

· 基础研究 ·

桂枝温通经脉配伍对胶原诱导性关节炎大鼠的免疫调节作用

彭代平¹ 汤小虎^{2,3} 周瑞彬¹

摘要 **目的** 研究桂枝温通经脉配伍对胶原诱导性关节炎(CIA)模型大鼠的治疗作用,并探讨其作用机制。**方法** 雄性 Wistar 大鼠 110 只,随机分为正常组 10 只,其余于大鼠尾根及背部每只 0.5 mg 皮内注射胶原乳剂制备关节炎大鼠模型,致炎后 21 天,将造模成功的大鼠(90 只)随机分为模型组、甲氨喋呤组、桂枝组、桂枝牛膝组、桂枝川乌组、桂枝独活组、桂枝附子低、中、高剂量组,每组 10 只;分别灌胃给药,每天 1 次,连续 21 天。观察大鼠关节炎指数(AI)、后爪体积及踝关节病理变化情况,并检测血清中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-1 β (IL-1 β)、白介素-6(IL-6)含量。**结果** 与模型组比较,桂枝牛膝组、桂枝川乌组、桂枝独活组、桂枝附子高、中剂量组及甲氨喋呤组关节炎大鼠 AI 及后爪肿胀明显降低($P < 0.05$);桂枝牛膝组、桂枝川乌组、桂枝独活组、桂枝附子中、高剂量组及甲氨喋呤组关节炎大鼠血清 TNF- α 的含量显著下调($P < 0.01$),并对踝关节病理变化有改善;各给药组大鼠血清 IL-6 的含量均显著降低($P < 0.01$)。**结论** 桂枝温通经脉配伍对 CIA 大鼠关节炎有一定的抑制作用,可能是治疗类风湿关节炎的有效配伍。

关键词 桂枝;温通经脉;炎性细胞因子;类风湿关节炎

Immunomodulatory Effects of Compatibilities of *Ramulus Cinnamomi* for Warming Meridians on Collagen-induced Arthritis Rats PENG Dai-ping¹, TANG Xiao-hu², and ZHOU Rui-bin¹ 1 Department of Cardiology and Endocrinology, Kunming Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kunming (650011); 2 Department of Rheumatic Immunology, Yunnan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kunming (650021); 3 College of Clinical Medicine, Yunnan College of TCM, Kunming (650500)

ABSTRACT **Objective** To observe the therapeutic effects of the compatibilities of *Ramulus Cinnamomi* (RC) for warming meridians on collagen-induced arthritis (CIA) rats, and to study its mechanisms. **Methods** Totally 110 male Wistar rats were randomly divided into the normal group ($n = 10$) and the CIA modeling group ($n = 100$). The CIA model was established by intradermally injecting collagen emulsion (0.5 mg) from tail and back. At day 21 after induction, successfully modeled rats (90 male) were randomly divided into the CIA model group, the methotrexate (MTX) group, the RC group, RC *Achyranthes Bidentata* group (A), RC *Radix Aconiti* group (B), RC *Angelica Pubescens* group (C), and the low, middle, high dose RC *Aconitum carmichaeli* group (D, E, F), 10 rats in each group. All rats were intragastrically administered, once per day for 21 successive days. Arthritis index (AI), paw volume, and pathological changes of ankle joint were observed after treatment. The serum levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 were measured. **Results** Compared with the CIA model group, AI and the swelling degree of the joints was significantly alleviated in Group A, B, C, E, F, and the MTX group ($P < 0.05$). The serum content of TNF- α was significantly down-regulated in Group A, B, C, E, F, and the MTX group ($P < 0.01$). Pathological changes of ankle joint were also improved as well. Serum levels of IL-6 were de-

基金项目:国家自然科学基金项目(No. 81060285);云南省应用基础研究项目(No. 2010ZC192);云南省卫生科技项目(No. 2010NS104);云南省教育厅科学研究基金项目(No. 2013J044);云南省高校科技创新团队支持计划资助(No. IRTSTYN)

作者单位:1.云南省昆明市中医医院心血管内分泌病科(昆明 650011);2.云南省中医医院风湿免疫病科(昆明 650021);3.云南中医学院临床医学院(昆明 650500)

通讯作者:汤小虎, Tel:13064214246, E-mail:tigerlet_tcm@126.com

DOI: 10.7661/j. cjim. 20170426. 095

creased significantly in all administered groups ($P < 0.01$). Conclusion The compatibilities of *Ramulus Cinnamomi* for warming meridians had certain inhibition on joint arthritis of CIA rats, which might be effective compatibilities for treating rheumatoid arthritis.

KEYWORDS *Ramulus Cinnamomi*; warming meridians; inflammatory cytokine; rheumatoid arthritis

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种以对称性外周小关节炎为主要表现的慢性系统性自身免疫病,其基本病理为滑膜炎,涉及抗原、巨噬细胞、细胞因子等多种因素参与的一系列异常免疫反应,导致软骨和骨的降解,最终导致关节畸形和功能障碍,其中细胞因子网络失衡起重要的地位^[1]。桂枝有温通经脉、散寒止痛的功效,在中医临床中桂枝用于治疗痹病,随着历史的发展越来越多^[2],并且桂枝有关复方可能通过调节细胞因子而发挥抗风湿的作用^[3]。因此,本研究通过 II 型胶原诱导的关节炎 (type II collagen induced arthritis, CIA) 模型,观察桂枝温通经脉配伍的抗炎、免疫调节等作用,探讨桂枝温通经脉配伍防治 RA 的作用机制。

材料与方法

1 动物 SPF 级雄性 Wistar 大鼠 110 只,体重 (200 ± 20) g,购自成都(简阳市)达硕动物科技有限公司,生产许可证编号:SCXK(川)2008-24。动物饲养于云南省中医医院中心实验室 SPF 级动物房,环境温度 (21 ± 3) °C,湿度 (55 ± 5) %, 12 h 光暗循环至实验结束,适应性饲养 1 周后进行实验。饲料和水均由动物自由摄取,所有笼具、饲料和饮水均经过 121 °C 蒸汽灭菌处理。

2 药物 甲氨喋呤片(每片 2.5 mg,批号:036130413),上海信谊药厂有限公司;桂枝配方颗粒(0.5 g 相当生药重 3 g,批号:1306175),川牛膝配方颗粒(3 g 相当生药重 10 g,批号:1305137),独活配方颗粒(3 g 相当生药重 10 g,批号:1309054),制附子配方颗粒(2.5 g 相当生药重 15 g,批号:1305808),制川乌配方颗粒(0.5 g 相当生药重 3 g,批号:1300067),均为江阴天江药业有限公司产品。

3 试剂 牛 II 型胶原购自四川大学;完全弗氏佐剂(货号:263810);IL-6 检测试剂盒(货号:550319)、肿瘤坏死因子(TNF)- α 检测试剂盒(货号:558535),均为 BD 公司产品;IL-1 β R&D 公司产品;水合氯醛,武汉市和昌化工有限公司产品;胎牛血清,天津市顺生化制品有限公司产品;福尔马林,西陇化工股份有限公司产品。

4 仪器 酶标仪,美国 BioTeK 公司;分析天平,

METTLER TOLEDO 公司;电子秤,上海友声衡器有限公司;二氧化碳培养箱 3111,美国 Thermo-fisher 公司;Biofuge Primo R 离心机,德国 Thermo Scientific Heraeus 公司;YLS-7B 足趾容积测量仪,济南益延科技发展有限公司;玻璃毛细管,四川成都华西医科大学仪器厂生产; -20 °C 冰箱,中国海尔公司; -80 °C 超低温冰箱,美国 Thermo 公司;光学显微镜,LEICA DM2500;高压蒸汽灭菌锅,MLS-3780 杭州亚旭生物科技有限公司。

5 方法

5.1 分组及造模 将 110 大鼠随机分为正常 10 只及建立 CIA 模型 100 只;将 100 mg 牛 II 型胶原溶于 20 mL (0.1 mol/L) 的醋酸中,置于 4 °C 过夜,再与等量的完全弗氏佐剂混合,制备 II 型胶原终浓度为 2.5 mg/mL 的混合物。然后用注射器反复抽吸,直至混合物完全、充分乳化,以乳化物滴入水中不松散为度。取乳化后的混合物,于麻醉的大鼠尾根、背部皮内各注射 0.1 mL,每只共给 II 型胶原 0.5 mg,并压迫注射部位 30 s,以使乳化物吸收完全。正常组给予同等剂量的生理盐水,于大鼠尾根部、背部皮内各注射 0.1 mL。免疫后第 14 天,参照文献[4]并改进,模拟自然风寒湿环境,建立类 RA 风寒湿痹模型,将造模大鼠置于 (7 ± 3) °C 冷水中,水深 1 cm 中站立 30 min,同时伴以 4~5 级风力,每天 1 次,连续刺激 7 天。于免疫第 21 天进行关节炎指数(AI)评分, $AI \geq 2$ 分即为造模成功^[5,6] (共 91 只),随机将其中 90 只分为模型组、桂枝组、桂枝川乌组、桂枝牛膝组、桂枝独活组、桂枝附子低、中、高剂量组、甲氨喋呤组,每组 10 只。

5.2 给药方法 根据临床常用生药剂量(桂枝 20 g、制川乌 30 g、川牛膝 20 g、独活 20 g、制附子 30 g)按“人和大鼠之间体表面积折算”等效剂量灌胃给药,即每天给药量:桂枝组 1.8 g/kg,桂枝制川乌组 4.5 g/kg,桂枝牛膝组 3.6 g/kg,桂枝独活组 3.6 g/kg,桂枝附子低、中、高(生药 1.5、4.5、13.5 g/kg,相当于成人临床等效剂量的 1/3、1、3 倍)组;甲氨喋呤组 1.5 mg/kg,每周给药 1 次;正常组和模型组给予蒸馏水灌胃;给药容积为 1 mL/100 g,连续给药 21 天。

5.3 检测指标及方法

5.3.1 一般情况观察 从大鼠注射胶原免疫第 2 天至取血当日,每天进行 1 次观察,观察动物存活情况、关节皮肤变化、行为等。体重称量从完全分组给药当日即开始,每 1 周称重 1 次。

5.3.2 大鼠 AI 于给药前及给药 7、14、21 天各进行 1 次 AI 评分。评价方法参照文献[7]。0 分:无红斑或肿胀;1 分:轻微的红斑和 1 个趾关节肿胀;2 分:红斑和超过 1 个趾关节的肿胀;3 分:红斑和踝部或腕部肿胀;4 分:全部红斑以及脚趾和踝部或手指和腕部的肿胀,踝或腕不能弯曲;四肢评分之和(最高分为 16 分)为 AI,AI 越高,表明关节炎程度越严重。

5.3.3 大鼠后爪体积测定 使用 YLS-7B 足趾容积测量仪标记大鼠踝关节,于给药前及给药 7、14、21 天各进行 1 次大鼠双后爪体积测量,并采用(双后爪体积之和/2)计算出每 1 只后爪的体积。

5.3.4 血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的测定 给药后第 21 天,麻醉后腹主动脉取血并处死大鼠,待血液凝固后,置离心机于 4℃,3 500 r/min,离心 10 min 后分装血清,采用 ELISA 法(按试剂盒说明书程序进行操作)检测大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 含量。

5.3.5 踝关节病理变化 大鼠处死后,取双后肢踝关节,于 10% 中性缓冲福尔马林进行固定,浸洗、脱钙、脱水、透明、石蜡包埋、切片 4 μ m 后苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察踝关节的病理变化。

5.4 统计学方法 采用 SPSS 18.0 统计软件进行统计学分析,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,符合正态分布的计量资料组间比较采用单因素方差分析,方差齐时两两比较采用 LSD 法分析,方差不齐的资料采用秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 一般情况观察 大鼠于免疫后 10 天左右,开始踝关节皮肤发红,轻度肿胀;免疫后 14 左右,大鼠足

跖关节红肿明显,有的皮温升高,行走不便,毛发失去光泽,活动减少,体重增长缓慢,胶原皮内注射部位形成多处小溃疡;给予风寒湿刺激后,大鼠皮肤发红减轻、局部皮温降低,毛干枯无泽更明显,精神状态萎靡,部分大鼠关节肿胀加重,有的大鼠出现打喷嚏、流涕、蜷缩,大便稀。在分组实验过程中桂枝川乌组、桂枝附子中剂量组、桂枝附子高剂量组各死亡 1 只。

2 各组 CIA 大鼠 AI 比较(表 1) 给药前及给药 7、14、21 天,与正常组比较,模型组大鼠 AI 均明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。各治疗组大鼠 AI 在给药前及给药 7 天时与模型组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),14 天时开始各治疗组大鼠 AI 低于模型组,但差异无统计学意义($P > 0.05$);给药 21 天时,各治疗组大鼠 AI 均低于模型组,其中桂枝牛膝组、桂枝川乌组、桂枝独活组、桂枝附子中、高剂量组及甲氨喋呤组明显低于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$),但桂枝组及桂枝附子低剂量组与模型组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。给药前及给药 7、14、21 天时各治疗组大鼠 AI 组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 各组 CIA 大鼠后爪体积比较(表 2) 在给药前及给药 7、14、21 天各时间点,模型组大鼠后爪体积均大于正常组,差异有统计学意义($P < 0.01$);给药前各治疗组大鼠后爪体积与模型组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);给药 7 天后,各治疗组大鼠关节肿胀开始减轻、后爪体积下降,在给药 7、14 天时,各治疗组大鼠后爪体积较模型组有不同程度下降,但差异无统计学意义($P > 0.05$);给药 21 天时各治疗组后爪体积均低于模型组,其中桂枝牛膝组、桂枝川乌组、桂枝独活组、桂枝附子高、中剂量组及甲氨喋呤组大鼠后爪体积较模型组明显下降($P < 0.05$),但桂枝组、桂枝附子低剂量组大鼠后爪体积下降与模型组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。给药前及给药 7、14、21 天时

表 1 各组 CIA 大鼠 AI 比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	AI			
		给药前	给药 7 天	给药 14 天	给药 21 天
正常	10	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
模型	10	5.90 $\pm$ 2.42 *	6.20 $\pm$ 2.20 *	7.10 $\pm$ 2.33 *	7.00 $\pm$ 2.16 *
桂枝	10	5.70 $\pm$ 2.95	5.60 $\pm$ 2.92	5.90 $\pm$ 2.92	5.10 $\pm$ 2.42
桂枝牛膝	10	5.60 $\pm$ 2.37	6.20 $\pm$ 2.20	5.60 $\pm$ 2.63	4.70 $\pm$ 2.36 Δ
桂枝川乌	9	6.11 $\pm$ 2.42	6.11 $\pm$ 3.22	5.33 $\pm$ 2.74	4.44 $\pm$ 2.46 Δ
桂枝独活	10	5.90 $\pm$ 2.64	6.30 $\pm$ 3.37	5.40 $\pm$ 2.72	4.60 $\pm$ 2.55 Δ
桂枝附子低剂量	10	5.90 $\pm$ 2.33	5.90 $\pm$ 2.60	5.60 $\pm$ 2.50	5.10 $\pm$ 2.13
中剂量	9	5.78 $\pm$ 2.91	5.89 $\pm$ 3.48	4.89 $\pm$ 2.52	4.00 $\pm$ 2.83 Δ
高剂量	9	6.11 $\pm$ 2.26	5.78 $\pm$ 2.39	5.00 $\pm$ 2.50	4.44 $\pm$ 2.35 Δ
甲氨喋呤	10	5.70 $\pm$ 2.83	5.90 $\pm$ 3.07	5.50 $\pm$ 3.03	4.50 $\pm$ 2.55 Δ

注:与正常组同期比较,* $P < 0.01$;与模型组同期比较, $\Delta P < 0.05$

表 2 各组 CIA 大鼠后爪体积比较 (mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	后爪体积			
		给药前	给药 7 天	给药 14 天	给药 21 天
正常	10	1.97 ± 0.06	2.06 ± 0.07	2.13 ± 0.07	2.20 ± 0.08
模型	10	2.99 ± 0.80 *	3.00 ± 0.75 *	3.06 ± 0.61 *	3.04 ± 0.55 *
桂枝	10	2.92 ± 0.80	2.85 ± 0.67	2.81 ± 0.62	2.72 ± 0.52
桂枝牛膝	10	2.91 ± 0.66	2.87 ± 0.60	2.71 ± 0.54	2.57 ± 0.43 Δ
桂枝川乌	9	3.03 ± 0.74	2.88 ± 0.78	2.71 ± 0.67	2.53 ± 0.47 Δ
桂枝独活	10	2.98 ± 0.74	2.97 ± 0.77	2.77 ± 0.62	2.57 ± 0.43 Δ
桂枝附子低剂量	10	2.99 ± 0.79	2.94 ± 0.73	2.88 ± 0.64	2.70 ± 0.51
中剂量	9	2.96 ± 0.77	2.83 ± 0.73	2.69 ± 0.62	2.55 ± 0.53 Δ
高剂量	9	2.99 ± 0.70	2.89 ± 0.66	2.68 ± 0.49	2.50 ± 0.35 Δ
甲氨喋呤	10	2.91 ± 0.81	2.79 ± 0.72	2.67 ± 0.56	2.57 ± 0.43 Δ

注:与正常组同期比较,* $P < 0.01$;与模型组同期比较, $\Delta P < 0.05$

各治疗组大鼠后爪体积组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

4 各组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 测定结果比较(表 3) 与正常组比较,模型组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的含量明显增高($P < 0.05$, $P < 0.01$);与模型组比较,各治疗组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 水平均有不同程度下降,其中桂枝牛膝组、桂枝川乌组、桂枝独活组、桂枝附子中、高剂量组、甲氨喋呤组大鼠血清 TNF- α 的含量均明显降低($P < 0.01$),各药物治疗组大鼠血清 IL-6 水平均明显降低($P < 0.01$)。各治疗组大鼠血清 IL-1 β 水平组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),桂枝附子高剂量组大鼠血清 TNF- α 、IL-6 水平明显低于桂枝组($P < 0.05$),其余各组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

5 各组大鼠踝关节病理变化比较(图 1) 正常组踝关节组织结构清楚完整,关节软骨表面光华,滑膜细胞无增生、充血、水肿,无炎症细胞浸润,软骨细胞呈椭圆形,排列整齐;模型组可见关节软骨及骨组织破坏明显,关节滑膜细胞大量增生,纤维组织增生充血、水肿,大量炎症细胞浸润,以淋巴细胞为主,关节邻近骨

组织也有明显破坏吸收,可见增生的纤维组织向骨髓腔内侵入生长;与模型组比较,甲氨喋呤组大鼠踝关节炎、软骨及骨组织破坏减轻,见少量炎细胞浸润,软骨层变薄、关节面欠光滑;桂枝组、桂枝附子低剂量组可见关节软骨组织局部破坏,部分关节软骨组织内增生的滑膜细胞及纤维组织侵入生长,炎症细胞浸润,软骨细胞排列不整齐,关节软骨层变薄,关节面粗糙,提示桂枝组、桂枝附子低剂量组对 CIA 大鼠关节炎及骨破坏抑制作用不强;桂枝牛膝组、桂枝川乌组、桂枝独活组、桂枝附子中剂量及桂枝附子高剂量组大鼠踝关节炎、骨破坏有不同程度的减轻,关节滑膜细胞增生及炎症细胞浸润减少,关节面粗糙、软骨层变薄。

讨 论

RA 是一种病因复杂的自身免疫性疾病,主要表现为多发对称性的关节炎,最终可致关节畸形和功能丧失,严重影响患者生活质量;属中医学“痹证”的范畴。《类证治裁·痹证》中就有:“诸痹……良由营卫先虚,腠理不密,风、寒、湿乘虚内袭,正气为内所阻,不能宣行,因而留滞,气血凝涩,久而成痹。”指出痹证发病

表 3 各组大鼠踝血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 测定结果比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF- α	IL-1 β	IL-6
正常	10	10.10 ± 2.30	15.76 ± 2.51	35.94 ± 22.47
模型	10	15.13 ± 1.81 **	19.87 ± 3.06 *	114.03 ± 40.30 **
桂枝	10	13.32 ± 2.93	18.31 ± 3.77	67.74 ± 26.45 Δ
桂枝牛膝	10	11.00 ± 2.66 Δ	18.07 ± 3.87	58.28 ± 23.73 Δ
桂枝川乌	9	11.36 ± 2.61 Δ	19.46 ± 4.33	57.21 ± 34.01 Δ
桂枝独活	10	10.88 ± 2.88 Δ	17.92 ± 3.68	43.68 ± 31.08 Δ
桂枝附子低剂量	10	12.18 ± 3.84	19.60 ± 3.60	64.20 ± 33.71 Δ
中剂量	9	10.87 ± 3.16 Δ	17.80 ± 3.43	47.18 ± 23.34 Δ
高剂量	9	10.16 ± 2.65 Δ	17.13 ± 2.89	41.00 ± 18.63 Δ
甲氨喋呤	10	11.60 ± 2.53 Δ	18.19 ± 3.86	49.48 ± 18.65 Δ

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.01$;与桂枝组比较, $\Delta P < 0.05$

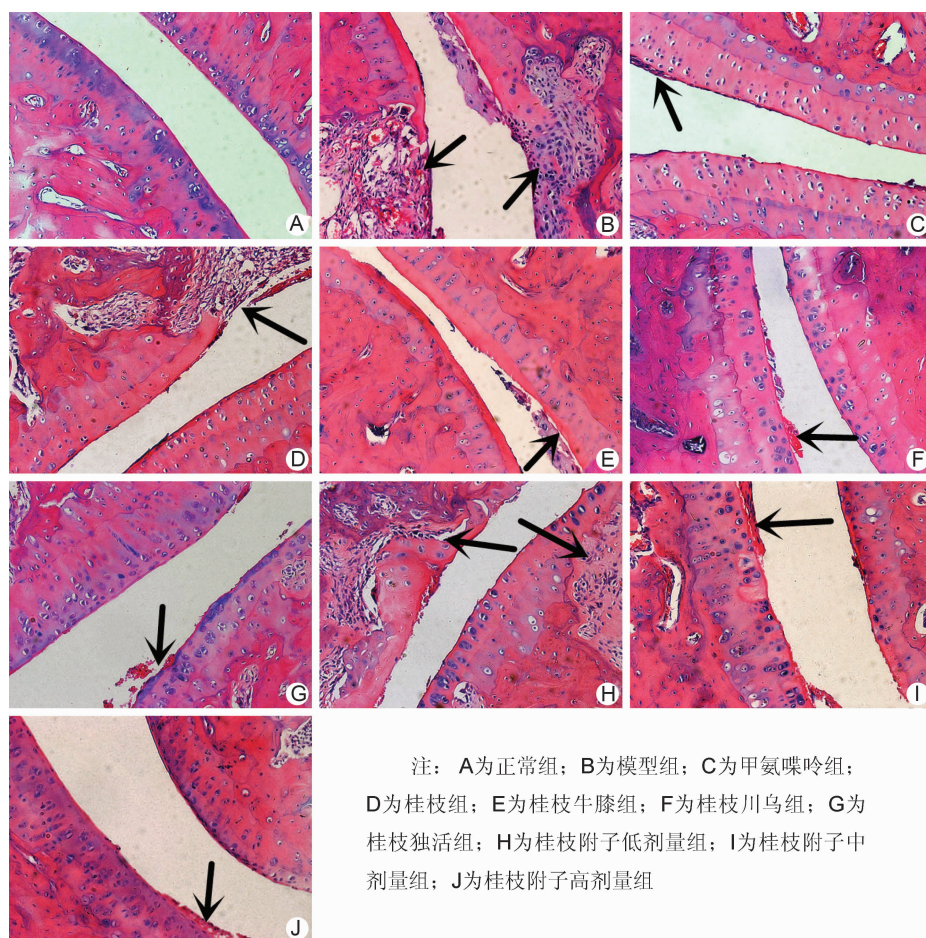


图1 各组大鼠踝关节病理变化 (HE 染色, $\times 200$)

以正气不足为本,外感风寒湿则是重要诱因。RA 发病,或因先天禀赋不足、或因病后产后体虚,正气不足,风、寒、湿邪乘虚而入,留着于经络关节,痹阻气血而成,不能营养四末筋骨,故见关节肿痛,屈伸不利,甚至关节畸形。RA 患者在早期以寒湿证多见^[8],桂枝味辛性温,辛能发散而走表,温能通达,善通四肢经脉,能散风寒湿邪,温通宣痹止痛;具有温通经脉、散寒止痛之功,是寒湿痹证之首选药^[9]。基于此,结合现代实验研究,在经典的 CIA 大鼠模型基础上探索性建立风寒湿痹模型,探讨桂枝温通经脉配伍抗风湿的作用。

在前期的文献研究^[2]基础上,挑选常用桂枝温通经脉配伍进行实验。如:桂枝与附子配伍,附子辛甘、大热,具有回阳救逆,补火助阳,散寒止痛之功,为纯阳之品,其性走而不守,能通行十二经,上能助心阳以通脉,中能温脾阳以健运,下能补肾阳以益火,为散阴寒,逐冷痰,通关节之猛药;两药相伍温通经脉、散寒止痛之功更甚,是风寒湿痹常用配伍。桂枝与川乌配伍,川乌辛苦、热,辛散温通,疏利关节,驱寒逐湿,祛风除湿,

温经散寒止痛之力猛,两者合用温通经脉、散寒除湿止痛的作用明显,为风寒湿痹证最佳组合。独活辛苦、微温,辛香行散,宣通百脉,调和经络,通筋骨而利机关,又善下行能祛在里在下之风寒湿邪,为治风湿痹痛主药,与桂枝配伍既可温通经脉,又有宣痹止痛。川牛膝甘平,能补能通,活血祛瘀之力较强,能补益肝肾,强筋健骨,又能祛除风湿,主治寒湿痿痹,与桂枝配伍能温经活血,通脉止痛。

RA 病因及发病机制至今尚不清楚,但随着近年研究表明,细胞因子在 RA 的病理过程中发挥着重要作用,促炎细胞因子和抗炎细胞因子两者失衡是 RA 发病及发展的主要原因^[10]。TNF- α 全过程参与 RA 的发生发展,是 RA 发病的关键促炎症细胞因子^[11]; IL-1 在 RA 发病机制是破坏关节软骨的最重要的细胞因子之一^[12]; IL-6 是 RA 滑膜炎症及关节损伤的重要介质之一,能诱导或增强 TNF- α 、IL-1、IL-17 等炎症因子发挥致病作用^[13]。总之 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 等促炎细胞因子,可刺激胶原酶和前列腺素 E 的产生,导致软骨和骨破坏^[14],因此抑制 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 产生

来抑制基质金属蛋白酶表达从而产生对软骨细胞的保护作用可以治疗 RA。本实验发现,单独桂枝对 CIA 大鼠血清 IL-6 水平有一定降低作用;桂枝牛膝、桂枝川乌、桂枝独活、桂枝附子中、高剂量配伍组对 CIA 大鼠 AI、足爪肿胀减轻明显,而且有下调血清 TNF- α 、IL-6 水平作用,提示桂枝与附子、川乌、独活、川牛膝温通经脉配伍可通过下调 TNF- α 、IL-6,发挥抗炎及减轻骨破坏。各药物组对大鼠外周血 IL-1 β 降低作用不明显,推测可能与药物干预时间有关、或者桂枝温通经脉配伍对 IL-1 β 抑制作用不明显,需进一步研究。

综上所述,桂枝与附子、川乌、独活、川牛膝温通经脉配伍治疗 RA 的机制之一可能是抑制内源性促炎细胞因子(TNF- α 、IL-6)活性抗炎、调节免疫,从而发挥抗风湿作用,是否有调节细胞因子网络平衡作用,需进一步研究证实。

参 考 文 献

- [1] 高俊,丁真奇. 细胞因子在类风湿性关节炎中作用的研究现状[J]. 医学综述, 2006,12(5): 289-291.
- [2] 汤小虎,邓中甲主编. 百病之主——桂枝说[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 181-197.
- [3] 彭代平,汤小虎,颜永明. 桂枝附子复方对类风湿关节炎肿瘤坏死因子的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2013,19(10): 1136-1137.
- [4] 金祝秋,郭建生,彭芝配,等. 大鼠风寒湿痹证模型的建立与前列腺素 E2 的关系[J]. 湖南中医学院学报, 1996,16(1): 40-42.
- [5] 杜中平,赵宏艳,肖诚,等. 类风湿性关节炎脾虚证病证结合动物模型的建立[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2012,14(2): 1384-1392.
- [6] 高晓珺,解骏,肖涟波,等. 骨碎补总黄酮对胶原诱导大鼠类风湿关节炎骨破坏治疗作用的实验研究[J]. 实用临床医药杂志, 2013,17(5): 13-17.
- [7] 曹雪涛译. 精编免疫学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 372-373.
- [8] 侯雷,马武开. 类风湿关节炎中医证候分类临床文献研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(3): 279-283.
- [9] 柳春,梁永林,姚柳伊. 类风湿关节炎寒湿痹阻证用药规律研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2013,33(9): 1269-1272.
- [10] 何涛,杜瀛琨,蓝伦礼,等. 中药对类风湿性关节炎相关细胞因子影响的研究概况[J]. 云南中医中药杂志, 2009,30(3): 59-61.
- [11] Petrovic-Rackov L. Cytokines in rheumatoid arthritis and osteoarthritis [J]. Med Pregl, 2005, 58(5-6): 245-251.
- [12] Strand V, Kavanaugh AF. The role of interleukin-1 in bone resorption in rheumatoid arthritis [J]. Rheumatology (Oxford), 2004, 43(Suppl 3): III 10-III 16.
- [13] Nakahara H, Song J, Sugimoto M, et al. Anti-interleukin-6 receptor antibody therapy reduces vascular endothelial growth factor production in rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Rheum, 2003, 48(6): 1521-1529.
- [14] Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Role of cytokines in rheumatoid arthritis [J]. Ann Rev Immunol, 1996, 14: 397-440.

(收稿:2015-10-12 修回:2016-04-23)

责任编辑:段碧芳

英文责编:张晶晶