

黄芩清热除痹胶囊对佐剂性关节炎大鼠血清 IL-1 β 和 IL-6 的影响

葛平¹, 张贺¹, 孙肖琛^{1, 2}, 刘健², 王晓玉², 姜辉², 孟楣² (1. 安徽中医药大学, 安徽 合肥 230038; 2. 安徽中医药大学第一附属医院, 安徽 合肥 230031)

摘要: **目的** 研究黄芩清热除痹胶囊对佐剂性关节炎(AA)的治疗作用, 并探讨其作用机制。**方法** 建立 AA 大鼠模型, 于模型复制第 12 天开始给予不同剂量的黄芩清热除痹胶囊 (51.2, 25.6, 12.8 g·kg⁻¹), 连续 12 d, 观察黄芩清热除痹胶囊对 AA 大鼠的继发性足肿胀和血清白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)含量的影响。**结果** 与正常对照组比较, 模型组足跖肿胀度及血清 IL-1 β 、IL-6 的含量明显增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与模型组比较, 黄芩清热除痹胶囊各组足跖肿胀度明显减小, IL-1 β 、IL-6 含量明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 其中以高、中剂量组效果较好 ($P < 0.01$), 与雷公藤多苷片组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

结论 黄芩清热除痹胶囊能抑制 AA 大鼠继发性足肿胀, 其作用与降低 AA 大鼠血清 IL-1 β 、IL-6 含量有关。

关键词: 黄芩清热除痹胶囊; 佐剂性关节炎; 细胞因子; 白细胞介素-1 β ; 白细胞介素-6

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)01-0008-03

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.01.003

Effect of Huangqin Qingre Chubi Capsule on Serum IL-1 β and IL-6 of Adjuvant Arthritis Rats

GE Ping¹, ZHANG He¹, SUN Xiaochen^{1,2}, LIU Jian², WANG Xiaoyu², JIANG Hui², MENG Mei² (1. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038 Anhui, China; 2. The First Hospital Affiliated to Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031 Anhui, China)

Abstract: **Objective** To study the therapeutic effect of Huangqin Qingre Chubi capsule(HQCC) on adjuvant arthritis (AA) rats and to explore its possible therapeutic mechanism. **Methods** An AA rat model was established. From the twelfth day, HQCC in the dose of 51.2, 25.6, 12.8 g·kg⁻¹ was administered orally to the model rats. After administration for 12 continuous days, the secondary pedal swelling and the serum interleukin 1 β (IL-1 β) and interleukin 6 (IL-6) levels in HQCC groups were observed. **Results** Compared with the normal group, the pedal volume and the levels of IL-1 β , IL-6 were elevated significantly in the model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, the pedal volume and the levels of IL-1 β , IL-6 were reduced significantly in the HQCC groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Particularly, the effect of the high- and middle-dose HQCC was much better ($P < 0.01$ compared with that in the model group), but the difference was insignificant compared with the tripterygium glycosides tablets group ($P > 0.05$). **Conclusion** Huangqin Qingre Chubi capsule can relieve the secondary pedal swelling, and its mechanism is probably related to the decrease of serum IL-1 β and IL-6 levels.

Keywords: Huangqin Qingre Chubi capsule; Adjuvant arthritis; Cytokines; Interleukin 1 β ; Interleukin 6

类风湿性关节炎(RA)是一种以对称性、周围性多关节炎为特征的慢性自身免疫性疾病, 属于中医

“痹证”范畴, 主要表现为侵犯各关节的滑膜, 造成关节软骨破坏, 导致关节畸形、功能受限, 严重影响

收稿日期: 2013-07-22

作者简介: 葛平, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药新药研究与开发。Email: lvse56@sina.com。通讯作者: 孟楣, 主任药师, 研究方向: 中药新药研究与中药制剂质量。Email: ahzyymm@163.com

基金项目: 国家中医药管理局中医痹病重点学科开放基金(2011bbxk016); 2012 年安徽省科技计划项目重点实验室专项(1206c0805022)。

患者的身心健康和生活质量。黄芩清热除痹胶囊是安徽中医药大学第一附属医院的医院制剂，具有健脾、清热化湿、通络的功效，临床用于治疗 RA。本实验以佐剂性关节炎(AA)大鼠模型，研究黄芩清热除痹胶囊对 RA 的治疗作用，并检测其对血清细胞因子白细胞介素-1 β (IL-1 β)和白细胞介素-6(IL-6)含量的影响。

1 材料与方法

1.1 试药及试剂 黄芩清热除痹胶囊，安徽中医药大学第一附属医院制剂中心，批号：20130314；雷公藤多苷片，上海复旦复华药业有限公司，批号：120803；弗氏完全佐剂，美国 Sigma 公司，批号：SLBB1397；IL-1 β 、IL-6 试剂盒，美国 R&D 公司，批号分别为：201209，201207。

1.2 动物 SD 大鼠，雄性，体质量 180~220 g，清洁级，安徽长临河医药科技有限公司，许可证号：SCXK(皖)2012-007。

1.3 仪器 PV-200 足跖容积测定仪，成都泰盟科技有限公司；MAUO 型电子天平，北京赛多利斯有限公司；GC-400 型 γ 放射免疫计数仪，中国科技大学科技实业总公司；KDC-16H 高速离心机，科大创新股份有限公司中佳分公司；HHS-4 数显水浴锅，江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司。

1.4 动物分组、模型复制及给药 参考文献方法^[1-2]，取雄性 SD 大鼠 60 只，随机分为 6 组，每组 10 只，分别为黄芩清热除痹高、中、低剂量组(51.2，25.6，12.8 g·kg⁻¹，分别为临床成人剂量的 8，4，2 倍)，雷公藤多苷片组(0.01 g·kg⁻¹，为临床成人剂量 4 倍)，模型组和正常对照组(给予等量生理盐水)。除正常对照组外，其余各组每只大鼠右后足足跖皮内

注射 0.1 mL 弗氏完全佐剂致炎，正常对照组大鼠相同部位注射等体积生理盐水。从模型复制后 12 d 出现继发性反应开始，各组开始灌胃给药，每天 1 次，连续 12 d。

1.5 大鼠继发性足跖肿胀度测定 在 AA 大鼠继发性反应出现时，用足跖容积测定仪测定各组大鼠继发侧(左后足)的踝关节标记线下的足跖体积，每隔 3 d 测量 1 次，以与致炎前同侧足跖体积差值作为继发性肿胀度^[3]。

1.6 大鼠血清 IL-1 β 、IL-6 的含量测定 于模型复制后第 25 天，股动脉取血，放置、离心，在-20℃保存待测，采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)，按照试剂盒操作说明，测定 IL-1 β 、IL-6 的含量。

1.7 统计学处理方法 结果以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示，采用 SPSS17.0 统计软件，多组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用 *t* 检验，以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 黄芩清热除痹胶囊对 AA 大鼠继发性关节炎的影响 见表 1。模型复制后第 12 天，出现关节炎继发性反应，继发侧足开始出现红肿、发热等症状，第 18 天继发性反应达到峰值，然后开始减轻。与正常对照组比较，模型组足跖肿胀度明显增加(*P* < 0.01)；与模型组比较，黄芩清热除痹各组足跖体积明显减小(*P* < 0.05，*P* < 0.01)，其中以高、中剂量组效果较好(*P* < 0.01)，与雷公藤多苷片组比较，差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

表 1 黄芩清热除痹胶囊对 AA 大鼠继发性关节炎的影响($\bar{x}\pm s$ ，*n*=10)

Table 1 Effect of Huangqin Qingre Chubi Capsule on secondary arthritis of AA rats

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	致炎后不同时间继发性肿胀度/ μ L				
		12 d	15 d	18 d	21 d	24 d
正常对照组	—	10.0 $\pm$ 3.6	9.9 $\pm$ 4.1	10.1 $\pm$ 3.4	10.2 $\pm$ 2.4	11.1 $\pm$ 1.3
模型组	—	41.2 $\pm$ 7.6	180.4 $\pm$ 9.4 $\Delta\Delta$	231.2 $\pm$ 8.1 $\Delta\Delta$	214.2 $\pm$ 5.4 $\Delta\Delta$	172.1 $\pm$ 4.2 $\Delta\Delta$
黄芩清热除痹高剂量组	51.2	33.6 $\pm$ 5.7	124.5 $\pm$ 2.8**	165.7 $\pm$ 7.8**	138.4 $\pm$ 3.7**	113.1 $\pm$ 6.3**
黄芩清热除痹中剂量组	25.6	33.7 $\pm$ 4.1	140.3 $\pm$ 7.2*	170.2 $\pm$ 8.3**	152.1 $\pm$ 2.9*	122.6 $\pm$ 4.2**
黄芩清热除痹低剂量组	12.8	40.5 $\pm$ 5.3	142.7 $\pm$ 4.1*	210.4 $\pm$ 5.3*	161.3 $\pm$ 4.3*	131.5 $\pm$ 5.8*
雷公藤多苷片组	0.01	35.1 $\pm$ 7.2	124.7 $\pm$ 5.9**	171.1 $\pm$ 4.3**	142.4 $\pm$ 4.5**	113.2 $\pm$ 5.3**

注：与正常对照组比较， ΔP < 0.05， $\Delta\Delta P$ < 0.01；与模型组比较：**P* < 0.05，***P* < 0.01。

2.2 黄芩清热除痹胶囊对 AA 大鼠血清 IL-1 β 、IL-6 的影响 见表 2。模型组大鼠血清 IL-1 β 、IL-6 的含量明显高于正常对照组 (*P* < 0.01)；黄芩清热除痹各组血

清 IL-1 β 、IL-6 含量明显降低(*P* < 0.05，*P* < 0.01)，其中高、中剂量效果较好 (*P* < 0.01)；与雷公藤多苷片组比较，差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

表 2 黄芩清热除痹胶囊对 AA 大鼠血清 IL-1 β 、IL-6 的影响
($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 2 Effect of Huangqin Qingre Chubi Capsule on serum IL-1 β , IL-6 of AA rats

组别	剂量/g $\cdot$ kg ⁻¹	IL-1 β /ng $\cdot$ L ⁻¹	IL-6 /ng $\cdot$ L ⁻¹
正常对照组	--	6.61 $\pm$ 0.66	174.73 $\pm$ 3.48
模型组	--	12.11 $\pm$ 2.25 $\Delta\Delta$	213.17 $\pm$ 9.55 $\Delta\Delta$
黄芩清热除痹高剂量组	51.2	9.29 $\pm$ 0.86**	182.67 $\pm$ 6.11**
黄芩清热除痹中剂量组	25.6	9.53 $\pm$ 2.33**	180.74 $\pm$ 5.03**
黄芩清热除痹低剂量组	12.8	11.21 $\pm$ 2.14*	204.63 $\pm$ 7.91*
雷公藤多苷片组	0.01	9.22 $\pm$ 1.59**	181.79 $\pm$ 3.46**

注：与正常对照组比较， $\Delta\Delta P < 0.01$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

3 讨论

AA 大鼠模型的发病机制被认为是由于弗氏完全佐剂中结核分枝杆菌被 T 细胞识别，引起致敏反应，AA 大鼠的病理变化表现为多发性关节炎病变，局部关节红肿，伴有炎性细胞浸润，关节滑膜破坏，病理变化与人 RA 相似，可以作为 RA 动物模型^[4]，因此，本实验选择 AA 大鼠模型。

IL-1 β 、IL-6 细胞因子与 RA 病变过程有密切的关系，是造成关节炎和关节软骨病变的细胞因子之一。IL-1 β 是由多种细胞分泌产生的一种重要促炎性因子，具有广泛的免疫调节作用，能诱导发热、急性蛋白合成等一系列的免疫反应，同时刺激关节滑膜和软骨，造成 RA 软骨等组织损伤、破坏，同时较多的 IL-1 β 还能促进 IL-6 相关因子的分泌，加重病情。IL-6 由多种淋巴或非淋巴细胞产生，参与炎症反应，

促进活化 B 细胞增殖，可参与 T 细胞的活化，诱导 T 细胞效应，引起组织损伤，同时增强 IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α 活性，加重病情^[5-9]，因此，本实验选择继发性足跖肿胀度和血清 IL-1 β 和 IL-6 为指标研究黄芩清热除痹胶囊对 RA 的治疗作用。

本研究结果表明，黄芩清热除痹胶囊能抑制 AA 大鼠继发性足肿胀，其作用机制与降低 AA 大鼠血清 IL-1 β 、IL-6 含量有关。

参考文献：

[1] 刘建文. 药理实验方法学—新技术与新方法[M]. 北京：化学工业出版社，2003：6.
[2] 胡吴斌，胡玲，唐照亮，等. 类风湿关节炎实验动物模型研究与评述[J]. 中国中西医结合杂志，2011，31(9)：1290-1294.
[3] 刘继新，杨彦峰. 银杏叶提取物对大鼠佐剂性关节炎的治疗作用与机制[J]. 中国新药杂志，2012，21(8)：912-916.
[4] 李培培，解国雄，宋珊珊，等. 大鼠佐剂性关节炎模型表现特征及评价指标[J]. 中国免疫学杂志，2012，28(5)：453-457.
[5] 冬荣辉，孟超. 中药治疗类风湿关节炎的进展[J]. 天津药学，2013，25(1)：75-78.
[6] Smolen JS, Steiner G. Rheumatoid arthritis is more than cytokines: autoimmunity and rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2001，44(10)：2218-2220.
[7] 李盛村，鲍捷，王国祥. IL-6 与 OPG/RANKL/RANK 信号通路在类风湿性关节炎发病机制中的作用[J]. 现代预防医学，2013，40(5)：933-935.
[8] 顾欣，孙江桥. 通痹饮合剂对大鼠佐剂性关节炎实验研究[J]. 辽宁中医药大学学报，2013，15(5)：44-45.
[9] 谷恒存，丁兴红，马哲龙，等. 蕲蛇水提液对佐剂性关节炎大鼠的免疫调节作用[J]. 中华中医药杂志，2012，27(10)：2676-2678.

(编辑：梁进权)

凉血通瘀方对实验性瘀热证脑缺血大鼠的治疗作用

蒋宝平^{1,2,3}，田磊⁴，李申⁵，许立^{1,2}，方泰惠^{1,2}，程海波^{1,3}(1. 南京中医药大学，江苏 南京 210023；2. 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室，江苏 南京 210023；3. 江苏省名医验方研究与产业化工程实验室，江苏 南京 210023；4. 南京中医药大学附属医院，江苏 南京 210029；5. 河南护理职业学院，河南 安阳 455000)

摘要：目的 研究凉血通瘀方对实验性瘀热证脑缺血大鼠的治疗作用。方法 大鼠注射大肠杆菌内毒素后，采

收稿日期：2013-06-21
作者简介：蒋宝平，女，硕士，助理研究员，研究方向：心血管药理。Email: j.bp@163.com。通讯作者：程海波，教授，研究方向：中医内科急症。Email: lwnjutcm@163.com。
基金项目：国家自然科学基金青年基金(81102885)；江苏省中医药局科技项目(LZ11194)；江苏省自然科学基金(BK2007242)；国家 973 计划(2006CB504807)。