·实验研究·

# 豨莶草活性部位抗风湿作用机理研究*

钱瑞琴[1]　张春英[1]　付宏征[2]　林文翰[2]　高子芬[3]

**内容提要**　**目的**：阐明豨莶草抗风湿作用机理。**方法**：建立佐剂性关节炎(adjuvant arthritis, AA)大鼠模型。观察豨莶草活性部位对 AA 大鼠淋巴细胞增殖反应、白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-2(IL-2)活性的影响，并同时观察 AA 大鼠踝关节病理切片，以及豨莶草的镇痛作用。**结果**：豨莶草可减轻 AA 大鼠踝关节炎症等病理反应；有较好的镇痛作用，镇痛率为 65%。豨莶草可增强 AA 大鼠 T 细胞的增殖功能，促进 IL-2 的活性，抑制 IL-1 的活性，与对照组比较有显著性差异($P<0.01$)。**结论**：豨莶草可通过调整机体免疫功能，改善局部病理反应而达到抗风湿作用。

**关键词**　豨莶草活性部位　免疫功能　抗风湿

**Study on Therapeutic Mechanism of Anti-Rheumatism Action of Herba Siegesbeckiae** QIAN Ruiqin, ZHANG Chunying, FU Hongzheng, et al *Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Beijing Medical University, Beijing (100083)*

**Objective**: To explore the mechanism of anti-rheumatism action of the active fraction of Herba Siegesbeckiae (AFHS). **Methods**: Adujvant arthritis model of rat was made to observe the effect of AFHS on lymphocyte proliferation, interleukin-1 (IL-1) and IL-2 activity, pathologic section of ankle joint, and analgesic effect of AFHS in model rat. **Results**: AFHS could reduce the inflammatory pathologic response of ankle joint, it functions well as analgesics, the analgesic rate being 65%, AFHS could also improve T-lymphocyte proliferation, improve IL-2 activity and inhibit IL-1 activity, as compared with the control group, the difference was significant ($P<0.01$). **Conclusion**: Through regulating the immune function of organism, AFHS could improve the local pathologic response so as to antagonise against rheumatism, therefore, it is a good anti-rheumatism herbal medicine.

**Key words**　active fraction of Herba Siegesbeckiae, immunity, rheumatism

豨莶草(*Siegesbeckia pubesceus* Mak.)为菊科植物腺梗豨莶草，辛、苦、寒，具有祛风湿、通络利筋骨，益肝肾等作用，临床常用于治疗关节肿痛、风湿痛、四肢麻木、腰膝无力，疗效较好。有实验报道豨莶草有抗菌、消炎及降压作用，为进一步确定豨莶草的抗风湿作用机理。本实验使用豨莶草醇提活性部位，观察对佐剂性关节炎(adjuvant arthritis, AA)大鼠模型的影响，探讨其抗风湿作用机理。

## 材料与方法

1　药品与试剂　福氏完全佐剂(Freund's Adjuvant complete)、RPMI-1640 粉为美国 Gibco 公司产品，四甲基偶氮唑盐(MTT)、刀豆蛋白(Con A)、脂多糖(LPS)均为 Sigma 公司产品。豨莶草活性部位提取：取豨莶草茎叶 1.0kg，经粉碎，以 95% 乙醇回流提取 3 次，减压浓缩得浸膏。浸膏溶解于蒸馏水，用石油醚分解，脱脂、水层乙酸乙酯萃取 3 次，乙酸乙酯萃取物经硅胶-H 柱低压层析，以氯仿－甲醇为梯度洗脱剂，收集氯仿－甲醇(3:1)的洗脱部位，减压浓缩得活性部位。活性部位经 HPLC 色谱测定，含奇任醇(kirenol)85%。

2　动物与分组　SD 大鼠雌雄各半，2～3 月龄，体重(250±30)g；$C_{57}$BL/6 小鼠，雌雄兼用，6 周龄，体重(20±3)g，均由北京医科大学医学实验动物部提供。将大鼠随机分为 3 组，每组 7 只，正常组每日每只灌服 4ml 自来水，于给水第 1 日给大鼠左后足跖皮内注射 0.1ml 生理盐水，模型组每日每只灌服 4ml 自来水，给药组每日每只灌服 4ml(0.8g/ml)豨莶草活性部位，模

* 国家重点科技项目攻关计划基金资助(No.96－903－02－02)

1. 北京医科大学中西医结合研究室(北京 100083)；2. 北京医科大学国家重点实验室；3. 北京医科大学病理系

型组与给药组于给水、给药第 1 日分别在左后足跖皮内注射 0.1ml 福氏完全佐剂[1]，第 18 日将动物全部处死，取脾和腹腔巨噬细胞备用。

3 测定方法

3.1 脾淋巴细胞增殖试验 参考文献[2]方法。无菌常规制备大鼠脾细胞悬液，调整至 $5\times10^6$/ml 细胞悬液，加入 96 孔培养板，每孔分别加入 Con A（终浓度 3μg/ml），置 37℃，5% $CO_2$ 培养箱温育 44h 后，每孔加入 MTT（5mg/ml）继续温育至 48h，终止培养，离心弃上清，晾干后加入 0.04mol/L 盐酸异丙醇 100μl，充分混匀，于酶联免疫仪（DG3022 型）上检测波长 570nm 的 OD 值，用以表示细胞的增殖状况。

3.2 脾淋巴细胞白细胞介素 2(IL-2)的诱生与检测 参考文献[2]方法。无菌常规制备大鼠脾细胞悬液，调整至 $5\times10^6$/ml 细胞悬液，加入 24 孔培养板，每孔分别加入 Con A(终浓度 3μg/ml)，置 37℃，5% $CO_2$ 培养箱温育 48h 后，离心取上清，－20℃保存待测。采用小鼠脾细胞增殖法检测大鼠脾细胞 IL-2，以 MTT 比色分析法，于酶联免疫仪(DG3022 型)上检测波长 570nm 的 OD 值，表示 IL-2 的活性。

3.3 大鼠腹腔巨噬细胞白细胞介素 1(IL-1)的诱生与检测 参考文献[1]方法。无菌常规制备大鼠腹腔巨噬细胞悬液，调整至 $5\times10^6$/ml 细胞悬液，加入 24 孔培养板，每孔分别加入 LPS(终浓度 10μg/ml)。置 37℃，5% $CO_2$ 培养箱温育 48h 后，取上清，－20℃保存待测。采用小鼠胸腺细胞增殖法检测大鼠腹腔巨噬细胞 IL-1，以 MTT 比色分析法，于酶联免疫仪(DG3022 型)上检测波长 570nm 的 OD 值，表示 IL-1 的活性。

3.4 大鼠踝关节病理切片制备 取各组大鼠踝关节置于 10% 福尔马林固定，石蜡包埋切片，HE 染色。光学显微镜观察。

3.5 小鼠镇痛模型（扭体法） 参考文献[1]方法。将小鼠随机分为生理盐水组、盐酸吗啡组、豨莶草组，并分别给予生理盐水、盐酸吗啡及豨莶草活性部位，30min 后每只小鼠腹腔均注射 0.6% 醋酸 0.2ml，观察 20min 内小鼠的扭体反应次数，计算出镇痛百分率。

## 结 果

1 豨莶草活性部位对 AA 大鼠淋巴细胞增殖的影响 见表 1。AA 大鼠淋巴细胞增殖功能低下，与正常组比较下降 28%，豨莶草活性部位对 AA 大鼠模型淋巴细胞增殖有促进作用。

2 豨莶草活性部位对 AA 大鼠脾淋巴细胞 IL-2 的影响 见表 2。AA 大鼠脾淋巴细胞产生 IL-2 功能低下，与正常组比较下降 28%，给药后豨莶草活性部位对 AA 大鼠模型脾淋巴细胞产生的 IL-2 在 1:2、1:4、1:8 稀释度均有促进作用，与模型组比较，分别增加 44%、44%、56%（$P<0.05$），并能恢复至正常大鼠水平。

3 豨莶草活性部位对 LPS 诱导的 AA 大鼠腹腔巨噬细胞 IL-1 的影响 见表 3。AA 大鼠腹腔巨噬细胞产生 IL-1 功能亢进，与正常组比较上升 34%，给药后豨莶草活性部位对 AA 大鼠模型腹腔巨噬细胞产生的 IL-1 在 1:10、1:20、1:40 稀释度均有抑制作用，与模型组比较，分别下降 23%、23%、57%（$P<0.05$），并能恢复至正常大鼠水平。

4 豨莶草活性部位对 AA 大鼠踝关节局部组织的影响 AA 大鼠踝关节组织切片血管扩张充盈，纤维素渗出，滑膜细胞增生，淋巴细胞浸润(图 1、2)。灌服药物后，充血明显减轻，炎症细胞浸润减少(图 3、4)。

5 豨莶草活性部位对疼痛小鼠模型的镇痛作用 见表 4。小鼠灌服豨莶草活性部位后可减轻醋酸的疼痛刺激，与模型组比较有显著性差异，表明豨莶草活性部位有较好的镇痛作用。

表 1 豨莶草活性部位对 AA 大鼠淋巴细胞增殖的影响 （$\bar{x}\pm s$）

| 组别 | 鼠数 | $5\times10^6$/ml 淋巴细胞（OD 值） |
|---|---|---|
| 正常 | 7 | 1.62±0.42 |
| 模型 | 7 | 1.16±0.09* |
| 给药 | 7 | 1.40±0.15△ |

注：与正常组比较，* $P<0.05$；与模型组比较，△ $P<0.05$

表 2 豨莶草活性部位对 AA 大鼠脾淋巴细胞 IL-2 的影响 （OD 值，$\bar{x}\pm s$）

| 组别 | 鼠数 | 稀释度 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1:2 | 1:4 | 1:8 |
| 正常 | 7 | 0.241±0.023 | 0.175±0.023 | 0.143±0.012 |
| 模型 | 7 | 0.174±0.017* | 0.122±0.011* | 0.077±0.016* |
| 给药 | 7 | 0.251±0.009△ | 0.176±0.024△ | 0.137±0.021△ |

注：与正常组比较，* $P<0.05$；与模型组比较，△ $P<0.05$

表 3 豨莶草活性部位对 LPS 诱导的 AA 大鼠腹腔巨噬细胞 IL-1 的影响 （OD 值，$\bar{x}\pm s$）

| 组别 | 鼠数 | 稀释度 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1:10 | 1:20 | 1:40 |
| 正常 | 7 | 0.164±0.013 | 0.097±0.015 | 0.055±0.014 |
| 模型 | 7 | 0.219±0.016* | 0.141±0.040* | 0.106±0.063* |
| 给药 | 7 | 0.168±0.020△ | 0.108±0.023△ | 0.046±0.009△ |

注：与正常组比较，* $P<0.05$；与模型组比较，△ $P<0.05$

表 4　豨莶草活性部位对疼痛小鼠模型的镇痛作用

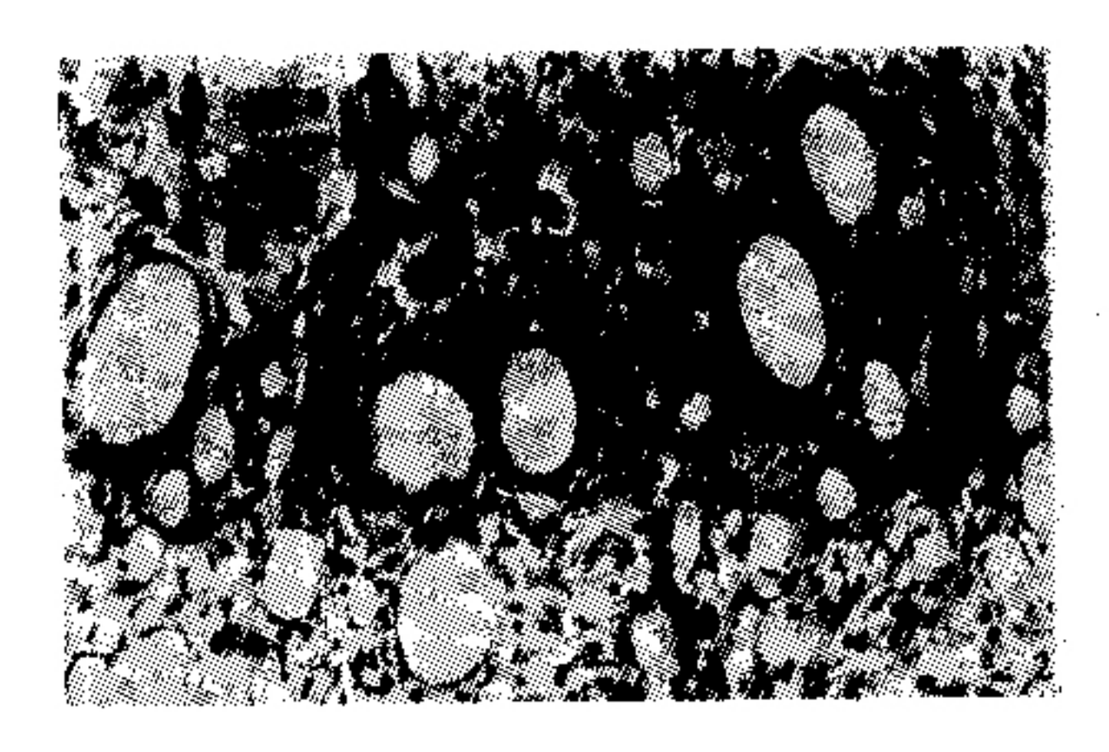
| 组别 | 鼠数 | 剂量 (g/kg) | 扭体反应 (次数/20min) | 镇痛率 (%) |
|---|---|---|---|---|
| 生理盐水 | 20 | 10ml | 29 | 0 |
| 盐酸吗啡 | 20 | 0.01 | 0 | 100* |
| 豨莶草 | 20 | 50 | 10 | 65* |

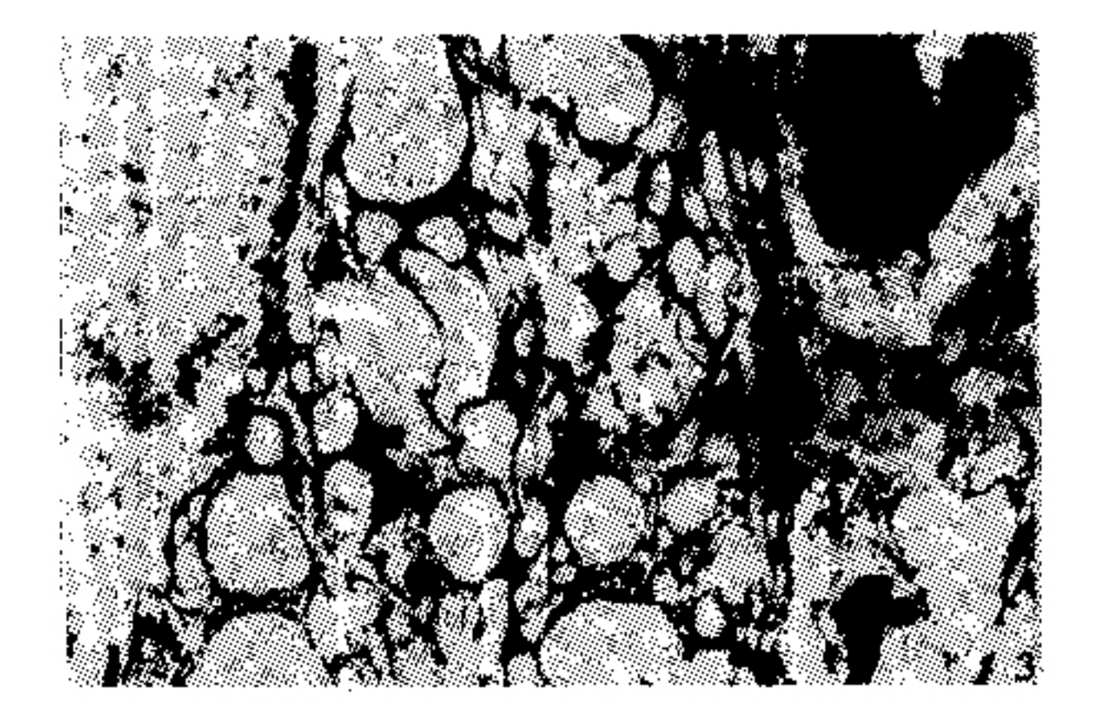
注：与生理盐水组比较，* $P<0.001$

## 讨　论

本研究使用福氏完全佐剂制备的大鼠佐剂性关节炎，是常用的类风湿性关节炎实验模型之一，是免疫性炎症模型。类风湿性关节炎是一种自身免疫性疾病，引起关节和全身的病变，与体液和细胞免疫均有关，而 T 细胞直接参与这一病变[3]。为此本实验采用上述免疫性炎症模型，探讨豨莶草活性部位抗风湿作用机理。本实验表明 AA 大鼠 Con A 诱导的脾淋巴细胞增殖功能低下，脾淋巴细胞产生的 IL-2 活性下降，LPS 诱导的大鼠腹腔巨噬细胞产生的 IL-1 活性亢进，这与文献报道是一致的[4]。灌服豨莶草活性部位后，可促进脾淋巴细胞增殖功能，并能使低下的 IL-2 恢复至正常水平。提示豨莶草活性部位可通过增强 T 细胞的功能进而调整大鼠的机体免疫功能，从而改善大鼠的免疫状态。据报道佐剂性关节炎的发生与巨噬细胞的异常活化有关，巨噬细胞的异常活化可产生过量的 IL-1，而 IL-1 在佐剂性及人类风湿性关节炎的关节软骨和骨质的进行性破坏中起重要的作用[5]。可使新生正常软骨蛋白多糖损失，刺激滑膜细胞增殖，从而使软骨和骨质破坏[6]。本实验也证实 AA 大鼠 IL-1 的产生亢进，同时表明豨莶草可抑制 AA 大鼠产生的 IL-1，从而可阻止 IL-1 对大鼠关节软骨及骨质的破坏，减轻全身及局部的病变进程。

AA 大鼠踝关节肿胀，活动受限。病理组织学检查表明：踝关节组织切片纤维素渗出，滑膜细胞增生，炎症性细胞浸润等明显炎症性变化。AA 大鼠经灌服药物后，踝关节组织切片表明充血明显减轻，纤维素渗出减少。通过小鼠镇痛试验也证实豨莶草活性部位有显著的镇痛作用。上述实验初步表明豨莶草可调整 AA 大鼠的免疫功能，抑制局部组织炎症细胞，减轻局部病理反映，从而达到抗风湿的作用，是较好的抗风湿中药，有广泛的临床应用前景。





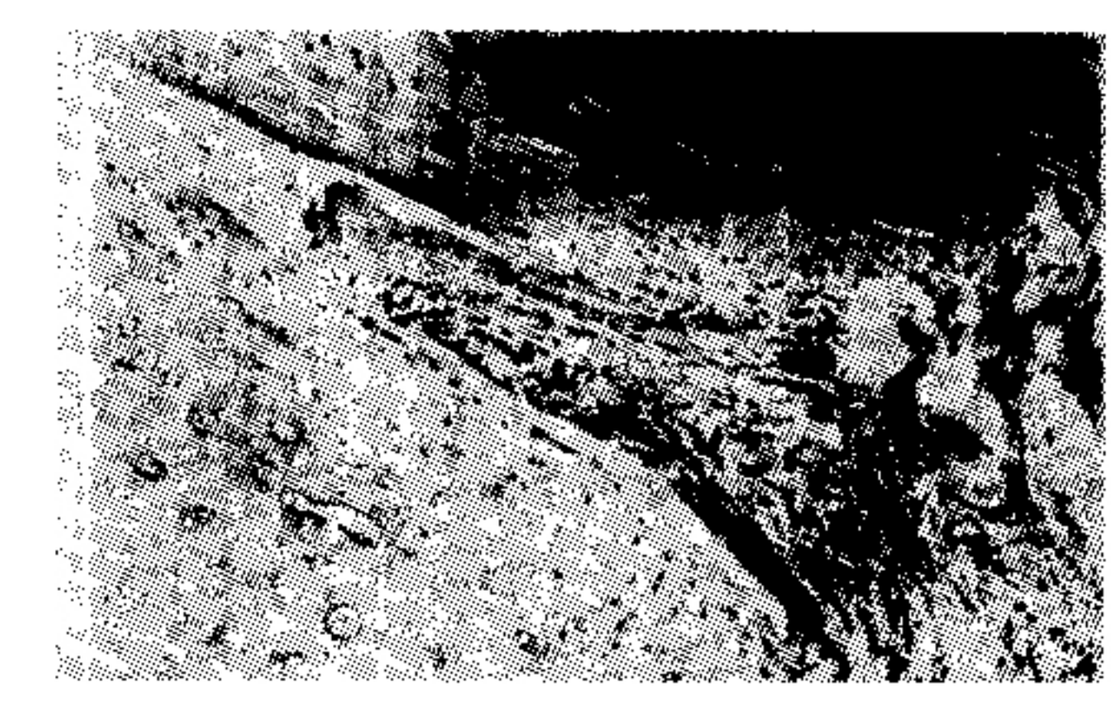


图 1、2　AA 大鼠踝关节组织切片血管扩张充盈，纤维素渗出，滑膜细胞增生，淋巴细胞浸润；图 3、4　灌服药物后，AA 大鼠踝关节组织切片充血明显减轻，炎症细胞吸收，滑膜细胞增生减少

## 参 考 文 献

1. 陈 奇主编. 中药药理研究方法学. 北京：人民卫生出版社，1993：369—370，772—773，378—379.
2. 周道洪，沈元珊，赵曼瑞. 测定淋巴细胞转化和白细胞介素-2 活性的新方法——MTT 比色分析法. 中国免疫学杂志 1986；2(1)：39—44.
3. Friedrich Hasle 主编. 田亿芳译. 风湿病学新进展. 成都：四川科学技术出版社，1992：3—24.
4. 李 俊，汤晓林，陈敏珠，等. 白芍总甙对佐剂性关节炎大鼠的免疫调节机制. 中国药理学通报 1995；11(4)：475—477.
5. 周金黄，李晓玉，荣康泰主编. 免疫药理学进展·基础与临床. 北京：中国科学技术出版社，1993：420—421.
6. Binderup L. Lymphocyte-macrophage co-cperation during induction of T suppressor cell activity in rats with adjuvant arthritis. Ann Rheum Dis 1983；42：683.

(收稿：1998－11－09 修回：1999－01－20)

# 薏苡仁配合化学药物治疗晚期鼻咽癌的临床观察

李 毓

鼻咽癌(NPC)以放疗为主，但对于出现远处转移的晚期病例，则需要配合化疗，或只能化疗。NPC 对化疗药物也较敏感，但缓解期短。本研究在既往研究的基础上，探讨薏苡仁配合化疗药物对晚期 NPC 的治疗作用。

**资料和方法**

1 临床资料 所收治的病例均属于晚期 NPC 患者，伴远处转移。原发病灶根据临床表现、间接鼻咽镜检查以及病理活检确诊，转移病灶经细针穿刺细胞学检查(颈淋巴结)、X 线胸片(肺)、腹部 B 超、CT(肝)、ECT(骨)证实，同时排除该部位的原发肿瘤。组织学类型属低分化鳞癌。临床分期为Ⅳ期。Karnofsky 评分≥70%，肝肾功能、血象正常。

未经任何治疗的晚期 NPC 患者，共 60 例，随机分为两组。实验组 30 例，男 19 例，女 11 例；年龄 35～50 岁；$T_2N_1M_1$(骨转移)9 例，$T_2N_3M_1$(骨)5 例，$T_3N_1M_1$(肺)5 例，$T_1N_3M_1$(肺)6 例，$T_3N_1M_1$(肝)2 例，$T_4N_0M_1$(肝)3 例。对照组 30 例，男 21 例，女 9 例；年龄 35～50 岁；$T_2N_1M_1$(骨)7 例，$T_2N_3M_1$(骨)5 例，$T_3N_1M_1$(肺)7 例，$T_1N_3M_1$(肺)5 例，$T_3N_1M_1$(肝)1 例，$T_4N_0M_1$(肝)5 例。两组性别、年龄、病灶大小和转移程度无明显差别。

2 治疗方法 两组均采用 PFB 方案。顺铂(DDP)每天 20mg/m$^2$，静脉滴注，第 1～5 天；5-氟脲嘧啶(5-Fu)每天 500mg/m$^2$，静脉滴注，第 1～5 天；博罗霉素(BLM)每天 7mg/m$^2$，肌肉注射，第 1、5 天。每 21 天重复，共 3 个周期(疗程)。化疗的同时，实验组每天上午空腹口服单味薏苡仁(100g)煎剂 1 次，并长期服用。

检测 T 淋巴细胞及其亚群、IL-2、NK 细胞。数据统计采用 $t$ 检验，配对 $t$ 检验和 $\chi^2$ 检验。

**结 果**

1 疗效评定标准 近期疗效按 WHO 分级标准(Cancer 1981；47：207—313)，以间接鼻咽镜、颅底和鼻咽 CT 片、胸片、腹部 B 超/CT、ECT 等检查结果进行判断。生存质量按文献(韩 锐. 肿瘤化学预防及药物治疗. 北京：北京医科大学中国协和医科大学联合出版社，1991：749—750)评价。

2 近期疗效 对照组完全缓解(CR)1 例，部分缓解(PR)17 例，无变化(NC)11 例，恶化(PD)1 例，有效率(CR + PR)60.0%；实验组 CR 4 例，PR 21 例，NC 5 例，PD 0 例，有效率 90.0%。近期疗效实验组明显高于对照组($P<0.05$)。

3 毒副反应 以恶心、呕吐、轻度脱发、贫血和 WBC 下降为主。除 WBC 外，两组毒性反应相似。实验组 WBC 下降程度较对照组轻($P<0.05$)。

4 免疫功能 化疗后，对照组免疫功能受抑，$CD_3$、$CD_4$、$CD_4/CD_8$，下降明显($P<0.05$，$P<0.01$)，IL-2 和 NK 细胞活性也下降，但无统计学差别；实验组 $CD_3$、$CD_4$、$CD_4/CD_8$，IL-2 和 NK 细胞活性回升，并高于化疗前水平($P<0.05$，$P<0.01$)和(化疗后的)对照组水平($P<0.05$)。

5 远期疗效 随访 1 年，对照组无瘤生存 0 例，病情稳定 17 例，恶化 7 例，死亡 6 例；实验组分别是 4、21、3、2 例；远期疗效实验组优于对照组($P<0.05$)。生存质量按好、中、差 3 个等级，对照组分别为 9、9、6 例，实验组 20、6、2 例，两组比较有显著性差异($P<0.05$)。

**讨 论**

PFB 方案是目前治疗 NPC 常用的方法之一，但缓解期短。本研究对照组单独采用该方案，实验组采用该方案加薏苡仁综合治疗后，疗效实验组高于单独对照组($P<0.05$)。说明薏苡仁能增强 NPC 对这些化疗药的敏感性。并且，实验组的远期疗效也明显优于对照组，提示该中药能抑制 NPC 复发，延长化疗缓解期。

NPC 患者的细胞免疫功能本已低下，加上化疗药物的损伤，不能清除(化疗后)残余的肿瘤细胞，故缓解期短，易于复发。本临床观察也证明这一点。给予薏苡仁后，免疫功能得到改善或恢复，有利于杀伤病灶癌细胞，提高疗效。

(收稿：1999－02－12 修回：1999－06－15)

广东省中医研究所(广州 510095)