,河北 保定 071000)

摘要:目的 探讨二丁颗粒治疗急性痛风性关节炎(AGA)模型大鼠抗炎消肿止痛的效果及其作用机制。方法 按随机数字表法将60只雄性SD大鼠分为6组,各10只。吡罗昔酮组灌胃3.0 mg/kg 吡罗昔酮,二丁颗粒低、中、高剂量组分别灌胃质量浓度为10,20,40 mg/kg的二丁颗粒,假手术组和模型组给予等量生理盐水,持续7 d,在第5天给药后1 h进行急性痛风性关节炎模型制备,实验结束后检测大鼠关节肿胀程度和关节炎指数,测定关节软骨组织白细胞介素 1β (IL- 1β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和环氧合酶-2(COX-2)含量,并进行组织形态学观察。结果 各组较假手术组大鼠关节出现不同程度肿胀,炎症评分明显升高,关节软组织中IL- 1β ,TNF- α ,COX-2含量均明显升高($P < 0.05$);与模型组相比,吡罗昔酮组和二丁颗粒各剂量组大鼠关节肿胀程度及炎症评分均明显降低,关节软组织中IL- 1β ,TNF- α ,COX-2含量均明显降低($P < 0.05$),且二丁颗粒各剂量组上述指标优于吡罗昔酮组,随着二丁颗粒剂量的增加,上述指标明显降低($P < 0.05$);二丁颗粒各剂量组在炎症、变性方面均较模型组轻,且随着剂量的增加,症状有一定缓解($P < 0.05$)。结论 二丁颗粒具有抗炎消肿止痛功效,其作用机制可能与降低IL- 1β ,TNF- α ,COX-2含量有关。

关键词:二丁颗粒;急性痛风性关节炎;大鼠;抗炎消肿止痛

中图分类号:R932;R285.5

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)19-0024-03

Anti-Inflammatory Effect of Erding Granules in Rats with Acute Gouty Arthritis

Li Tianwang, TIAN Peng, ZHAO Li, YAO Huixin, CHEN Jinqiang

(No. 252 Hospital of PLA, Baoding, Hebei, China 071000)

Abstract: Objective To investigate the effect of Erding Granules on anti-inflammation, detumescence and pain relief in rats with acute gouty arthritis(AGA) and its mechanism. **Methods** Totally 60 male SD rats were divided into 6 groups according to the random number table method, 10 rats in each group. The rats in the indomethacin group were given indomethacin(3.0 mg/kg) by intragastric administration, the rats in the Erding Granules low, medium and high dose groups were given Erding Granules with a mass concentration of 10, 20, 40 mg/kg, respectively. The rats in the sham-operated group and model group were given the same amount of saline. All rats were administered continuously for 7 d. The AGA model was established 1 h after the 5th day of administration. After the experiment, the degree of joint swelling and the index of arthritis were measured, the contents of interleukin- 1β (IL- 1β), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and cyclooxygenase-2(COX-2) in articular cartilage were measured, and the histomorphology was observed. **Results** Compared with those in the sham-operated group, the joint swelling and inflammation scores of rats increased significantly, and the contents of IL- 1β , TNF- α and COX-2 in the joint soft tissues increased significantly in each group($P < 0.05$). Compared with those in the model group, the joint swelling degree and inflammation scores of rats decreased significantly, and the contents of IL- 1β , TNF- α and COX-2 in the joint soft tissues decreased significantly in the indomethacin group and the Erding Granules low, medium and high dose groups($P < 0.05$), the above indexes in the Erding Granules groups were better than those in the indomethacin group, and the above indexes decreased significantly with the increase of the dose of Erding Granules($P < 0.05$). The inflammation and degeneration in Erding Granules groups were slighter than those in the model group, and the symptoms were relieved with the increase of the dose of Erding Granules($P < 0.05$). **Conclusion** Erding Granules have effect of anti-inflammation, detumescence and pain relief. Its mechanism may be related to the reduction of IL- 1β , TNF- α and COX-2 contents.

Key words: Erding Granules; acute gouty arthritis; rats; anti-inflammation, detumescence and pain relief

痛风性关节炎是40岁以上男性常见炎症性关节疾病,是尿酸单钠分解引起的关节疾病,伴有嘌呤代谢紊乱^[1]。痛风的进展一般分为3个阶段:无症状的高尿酸血症、无症状的间歇性痛风发作和无缓解的长期慢性痛风^[2]。急性痛风性关节炎(AGA)是由于尿酸盐结晶沉着于关节及周围组织而引起的急性特征性炎症反应^[3],具体作用机制目前尚不完全清楚。虽然痛风患者可能首先

抱怨疼痛,但有效治疗应考虑其潜在炎症。目前,非甾体抗炎药(NSAIDs)是痛风的主要治疗药物,用于镇痛和抑制炎症^[4]。其中,吡罗昔酮是治疗AGA的标准药物,但不良反应多,以胃肠道尤其显著^[5]。二丁颗粒为药典成方制剂,具有清热解毒功效^[6],可用于炎症性疾病的治疗。本研究中探讨了二丁颗粒对AGA大鼠抗炎消肿止痛的作用机制,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

仪器:HBS-1096B型酶标仪(南京德铁实验设备有限公司);TP1020型组织脱水机、EG1160型包埋机、RM2255型全自动轮转切片机等病理配套设备,均购于德国Leica公司;ML203E型电子天平(上海梅特勒公司);GL-10000C型高速冷冻离心机(上海医学仪器厂);DSX100型光学显微镜(日本Olympus公司)。

试剂:二丁颗粒(四川大千药业公司,批号为140101);尿酸钠(美国Sigma公司);酶联免疫吸附试验法(ELISA)检测试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)。

1.2 造模

动物及分组:取健康3个月龄雄性SPF级SD大鼠60只,体质量220~260g,由湖南中医药大学动物实验中心提供,许可证号为SCXK(湘)2009-0004。实验动物相关处置均符合《中华人民共和国实验动物管理条例》要求。按随机数字表法均分为假手术组、模型组、吡罗昔布组和二丁颗粒低、中、高剂量组,各10只。

大鼠急性痛风性关节炎模型制备:各组大鼠仰卧固定,剔除右后肢小腿关节毛,消毒,麻醉后用6号注射针以大鼠右深关节外侧后方为穿刺点,距小腿关节背后从45°方向插入至胫骨肌腱内侧,注入3.0%尿酸钠溶液200 μL,假手术组给予等量无菌生理盐水。

干预:适应性喂养1周后开始给药,吡罗昔布组灌胃给予3.0 mg/kg吡罗昔布,二丁颗粒低、中、高剂量组分别给予灌胃质量浓度为10,20,40 mg/kg的二丁颗粒,假手术组和模型组给予等量生理盐水,持续给予7d,在第5天给药后1h进行造模。

1.3 指标测定

关节肿胀程度:于造模前1h和造模后48h,用周长法测右后肢小腿关节同一部位周径,计算肿胀度=致炎后小腿关节周径-致炎前小腿关节周径。大鼠关节炎指数观察:根据Coderre炎症指数分级评定标准在造模后48h分别观察大鼠炎症指数。炎症指数评分标准为正常(0分);关节轻度肿胀、皮肤红斑、骨性标志可见(1分);关节明显红肿,但局限于关节部位,骨性标志消失(2分);关节以外肢体肿胀(3分)。

炎症指标:ELISA法检测关节软骨组织白细胞介素1β(IL-1β)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)和环氧合酶-2(COX-2)含量,于末次给药1h后处死大鼠,每组8只大鼠用1mL生理盐水灌洗关节腔后收集关节液,取少量关节囊和滑膜组织制成匀浆,按ELISA试剂盒说明书测定各指标含量。组织形态学观察:处死大鼠,每组2只大鼠对膝关节进行固定、脱钙、脱水、包埋、切片、HE染片后封片,观察膝关节病理改变情况。

1.4 统计学处理

采用SPSS 22.0统计学软件。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,分析前行正态性检验,采用单因素方差分析,组间两两比较用SNK-q检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 关节肿胀程度及炎症评分

各组较假手术组大鼠关节出现不同程度肿胀($P < 0.05$),炎症评分明显升高($P < 0.05$);与模型组相比,吡罗昔布组和二丁颗粒剂量组大鼠关节肿胀度及炎症评分均明显降低($P < 0.05$);二丁颗粒剂量组较吡罗昔布组大鼠关节肿胀度及炎症评分有一定增加,随着二丁颗粒剂量的增加而均明显降低。详见表1。

表1 各组大鼠关节肿胀程度及炎症评分比较($\bar{X} \pm s, n = 10$)

组别	关节肿胀程度(mm)	炎症评分(分)
假手术组	4.05 ± 5.32	0
模型组	67.49 ± 8.05 [#]	5.22 ± 0.81 [#]
吡罗昔布组	11.40 ± 1.04 ^{#*}	3.25 ± 0.34 ^{#*}
二丁颗粒 低剂量组	45.45 ± 6.05 ^{#*Δ}	4.57 ± 0.38 ^{#*Δ}
中剂量组	32.43 ± 2.02 ^{#*Δ}	3.69 ± 0.99 ^{#*Δ}
高剂量组	17.52 ± 2.03 ^{#*}	3.31 ± 0.44 ^{#*}

注:与假手术组相比,[#] $P < 0.05$;与模型组相比,^{*} $P < 0.05$;与吡罗昔布组相比,^Δ $P < 0.05$ 。下表同。

2.2 关节软组织中炎症指标

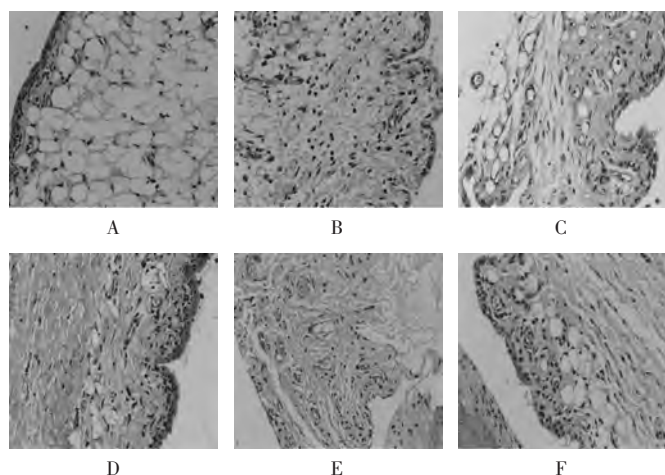
各组较假手术组大鼠关节软组织中IL-1β,TNF-α,COX-2含量均明显升高($P < 0.05$);与模型组相比,吡罗昔布组和二丁颗粒剂量组大鼠关节软组织中各指标含量均明显降低($P < 0.05$);二丁颗粒低、中剂量组较吡罗昔布组大鼠关节软组织中各指标含量有一定增加,随着二丁颗粒剂量的增加而明显降低($P < 0.05$)。详见表2。

表2 各组大鼠关节软组织中炎症指标比较($\bar{X} \pm s, \text{ng/L}, n = 8$)

组别	IL-1β	TNF-α	COX-2
假手术组	19.24 ± 2.94	27.64 ± 2.17	10.54 ± 1.57
模型组	56.05 ± 4.57 [#]	72.21 ± 4.81 [#]	89.18 ± 8.11
吡罗昔布组	22.59 ± 3.68 ^{#*}	39.54 ± 2.50 ^{#*}	52.39 ± 4.35 ^{#*}
二丁颗粒低剂量组	45.24 ± 5.93 ^{#*Δ}	60.57 ± 4.38 ^{#*Δ}	67.23 ± 4.18 ^{#*Δ}
中剂量组	35.00 ± 4.61 ^{#*Δ}	48.69 ± 2.99 ^{#*Δ}	59.30 ± 4.90 ^{#*Δ}
高剂量组	24.59 ± 4.38 ^{#*}	41.73 ± 5.94 ^{#*}	54.31 ± 7.61 ^{#*}

2.3 病理组织形态学观察

假手术组:关节软骨表面光滑,关节腔无渗出,滑膜细胞排列整齐;模型组:滑膜细胞增生,伴炎性细胞浸润,小血管增生和成纤维细胞增多;吡罗昔布组:关节软骨光滑,关节腔内见少量渗出物,滑膜细胞排列较整齐,见少许炎性细胞浸润;二丁颗粒组在炎症、变性、坏死方面均较模型组轻,随着二丁颗粒剂量的增加,症状有一定缓解。详见图1。



A. 假手术组 B. 模型组 C. 吲哚美辛组
D, E, F. 二丁颗粒低、中、高剂量组

图1 各组大鼠病理组织形态学观察(HE, $\times 400$)

3 讨论

痛风属中医“痹症”范畴,病因为气血运行不畅、邪滞经络和湿热内蕴,因此治疗痛风常以通络止痛和清热利湿为主^[7]。二丁颗粒由板蓝根、半边莲、紫花地丁、蒲公英组方,其中板蓝根具有清热解毒功效,半边莲、紫花地丁、蒲公英具有利湿、消肿、利尿散结功效^[8]。本研究结果显示,二丁颗粒具有消肿、抗炎功能,其效果与吲哚美辛相当。

AGA以关节滑膜急性炎症为特征,很可能有多种病因和各种病理途径。炎症过程被认为是由巨噬细胞驱动的,巨噬细胞产生亚标准数量的促炎细胞因子,这是炎症反应的中心介质^[9]。在正常的局部炎症反应中,促炎细胞因子的产生受到严格控制。但在AGA等情况下导致促炎细胞因子的浓度升高。研究表明,多种炎症因子参与了关节炎的发作,IL-1 β 是调节炎症的始动因素和炎症反应的重要介质,参与了急性和慢性痛风性关节炎的发展过程^[10]。TNF- α 是炎症后最早出现的细胞因子,主要由巨噬细胞和淋巴细胞产生,其过度表达时介导炎症因子趋化作用而加剧瀑布样炎症反应,最终导致组织损伤。通过减少或拮抗TNF- α 的产生可改善炎症对大鼠造成的损伤^[11]。选择性COX-2抑制剂是为了应对较少不良反应的非甾体抗炎药需求而开发,主要抑制COX-2酶。COX-2酶催化前列腺素的合成,参与炎症反应。COX蛋白存在于2种亚型(COX-1和COX-2),每种亚型在不同的细胞类型中都有不同的表达模式。COX-1已被建议用作为正常血小板、胃和肾功能提供前列腺素(PG)的生理水平,相反,COX-2被发现在动物炎症部位和炎症性疾病中高度诱导,因此,选择性COX-2抑制剂的镇痛和抗炎作用与非选择性非甾体抗炎药相似,但对胃肠道的不良作用大大降低^[12]。本研究结果显示,二丁颗粒可减低大鼠关节软组织中

IL-1 β , TNF- α , COX-2含量,提示在减轻炎症反应的同时,还能一定程度上减轻药品不良反应。

综上所述,二丁颗粒对AGA具有良好的防治作用,其作用可能与抑制炎症因子IL-1 β 和TNF- α 水平有关,同时还抑制COX-2。

参考文献:

- [1] 王 姣,齐晓明,张小珍,等. ARL15、HLA-DMA基因多态性与中国西北地区汉族人群类风湿性关节炎易感性相关[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2017,22(12):1681-1685.
- [2] 何显君,马佳维,孙 静. 痛风各期的中医辨证论治[J]. 中国中医急症,2016,25(11):2072-2074.
- [3] DHANASEKAR C, RASOOL M. Morin, a dietary bioflavonol suppresses monosodium urate crystal-induced inflammation in an animal model of acute gouty arthritis with reference to NLRP3 inflammasome, hypo-xanthine phospho-ribosyl transferase, and inflammatory mediators[J]. European Journal of Pharmacology, 2016,786(14):116-127.
- [4] GO DJ, SHIN K, BAEK HJ, et al. THU0179 Discontinuation of Nonsteroidal anti-Inflammatory Drugs in Rheumatoid Arthritis Patients with Low Disease Activity[J]. Annals of the Rheumatic Diseases, 2016,75(2):250-263.
- [5] SUN L, CHEN K, JIANG Z, et al. Indometacin inhibits the proliferation and activation of human pancreatic stellate cells through the downregulation of COX-2[J]. Oncology Reports, 2018,39(5):2243-2251.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 人民卫生出版社,2015:103-105.
- [7] 陈耀龙,王 琪,曾小峰. 从循证视角探析大数据研究——痛风与高尿酸血症患者多中心网络注册及随访研究[J]. 中华内科杂志,2017,56(3):167-170.
- [8] ZHANG SY, SONG XL, LIU W. Water Extract-alcohol Precipitation Process of Dibutyl Particles[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2017,6(14):16-24.
- [9] LAMPROPOULOU V, SERGUSHICHEV A, BAMBOUSKOVA M, et al. Itaconate Links Inhibition of Succinate Dehydrogenase with Macrophage Metabolic Remodeling and Regulation of Inflammation[J]. Cell Metabolism, 2016,24(1):158-166.
- [10] TAO JH, CHENG M, TANG JP, et al. Single nucleotide polymorphisms associated with P2X7R function regulate the onset of gouty arthritis[J]. Plos One, 2017,12(8):181-185.
- [11] RATAJCZYK E, LEDZEWICZ U, LESZCZYNSKI M, et al. The role of TNF- α inhibitor in glioma virotherapy: A mathematical model[J]. Mathematical Biosciences & Engineering Mbe, 2017,14(1):305-314.
- [12] HONMORE VS, KANDHARE AD, KADAM PP, et al. Isolates of *Alpinia officinarum*, Hance as COX-2 inhibitors: Evidence from anti-inflammatory, antioxidant and molecular docking studies[J]. International Immunopharmacology, 2016,33(5):8-17.

(收稿日期:2019-01-15)