

葛根汤对佐剂性关节炎大鼠关节液炎症介质的影响

周 军¹, 方素萍², 齐 云¹, 霍海如¹, 姜廷良¹, 施 杞³

(1. 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700; 2. 北京中医药大学, 北京 100029
3. 上海中医药大学伤骨科研究所, 上海 202032)

摘要: 探讨葛根汤的抗炎作用机制。结果表明, 葛根汤 8.2g/kg、16.4g/kg 致炎前三天开始以灌胃方式连续给药 21d, 可明显抑制致炎 19d 的佐剂性关节炎大鼠关节液中 IL-1 β 、TNF- α 的活性及 PGE₂ 的含量。提示葛根汤抑制炎症区域细胞因子的活性和炎症介质的含量, 是葛根汤抗炎作用的机理之一。

关键词: 葛根汤; 佐剂性关节炎; IL-1 β ; TNF- α ; PGE₂

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2001)03-0029-03

Effect of GeGen Decoction on Inflammatory Media in Joint of Adjuvant Arthritis Rats

ZHOU Jun¹, FANG Su-ping², QI Yun, HUO Hai-ru, JIANG Ting-liang, SHI Qi¹

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of TCM, Beijing, 100700;
2. Beijing University of TCM, Beijing 100029)

Abstract: The aim of this study was to discuss the anti-inflammation mechanism of GeGen Decoction (GGD). The results showed GGD could significantly inhibit the activity of IL-1 β /TNF- α and decrease the level of PGE₂ in the joint of Adjuvant Arthritis rats by giving GGD (8.2g/kg, 16.4g/kg, ig) for three days before modeling till 21 days. It indicates GGD can inhibit the activity of cytokines in the inflammatory area and decrease the level of inflammatory media, which may be one of its anti-inflammation mechanisms of GGD.

Key words: GeGen Decoction (GGD), Adjuvant Arthritis, IL-1 β , TNF- α , PGE₂

葛根汤源于张仲景的《伤寒论》, 原方用于风寒表实兼太阳经脉失养证及表证不解内陷阳明的下利等证。该方由葛根、麻黄、桂枝、芍药、生姜、大枣、甘草等七味药物组成, 功用发汗解肌、升津舒脉、祛风除湿。有研究表明, 葛根汤具有一定的抗炎、抗过敏与免疫调节等作用^[1,2]。临床多用于外感表证、颈椎病、肩周炎、风湿痹证及小儿腹泻、荨麻疹等疾病的治疗。大鼠佐剂性关节炎(Adjuvant Arthritis, AA)是一种免疫性炎症, 也是研究类风湿性关节炎的重要模型^[3]。本实验采用 AA 大鼠动物模型, 观测葛根汤对继发性炎症区域炎症介质 IL-1 β (白细胞介素 1 β)、TNF- α (肿瘤坏死因子 α)、PGE₂(前列腺素 E₂) 的影响, 以探讨葛根汤的抗炎作用机制。

1 材料

1.1 实验动物 Wistar 大鼠 40 只, 雄性, 体重 180 $\pm$ 20g, 由中国医学科学院实验动物研究所提供。

1.2 药物来源与制备 所用中药材均购于北京市药材公司, 经生药学鉴定, 其原植物分别为葛根 *Pueraria lobata* (Willd) Ohwi., 麻黄 *E. equisetina* Bunge., 桂枝 *Cinnamomum casia* Presl., 芍药 *Paeonia lactiflora* Pall., 甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., 生姜 *Zingiber officinale* Rosc., 大枣 *Ziziphus jujuba* Mill.。按原方比例(葛根 12g 麻黄 10g 桂枝 7g 甘草 7g 生姜 10g 大枣 10g)配齐药物, 先煎麻黄、葛根去上沫, 然后纳诸药水煎 2 次合并药液, 过滤浓缩为含饮片 1.64g/ml, 用时蒸馏水稀释至所需浓度。芬必得胶囊, 中美天津史克制药有限公司产品(批号 99100582), 蒸馏水配制成 0.009g/ml 的混悬液。

1.3 试剂与仪器 弗氏完全佐剂, GIBCO 公司产品; [¹²⁵I] IL-1 β 放免试剂盒、[¹²⁵I] TNF- α 放免试剂盒, 由中国人民解放军总医院科技开发中心放免研究所提供; SN-682 型放射免疫 γ 计数器, 为上海核福光电仪器有限公司产品。

2 实验方法

2.1 动物分组 40只大鼠随机分为4组,为葛根汤高剂量组(葛高组),葛根汤低剂量组(葛低组),芬必得组,模型组。

2.2 AA大鼠模型的建立与给药方法 参照文献^[3],于每鼠左后足跖皮内注射0.1ml弗氏完全佐剂致炎。致炎前3d开始以灌胃方式给药,葛高组16.4g/kg·ml(临床等效剂量的12倍),葛低组8.2g/kg·ml(临床等效剂量的6倍),芬必得组0.09g/kg·ml(临床等效剂量的6倍),模型组给予等容量的生理盐水,每日一次,连续给药21d(取材之日的前一天)。

2.3 关节浸液的获取与IL-1 β 、TNF- α 、PGE₂的检测

大鼠致炎19d后处死,在非致炎侧踝关节上方0.5cm处摘取肿胀足爪,纵向切开,放入存有5ml生理盐水的试管中4℃浸泡过夜,离心取上清,-20℃保存待测。IL-1 β 、TNF- α 活性及PGE₂含量的测定采用放免法,按试剂盒说明书操作。

2.4 统计学方法 全部数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间进行t检验。

3 结果

3.1 葛根汤对AA大鼠关节浸液内IL-1 β 活性的影响 结果表明,对于致炎19d后继发性关节炎关节浸液中IL-1 β 的活性,葛根汤高、低剂量组都有明显的抑制作用,芬必得组无效(表1)。

表1 葛根汤ig给药21d对致炎19dAA大鼠关节浸液内IL-1 β 活性影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g/kg)	IL-1 β (pg/ml)
模型组	-	131.56 $\pm$ 20.40
葛高组	16.4	106.20 $\pm$ 15.30**
葛低组	8.2	106.20 $\pm$ 15.70**
芬必得组	0.09	115.28 $\pm$ 20.78

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ (下同)

2.2 葛根汤对AA大鼠关节浸液内TNF- α 活性的影响 结果表明,对于致炎19d后继发性关节炎关节浸液中TNF- α 的活性,葛根汤高、低剂量组都有明显的抑制作用,芬必得组无效(表2)。

表2 葛根汤ig给药21d对致炎19dAA大鼠关节浸液内TNF- α 活性影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g/kg)	TNF- α (pg/ml)
模型组	-	460.0 $\pm$ 95.84
葛高组	16.4	354.4 $\pm$ 32.66**
葛低组	8.2	378.8 $\pm$ 40.02*
芬必得组	0.09	432.5 $\pm$ 104.3

2.3 葛根汤对AA大鼠关节浸液内PGE₂含量的影响 结果表明,对于致炎19d后继发性关节炎关节浸液中PGE₂的含量,葛根汤高、低剂量组及芬必得组都有显著的下调作用。

表3 葛根汤ig给药21d对致炎19dAA大鼠关节浸液内PGE₂含量影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g/kg)	PGE ₂ (ng/ml)
模型组	-	14.06 $\pm$ 6.10
葛高组	16.4	8.21 $\pm$ 2.01**
葛低组	8.2	8.77 $\pm$ 3.61**
芬必得组	0.09	8.11 $\pm$ 3.81**

4 讨论

祖国医学认为,类风湿性关节炎(RA)属于痹证,是由肝肾不足、气血虚弱、复感风寒湿邪所致。治应调和阴阳、扶正祛邪。葛根汤方药七味,其组成是在桂枝汤药味的基础上减桂枝、芍药量加葛根、麻黄而成。其中葛根解肌升阳生津,为君药;麻黄助葛根发表散邪,为臣药;桂枝、芍药、生姜、大枣、甘草是为桂枝汤,可调和营卫阴阳以助祛邪为佐;甘草兼可调和诸药以为使。诸药合用既可解肌发表散邪、生津舒筋,又可调和气血阴阳,使邪祛而正不伤,方证相符。

现代医学认为,大鼠佐剂性关节炎是一种迟发型超敏反应,亦可能属于自身免疫性疾病。其继发病变一般出现于致炎后10d左右,主要表现为多发性关节炎,病理组织学特征可见滑膜充血水肿增生、单核巨噬细胞浸润、纤维素沉着、关节软骨破坏等。这些组织病理学改变与人的RA很相似,故多将其作为研究RA的模型。IL-1、TNF是关节炎发病的重要炎症介质^[4,5]。在RA的病程进展中,滑膜细胞合成释放IL-1、TNF等细胞因子,刺激滑膜及炎性细胞产生和释放前列腺素,而高浓度的PGE₂可刺激软骨细胞及破骨细胞减少蛋白多糖的合成、加速其降解,并可促进滑膜纤维母细胞和软骨细胞产生释放蛋白水解酶、胶原酶,释放骨钙,导致软骨基质崩解,软骨吸收和骨破坏^[6,7]。

本实验采用了致炎前三天开始给药的方式,通过观察给药后炎症区域IL-1 β 、TNF- α 的活性及PGE₂含量的变化,探讨了葛根汤对AA大鼠继发性关节炎的作用机制。结果表明,葛根汤可明显抑制IL-

IL-1 β TNF- α 的分泌,可显著降低 PGE₂ 的含量,说明降低炎症区域细胞因子的活性和炎症介质的含量,是葛根汤抗炎作用的机理之一。芬必得虽有显著降低 PGE₂ 含量的作用,但对活性升高的细胞因子却无作用,其抗炎作用机理可能与葛根汤有所差异。

现代临床常将葛根汤用于颈椎病的治疗,疗效满意^[8,9]。祖国医学认为颈椎病属痹证范畴,其病机也属于肝肾不足,气血虚弱,复为风寒湿邪侵袭而致;现代研究^[10,11]也证实,退变颈椎间盘中有 IL-1、IL-6 TNF 及 PGE₂ NO 等的存在,且认识到这些炎症介质是导致椎间盘退变的重要因素。本实验的研究结果,也可为葛根汤治疗颈椎病提供一定的药理学依据。

参考文献:

- [1] 志贺隆,小松靖弘,细谷英吉,等. 葛根汤对 Arthus 反应及迟发性变态反应的作用[J]. 国外医学. 中医中药分册, 1989, 11(2): 30-31.
- [2] 么雅娟,李云,刘艳丽,等. 葛根汤抗过敏药理作用的实验研究[J]. 沈阳药科大学学报, 1995, 12(4): 283-286.
- [3] 周金黄. 药理学进展(1982). 抗炎免疫药物分册[M].

北京:人民卫生出版社, 1983. 182-183.

- [4] Simpson SA Dalldorf FG, Otteress IG, et al. Exacerbation of arthritis by IL-1 in rat joints previously injured by peptidoglycan polysaccharide[J]. Immunol, 1998, 140(9): 2964.
- [5] Maniciurt D H, Triki R, Fukuda K, et al. Levels of circulating tumor necrosis factor α and interleukine-6 in patients with rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 1993, 36(4): 490.
- [6] 蔡青,孟济明. IL-1 TNF 与类风湿性关节炎[J]. 上海免疫学杂志, 1998, 18(1) 62-63.
- [7] 路秀英. 免疫细胞、细胞因子及其抑制物在类风湿关节炎发生发展中的作用[J]. 国外医学. 免疫学分册, 1993, 16(4): 183.
- [8] 孟来保. 葛根汤加减治疗颈椎病 58 例[J]. 实用中医杂志, 1999, 15(1): 20.
- [9] 邓素玲. 葛根汤加减治疗颈椎病[J]. 河南中医学刊, 1996, 11(2): 31-33.
- [10] Groblad M, Virri J, Tolonen J, et al. A controlled Immunohistochemical study of inflammatory cell in disc herniation tissue[J]. Spine, 1994, (19): 2744.
- [11] Takahashi H, Suguro T, Okazimay Y, et al. Inflammatory cytokines in the herniated disc of the lumbar spine[J]. Spine, 1996, (21): 218.