

表 4 CS 对糖尿病大鼠肾脏中 TGF-β 阳性表达及基质的量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of CS on positive expression of TGF-β and ECM content in kidney of diabetic rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (g · kg ⁻¹)	动物/ 只	TGF-β 在肾小球 阳性表达积分	TGF-β 在肾小管-间 质阳性表达/%	苦味酸-苯胺蓝染色基质阳性面积/ 肾小球总面积/%
正常	—	12	0.52 ± 0.12	5.85 ± 0.65	17.60 ± 0.26
模型	—	10	3.18 ± 0.18 ^{△△}	21.24 ± 2.45 ^{△△}	48.97 ± 0.24 ^{△△}
CS	1.2	10	1.46 ± 0.16*	13.90 ± 1.71*	34.07 ± 0.15*
	2.4	11	1.23 ± 0.10*	9.72 ± 2.02*	24.02 ± 0.13**
	3.6	11	0.98 ± 0.12*	7.82 ± 2.09*	19.05 ± 0.21**

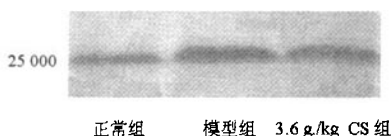


图 1 CS 对糖尿病大鼠肾脏 TGF-β 蛋白表达的影响 (Western blotting)

Fig. 1 Effect of CS on TGF-β protein expression in kidney of diabetic rats (Western blotting)

对分子质量为 1.25×10^4 的同源二聚体的两个单体由二硫键连接而成^[2]。TGF-β 对肾小球细胞的增生、肥大、凋亡以及局部和全身免疫反应都有重要作用,其主要作用是促进 ECM 沉积^[3~5]。本研究证实,TGF-β 表达增强与 ECM 沉积相一致,CS 可能通过下调 TGF-β 表达减轻肾小球纤维化。

本实验中,CS 各组较模型组 AER、肾脏质量及肾脏肥大指数均明显下降,ECM 增生情况、TGF-β 表达均明显减弱。CS 各组 ECM 增生或 TGF-β 表达明显增加情况仅限于肾小球的局部区域,而模型组常见同一肾小球的多个部位 ECM 增生或 TGF-β 表达明显增加。Western 印迹法定量测定 TGF-β 蛋白表达结果显示:TGF-β 蛋白表达在 3.6 g/kg CS 组较模型组明显减轻。推测 CS 可能通过降低 TGF-β 表达而抑制 ECM 增生从而治疗糖尿病肾病。本实

验观察到:在一定范围内,CS 疗效随剂量增加而增加。

本研究显示:1.2、2.4 g/kg CS 组较模型组血糖明显降低;CS 各剂量组 AER、TGF-β 表达及 ECM 增生情况均较模型组有所改善,但 3.6 g/kg CS 组对降低 AER、TGF-β 表达及 ECM 增生效果最明显,然而,该剂量组降血糖效果并不明显。由此可以推测:CS 对肾脏功能的保护作用除能够改善肾小球持续的高滤过外可能尚有其他途径。

本实验结果显示 CS 有显著的抑制系膜增生、降低尿蛋白作用,而且在一定范围内,疗效呈剂量依赖性。值得注意的是,CS 组中共有 3 只血糖恢复至正常水平、肾脏病理仅有轻微改变,模型组无此情况出现。是 CS 的特殊疗效还是偶然,有待于进一步证实。

References:

- [1] Chen S, Hong S W, Iglesias-delacruz M C, et al. The key role of transforming growth factor-beta system in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Renal Failure*, 2001, 23 (3-4): 471-481.
- [2] Chen W, Di D L, Cui W F. Research progress on the effects of TGF-β [J]. *J Med Theor Prac*, 2006, 119(4): 400-402.
- [3] Tamaki K, Okuda S. Role of TGF-beta in progression of renal fibrosis [J]. *Contrib Nephrol*, 2003, 139(1): 44-65.
- [4] Klahr S. Obstructive nephropathy [J]. *Intern Med*, 2000, 39(5): 355-356.
- [5] Border W A. TGF-beta in kidney fibrosis: a target for gene therapy [J]. *Kidney Int*, 1997, 51(5): 1388-1396.

祛浊通痹颗粒对急性痛风模型炎症因子的调节作用

金晨宇¹, 孙 梅^{1*}, 温成平², 詹小萍¹

(1. 浙江大学医学院附属第二医院 中医科, 浙江 杭州 310009; 2. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310000)

急性痛风性关节炎以关节突发性红、肿、热、痛为特征,是由尿酸盐结晶物在关节及其周围软组织沉积而引起炎症反应的一种疾病。临床上笔者应用

自拟处方祛浊通痹颗粒治疗痛风取得了显著的疗效^[1],动物实验也证实其有较好的抗炎镇痛作用。本实验就其对急性痛风模型大鼠血浆及关节滑膜组织

收稿日期:2006-12-13

基金项目:浙江省中医药基金资助项目 (491020-w50536)

作者简介:金晨宇(1972—),女,浙江义乌人,浙江大学讲师,医学硕士,主攻方向风湿病的研究。

Tel: (0571) 87783511 E-mail: jcsbo@hotmail.com

* 通讯作者 孙 梅 Tel: (0571) 87783774 E-mail: jcsbo@hotmail.com

中前列腺素 2 (PGE₂) 及其代谢产物 6-κ-PGF1α 水平、滑膜组织中白细胞介素-1 (IL-1)、白细胞介素-6 (IL-6) 的影响开展研究,以探讨其治疗痛风的抗炎机制。

1 材料

1.1 动物:雄性 Wistar 大鼠 60 只, (200±20) g, 由浙江中医药大学动物实验中心提供。

1.2 药物及试剂:祛浊通痹颗粒由土茯苓、赤芍、薏苡仁、忍冬藤等组成。各药按处方比例配比,采用水煎醇沉法,浓缩(浓缩液含落新妇苷 0.18 mg/mL)、干燥成颗粒剂,由浙江中医药大学中药制剂室制备。动物实验前用生理盐水溶解成含生药 4 g/mL 的药液备用。秋水仙碱由昆明制药股份有限公司生产,批号为 20050362。PGE₂、6-κ-PGF1α 放射免疫测定试剂盒;IL-1、IL-6 试剂盒由法国 Immutech 公司进口提供。

2 方法

2.1 急性痛风模型制备:参考 Coderre 等^[2]方法略作改进。194 mL 蒸馏水加 6 mL NaOH,煮沸,加 1 g 尿酸,用 1 mol/L HCl 调 pH 值至 7.2,搅拌冷却,4 ℃ 冰箱保存 24 h,去上清,用滤纸将沉淀物水分吸干,放入 70 ℃ 干燥箱烘 2 h,取出,刮下粉末,放入研钵内研成细末,用孔径 250 μm 的金属筛过筛,制成尿酸钠结晶。取 250 mg 尿酸钠结晶加 9 mL 生理盐水,再加 1 mL 聚山梨酯 80,加热搅拌,配制成 10 mL 尿酸钠溶液。在规定时间内将尿酸钠溶液 0.2 mL 注入到大鼠右侧踝关节腔内造模。

2.2 分组、给药及指标测定:60 只大鼠随机分成正常组、模型组、祛浊通痹颗粒大、中、小剂量组、秋水仙碱组。正常组与模型组 ig 蒸馏水,给药组分别 ig 祛浊通痹颗粒药液(相当于生药) 80、40、20 g/kg,秋水仙碱组 ig 秋水仙碱悬浮液(0.4 g/kg),每天两次,连续 5 d。于第 3 天第 1 次给药后 1 h 将尿酸钠

溶液 0.2 mL 注入到各组大鼠右侧踝关节腔内造模,正常组注入生理盐水 0.2 mL。72 h 后断头处死,取血制备血浆,取右侧关节滑膜组织。PGE₂、6-κ-PGF1α 用免疫分析法检测;IL-1、IL-6 用酶联免疫 (ELISA) 法检测,均按试剂盒操作。

2.3 统计学方法:计量资料数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示;多组间均数比较方差分析 (*F* 检验),采用 SPSS10.0 统计软件包统计分析。

3 结果

3.1 血浆中 PGE₂、6-κ-PGF1α 水平比较:见表 1。血浆中 PGE₂ 水平比较,模型组与正常组之间差异无显著性 (*P*>0.05);6-κ-PGF1α 水平比较,模型组显著高于正常组 (*P*<0.05),各给药组与模型组之间差异无显著性 (*P*>0.05)。

表 1 祛浊通痹颗粒对模型大鼠血浆中 PGE₂ 及 6-κ-PGF1α 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n*=10)

组 别	血浆/(pg · mL ⁻¹)	
	PGE ₂	6-κ-PGF1α
正常	3.88±0.72	12.72±2.64
模型	4.27±0.95	15.81±4.37*
祛浊通痹颗粒	4.01±0.83	14.02±3.56
	4.07±1.01	14.03±3.42
	4.06±0.91	15.06±3.26
秋水仙碱	3.96±1.03	13.95±3.21

与正常组比较: **P*<0.05

**P*<0.05 vs normal group

3.2 关节滑膜组织中 PGE₂、6-κ-PGF1α、IL-1、IL-6 水平比较:见表 2。滑膜组织中 PGE₂、6-κ-PGF1α 水平比较,模型组均显著高于正常组 (*P*<0.01);各给药组均显著低于模型组 (*P*<0.05、0.01),祛浊通痹颗粒各组 and 秋水仙碱比较 6-κ-PGF1α 水平差异显著 (*P*<0.05),祛浊通痹颗粒大、中剂量组间无明

表 2 祛浊通痹颗粒对模型大鼠滑膜组织中 PGE₂、6-κ-PGF1α、IL-1、IL-6 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n*=10)

Table 2 Effect of Quzhuotongbi Granula on levels of PGE₂, 6-κ-PGF1α, IL-1, and IL-6 in synovial membrane tissue of model rats ($\bar{x} \pm s$, *n*=10)

组 别	滑膜组织/(pg · mg ⁻¹)			
	PGE ₂	6-κ-PGF1α	IL-1	IL-6
正常	4.72±0.97	12.21±2.96	4.97±1.23	2.03±0.79
模型	18.29±5.61**	19.98±3.75**	10.15±3.22**	8.85±2.79**
祛浊通痹颗粒	7.66±1.70**△△	16.42±3.38**△	6.09±2.05△△	2.89±1.87△△
	7.64±1.88**△△	16.54±3.16**△	5.86±1.95△△	2.86±1.73△△
	10.69±2.88**△	16.96±3.46**△	7.78±1.99**△	3.98±1.79△△
秋水仙碱	7.65±1.96**△△	13.05±3.20*△△	7.99±2.74**△	5.57±2.12**△

与正常组比较: **P*<0.05 ***P*<0.01; 与模型组比较: △*P*<0.05 △△*P*<0.01

P*<0.05 *P*<0.01 vs normal group; △*P*<0.05 △△*P*<0.01 vs model group

显差异 ($P>0.05$)。滑膜组织 IL-1、IL-6 水平比较,模型组均显著高于正常组 ($P<0.01$),各给药组均显著低于模型组 ($P<0.05$ 、 0.01),祛浊通痹颗粒大、中剂量组均显著低于秋水仙碱组 ($P<0.05$),祛浊通痹颗粒大、中剂量组间无明显差异 ($P>0.05$)。

4 讨论

痛风是一种难治愈、易复发的代谢性风湿病,与嘌呤代谢异常关系密切。近 10 余年来,随着生活水平的提高和饮食结构的不合理改变,我国痛风的发病率呈现日益增高的趋势。尿酸盐在滑膜组织沉积并引起炎症介质释放是急性痛风发作的基础, PGE_2 、白细胞三烯 B_4 (LTB_4)、IL-1、IL-6、IL-8、TNF- α 等参与炎症过程^[3,4]。 PGE_2 、前列环素 (PGI_2) 等炎症介质能使局部毛细血管扩张,血管通透性增加,组织充血、水肿和炎症发生。已发现在急性痛风关节滑液中 PGE_2 水平升高, PGE_2 代谢产物 6- κ -PGF1 α 水平也有升高现象。IL-1、IL-6 既直接致炎,又促使其他炎症介质的释放而间接致炎,在急性痛风炎症过程中起着重要的作用。尿酸盐渗入关节腔,与滑膜液中的 IgG 结合,原位活化 A 型滑膜细胞、单核细胞等,产生 IL-1。IL-1 一方面以自分泌的方式激活 A 型滑膜细胞、单核细胞释放 IL-6、IL-8、 PGE_2 ; 另一方面以旁分泌的方式刺激滑膜成纤维细胞有丝分裂并分泌 IL-6、胶原酶、 PGE_2 等^[4]。本实验研究发现,急性痛风关节炎模型大鼠血浆中 PGE_2 水平基本正常, 6- κ -PGF1 α 水平显著升高;滑膜组织 PGE_2 、6- κ -PGF1 α 、IL-1、IL-6 水平均异常升高,提示关节炎滑膜炎症反应剧烈。

痛风性关节炎多呈间歇性发作,发作时常见局部大关节红、肿、热、痛,病情缠绵难愈。按照中医理

论,认为本病多因饮食不节或运化失司,湿浊内生,痰瘀阻络所致。湿性重着,故病发以下肢膝、踝、跖趾关节多见,间歇期也常见下肢酸楚乏力。湿浊内蕴日久,则易酿生痰浊,痰浊与血瘀互结,关节经络为之闭阻。郁久化生热毒,所以临床可见突发性关节红、肿、热、痛。典型急性痛风当辨证为湿浊、血瘀、热毒夹杂为病,治宜利湿祛浊、解毒通络为主。本课题组在此基础上,结合临床实践探索,筛选出土茯苓、赤芍、薏苡仁、忍冬藤等药物自拟成祛浊通痹颗粒。前期临床疗效证实,祛浊通痹颗粒治疗急性痛风抗炎镇痛见效快、药效强,近期疗效与秋水仙碱相当,长期使用还具有稳定的降尿酸作用,且胃肠道反应等不良反应少^[1]。本实验研究发现,祛浊通痹颗粒能显著降低急性痛风模型关节滑膜 PGE_2 和 6- κ -PGF1 α 水平,对 IL-1、IL-6 水平也有明显下调作用,推测祛浊通痹颗粒可能通过抑制滑膜细胞 IL-1、IL-6 的合成,进而抑制 PGE_2 、 PGI_2 等其他炎症介质的释放,发挥其显著的抗炎作用。因此,临床上应用祛浊通痹颗粒治疗痛风,除了通过降低血尿酸水平来防止急性痛风性关节炎发作之外,还能通过抑制炎症因子合成及炎症介质释放来起到缓解关节疼痛的作用。

References:

- [1] Xu Y, Weng C P, Jin C Y, *et al.* Effect of Quzhuotongbi Granula treatment on acute gout [J]. *J Zhejiang Coll Tradit Chin Med* (浙江中医学院学报), 2004, 28(4): 41-42.
- [2] Coderr T J, Wall P D. Ankle joint arthritis in rats provided useful tool for the evaluation of analgesic and anti-arthritis agents [J]. *Pharm Biochem Behav*, 1988, 29: 461.
- [3] Birrell G L, McQueen D S, Iggo A, *et al.* PGI_2 -induced activation and sensitization of articular mechanonociceptors [J]. *Neurosci Lett*, 1991, 124: 5-8.
- [4] Dinarello C A. Biologic basis for IL-1 in disease [J]. *Blood*, 1996, 87: 2095-2147.

痛风舒胶囊对痛风模型动物抗炎作用及机制的研究

唐春萍, 江涛, 田伟, 陈东波

(广东药学院, 广东 广州 510224)

痛风是嘌呤代谢紊乱及(或)血尿酸升高所引起的一组综合征,其特征为关节炎、痛风石、泌尿系结石以及痛风性肾病。多数痛风患者的最初临床表现是反复发作的急性痛风性关节炎。痛风舒胶囊是用

于治疗痛风的中成药,由大黄、车前子、泽泻、川牛膝、防己组成,具有活血通经、利水渗湿、消肿止痛之功效,临床应用对痛风有明显的治疗作用,但其抗炎作用机制尚不十分明确。本实验通过观察痛风舒胶

收稿日期: 2007-01-02

作者简介: 唐春萍(1966—),女,云南昆明人,副教授、硕士生导师,长期从事中药新药的筛选和研制工作。

Tel: (020) 39352180 E-mail: tchp@tom.com