小白菊内酯对兔膝骨关节炎血清 IL-1β 及 TNF-α 的影响

朱芳晓　周润华　石宇红　覃　泱

摘要　目的　观察小白菊内酯(parthenolide, PTL)对兔膝骨关节炎的治疗作用及其对兔膝骨关节炎血清白细胞介素-1β(IL-1β)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)含量的影响。**方法**　健康纯种新西兰兔 40 只,随机选择 8 只作为正常对照组(简称正常组),其余 32 只采用右后肢伸直位管型石膏固定法,建立膝骨关节炎模型。造模后随机分为 4 组:模型对照组(简称模型组)、PTL 高剂量组(简称 PTL 高组)、PTL 中剂量组(PTL 中组)、PTL 低剂量组(PTL 低组),每组 8 只。应用酶联免疫吸附法检测观察各组动物灌服不同剂量的 PTL 时血清 IL-1β 和 TNF-α 的浓度。**结果**　与模型组比较, PTL 高、中、低组 IL-1β 及 TNF-α 的浓度均下降($P<0.01$), 且下降的幅度与 PTL 的浓度呈正相关(IL-1β: $r=0.55$, $P<0.01$; TNF-α: $r=0.56$, $P<0.01$)。而组间比较, 在 PTL 浓度达到 20 μmol/L 治疗组时抑制达到高峰。**结论**　PTL 能下调兔膝骨关节炎血 IL-1β 及 TNF-α 的浓度, 且下降的幅度与 PTL 的浓度呈正相关。

关键词　小白菊内酯;兔膝骨关节炎;白细胞介素-1β;肿瘤坏死因子-α

Effect of Parthenolide on Serum Expressions of Interleukin-1β and Tumor Necrosis Factor-alpha in Rabbits with Knee Osteoarthritis

ZHU Fang-xiao, ZHOU Run-hua, SHI Yu-hong, and QIN Yang
Department of Rheumatology, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin (541001), China

ABSTRACT　Objective　To observe the therapeutic effect of parthenolide (PTL) on rabbit knee arthritis (KOA) and its effects on serum expression of interleukin-1β (IL-1β) and contents of tumor necrosis factor-alpha (TNF-α). Methods　Eight rabbits were randomly selected from 40 healthy pure-bred New Zealand rabbits as the normal control group. The KOA model was established in the rest 32 rabbits by plaster cast fixation of the right hind limb extension position. After modeling they were randomly divided into 4 groups, i.e., the model control group, the high dose PTL group, the middle dose PTL group, and the low dose PTL group, 8 in each group. Serum contents of IL-1β and TNF-α were detected using enzyme-linked immunosorbent assay. Results　Compared with the model group, IL-1β and TNF-α concentration decreased in the 3 PTL groups ($P<0.01$). The decrement was positively correlated with PTL concentrations (IL-1β: r =0.55, $P<0.01$; TNF-α: $r=0.56$, $P<0.01$). The inhibition reached the peak when the PTL concentration arrived at 20 μmol/L. Conclusions　PTL could down-regulate the blood IL-1β and TNF-α concentrations of KOA rabbits. Besides, the decrement was positively correlated with the PTL concentration.

KEYWORDS　parthenolide; rabbit knee osteoarthritis; interleukin-1β; tumor necrosis factor-α

膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)是一种常见于老年人的关节退行性疾病,为中老年人的常见病,其发病率在 55 岁以上人群中仅次于心血管病,位居第 2[1],其病理特点为关节软骨变性坏死、破坏、软骨下骨硬化、关节边缘和软骨下骨反应性增生、骨赘形成[2]。KOA 的病因及发病机制尚未完全明确,近年来研究发现,KOA 发病机制与免疫机制调节紊乱有关,炎性细胞因子白细胞介素 IL-1β(IL-1β)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)参与其发病过程[3]。小白菊内酯(parthenolide, PTL)具有抗炎作用。但其是否影响 KOA 炎症细胞反应在国内外尚未见相关报道。本实

基金项目:广西壮族自治区中医药民族医药基金资助项目(No. gzzc1239);桂林市科学研究与技术开发计划基金项目(No. 2012012-1-9);广西卫生厅科研课题基金资助项目(No. Z2012405)

作者单位:桂林医学院附属医院风湿免疫科(广西 541001)
通讯作者:朱芳晓,Tel:0773-2815170,E-mail:zfx20050131@yahoo.com.cn

DOI:10.7661/CJIM.2013.10.1382

验通过观察不同剂量 PTL 对兔 KOA 血清 IL-1β 和 TNF-α 的影响，研究 PTL 对 IL-1β 和 TNF-α 的调节作用，并探讨其机制，为今后应用 PTL 治疗 KOA 提供实验依据。

材料与方法

1 动物与分组 健康纯种新西兰兔 40 只，雌雄各半，体重 2.0 ~2.5 kg。由桂林医学院实验动物中心提供。采用分层随机化的方法将动物分为 5 组：正常对照组（简称正常组）、模型对照组（简称模型组）、PTL 高剂量组（简称 PTL 高组）、PTL 中剂量组（简称 PTL 中组）、PTL 低剂量组（简称 PTL 低组），每组 8 只。

2 药物 PTL 购于 Sigma 公司，用 DMSO 配成 50 mmol/L 的储存液，避光保存。用前由含 10% 的胎牛血清（GIBCO）RPMI 1640 培养液稀释至所需浓度。

3 试剂及仪器 IL-1β、TNF-α 酶联免疫试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。酶标仪（瑞典 Clinibio-128C）。

4 方法

4.1 造模方法 除正常组外，模型组及 PTL 高、中、低组参考文献[4]造模方法进行造模，采用右后肢伸直石膏制动法构建实验性兔 KOA 模型，6 周后造模成功[4]。

4.2 给药方法 造模 6 周后正常组自由饮水，模型组生理盐水 2 mL 灌胃，参考文献[5]，PTL 高组（PTL 浓度为 20 μmol/L，每次2 mL灌胃，用药剂量为临床常用量的 2 倍量）、PTL 中组（PTL 浓度为 10 μmol/L，每次 2 mL 灌胃，用药剂量为临床常用量的1 倍量）、PTL 低组（PTL 浓度为 5 μmol/L，每次 2 mL灌胃，用药剂量为临床常用量的0.5 倍量），均为每日 1 次灌服，连续 6 周。各组兔都处于相同环境中常规饲养，连续 6 周。

4.3 观察项目及检测方法 实验结束后各组兔耳动脉取血 2 mL，将各组血做好标记，在离心机上 2 000 r/min离心 10 min 后，采用双抗体夹心酶联免疫吸附法测定 IL-1β 和 TNF-α 的水平，严格按照试剂使用说明书操作。

4.4 统计学方法 采用 SPSS 11.0 统计软件处理。组间样本均数比较采用单因素方差分析；多变量之间的关系采用多元直线回归；两变量之间的关系采用相关分析，多变量与一种变量之间的关系采用 *Logistic* 回归，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组兔 KOA 血清 IL-1β 及 TNF-α 水平比较（表1） 与正常组比较，模型组 IL-1β 和 TNF-α 的浓度均上升（$P<0.01$）；与模型组比较，PTL 高、中、低组 IL-1β 和 TNF-α 的浓度均下降（$P<0.01$），且下降的幅度与 PTL 的浓度呈正相关（IL-1β：$r=0.55$，$P<0.01$；TNF-α：$r=0.56$，$P<0.01$）；在浓度达到高剂量时抑制达到高峰，其与 PTL 低、中组比较，差异亦有统计学意义（$P<0.01$）。

表 1 各组兔 KOA 血清 IL-1β 及 TNF-α 水平比较 （$\bar{x}\pm s$）

组别	n	IL-1β（pg/mL）	TNF-α（pg/mL）
正常	8	77.29 ±15.86	172. 36 ±25. 81
模型	8	190.67 ±18.41 *	189. 42 ±10. 73 *
PTL 低	8	134.40 ±13.42 △▲	163. 88 ±44.62 △▲
PTL 中	8	125.47 ±17.96 △▲	154.98 ±37. 73 △▲
PTL 高	8	113.14 ±16.68 △	145.76 ±38. 24 △

注：与正常组比较，*$P<0.01$；与模型组比较，△$P<0.01$；与 PTL 高组比较，▲$P<0.01$

讨 论

KOA 的发病机制尚未完全明了。近年来研究发现，KOA 是由多种细胞因子和炎症介质参与的炎症过程，细胞因子 IL-1β、TNF-α 是炎症反应的始动因素[6]。已有研究发现，KOA 患者血清中 IL-1β 含量均高于健康人[7]。IL-1β 是典型的炎症调节剂，是调节炎症的始动因素。IL-1β 在使炎症反应加重和慢性化上均起重要作用[8]。TNF-α 是主要的炎性因子，参与并介导多种炎症过程[9]。在 KOA 的动物模型中，KOA 关节软骨免疫组化染色其基质及细胞 TNF-α 及受体均呈阳性反应，且强度、范围与 KOA 严重程度相并行[10]。细胞因子 IL-1β、TNF-α 通过刺激软骨细胞，退变，刺激滑膜细胞分泌前列腺素 E_2，引起基质降解酶，尤其是基质金属蛋白酶（MMPs）家族的产生，抑制Ⅱ型胶原的合成[11,12]，在骨性关节炎发病和进展中起着关键作用。IL-1β 也可以刺激产生 TNF-α 和 IL-1β 本身，引起一系列的生物学效应[13]。因此，利用血清中 TNF-α、IL-1β 水平来反映 KOA 病情严重程度具有一定的意义。

现有大量的研究证实，PTL 具有抗炎、抗肿瘤及抗血小板聚集等特性。如 PTL 通过抑制 TNF-α、IL-1、IL-12 及环氧化酶 -2（COX-2）等的表达而具有抗炎作用[14]。本研究结果提示，PTL 能明显抑制 TNF-α 和 IL-1β 的分泌，且下降的幅度与 PTL 的浓度呈正相关。而组间比较，在 PTL 浓度达到 20 μmol/L 时抑制作用达

到高峰，其与其他浓度组比较，差异有统计学意义，说明 PTL 抑制 IL-1β、TNF-α 水平存在一定范围内的剂量依赖性。PTL 对兔 KOA 有较好的疗效，并能显著降低血清 TNF-α 和 IL-1β 水平，其机制可能是通过降低炎性细胞因子的过度表达，抑制炎症反应，进而减少对软骨细胞和软骨基质的破坏，减轻滑膜炎症，对软骨起到了保护和修复作用，发挥治疗作用。其具体机制及细胞和分子生物学的研究尚待进一步探讨。

参 考 文 献

[1] 沙湖，杨莉. 骨关节炎病理变化研究进展[J]. 实用医学杂志，2011，8(2)：180－183.

[2] Tomoya M, Hiroshi H, Toru O, et al. Role of subchondral bone in osteoarthritis development: a comparative study of two strains of guinea pigs with and without spontaneously occurring osteoarthritis[J]. Arthritis Rheum, 2007, 56(10): 3366－3374.

[3] Mahmoud RH, Nehal AF, Azza ME, et al. Alterations of the CD4, CD8 T cell subsets, interleukins-1β, IL-10, IL-17, tumor necrosis factor-α and soluble intercellular adhesion molecule-1 in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: preliminary observations[J]. Pathol Oncol Res, 2008, 14(3): 321－328.

[4] Dome JS, Look AT. Three molecular determinants of malignant conversion and their potential as therapeutic targets[J]. Curr Opin Oncol, 1999, 11(1): 58－67.

[5] Li-Weber M, Palfi K, Giaisi M, et al. Dual role of the anti-inflammatory sesquiterpene lactone: regulation of life and death by parthenolide[J]. Cell Death Differ, 2005, 12(4): 408－409.

[6] 陈巍，李彬，唐中尧，等. 膝骨性关节炎患者关节滑液 IL-1β和 TNF-α 的表达及临床意义[J]. 广东医学，2010，31(15)：1998－2000.

[7] Kaneko S, Satoh T, Chiba J, et al. Interleukin 26 and interleukin 28 levels in serum and synovial fluid of patients with osteoarthritis[J]. Cytokines Cell Mol Ther, 2000, 6(2): 71.

[8] 谢辉晋，杜远立. 骨关节炎相关细胞因子作用机制研究进展[J]. 重庆医学，2011，40(4)：395－398.

[9] 周效思，周凯，封芬. 威灵仙对兔膝骨关节炎 IL-1β、TNF-α、PGE_2 的影响[J]. 时珍国医国药杂志，2011，22(5)：1143－1144.

[10] 查振刚，黄良任，姚平，等. 膝骨关节炎患者血清 TNF-α与 IL-6 水平及其临床意义[J]. 广东医学，2005，26(2)：191－193.

[11] Hulejova H, Baresova V, Klezl Z, et al. Increased level of cytokines and matrix metalloproteinase in osteoarthritic subchondral bone[J]. Cytokine, 2007, 38(3): 151－156.

[12] 张铁锋，李景峰. 细胞因子 IL-1β 和 TNF-α 在骨关节炎软骨中 mRNA 表达的变化及意义[J]. 中国现代医生，2008，46(15)：116－117.

[13] Zwerina J, Redlich K, Polzer K, et al. TNF-induced structural joint damage is mediated by IL-1[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(28): 11742－11747.

[14] HeptInstalls S, Awang DV, Dawson BA, et al. Parthenolide content and bioactivity of feverfew [*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.]. Estimation of commercial and authenticated feverfew products[J]. Pharm Pharmacol, 1992, 44(5): 391－395.

（收稿：2012－12－26　修回：2013－06－11）

2014 全国中西医结合皮肤性病学术年会征文通知

中国中西医结合学会皮肤性病专业委员会定于 2014 年 4 月 10—14 日在江西南昌前湖迎宾馆召开 2014 全国中西医结合皮肤性病学术年会。此次会议将注重中西医结合治疗皮肤病的新方法及新的研究进展等方面的学术交流，内容密切联系临床，切合皮肤科医师的实际需求，会议将邀请知名专家做特邀演讲，阐述皮肤科相关领域的最新研究进展，现征文如下。

投稿要求　(1)投稿内容：皮肤科各种基础研究论文、皮肤科临床诊断和治疗等方面的论文、典型与疑难病例等；(2)投稿方式：中文全文和 400 字以内的中文摘要，请通过电子邮件投稿，Email：pfkxh@126.com。来稿请注明 2014 会议征文，截稿日期：2014 年 3 月 5 日。(3)会议交流形式：特邀讲演、大会发言、分会发言、书面交流。

联系方式　地址：上海市凤阳路 415 号，上海长征医院《中国真菌学杂志》编辑部，邮编：200003；E-mail：pfkxh@126.com；联系人：朱和平，电话：021－81885501，手机：13671816152。