

桑当对痛风性关节炎大鼠滑膜组织 ICAM-1 与 NF- κ B 表达的影响

王仁媛*, 吴萍, 杨艳, 张广梅, 赵协慧
(青海大学医学院, 西宁 810001)

[摘要] 目的:研究桑当防治急性痛风性关节炎的作用机制。方法:采用尿酸钠结晶致急性痛风性关节炎大鼠模型,每日 ig 桑当(120, 60 mg·kg⁻¹),秋水仙碱(0.28 mg·kg⁻¹),连用 7 d 后组织取材,制备标本,应用 ELISA 法测定滑膜组织中黏附分子 1 (ICAM-1)与核转录因子 κ B(NF- κ B)的水平,观察桑当对 ICAM-1 与 NF- κ B 表达的影响。结果:正常组、模型组、桑当低、高剂量组、秋水仙碱组 ICAM-1 分别为(142.83 ± 22.30), (376.00 ± 20.99), (292.67 ± 24.78), (202.50 ± 27.03), (179.17 ± 28.19) μ g·L⁻¹; NF- κ B 分别为(856.67 ± 50.84), (3 023.83 ± 121.73), (2 685.33 ± 189.85), (1 684.25 ± 206.62), (1 566.17 ± 206.05) ng·L⁻¹。模型组 ICAM-1, NF- κ B 水平较正常组明显增高($P < 0.01$);桑当低、高剂量组均可显著降低二者的表达。结论:桑当能降低大鼠滑膜组织中 ICAM-1 与 NF- κ B 的异常表达与激活,这可能是其防治痛风性关节炎的作用机制之一。

[关键词] 桑当;急性痛风性关节炎;黏附分子;核转录因子

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)15-0257-03

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120523.1449.015.html>

[网络出版时间] 2012-05-23 14:49

Effect of Polygonum Sangdang on the Expression of ICAM-1 and NF- κ B in Synovial Membrane of Rats with Acute Gouty Arthritis

WANG Ren-ai*, WU Ping, YANG Yan, ZHANG Guang-mei, ZHAO Xie-hui
(Qinghai University Medical College, Xining 810001, China)

[收稿日期] 20120220(180)

[基金项目] 青海大学中青年基金[2010-QY-03]

[通讯作者] *王仁媛,教授,医学硕士,从事中藏药药理研究与临床应用, Tel: 18997062492, E-mail: wra-6@163.com

本研究显示:在兔急性痛风性关节炎模型,蒲灰散合四妙散可改善模型动物关节滑膜炎反应、滑膜细胞增生、小血管增生及纤维蛋白渗出等病理改变,并降低关节肿胀度,且呈一定的剂量依赖性;高剂量可使关节腔白细胞数及血清尿酸水平降低,表明蒲灰散合四妙散对微晶型尿酸钠致家兔急性痛风性关节炎具有一定的治疗作用。

[参考文献]

[1] Coderre T J, Wall P D. Ankle joint urate arthritis in rat: an alternative animal model of arthritis to that produced by freund's adjuvant [J]. Pain, 1987, 28:379.
[2] 中华人民共和国卫生部药政局. 中药新药研究指南(药学,药理学,毒理学)[S]. 1997:120.

[3] 张均田. 现代药理实验方法[M]. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1998:1156.
[4] 柳景红,祁开泽,吴涛,等. 痛风速效灵对急性痛风性关节炎模型大鼠步态和关节组织形态学影响的实验研究[J]. 现代中西医结合杂志,2007,16(5):592.
[5] 陈江非,熊屹,程志刚,等. 金黄膏外敷治疗急性痛风性关节炎 45 例疗效观察[J]. 辽宁中医杂志,2010,37(2):286.
[6] 郑欢,罗明. 选择性 COX2 抑制剂的心血管风险评价[J]. 中国临床药理学杂志,2007,16(5):332.
[7] 徐建钟,郑冲,朱隽科,等. “黑敷药”外敷治疗急性痛风性关节炎 60 例临床观察[J]. 江苏中医药,2010,48(8):33.
[8] 施桂英. 痛风一降尿酸治疗的新策略[J]. 中华风湿病学杂志,2007,11(3):129.

[责任编辑 何伟]

[Abstract] Objective: To study Sangdown's mechanism for prevention and treatment of acute gouty arthritis. **Method:** Sodium urate crystal was used to induce rat model of acute gouty arthritis. Rats were daily ig given Sangdown ($120, 60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), colchicine ($0.28 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) for 7 days. Afterwards, tissue specimens were prepared. The level of synovial tissue adhesion molecule 1 (ICAM-1) and nuclear factor kappa B (NF-kappa B) was measured by ELISA determination. **Result:** In the normal group, model group, Sangdown low and high dose groups, colchicine group, ICAM-1 were (142.83 ± 22.30) (376.00 ± 20.99) (292.67 ± 24.78) (202.50 ± 27.03) (179.17 ± 28.19) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ respectively and NF- κ B were (856.67 ± 50.84), ($3\ 023.83 \pm 121.73$), ($2\ 685.33 \pm 189.85$), ($1\ 684.25 \pm 206.62$) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, ($1\ 566.17 \pm 206.05$) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ respectively. ICAM-1, NF- κ B in model group were significantly higher than those in the normal group ($P < 0.01$); Sangdown (low and high dose) could significantly reduce the expression of the two. **Conclusion:** Sandown can reduce ICAM-1 and NF- κ B in synovial tissue in rats. This may be one of the mechanisms for prevention and treatment of gouty arthritis.

[Key words] Sangdang; acute gouty arthritis; adhesion molecule; nuclear factor

桑当在诸藏医方中记载有“干黄水”之功,主要治疗关节“黄水”增盛引起的关节红肿疼痛,实验证明其能降低血尿酸^[1]。本实验通过观察桑当对关节局部细胞黏附分子-1(ICAM-1)与核转录因子- κ B(NF- κ B)表达的影响,探讨其治疗痛风性关节炎的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物 清洁级 SD 大鼠,雄性,体重(180 ± 20) g,由青海省地方病预防控制所提供,许可证号医动字第 067 号。

1.2 药物与试剂 桑当药材由青海省西宁市八一路中藏药材市场购得,桑当为患子科植物文冠木 *Xanthoceras sorbifolia* Bunge 的树枝^[2],经青海大学医学院魏全嘉教授鉴定。剂量以生药计算,桑当粗粉碎后水煎制成 $12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (高剂量)和 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (低剂量)的水煎液。阳性药物秋水仙碱片由云南制药有限公司生产,批号 20100106。ICAM-1 与 NF- κ B 试剂盒均由上海申科生物科技有限公司提供,批号 20100721,20110304。造模剂尿酸钠参照文献^[3]制成 2% 的尿酸钠溶液。

1.3 分组、造模^[4]与给药 取 SD 大鼠 100 只,随机分为正常组、模型组、桑当高、低剂量组($120, 60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、秋水仙碱组($0.28 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),每组 20 只。除正常组外,其余 4 组大鼠右侧后膝关节周围剃毛,医用乙醇消毒皮肤,轻度弯曲膝关节,经关节正中进针,用 TB 注射器 6 号针头将 2% 尿酸钠晶体溶液 0.2 mL 通过髌上韧带注入大鼠膝关节腔。正常组注射等体积生理盐水,1 次/d,共 3 次。造模结束后,药物组大鼠开始 ig 相应的药物 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,正常对照组和模型组 ig 等容积生理盐水,连续 7 d。

1.4 组织取材 末次给药 1 h 后,断头处死大

鼠,切取膝关节,剔除肌肉和血管,置冰蒸馏水中漂洗 10 min,取出称重,加入冰生理盐水,在组织匀浆器中研磨约 5 min,制成匀浆, $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液,入 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱冻存待测。

1.5 关节滑膜 ICAM-1, NF- κ B 检测 均系用 ELISA 法,严格按照说明书进行:向包被有特异性抗体的塑料板凹孔内加入 $50 \mu\text{L}$ 血清;加 $50 \mu\text{L}$ 生物素标记的第 2 抗体,室温下孵育 90 min,用洗板机洗板 4 次;加 $100 \mu\text{L}$ 链亲和素标记的辣根过氧化物酶,室温下孵育 1 h,用洗板机洗板 4 次;加 $100 \mu\text{L}$ 底物,室温下孵育 0.5 h;加 $100 \mu\text{L}$ 终止液,即刻在酶标仪 450 nm 处读取吸光度(A),在标准曲线上查出其浓度。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 14.0 统计软件,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 t 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况观察 造模 2 h 开始,大鼠膝关节外观红、肿、热,功能障碍,活动受限;正常组大鼠关节与注射前比略有增粗,无红、热及功能障碍。

2.2 滑膜组织中 ICAM-1, NF- κ B 的变化 模型组动物滑膜组织中 ICAM-1, NF- κ B 水平与正常组比较明显升高($P < 0.01$);与模型组比较,桑当高、低剂量组,秋水仙碱组 ICAM-1, NF- κ B 水平明显降低($P < 0.01$),其中除阳性对照组外,桑当高剂量组水平降低更明显。见表 1。

3 讨论

近年来随着人们生活水平的提高,嘌呤类食物摄入增多,痛风的发病率逐年升高。痛风患者最初的临床表现是反复发作的急性痛风性关节炎,关节

表1 桑当对痛风性关节炎大鼠关节滑膜组织中 ICAM-1, NF- κ B 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=20$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	ICAM-1 /μg·L ⁻¹	NF- κ B /ng·L
正常对照	-	142.83 ± 22.30	856.67 ± 50.84
模型对照	-	376.00 ± 20.99 ¹⁾	3 023.83 ± 121.73 ¹⁾
桑当	60	282.67 ± 24.78 ^{1,2)}	2 685.33 ± 189.85 ^{1,2)}
	120	212.50 ± 27.03 ^{1,2)}	1 684.25 ± 206.62 ^{1,2)}
秋水仙碱	0.28	179.17 ± 28.19 ^{1,2)}	1 566.17 ± 206.05 ^{1,2)}

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.01$ 。

局部的炎症是中性粒细胞介导的炎症。中性粒细胞激活后与血管内皮细胞黏附并进入滑膜组织中,不仅造成炎细胞在局部大量浸润,同时引起滑膜细胞与炎症细胞、滑膜细胞与细胞外基质黏附,造成滑膜增生,由此而引发局部肿胀疼痛^[5]。因此中性粒细胞穿过血管内皮细胞向炎症部位游走是炎症损伤的首要病理过程,而炎细胞进入滑膜以及滑膜细胞的黏附与增生是关键性病理环节。介导细胞与细胞间、细胞与基质间的黏附,以及调控细胞增生的则为细胞黏附分子^[5]。

ICAM-1 与炎症细胞的黏附、浸润过程关系密切^[6]。正常情况下 ICAM-1 表达较弱,当受到 TNF- α , IL-1 等细胞因子刺激时表达显著增强。ICAM-1 大量活化后与其受体结合,促进炎症细胞从血管内皮向炎症部位浸润,造成炎症细胞在炎症部位的不间断补充和大量积聚,并在此基础上介导滑膜细胞与炎症细胞、滑膜细胞与细胞基质的黏附,从而导致滑膜炎症的持续增强及滑膜增生。NF- κ B 是位于细胞质内的一种调节蛋白,正常情况下 NF- κ B 处于未活化状态。关节炎病理发展过程 NF- κ B 激活后,即从细胞质进入细胞核,与 ICAM-1 启动子的 κ B 位点结

合,启动 ICAM-1 基因转录,使 ICAM-1 持续过度表达,造成大量的炎性细胞积聚浸润于炎症部位,引起炎症反应的持续和放大^[6]。

目前对痛风有效的西药因毒副作用,其临床应用受到较大限制,而中藏药防治痛风有明显优势。藏药桑当经临床观察,对各类关节炎效用可靠,作用持久,安全性好^[7]。本实验结果显示桑当通过抑制 NF- κ B 的活化、降低 ICAM-1 的表达,延缓了炎症细胞的积聚、黏附等环节,为其治疗痛风性关节炎提供了更多的理论依据。

[参考文献]

- [1] 聂颖,浦平,邓萍. 桑当降低高尿酸血症小鼠血清尿酸的物质基础初步研究[J]. 中国药业, 2010, 19(16):18.
- [2] 中国科学院西北高原研究所. 藏药志[M]. 西宁:青海人民出版社,1996:405.
- [3] Coderre T J, Wall P D. Ankle joint arthritis in rats provide a useful tool for the evaluation of analgesic and antiarthritic agents [J]. Pharm Biochem Behav, 1988, 29:261.
- [4] Mc C F N, Allen J B, Mizel D I, et al. Superssion of Arithritis by an inhibitor of itricoxid-esyntase [J]. JEXPM, 1993, 1178(8):74.
- [5] 王斌,侯建平,李敏,等. 虎杖提取物对模型大鼠滑膜组织黏附分子与核转录因子表达的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2008, 19(6):434.
- [6] 郭英. 细胞黏附分子-1 研究进展[J]. 陕西医学杂志, 2008, 37(4):492.
- [7] 尕日毛. 藏药桑当聂裁治疗类风湿性关节炎 210 例[J]. 中国民族医药杂志, 2004, 10(1):9.

[责任编辑 何伟]