

· 基础研究 ·

风寒湿外邪对痹证(佐剂性关节炎)发生发展的影响

李鑫¹ 魏艳霞¹ 林也¹ 邝涛^{1,2} 李如意¹ 余黄合¹ 邵峰¹
宋厚盼¹ 曾光¹ 黄惠勇¹ 蔡雄^{1,3} 王莘智²

摘要 **目的** 探讨风寒湿外邪对痹证[类风湿关节炎]发生发展的影响。**方法** (1)雄性 SD 系大鼠 20 只,采用分层随机法分为单纯完全弗氏佐剂(CFA)组(10 只)及风寒湿 14 天 + CFA 组(10 只)。单纯 CFA 组大鼠正常饲养 14 天,风寒湿 + CFA 组大鼠风寒湿刺激 14 天,尾根部皮下注射 0.1 mL 含 100 μ g 结核分支杆菌(Mtb)的 CFA 诱导佐剂性关节炎(AIA)观察并记录大鼠发病数,计算发病率。(2)雄性 SD 系大鼠 30 只,分层随机分为单纯 CFA 组(10 只)、风寒湿 7 天 + CFA 组(10 只)及风寒湿 14 天 + CFA 组(10 只),3 组大鼠分别尾根部皮下注射 0.1 mL 含 200 μ g Mtb 的 CFA 诱导 AIA。观察各组大鼠发病时间及关节炎指数。(3)雄性 SD 系大鼠 30 只,分层随机分为正常组(10 只)、单纯 CFA 组(10 只)及风寒湿 14 天 + CFA 组(10 只),观察并记录各组大鼠精神状态、舌质、大便情况,测量体质量、饮水量和光辐射热刺激撤足时间。(4)雄性 SD 系大鼠 20 只,分层随机分为正常组(10 只)及风寒湿 14 天组(10 只),检测外周血 CD4⁺ T 细胞亚群。**结果** CFA(含 100 μ g Mtb)注射后,单纯 CFA 组大鼠关节炎发病率为 50%,风寒湿刺激 14 天 + CFA 组大鼠达到 100%($P=0.039$)。风寒湿刺激 14 天 + CFA 组在 CFA(含 200 μ g Mtb)注射后出现关节炎时间为(8.3 ± 1.2)天,比单纯 CFA 组大鼠[(13.2 ± 1.2)天]显著提前($P<0.01$);与单纯 CFA 组比较,风寒湿 14 天 + CFA 组大鼠体毛欠光泽、明显畏寒、蜷卧懒动、大便稀溏、舌质偏淡、舌苔腻。风寒湿 14 天 + CFA 组大鼠关节炎初发阶段体重显著下降($P<0.05$, $P<0.01$),后足肿胀程度显著增加($P<0.05$, $P<0.01$),饮水量显著减少($P<0.05$),热刺激撤足时间显著增加($P<0.01$)。风寒湿 14 天组大鼠外周血中 CD4⁺ T 细胞亚群数量较正常组明显升高($P<0.05$)。**结论** 风寒湿外邪影响 AIA 病证的发生,在疾病初发阶段中医证候表现为风湿寒痹证,其形成机制可能与 CD4⁺ T 细胞亚群异常活化有关。

关键词 痹证; 类风湿关节炎; 风寒湿外邪; 佐剂性关节炎; CD4⁺ T 细胞

Effect of Exogenous Evils of Wind-cold-damp on the Occurrence and Development of Bi Syndrome (Adjuvant-induced Arthritis) LI Xin¹, WEI Yan-xia¹, LIN Ye¹, KUANG Tao^{1,2}, LI Ru-yi¹, YU Huang-he¹, SHAO Feng¹, SONG Hou-pan¹, ZENG Guang¹, HUANG Hui-yong¹, CAI Xiong^{1,3}, and WANG Shen-zhi² 1 Hunan Provincial Key Laboratory of Diagnostic and Therapeutic Research in Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha (410208); 2 Department of Rheumatology and Immunology, First Affiliated Hospital, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha (410007); 3 Key Laboratory of Translational Research in Chinese Medicine, Changsha (410208)

ABSTRACT **Objective** To observe the effects of exogenous evils of wind-cold-damp on the occurrence and development of Bi syndrome (rheumatoid arthritis, RA). **Methods** (1) Twenty male SD rats were randomly divided into Group A [complete Freund's adjuvant (CFA) alone] and Group B (14 days wind-cold-damp stimulation + CFA), 10 in each group. Rats in Group A were routinely fed for 14 days.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81373540);中国博士后科学基金第 60 批面上资助项目(No. 2016m600632);第 10 批特别资助项目(No. 2017T100604);湖南中医药大学中医诊断国家重点学科开放基金项目(No. 2014-08, No. 2015ZYZD05, No. 2015ZYZD15);湖南中医药大学“科技创新团队”资助项目(No. 201503)

作者单位:1.湖南中医药大学中医诊断学湖南省重点实验室(长沙 410208);2.湖南中医药大学附属第一医院风湿免疫科(长沙 410007);3.中医方证转化医学研究湖南省高校重点实验室(长沙 410208)

通讯作者:蔡雄, Tel: 0731-85381149, E-mail: caix12@qq.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20171026.266

Rats in Group B received wind-cold-damp stimulation for 14 days, 0.1 mL CFA containing 100 μg *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) was subcutaneously injected to rats in the 2 groups from tail root to induce adjuvant-induced arthritis (AIA). The morbidity was daily observed and recorded, and the incidence was calculated. (2) A total of 30 male SD rats were randomly stratified into Group C (CFA alone), Group D (7 days wind-cold-damp stimulation + CFA), Group E (14 days wind-cold-damp stimulation), 10 in each group. 0.1 mL CFA containing 200 μg Mtb was subcutaneously injected to rats in the 3 groups from tail root to induce AIA. The onset time and arthritis index (AI) were observed. (3) A total of 30 male SD rats were randomly stratified into the normal group (F), Group G (CFA alone), Group H (14 days wind-cold-damp stimulation + CFA), 10 in each group. The psychosis, tongue proper, defecation were observed and recorded in each group. Body mass index (BMI), water consumption, and thermal hyperalgesia in hind paws of rats were measured. (4) Twenty male SD rats were randomly stratified into the normal group (I) and Group J (14 days wind-cold-damp stimulation), 10 in each group. Peripheral CD4^+ T cell subsets were detected by flow cytometry. Results (1) After injection of CFA (containing 200 μg Mtb), the incidence of AIA was 50% in Group A and 100% in Group B ($P=0.039$). (2) Arthritis occurred in Group E at day (8.3 ± 1.2) day after injection of CFA (containing 200 μg Mtb), earlier than that of Group C [(13.2 ± 1.2) days, $P<0.01$]. (3) Compared with AIA rats normally fed, rats in Group H had no luster hair but chilliness. They were lazy to move. They had loose stool, pale tongue, and greasy fur. Body weight significantly decreased at the initial stage of arthritis in Group H ($P<0.05$, $P<0.01$). The swelling degree of hind toes significantly increased ($P<0.05$, $P<0.01$), water consumption was significantly reduced ($P<0.05$), thermal stimulation pain threshold significantly increased ($P<0.01$). (4) The number of CD4^+ T cells subsets in the peripheral blood of rats in Group J was obviously more than that of Group I ($P<0.05$). Conclusions Exogenous evils of wind-cold-damp affect the occurrence of AIA, which might manifest as wind-cold-damp Bi syndrome at the initial stage. Its pathogenesis might be associated with abnormal activation of CD4^+ T cell subsets.

KEYWORDS Bi syndrome; rheumatoid arthritis; exogenous evils of wind-cold-damp; adjuvant-induced arthritis; CD4^+ T cell

中医学“痹证”是以肢体关节疼痛、酸楚、麻木、重着、肿胀、关节屈伸不利,甚至关节僵硬、畸形为主要表现的一种常见病证,对其病因病机的认识,《素问·痹论》有云:“风寒湿三气杂至,合而为痹也。其风胜者为行痹、寒气胜者为痛痹、湿气胜者为着痹也”,“所谓痹也者,各以其时重感于风寒湿之气也”,此奠定了中医论治痹证的理论基础,被后世医家奉为圭臬^[1]。类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种关节滑膜慢性炎症导致骨和软骨进行性破坏、关节功能障碍的自身免疫疾病^[2],其发病率高(0.3%~1%),病程反复、缠绵不愈,5年致残率高达30%~50%,至今仍缺乏理想的治疗药物与方法,是造成劳动力丧失及致残的主要疾病之一^[3,4]。

自20世纪80年代中以来,“风寒湿三气杂至合而为痹也”的现代研究和论证以及RA病证结合模型研究就有报道^[5]。吕爱平等^[6,7]采用自制Ⅱ型胶原在Wistar大鼠诱导Ⅱ型胶原性关节炎(collagen Induced Arthritis, CIA),同时将大鼠置入冷水中游泳,

连续7天,发现风寒湿因素能加重CIA的病理学改变。肖长虹等^[8,9]研究建立RA风寒湿痹和风湿热痹动物模型,采用自制牛Ⅱ型胶原溶于非完全弗氏佐剂(incomplete Freund's adjuvant, IFA)再加卡介苗的方法制备牛Ⅱ型胶原乳剂,CIA造模同时采用自制造模箱给予大鼠风寒湿或风湿热刺激9天。结果显示风寒湿刺激延迟雌性大鼠CIA发病时间、降低炎症积分和减轻滑膜炎炎症,与之前的学者研究报道不同。金祝秋等^[10]和姜辉等^[11]在诱导大鼠佐剂性关节炎(adjuvant-induced arthritis, AIA)同时采用将大鼠置于冷水加吹风的方法制备RA风寒湿痹阻证模型。这些研究报道风寒湿造模装置较简易,风寒湿刺激条件不统一,模型特异性不强(卡介苗+IFA可单独诱导大鼠AIA模型)。

笔者推测风寒湿太过的环境因素(外邪)能显著影响RA的发生和(或)发展。大鼠AIA是应用最广泛的经典RA动物模型,采用含结核分支杆菌(*mycobacterium tuberculosis*, Mtb)的完全弗氏佐剂

(complete Freund's adjuvant, CFA)大鼠尾根部皮下注射诱导建立,是研究外源性诱因引起 RA 自身免疫反应机制的较理想动物模型^[12,13]。因此,选择大鼠 AIA 模型研究风、寒、湿外邪对 RA 发生发展的影响,构建 RA 病证模型,为阐明“风寒湿三气杂至合而为痹也”的现代科学内涵奠定基础。

材料与方法

1 动物 雄性 SD 系大鼠,体重 90 ~ 110 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,合格证号:43004700021570;43004700021575;43004700021586;43004700021592。

2 试剂 热灭活 Mtb H37Ra (美国 Sigma Aldrich 公司,批号:20150411);矿物油(美国 Sigma Aldrich 公司,批号:M8410);研磨法制备的含不同剂量 Mtb 的 CFA^[12];异氟烷气体麻醉剂(深圳市瑞沃德生命科技有限公司,批号:084978)。

3 仪器 改良的智能人工气候箱(PRX-150B,上海汗诺公司);电子天平(ATY224,日本岛津公司);气体麻醉机(SurgiVet CDS9000,美国 Smith 公司);足肿测定仪(Basile 37140,意大利 UGO 公司);高速冷冻离心机(5810R,德国 Eppendorf 公司);光辐射热甩尾法镇痛仪(IITC336,美国 Life Science 公司);流式细胞仪(FACS Aria II,美国 BD 公司)。

4 方法

4.1 风寒湿刺激对 AIA 发病率影响

4.1.1 造模及分组 取雄性 SD 系大鼠 20 只,分层随机法分为单纯 CFA 组(10 只)、风寒湿 + CFA 组(10 只)。单纯 CFA 组大鼠正常饲养 14 天,风寒湿 + CFA 组大鼠风寒湿刺激 14 天,两组大鼠分别尾根部皮内注射 0.1 mL 含 100 μ g Mtb 的 CFA 诱导 AIA^[14,15]。风寒湿刺激采用改良的智能人工气候箱,刺激条件经预实验优选确定为:风速 5 m/s、温度 0 ~ 2 $^{\circ}$ C、相对湿度 90% ~ 95%,每天 1 次,每次 4 h,直至实验结束(CFA 注射后第 30 天)。

4.1.2 AIA 发病率 动物造模以后,观察并记录大鼠发病数,并计算发病率,每天 1 次。发病率(%) = 发病动物数/动物总数 $\times$ 100%。

4.2 风寒湿刺激对 AIA 发病时间和关节炎指数影响

4.2.1 造模及分组 取雄性 SD 系大鼠 30 只,采用分层随机法分为单纯 CFA 组(10 只)、风寒湿 7 天 + CFA 组(10 只)及风寒湿 14 天 + CFA 组(10 只)。单纯 CFA 组大鼠正常饲养 14 天,风寒湿 7 天 + CFA

组大鼠正常饲养 7 天再风寒湿刺激 7 天,而风寒湿 14 天 + CFA 组大鼠风寒湿刺激 14 天,3 组大鼠分别尾根部皮下注射 0.1 mL 含 200 μ g Mtb 的 CFA 诱导 AIA^[14,15]。风寒湿刺激方法同 4.1.1。

4.2.2 AIA 发病时间 动物造模以后,观察并记录大鼠发病时间,每天 1 次。

4.2.3 关节炎指数评定 按照大鼠多发性关节炎全身病变 5 级评分法^[12,13,15]进行关节炎指数评分,0 分:无红肿;1 分:小趾关节红斑或轻度肿胀;2 分:趾关节和趾跖关节中度肿胀;3 分:踝关节以下的足爪肿胀;4 级:包括踝关节在内全部足爪肿胀。四肢关节的累计得分为每只大鼠的关节炎指数。足肿胀体积最大时评定,评定 3 次,取平均值。

4.3 风寒湿刺激对 AIA 大鼠临床表征影响

4.3.1 造模及分组 取雄性 SD 系大鼠 30 只,采用分层随机法分为正常组(10 只)、单纯 CFA 组(10 只)及风寒湿 14 天 + CFA 组(10 只)。正常组及单纯 CFA 组大鼠正常饲养 14 天,风寒湿 14 天 + CFA 组大鼠风寒湿刺激 14 天,单纯 CFA 组及风寒湿 14 天 + CFA 组大鼠分别尾根部皮下注射 0.1 mL 含 200 μ g Mtb 的 CFA 诱导 AIA^[14,15]。风寒湿刺激方法同 4.1.1。

4.3.2 一般情况观察 动物造模以后,观察并记录大鼠的精神状态、发病时间、舌质、大便基本情况,每天 1 次。

4.3.3 体重及饮水量测定 CFA 注射前及注射后,观察并记录大鼠体重,每 6 天 1 次。分别于 CFA 注射注射后第 2 天及关节炎发病后第 2 天,测定饮水量。

4.3.4 足肿胀体积测定 采用意大利 UGO 7140 足容积测定仪,分别于 CFA 注射前及注射后第 6、12、18、24、30 天测定双后足体积^[12,13,15],测量 3 次,取平均值。

4.3.5 大鼠热刺激撤足时间测定 采用美国 IITC336 光辐射热甩尾法镇痛仪,在 CFA 注射第 1 天和 AIA 首次出现时测定。光辐射热源值设定为 50,将大鼠左右后足固定仪器透明测定板处,打开光辐射热源对准后足足底,观察大鼠撤足的时间^[16],重复测定 3 次,间隔 15 min,取平均值。

4.4 大鼠外周血 CD4⁺ T 细胞亚群的检测

4.4.1 造模及分组 雄性 SD 系大鼠 20 只,采用分层随机法分为正常组(10 只)及风寒湿 14 天组(10 只)。正常组大鼠正常饲养 14 天,风寒湿 14 天组大鼠风寒湿刺激 14 天。风寒湿刺激方法同 4.1.1。

4.4.2 外周血 CD4⁺ T 细胞亚群的检测 风寒湿

刺激第 13 天禁食不禁水,于第 14 天从尾动脉取 2 mL 血样于肝素抗凝采血管中,混匀,1 200 r/min 室温离心 10 min。弃上层血浆,加入 5 mL 红细胞裂解液,振荡混匀,室温避光 10 min,1 200 r/min 离心 10 min。取 100 μ L 细胞悬液 5 mL 试管中,分别加入 10 μ L 的 CD4-FITC 和 CD3-APC 抗体,涡旋振荡混匀,室温,避光孵育 2 h。加入 4 mL PBS,涡旋振荡混匀,1 200 r/min、4 $^{\circ}$ C 离心 10 min。弃上清,加入 100 μ L 1% BSA/PBS 重悬细胞,上 BD FACS Aria II 流式细胞仪检测分析。

5 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,计量资料描述用 $\bar{x} \pm s$ 表示,发病时间、最高关节炎指数、体重、足肿胀体积、平均饮水量、撤足时间采用方差分析,发病率采用 χ^2 检验,外周血 CD4⁺ T 细胞亚群采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 风寒湿刺激对 AIA 发病率影响 单纯 CFA 组大鼠 AIA 发病率为 50% (5/10 只),而风寒湿刺激 14 天 + CFA 组为 100% (10/10 只),两组比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 4.267, P = 0.039$)。

2 各组大鼠 AIA 发病时间和关节炎指数比较 (表 1) 风寒湿 7 天 + CFA 组大鼠关节炎首次出现时间与单纯 CFA 组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),而风寒湿连续刺激 14 天 + CFA 组大鼠提前 ($P < 0.01$)。在关节炎指数 3 组比较,差异无统计学

表 1 各组大鼠 AIA 发病时间和关节炎指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	发病时间(天)	关节炎指数(分)
单纯 CFA	10	13.20 $\pm$ 1.20	8.60 $\pm$ 1.40
风寒湿刺激 7 天 + CFA	10	12.70 $\pm$ 1.30	9.10 $\pm$ 1.50
风寒湿刺激 14 天 + CFA	10	8.30 $\pm$ 1.20*	8.90 $\pm$ 1.50

注:与单纯 CFA 组比较,* $P < 0.01$

意义($P > 0.05$)。

3 风寒湿刺激对 AIA 大鼠一般情况影响 风寒湿 14 天 + CFA 组大鼠较单纯 AIA 组大鼠体毛欠光泽;明显畏寒,蜷卧懒动,精神萎靡,反应迟钝;大便较稀或溏;舌质偏淡、舌苔腻。

4 各组大鼠注射 CFA 后各时段体重及后足肿胀体积比较(表 2、3) 与正常组比较,单纯 CFA 组大鼠注射 CFA 12 天后,体重减轻($P < 0.05, P < 0.01$);足肿胀体积增大($P < 0.05, P < 0.01$)。与单纯 CFA 组比较,风寒湿 14 天 + CFA 组大鼠关节炎初发阶段(0、6 天)体重显著下降($P < 0.05, P < 0.01$),6 ~ 18 天足肿胀程度显著增加($P < 0.05, P < 0.01$)。风寒湿 14 天 + CFA 组大鼠关节皮肤颜色明显较单纯 CFA 组大鼠白(图略)。

5 各组大鼠日平均饮水量及撤足时间比较(表 4) 与正常组比较,单纯 CFA 组 AIA 发生前日平均饮水量及光热刺激后足其撤足时间均减少($P < 0.05$);与单纯 CFA 组比较,风寒湿 14 天 + CFA 组大鼠在 AIA 发生前饮水量显著减少($P < 0.05$);光热刺激后足其撤足时间明显延长($P < 0.01$)。

表 2 各组大鼠注射 CFA 后体重比较 (g, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	体重(g)					
		0 d	6 d	12 d	18 d	24 d	30 d
正常	10	124.50 $\pm$ 1.60	154.30 $\pm$ 2.50	194.10 $\pm$ 2.90	246.20 $\pm$ 3.70	276.20 $\pm$ 7.20	309.70 $\pm$ 8.50
单纯 CFA	10	129.30 $\pm$ 1.80	161.20 $\pm$ 3.20	158.10 $\pm$ 5.00*	162.30 $\pm$ 4.10**	180.80 $\pm$ 4.30**	199.50 $\pm$ 5.50**
风寒湿 14 天 + CFA	10	118.00 $\pm$ 2.10 $\Delta\Delta$	115.70 $\pm$ 3.00 Δ	124.60 $\pm$ 2.70	144.30 $\pm$ 2.90	165.90 $\pm$ 3.80	185.50 $\pm$ 4.10

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与单纯 CFA 组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;下表同

表 3 各组大鼠注射 CFA 后足肿胀体积比较 (mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	足肿胀体积(mL)					
		0 d	6 d	12 d	18 d	24 d	30 d
正常	10	0.00 $\pm$ 0.00	0.25 $\pm$ 0.01	0.37 $\pm$ 0.01	0.53 $\pm$ 0.02	0.60 $\pm$ 0.02	0.67 $\pm$ 0.03
单纯 CFA	10	0.00 $\pm$ 0.00	0.26 $\pm$ 0.01	0.79 $\pm$ 0.12*	1.22 $\pm$ 0.21**	1.90 $\pm$ 0.28**	1.96 $\pm$ 0.26**
风寒湿 14 天 + CFA	10	0.00 $\pm$ 0.00	0.82 $\pm$ 0.08 $\Delta\Delta$	1.31 $\pm$ 0.13 Δ	2.00 $\pm$ 0.29 $\Delta\Delta$	1.98 $\pm$ 0.28	1.88 $\pm$ 0.21

表 4 各组大鼠日平均饮水量及撤足时间比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	日平均饮水量(mL)		撤足时间(s)	
		AIA 发生前	AIA 发生后	CFA 注射第 1 天	AIA 首次出现
正常	10	10.32 $\pm$ 1.05	12.57 $\pm$ 1.42	14.43 $\pm$ 1.03	15.82 $\pm$ 1.25
单纯 CFA	10	8.61 $\pm$ 1.34*	10.63 $\pm$ 1.89	14.65 $\pm$ 1.33	12.60 $\pm$ 1.16*
风寒湿 14 天 + CFA	10	6.54 $\pm$ 1.47 Δ	10.08 $\pm$ 2.11	15.25 $\pm$ 1.46	18.64 $\pm$ 1.83 $\Delta\Delta$

6 两组大鼠外周血 CD4⁺ T 细胞亚群比较(表 5) 与正常组大鼠比较,风寒湿刺激 14 天组大鼠可见 CD4⁺ T(CD3⁺ CD4⁺) 细胞亚群明显增多($P < 0.05$)。

表 5 两组大鼠外周血 CD4⁺ T 细胞亚群比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD4 ⁺ T 细胞亚群
正常	10	19.80 ± 2.10
风寒湿 14 天	10	28.60 ± 3.00*

讨 论

RA 是临床常见的慢性、自身免疫性疾病。流行病学调查研究显示,长期居住潮湿环境是 RA 的危险因素之一^[17]。风寒湿入侵机体发生疾病应该是一个长期的过程,可能是长期居住或工作在潮湿、阴冷、气候易变环境,从而在具有特定遗传背景的个体诱发了 RA^[2, 17]。针对风寒湿影响 RA 发生发展的现代研究中存在的造模装置简易、不规范,风寒湿刺激条件缺乏优选、不统一,模型特异性不强,笔者制作了规范、可控的风寒湿造模装置—智能人工气候箱。在前期研究中,课题组明确并优化了风寒湿刺激的条件,给予风寒湿刺激 14 天后再于尾根部皮下注射 CFA,显著影响 AIA 的发病时间、发病率,但其关节炎指数却无明显差异。进一步研究发现,风寒湿刺激 14 天组初发阶段体重显著下降,足肿程度显著增加,AIA 发生前饮水量显著减少,其后足撤足时间明显延长,但上述指标在 AIA 发生后却无统计学意义($P > 0.05$)。表明表明风寒湿刺激显著影响 AIA 的发生,但对其病理程度影响不明显。

本实验发现,风寒湿刺激 14 天 + CFA 组 AIA 大鼠明显畏寒、蜷卧懒动、精神萎靡、反应迟钝;饮水量显著减少、大便稀溏,可能与寒邪之收引之性,湿邪之重浊、黏滞之致病特点有关;且风寒湿刺激 14 天 + CFA 组注射 CFA 到首次发病双后肢对热刺激其撤足时间显著增加,关节局部皮肤颜色也较单纯 CFA 组大鼠发白,其可能与寒邪之凝滞、收引的致病特点密切相关。课题组进一步发现,风寒湿刺激 14 天 + CFA 组大鼠舌质偏淡、舌苔腻、水滑,结合其行为学特征及对热刺激痛阈值的改变,类比于人类风寒湿痹证的证候特点,可辨证 AIA 疾病初发阶段证型为风寒湿痹证。

AIA 模型发病机制是分子模拟作用,诱导关节炎的 Mtb 中一个相对分子量为 65 kD 热休克蛋白(HSP65)与大鼠关节软骨(CII)的自身抗原 HSP60 有高度相似的保守序列,可以通过分子模拟或交叉反

应,激活原来处于静止状态的针对 CII 抗原为主的 T 淋巴细胞克隆,从而引起关节的自身免疫反应^[18]。采用流式细胞仪初步检测了风寒湿刺激 14 天后大鼠外周血 T 细胞种类和表面抗原,与正常组比较,CD4⁺ T 细胞(CD3⁺ CD4⁺)亚群数量明显升高。提示,风寒湿太过的环境因素(外邪)可能刺激大鼠产生未知抗原激活静止的 CD4⁺ T 细胞克隆分化,表达黏附分子,分泌产生趋化因子和细胞因子,引起关节滑膜微血管内皮激活等。这些 CD4⁺ T 细胞再针对结核杆菌 HSP65 抗原特异性活化,迅速大量浸润滑膜关节,增殖分化为自身效应性 Th 细胞介导滑膜炎反应,是“风寒湿”外邪影响 RA 病证发生的可能分子机制,但尚需下一步将系统和深入研究。

参 考 文 献

- [1] 王永炎,严世芸主编.实用中医内科学[M].第2版.上海:上海科学技术出版社,2009:590-604.
- [2] McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis [J]. N Engl J Med, 2011, 365 (23): 2205-2219.
- [3] Myasoedova E, Davis JM, Crowson CS, et al. Epidemiology of rheumatoid arthritis: rheumatoid arthritis and mortality [J]. Curr Rheumatol Rep, 2010, 12(5): 379-385.
- [4] Li ZG. A new look at rheumatology in China—opportunities and challenges [J]. Nat Rev Rheumatol, 2015, 11(5): 313-317.
- [5] 王绪辉,郑效文,施杞.肢体痹证的造模方法[J].上海中医药杂志,1986,(3):3-5.
- [6] 吕爱平,王安民,曾晓莲.益肾蠲痹丸对大鼠实验性痹证影响的病理学研究[J].中医杂志,1988,31(6):49-51.
- [7] 吕爱平,艾景录.从实验性痹证病理学研究看证候病理学研究的途径和方法[J].北京中医药大学学报,1995,18(1):35-37.
- [8] 肖长虹,顾为望.类风湿性关节炎风寒湿痹与风湿热痹动物模型的研究[J].中医杂志,1996,37(8):492-496.
- [9] 肖长虹,顾为望,李留洋,等.类风湿性关节炎风寒湿痹与风湿热痹动物模型的病理研究[J].中国实验动物学报,1998,6(1):6-11.
- [10] 金祝秋,郭建生.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.
- [11] 姜辉,刘健,高家荣,等.五味温通除痹胶囊对类风湿性关节炎风寒湿痹阻证模型大鼠的治疗作用[J].风湿病与关节炎,2012,1(6):23-27.
- [12] Cai X, Wong YF, Zhou H, et al. Manipulation of the

- induction of adjuvant arthritis in Sprague-Dawley rats[J]. *Inflamm Res*, 2006, 55(9): 368–377.
- [13] Cai X, Wong YF, Zhou H, et al. The comparative study of Sprague-Dawley and Lewis rats in adjuvant-induced arthritis [J]. *Naunyn Schmiedeberts Arch Pharmacol*, 2006, 373(2): 140–147.
- [14] 沈芳仪, 李鑫, 黄惠勇, 等. 小动物实验血沉快速测定微量毛细管法的建立与评价[J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(12): 1762–1765.
- [15] 余黄合, 曾嵘, 李鑫, 等. 土家族药物血筒抗佐剂性关节炎药效作用研究[J]. *中国药理学通报*, 2016, 32(10): 1427–1432.
- [16] Wong YF, Zhou H, Wang JR, et al. Anti-inflammatory and analgesic effects and molecular mechanisms of JCICM-6, a purified extract derived from an anti-arthritis Chinese herbal formula[J]. *Phyto-medicine*, 2008, 15(6–7): 416–426.
- [17] 倪红燕. 类风湿关节炎危险因素的临床对照研究[J]. *现代中西医结合杂志*, 2011, 20(25): 3160–3161.
- [18] Anderton SM, van der Zee R, Prakken B, et al. Activation of T cells recognizing self 60 kD heat shock protein can protect against experimental arthritis[J]. *J Exp Med*, 1995, 181(3): 943–952.
- (收稿: 2017–01–15 修回: 2017–10–27)
- 责任编辑: 段碧芳
英文责编: 张晶晶

中国中西医结合学会普通外科专业委员会暨科研院所工作委员会学术年会在天津召开

由中国中西医结合学会普通外科专业委员会、科研院所工作委员会主办的学术年会 2017 年 11 月 11 日在天津召开。出席本次会议的有, 中国中西医结合学会名誉会长、国医大师、中国工程院资深院士吴咸中教授; 中国中西医结合学会名誉会长、国医大师、中国科学院院士陈可冀教授; 中国中西医结合杂志社陈维养教授; 中国中医科学院、天津中医药大学校长、天津市中西医结合学会会长、中国工程院院士张伯礼教授; 华中科技大学肝胆胰外科研究所所长、国际肝胆胰协会中国分会主席、中国科学院院士陈孝平教授; 以及中国中西医结合学会相关领导。天津市科协白景美副主席致辞。国内外专家、教授约 800 人参加此次会议。在全体会议上由中国中西医结合学会副会长天津市南开医院首席外科主任崔乃强教授报告了“中西医结合外科历史、现今和展望”、中国工程院院士张伯礼教授报告了“中医药发展的机遇与任务”、中国科学院院士陈孝平教授报告了“从事外科工作创新的体会”等 3 个主旨报告。在“大家谈”阶段, 6 位专家: 陈实、朱培庭、王鹏志、齐清会、周振理、张静喆教授从不同侧面介绍了从事临床研究、基础研究取得了成就和宝贵的经验, 同时也分别表达了吴咸中院士对中西医结合事业发展做出重要贡献的敬意。学术会议设置胃肠结直肠外科、肝胆胰外科、病与腹壁外科、科研院所 4 个分会场, 共有 50 名代表作了学术交流和专题报告。从不同侧面和角度, 提出了中西医结合外科专业、科研院所领域新思路、新观点、新模式和新建议。学术报告会专家们精彩的演讲, 渗透着中西医结合医学从业人员对事业的热爱, 殚心竭力刻苦钻研, 持之以恒科学探索的科学态度, 在结合医学临床研究、基础研究、药学研究等方面均取得新成就, 总结积累新经验。大家通过在中西医结合领域卓越的工作, 不断促进中西医结合事业繁荣发展“结合创新、传承发展”起到良好的引领和示范带头作用。今年恰逢是国医大师吴咸中院士从医 70 周年和吴咸中院士主编的《腹部外科实践》新书发行, 会议也举行了相应的庆祝活动。庆祝吴咸中院士从医 70 周年的内容成为本次会议的一大亮点。会议播放了吴咸中事迹简介的视频。陈可冀院士致辞称吴院士为我国中西医结合事业的奠基人、开拓者和先驱者, 并书写“德高望重”条幅祝贺。张伯礼院士特赠宣纸刺绣“领雁”新工艺品, 表达对吴院士的敬仰与祝贺之情。陈维养教授代表中国中西医结合杂志社赠送贺礼。各位专家在发言中也都盛赞吴院士的成就和作风, 表达了献身中西医结合事业的真情。吴院士在致答谢词中强调了四点体会: 第一、学好中医是搞好中西医结合的基础, 千里之行, 始于足下。第二、要坚持中西医结合方向, 要不断向高层次发展, 才能为世界作出独特贡献。第三、高水平的科研成就需要几代人的持续努力, 要“兼容、开放、联合”。第四、学科建设是永恒的课题, 要高度重视。此次学术会议虽然时间短暂, 但是会议交流内容非常丰富, 参会者热情高涨, 会议圆满成功。普通外科专业委员会和科研院所工作委员会分别对今后工作提出了以下要求: (1) 进一步利用全国中西医结合医院和科研院所的科研力量和科研资源, 对中西医结合领域的一些共性关键科学问题开展联合攻关。(2) 每年不定期召开普通外科专业委员会、科研院所工作委员会工作会议, 交流探索发展中的问题。(3) 进一步提供人才交流、合作的平台, 全面提高我国中西医结合临床研究和基础研究水平和创新能力, 促进我国中西医结合事业的发展。(4) 打造合作平台, 开展强强联合、优势互补、攻关合作。进一步实现资源共享, 深化研究协作发展平台, 推进互联互通联合建设平台。加大对临床研究、基础研究技术支持, 实现共同发展。(5) 进一步加强普通外科专业委员会和科研院所工作委员会自身建设。我们将共同努力, 创造和谐团结、百家争鸣的学术氛围, 为中西医结合科研成果推广做好服务。

(王西墨 朱广丽整理)

(收稿: 2017–11–16)