

- 损伤的保护作用[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(12): 726-727.
- [2] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1835.
- [3] 廉洪, 陈欢, 杜景霞, 等. 甘氨酸对离体缺血再灌注大鼠心脏的保护作用[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2006, 35(6): 728-730.
- [4] 黄志华, 李良东, 肖海, 等. 3'-大豆苷元磷酸钠对心肌缺血/再灌注损伤及抗氧化作用的影响[J]. 中国药理学通报, 2009, 25(4): 481-483.
- [5] 谷万里, 史载祥. 中药保护心肌缺血损伤的非循环机制研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2005, 3(5): 422-424.
- [6] Mair P, Mair J, Bleier J, et al. Reperfusion after cardioplegic cardiac arrest—effects on intracoronary leucocyte elastase release and oxygen free radical mediated lipid peroxidation [J]. Acta Anaesthesiol Scand, 1995, 39 (7): 960-964.
- (编辑: 宋威)

## 金苓痛风舒微丸抗炎作用及其机制研究

王晓倩<sup>1</sup>, 李鑫<sup>1,2</sup>, 郭建生<sup>1,3</sup>, 阳松威<sup>1</sup>(1. 湖南中医药大学中药现代化研究重点实验室, 湖南长沙 410208; 2. 湖南中医药大学中医诊断研究所, 湖南长沙 410208; 3. 湖南中医药大学药学院, 湖南长沙 410208)

**摘要:** **目的** 研究金苓痛风舒微丸的抗炎作用及其作用机制。**方法** 采用二甲苯致小鼠耳廓肿胀及角叉菜胶致大鼠足肿胀实验探索金苓痛风舒微丸的抗炎作用。采用腺嘌呤、乙胺丁醇灌胃及关节腔注射尿酸钠复合造模的方法复制大鼠痛风性关节炎模型。将大鼠随机分为正常组, 模型组, 别嘌醇组( $0.036\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), 痛风定组( $0.432\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), 金苓痛风舒微丸高、中、低剂量组 ( $37.8, 18.9, 9.45\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), 共 7 组, 每组 10 只。采用酶联免疫法(ELISA)检测血清中前炎症因子肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )及白介素-8(IL-8)的表达。并观察关节滑膜组织病理形态学的改变。**结果** 金苓痛风舒微丸可有效抑制小鼠耳廓炎症肿胀 ( $P < 0.05$ )及大鼠足肿胀( $P < 0.05, P < 0.01$ )。显著抑制痛风性关节炎大鼠血清中 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-8 的表达( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 减轻大鼠关节滑膜的炎性细胞浸润、充血、肿胀和坏死( $P < 0.05, P < 0.01$ )。**结论** 金苓痛风舒微丸对急性炎症具有显著的抗炎作用, 其对痛风性关节炎的抗炎机制可能是通过抑制前炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-8 的表达, 进而调控滑膜组织中炎症反应链, 从而发挥抗炎作用。

**关键词:** 金苓痛风舒微丸; 痛风性关节炎; 抗炎作用; 作用机制

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)06-0700-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.06.013

### Experimental Study on Anti-inflammatory Effects of Jinling Tongfengshu Pellets and Its Mechanism

WANG Xiaoqian<sup>1</sup>, LI Xin<sup>1,2</sup>, GUO Jiansheng<sup>1,3</sup>, YANG Songwei<sup>1</sup>(1. Key Laboratory of Modernization of Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208 Hunan, China; 2. Institute of Traditional Chinese Medical Diagnosis, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208 Hunan, China; 3. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208 Hunan, China)

**Abstract: Objective** To investigate the anti-inflammatory effects and mechanism of Jinling Tongfengshu Pellets.

**Methods** Xylene-induced mice ear edema test and carrageenan-induced rat paw edema test were carried out to explore the anti-inflammatory effects of Jinling Tongfengshu Pellets. Gouty arthritis model was induced with gastric gavage of adenine and ethambutol and by intra-articular injection of monosodium sodium urate (MSU). Rats were randomized into normal control group, model group, allopurinol ( $0.036\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) group, Tongfeng Ding ( $0.432\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) group, and high-, medium- and low-dose Jinling Tongfengshu Pellets groups ( $37.8, 18.9, 9.45\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), 10 rats in each group. After the last administration, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the expression of proinflammatory cytokines of tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) and

收稿日期: 2014-05-20

作者简介: 王晓倩, 女, 博士研究生, 研究方向: 中药新药研究与开发。Email: 603688804@qq.com。通讯作者: 郭建生, 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中药药性理论与中药新药研究。

基金项目: 2014 年湖南省研究生科研创新项目(CX2014B350)。

interleukin-8 (IL-8) in the serum. The pathological changes of synovial tissue were observed. **Results** Jinling Tongfengshu Pellets could effectively inhibit inflammation in mice ear swelling ( $P < 0.05$ ) and rat paw edema ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), significantly inhibit the expression of TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  and IL-8 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) in the serum of gouty arthritis rats, and relieve pathological changes of synovial inflammatory cell infiltration, congestion, swelling and tissue necrosis of the joint synovium ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion** Jinling Tongfengshu Pellets can significantly inhibit acute inflammation which induced by xylene and carrageenan. And its anti-inflammatory mechanism may be related with the anti-inflammatory effects through inhibiting the expression of proinflammatory cytokines of TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  and IL-8, and regulating synovial tissue inflammatory response chain.

**Keywords:** Jinling Tongfengshu Pellets; Gouty arthritis; Anti-inflammatory effect; Mechanism

痛风是长期嘌呤代谢障碍及(或)尿酸排泄减少、尿酸增高所致的一组代谢性疾病<sup>[1]</sup>,以高尿酸血症、关节炎反复发作等为主要临床表现<sup>[2-3]</sup>。其发病机制主要为血液中尿酸含量升高,达到饱和状态形成尿酸钠微结晶,进而沉积于关节的滑膜、软骨及关节周围组织,刺激单核细胞产生并释放肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )、白介素-8 (IL-8) 等前炎症因子<sup>[4]</sup>,而形成痛风性关节炎<sup>[5]</sup>,严重者可引起急性肾功能衰竭<sup>[6]</sup>。痛风已成为一种常见病、多发病,对人类健康造成很大的威胁<sup>[7]</sup>。

目前,临床治疗痛风多以化学药品缓解症状为主,如秋水仙碱、吲哚美辛等,虽能在一定程度上缓解病痛,但均不同程度地出现腹泻、血小板减少、中性粒细胞下降等副作用,而中医药治疗痛风疗效确切,且安全可靠<sup>[8-9]</sup>。

本课题组拟研发一种有效治疗痛风的中药-金苓痛风舒微丸。该药由金钱草、土茯苓等多味中药组成,具有祛湿除热、清热消肿功效。本研究拟建立动物急性炎症模型研究其抗炎作用,并建立痛风性关节炎大鼠模型探讨其抗炎作用机制,为指导其临床运用提供实验依据。

## 1 材料与方法

**1.1 动物** ICR 小鼠, SPF 级,雌雄兼用,体质量 ( $20 \pm 2$ )g,动物合格证号: 43004700000317, 43004700000318; SD 大鼠, SPF 级,雄性,体质量 ( $200 \pm 20$ )g,动物合格证号: 43004700001280,均由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供。

**1.2 药品及试剂** 金苓痛风舒微丸,湖南省中医药研究院中药研究所,批号: 121201,每克浸膏相当于 105 g 生药;阿司匹林,合肥久联制药有限公司,批号: 121105;腺嘌呤,美国 Amresco 公司,批号: 0183;尿酸钠 (MSU),美国 SIGMA 公司,批号:

U2875;盐酸乙胺丁醇片,沈阳红旗制药有限公司,批号: 1208041;别嘌醇片,广东彼迪药业有限公司,批号: 20130101;痛风定胶囊,四川升和药业股份有限公司,批号: 1303102;角叉菜胶,美国 SIGMA 公司,批号: CAS9000-07-1;二甲苯,分析纯,天津市富宇精细化工有限公司,批号: 120520;甲醛溶液,分析纯,天津市百世化工有限公司,批号: 20130508;TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-8 检测试剂盒,均为美国 R&D 公司产品,批号分别为 E-30633、E-40365、E-56342。

**1.3 仪器** FB223 自动内校电子分析天平,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;LD 电子天平,沈阳龙腾电子有限公司;足趾容积测量仪,意大利 UGO 公司;离心机,日本 HITACHI 公司。

## 1.4 金苓痛风舒微丸抗炎作用研究

**1.4.1 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响<sup>[10]</sup>** 取 ICR 雄性小鼠 50 只,按体质量随机分为模型对照组,阿司匹林组 ( $0.039 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),金苓痛风舒微丸高、中、低剂量组 ( $54.6$ ,  $27.3$ ,  $13.65 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),每组 10 只。各组分别灌胃给予相应药液  $20 \text{ mL} \cdot \text{kg} \cdot \text{d}^{-1}$ ,每天 1 次,连续 7 d,模型对照组给予等容积生理盐水。末次给药后 30 min,每鼠右耳正反两面均匀涂抹二甲苯  $20 \mu\text{L}$  致炎,左耳不涂作对照。30 min 后,将动物麻醉处死,沿耳廓线剪下双耳。用 6 mm 直径打孔器取下双耳对称处的圆耳片,称质量。采用盲法实验原则,选用未知分组人员对每鼠耳肿胀度和肿胀抑制率进行统计分析。肿胀度 = 右耳质量 - 左耳质量。

**1.4.2 对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响<sup>[10]</sup>** 取 SD 雄性大鼠 50 只,按体质量随机分为模型对照组,阿司匹林组 ( $0.027 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),金苓痛风舒微丸高、中、低剂量组 ( $37.8$ ,  $18.9$ ,  $9.45 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),每组 10 只。各组分别灌胃给予相应药液,  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg} \cdot \text{d}^{-1}$ ,每天 1 次,连续 7 d,模型对照组给予等容积生理盐水,末次给

药 1 h 后, 无菌操作下于大鼠右后足跖腱膜下注射 1 %角叉菜胶溶液 0.1 mL 致炎, 并分别于致炎前和致炎后第 0.5, 1, 2, 4, 6 h 测量大鼠右后足足跖厚度, 采用盲法实验原则, 选用未知分组人员对足跖肿胀度进行统计分析。肿胀度 = 致炎后足跖厚度 - 致炎前足跖厚度。

1.5 金苓痛风舒微丸对痛风性关节炎抗炎作用机理研究

1.5.1 分组、模型复制及给药<sup>[11]</sup> 取 SD 雄性大鼠 70 只, 按体质量随机分为正常组, 模型组, 别嘌醇组 (0.036 g·kg<sup>-1</sup>), 痛风定组(0.432 g·kg<sup>-1</sup>), 金苓痛风舒微丸高、中、低剂量组(37.8, 18.9, 9.45 g·kg<sup>-1</sup>), 共 7 组, 每组 10 只。除正常组外, 其余各组大鼠灌服腺嘌呤 200 mg·kg<sup>-1</sup> 和乙胺丁醇 250 mg·kg<sup>-1</sup>, 每天 1 次, 连续 7 d, 末次给药后 30 min, 大鼠右踝关节腔注射 50 mg·mL<sup>-1</sup> 的 MSU 混悬液 0.2 mL(关节伸直 45 度, 4 号针头进针, 插入胫骨肌腱内侧), 复制痛风性关节炎模型。模型复制成功后, 各组分别给予相应药液, 模型组与正常组给予等容积蒸馏水, 灌胃给药, 10 mL·kg<sup>-1</sup>, 每天 1 次, 连续 7 d。

1.5.2 大鼠血清中 TNF-α、IFN-γ、IL-8 表达水平的测定 末次给药后 2 h, 麻醉大鼠, 腹主动脉采血, 3000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取血清, 采用 ELISA 法分别检测血清中前炎症因子 TNF-α、IFN-γ、IL-8 的表达。

1.5.3 对痛风性关节炎大鼠关节滑膜组织病理形态学的影响 末次给药后, 麻醉大鼠, 取关节滑膜组织, 10 %甲醛溶液固定, 将滑膜病理标本做成蜡块, 间断连续切片, 切片厚 5 μm, HE 染色, 采用盲法实验原则, 选用未知分组人员观察其病理形态学的改变并评分, 评分标准<sup>[12]</sup>见表 1。

表 1 滑膜组织学改变的组织学分级评分标准  
Table 1 Histological classification criteria of synovial histologic change

| 观察项目 | 评分 | 观察项目 | 评分     |
|------|----|------|--------|
| 血管充血 | 正常 | 0    | 炎症细胞浸润 |
|      | 轻度 | 1    | 正常     |
|      | 中度 | 2    | 轻度     |
|      | 重度 | 3    | 中度     |
| 滑膜肿胀 | 正常 | 0    | 重度     |
|      | 轻度 | 1    | 正常     |
|      | 中度 | 2    | 轻度     |
|      | 重度 | 3    | 中度     |

1.6 统计学处理方法 实验数据用 SPSS 18.0 软件分

析, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。组间比较, 计量资料首先做正态性和方差齐性检验, 满足方差齐性, 采用 One-way ANOVA 进行方差分析, 不满足方差齐性采用非参数法检验。计数资料采用非参数法检验。

2 结果

2.1 金苓痛风舒微丸抗炎作用研究

2.1.1 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 与模型对照组比较, 金苓痛风舒微丸高、中剂量组小鼠耳廓肿胀度明显降低, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。提示该药物对二甲苯致小鼠耳廓炎症有明显抑制作用, 见表 2。

表 2 各组对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )  
Table 2 The effect of each group on mice auricle swelling induced by xylene

| 组别          | 剂量<br>/g·kg <sup>-1</sup> | 左耳廓<br>/g | 右耳廓<br>/g | 肿胀度<br>/g        |
|-------------|---------------------------|-----------|-----------|------------------|
| 模型对照组       | -                         | 0.0073    | 0.0145    | 0.0072 ± 0.0028  |
| 阿司匹林组       | 0.039                     | 0.0064    | 0.0111    | 0.0047 ± 0.0016▲ |
| 金苓痛风舒微丸高剂量组 | 54.6                      | 0.0056    | 0.0102    | 0.0046 ± 0.0023▲ |
| 金苓痛风舒微丸中剂量组 | 27.3                      | 0.0064    | 0.0112    | 0.0048 ± 0.0014▲ |
| 金苓痛风舒微丸低剂量组 | 13.65                     | 0.0082    | 0.0146    | 0.0064 ± 0.0025  |

注: 与模型对照组比较, ▲ $P < 0.05$ 。

2.1.2 对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响 与模型对照组比较, 致炎后 1 h, 金苓痛风舒微丸高、中、低剂量组大鼠足跖肿胀程度均明显降低, 差异有显著性意义( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 致炎后 2 h, 金苓痛风舒微丸高、中剂量组大鼠足跖肿胀程度明显减轻( $P < 0.05$ ), 致炎后 4 h, 金苓痛风舒微丸高、中剂量组大鼠足跖肿胀程度明显减轻( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。提示金苓痛风舒微丸对化学性刺激引起的急性炎症有明显的抑制作用, 见表 3。

表 3 各组对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )  
Table 3 The effect of each group on mice foot metatarsus swelling induced by carrageen glue

| 组别          | 剂量<br>/g·kg <sup>-1</sup> | 致炎后不同时间的肿胀度 /mL |               |              |               |             |
|-------------|---------------------------|-----------------|---------------|--------------|---------------|-------------|
|             |                           | 0.5 h           | 1 h           | 2 h          | 4 h           | 6 h         |
| 模型对照组       | -                         | 0.27 ± 0.10     | 0.36 ± 0.10   | 0.48 ± 0.13  | 0.51 ± 0.16   | 0.40 ± 0.15 |
| 阿司匹林组       | 0.027                     | 0.24 ± 0.09     | 0.33 ± 0.09   | 0.36 ± 0.11▲ | 0.34 ± 0.17▲  | 0.42 ± 0.19 |
| 金苓痛风舒微丸高剂量组 | 37.8                      | 0.25 ± 0.13     | 0.21 ± 0.13▲▲ | 0.34 ± 0.14▲ | 0.33 ± 0.09▲▲ | 0.32 ± 0.11 |
| 金苓痛风舒微丸中剂量组 | 18.9                      | 0.21 ± 0.12     | 0.25 ± 0.07▲▲ | 0.38 ± 0.09▲ | 0.37 ± 0.15▲  | 0.31 ± 0.19 |
| 金苓痛风舒微丸低剂量组 | 9.45                      | 0.22 ± 0.13     | 0.24 ± 0.12▲  | 0.40 ± 0.09  | 0.39 ± 0.10   | 0.30 ± 0.18 |

注: 与模型对照组比较, ▲ $P < 0.05$ , ▲▲ $P < 0.01$ 。

2.2 金苓痛风舒微丸对痛风性关节炎大鼠抗炎作用机

制研究

2.2.1 对痛风性关节炎大鼠血清前炎症因子 TNF-α、IFN-γ、IL-8 表达的影响 与正常组比较, 模型组大鼠 TNF-α、IFN-γ、IL-8 表达水平均显著升高, 差异有显著性( $P < 0.01$ ), 提示模型复制成功。经金苓痛风舒微丸治疗后, 与模型组比较, 金苓痛风舒微丸高剂量组大鼠血清 TNF-α、IFN-γ 及 IL-8 表达水平均显著降低( $P < 0.01$ ); 中剂量组大鼠血清 TNF-α、IL-8、IFN-γ 表达水平均显著降低( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 低剂量组大鼠血清 IL-8 表达显著降低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 见表 4。

表 4 各组对大鼠血清 TNF-α、IFN-γ、IL-8 表达水平的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

Table 4 The effects of each group on TNF-α、IFN-γ and IL-8 activity in the serum of mice

| 组别          | 剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ | TNF-α/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ | IFN-γ/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ | IL-8/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ |
|-------------|-------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------|
| 正常组         | -                                   | 96.65 ± 4.67                            | 493.36 ± 31.33                          | 152.20 ± 18.28                         |
| 模型组         | -                                   | 259.33 ± 4.35**                         | 1361.19 ± 31.20**                       | 375.16 ± 9.55**                        |
| 别嘌醇组        | 0.036                               | 230.60 ± 4.49▲▲                         | 1176.19 ± 29.99▲▲                       | 342.20 ± 7.64▲▲                        |
| 痛风定组        | 0.432                               | 196.70 ± 6.33▲▲                         | 1037.52 ± 25.73▲▲                       | 275.27 ± 4.63▲▲                        |
| 金苓痛风舒微丸高剂量组 | 37.8                                | 220.50 ± 4.59▲▲                         | 1105.61 ± 36.95▲▲                       | 163.79 ± 5.59▲▲                        |
| 金苓痛风舒微丸中剂量组 | 18.9                                | 253.71 ± 4.27▲▲                         | 1331.06 ± 24.27▲                        | 204.67 ± 6.93▲▲                        |
| 金苓痛风舒微丸低剂量组 | 9.45                                | 258.95 ± 5.15                           | 1337.88 ± 45.05                         | 348.90 ± 7.62▲                         |

注: 与正常组比较, \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较, ▲ $P < 0.05$ , ▲▲ $P < 0.01$ 。

2.2.2 金苓痛风舒微丸对痛风性关节炎大鼠关节滑膜组织病理形态学改变的影响 正常组关节软骨面完整, 滑膜外为疏松结缔组织及肌肉组织, 未见滑膜有血管充血、炎细胞浸润、水肿及组织坏死, 也未见有滑膜绒毛状增生和血管翳形成。模型组大鼠关节滑膜组织排列紊乱, 组织充血及大量炎性细胞浸润, 部分样本滑膜组织坏死, 与正常组比较, 组织学评分有显著性差异( $P < 0.01$ ), 提示模型复制成功。经金苓痛风舒微丸各剂量组大鼠关节滑膜组织血管充血、滑膜肿胀、炎细胞浸润、组织坏死情况均有显著的改善, 与模型组比较, 差异有显著性( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 见表 5 及图 1。

表 5 滑膜组织学改变的组织学分级评分结果( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

Table 5 Synovial histological ratings of the histological changes

| 组别          | 剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ | 评分积分值         |               |               |               |
|-------------|-------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|             |                                     | 血管充血          | 滑膜肿胀          | 炎细胞浸润         | 组织坏死          |
| 正常组         | -                                   | 0.20 ± 0.42   | 0.00 ± 0.00   | 0.20 ± 0.42   | 0.00 ± 0.00   |
| 模型组         | -                                   | 2.90 ± 0.32** | 2.90 ± 0.32** | 3.00 ± 0.00** | 2.70 ± 0.48** |
| 别嘌醇组        | 0.036                               | 1.20 ± 0.42▲▲ | 1.00 ± 0.67▲▲ | 1.20 ± 0.42▲▲ | 0.30 ± 0.67▲▲ |
| 痛风定组        | 0.432                               | 1.10 ± 0.57▲▲ | 0.90 ± 0.57▲▲ | 1.40 ± 0.84▲▲ | 1.30 ± 0.48▲▲ |
| 金苓痛风舒微丸高剂量组 | 37.8                                | 0.80 ± 0.42▲▲ | 0.80 ± 0.63▲▲ | 1.10 ± 0.32▲▲ | 0.10 ± 0.32▲▲ |
| 金苓痛风舒微丸中剂量组 | 18.9                                | 1.00 ± 0.47▲▲ | 1.10 ± 0.57▲▲ | 1.50 ± 0.71▲▲ | 1.00 ± 1.15▲▲ |
| 金苓痛风舒微丸低剂量组 | 9.45                                | 1.80 ± 0.79▲▲ | 2.00 ± 0.67▲▲ | 2.30 ± 0.82▲  | 1.70 ± 0.82▲▲ |

注: 与正常组比较, \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较, ▲ $P < 0.05$ , ▲▲ $P < 0.01$ 。

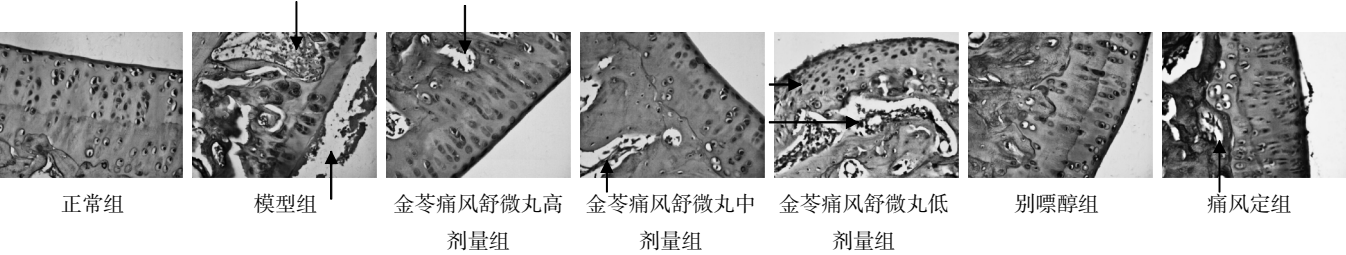


图 1 痛风性关节炎大鼠关节滑膜组织病理形态学影响(HE 染色, 400 × )

Figure 1 Articular synovial tissue pathological morphology of gouty arthritis mice(HE staining, 400 × )

3 讨论

痛风性关节炎是一组非特异性炎症, 根本病因是高尿酸血症。现代研究发现, 当关节腔内的尿酸盐结晶被白细胞吞噬后, 即可在软骨、滑膜及周围组织沉积, 刺激关节滑膜组织, 释放出组胺、趋化因子及 TNF-α、IFN-γ 等前炎症因子等物质, 导致局部血管扩张和渗透性增加、白细胞大量聚集, 导致大量炎性细胞浸润, 引起非特异性的炎症反应[4]。

本实验研究发现, 金苓痛风舒微丸对二甲苯和角叉菜胶所诱发的炎症有明显的抑制作用, 且在致炎初

期就表现出显著的抗炎作用, 且呈现持续抗炎效应, 证实该药物具有良好的抗炎作用, 为其在痛风性关节炎中的抗炎应用提供可靠的前提保证。

研究发现, 前炎症因子 TNF-α、IL-8 和 INF-γ 是启动炎症的重要细胞因子, 主要起加剧组织炎性浸润的作用[3,13], 均参与了痛风性关节炎的病理变化过程[14-15]。本研究发现, 与正常组比较, 痛风性关节炎模型大鼠血清前炎症因子 TNF-α、IFN-γ、IL-8 水平均显著升高( $P < 0.01$ ), 与文献报道一致。提示机体受到炎症刺激, TNF-α 表达亢进, 导致

IL-8 释放和分泌亢进,进而激活炎症瀑布反应而导致关节滑膜组织严重血管充血、大量炎性细胞浸润、明显肿胀、坏死( $P < 0.01$ )。经金苓痛风舒微丸治疗后,各剂量组大鼠 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-8 均有不同程度的降低( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );病理改变也得到明显改善( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。提示金苓痛风舒微丸抗炎机制可能是抑制 TNF- $\alpha$  表达,减少 IL-8 释放和分泌,并通过抑制 IFN- $\gamma$  激活中性粒细胞,减少对关节滑膜中 T 细胞、单核/巨噬细胞的刺激降低其对单核细胞、淋巴细胞的趋化作用,破坏炎症反应循环链,而实现其临床疗效。

综上所述,金苓痛风舒微丸具有显著的抗炎作用,且其对痛风性关节炎的抗炎机制可能是抑制前炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-8 的表达,阻断或破坏其炎症发生、发展的链条进而发挥抗炎作用。

#### 参考文献:

- [1] Parineeta S, ZG Badade, Sandeep R. Effect of Hyperuricemia on serum nitric oxide levels in diabetic patients with hyperlipidemia [J]. International Journal of Biological & Medical Research, 2012, 3(1): 1338-1341.
- [2] 于泓,袁良东,姚观平,等. 抗痛风胶囊对急性痛风性关节炎大鼠的抗炎作用及机制探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(6): 283-286.
- [3] Lee EG, Lee SL, Chae HJ, et al. Ethyl acetate fraction from *Cudrania tricuspidata* inhibits IL-1 $\beta$  induced rheumatoid synovial fibroblast proliferation and MMPs, COX-2 and PGE2 production [J]. Biol R, 2010, 43(2): 225.
- [4] Merkle M, Ribeiro A, Koppel S. TNF- $\alpha$  enhances TLR3 dependent effects on MMP-9 expression in human mesangial cells[J]. Cell Biology International, 2012, 36(12): 1155-1160.
- [5] Conway N, Schwartz S. Diagnosis and management of acute gout [J]. Med Health RI, 2009, 92(11): 356-358.
- [6] Nakagawa T, Hu H, Zharikov S, et al. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2006, 290(3): F625-F631.
- [7] 中国医师协会心血管内科医师分会. 无症状高尿酸血症血症合并心血管疾病诊治建议中国专家共识[J]. 中国当代医药, 2009, 24(16): 5.
- [8] 王跃旗,王义军,王磊,等. 急性痛风性关节炎的中医研究进展[J]. 环球中医药, 2012, 5(11): 873-876.
- [9] 汪洋,温成平,谢志军. 急性痛风性关节炎的中医药治疗研究进展[J]. 中国中医急症, 2011, 20(11): 1809-1810.
- [10] 刘齐林,何欢,赵士彦,等. 痛风灵抗炎、镇痛、抗痛风作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(2): 74-75.
- [11] 曹燕亚,郭瑞新. 尿酸盐致大鼠痛风模型的制备[J]. 现代中药研究与实践, 2011, 25(1): 32-33.
- [12] 姚丽,霍红,韩月,等. 痛风性关节炎的生物标志物[J]. 中国药理学通报, 2012, 28(10): 1432-1435.
- [13] Zhao J, Xie Y, Qiao C, et al. Imbalance of Th1 and Th2 cells in cardiac injury induced by ambient fine particles[J]. Toxicology Letters, 2012, 5(2): 225-231.
- [14] 王晓璐,徐静,李慧,等. 五藤痛风饮对大鼠急性痛风性关节炎模型 IL-8 和 TNF- $\alpha$  的影响[J]. 中国现代药物应用, 2013, 7(13): 6-7.
- [15] Martinon F, Tschopp J. Inflammatory caspases and inflammasomes: master switches of inflammation[J]. Cell Death Differ, 2007, 14(1): 10-22.

(编辑:宋威)

## 补骨脂素对 A375 细胞黑素合成及相关细胞信号通路调控的研究

王 帅<sup>1</sup>, 耿 放<sup>2</sup>, 张明磊<sup>1</sup>, 陈 晨<sup>1</sup>, 王兴焱<sup>1</sup>, 王加志<sup>1</sup>, 张 宁<sup>1</sup>(1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 哈尔滨师范大学, 黑龙江 哈尔滨 150025)

**摘要:** **目的** 研究补骨脂素对 A375 细胞黑素合成的影响以及丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路的作用。**方法** 将补骨脂素作用于 A375 细胞,采用 MTT 法检测细胞活性;NaOH 裂解法检测黑素量;多巴氧化法检测酪氨酸酶(TYR)活性;RT-PCR 法测定 TYR、酪氨酸酶相关蛋白 -1 和酪氨酸酶相关蛋白 -2(TRP-1、TRP-2)以及 ERK1、ERK2、JNK2 这 3 个 MAPK 信号通路关键蛋白激酶的 mRNA 表达。**结果** 补骨脂素在安全剂量下可显著抑制 A375 细胞黑素合成及 TYR 活性,1  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  补骨脂素能明显下调 A375 细胞 TYR、TRP-1、TRP-2 以及 ERK1、ERK2、JNK2 mRNA 表达。**结论** 推测补骨脂素通过抑制 ERK1、ERK2、JNK2

收稿日期: 2014-08-11

作者简介:王帅,女,硕士研究生,研究方向:药理学研究。Email: 2459842170@qq.com。通讯作者:张宁,男,副教授,研究方向:药理学研究。Email: zhangning0454@163.com。

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81274035);黑龙江省自然科学基金面上项目(D201234);黑龙江省博士后科研启动金(LBH-Q13162);黑龙江中医药大学优秀创新人才支持计划资助。