

· 基础研究 ·

中药细辛对兔膝骨性关节炎局部 不同组织炎症因子的影响

钟 欢^{1,2} 裴 鑫³ 周予婧¹ 常小荣¹ 刘 密^{1,4} 王小军² 邵湘宁³ 谭晓文²

摘要 **目的** 探讨单味中药细辛对膝骨性关节炎(KOA)模型膝周不同组织炎症因子的影响。**方法** 将 36 只健康雄性新西兰大白兔采用随机数字表分为 6 组,即:空白组(A)、模型组(B)、对照组(C)、低剂量细辛组(D)、中剂量细辛组(E)、高剂量细辛组(F),每组 6 只。除 A 组外,均采用本课题组改良方法复制 KOA 模型,即造模开始第 1、4、7 天向右后肢关节腔内注射木瓜蛋白酶水溶液。第 8 天开始,麻醉、绑定、固定造模肢足底,调节改良装置转速为 120 次/min,行程 15cm,牵拉足部,使其造模肢被动屈伸,牵拉肌肉。每天 1 次,每次 2 h,共 7 天。造模 14 天后,于第 15 天进行干预,D、E、F 组分别灌服不同浓度的细辛水溶液(根据药典剂量换算低、中、高剂量分别为 0.14、0.28、0.7 g/kg),1 次/天,共 5 天。C 组给予吲哚美辛片水溶液(根据药典换算单次剂量为 0.03g/kg)灌胃,1 次/天,共 5 天。A、B 组给予生理盐水灌胃。观察各组兔行为学变化及膝关节肿胀程度,HE 染色观察各组图不同组织的病理改变,检测各组关节腔积液、滑膜、软骨、肌肉的 IL-1 β 、肿瘤坏死因子(TNF- α)含量及肝、肾功能。**结果** B 组各组织中炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 水平显著高于 A 组($P<0.05$, $P<0.01$);与 B 组比较,D、E、F 组滑膜、软骨、肌肉组织中 IL-1 β 、TNF- α 水平均显著降低($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 细辛有着很强的抗炎作用,其抗炎作用在肌肉、软骨、滑膜中无明显差异。

关键词 细辛;抗炎作用;膝骨性关节炎;滑膜;肌肉;软骨;中药

Effect of *Asarum Sieboldii* on Inflammatory Factors in Different Local Tissues of Knee Osteoarthritis in Rabbits ZHONG Huan^{1,2}, PEI Xin³, ZHOU Yu-jing¹, CHANG Xiao-rong¹, LIU Mi^{1,4}, WANG Xiao-jun², SHAO Xiang-ning³, and TAN Xiao-wen² ¹ College of Acu-moxibustion and Massage, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha (410007); ² Department of Cardiology, Xiangxi Hospital of Chinese Medicine of Tujia and Miao Ethnic Group, Xiangxi Tujia and Miao Autonomous Prefecture Hunan (416000); ³ College of Integrated Chinese and Western Medicine, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha (410007); ⁴ Second Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Hunan (410300)

ABSTRACT **Objective** To observe anti-inflammatory effects of *Asarum Sieboldii* (AS) on different tissues around the knee of knee osteoarthritis (KOA) rabbits. **Methods** Totally 36 healthy male New Zealand white rabbits were randomly divided into six groups by random number table, i.e., the blank group (A), the model group (B), the control group (C), the low dose AS Group (D), the middle dose AS Group (E), and the high dose AS Group (F), 6 in each group. Except group A, KOA model was established and duplicated by modified methods of this project. The right hind limb joint was injected with papain solution on day 1, 4, and 7. Starting from the 8th day, anesthesia, binding, and fixing the molded limb plantar, adjusting the modified device rotational speed to 120 times/min,

基金项目:国家自然科学基金青年项目(No.81904097);湖南省自然科学基金项目(No.2020JJ5430);湖南省中医药科研计划(No.201963);湖南省大学生创新创业训练计划项目(No.201707010506)

作者单位:1.湖南中医药大学针灸推拿学院(长沙 410007);2.湘西土家族苗族自治州民族中医院心内科(湖南 416000);3.湖南中医药大学中西医结合学院(长沙 410007);4.湖南中医药大学附属第二中西医结合医院(湖南 410300)

通讯作者:谭晓文, Tel: 0743-8755120, E-mail: 632306931@qq.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20210923.374

stroke 15 cm, pulling the foot, making the molded limb passive flexion and extension, pulling the muscle, once a day for 2 h for a total of 7 days. After 14 days after modeling, intervention was carried out on the 15th day, and AS water solution at 0.14, 0.28, 0.7 g/kg was administered to those in Group D, E, F by gastrogavage, once a day for 5 successive days. Indomethacin Tablets water solution (0.03 g/kg) was administered to those in group C by gastrogavage. Normal saline was given to those in group A and B by gastrogave. The changes of behavior and swelling degree of knee joint in each group were observed. The pathological changes of different tissues in each group were observed by HE staining. The IL-1 β and TNF- α contents of inflammatory factors in joint cavity effusion, synovium, cartilage, muscle, liver and kidney functions were detected. **Results** The levels of IL-1 β and TNF- α were significantly higher in group B than in group A ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with group B, the levels of IL-1 β and TNF- α in the synovium, cartilage, and muscle tissues significantly decreased in group D, E, F ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion** AS had strong anti-inflammatory effects, and its anti-inflammatory effects on muscle, cartilage, or synovium had no significant difference.

KEYWORDS *Asarum Sieboldii*; anti-inflammatory effect; knee osteoarthritis; synovium; muscle; cartilage; Chinese herbs

细辛为马兜铃科多年生草本植物北细辛、汉城细辛或华细辛的全草，夏季采收，阴干，生用，味辛，性温，有小毒，归肺、肾、心经，其功效有祛风散寒，通窍，止痛，温肺化饮，常用于治疗头痛、鼻渊、牙痛及痹症^[1]。细辛属辛温药物，可温肺化饮、祛风散寒、通窍止痛，但其主治和临床应用却有不同，寒热并不是细辛应用的唯一标准，有证据表明辨证为热者也可使用细辛^[2]。如九味羌活汤^[3]善治外感头痛，独活寄生汤善治急性腰腿关节痛^[4]，小青龙汤善治外寒内饮引起的咳嗽咳痰^[5]，细辛黄柏散善治口舌生疮^[6]，乌梅丸善治久泄久痢^[7]，细辛配合石膏善治阳明火热齿痛，细辛合白芷、辛夷、薄荷等可用于治疗鼻炎、鼻窦炎^[8]。这些疾病具有共同的病理环节——炎症反应，即气道黏膜、消化道黏膜、关节滑膜、筋膜、鞘膜等炎症。为探究细辛对炎症反应的作用，本课题组采用不同剂量的细辛水煎剂干预膝关节炎(knee osteoarthritis, KOA)模型兔，观察不同浓度的细辛对关节炎周围不同组织炎症因子的影响，探讨其作用的初步机制。

材料与方法

1 动物 健康新西兰大白兔 36 只，雄性，体重(2.2 $\pm$ 0.3) kg，由湖南中医药大学实验动物中心提供，合格证编号: SCXK(湘)2020-0005，饲养于湖南中医药大学实验动物中心的普通环境中，实验过程中对动物的处理均符合 2006 年由科学技术部发布的《关于善待实验动物的指导性意见》的要求，本实验方案通过湖南中医药大学动物实验福利伦理审查(No.2020105410)。

2 药物 细辛水煎剂制备方法:将 80 g 细辛(辽

宁省安国市久旺药业有限公司，批号: 20122307)加入 1 500 mL 纯净水进行水煎，水开后小火煎煮 45 min，过滤装瓶制成 800 mL 细辛水煎剂备用。根据临床及药典中细辛的使用方法^[9]设定 70 kg 成人用量 3、6、15 g 为低、中、高剂量，按照体表面积换算成人剂量的 3.27 倍确定兔的低、中、高剂量，根据实验兔子体重，取 0.14、0.27、0.70 g/kg 相应含量的细辛水煎液作为低、中、高干预剂量^[10]。

吡啶美辛肠溶片，每片 25 mg，云鹏医药集团有限公司，批号: G200305。根据药典对实验兔按体重 0.03 g/kg 给予灌胃。

3 主要试剂及仪器 木瓜蛋白酶购自北京索莱宝科技有限公司，批号: 9001-73-4；兔 IL-1 β (No.210218O07)、兔肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α ; No.210218O15) ELISA 试剂盒，购自江苏菲亚生物科技有限公司；大龙 D3024R 全自动生化分析仪，由深圳雷杜生命科技提供；往复机购自东莞寮步圣祥电子科技厂家。

4 方法

4.1 动物分组 36 只新西兰大白兔，适应性喂养 1 周后按随机数字表法分为 6 组，即: 空白组(A 组)，模型组(B 组)，吡啶美辛对照组(C 组)，低剂量细辛组(D 组)，中剂量细辛组(E 组)，高剂量细辛组(F 组)，每组 6 只。

4.2 模型制备 采用传统 KOA 造模方法^[11]进行改良。即适应性喂养 7 天后，兔膝关节备皮处理，第 1、4、7 天，于 B、C、D、E、F 组兔右后肢膝关节腔内分别注射 0.1 mL 4% 的木瓜蛋白酶溶液，以髌骨下极髌韧带外缘为进针点。第 8~14 天期间，用 20% 乌拉坦溶液以 4 mL/kg 的剂量对 B、C、D、E、

F 组兔子进行麻醉后,将实验兔固定于本课题组改良的运动装置上,其造模肢足底部固定于移动板上,其余肢体及头部绑定在兔台上,调节改良装置转速为 120 次/min,行程 15 cm,牵拉足部,使其造模肢被动屈伸,牵拉肌肉。每天 1 次,每次 2 h,共 7 天。结合 Lequesne 评分^[12]来评价造模是否成功,包括实验兔膝关节周径的肿胀程度,兔子的跛行程度,关节活动,关节腔积液,炎症因子等作为模型成功的标准。

4.3 干预方法 D、E、F 组分别采用 0.14、0.27、0.70 g/kg 剂量的细辛水煎溶液灌胃,1 次/天;C 组给予吡啶美辛片水溶液 0.03 g/kg 灌胃,1 次/天,共 5 天。A、B 组正常饲养,给予生理盐水灌胃。

4.4 观察指标及检测方法

4.4.1 行为学 观察记录造模过程中各组兔的跛行情况、膝关节肿胀情况。

4.4.2 病理形态学观察及评分 对各组织进行 HE 染色后,用光学显微镜观察滑膜、软骨、肌肉组织的病理状态,参照李慧英等^[13]采用积分制,对组织的病理改变积分,共分为 4 个等级:正常组织:未见炎性细胞浸润,未见充血水肿,记 0 分;轻度损伤:少量炎性细胞浸润,可见轻微结构损伤,记 1 分;中度损伤:大量炎性细胞浸润,可见少量血管增生或细胞层数增多,记 2 分;重度损伤:大量炎性细胞浸润,滑膜可见明显增生变厚,软骨可见表面不平整,肌肉可见灶性坏死,纤维增生,记 3 分。

4.4.3 IL-1 β 、TNF- α 水平检测 于右后肢膝关节腔内注射 1 mL 生理盐水后回抽关节腔积液,低温冷冻保存;打开关节,取出滑膜组织、软骨及膝关节周围肌肉组织,分成两份,一份置于多聚甲醛溶液中固定,另一份组织迅速放入液氮,后转移至 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,按照 IL-1 β 、TNF- α 试剂盒说明书操作,采用酶免疫吸附法检测。

4.4.4 肝、肾功能检测 干预结束后,即实验第 20 天取材,经耳缘中动脉采血,血液生化检测。

4.5 统计学方法 所有数据采用 SPSS 20.0 统计软件处理,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。计数资料多组间比较采用非参数检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较,采用 LSD 法;当方差不齐时,采用 Welch 方差分析法,Games-Howell 检验进行两两比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 行为学表现 除 A 组外,其他各组木瓜蛋白酶造模后右后肢均存在明显的肿胀,并存在明显的跛行,给予运动损伤后症状逐渐加重。随着疾病的进展,B 组症状一直未见明显缓解,干预开始后,其他干预组肿胀程度、跛行情况逐渐改善,D、E、F 剂量组有明显的改善。

2 各组兔在滑膜、软骨、肌肉组织病理程度等级分布比较(表 1) 与 A 组比较,B 组病理程度分级显著增加(Z 分别为 19.439、24.792、26.222, $P < 0.01$);与 B 组比较,D、E、F 组病理程度分级显著降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。C、D、E、F 组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

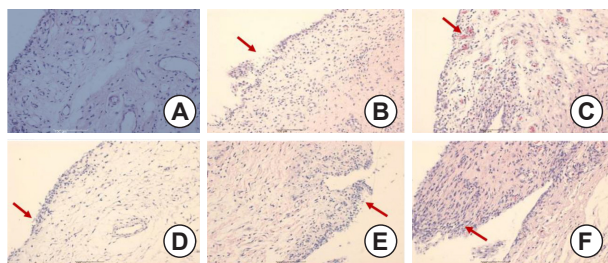
3 各组兔膝关节滑膜组织病理形态学结果比较(图 1) A 组滑膜组织完整,表层细胞境界清楚,下层血管无充血;B 组滑膜表面缺损,细胞增生,炎细胞浸润;C 组滑膜细胞增生,细胞层数增多,毛细血管增生,大量炎细胞浸润;D 组滑膜组织结构清晰,无增生;E 组滑膜细胞增生,细胞层数增多;F 组滑膜细胞增生,细胞层数增多。

4 各组兔膝关节软骨组织病理形态学结果比较(图 2) A 组软骨平整,光滑,软骨囊、软骨陷窝清晰,软骨细胞形态正常,数量正常;B 组软骨表面不平整,表面区细胞增生;C 组软骨表面不平整,表面

表 1 各组兔在膝关节滑膜、软骨、肌肉组织病理程度分级中分布情况比较 (只)

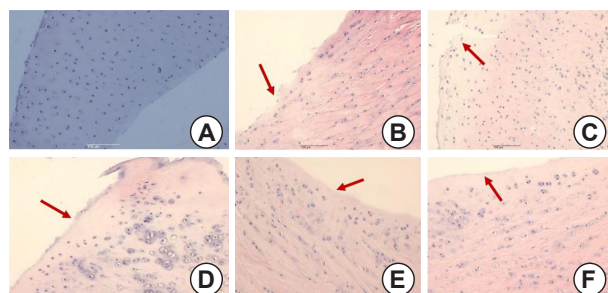
组别	n	滑膜组织病理程度分级				软骨组织病理程度分级				肌肉组织病理程度分级			
		正常	轻	中	重	正常	轻	中	重	正常	轻	中	重
A	6	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
B	6	0	0	2	4	0	0	1	5	0	0	0	6
C	6	1	1	3	1	1	3	2	1	4	1	1	0
D	6	3	1	2	0	1	4	1	0	4	2	0	0
E	6	2	2	2	0	2	3	1	0	6	0	0	0
F	6	1	2	3	0	5	1	0	0	6	0	0	0

注:滑膜组织:与 B 组比较,C、D、E、F 组 Z 分别为 8.833、16.417、14.833、11.750, P 值分别为 0.128、0.005、0.011、0.043;软骨组织:与 B 组比较,C、D、E、F 组 Z 分别为 10.226、13.417、15.583、23.417, P 分别为 0.074、0.024、0.009、0.000;肌肉组织:与 B 组比较,C、D、E、F 组 Z 分别为 14.833、15.167、20.000、20.000; P 值分别为 0.002、0.002、0.000、0.000



注: B 箭头示滑膜组织有缺损, 细胞增生; C 箭头提示毛细血管增生伴有局部出血; D 箭头提示滑膜组织结构清晰; E 箭头提示滑膜组织细胞增生; F 箭头提示滑膜组织细胞增生

图 1 各组兔膝关节滑膜组织 HE 染色结果 (×100)



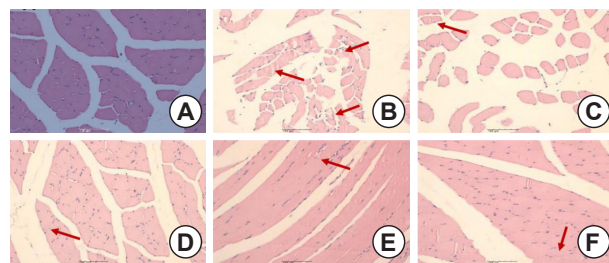
注: B 箭头示软骨组织表面不平整, 表面区细胞增生; C 箭头提示软骨组织表面不平整, 表面区细胞增生; D 箭头提示软骨组织表面不平整, 增生伴凸起; E 箭头提示软骨组织表面区细胞增生, 排列不规则; F 箭头提示软骨组织表面凹凸不平

图 2 各组兔膝关节软骨组织 HE 染色结果 (×100)

区细胞增生; D 组软骨表面不平整, 增生伴突起, 细胞排列规则; E 组软骨表面区细胞增生, 排列不规则, 辐射区细胞族群细胞减少; F 组骨表面层凹凸不平, 表面层细胞排列紧密。

5 各组兔膝关节肌肉组织病理形态学结果比较 (图 3) A 组肌组织结构完整, 细胞排列紧密, 肌纤维形态正常; B 组肌细胞灶性坏死, 纤维组织增生, 炎细胞浸润; C 组肌细胞排列疏松, 部分肌细胞萎缩、消失; D 组肌束解离, 细胞排列不规则, 细胞间隙增宽; E 组肌细胞形态结构正常; F 组肌细胞形态结构正常。

6 各组兔不同组织中 IL-1 β 含量比较 (表 2) 与 A 组比较, B 组兔膝关节积液、滑膜组织、软骨组



注: B 箭头示肌肉组织灶性坏死, 炎性细胞浸润; C 箭头提示肌肉组织细胞排列疏松, 部分肌细胞萎缩; D 箭头提示肌肉组织细胞排列不规则, 细胞间隙增宽; E 箭头提示肌肉组织细胞形态结构正常; F 箭头提示肌肉组织细胞形态结构正常

图 3 各组兔膝关节肌肉组织 HE 染色结果 (×100)

织及周围肌肉组织中 IL-1 β 浓度显著升高 ($P<0.05$, $P<0.01$); 与 B、C 组比较, D、E、F 组在滑膜组织中显著降低 ($P<0.01$); D、E、F 组间两两比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。与 B、C 组比较, D、E 组 IL-1 β 在软骨、肌肉组织中均显著降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。

6 各组兔不同组织中 TNF- α 含量比较 (表 3) 与 A 组比较, B 组兔膝关节积液、滑膜组织、软骨组织、肌肉组织中 TNF- α 浓度显著升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与 B、C 组比较, D、E、F 组在滑膜组织及软骨组织中 TNF- α 显著降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。

与 B 组比较, D、E 组在肌肉组织中 TNF- α 浓度显著降低 ($P<0.05$), 与 C 组比较, E 组显著降低 ($P<0.05$)。

7 各组兔肝、肾功能结果 (表 4) 与 A 组比较, C 组血肌酐显著升高 ($P<0.05$), 与 B 组比较, C 组血肌酐显著升高 ($P<0.05$), 与 C 组比较, D、E、F 组血肌酐显著降低 ($P<0.05$)。

讨 论

作者认为炎症反应可能是细辛作用的重要环节, 作用层次 (黏膜 / 滑膜 / 鞘膜) 可能存在特异性, 为了求证细辛作用的可能机制, 本实验选择木瓜蛋白酶膝关节腔内注射复制 KOA 动物模型, 从现有文献来

表 2 各组兔膝关节积液、滑膜、软骨、肌肉中 IL-1 β 含量比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-1 β			
		积液	滑膜	软骨	肌肉
A	6	75.03 $\pm$ 3.97	59.40 $\pm$ 4.06	27.37 $\pm$ 4.69	30.36 $\pm$ 3.42
B	6	97.41 $\pm$ 6.05*	77.32 $\pm$ 7.87*	49.68 $\pm$ 5.36**	46.75 $\pm$ 7.98**
C	6	95.89 $\pm$ 12.17*	71.98 $\pm$ 11.75*	45.65 $\pm$ 10.05**	46.04 $\pm$ 9.88*
D	6	82.11 $\pm$ 13.11	52.01 $\pm$ 5.31 $\Delta\Delta\Delta$	32.71 $\pm$ 5.62 $\Delta\Delta\Delta$	34.20 $\pm$ 8.15 $\Delta\Delta\Delta$
E	6	84.24 $\pm$ 18.46	50.92 $\pm$ 7.09 $\Delta\Delta\Delta$	35.51 $\pm$ 6.50 $\Delta\Delta\Delta$	34.32 $\pm$ 10.21 $\Delta\Delta$
F	6	86.85 $\pm$ 15.68	48.01 $\pm$ 9.56 $\Delta\Delta\Delta$	40.75 $\pm$ 8.04	37.19 $\pm$ 9.06

注: 与 A 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与 B 组比较, Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$; 与 C 组比较, Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$

表 3 各组兔膝关节积液、滑膜、软骨、肌肉组织中 TNF- α 含量比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF- α			
		积液	滑膜	软骨	肌肉
A	6	244.38 $\pm$ 11.29	199.03 $\pm$ 9.78	109.00 $\pm$ 12.77	120.63 $\pm$ 9.55
B	6	309.62 $\pm$ 21.01**	251.98 $\pm$ 24.39**	174.82 $\pm$ 17.06**	167.82 $\pm$ 23.37**
C	6	299.12 $\pm$ 32.92*	234.92 $\pm$ 35.54*	173.92 $\pm$ 16.55**	164.24 $\pm$ 27.88*
D	6	266.56 $\pm$ 36.27	177.10 $\pm$ 15.71 $\Delta\Delta\Delta\Delta$	119.84 $\pm$ 16.30 $\Delta\Delta\Delta\Delta$	132.00 $\pm$ 22.92 Δ
E	6	271.90 $\pm$ 56.03	172.28 $\pm$ 20.76 $\Delta\Delta\Delta\Delta$	136.74 $\pm$ 12.63 $\Delta\Delta\Delta\Delta$	130.72 $\pm$ 29.12 $\Delta\Delta$
F	6	278.66 $\pm$ 46.39	165.18 $\pm$ 26.35 $\Delta\Delta\Delta\Delta$	149.02 $\pm$ 25.33 $\Delta\Delta\Delta$	139.18 $\pm$ 29.34

注: 与 A 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 B 组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与 C 组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与 D 组比较, $\Delta P < 0.05$

表 4 各组兔肝、肾功能检测结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ALT (U/L)	γ -GT (U/L)	尿素氮 (g/L)	血肌酐 (μ mol/L)
A	6	36.92 $\pm$ 4.31	6.91 $\pm$ 2.56	10.53 $\pm$ 2.79	51.33 $\pm$ 11.84
B	6	38.06 $\pm$ 7.33	5.93 $\pm$ 0.54	13.99 $\pm$ 3.19	59.93 $\pm$ 11.93
C	6	40.12 $\pm$ 15.19	9.14 $\pm$ 8.25	32.42 $\pm$ 25.49	94.54 $\pm$ 71.42* Δ
D	6	39.52 $\pm$ 4.35	7.95 $\pm$ 2.76	11.59 $\pm$ 3.72	50.34 $\pm$ 12.24 Δ
E	6	39.91 $\pm$ 9.35	8.53 $\pm$ 2.54	14.05 $\pm$ 3.16	56.66 $\pm$ 5.53 Δ
F	6	46.12 $\pm$ 8.19	6.48 $\pm$ 2.42	12.65 $\pm$ 1.62	55.52 $\pm$ 7.00 Δ

注: 与 A 组比较, * $P < 0.05$; 与 B 组比较, $\Delta P < 0.05$; 与 C 组比较,

* $P < 0.05$

看,木瓜蛋白酶使膝关节软骨产生蛋白水解,进一步产生滑膜的炎症反应^[14],为了更好的模拟人体 KOA 的发病过程,并且更好的探讨细辛对不同层次组织的抗炎作用,我们采用木瓜蛋白酶进行关节腔注射结合过度运动来强化模型。同时,关节周围肌肉组织在过度运动的情况下发生损伤,从而很好的模拟了人体 KOA 过程中软组织损伤这一发病因素。在骨性关节炎中,即使在疾病^[15]的早期阶段,炎症也被认为参与了骨性关节炎的发生发展,炎症细胞因子如 IL-1 β 、TNF- α 等被公认为在控制关节软骨退化和变性上起着重要作用,有报道称 IL-1 β 、TNF- α 通过抑制软骨细胞的合成代谢活性对软骨具有破坏作用,这也使 IL-1 β 、TNF- α 成为骨关节炎治疗策略的主要靶点^[16-18]。从实验结果中也可得知,与 A 组比较, B 组膝关节滑膜、软骨、肌肉中 IL-1 β 、TNF- α 均显著升高 ($P < 0.01$)。

在本研究中,细辛有着明显的抗炎作用,不论何种剂量的细辛均有着显著改善兔膝关节周围组织炎症的作用,且与以往文献报道一致^[19,20],各组别各组织中 IL-1 β 与 TNF- α 浓度的变化趋势大体一致,从滑膜组织、软骨组织、肌肉组织中 IL-1 β 与 TNF- α 变化趋势来说,低、中、高剂量细辛均有明确的改善作用,但无法确定哪个浓度会更有效,因为结果提示三者之间无显著差异,因而,需要进一步的研究来探讨其剂量的问题,但临床应用可以优先考虑小剂量。

另外,本研究结果提示,细辛对 KOA 兔肌肉、

软骨、滑膜组织均表现出显著的抗炎作用,且细辛对不同组织的抗炎作用并未表现出显著的差异,细辛抗炎作用的层次假说需要更进一步的研究来支撑。

中华医学会骨科学分会关节外科学组骨关节炎诊疗指南^[21](2018 年版)明确说明非甾体抗炎药(包括非选择性非甾体抗炎药和选择性环氧酶抑制剂)在缓解患者疼痛、改善关节功能方面疗效确切,且仍为最常用的推荐药物。同时,指南也强调了使用非甾体抗炎药的风险,包括上消化道、脑、肾、心血管疾病风险,因此,用药前需要严格评估,采用个体化治疗手段^[22-25]。吲哚美辛为环氧酶抑制剂,有着很强的抗炎作用,在相当多的国外临床试验、或是基础研究中,吲哚美辛仍然是一个常用的阳性药物对照^[26]。本研究也采用吲哚美辛作为阳性药物,从理论上来说,吲哚美辛应该有着显著的抗炎作用,但结果并未如此,与模型组比较,虽然炎症因子浓度有所下降但整体并未表现出明确的抗炎作用,此结果的原因可能与造模有关,木瓜蛋白酶是一种特异性蛋白水解酶,关节腔内注射引起软骨的破坏从而产生滑膜刺激,出现关节炎,在吲哚美辛对症治疗的情况下没有对组织损伤产生的原因给予相应的干预,可能导致了炎症反复的出现,其病理结果也提示其对软骨组织、滑膜组织而言,其病理改善作用有限。从本实验出发,吲哚美辛治疗作用并不是很明确,且有出现肾毒性的风险,临床在使用吲哚美辛时可能需要更为仔细的评估疾病的发生原因、疗效与获益、可能面临的风险等各方面因素,以做出更为全面的方案。

综上所述,细辛有着很强的抗炎作用,但并不能很好的揭示其抗炎作用层次的特异性,可能需要进一步的研究来证实。但细辛可能是一个对症治疗的药物,重点在于解决某些疾病过程中的共有病理环节——抗炎,当属中医学肿、痛、饮的范畴。而诸多有关细辛的现代药理学研究也表明细辛有着显著的抗炎作用,其抗炎作用可能与炎症反应的关键酶——环氧酶有着密切的关系,细辛多种成分包括细辛脂

素、芝麻脂素、细辛素、甲基丁香酚和黄樟醚均与之存在相互作用^[20,27]。

参 考 文 献

- [1] 郭欣, 林珊, 吴丽明, 等. 灯盏细辛化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中成药, 2019, 41 (2): 393-402.
- [2] 周蓉蓉, 张理云. 细辛在经方中应用配伍规律探析 [J]. 河南中医, 2021, 41 (2): 196-200.
- [3] 杨准, 吴笛. 九味羌活汤治疗鼻渊验案举隅 [J]. 亚太传统医药, 2021, 17 (3): 107-109.
- [4] 洪秋阳, 刘晓静, 李焕芹, 等. 针刺结合独活寄生汤治疗腰椎间盘突出症急性期临床观察 [J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30 (10): 1051-1055.
- [5] 龚李萍, 王玉兰, 郭超峰. 小青龙汤的临床应用研究进展 [J]. 长春中医药大学学报, 2021, 37 (2): 468-472.
- [6] 李时, 陆红. 蜜炙细辛黄柏散联合康复新液治疗气管插管并发口腔溃疡 30 例 [J]. 中国中医药科技, 2021, 28 (2): 295-296.
- [7] 杜丽东, 马清林, 吴国泰, 等. 基于 IKK α /NF- κ B/COX-2 信号通路探讨乌梅丸治疗溃疡性结肠炎的机制 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37 (2): 3-7.
- [8] 高学敏主编. 中药学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 61-62.
- [9] 林家冉, 柳红芳, 邸莎, 等. 细辛的临床应用及其用量探究 [J]. 吉林中医药, 2021, 41 (2): 259-263.
- [10] 徐叔云主编. 药理试验方法学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 202-204.
- [11] 梁霄, 王银山. 关节腔内注射不同浓度木瓜蛋白酶建立小鼠膝关节炎模型的研究 [J]. 光明中医, 2015, 30 (4): 736-739.
- [12] Lequesne MG, Samson M. Indices of severity in osteoarthritis for weight bearing joints [J]. J Rheumatol Suppl, 1991, 27: 16-18.
- [13] 李慧英, 孟东方, 苏建光. 四妙散干预兔膝关节创伤性滑膜炎白细胞介素-1 β 和肿瘤坏死因子- α 水平的研究 [J]. 中华中医药杂志, 2013, 28 (10): 3043-3045.
- [14] Marcia M, Nilton A, Adriana V, et al. Comparative study of osteoarthritis (OA) induced by monoiodoacetate (MIA) and papain in rabbit temporomandibular joints: macroscopic and microscopic analysis [J]. Folia Morphol (Warsz), 2020, 79 (3): 516-527.
- [15] Felson DT. Clinical practice. Osteoarthritis of the knee [J]. N Engl J Med, 2006, 354 (8): 841-848.
- [16] Liao CR, Wang SN, Zhu SY, et al. Advanced oxidation protein products increase TNF- α and IL-1 β expression in chondrocytes via NADPH oxidase 4 and accelerate cartilage degeneration in osteoarthritis progression [J]. Redox Biol, 2020, 28: 101306.
- [17] 洪振强, 高弘建, 何俊君, 等. 阳和汤对兔膝关节炎木瓜蛋白酶模型 IL-1、TNF- α 的影响 [J]. 康复学报, 2020, 30 (4): 293-298.
- [18] 高晶, 刘学政. 电针联合威灵仙关节腔内注射对大鼠膝关节炎 TNF- α 、MMP、HA 及 TIMP-1 的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35 (6): 686-692.
- [19] 傅钊钧, 王英平, 张瑞. 细辛化学成分提取方法和药理活性研究进展 [J]. 特产研究, 2020, 42 (6): 85-89+95.
- [20] 吴昊, 温晓茵, 颜鹏, 等. 细辛的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27 (4): 186-195.
- [21] 中华医学会骨科学分会关节外科学组. 骨关节炎诊疗指南 (2018 年版) [J]. 中华骨科杂志, 2018, 38 (12): 705-715.
- [22] 王弘德, 李升, 陈伟, 等. 《骨关节炎诊疗指南 (2018 年版)》膝关节骨关节炎部分的更新与解读 [J]. 河北医科大学学报, 2019, 40 (9): 993-995, 1000.
- [23] 童培建. 膝关节炎中西医结合诊疗指南 [J]. 中华医学杂志, 2018, 98 (45): 3653-3658.
- [24] 曹彭凯, 王晓猛, 白伟侠, 等. 2018 年版《骨关节炎诊疗指南》解读 [J]. 河北医科大学学报, 2018, 39 (11): 1241-1243.
- [25] 雷光华, 王坤正. 骨关节炎诊疗指南 (2018 年版) 解读 [J]. 中华骨科杂志, 2018, 38 (12): 716-717.
- [26] Koonrungsesomboon N, Teekachunhatean S, Chansakaow S, et al. Clinical efficacy and safety of Yellow Oil Formulations 3 and 4 versus Indomethacin Solution in patients with symptomatic osteoarthritis of the knee: a randomized controlled trial [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2020: 5782178.
- [27] 刘杰, 刘广学, 尚明英, 等. 华细辛和北细辛 HPLC 特征图谱识别与抗炎靶点及抗炎成分分析 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45 (6): 1374-1383.

(收稿: 2021-04-13 在线: 2021-11-12)

责任编辑: 段碧芳

英文责编: 张晶晶