· 药理 ·

不同引经药配伍二妙方对大鼠实验性骨关节炎作用的比较研究

代国靖[1], 徐颖[2], 陈卫衡[3], 赵铁军[3], 林娜[2*]
(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550000; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;
3. 中国中医科学院望京医院, 北京 100102)

[摘要] **目的**: 比较不同引经药配伍二妙方(二妙)对骨关节炎(osteoarthritis, OA)大鼠的治疗作用, 并探讨相关机制。**方法**: 健康雄性 SD 大鼠 60 只, 随机分成 5 组, 即假手术、模型、二妙($1.6\ g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$)、二妙 + 细辛($1.6\ g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1} + 0.3\ g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$)和二妙 + 独活($1.6\ g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1} + 0.3\ g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$)。除假手术外, 其余各组前交叉韧带切断及部分半月板切除建立 OA 模型, 造模同时分别给予相应药物灌胃, 假手术组和模型组给予等体积的蒸馏水, 连续给药 3 周和 6 周后分批取材。观察对膝关节软骨和滑膜的组织病理学改变, 软骨细胞凋亡, 以及对关节金属蛋白酶(matrix metalloproteinase-13, MMP-13)、金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)的表达, 血清白介素-1β(IL-1β)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、一氧化氮(NO)和诱导型一氧化氮合酶(iNOS)含量的影响。**结果**: 与假手术组比, 模型组关节软骨、滑膜炎症病理积分和软骨细胞凋亡率明显增加($P < 0.01$), 关节 MMP-13 表达增高而 TIMP-1 表达下降, 血清 IL-1β, TNF-α, NO, iNOS 水平提高。与模型组比较, 二妙组 3 周起能明显改善关节软骨和滑膜病变, 减少软骨细胞凋亡, 降低血清 TNF-α 水平, 6 周时能抑制 MMP-13 并提高 TIMP-1 在软骨的表达, 减少血清 IL-1β, NO, iNOS 的水平。与二妙组比较, 加引经药后能进一步改善关节组织病理学, 降低软骨细胞凋亡($P < 0.01$), 抑制 MMP-13 和提高 TIMP-1 的表达($P < 0.05$), 降低血清各炎性因子的水平; 尤其加独活后, 在 3 周时便能明显降低 Makin 积分($P < 0.05$), 6 周时能显著提高二妙组对滑膜和 IL-1β, TNF-α 的抑制水平($P < 0.05$)。**结论**: 二妙方能减缓 OA 大鼠的病理进程, 配伍引经药细辛或独活后可不同程度提高疗效, 其中独活相对作用更明显; 其机制可能与减少软骨细胞凋亡、调节 MMP-13 和 TIMP-1 平衡及减少炎症细胞因子有关。

[关键词] 骨关节炎; 引经药; 二妙方; 细辛; 独活
[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)08-0118-05
[doi] 10.13422/j.cnki.syfix.2014080118
[网络出版地址] http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000037.html
[网络出版时间] 2014-02-07 15:22

Effect of Ermiao Fang Combined with Different Medicinal Guides in Rat Osteoarthritis Model

DAI Guo-jing[1], *XU Ying*[2], *CHEN Wei-heng*[3], *ZHAO Tie-jun*[3], *LIN Na*[2*]
(1. *Guiyang College of Traditional Chinese Medicine (TCM)*, *Guiyang* 550000, *China*;
2. *Institute of Chinese Materia Medica*, *China Academy of Chinese Medical Sciences*, *Beijing* 100700, *China*;
3. *Wangjing Hospital*, *China Academy of Chinese Medical Sciences*, *Beijing* 100102, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To compare the the effects of Ermiao Fang (EM) with different medicinal guides in osteoarthritis (OA) rats, and explore the related mechanism. **Method**: Sixty male Sprague-Dawley rats were

[收稿日期] 20131121(010)
[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81072900)
[第一作者] 代国靖, 硕士研究生, 从事中药药理研究, Tel: 010-64014411-2869, E-mail: 308923352@qq.com
[通讯作者] * 林娜, 博士生导师, 研究员, 从事中药药性理论和中药药理研究, Tel: 010-64014411-2869, E-mail: linna888@163.com

randomly divided into sham-operated, model, EM ($1.6\ g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$), EM plus Angelicae Pubescentis Radix ($1.6\ g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1} + 0.3\ g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$) and EM plus Asari Radix et Rhizoma ($1.6\ g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1} + 0.3\ g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$), evenly 12 in each group. Except the sham group, underwent surgical destabilization (anterior cruciate ligament transection and partial medial meniscectomy) of the right knee to induce OA. Meanwhile distilled water and corresponding drugs were administrated by gavage respectively, and materials were drawn at the third and sixth week. To observe the histopathological changes of knee articular cartilage and synovium by HE staining. And Chondrocytes apoptosis was tested by TUNEL assay. Matrix metalloproteinase-13 (MMP-13) and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) were measured by immunohistochemical assay. Interleukin-1β (IL-1β), tumor necrosis factor-α (TNF-α), nitric oxide (NO) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in serum were detected by ELISA or radioimmunoassay. **Result**: Compared with the sham group, the pathological score of articular cartilage and synovium and the chondrocytes apoptosis rate in the model guoup were higher ($P < 0.01$), and it was decreased MMP-13 and augmented TIMP-1 expression in the cartilage, and the levels of IL-1β, TNF-α, NO and iNOS in serum were rised. Compared with the model group, the EM could obviously improve the articular cartilage andsynovial lesions, reduce the apoptosis of cartilage cells, and reduce the level of TNF-α in serum at the third week. At the sixth week, it obviously decreased MMP-13 and augmented TIMP-1 expression in the cartilage, inhibited release of IL-1β, NO and iNOS. Compared with the EM group, the medicinal guide groups could further improve the joint pathology, reduce the cartilage cell apoptosis ($P < 0.01$), regulate the expression of MMP-13 and TIMP-1 ($P < 0.05$), and reduce the levels of the inflammatory cytokines. Especially at EM plus with Angelicae Pubescentis Radix group, it could significantly decrease the Makin score from the third week ($P < 0.05$), and improve the inhibition levels of the synovium and IL-1β, TNF-α of the EM group at the sixth week. **Conclusion**: The EM could slow the pathological process in osteoarthritis rat model. Combined with Angelicae Pubescentis Radix or Asari Radix et Rhizoma, it could further improve the curative effect with different levels. Especially, the effect of Angelicae Pubescentis Radix was more remarkable. And the mechanism may be related with the reduction of chondrocytes apoptosis, the regulation of MMP-13 and TIMP-1 equilibrium and reducing the inflammatory cytokine.

[**Key words**] osteoarthritis; medicinal guides; Ermiao Fang; Asari Radix et Rhizoma; Angelicae Pubescentis Radix

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种慢性、渐进性、退行性的关节病变,也是一种常见的滑膜关节炎性病变[1],研究表明[2-3]其发病与软骨细胞过度凋亡、细胞外基质降解、细胞因子异常等因素密切相关。二妙方临床用于治疗骨关节炎偏湿热下注、足膝红肿热痛者[4]。做为 OA 常用基础方,二妙方实际应用时常加入不同引经药以提高疗效。然而目前尚未有药物配伍引经药治疗骨关节炎的相关实验报道,本研究旨在通过前交叉韧带切断及部分半月板切除术(ACLT + MMx)复制大鼠膝骨关节炎模型,观察比较经络引经药细辛和病症引经药独活配伍二妙方对 OA 的防治作用,并探讨相关机制。

1 材料

1.1 动物 雄性 SD 大鼠 60 只,10 周龄,体重 200 ~ 220 g,由解放军军事医学科学院实验动物中心提供,动物许可证号 SCXK(军) 2007-004。

1.2 药品与试剂 二妙方(二妙,按 2010 年版《中国药典》记录):苍术(500 g,盐炒),黄柏(500 g),细辛(200 g),独活(200 g),购自北京同仁堂药店。粉成细粉,混悬于蒸馏水中,分别制成 $0.16\ g \cdot mL^{-1}$ 二妙,$0.16\ g \cdot mL^{-1}$ 二妙 $+ 0.03\ g \cdot mL^{-1}$ 细辛和 $0.16\ g \cdot mL^{-1}$ 二妙 $+ 0.03\ g \cdot mL^{-1}$ 独活悬液,并且用前混匀。兔抗鼠金属蛋白酶抑制剂(MMP-13)抗体(Abcam,批号 275628);兔抗鼠 TIMP-1 抗体(批号 9g101)、兔抗鼠 Tunel 试剂盒(批号 08c11b),均购自武汉博士德生物工程有限公司;白介素(IL)-1β 放射免疫试剂盒(批号 20130425)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)放射免疫试剂盒(批号 20130425),购自北京华埠力特生物技术研究所;一氧化氮(NO) ELISA 试剂盒(批号 201210)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS) ELISA 试剂盒(批号 201210)购自南京建成生物科技公司;其他试剂均为国产分析纯。

2 方法

2.1 模型制备和分组 10 周龄的雄性 SD 大鼠 60

只,随机分为 5 组,每组 12 只,即假手术组、模型组、二妙组、二妙 + 细辛组(简称细辛组)、二妙 + 独活组(简称独活组)。麻醉、备皮、消毒后,取右膝髌旁内侧切口,髌骨一侧脱位,膝关节处于最大屈曲放置,行前交叉韧带剪断和内侧半月板切除术(ACLT + MMx)。假手术组仅切开皮肤和关节腔,并不损伤软骨。在造模同时各组立即分别给予二妙(1.6 $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$)、二妙 + 细辛(1.6 $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ + 0.3 $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$)和二妙 + 独活(1.6 $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ + 0.3 $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$)灌胃,假手术组和模型组给予等体积的蒸馏水。术后所有动物肌注青霉素钠 20 万 U,连续 7 d,预防感染。

2.2 组织取材与病理学观察 给药 3 周和 6 周后分批取材,每组 6 只,动物处死后取右侧股骨及膝关节滑膜组织,股骨 4% 多聚甲醛固定 24 h,10% EDTA 脱钙。石蜡包埋。4 μm 组织切片,行 HE 染色。软骨组织病理学特征进行 Makin 积分[5]。滑膜组织病理学特征评定根据 Yoshimi 组织学积分[6]。

2.3 免疫组化染色 取组织石蜡切片,常规脱蜡至水,3% H_2O_2 孵育 10 min,室温下血清封闭 30 min。滴加一抗 MMP-13(1∶50),TIMP-1(1∶50),4 ℃过夜。用两步法免疫组化试剂盒、DAB 显色试剂盒进行染色。应用 Image-Pro Plus 6.0 图像处理分析系统,在 200 倍视野下,每张切片选取 5 个区域,进行阳性细胞和灰度分析,结果以平均积分吸光度(*IA*)或累积吸光度(*A*)表示(*A* = 阳性表达面积 × *IA*)。

2.4 检测血清中 IL-1β,TNF-α,NO 和 iNOS 含量 腹主动脉取血,分离血清,-20 ℃保存。ELISA 或放射免疫法检测血清中 IL-1β,TNF-α,NO 和 iNOS 含量。

2.5 统计分析 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,$P < 0.05$ 表示有显著性差异。

3 结果

3.1 组织病理学观察 假手术组:软骨表面光滑完整,细胞结构正常,滑膜内细胞呈单层排列,间质无水肿,无炎细胞浸润。模型组:3 周时,出现软骨表层不完整,局部软骨细胞减少,潮线不完整,滑膜衬里层细胞增生、肥大,以及滑膜组织炎性细胞浸润等显著地病理学改变,软骨、滑膜病理积分均明显升高($P < 0.01$);6 周时,软骨破坏和滑膜炎症渐进性加重。二妙组:软骨表层基本完整,软骨细胞成簇,滑膜衬里层肥大和炎性细胞浸润减轻;与模型组比较,3 周和 6 周时软骨、滑膜病理积分显著降低。引经组:3 周时软骨表层完整,软骨各层结构较清晰,软骨细胞分部均匀,偶有成簇,滑膜炎症进一步减轻;6 周时病理变化渐进性加重。其中与二妙组比较,细辛组:仅在 6 周时,Mankin 积分显著降低($P < 0.05$);独活组:3, 6 周时均能显著地降低 Makin 积分($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$),并且 6 周时显著抑制滑膜炎症($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同引经药配伍二妙方对 OA 大鼠软骨和滑膜组织病理学积分的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$) 分

组别	剂量/$g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$	软骨 Makin 积分		滑膜病理积分	
		3 周	6 周	3 周	6 周
假手术	-	1.76 ± 0.80	1.91 ± 0.46	1.8 ± 1.3	2.0 ± 1.3
模型	-	5.43 ± 0.69[1)]	6.10 ± 0.63[1)]	10.6 ± 1.5[1)]	12.1 ± 2[1)]
二妙	1.6	3.93 ± 0.43[1,3)]	5.08 ± 0.42[1,4)]	8.6 ± 1.3[1)]	9.3 ± 1.9[1,4)]
二妙 + 细辛	1.6 + 0.3	3.39 ± 0.85[1,3)]	4.18 ± 0.61[1,3,6)]	8.0 ± 1.6[1,4)]	7.5 ± 1.4[1,3)]
二妙 + 独活	1.6 + 0.3	2.99 ± 0.63[2,3,6)]	3.69 ± 0.46[1,3,5)]	7.4 ± 1.8[1,4)]	6.0 ± 2.3[1,3,6)]

注:与假手术组比[1)] $P < 0.01$,[2)] $P < 0.05$;与模型组比[3)] $P < 0.01$,[4)] $P < 0.05$;与二妙组比[5)] $P < 0.01$,[6)] $P < 0.05$(表 2 ~ 5 同)。

表 2 不同引经药配伍二妙方对 OA 大鼠关节中 MMP-13 和 TIMP-1 变化的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$) *IA*

组别	剂量/$g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$	MMP-13		TIMP-1	
		3 周	6 周	3 周	6 周
假手术	-	431.4 ± 170.2	449.6 ± 99.7	955.4 ± 84.6	921.5 ± 63.8
模型	-	1061.4 ± 198.6[1)]	1145.4 ± 141.4[1)]	655.7 ± 117.4[1)]	485.7 ± 89.5[1)]
二妙	1.6	907.8 ± 161.2	942.0 ± 88.0[4)]	703.4 ± 90.3	655.8 ± 120.7
二妙 + 细辛	1.6 + 0.3	810.4 ± 149.2[4)]	792.2 ± 130.3[3,6)]	730.4 ± 70.7	832.0 ± 156.5[3,6)]
二妙 + 独活	1.6 + 0.3	874.0 ± 119.1[4)]	692.0 ± 137.5[3,6)]	715.2 ± 109.1	771.8 ± 163.7[4,6)]

3.2 软骨细胞 MMP-13 和 TIMP-1 的表达 如表2,与假手术组比较,3 周和 6 周时,模型组关节软骨 MMP-13 表达明显增加,TIMP-1 的表达显著减少。与模型组比较,3 周时引经细辛、独活组能有效降低 MMP-13 的表达($P<0.05$ 和 0.05);6 周时各给药组均能有效降低 MMP-13 的表达($P<0.05$ 或 $P<0.01$),但仅有细辛组和独活组能显著升高 TIMP-1 的表达($P<0.01$ 和 $P<0.05$)。与二妙组比较,仅在 6 周时引经组 MMP-13 的阳性表达显著降低($P<0.05$),TIMP-1 显著升高($P<0.05$)。

3.3 软骨细胞凋亡 如表3,与假手术组比较,3 周时模型组有较多的软骨细胞凋亡,6 周时凋亡率进一步升高。与模型组比,3 周和 6 周时各给药组均能显著降低软骨细胞凋亡率。与二妙组比较,6 周时细辛组和独活组软骨细胞凋亡率显著降低($P<0.01$ 和 $P<0.01$)。

3.4 血清中IL-1β,TNF-α,NO和iNOS检测 如表4 和表5,与假手术组比较,3 周和 6 周时模型组血清中 IL-1β,TNF-α,NO,iNOS 的水平显著增加。与模型组比较,3 周时引经细辛、独活组能够显著降低 TNF-α,iNOS 的水平,并且仅有独活组能有效降低 NO 水平($P<0.05$);6 周时各给药组均可以显著减少 IL-1β,TNF-α,NO,iNOS 的水平。与二妙组比较,6 周时独活组 IL-1β,TNF-α 显著降低($P<0.05$)。

表3 不同引经药配伍二妙方对 OA 大鼠关节软骨细胞凋亡率变化的影响($\bar{x}\pm s$,$n=6$) %

组别	剂量/g·kg^{-1}·d^{-1}	软骨细胞凋亡率	
		3 周	6 周
假手术	–	5.3±1.3	5.5±1.3
模型	–	29.8±3.9$^{1)}$	42.5±2.4$^{1)}$
二妙	1.6	24.0±2.2$^{4)}$	36.5±3.7$^{4)}$
二妙+细辛	1.6+0.3	22.8±4.1$^{4)}$	23.5±3.4$^{3,5)}$
二妙+独活	1.6+0.3	18.3±3.4$^{3)}$	22.3±3.2$^{3,5)}$

表4 不同引经药配伍二妙方对 OA 大鼠血清中 IL-1β 和 TNF-α 变化的影响($\bar{x}\pm s$,$n=6$) μg·L^{-1}

组别	剂量/g·kg^{-1}·d^{-1}	IL-1β		TNF-α	
		3 周	6 周	3 周	6 周
假手术	–	0.08±0.02	0.07±0.02	0.70±0.14	0.69±0.09
模型	–	0.13±0.02$^{2)}$	0.16±0.02$^{1)}$	1.04±0.14$^{1)}$	1.26±0.15$^{1)}$
二妙	1.6	0.12±0.02	0.12±0.02$^{4)}$	0.93±0.16$^{4)}$	1.03±0.13$^{4)}$
二妙+细辛	1.6+0.3	0.11±0.03	0.12±0.03$^{4)}$	0.87±0.19$^{4)}$	0.97±0.14$^{3)}$
二妙+独活	1.6+0.3	0.09±0.02	0.11±0.02$^{3,6)}$	0.75±0.08$^{3)}$	0.86±0.13$^{3,6)}$

表5 不同引经药配伍二妙方对 OA 大鼠血清中 NO 和 iNOS 变化的影响($\bar{x}\pm s$,$n=6$) μmol·L^{-1}

组别	剂量/g·kg^{-1}·d^{-1}	NO		iNOS	
		3 周	6 周	3 周	6 周
假手术	–	50.0±2.1	51.3±2.3	16.3±3.7	14.9±3.1
模型	–	58.8±4.4$^{1)}$	66.2±2.1$^{1)}$	22.9±3.3$^{2)}$	21.7±3.0$^{2)}$
二妙	1.6	54.8±3.7	60.4±3.7$^{4)}$	20.7±2.3	19.3±1.3$^{4)}$
二妙+细辛	1.6+0.3	53.6±2.3	56.0±4.8$^{3)}$	19.4±2.1$^{4)}$	18.7±2.0$^{4)}$
二妙+独活	1.6+0.3	52.9±3.2$^{4)}$	54.0±3.9$^{3)}$	19.7±3.4$^{4)}$	18.1±2.7$^{4)}$

4 讨论

OA 是以关节软骨进行性退变为基本病变的一种慢性疾病,一般认为其原发病变在软骨并逐渐影响到滑膜、软骨下骨、关节囊等组织,但由于具体机制未完全明了,目前的临床治疗尚不能令人满意。建立动物模型是了解 OA 发病机制、病理进程及对干预进行评估的必要手段。目前实验造模方法主要有手术、关节制动、药物注射等,通过关节内手术诱导建立的 OA 模型,成功率高,作用迅速,其中前交叉韧带切断和部分半月板切除术(ACLT+MMx)较为常用。该方法手术简单,创伤性小,稳定性好,对动物生理结构改变较少,能较全面反映骨关节炎软骨退行性变化的病理特征。本研究采用 ACLT+MMx 术复制大鼠 OA 模型,通过 HE 染色观察到 3 周时造模大鼠开始出现软骨表面不完整,局部软骨细胞减少,软骨,表层、中间层、辐射层、钙化层 4 层结构不分明;滑膜衬里层细胞增生、肥大,炎性细胞浸润严重。6 周时各病理变化进行性加重。提示该模型大鼠能较好反映骨关节炎的进行性病理变化,同时说明了本实验条件下大鼠 OA 模型复制成功。

引起 OA 软骨退变的机制比较复杂。近年来研究表明关节软骨细胞外基质合成与降解失调是造成

软骨变性的重要原因之一。组织金属蛋白酶家族被认为在软骨破坏过程中起了关键作用。MMP-13 是降解Ⅱ型胶原最重要的酶,其作用可被特异性金属蛋白酶抑制剂 TIMP-1 抑制,在 OA 中 TIMP-1 和 MMP-13 平衡失调导致了基质的降解。而软骨细胞过度凋亡在 OA 的发病过程中也起了重要作用[7],软骨基质破坏和软骨细胞过度凋亡直接引起软骨破坏,最终导致 OA 的形成。骨关节炎的形成和发展也与炎症因子密切相关,IL-1 和 TNF-α 是介导关节软骨破坏重要的细胞因子[8],能引发关节炎症,破坏软骨细胞,促进滑膜细胞合成并释放 POE_2,NO 和胶原酶,产生强大的促炎作用,引起滑膜炎症,NO 又进一步促进炎症细胞因子释放和诱导软骨细胞凋亡。本实验观察到 OA 模型大鼠 3 周和 6 周时关节 MMP-13 表达增高、TIMP-1 表达下降,软骨细胞凋亡率明显高于假手术组,并且血清中 IL-1β, TNF-α, NO, iNOS 的含量也明显升高,提示了模型大鼠能较好反映了 OA 关节软骨基质降解、软骨细胞过度凋亡和炎症因子等相关病理变化。

二妙方出自《丹溪心法》,由苍术、黄柏组成,具有燥湿清热功效。苍术辛散苦燥,长于风湿痹证;黄柏苦寒燥湿,善祛下焦湿热,现代药理表明苍术、黄柏具有良好的抗菌、抗炎、镇痛作用[9-10]。本研究中,口服给药二妙方 3 周后,观察到 OA 大鼠的关节软骨、滑膜病理积分和软骨细胞凋亡率明显降低,血清 TNF-α 水平减少;给药 6 周后,软骨 MMP-13 表达明显抑制、TIMP-1 表达增强,血清 IL-1β, NO, iNOS 水平显著减少,提示了二妙方能一定程度延缓 OA 大鼠的病理损伤进程。

引经是在中医归经理论基础上,通过长期临床实践总结出来的一种用药规律,中医理论认为引经药具有引药直达病所的能力[11]。根据文献记载、整理,引经药物分类可归纳为四类,即:十二经引经药、病症引经药、部位和穴位引经,这四类引经药在临床中均有较广泛的应用。本实验中,笔者观察到二妙方配伍经络引经药细辛和病症引经药独活后,能够进一步改善关节组织病理学,减小软骨细胞凋亡率,抑制 MMP-13 和提高 TIMP-1 的表达,降低血清中相关细胞因子的水平。提示,细辛、独活发挥"引经"效果,使二妙治疗作用加强,进一步缓解了病理进程。

值得注意的是,相对于经络引经药细辛而言,病症引经药独活在本研究中似表现出更早更强的抗炎作用。比如,实验中观察到与二妙组比较,独活组 3 周时便能显著降低 Makin 积分,6 周时显著降低关节滑膜炎症以及血清中 IL-1β, TNF-α 含量,而这些作用在细辛组并未见到。究其原因,可能与其自身的功能特点有关:独活辛散苦燥,性善下行,既主入足少阴肾经,又引诸药达下肢,具有良好的祛风除湿,通痹止痛作用,而现代药理研究也表明独活能镇痛抗炎[12]。

综上,本研究结果表明二妙方能在一定程度减缓 OA 大鼠的病理进程;配伍引经药细辛或独活后可进一步提高疗效,其中独活相对作用更明显;其机制可能与减少软骨细胞凋亡、调节 MMP-13 和 TIMP-1 平衡及减少炎症细胞因子有关。

[参考文献]

[1] 王桂芳, 石宇, 张金超. 蚁龙通痹汤改善兔膝骨关节炎软骨组织骨生物力学的炎症机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15):218.

[2] 王卓, 王连唐. 骨关节炎病理改变及其研究进展[J]. 国外医学:内科学分册, 2005, 32(7):312.

[3] 谢辉晋, 杜远立. 骨关节炎相关细胞因子作用机制研究进展[J]. 重庆医学, 2011, 40(4):395.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:414.

[5] Mankin H J, Dorfman H, Lippiello L, et al. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data[J]. J Bone J Surg, 1971, 53(3):523.

[6] Yoshimi T, Kikuchi T, Obara T, et al. Effects of high-molecular-weight sodium hyaluronate on experimental osteoarthrosis induced by the resection of rabbit anterior cruciate ligament[J]. Clin Orthop Relat Res, 1994, 298:296.

[7] Kim H T, Lo M Y, Pillarisetty R. Chondrocyte apoptosis following intraarticular fracture in humans[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2002, 10(9):747.

[8] 俞杰, 明顺培, 张秀芬. 针刀疗法对兔膝骨关节炎关节液中 IL-1β, IL-6, TNF-α 水平的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2002, 10(4):15.

[9] 赵爱梅. 苍术的药理作用研究[J]. 光明中医, 2009, 24(1):181.

[10] 侯小涛, 戴航, 周江煜. 黄柏的药理研究进展[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(2):498.

[11] 冷静, 邹亮, 胡一冰, 等. 中药引经理论与药物靶向性的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(13):277.

[12] 范莉, 李林, 何慧凤. 独活挥发油抗炎, 镇痛药理作用的研究[J]. 安徽医药, 2009, 13(2):133.

[责任编辑　聂淑琴]