

祛风息痛丸对大鼠佐剂性关节炎的治疗作用

牛拴成², 张轩萍^{1*}, 杨彩红¹, 王洁¹, 张明升¹, 寇立朝³, 寇随林³
(山西医科大学 1. 药理学教研室, 2. 机能实验室, 山西太原 030001;
3. 山西康意制药有限公司, 山西永济 044500)

摘要:目的 观察祛风息痛丸对佐剂性关节炎的治疗作用,为其临床治疗类风湿性关节炎提供实验依据。方法 建立佐剂性关节炎大鼠模型,采用玻璃容器法测定大鼠原发性和继发性足爪肿胀度。采用酶联免疫吸附试验测定血清白细胞介素1(IL-1)和肿瘤坏死因子 α (TNF α)含量。结果 祛风息痛丸0.26,0.78和2.34 g·kg⁻¹连续灌胃3 d显著抑制佐剂性关节炎大鼠原发性足爪肿胀,对致炎后18 h的肿胀抑制率分别为21.4%,36.8%和65.0%。同剂量祛风息痛丸连续灌胃30 d对佐剂性关节炎大鼠继发性即非致炎侧关节肿胀具有明显的抑制作用,并可明显降低多发性关节炎病变评分,中、大剂量可明显降低血清IL-1和TNF α 含量。结论 祛风息痛丸对实验性佐剂性关节炎具有治疗作用。

关键词:祛风息痛丸;治疗应用;关节炎,实验性

中图分类号: R285, R971.7

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2007)05-0422-05

祛风息痛丸(Qufeng Xitong Wan, QFXTW)由祖师麻、鸡血藤和当归等16味中草药组成,具有祛风、散寒、除湿、活血、通络和止痛等功用,临床用于风寒湿痹、四肢麻木、周身疼痛和腰膝酸痛等症,对类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)有较好的疗效。其中,祖师麻具有抗炎、镇痛和抗风湿作用,鸡血藤和当归等具有养血、补血以及抗风湿性关节炎的作用。但该药对治疗RA的实验研究还未见报道。本研究制备了佐剂性关节炎(adjutant arthritis, AA)

大鼠模型,观察了QFXTW对实验性RA的治疗作用。

1 材料和方法

1.1 药品与试剂

QFXTW:国药准字Z20026080,山西康意制药有限公司产品,为糖衣浓缩丸,去糖衣后呈棕褐色,每10丸重3.0 g,相当于生药3.0 g。QFXTW由祖师麻、独活、木瓜、鸡血藤、制川乌、羌活、秦艽、伸筋草、威灵仙、川牛膝、当归、五加皮、防风、甘草、麝香和缬草16味中药组成,比例为300:30:30:33.3:30:30:30:30:30:40:40:30:30:40:1:30。本实验所用为QFXTW成丸前药粉,为棕褐色粉末,1.0 g药粉与1.0 g祛风息痛丸含生药量相同,由山西康意制药有限公司提供,批号:040101。临用前用蒸馏水配制为适当浓度的混悬液。追风透骨丸(Zhuifeng Tougou Wan, ZFTGW):国药准字Z44022711,阳性对照药,广州敬修堂药业股份有限公司,批号:C05119,红褐色水蜜丸,每10丸重1 g。完全弗氏佐剂,Sigma公司。白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF α)酶联免疫检测试剂盒:上海郎卡生物试剂公司。

1.2 实验动物

Wistar大鼠,雄性,体重160~200 g,由山西医科大学实验动物中心提供,合格证号为医动字第070101号,用山西医科大学实验动物中心提供的标准块料饲养。给药(ig)前禁食不禁水8~12 h。

1.3 AA大鼠模型的制备与检测

致炎前用自制大鼠足跖容积测量器测定每鼠左、右后肢足跖容积(玻璃容器法^[1])。之后将大鼠用乙醚麻醉,以完全弗氏佐剂每只0.1 mL注射于右后足垫内^[2],观察佐剂诱导的大鼠原发病变。致炎后6,12,18和24 h同法测定大鼠足跖容积,以致炎前、后足跖容积差值为肿胀度(Δ mL),按下式计算肿胀抑制率:肿胀抑制率(%)=(模型组平均

收稿日期:2007-02-07 接受日期:2007-04-24

作者简介:牛拴成(1971-),男,山西安泽人,实验师;张轩萍,女,博士,副教授,硕士生导师,主要从事机能学与药理学教学与科研工作。

*联系作者 E-mail: zxp71122@yahoo.com.cn Tel: (0351)4962232

肿胀度 - 给药组平均肿胀度)/模型组平均肿胀度 $\times 100\%$ 。

致炎后 d 12 测定注射对侧的足爪肿胀度, 观察继发性病变, 同时观察体重变化以及前肢、尾部和耳部病变的发生率、结节数及其严重程度。病变程度以 5 级评分法表示^[3]。0 分: 无红肿; 1 分: 小趾关节稍肿; 2 分: 趾关节和足跖肿胀; 3 分: 踝关节以下足肿胀; 4 分: 包括踝关节在内全部足爪肿胀。除致炎侧外, 其余 3 个足爪积分之和为关节炎总积分, 最高为 12 分。

1.4 动物分组与给药

Wistar 大鼠 60 只, 随机分为 6 组, 分别为正常组、模型组、QFXTW 3 个剂量组 (0.26, 0.78 和 2.34 $g \cdot kg^{-1}$) 和 ZFTGW 组 (1.29 $g \cdot kg^{-1}$), 每组 10 只。各药物处理组大鼠 ig 相应药物, 每日 1 次, 连续 3 d, 正常组和模型组给予等体积生理盐水。于 d 3 给药后 30 min, 正常组大鼠右后足跖皮内注射生理盐水每只 0.1 mL, 其余各组大鼠皮内注射完全弗氏佐剂每只 0.1 mL, 制备 AA 大鼠模型。分别于造模后 6, 12, 18 和 24 h 测定大鼠注射侧足跖容积 (mL), 计算足肿胀度 (ΔmL), 并计算肿胀抑制率, 检测大鼠原发性病变。各组大鼠继续 ig 相应药物, 每日 1 次, 连续 30 d (至造模后 d 27), 观察继发性病变。自造模后 d 12 开始, 每 3 d 称体重 1 次, 隔日测定致炎对

侧足跖体积, 计算肿胀度和肿胀抑制率, 同时观察前肢、尾部和耳部病变的发生率及结节数, 对多发性关节炎严重程度进行评分。

1.5 血清 IL-1 和 TNF α 含量检测

末次给药后继续观察 3 d, 用氨基甲酸乙酯 (25%, 4 mL $\cdot kg^{-1}$, ip) 麻醉大鼠, 经腹主动脉取血, 500 $\times g$ 离心 15 min, 收集血清, $-70^\circ C$ 贮存备用。然后处死动物, 取胸腺和脾脏称重。酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清中 IL-1 和 TNF α 含量, 严格按试剂盒说明书进行。

1.6 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 统计软件对各组结果进行方差分析比较; 以分组 t 检验比较各组间统计学差异, 以配对 t 检验比较给药前后差异的显著性, 率的统计分析用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 祛风息痛丸对 AA 大鼠原发病变的影响

与正常组比较, 模型组大鼠于注射佐剂 6, 12, 18 和 24 h 后注射侧足爪明显肿胀, 以 18 h 肿胀最明显。与模型组比较, QFXTW 0.26, 0.78 和 2.34 $g \cdot kg^{-1}$ 显著抑制致炎后各测定时间段大鼠足爪的原发性肿胀, 对致炎 18 h 时的肿胀抑制率分别为 21.4%, 36.8% 和 65.0% (表 1)。

Tab 1. Effect of Qufeng Xitong Wan (QFXTW) on primary inflammation in adjuvant arthritis (AA) rats

Group	Dose/ $g \cdot kg^{-1}$	Right paw swelling/mL			
		6	12	18	24 (h)
Normal	-	0.12 \pm 0.09**	0.18 \pm 0.14**	0.15 \pm 0.14**	0.13 \pm 0.13**
Model	-	0.88 \pm 0.19	0.97 \pm 0.26	1.17 \pm 0.33	0.91 \pm 0.32
QFXTW	0.26	0.68 \pm 0.26	0.91 \pm 0.20	0.92 \pm 0.27*	0.54 \pm 0.21
	0.78	0.58 \pm 0.27**	0.73 \pm 0.19**	0.74 \pm 0.34**	0.43 \pm 0.18**
	2.34	0.45 \pm 0.30**	0.47 \pm 0.29**	0.41 \pm 0.19**	0.30 \pm 0.18**
ZFTGW	1.29	0.62 \pm 0.19*	0.62 \pm 0.30**	0.58 \pm 0.27**	0.42 \pm 0.26**

AA rats were induced by injecting complete Freund's adjuvant 0.1 mL per rat into the right-hind paw. QFXTW is composed of Cortex Daphnes Giraldi (giralddaphne bark), Radix Angelicae Pubescentis, Fructus Chaenomelis, Caulis Spatholobi, Radix Aconiti Preparata, Rhizoma seu Radix Notopterygii, Radix Gentianae macrophyllae, Herba Lycopodii, Radix Clematis Chinensis (Chinese clematis root), Radix Cyathulae, Radix Angelicae Sinensis, Cortex Acanthopanax, Radix Saposhnikoviae, Radix Glycyrrhizae, Moschus and Valeriana, and their weight ratios are 300:30:30:33.3:30:30:30:30:40:40:30:30:40:1:30, respectively. QFXTW and Zhufeng Tougu Wan (ZFTGW) groups were ig drugs for 3 d, respectively. Normal and model groups were ig normal saline. Adjuvant was injected after the last administration of drugs for 30 min to all groups except normal group, which was injected with normal saline. Right paw swelling was detected at the indicated time after this injection. The data were the differences of the same paw volumes between before and after adjuvant injection. $\bar{x} \pm s$, $n = 10$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with model group.

2.2 祛风息痛丸对 AA 大鼠继发性病变的影响

与正常组相比,模型组大鼠于致炎后 d 12 开始出现继发反应,d 18 最为明显,主要表现为注射佐剂对侧(左后肢)足跖肿胀,前肢关节部位红肿,有点状结节突起,耳部出现红斑,直径约 5 mm,尾部有结节状突起,呈串珠状。左后肢关节肿胀度和继发性病变评分均显著高于正常组。与模型组比较,QFXTW 0.26,0.78 和 2.34 g·kg⁻¹及 ZFTGW 1.29 g·kg⁻¹给药 12~30 d 均显著抑制 AA 大鼠注射对侧足跖肿胀度,最大抑制率分别为 31.7%,43.1%,

69.4%及 38.5%(表 2),并使继发性病变总积分显著降低(表 3)。实验期间各组大鼠摄食量未见明显减少,体重变化、胸腺及脾脏重量均无显著性差异(数据略)。

2.3 祛风息痛丸对 AA 大鼠血清 IL-1 及 TNFα 含量的影响

与正常组相比,模型组大鼠血清 IL-1 及 TNFα 含量明显增高。QFXTW 0.78,2.34 g·kg⁻¹及 ZFTGW 1.29 g·kg⁻¹连续用药 30 d 显著降低 AA 大鼠血清中 IL-1 及 TNFα 含量(表 4)。

Tab 2. Effect of QFXTW on secondary inflammation in AA rats

Group	Dose/ g·kg ⁻¹	Left paw swelling/mL			
		12	18	24	30 (d)
Normal	-	0.08 ± 0.10**	0.09 ± 0.09**	0.10 ± 0.08**	0.07 ± 0.08**
Model	-	0.62 ± 0.19	1.04 ± 0.28	0.87 ± 0.24	0.72 ± 0.16
QFXTW	0.26	0.52 ± 0.18	0.71 ± 0.38**	0.70 ± 0.16	0.58 ± 0.22*
	0.78	0.42 ± 0.14**	0.61 ± 0.22**	0.53 ± 0.24**	0.41 ± 0.16**
	2.34	0.21 ± 0.14**	0.37 ± 0.24**	0.35 ± 0.20**	0.22 ± 0.09**
ZFTGW	1.29	0.45 ± 0.08*	0.64 ± 0.28**	0.61 ± 0.22**	0.50 ± 0.14**

See Tab 1 for the rat treatments. Normal saline or drugs were continuously administrated for 27 d after adjuvant or saline injection, respectively. Left paw swelling was detected at the indicated time after the adjuvant injection. $\bar{x} \pm s$, $n = 10$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with model group.

Tab 3. Effect of QFXTW on polyarticular arthritis in AA rats

Group	Dose/ g·kg ⁻¹	Score of polyarticular arthritis			
		12	18	24	30 (d)
Normal	-	1.6 ± 1.0**	1.3 ± 0.9**	1.6 ± 0.9**	1.4 ± 0.8**
Model	-	4.7 ± 1.5	10.5 ± 1.5	9.2 ± 1.3	8.3 ± 1.9
QFXTW	0.26	4.6 ± 1.4	8.5 ± 1.8*	7.7 ± 1.6*	6.0 ± 2.0**
	0.78	4.3 ± 1.3	6.3 ± 2.2**	5.8 ± 1.7**	4.7 ± 1.9**
	2.34	2.2 ± 1.0**	4.4 ± 2.2**	3.6 ± 1.4**	3.1 ± 1.2**
ZFTGW	1.29	3.2 ± 1.8*	6.7 ± 1.8**	5.2 ± 1.8**	4.9 ± 1.8**

See Tab 2 for the rat treatments. The rat foot pathological changes were scored as follows: 0, no red swelling; 1, slightly swelling in the toe articulations; 2, obvious swelling in toe articulations; 3, obvious swelling in the parts of the feet under the ankle joints; 4, marked swelling in the whole feet including the ankles. The total arthritis scores of a rat were calculated by adding up the scores of the three paws except the right paw which was injected adjuvant. $\bar{x} \pm s$, $n = 10$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with model group.

Tab 4. Effect of QFXTW on levels of serum interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor- α (TNF α) in AA rats

Group	Dose/ g·kg ⁻¹	IL-1/ ng·L ⁻¹	TNF α / ng·L ⁻¹
Normal	-	34.5 ± 8.0 **	21.4 ± 5.0 **
Model	-	93.3 ± 12.3	48.7 ± 12.1
QFXTW	0.26	84.0 ± 7.0	43.0 ± 10.0
	0.78	65.8 ± 12.9 **	39.9 ± 6.0 *
	2.34	52.4 ± 14.4 **	30.7 ± 6.4 **
ZFTGW	1.29	68.9 ± 15.4 **	37.1 ± 4.4 **

See Tab 2 for the rat treatments. The serum levels of IL-1 and TNF α were tested on d 4 after the last drug administration. $\bar{x} \pm s$, $n = 10$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with model group.

3 讨论

RA 是以关节和关节周围组织非化脓性炎症为主的慢性自身免疫性疾病^[4]。常伴关节腔滑膜组织炎症、渗液、细胞增殖、肉芽形成以及软骨、骨组织破坏等症状。早期表现为滑膜红肿, 关节明显肿胀, 多侵犯小关节如手、足和腕, 常为对称性。研究表明, RA 病人体内有多种致炎因子如 IL-1, TNF α , IL-6 和 IL-8 等的过表达^[5], 在受损伤的关节部位及其周围含量增高最为显著, 但在血清中也可检测到较高含量的 IL-1 及 TNF α 等细胞因子。血清中细胞因子含量增加常与 RA 的病程有关^[6]。有研究表明, IL-1 在 RA 病人的血液及关节滑液中大量产生, 可作为炎性因子损伤关节滑膜, 也可能参与了免疫平衡紊乱的病理过程^[7]。TNF α 在 RA 发病和病程进展中起重要的作用, 其拮抗剂或减少 TNF α 的药物对 RA 有显著疗效^[8-9]。

自完全弗氏佐剂诱导的 AA 大鼠模型建立以来^[10], 普遍认为 AA 大鼠在临床表现、病理改变和血清学特点等方面与人类 RA 非常相似, 是研究和筛选治疗 RA 药物常用的模型之一^[11], 其继发性反应期是免疫功能紊乱所造成的免疫性炎症反应。本研究结果表明, AA 大鼠模型组原发性关节肿胀、继发性关节肿胀以及多发性关节病变非常明显, QFXTW (0.26, 0.78 和 2.34 g·kg⁻¹) 连续给药 3 d 能显著减轻 AA 大鼠原发性足跖肿胀程度, 连续给药 30 d 可明显降低继发性足跖肿胀程度, 并可明显降低多发性关节炎病变

评分, 中、大剂量可明显降低血清 IL-1 和 TNF α 含量。上述结果表明, QFXTW 可减轻实验性 RA 病变程度, 延缓病情进展, 并降低血清 IL-1 和 TNF α 水平, QFXTW 对 RA 具有一定的治疗作用。

4 参考文献:

- [1] Xu SY, Bian RL, Chen X. *Methodology of Pharmacological Experiments* (药理实验方法学) [M] // 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002:915.
- [2] Chen Q. *Methodology of Pharmacological Experiments of Chinese Medicine* (中药药理实验方法学) [M] // Beijing: People's Medical Publishing House, 1993:369-371.
- [3] Zhang GE, Yang DH, Qian YZ, Hu DJ, Yao XM. Experimental study of effect of Bikangyin Mixture on rats with adjuvant arthritis [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med* (北京中医药大学学报), 2006, **129**(2):104-107.
- [4] Abbott JD, Moreland LW. Rheumatoid arthritis: developing pharmacological therapies [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2004, **13**(8):1007-1018.
- [5] Badolato R, Oppenheim JJ. Role of cytokines, acute-phase proteins, and chemokines in the progression of rheumatoid arthritis [J]. *Semin Arthritis Rheum*, 1996, **26**(2):526-538.
- [6] Cai X, Wong YF, Zhou H, Liu ZQ, Xie Y, Jiang ZH, et al. Manipulation of the induction of adjuvant arthritis in Sprague-Dawley rats [J]. *Inflamm Res*, 2006, **55**(9):368-377.
- [7] Abramson SB, Amin A. Blocking the effects of IL-1 in rheumatoid arthritis protects bone and cartilage [J]. *Rheumatology* (Oxford), 2002, **41**(9):972-980.
- [8] Marshall NJ, Wilson G, Lapworth K, Kay LJ. Patients' perceptions of treatment with anti-TNF therapy for rheumatoid arthritis: a qualitative study [J]. *Rheumatology*, 2004, **43**:1034-1038.
- [9] Cai X, Zhou H, Wong YF, Xie Y, Liu ZQ, Jiang ZH, et al. Suppression of the onset and progression of collagen-induced arthritis in rats by QFGJS, a preparation from an anti-arthritis Chinese herbal formula [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, **110**(1):39-48.
- [10] Pearson CM. Experimental models in rheumatoid disease [J]. *Arthritis Rheum*, 1964, **7**:80-86.
- [11] Wang CP, Wu YL. Study on mechanism underlying the treatment of rheumatoid arthritis by Keshiling [J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2006, **31**(2):155-158.

Therapeutic effect of Qufeng Xitong Wan on adjuvant arthritis in rats

NIU Shuan-Cheng², ZHANG Xuan-Ping^{1*}, YANG Cai-Hong¹, WANG Jie¹,
ZHANG Ming-Sheng¹, KOU Li-Chao³, KOU Sui-Lin³

(1. *Department of Pharmacology*, 2. *Energetic Laboratory*, *Shanxi Medical University*, *Taiyuan* 030001, *China*;
3. *Shanxi Kangyi Pharmacy Company*, *Yongji* 044500, *China*)

Abstract: **AIM** To investigate the therapeutic effect of Qufeng Xitong Wan (QFXTW) on rheumatoid arthritis. **METHODS** The rat model of adjuvant arthritis (AA) was established. The primary and secondary swelling extent in hind paws was detected by using volume testing method and the serum levels of interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor- α (TNF α) were measured with enzyme-linked immunosorbent assay. **RESULTS** In AA rats, QFXTW 0.26, 0.78 and 2.34 g·kg⁻¹ (ig) for 3 d obviously inhibited the right paw swelling, the primary inflammation, and the swelling inhibition rates were 21.4%, 36.8%

and 65.0%, respectively. QFXTW at the same doses (ig) for 30 d suppressed the left paw swelling, the secondary inflammation, and reduced the scores of polyarticular arthritis markedly. QFXTW 0.78 and 2.34 g·kg⁻¹ also decreased the serum levels of IL-1 and TNF α . **CONCLUSION** QFXTW has therapeutic effect on experimental AA in rats.

Key words: Qufeng Xitong Wan; therapeutic use; arthritis, experimental

* Corresponding author.

(本文编辑 齐春会)