

利节通痹酒剂对胶原诱导性关节炎大鼠的影响

郭林峰¹, 郑祥¹, 雷珊珊², 陈雪², 陆婷婷², 吕圭源^{3*}, 陈素红^{1,2*} (1.温州医科大学, 浙江 温州 325035; 2.浙江工业大学, 杭州 310014; 3.浙江中医药大学, 杭州 310053)

摘要: 目的 考察利节通痹酒剂(Lijie Tongbi liquor, LJTB)对胶原诱导性关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)模型大鼠的抗炎镇痛作用以及对关节损伤的影响。方法 通过足跖注射牛Ⅱ型胶原建立大鼠 CIA 模型。40 只造模成功的 SD 大鼠随机分为模型组、雷公藤多苷组(阳性对照组)以及 LJTB 15.5, 7.75 g·kg⁻¹ 组, 并设正常对照组。连续灌胃给药 4 周, 定期考察一般行为学、关节炎指数(arthritis index, AI)评分、足肿胀度、痛阈值, 同时检测肝功能[谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)]和肾功能[肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)]; 给药结束后, 通过酶联免疫法检测血清 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)及类风湿因子(rheumatoid factor, RF)水平, 并观察踝关节病理组织学变化。结果 与模型组比较, 连续给药 3 周, LJTB 能显著降低胶原诱导性关节炎大鼠的 AI 评分($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 并改善足肿胀度。连续给药 4 周, LJTB 15.5 g·kg⁻¹ 显著降低大鼠足肿胀度、AI 评分、血清 CRP 及 RF 含量($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 显著升高痛阈值($P<0.05$), 减少关节软骨损伤。给药期间, LJTB 15.5, 7.75 g·kg⁻¹ 对 ALT、AST 及 Cr、BUN 均无显著影响。结论 LJTB 通过降低 CRP 水平, 调节炎症反应, 缓解关节软骨损伤; 升高痛阈值, 产生镇痛作用, 且无肝肾毒性。

关键词: 胶原诱导性关节炎; 利节通痹酒剂; 抗炎; 镇痛

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2019)20-2497-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.20.001

引用本文: 郭林峰, 郑祥, 雷珊珊, 等. 利节通痹酒剂对胶原诱导性关节炎大鼠的影响[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(20): 2497-2501.

Effects of Lijie Tongbi Liquor on Collagen-Induced Arthritis Rats

GUO Linfeng¹, ZHENG Xiang¹, LEI Shanshan², CHEN Xue², LU Tingting², LYU Guiyuan^{3*}, CHEN Suhong^{1,2*} (1. Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China; 2. Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 3. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the anti-inflammatory and analgesic effects of Lijie Tongbi liquor(LJTB) on collagen-induced arthritis(CIA) rats and the effects on joint damage. **METHODS** CIA rats' model was established by injection of Bovine Type II Collagen. Forty CIA rats were grouped into 4 groups, LJTB two different dose groups(LJTB 15.5, 7.75 g·kg⁻¹), model group and Tripterygium glycosides group(positive group) respectively. And another 10 normal rats were grouped as normal control. The drug was given orally for 4 weeks. General behavior of rats, arthritis index(AI), foot swelling degree, pain threshold, liver function indexes(ALT, AST) and renal function indexes(Cr, BUN) were measured at regular intervals. After administration, serum C-reactive protein(CRP) and rheumatoid factor(RF) levels were detected in enzyme-linked immunosorbent assay, and joints' pathological damage situations were studied by HE staining of joint sections. **RESULTS** After 3 weeks of administration, compared with model group, LJTB can significantly decreased foot swelling degree and AI($P<0.05$ or $P<0.01$). And after 4 weeks' continuous administration, foot swelling degree, AI, serum CRP and RF levels were significantly decreased in LJTB 15.5 g·kg⁻¹ group($P<0.05$ or $P<0.01$), and pain threshold were significantly increased($P<0.05$), at the same time, joint injury of which were eased. LJTB 15.5 and 7.75 g·kg⁻¹ didn't play any significantly impact on liver and kidney functions(ALT, AST, Cr and BUN) of rats. **CONCLUSION** LJTB can regulate inflammatory of rats and relieves joint cartilage damage via decreased CRP. Also, pain threshold of rats was significantly increased without liver and kidney toxicity. **KEYWORDS:** collagen-induced arthritis; Lijie Tongbi liquor; anti-inflammatory; analgesic

基金项目: 国家自然科学基金项目(81673638); 国家重点研发计划项目(2017YFC1702200); 浙江省“万人计划”科技创新领军人才(ZJWR0102035)

作者简介: 郭林峰, 女, 硕士生 Tel: 15757116181 E-mail: lexy2017@163.com *通信作者: 陈素红, 女, 博士, 研究员 Tel: 13967193321 E-mail: chensuhong@zjut.edu.cn 吕圭源, 男, 博士, 教授 Tel: 13906523168 E-mail: lv.gy@263.net

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)属中医“痹症”范畴, 辨证治疗主要为祛风除湿、解毒镇痛等。雷公藤多苷具有抗炎镇痛的功效^[1-2], 可缓解临床 RA 患者的炎症。利节通痹酒剂(Lijie Tongbi liquor, LJTB)为祖传秘方, 全方由独活、防风、白术、红花及黄芪等组成, 具有祛风除痹、通络止痛的功效, 临床上 LJTB 治疗 RA 已取得了较好疗效, 目前尚未见相关药理研究报道。

本实验采用胶原诱导性关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)大鼠模型, 考察 LJTB 对踝关节肿胀程度及炎症情况、关节损伤及关节疼痛的影响, 为其制剂开发提供药理实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物

清洁级 SD 大鼠 56 只, ♂, 16 周龄, 体质量(550±50)g。饲养条件: 室温 22~25 °C, 相对湿度 45%~65%, 通风良好, 避免噪音干扰, 12 h 光照、12 h 黑暗环境, 每日自由饮食饮水。实验动物均由浙江省医学科学院提供, 生产许可证号: SCXK(浙)2014-0001。

1.2 药物

利节通痹酒剂(何睿堂中医馆, 批号: 20171101; 规格: 500 mL)。棕黄色澄清液体, 浓度为含生药量 5 g·mL⁻¹。冷藏备用, 灌胃时加水稀释成给药浓度。

雷公藤多苷片(浙江得恩德制药有限公司, 批号: 1709110B, 1706103B), 规格为每片 10 mg。取 21 片雷公藤多苷片, 加入 140 mL 0.5% CMC-Na 溶液, 得到 1.5 mg·mL⁻¹ 阳性对照药混悬液。

1.3 试剂及仪器

牛 II 型胶原(美国 Chondrex, 批号: 170485); 弗氏完全佐剂(美国 Sigma, 批号: 1002237101); 类风湿因子(rheumatoid factor, RF) ELISA 试剂盒(上海源叶, 批号: E20180101A); C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)ELISA 试剂盒(上海源叶, 批号: E20180101A); 日立 7020 全自动生化分析仪(日本株式会社日立高新技术); YLS-12A 鼠尾光照测痛仪(济南益延科技发展有限公司); JJ5000Y 型电子天平(常熟市双杰测试仪器厂); CD-8CSX 型数显游标卡尺(日本 Mitutoyo)。

1.4 造模

造模剂(牛 II 型胶原: 弗氏完全佐剂=1:1)的制备: 取牛 II 型胶原冻干粉适量, 溶于 0.1 mol·L⁻¹

冰醋酸, 过夜避光冷藏溶解, 配成 2 mol·L⁻¹ 的牛 II 型胶原-冰醋酸溶液。牛 II 型胶原充分溶解后, 加入等体积的弗氏完全佐剂, 最终造模用的牛 II 型胶原-弗氏完全佐剂溶液中牛 II 型胶原浓度为 1 mol·L⁻¹。摇匀, 在冰浴中充分乳化至滴加水中不扩散。

SD 大鼠适应性喂养 1 周后, 按每只 200 μg 右后足跖皮下注射牛 II 型胶原造模剂, 为初次免疫; 7 d 后和 14 d 后每只 100 μg 加强免疫 2 次。

造模成功标准: 关节炎指数(arthritis index, AI)评分值(四肢关节评分之和), 初次免疫 3 周(即第 3 次免疫后 1 周)后 4<AI<16 分者入选, AI<4 分者剔除。

1.5 分组与给药

挑选造模成功的大鼠 40 只, 随机分成 4 组: 模型组、LJTB 15.5, 7.75 g·kg⁻¹ 组及雷公藤多苷(9.3 mg·kg⁻¹)组, 每组 10 只。另取 10 只正常大鼠为正常对照组。分组后开始灌胃给药, 每日 1 次, 连续给药 4 周。正常对照组不做任何处理, 正常条件喂养; 模型组每天灌胃生理盐水; 其他各组每天分别按剂量给药。

1.6 检测指标及方法

1.6.1 一般状态 连续观察大鼠毛色、活动及精神状态的变化。

1.6.2 痛阈值 3 次免疫后, 分别于给药 0, 2, 4 周后, 采用鼠尾光照测通仪测量大鼠的痛阈值, 平行测 3 次取平均值。

1.6.3 AI 采用 AI 评分标准^[3]评价大鼠右后足 AI, 评分标准见表 1。AI 评分示例见图 1。3 次免疫后每隔 1 周进行 AI 评分。

表 1 AI 评分标准

Tab. 1 Evaluation standard of AI

关节症状	评分
正常无红肿	0
足跖轻度红肿	1
足跖红肿, 并涉及足趾或足踝肿胀	2
足跖、足趾及足踝均红肿	3
足爪及足踝重度红肿甚至畸形	4

注: AI 值等于四肢关节评分之和, 最高为 16 分; 初次免疫 3 周后 AI<4 分者剔除。

Note: AI was equal to the sum of all limb joint scores, with a maximum of 16 points; AI<4 points were removed after 3 weeks of initial immunization.

1.6.4 足肿胀度 除正常对照组外, 给药前后每

隔 1 周采用游标卡尺测量造模大鼠右后足跖厚度, 测量部位保持一致。根据公式计算得到大鼠足跖肿胀度, 公式如下:

足跖肿胀度(mm)=致炎后足跖厚度(mm)-致炎前足跖厚度(mm)

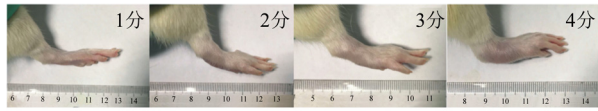


图 1 关节炎指数评分示例
Fig. 1 Evaluation standard examples of AI

1.6.5 肝肾功能指标 给药后第 2 周及第 4 周, 全自动生化分析仪检测血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、肌酐(CR)及尿素氮(BUN)的水平。

1.6.6 血清 CRP 及 RF 水平 给药后第 4 周, 酶联免疫法测定血清 CRP、RF 水平。

1.6.7 踝关节病理学评分 给药第 4 周, 大鼠解剖后取右后足踝关节, 福尔马林浸泡固定 7 d, 10%EDTA 脱钙, 脱水, 石蜡包埋, 切片, 常规 HE 染色, 光镜下观察关节的病理改变并进行评分。

关节组织病理评分标准: 0 分, 关节结构正常; 1 分, 关节组织中有轻度的炎症及滑膜增生; 2 分, 关节存在软骨的侵蚀和破坏, 大量炎性细胞浸润, 滑膜增生和血管翳形成较严重; 3 分, 有严重血管翳形成, 广泛的软骨侵蚀破坏。

1.7 统计学方法

本实验用 SPSS 19.0 软件进行数据处理, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用两独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LJTB 对一般体征的影响

正常对照组大鼠精神状态良好, 毛色光泽; 模型组大鼠造模期间蜷缩少动, 被毛无光, 足跖及踝关节红肿。与模型组相比, 给药期间, LJTB 15.5, 7.75 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组大鼠关节红肿日渐缓解, 逐渐恢复活动, 提示 LJTB 可改善模型大鼠红肿症状。

2.2 LJTB 对痛阈值的影响

与正常对照组比较, 给药 0 周, 模型组的痛阈值显著降低($P < 0.05$); 与模型组比较, 连续给药 4 周, LJTB 15.5 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组大鼠痛阈值显著增大($P < 0.05$), 提示 LJTB 15.5 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 具有一定的镇痛作用, 结果见表 2。

2.3 LJTB 对 AI 评分的影响

与模型组相比, 给药后第 2 周 LJTB 15.5 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$

组大鼠的 AI 评分显著降低($P < 0.01$), 到给药后第 4 周仍有显著性差异($P < 0.01$), 提示 LJTB 15.5 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可稳定降低模型大鼠 AI 评分, 缓解踝关节的肿胀情况, 结果见表 3。

表 2 LJTB 对痛阈值的影响($\bar{x} \pm s$, $n=9 \sim 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	给药 0 周	给药 2 周	给药 4 周
正常对照组	—	5.25 $\pm$ 1.00	5.92 $\pm$ 0.66	5.75 $\pm$ 1.04
模型组	—	4.37 $\pm$ 0.56 ²⁾	5.27 $\pm$ 0.53 ¹⁾	4.95 $\pm$ 0.24 ²⁾
雷公藤多苷组	9.3 $\times 10^{-3}$	4.42 $\pm$ 0.60 ²⁾	5.60 $\pm$ 0.64	5.15 $\pm$ 0.63
LJTB	7.75	4.41 $\pm$ 0.46 ²⁾	5.13 $\pm$ 0.86	5.32 $\pm$ 0.73
LJTB	15.5	4.48 $\pm$ 0.42 ²⁾	5.52 $\pm$ 0.74	5.36 $\pm$ 0.22 ³⁾

注: 与正常对照组比较, ¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较, ³⁾ $P < 0.05$ 。
Note: Compared with the normal control group, ¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.05$; compared with the model group, ³⁾ $P < 0.05$.

表 3 LJTB 对 AI 评分的影响($\bar{x} \pm s$, $n=9 \sim 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	第 3 天	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
正常对照组	—	—	—	—	—	—
模型组	—	4.9 $\pm$ 0.9	4.7 $\pm$ 0.7	4.1 $\pm$ 1.5	4.1 $\pm$ 1.5	4.1 $\pm$ 1.6
雷公藤多苷组	9.3 $\times 10^{-3}$	4.6 $\pm$ 1.4	4.6 $\pm$ 1.4	3.2 $\pm$ 1.5	2.2 $\pm$ 0.6 ¹⁾	2.5 $\pm$ 0.7 ¹⁾
LJTB	7.75	4.2 $\pm$ 0.8	4.2 $\pm$ 0.8	3.2 $\pm$ 0.6	2.6 $\pm$ 1.3 ²⁾	2.9 $\pm$ 1.2
LJTB	15.5	4.2 $\pm$ 0.6	4.2 $\pm$ 0.6	2.4 $\pm$ 0.5 ¹⁾	2.1 $\pm$ 0.8 ¹⁾	2.2 $\pm$ 0.4 ¹⁾

注: 与模型组比较, ¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.05$ 。
Note: Compared with the model group, ¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.05$.

2.4 LJTB 对右后足肿胀度的影响

与模型组比较, 给药后第 1 周开始, 雷公藤多苷组的足肿胀度显著减小($P < 0.05$), 一直持续至给药第 4 周($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 给药后第 3, 4 周, LJTB 15.5 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组的足肿胀度显著降低($P < 0.05$), 提示 LJTB 15.5 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可缓解大鼠踝关节的肿胀情况。结果见表 4。

2.5 LJTB 对肝肾功能指标的影响

给药第 2, 4 周, 与模型组相比, 各给药组大鼠血清的肝功能指标(ALT、AST)及肾功能指标(BUN、CR)均无显著升高, 提示 LJTB 2 个剂量(15.5, 7.75 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)给药 4 周, 不会引起模型大鼠肝功能和肾功能血清生化指标的升高, 安全性较好。结果见表 5。

2.6 LJTB 对血清 CRP 及 RF 水平的影响

连续给药 4 周, 与正常对照组相比, 模型组的 CRP、RF 水平均显著增大($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组相比, LJTB 15.5 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组的 CRP 及 RF 含量均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 提示 LJTB 15.5 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可抑制关节炎症反应, 结果见表 6。

表 4 LJTB 对足肿胀度的影响($\bar{x} \pm s$, $n=9\sim 10$)

Fig. 4 Effect of LJTB on foot swelling ($\bar{x} \pm s$, $n=9\sim 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	给药 0 周	给药 1 周	给药 2 周	给药 3 周	给药 4 周
正常对照组	—	0.03±0.13	0.14±0.16	0.22±0.21	0.46±0.30	0.50±0.28
模型组	—	4.27±1.71 ¹⁾	4.08±1.60 ¹⁾	4.00±1.11 ¹⁾	3.80±0.76 ¹⁾	3.94±0.97 ¹⁾
雷公藤多苷组	9.3×10^{-3}	2.94±1.33 ¹⁾	2.65±0.67 ³⁾	2.69±0.76 ²⁾	2.34±1.10 ²⁾	2.83±0.81 ²⁾
LJTB	7.75	5.08±1.05 ¹⁾	3.29±1.09	3.70±0.63	3.31±0.75	3.51±0.68
LJTB	15.5	4.83±0.91 ¹⁾	3.27±0.64	3.46±0.52	3.12±0.65 ³⁾	3.26±0.42 ³⁾

注：与正常对照组比较，¹⁾ $P<0.01$ ；与模型组比较，²⁾ $P<0.01$ ，³⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with the normal control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.05$.

表 5 LJTB 给药第 2、4 周对肝肾功能指标的影响($\bar{x} \pm s$, $n=9\sim 10$)

Tab. 5 Effect of LJTB on liver and kidney function after 2 and 4 weeks($\bar{x} \pm s$, $n=9\sim 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	第 2 周				第 4 周			
		ALT/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	AST/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	BUN/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	CR/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	ALT/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	AST/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	BUN/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	CR/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
正常对照组	—	56.9±8.7	172.2±27.4	5.83±1.51	64.6±10.7	56.0±12.9	207.3±51.3	6.71±2.18	68.9±7.3
模型组	—	54.6±15.9	178.9±39.6	5.52±1.97	66.9±16.6	65.8±13.3	218.5±46.3	6.10±2.16	68.1±11.1
雷公藤多苷组	9.3×10^{-3}	49.1±11.3	149.0±29.5	5.41±1.56	64.0±12.3	54.6±11.1	174.3±27.5 ¹⁾	5.67±1.67	64.7±10.1
LJTB	7.75	46.6±9.6	160.9±43.6	4.95±1.50	62.7±8.5	49.4±11.3 ¹⁾	183.0±39.4	5.39±1.19	66.2±9.8
LJTB	15.5	58.0±12.2	178.7±26.6	5.22±1.12	66.8±11.7	55.3±21.7	187.0±29.0	5.07±0.71	63.9±6.5

注：与模型组比较，¹⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with the model group, ¹⁾ $P<0.05$.

表 6 LJTB 对血清 CRP 及 RF 水平的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab. 6 Effects of LJTB on serum CRP and RF levels ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	CRP/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	RF/ $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$
正常对照组	—	1 704.7±136.9	112.6±11.9
模型组	—	1 929.0±127.2 ¹⁾	130.4±27.1 ²⁾
雷公藤多苷组	9.3×10^{-3}	1 719.0±134.1 ³⁾	118.9±9.2
LJTB	7.75	2 007.0±207.7	115.5±7.4
LJTB	15.5	1 721.8±153.7 ³⁾	112.9±8.2 ⁴⁾

注：与正常对照组比较，¹⁾ $P<0.01$ ，²⁾ $P<0.05$ ；与模型组比较，³⁾ $P<0.01$ ，⁴⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with the normal control group, ¹⁾ $P<0.01$, ²⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ³⁾ $P<0.01$, ⁴⁾ $P<0.05$.

2.7 LJTB 对踝关节病理组织学的影响

连续给药 4 周，正常对照组大鼠关节结构正常，无滑膜增生，关节软骨表面平整；模型组大鼠可见炎症的滑膜增生，软骨损伤严重；LJTB 7.75 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组及雷公藤多苷组大鼠的踝关节可见一定程度的软骨损伤和炎性细胞浸润；LJTB 15.5 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组大鼠踝关节的软骨组织较为完整，无明显的炎性细胞浸润情况，提示 LJTB 15.5 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可保护踝关节软骨结构，避免进一步的滑膜增生及炎症损伤。结果见图 2 和表 7。

3 讨论

RA 属中医“痹症”范畴，《素问·痹论》记载：“风寒湿三气杂至，合而为痹也”，气血不足、脾胃虚弱，风寒湿邪趁“虚”而入^[4]，侵袭经络而致痹^[5]。本病正虚为本，外感为标，日久痰瘀阻络、邪毒内伏，痹阻关节。LJTB 为祖传秘方，全方由

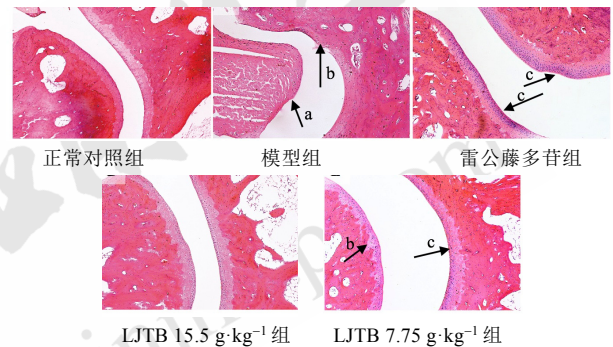


图 2 大鼠踝关节病理组织染色(HE, 100×)

a—滑膜增生；b—软骨损伤；c—炎性细胞浸润。

Fig. 2 Staining of rats' ankle joint(HE, 100×)

a—synovial proliferation; b—cartilage damage; c—inflammatory cell infiltrates.

表 7 LJTB 对关节病理损伤的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Tab. 7 Effects of LJTB on joint injury ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	给药 4 周后病理损伤评分/分
正常对照组	—	—
模型组	—	2.7±0.6
雷公藤多苷组	9.3×10^{-3}	1.7±1.2
LJTB	7.75	2.0±1.0
LJTB	15.5	1.3±0.6 ¹⁾

注：与模型组比较，¹⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with the model control group, ¹⁾ $P<0.05$.

独活、防风、白术、红花及黄芪等组成，方中黄芪补气升阳、白术健脾益气，独活、防风祛风除湿，红花活血通络。诸药合用，益气补血、健脾利湿、通痹止痛，标本兼治。

CIA 模型是筛选 RA 药物的理想模型，II 型胶原和弗氏完全佐剂混合注射可复制此动物模型^[6]。

II 型胶原作为抗原进入体内, 沉积在关节软骨上, 模拟内源性自身抗原的暴露从而引发自身免疫性疾病, 成功率为 50%~100%^[7]。本研究通过右后足跖注射并加强免疫 2 周成功制备 CIA 大鼠模型, 成功率达到 87.0%。说明通过右后足跖 3 次免疫注射 II 型胶原-弗氏完全佐剂溶液可成功制备 CIA 大鼠模型, 且成功率较高。

类风湿性关节炎患者常见四肢小关节的肿胀和疼痛^[7]。研究中多采用痛阈值的变化评估药物对动物疼痛应激能力的影响。CIA 大鼠在关节红肿时对疼痛刺激的承受能力降低, 即痛阈值减小; 随着药物介入, 大鼠关节肿胀程度缓解, 动物机体对疼痛刺激的耐受度逐渐恢复, 即痛阈值增大。本实验结果显示, LJTB 可显著降低大鼠踝关节肿胀度及 AI 评分, 显著增大痛阈值。说明 LJTB 可通过缓解关节的肿胀程度发挥良好的镇痛作用。

CRP 及 RF 水平都是临床 RA 患者病理损伤的评价指标。RA 患者的关节腔中释放大量的促炎因子, 进而激活肝脏内 CRP 的合成, CRP 进一步释放入血导致机体血清 CRP 水平升高; RF 是免疫球蛋白 G(IgG)分子 Fc 片段抗原决定簇的抗体, 是以变形 IgG 分子为靶抗原的自身抗体, 在参与 RA 的发病过程中, 这些抗体通过形成免疫复合物参与炎症反应^[8-9]。血清 CRP 及 RF 水平在一定程度上与机体关节损伤程度呈正相关, 而关节病理组织学变化是 RA 患者关节损伤最直观的评价标准之一。本实验结果显示, 连续给药 4 周后, LJTB 可显著降低 CIA 大鼠血清 CRP、RF 水平, 改善踝关节结构损伤, 减少滑膜增生、软骨损伤和炎性细胞浸润, 提示 LJTB 可通过抑制机体炎症反应避免关节的进一步损伤。

临床用于治疗 RA 的药物多具有一定的肝肾毒性。ALT 和 AST 是机体中重要的转氨酶, 主要存在于肝脏, 两者水平的升高是肝损伤的重要标志^[10]; 机体肌肉代谢产物 Cr 和蛋白质终末端代谢产物 BUN 主要通过肾脏代谢排出体外, 血清 BUN 和 CR 的异常升高常作为机体肾功能损伤的重要

标志。本实验结果显示, LJTB 连续给药 4 周, 各组大鼠血清肝肾指标没有显著性差异, 说明 LJTB 无肝肾毒性。

综上, LJTB 可通过抗炎镇痛保护关节, 达到祛风除痹、通络止痛功效; 对大鼠肾功能血生化指标(ALT、AST、BUN、CR)无明显影响, 可以初步说明 LJTB 的治疗作用及安全性, 为其临床制剂开发提供参考。

REFERENCES

- [1] 张增弟, 郑芳, 郑婉玉, 等. 雷公藤多甙片对胶原诱导关节炎大鼠细胞因子的调节作用[J]. 海峡药学, 2010, 22(5): 57-59.
- [2] TONG J, CHEN G X, ZHAO S Z, et al. Study on pharmacodynamics of tripterygium glycosides in treating collagen-induced arthritis in rats [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med(中国中医基础医学杂志), 2007, 13(2): 117-119.
- [3] MA Y Y, DI Z M, CAO Q, et al. Expression characterization of MANF during course of rat adjuvant arthritis and its relationship with inflammation [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2018, 34(4): 537-543.
- [4] HOU L, MA W K. Chinese medical syndromes of rheumatoid arthritis: a clinical literature study [J]. Chin J Integr Tradit West Med(中国中西医结合杂志), 2014, 34(3): 279-283.
- [5] XU C Q, QI X F, SHI Q, et al. Interpret of the exogenous evil of arthromyodynia in rheumatoid arthritis in the modern sense [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol(世界科学技术:中医药现代化), 2016, 18(11): 1883-1890.
- [6] TRENTAM D E, TOWNES A S, KANG A H. Autoimmunity to type II collagen an experimental model of arthritis [J]. J Exp Med, 1977, 146(3): 857-868.
- [7] LU Y X, HE H T, ZHANG Z G, et al. Effects of day age on the success rate of type II collagen-induced arthritis model in rats [J]. Heilongjiang Animal Sci Veterinary Med(黑龙江畜牧兽医), 2017, 7(13): 46-48.
- [8] DORNER R W, ALEXANDER R L JR, MOORE T L. Rheumatoid factors [J]. Clinica Chimica Acta, 1987, 167(1): 1-21.
- [9] MOORE T L, DORNER R W. Rheumatoid factors [J]. Clin Biochem, 1993, 26(2): 75-84.
- [10] WU T, LIU X, MIN J B, et al. Protective effects of Erzhi Wan Decoction, its decomposed recipe and erzhi wan granular on experimental mice model of hepatic injury induced by CCl₄ [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol(中药新药与临床药理), 2018, 29(3): 277-284.

收稿日期: 2018-12-28

(本文责编: 蔡珊珊)