

紫雪散对大鼠胶原诱导性关节炎的治疗作用及其机制研究

李莉¹, 刘静², 张杰², 应森林^{1*}

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301

摘要: **目的** 研究紫雪散对大鼠胶原诱导性关节炎的治疗作用及其机制研究。**方法** Wistar 大鼠随机分为 5 组, 分别为对照组、模型组、吲哚美辛片 (2 mg/kg) 组以及紫雪散 0.5、1.0 g/kg 组, 每组 10 只。建立大鼠 II 型胶原诱导性关节炎模型。大鼠初次免疫后第 12 天开始灌胃给药, 给药容量 10 mL/kg, 1 次/d。对照组、模型组均灌胃给予同体积生理盐水。各组均持续给药 3 周。测量大鼠左后足踝宽度、厚度和周长, 计算关节炎指数。观察大鼠踝关节病理。采用 ELISA 法测定血清炎症因子血小板活化因子 (PAF) 水平、环氧合酶-2 (COX-2) 活性、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 水平, 采用比浊法测定血清循环免疫复合物 (CIC) 水平。**结果** 给药 7 d, 紫雪散组踝关节宽度、厚度显著低于模型组并能持续到给药 21 d。紫雪散组滑膜细胞增生明显减轻, 滑膜组织充血水肿明显减轻。与模型组比较, 紫雪散组全身表现评分、关节肿胀指数和关节炎指数均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。与模型组比较, 紫雪散 0.5、1.0 g/kg 组血清 PAF 水平显著减少, COX-2 活性显著降低 ($P < 0.001$)。与模型组比较, 紫雪散 0.5、1.0 g/kg 组血清 TNF- α 、CIC 水平显著减少 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。**结论** 紫雪散对大鼠胶原诱导性关节炎损伤具有治疗效果, 其机制可能与紫雪散的抗炎和抗氧化作用有关。

关键词: 紫雪散; 胶原诱导性关节炎; 治疗作用; 机制**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2016)08-1135-06**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2016.08.003

Therapeutic effect of Zixue Powder on collagen-induced arthritis in rats and its mechanism

LI Li¹, LIU Jing², ZHANG Jie², YING Sen-lin¹

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research New Drug Evaluation Co., Ltd., Tianjin 300301, China

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effects of Zixue Powder on collagen-induced arthritis in rats and its mechanism. **Methods** Wistar rats were randomly divided into control group, model group, Indometacin Tablets (2 mg/kg) group, and Zixue Powder (0.5 and 1.0 g/kg) groups, and each group had 10 mice. Type II collagen-induced arthritis model in rats was established. Rats were ig administered from 12th day after the first immunization, and the volume was 10 mL/kg, 1 time/d. Rats in the control group and model group were given the same volume of normal saline. All animals were treated for 3 weeks. Left ankle joint width, thickness, and perimeter were determined, and arthritis indexes were calculated. Pathology of rat ankle joint was observed. The level of PAF, COX-2, and TNF- α were determined by ELISA method, and level of circulating immune complex was determined by turbidimetry method. **Results** Treatment for 7 d continue to 21 d, ankle joint width and thickness of rats in the Zixue Powder groups were lower than those of rats in model group. The proliferations of synovial cells were significantly reduced in the Zixue Powder groups, and synovial tissue edema was also significantly reduced. Compared with model group, systemic manifestations score, joint swelling index, and arthritis index in the Zixue Powder group were significantly decreased ($P < 0.05$, 0.01 , and 0.001). Compared with model group, levels of serum PAF in the Zixue Powder groups were significantly reduced, activities of COX-2 were significantly decreased ($P < 0.01$), and levels of CIC and TNF- α were significantly decreased ($P < 0.05$, 0.01 , and 0.001). **Conclusions** Zixue Powder has therapeutic effects on collagen-induced arthritis in rats, which may be in regard to the anti-inflammatory properties and anti-oxidant activity.

Key words: Zixue Powder; collagen-induced arthritis; therapeutic effects; mechanism

收稿日期: 2016-03-22

作者简介: 李莉 (1986—), 女, 博士生, 研究方向为中医药抗肿瘤的基础研究。Tel: 13821489862 E-mail: august-rush2009@163.com

*通信作者 应森林 (1961—), 男, 教授, 硕士生导师, 研究方向为中医药治疗风湿免疫学研究。E-mail: yingsl888@163.com

类风湿性关节炎是一种以对称性多关节炎为主要临床表现的自身免疫疾病, 主要特征为大量炎细胞浸润、滑膜组织异常增生以及关节软骨和骨进行性破坏, 是最常见的自身免疫性疾病^[1]。类风湿性关节炎反复发作, 迁延不愈, 其中活动期类风湿性关节炎的病理改变与中医“热毒痹”的病机相似。中医认为, 活动期类风湿性关节炎是由于内外邪热阻滞气机, 酿为热毒而致病, 临床可见关节肿痛, 病变局部皮色红或黯红、皮温高, 舌红苔黄腻, 脉弦数, 治疗以清热解毒、祛风通络为主。现代医学认为类风湿性关节炎典型的病理改变是滑膜组织的增生和侵蚀性生长, 对关节软骨组织进行破坏, 导致关节畸形和功能障碍^[2]。由于对类风湿性关节炎的发病机制尚不明确, 临床治疗缺乏有效的措施和根治方案。目前治疗类风湿性关节炎的药物主要有非甾体抗炎药、改变病情抗风湿药、糖皮质激素、生物制剂等。紫雪散为“凉开三宝”之一, 由石膏、寒水石、滑石、磁石等 16 味中药组成。在凝结过程中, 由于朱砂等色泽的反应以及硝石等溶解后的再凝结, 形成了紫色之霜雪状物质; 又因药性大寒冷若霜雪, 故称为“紫雪”。紫雪散的清热镇痉力强, 具有清热解毒、熄风止痉的功效。II 型胶原免疫大鼠诱发的关节炎模型为接近人类类风湿性关节炎的关节炎模型之一^[3]。为了研究紫雪散对大鼠胶原诱导性关节炎损伤关节的治疗作用机制, 本实验观察紫雪散对胶原诱导性关节炎大鼠足肿胀及踝关节局部病理损伤的治疗作用, 对紫雪散治疗胶原诱导性关节炎的作用机制进行了探讨。

1 实验材料

1.1 实验动物

健康雄性 Wistar 大鼠 50 只, SPF 级, 体质量 120~140 g, 由天津市山川红实验动物科技有限公司提供, 实验动物生产许可证 SCXK (津) 2009-0001, 适应性饲养 1 周后用于实验。

1.2 药品与试剂

紫雪散由天津宏仁堂药业有限公司提供, 规格 1.5 g/瓶, 产品批号 020236, 临用前用蒸馏水配制成所需浓度; 吲哚美辛由厦门中药厂有限公司提供, 批号 081201; 弗氏完全佐剂 (批号 050M8702)、鸡源性 II 型胶原 (批号 020M4059) 购自 Sigma 公司; 冰乙酸 (分析纯, 天津市凯信化学工业有限公司生产, 批号 20100817); 大鼠血清 TNF- α ELISA 测定试剂盒 (批号 T041-40)、COX-2 ELISA 测定试剂盒

(批号 RT110371)、PAF ELISA 测定试剂盒 (批号 P007-10) 均购自美国 Groundwork Biotechnology Diagnosticate 公司; 氟化钠 (天津市瑞金特化学品有限公司); 硼酸 (天津威晨化学试剂科贸有限公司, 批号 20100706); 四硼酸钠 (硼砂, 天津市风船化学试剂科技有限公司, 批号 0100628); 聚乙二醇 (天津市瑞金特化学品有限公司)。

1.3 主要仪器

T2000 型电子天平 [美国双杰兄弟 (集团) 有限公司]; PL203 型电子天平 [梅特勒托利多仪器 (上海) 有限公司]; 游标卡尺 (上海测绘仪器厂); EG1160 型自动包埋机、RM2135 型石蜡切片机 (Leica 公司); BH-2 型光学显微镜 (Olympus 公司); 实验室专用超纯水系统 (北京中盛茂源科技发展有限公司); Sunrise Remot 酶标仪、Columbus 洗版机 (奥地利 Tecan 公司)。

2 方法

2.1 II 型胶原诱导性关节炎模型的建立^[4]

50 只 Wistar 大鼠中随机挑选 40 只用于胶原诱导性关节炎造模。溶解于冰醋酸的鸡源性 II 型胶原加入等体积的弗氏完全佐剂, 在冰浴条件下使二者充分乳化 (以乳化液滴入水中不扩散为度), 鸡源性 II 型胶原最终质量浓度为 1 mg/mL。在大鼠背部、尾部多点皮内注射乳剂 0.5 mL/只。初次免疫 7 d 后加强免疫, 在鼠背部、尾部、右后足趾多点皮内注射乳剂 0.5 mL。通过观察, 鸡源性 II 型胶原致敏大鼠在免疫后 3~4 d 出现继发性关节炎症状, 四肢 (尤为双后肢) 出现发红、肿胀, 关节炎指数增高, 提示造模成功。于再次免疫后第 4 天测量大鼠左后足踝 (注射足对侧) 的宽度、厚度及周长, 模型组大鼠体质量减轻、左侧足踝关节肿胀、踝关节周长 > 2.5 cm 的认为是造模成功大鼠。

2.2 分组与给药

紫雪散的用法用量为口服 1.5~3 g/次, 2 次/d; 大鼠体表等效剂量为 0.5 g/kg, 因此实验选用紫雪散 0.5、1.0 g/kg 两个剂量。吲哚美辛的有效剂量参考文献报道选择 2 mg/kg^[4], 配成混悬液。

选取造模成功的 40 只大鼠随机分为模型组、吲哚美辛 2 mg/kg 组以及紫雪散 0.5、1.0 g/kg 组, 每组各 10 只。造模前剩余的 10 只大鼠作为对照组。大鼠初次免疫后第 12 天开始灌胃给药, 给药容量 10 mL/kg, 1 次/d。对照组、模型组均灌胃给予同体积生理盐水。各组均持续给药 3 周。

2.3 指标测定

2.3.1 足肿胀度的测量 从加强免疫后第 4 天起, 用游标卡尺测量大鼠左后足踝宽度、厚度和周长, 2 次/周, 连续测量 6 次, 以左后足踝宽度、厚度和周长作为肿胀度观察指标。

2.3.2 关节炎指数的计算^[4] 于给药后第 21 天对全身继发性病变进行评分, 计算关节炎指数。每个足趾计 1 个踝关节和 5 个指(趾)关节, 每鼠最多 24 个关节肿胀。每只动物的评分加和得全身表现评分。见表 1。

表 1 胶原诱导性关节炎模型继发性病变全身表现评分标准

Table 1 Secondary lesions systemic performance criteria of collagen-induced arthritis model

项目	评分		
	0 分	1 分	2 分
耳	无结节和发红症状	1 只耳朵有结节和发红症状	2 只耳朵有结节和发红症状
鼻	无结缔组织的肿胀	强烈的结缔组织肿胀	
尾	无结节	有结节	
前爪	无肿胀	1 个前足趾肿胀	2 个前足趾肿胀
后爪	无肿胀	1 个后足趾肿胀	2 个后足趾肿胀
关节炎指数	正常	踝关节出现红斑和轻微肿胀; 踝关节到趾、掌关节出现红斑和轻微肿胀	踝关节出现红斑和轻微肿胀; 踝关节到趾、掌关节出现红斑和重度肿胀

2.4 关节病理观察

于末次给药后 1 h, 大鼠麻醉, 腹主动脉取血后, 取所有大鼠的左后足踝关节, 12% 甲醛溶液固定, 脱钙, 酒精逐级脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 切片, HE 常规染色。光镜下观察滑膜、软骨、骨的病理改变。

2.5 大鼠血清指标 PAF、COX-2、TNF- α 和 CIC 的测定

于末次给药后 1 h, 各组大鼠 40 mg/kg 戊巴比妥钠麻醉, 腹主动脉取血, 3 000 r/min 离心, 分离血清, -20 °C 保存备用。采用 ELISA 法测定血清炎症因子血小板活化因子 (PAF)、环氧合酶-2 (COX-2)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 水平; 采用比浊法测定吸光度 (A) 值表示血清循环免疫复合物 (CIC) 水平。

2.6 统计方法

所有计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS 13.0 软件做统计分析。采用 *t* 检验和方差分析。

3 结果

3.1 紫雪散对胶原诱导性关节炎大鼠足肿胀程度的影响

与对照组比较, 模型组大鼠注射足对侧在加强免疫后第 4 天 (给药 0 d) 即出现明显的肿胀, 稍后出现了严重的踝关节和趾关节肿胀变形, 踝关节宽

度、厚度均显著增加, 提示造模成功。给药 7 d, 紫雪散组踝关节宽度、厚度显著低于模型组并能持续到给药 21 d, 见表 2~4。提示紫雪散对对侧足的踝关节肿胀有显著的抑制作用, 对大鼠类风湿性关节炎具有显著的治疗作用。

3.2 紫雪散对胶原诱导性关节炎大鼠关节炎指数的影响

模型组大鼠耳、鼻、尾、前爪及后爪有显著的继发性病变, 耳廓有显著的结节、发红, 鼻端结缔组织肿胀明显, 尾部有结节, 前爪发红, 部分前爪趾关节肿胀, 后爪肿胀明显; 紫雪散组耳廓结节红肿、鼻端结缔组织肿胀、尾部结节程度减轻, 前爪及部分前爪趾关节、后爪肿胀明显减轻。

与对照组比较, 模型组全身表现评分、关节肿胀指数、关节炎指数均显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 紫雪散组全身表现评分、关节肿胀指数和关节炎指数均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 提示紫雪散能够显著改善大鼠耳、鼻、尾、爪等部位的继发性病变, 对大鼠胶原诱导性关节炎具有显著的治疗作用。见表 5。

3.3 关节病理观察

与对照组比较, 模型组可见明显的滑膜细胞增生, 滑膜组织增生覆盖于关节软骨上, 软骨组织破坏, 关节软骨面完全被破坏; 部分关节软骨破坏,

表2 紫雪散对胶原诱导性关节炎大鼠左后足踝关节宽度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 2 Effect of Zixue Powder on left ankle joint width of collagen-induced arthritis rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂 量/ (g·kg ⁻¹)	基础阈值/cm	给药后不同时间左后足踝关节宽度/cm					
			3 d	7 d	10 d	14 d	18 d	21 d
对照	—	0.61±0.02	0.61±0.02	0.63±0.03	0.65±0.02	0.64±0.03	0.67±0.02	0.70±0.02
模型	—	0.72±0.05 ^{###}	0.79±0.05 ^{###}	0.81±0.05 ^{###}	0.85±0.06 ^{###}	0.85±0.04 ^{###}	0.86±0.03 ^{###}	0.85±0.03 ^{###}
吡哌美辛	0.002	0.71±0.04	0.67±0.03 ^{***}	0.66±0.04 ^{***}	0.66±0.03 ^{***}	0.68±0.03 ^{***}	0.69±0.03 ^{***}	0.69±0.02 ^{***}
紫雪散	0.5	0.71±0.03	0.78±0.05	0.79±0.04	0.78±0.05 [*]	0.77±0.07 ^{**}	0.77±0.04 ^{***}	0.76±0.05 ^{***}
	1.0	0.72±0.03	0.78±0.06	0.80±0.06	0.72±0.06 ^{***}	0.74±0.07 ^{***}	0.71±0.09 [*]	0.78±0.07 [*]

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3 紫雪散对胶原诱导性关节炎大鼠左后足踝关节厚度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 3 Effect of Zixue Powder on left ankle joint thickness of collagen-induced arthritis rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂 量/ (g·kg ⁻¹)	基础阈值/cm	给药后不同时间左后足踝关节厚度/cm					
			3 d	7 d	10 d	14 d	18 d	21 d
对照	—	0.52±0.03	0.52±0.03	0.53±0.03	0.52±0.02	0.52±0.02	0.54±0.02	0.56±0.02
模型	—	0.64±0.02 ^{###}	0.75±0.08 ^{###}	0.77±0.07 ^{###}	0.80±0.07 ^{###}	0.79±0.10 ^{###}	0.85±0.08 ^{###}	0.87±0.09 ^{###}
吡哌美辛	0.002	0.63±0.02	0.56±0.03 ^{***}	0.54±0.05 ^{***}	0.54±0.05 ^{***}	0.56±0.04 ^{***}	0.57±0.02 ^{***}	0.56±0.04 ^{***}
紫雪散	0.5	0.65±0.04	0.74±0.05 [*]	0.75±0.05 ^{**}	0.70±0.10 [*]	0.69±0.12 ^{**}	0.70±0.08 ^{***}	0.69±0.09 ^{***}
	1.0	0.65±0.05	0.74±0.09 ^{**}	0.75±0.08 ^{***}	0.62±0.07 ^{***}	0.67±0.07 ^{**}	0.71±0.09 ^{***}	0.72±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 紫雪散对胶原诱导性关节炎大鼠左后足踝关节周长的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 4 Effect of Zixue Powder on left ankle joint perimeter of collagen-induced arthritis rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂 量/ (g·kg ⁻¹)	基础阈值/cm	给药后不同时间左后足踝关节周长/cm					
			3 d	7 d	10 d	14 d	18 d	21 d
对照	—	2.23±0.05	2.23±0.05	2.26±0.07	2.29±0.02	2.28±0.03	2.28±0.05	2.33±0.04
模型	—	2.62±0.09 ^{###}	2.86±0.21 ^{###}	2.91±0.26 ^{###}	3.02±0.21 ^{###}	2.99±0.22 ^{###}	3.13±0.17 ^{###}	3.14±0.17 ^{###}
吡哌美辛	0.002	2.63±0.10	2.38±0.15 ^{***}	2.29±0.14 ^{***}	2.36±0.15 ^{***}	2.38±0.12 ^{***}	2.36±0.08 ^{***}	2.39±0.10 ^{***}
紫雪散	0.5	2.60±0.08	2.80±0.12	2.88±0.13	2.83±0.24	2.80±0.28	2.83±0.20	2.74±0.21
	1.0	2.63±0.09	2.83±0.21 [*]	2.88±0.19 ^{**}	2.67±0.19	2.65±0.17	2.78±0.26	2.79±0.28

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5 紫雪散对胶原诱导性关节炎大鼠继发全身性病变的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 5 Effect of Zixue Powder on secondary systemic disease of collagen-induced arthritis rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	全身表现评分/分	关节肿胀指数/分	关节炎指数/分
对照	—	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
模型	—	6.6±1.3 ^{###}	21.1±4.2 ^{###}	13.8±1.8 ^{###}
吡哌美辛	0.002	2.6±0.9 ^{***}	5.3±3.0 ^{***}	2.1±1.1 ^{***}
紫雪散	0.5	4.3±1.8 [*]	3.5±1.8 ^{**}	5.0±1.7 ^{**}
	1.0	4.6±1.7 ^{**}	4.6±3.6 ^{***}	5.6±3.1 ^{***}

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

被纤维组织替代, 关节面黏连, 大部分骨组织破坏。紫雪散 0.5、1.0 g/kg 组滑膜细胞增生明显减轻, 滑膜组织充血水肿明显减轻, 少量关节软骨破坏, 被

纤维组织替代, 软骨下骨排列正常; 部分骨组织破坏, 骨小梁间填充以纤维组织, 部分形成类骨质。见图 1。

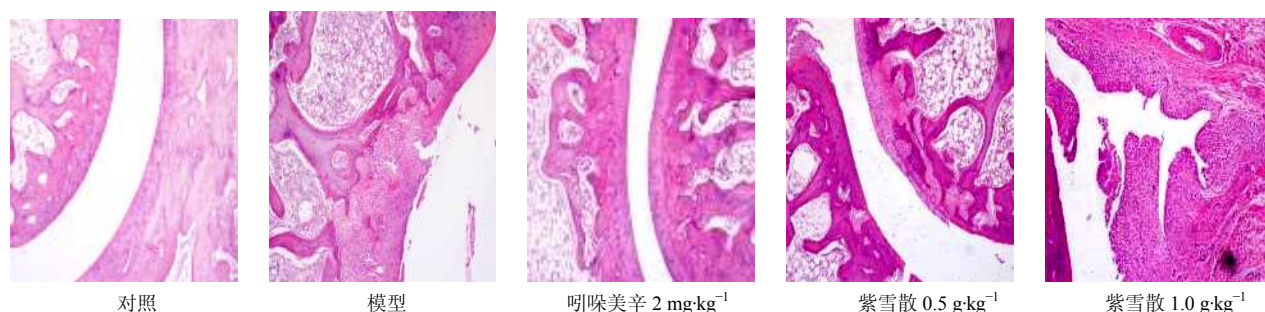


图 1 大鼠踝关节病理图 (HE 染色)

Fig. 1 Pathology of rat ankle joint (HE staining)

3.4 紫雪散对胶原诱导性关节炎大鼠血清 PAF、COX-2 的影响

与对照组比较, 模型组大鼠血清 PAF 水平显著增加, COX-2 活性显著升高 ($P < 0.001$)。与模型组比较, 紫雪散 0.5、1.0 g/kg 组血清 PAF 水平显著减少, COX-2 活性显著降低 ($P < 0.001$), 见表 6。结果表明紫雪散对胶原诱导性关节炎大鼠关节肿胀有显著的治疗作用, 可能与其减少 PAF 水平、抑制 COX-2 活性从而发挥抗炎作用有关。

表 6 紫雪散对胶原诱导性关节炎大鼠血清 PAF、COX-2 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 6 Effect of Zixue Powder on PAF and COX-2 in serum of collagen-induced arthritis rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	PAF/(pg·mL ⁻¹)	COX-2/(ng·mL ⁻¹)
对照	—	23.810 ± 9.677	7.900 ± 1.345
模型	—	50.409 ± 14.994 ^{###}	11.798 ± 1.348 ^{###}
吡哌美辛	0.002	78.503 ± 27.822	9.612 ± 0.695 ^{***}
紫雪散	0.5	24.265 ± 9.816 ^{***}	7.891 ± 1.266 ^{***}
	1.0	24.096 ± 14.926 ^{***}	6.931 ± 1.622 ^{***}

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

^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{***} $P < 0.001$ vs model group

3.5 紫雪散对胶原诱导性关节炎大鼠血清 TNF- α 、CIC 的影响

与对照组比较, 模型组大鼠血清 TNF- α 、CIC 水平显著增加 ($P < 0.001$), 表明模型组大鼠免疫功能亢进。与模型组比较, 紫雪散 0.5、1.0 g/kg 组血清 TNF- α 、CIC 水平显著减少 ($P < 0.05$ 、0.01、

0.001), 表明紫雪散对胶原诱导性关节炎大鼠滑膜增生、关节变形有显著的治疗作用, 可能与其调节亢进的免疫系统, 减少 TNF- α 、CIC 水平, 减少 CIC 在滑膜组织沉积有关。见表 7。

表 7 紫雪散对胶原诱导性关节炎大鼠血清 TNF- α 、CIC 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 7 Effect of Zixue Powder on TNF- α and CIC in serum of collagen-induced arthritis rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	CIC
对照	—	123.967 ± 15.946	0.026 ± 0.003
模型	—	156.075 ± 14.889 ^{###}	0.061 ± 0.006 ^{###}
吡哌美辛	0.002	141.532 ± 21.851	0.049 ± 0.006 ^{**}
紫雪散	0.5	138.718 ± 13.585 [*]	0.049 ± 0.004 ^{***}
	1.0	127.110 ± 18.268 ^{**}	0.037 ± 0.003 ^{***}

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

4 讨论

现代研究发现类风湿性关节炎是一种慢性系统性自身免疫疾病^[5], 临床上常因反复急性发作而处于活动期, 属于中医学的“热痹”范畴, 有“白虎病”、“历节病”之称。张永红^[6]认为痹证多与热毒有关, 以类风湿性关节炎急性发作期关节的红肿热痛最为典型。紫雪散源于传统名方, 方中羚羊角、水牛角粉凉血止血; 生石膏、滑石清热解毒; 麝香、木香芳香走窜, 诸药合用, 具有清热解毒, 消肿止痛的功效。

本研究观察到紫雪散能明显减轻胶原诱导性关节炎大鼠踝关节肿胀程度和关节炎指数,在病理切片观察中也得到证实。同时能减少胶原诱导性关节炎大鼠血清中炎性介质 PAF 水平、抑制 COX-2 活性,通过炎症通路减轻胶原诱导性关节炎大鼠关节肿痛程度和关节滑膜炎性病变,发挥解热镇痛作用,达到治疗胶原诱导性关节炎引起的细胞和组织的炎症损伤。TNF- α 是类风湿性关节炎发病机制中重要的促炎细胞因子之一^[7],作为类风湿性关节炎病变的病理基础和发病的启动细胞因子之一,其作用贯穿于整个炎症发展过程。可促进成纤维样滑膜细胞的活化、破坏关节组织以及参与关节炎性破坏过程^[8]。已有研究^[9]发现, TNF- α 与类风湿性关节炎患者血管翳的形成有关,在类风湿性关节炎发病中发挥重要的作用。紫雪散组的 TNF- α 、CIC 水平均有显著减少,提示紫雪散能有效缓解胶原诱导性关节炎大鼠滑膜增生、关节变形等炎症反应和组织损伤,可能与其调节亢进的免疫系统,减少 CIC 在滑膜组织中的沉积有关。胶原诱导性关节炎大鼠踝关节肿胀、关节炎指数和病理观察结果也证实,紫雪散能不同程度地减轻关节炎性细胞浸润及滑膜炎性增生,抑制血管翳的形成,阻止软骨的破坏,减轻关节的损伤程度。

综上所述,紫雪散对大鼠胶原诱导性关节炎损伤具有治疗效果,其机制可能与紫雪散的抗炎和抗氧化作用有关,可为其临床用于活动期类风湿性关

节提供了科学依据。

参考文献

- [1] Komatsu N, Takayanagi H. Autoimmune arthritis: the interface between the immune system and joints [J]. *Adv Immunol*, 2012, 115: 45-71.
- [2] 陈成妹, 陈瑞林. 益赛普治疗类风湿关节炎病人的效果观察 [J]. *护理研究*, 2011, 25(8): 696-697.
- [3] 王淑月. 抗类风湿性关节炎的药物研究 [J]. *中国组织工程研究*, 2004, 8(27): 5956-5957
- [4] 魏 伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学 [M]. 第 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 750
- [5] 夏 燕, 冯 佳, 陈安平, 等. 类风湿关节炎外周血 lncRNA 差异表达研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 2016, 32(1): 9-12.
- [6] 张永红, 王笑青. 活动期类风湿性关节的治疗应注重热毒与瘀毒 [C]. 河南省中医中西医结合骨伤科学术年会暨学习班资料汇编. 洛阳: 河南省科学技术协会, 2009: 85-87.
- [7] 王志中, 王 勇, 牟方祥, 等. 血小板、TNF- α 及 IL-1 β 与活动期类风湿关节炎的相关性研究 [J]. *第三军医大学学报*, 2011, 33(5): 469-472.
- [8] 李 燕, 胡俊平, 巫婷婷. 青蒿联合甲氨蝶呤对类风湿性关节炎患者血 TNF- α 、IL-10 水平的影响 [J]. *河南中医*, 2012, 32(4): 433-435.
- [9] Matsuyama Y, Okazaki H, Tamemoto H, *et al*. Increased levels of interleukin 33 in sera and synovial fluid from patients with active rheumatoid arthritis [J]. *J Rheumatol*, 2010, 37(1): 18-25.