

雷公藤叶组分 TZT-5 对大鼠关节炎的抑制作用

张天齐¹, 玄玲玲¹, 姜仁涛¹, 曹淑花¹, 刘仁平¹, 李创军², 白金叶¹, 张东明², 侯琦^{1*}

1. 中国医学科学院 北京协和医学院药物研究所 药理室, 北京 100050

2. 中国医学科学院 北京协和医学院药物研究所 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050

摘要: **目的** 评价雷公藤叶组分 TZT-5 抗炎作用, 尤其是对关节炎的抑制作用。**方法** 采用巴豆油诱导的小鼠耳炎模型、角叉菜胶诱导的大鼠足肿胀模型、鸡 II 型胶原 (CCII) 诱导的大鼠关节炎模型和佐剂诱导的大鼠关节炎模型, 观察 TZT-5 的体内抗炎活性和抗关节炎的作用。**结果** TZT-5 可减轻上述 4 个模型的炎症症状, 抑制 CCII 和佐剂致关节炎大鼠滑膜组织炎性细胞浸润和滑膜组织增生。**结论** TZT-5 具有较好的抗炎作用, 可明显抑制 CCII 和佐剂所致大鼠关节炎, 具有研发成为新的抗风湿性关节炎药物的潜力。

关键词: 雷公藤叶; TZT-5; 抗炎; 关节炎; 滑膜组织

中图分类号: R282.710.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)12-1628-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.12.020

Inhibition of component TZT-5 from leaves of *Tripterygium wilfordii* on rheumatoid arthritis in rats

ZHANG Tian-qi¹, XUAN Ling-ling¹, JIANG Ren-tao¹, CAO Shu-hua¹, LIU Ren-ping¹, LI Chuang-jun²,
BAI Jin-ye¹, ZHANG Dong-ming², HOU Qi¹

1. Department of Pharmacology, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China

2. State Key Laboratory of Bioactive Substance and Function of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China

Abstract: Objective To investigate the anti-inflammatory, especially the inhibitory effects of TZT-5, an active component from the leaves of *Tripterygium wilfordii*, on the rheumatoid arthritis of rats and to explore its pharmacodynamic effect using an arthritic model of rats. **Methods** The ear swelling model induced by croton oil in mice, paw edema model induced by carrageenin in rats, chicken collagen II (CCII)-induced arthritic model, and adjuvant-induced arthritic (AIA) model in rats were established, respectively. The *in vivo* anti-inflammatory and inhibitory effects of TZT-5 on the rheumatoid arthritis of rats were observed. **Results** TZT-5 could alleviate the symptoms of the above four inflammation animal models, ameliorate the infiltration of inflammatory cells in synovium, and inhibit the proliferation of synovial cells in both CCII-induced arthritic models and AIA models of rats. **Conclusion** TZT-5 has the ideal anti-inflammatory effects on CCII-induced arthritic model and AIA model of rats and it is a candidate as a new anti-rheumatoid arthritis drug.

Key words: leaves of *Tripterygium wilfordii*; TZT-5; anti-inflammation; rheumatoid arthritis; synovial tissue

卫矛科植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 是我国传统药材, 其根、茎和叶均具有祛风湿、消炎解痛等功效, 广泛用于银屑病、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎 (RA) 等自身免疫炎性疾病的治疗^[1]。雷公藤成分复杂, 其根、茎和叶中含有大量

萜类化合物, 是雷公藤发挥抗炎和免疫抑制作用的主要物质基础; 其中雷公藤甲素是公认的最主要的活性成分^[2]。长期基础研究及临床应用显示, 雷公藤活性成分普遍具有不同程度的毒性, 现有的雷公藤抗 RA 制剂雷公藤片、雷公藤多苷片中雷公藤甲素的

收稿日期: 2013-05-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81001442); 高等学校博士学科点专项科研基金 (20101106120023); 国家科技支撑计划项目 (2009BA173B03); 福建省科技重大专项 (2009YZ0001-1-6)

作者简介: 张天齐 (1987—), 女, 硕士, 研究方向为抗关节炎药物的筛选及作用机制研究。Tel: (010)63165192 E-mail: zhangtianqi@imm.ac.cn

*通信作者 侯琦 Tel/Fax: (010)63165191 E-mail: houqi@imm.ac.cn

毒性尤为突出,很大程度上限制了雷公藤及其制剂的临床应用。因此寻找新型高效低毒的雷公藤活性成分对于治疗 RA 等免疫炎性疾病具有重大意义。

TZT-5 是张东明教授从雷公藤叶中提取出的新活性组分,与其他雷公藤活性组分相比,去除了雷公藤甲素,组成简单且易于质量控制。本实验采用巴豆油诱导的小鼠耳炎模型、角叉菜胶诱导的大鼠足肿胀模型评价 TZT-5 的抗急性炎症活性,通过胶原诱导的大鼠关节炎模型(CIA)和佐剂诱导的大鼠关节炎模型(AIA),评价 TZT-5 抑制慢性免疫炎症的活性,探讨其治疗 RA 的作用。

1 材料

1.1 药材与试剂

雷公藤叶采自福建泰宁,由中国医学科学院药物研究所马林教授鉴定为雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 的干燥叶。巴豆油、石蜡油、羊毛脂、弗氏完全佐剂、鸡 II 型胶原(CCII),美国 Sigma 公司;卡介苗,中国药品生物制品检定所,批号 2010-1;聚山梨酯-80,化学纯,国药集团化学试剂公司;雷公藤多苷片(TG),湖南协力药业有限公司,批号 20111103;地塞米松磷酸钠注射液(简称地塞米松注射液, Dex),湖北潜江制药股份有限公司,批号 12101105。实验中,雷公藤多苷片及地塞米松注射液均以 0.1%聚山梨酯-80 溶液溶解稀释至相应浓度,其中雷公藤多苷片稀释后呈悬浊状态,使用前充分混匀。

1.2 动物

昆明种小鼠,SPF 级,雄性,体质量(17 ± 1)g;Wistar 大鼠,SPF 级,雄性,体质量(150 ± 10)g 及(200 ± 20)g,均购自军事医学科学院实验动物中心,许可证号:SCXK-(军)2007-004。

2 方法

2.1 TZT-5 的制备

将粉碎的雷公藤叶用 10 倍量 80%乙醇回流提取 2 次,收集乙醇相,减压除去乙醇,所得稀浸膏以醋酸乙酯萃取 3 次,醋酸乙酯萃取物通过中性氧化铝柱粗提,再经树脂柱分离得 TZT-5。HPLC 法分析 TZT-5 总萜类占提取物质质量 50%以上,其中单萜的质量分数不低于总萜的 25%,二萜质量分数不低于 20%。实验时以 0.1%聚山梨酯-80 溶液溶解 TZT-5 至相应浓度,溶液无色透明、均一稳定。

2.2 巴豆油诱导小鼠耳炎实验

将昆明种小鼠随机分为模型组,地塞米松(0.2

mg/kg)组,雷公藤多苷片(200 mg/kg)组, TZT-5 高、中、低剂量(7.5、5、2.5 mg/kg)组,每组 7 只。各给药组均 ig 给予相应药物 1 次,给药量 10 mL/kg,模型组给予等体积 0.1%聚山梨酯-80 溶液。1 h 后,各组小鼠左耳两面均匀涂抹 2%巴豆油致敏,致敏 4 h 后处死,剪下左右耳廓,用直径 8 mm 的不锈钢打孔器制成大小相同的耳片,分别称质量,以两耳质量差值作为肿胀度。

2.3 角叉菜胶诱导大鼠足肿胀实验

Wistar 大鼠[(200 ± 20)g]分组同“2.2”项,每组 10 只大鼠。除地塞米松给药剂量为 0.5 mg/kg 外,其他组给药剂量同“2.2”项,单次给药。ig 给药 1 h 后,所有大鼠右后足跖注射 1%角叉菜胶溶液,100 μ L/只。注射后 1、2、3、4、5、24 h 测量两后肢周长,以两后肢周长差值作为肿胀度。

2.4 CCII 诱导大鼠关节炎实验

将 CCII 25 mg 溶于 0.1 mol/L 冰醋酸溶液 6.25 mL 中,4 $^{\circ}$ C 过夜。翌日待胶原充分溶解后,与等体积弗氏完全佐剂混合乳化,制成胶原质量浓度为 2 mg/mL 的乳化剂,乳化过程保持胶原冰冷。实验采用 Wistar 大鼠[(200 ± 20)g],除对照组外,其余大鼠单侧足跖 sc 上述乳剂 100 μ L/只,对照组 sc 等量生理盐水,1 周后,造模大鼠尾根部 sc 新配制的上述乳化剂,胶原质量浓度为 2 mg/mL,100 μ L/只,加强免疫,对照组 sc 等量生理盐水。加强免疫 1 周后淘汰失败模型,将剩余大鼠分为模型组,地塞米松(0.2 mg/kg)组,雷公藤多苷片(10 mg/kg)组, TZT-5 高、中、低剂量(5、2.5、1.25 mg/kg)组,各组大鼠两侧足周长及体质量无统计学差异。分组当日各给药组大鼠开始 ig 给予相应药物,给药体积 10 mL/kg,对照组、模型组给予相同体积 0.1%聚山梨酯-80 溶液,连续给药 24 d,每天 1 次。于给药第 3、6、9、12、15、18、21、24 天测量两后足周长。第 24 天处死大鼠,每组取注射侧踝关节,10%福尔马林溶液浸泡后以 8%硝酸溶液脱钙,经脱水、浸蜡、包埋、切片等处理,进行 HE 染色,光镜下($\times 100$)观察。

2.5 佐剂诱导大鼠关节炎实验

将卡介苗置于 57 $^{\circ}$ C 水浴灭活 45 min,溶解于石蜡与羊毛脂按 2:1 混合的溶液中,乳化制成卡介苗质量浓度为 10 mg/mL 的乳剂。实验用 Wistar 大鼠[(150 ± 10)g],除对照组外,其余大鼠单侧足跖 sc 上述乳剂 1 次,100 μ L/只,对照组大鼠 sc 等

量生理盐水。2周后,大鼠分为模型组,地塞米松(0.2 mg/kg)组,雷公藤多苷片(20 mg/kg)组,TZT-5高、中、低剂量(5、2.5、1.25 mg/kg)组,各组大鼠两侧足周长及体质量均无统计学差异。分组当日各组开始ig给予相应药物10 mL/kg,对照组、模型组给予相同体积0.1%聚山梨酯-80溶液,连续给药15 d,每天1次。于给药第3、5、9、12、15天测量大鼠两后足周长,按5级评分法^[3]对全身各个关节进行评价,即0分,无红肿;1分,趾关节红肿;2分,趾关节和足跖肿胀;3分,踝关节以下的足爪肿胀;4分,包括踝关节在内的全部足爪肿胀。根据评分结果计算多发性关节炎指数(AI, AI=四肢关节评分之和)。给药末处死动物,每组取注射侧踝关节,10%福尔马林溶液浸泡后以8%硝酸溶液脱钙,经脱水、浸蜡、包埋、切片等处理,HE染色,光镜下($\times 100$)观察。

2.6 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 17.0软件进行统计学分析,两组间数据比较采用Student's *t*检验。

3 结果

3.1 对巴豆油致小鼠耳炎的影响

与模型组相比,地塞米松组、雷公藤多苷组、TZT-5各剂量组均能抑制巴豆油诱导的小鼠耳部肿

胀($P < 0.05$ 、 0.01),TZT-5的作用呈剂量相关,但其低剂量(2.5 mg/kg)的作用不显著。结果见表1。

表1 TZT-5对巴豆油致小鼠耳炎的影响($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Table 1 Effect of TZT-5 on ear swelling induced by croton oil in mice ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	耳肿胀度 / mg
模型	—	18.1 ± 5.4
TZT-5	7.5	11.1 ± 3.3*
	5.0	11.6 ± 4.6*
	2.5	13.1 ± 3.6
地塞米松	0.2	8.9 ± 3.1**
雷公藤多苷片	200	8.7 ± 5.5**

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

3.2 对角叉菜胶致大鼠足肿胀的影响

与模型组相比,地塞米松组大鼠在致炎后1~24 h、雷公藤多苷组大鼠在致炎后2~5 h、TZT-5各剂量组大鼠在致炎后1~5 h,均抑制角叉菜胶诱导的大鼠足肿胀,TZT-5的作用呈剂量相关性,其中TZT-5 7.5、5 mg/kg组大鼠在致炎后2~4 h足肿胀明显轻于模型组($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001),TZT-5 7.5 mg/kg抑制作用强于雷公藤多苷片。结果见表2。

表2 TZT-5对角叉菜胶致大鼠足肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of TZT-5 on paw edema induced by carrageenin in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	足肿胀度 / cm					
		1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	24 h
模型	—	0.45 ± 0.12	0.62 ± 0.17	0.81 ± 0.19	1.03 ± 0.19	1.01 ± 0.12	0.55 ± 0.15
TZT-5	7.5	0.41 ± 0.08	0.47 ± 0.07*	0.50 ± 0.12***	0.65 ± 0.13***	0.95 ± 0.13	0.57 ± 0.18
	5.0	0.38 ± 0.09	0.48 ± 0.12*	0.57 ± 0.13**	0.76 ± 0.13**	0.94 ± 0.10	0.48 ± 0.13
	2.5	0.37 ± 0.08	0.58 ± 0.12	0.79 ± 0.12	0.91 ± 0.12	0.97 ± 0.13	0.52 ± 0.10
地塞米松	0.5	0.16 ± 0.05***	0.15 ± 0.05***	0.24 ± 0.10***	0.35 ± 0.11***	0.49 ± 0.09***	0.09 ± 0.06***
雷公藤多苷片	200	0.45 ± 0.07	0.48 ± 0.12*	0.62 ± 0.15*	0.75 ± 0.12**	0.79 ± 0.17**	0.51 ± 0.13

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group

3.3 对CCII诱导的大鼠关节炎的影响

3.3.1 对原发肿胀的影响 与模型组相比,TZT-5各剂量组在给药第12~24天均能抑制CCII致大鼠原发足肿胀;剂量为5 mg/kg且在给药第15~24天,作用明显($P < 0.01$ 、 0.001),作用强于雷公藤多苷片组;剂量为2.5、1.25 mg/kg,且在给药第18~21天作用显著($P < 0.05$),作用强于雷公藤多苷片组。结果见表3。

3.3.2 对继发肿胀的影响 与模型组相比,TZT-5各剂量组在给药第12~24天均能抑制CCII致大鼠继发足肿胀;剂量为5、1.25 mg/kg且在给药第12~15天作用显著($P < 0.05$ 、 0.01),作用强于雷公藤多苷片组,但差异不明显。结果见表4。

3.3.3 滑膜组织病理学观察 对照组大鼠未见滑膜增生和炎性浸润。模型组大鼠滑膜组织炎症明显、水肿,小血管扩张,中性粒细胞及淋巴细胞浸润。

地塞米松组大鼠未见滑膜增生和炎性改变。雷公藤多苷片组大鼠滑膜组织增生, 轻度炎性改变。TZZ-5 5 mg/kg 组大鼠滑膜组织局部轻度炎性改变; 2.5

mg/kg 组大鼠滑膜组织增生, 轻度炎性改变; 1.25 mg/kg 组大鼠滑膜组织增生, 伴少量淋巴细胞浸润。结果见图 1。

表 3 TZZ-5 对 CCII 致关节炎大鼠原发足肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of TZZ-5 on primary paw edema in CCII-induced arthritic rats ($\bar{x} \pm s$)

组 别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	动物 / 只	注射侧足周长 / cm				
			第 12 天	第 15 天	第 18 天	第 21 天	第 24 天
对照	—	5	2.40±0.07	2.40±0	2.44±0.05	2.36±0.05	2.38±0.04
模型	—	13	3.25±0.19 ^{▲▲▲}	3.24±0.17 ^{▲▲▲}	3.22±0.17 ^{▲▲▲}	3.16±0.16 ^{▲▲▲}	3.07±0.15 ^{▲▲▲}
TZZ-5	5	11	3.10±0.19	3.04±0.17 ^{**}	2.95±0.09 ^{***}	2.93±0.11 ^{***}	2.88±0.12 ^{**}
	2.5	11	3.12±0.17	3.09±0.19	3.07±0.16 [*]	3.04±0.13 [*]	2.95±0.19
	1.25	11	3.10±0.19	3.10±0.18	3.03±0.17 [*]	2.99±0.16 [*]	2.95±0.15
雷公藤多苷片	0.2	11	3.09±0.18 [*]	3.14±0.22	3.09±0.27	3.07±0.30	3.03±0.32
地塞米松	10	11	2.60±0.12 ^{***}	2.65±0.09 ^{***}	2.55±0.08 ^{***}	2.65±0.16 ^{***}	2.52±0.10 ^{***}

与对照组比较: ^{▲▲▲} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$

^{▲▲▲} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group

表 4 TZZ-5 对 CCII 致关节炎大鼠继发足肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effects of TZZ-5 on secondary paw edema in CCII-induced arthritic rats ($\bar{x} \pm s$)

组 别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	动物 / 只	注射对侧足周长 / cm				
			第 12 天	第 15 天	第 18 天	第 21 天	第 24 天
对照	—	5	2.44±0.05	2.38±0.04	2.42±0.04	2.38±0.04	2.38±0.04
模型	—	13	2.70±0.17 ^{▲▲}	2.66±0.14 ^{▲▲▲}	2.75±0.40	2.68±0.31 [▲]	2.62±0.35
TZZ-5	5	11	2.51±0.14 ^{**}	2.47±0.09 ^{**}	2.51±0.16	2.45±0.09 [*]	2.43±0.09
	2.5	11	2.63±0.21	2.59±0.16	2.54±0.10	2.61±0.18	2.51±0.13
	1.25	11	2.52±0.15 [*]	2.52±0.13 [*]	2.52±0.16	2.49±0.14	2.45±0.15
地塞米松	0.2	11	2.32±0.09 ^{***}	2.35±0.07 ^{***}	2.32±0.06 ^{**}	2.37±0.05 ^{**}	2.24±0.07 ^{**}
雷公藤多苷片	10	11	2.55±0.15 [*]	2.53±0.13 [*]	2.51±0.15	2.52±0.14	2.46±0.17

与对照组比较: [▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$ ^{▲▲▲} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$

[▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$ ^{▲▲▲} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.01$ vs model group

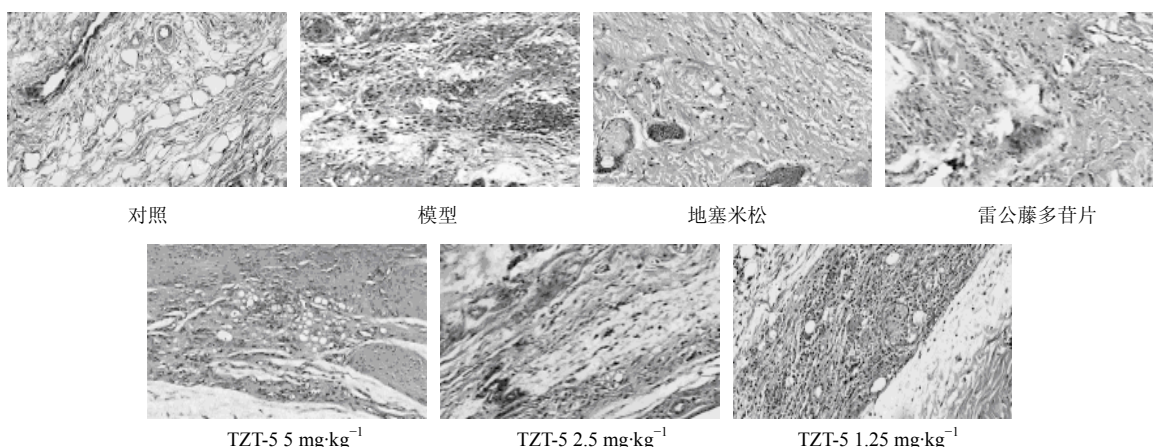


图 1 CCII 致关节炎各组大鼠滑膜组织病理学观察

Fig. 1 Histopathologic observation on synovial tissue in CCII-induced arthritic rats of each group

3.4 对佐剂诱导的大鼠关节炎的影响

3.4.1 对足肿胀的影响 与模型组相比, TZT-5 各剂量组在给药第 9~15 天对佐剂致大鼠原发足肿胀和继发足肿胀均有抑制作用; 剂量为 5 mg/kg 且在

给药第 9~15 天时抑制作用显著 ($P<0.05$), 作用强于雷公藤多苷片组; 剂量为 2.5 mg/kg 且在给药第 9 天, 抑制作用显著 ($P<0.05$), 抑制效果强于雷公藤多苷片组。结果见表 5。

表 5 TZT-5 对佐剂致关节炎大鼠足肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effect of TZT-5 on paw edema in AIA rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	动物 / 只	注射侧足周长 / cm			注射对侧足周长 / cm		
			第 9 天	第 12 天	第 15 天	第 9 天	第 12 天	第 15 天
对照	—	7	2.16±0.05	2.17±0.05	2.17±0.05	2.14±0.05	2.14±0.05	2.17±0.05
模型	—	10	4.09±0.18 ^{▲▲▲}	4.01±0.15 ^{▲▲▲}	3.88±0.15 ^{▲▲▲}	2.36±0.13 ^{▲▲▲}	2.37±0.07 ^{▲▲▲}	2.59±0.59
TZT-5	5	8	3.88±0.17 [*]	3.83±0.18 [*]	3.71±0.15 [*]	2.20±0.05 ^{**}	2.19±0.08 ^{***}	2.20±0.11
	2.5	10	4.05±0.12	3.97±0.09	3.86±0.10	2.24±0.05 [*]	2.32±0.06	2.30±0.05
	1.25	8	3.93±0.21	3.94±0.18	3.81±0.27	2.33±0.12	2.40±0.21	2.33±0.12
地塞米松	0.2	10	3.10±0.22 ^{***}	3.00±0.16 ^{***}	2.91±0.20 ^{***}	2.11±0.03 ^{***}	2.10±0.05 ^{***}	2.12±0.06
雷公藤多苷片	20	10	3.96±0.22	3.98±0.17	3.82±0.19	2.30±0.08	2.37±0.05	2.30±0.05 ^{***}

与对照组比较: ^{▲▲▲} $P<0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$

^{▲▲▲} $P<0.001$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$ vs model group

3.4.2 对 AI 的影响 与模型组相比, TZT-5 各剂量组在给药第 9~15 天降低佐剂致大鼠关节炎的 AI; 其中 5 mg/kg 剂量组在给药第 12~15 天作用显著 ($P<0.05$), 且效果优于雷公藤多苷片组; 2.5 mg/kg 剂量组在给药第 15 天作用显著 ($P<0.05$), 效果优于雷公藤多苷片组。TZT-5 在给药第 9~15 天对 AI 的降低作用呈剂量相关性。结果见表 6。

3.4.3 滑膜组织病理学观察 镜检发现, 对照组大鼠滑膜组织未有增生及炎症症状; 模型组大鼠滑膜组织有明显炎症; 地塞米松组大鼠滑膜组织局部轻微炎症改变; 雷公藤多苷片组大鼠滑膜组织轻微炎症改变; TZT-5 5 mg/kg 组大鼠滑膜组织轻度炎症; 2.5 mg/kg 组轻度炎症; 1.25 mg/kg 组局部滑膜组织增生, 伴小血管充血, 少量炎症细胞浸润。结果见图 2。

表 6 TZT-5 对佐剂致关节炎大鼠 AI 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 6 Effect of TZT-5 on AI in AIA rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	动物 / 只	AI		
			第 9 天	第 12 天	第 15 天
模型	—	10	4.00±1.89	3.80±1.16	4.00±1.70
TZT-5	5	8	2.63±0.54	2.63±0.52 [*]	2.63±0.52 [*]
	2.5	10	3.40±0.70	3.20±0.46	2.80±0.42 [*]
	1.25	8	3.88±1.19	3.25±0.89	3.13±0.64
地塞米松	0.2	10	1.80±0.42 ^{**}	1.50±0.52 ^{***}	1.30±0.48 ^{***}
雷公藤多苷片	20	10	3.40±0.84	3.00±0.53	3.10±0.74

与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$

^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$ vs model group

4 讨论

雷公藤是治疗类风湿关节炎疗效突出的传统药材, 适用范围广、起效快、作用显著, 已有以雷公藤多苷片为代表的雷公藤根制剂和以雷公藤总酯片、雷络酯片为代表的雷公藤叶制剂用于临床^[4-5]。

但雷公藤中显示抗炎及免疫抑制活性的主要成分雷公藤甲素具有较大毒性, 有效治疗剂量和最小中毒剂量接近, 极易引发胃肠道反应、肝肾损伤和生殖系统损伤等多种严重不良反应, 而与化学药物联用、与其他中药配伍或改变剂型等改良手段在减毒增效

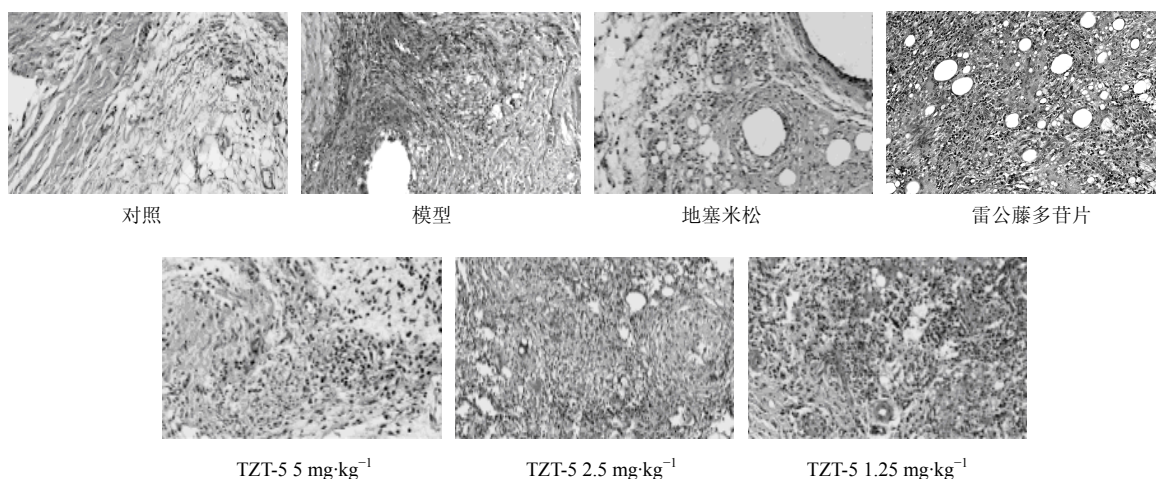


图 2 佐剂致关节炎各组大鼠滑膜组织病理学观察

Fig. 2 Histopathologic observatiol tissue on synovial tissue in AIA rats

等方面得作用并不理想^[6-7]。另外,现有雷公藤提取物制剂成分复杂,不易进行质量控制,影响临床合理使用。由雷公藤叶中提取的新活性组分 TZT-5 由于不含雷公藤甲素,克服了雷公藤制剂毒性大的缺点,并在组成和质控方面也显示出较大的优势和应用前景。

炎症反应是机体对损伤性因素的防御反应,是多细胞、多因子共同参与的免疫应答过程,通常按其病程分为急性炎症和慢性炎症^[8]。巴豆油诱导的小鼠耳部急性炎症模型和角叉菜胶诱导的大鼠足跖肿胀模型是常用的动物急性炎症模型。胶原诱导的关节炎模型和佐剂诱导的关节炎模型是目前使用广泛且成熟的整体动物实验模型,两个模型病理表现相似,病理机制略有差异。在胶原诱导的关节炎模型中,外来 CCII 引发机体产生抗 CCII 抗体,攻击关节中正常状态下与免疫系统隔绝的 CCII, T、B 细胞均参予病理进程;而佐剂性关节炎的病理过程主要由 T 细胞介导^[9]。

RA 是一种慢性系统性自身免疫炎性疾病,发病机制复杂,主要病理特征为关节滑膜炎性细胞浸润,关节滑膜组织增生、血管翳生成;病情迁延将引起关节组织的骨、软骨、甚至关节内韧带和肌腱的细胞外基质进行性破坏,导致关节畸形、强直和功能丧失等严重后果^[10]。现阶段用于治疗类风湿关节炎的药物包括甾体激素、非甾体抗炎药、生物制剂和免疫抑制剂等,但均由于疗效不显著、不良反应多且严重等问题不能满足临床需要。本实验结果表明, TZT-5 具有较好的抗炎活性;能抑制胶原诱

导的关节炎模型大鼠和佐剂诱导的关节炎模型大鼠原发与继发足肿胀,显著抑制关节滑膜组织增生及炎性细胞浸润。此外,与模型组相比,在实验过程中并未观察到 TZT-5 给药组动物出现明显活动减少、严重脱毛、死亡或其他毒性反应,体质量未明显下降,内脏均未观察到粘连、出血或其他病变(数据文中未列出)。在从 TZT-5 分离出的单体化合物中,有若干化合物表现出一定的体外抗炎和免疫抑制活性,体内抗炎活性的评价正在进行^[11-12]。后续实验将进一步评价和研究 TZT-5 及其所含单体的免疫抑制活性、毒性及抗炎作用机制,综合评定其研发成为新型抗 RA 药物的可能性。

参考文献

- [1] Jun B, Sheng M D. A Chinese herb *Tripterygium wilfordii* Hook f. in the treatment of rheumatoid arthritis: mechanism, efficacy, and safety [J]. *Rheumatol Int*, 2011, 31(9): 1123-1129.
- [2] 李建友, 夏素霞, 宋少江. 雷公藤二萜类化学成分在研新药的研究进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(11): 901-908.
- [3] 宋媛媛, 李媛, 张洪泉. 丁香苷对大鼠佐剂性关节炎的治疗作用及其机 [J]. 药学报, 2010, 45(8): 1006-1011.
- [4] 刘晓辉, 韩明相, 刘健. 雷公藤及其制剂治疗类风湿关节炎的研究进展 [J]. 安徽中医学院学报, 2003, 22(5): 60-63.
- [5] 张秋萍, 宋洪涛. 雷公藤制剂研究进展[J]. 中国药师, 2009, 12(7): 881-883.
- [6] 陈浩, 顾一煌. 近十年雷公藤甲素减毒研究进展 [J].

- 中华中医药学刊, 2013, 31(1): 109-110.
- [7] 刘明星, 董 静, 杨亚江, 等. 雷公藤甲素聚乳酸纳米粒的制备及毒性 [J]. 药学学报, 2004, 39(7): 556-560.
- [8] Ruslan M. Origin and physiological roles of inflammation [J]. *Nature*, 2008, 454(24): 428-435.
- [9] 张玲玲, 沈玉仙, 魏 伟. 类风湿关节炎动物模型与临床的关系 [J]. 中国药理学通报, 2002, 18(5): 502-506.
- [10] 张奉春, 鲍春德. 类风湿关节炎 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009.
- [11] 张东明, 侯 琦, 魏佰兴, 等. 雷公藤甲素衍生物、其制法和其药物组合物与用途: 中国, CN201210249713 [P]. 2012-11-21.
- [12] Cao X, Li C J, Yang J Z, *et al.* Four new neolignans from the leaves of *Tripterygium wilfordii* [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(2): 343-347.