

## ◆ 实验研究 ◆

痛风泰颗粒对急性痛风大鼠 IL-1、IL-6 及 TNF- $\alpha$  含量的影响张剑勇<sup>1</sup>, 王辉<sup>2</sup>, 谢静静<sup>1</sup>, 肖敏<sup>1</sup>, 李丹<sup>1</sup>

1. 深圳市中医院, 广东 深圳 518033; 2. 深圳市宝安区中医院, 广东 深圳 518100

**[摘要]** 目的: 观察痛风泰颗粒对急性痛风大鼠炎症因子白细胞介素-1 (IL-1)、白细胞介素-6 (IL-6) 及肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 含量的影响, 探讨痛风泰颗粒治疗痛风的可能作用机理。方法: 将 36 只 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、痛风泰颗粒组、戴芬组, 除空白组外, 其他三组建立急性痛风性关节炎的病理模型。造模成功后, 分别药物干预 7 天, 观察各组实验大鼠造模前后关节肤色、肤温、肿胀等情况, 应用酶联免疫法 (ELISA) 检测大鼠右内踝关节液中的 IL-1、IL-6 的含量和血清中 TNF- $\alpha$  含量。结果: 与空白组比较, 模型组 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$  的含量显著升高 ( $P < 0.05$ ), 提示急性痛风模型造模成功。与模型组比较, 痛风泰颗粒组和戴芬组 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$  的含量显著下降, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。痛风泰颗粒组与戴芬组比较, 差异无统计学意义。结论: 痛风泰颗粒可能是通过抑制炎症因子 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$  的释放来治疗痛风。

**[关键词]** 痛风泰颗粒; 急性痛风; 白细胞介素-1 (IL-1); 白细胞介素-6 (IL-6); 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ); 动物实验; 大鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标志码] A [文章编号] 0256-7415 (2016) 12-0201-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2016.12.086

Effect of Tongfengtai Granules on Contents of IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  in Acute Gout Rat

ZHANG Jianyong, WANG Hui, Xie Jingjing, XIAO Min, LI Dan

**Abstract:** Objective: To observe the effect of Tongfengtai granules on contents of Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-6 (IL-6), Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in acute gout rat, discuss possible Mechanism. Methods: Thirty-six Sprague-Dawley (SD) rats were divided into the blank group, model group, tongfengtai granules group, difene group randomly. Except blank group, the other three groups were induced to pathological model with acute gouty arthritis. After successful modeling, seven-day drug intervention was given separately. Observed joint skin tone, skin temperature, swelling of experimental rats. Applied enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to test IL-1, IL-6 contents in right ankle joint fluid, and TNF- $\alpha$  contents in serum. Results: Compared with the blank group, contents of IL-1, IL-6, and TNF- $\alpha$  in model group were increased significantly ( $P < 0.05$ ), suggesting the success of acute gout model. Compared with the model group, contents of IL-1, IL-6, and TNF- $\alpha$  in tongfengtai granules group and difene group were decreased significantly ( $P < 0.05$ ). Compared tongfengtai granules group with difene group, the difference was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). Conclusion: Tongfengtai granules may treat gout by inhibiting release of inflammation factor IL-1, IL-6 and TNF- $\alpha$ .

**Keywords:** Tongfengtai granules; Acute gout; Interleukin-1 (IL-1); Interleukin-6 (IL-6); Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ); Animal experiment; Rat

痛风是由于嘌呤代谢紊乱和(或)尿酸排泄障碍, 血尿酸水平增高, 导致尿酸盐结晶沉积在关节及关节周围组织所引起的特征性关节炎。西药虽然能够较快控制临床症状, 改善关节

活动功能, 但长期服药的副作用致使患者依从性下降, 不利于病情的控制。本研究旨在通过观察痛风泰颗粒对急性痛风大鼠模型炎症因子白细胞介素-1 (IL-1)、白细胞介素-6 (IL-6) 及肿

[收稿日期] 2016-07-06

[基金项目] 深圳市科技研发资金项目 (JCYJ20130329155553735)

[作者简介] 张剑勇 (1964-), 男, 主任医师, 研究方向: 中医风湿病。

[通讯作者] 谢静静, E-mail: xiaotu0901@126.com.

瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )含量的影响,探讨该方治疗急性痛风的可能作用机理,为其临床运用提供客观的实验依据。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 SD大鼠36只,雄性,体重160~200 mg,购自广东省动物实验中心(动物使用许可证号:SCXK(粤)2008-0002)。36只大鼠随机分为空白组、模型组、痛风泰颗粒组、戴芬组,每组9只。

1.2 药物制备 痛风泰颗粒(土茯苓45 g,川萆薢30 g,秦艽15 g,山慈菇、赤芍、川牛膝各10 g,山茱萸6 g),由深圳市中医院提供,江阴天江药业有限公司生产,产品批号为1306302。各药混匀后用开水搅拌,制成1 g/mL的混悬液。双氯芬酸钠双释放肠溶胶囊(商品名:戴芬,75 mg/粒)由Temmler Werke GmbH生产,产品批号为109361,由深圳市中医院提供,加入生理盐水配成0.5 mg/mL的混悬液。尿酸钠溶液的制备:称取2500 mg尿酸钠结晶(由SIGMA CHEMICAL CO生产,购于北京化学试剂公司,批号:120k5305)加入100 mL生理盐水,加温搅拌制成浓度为25 mg/mL的尿酸钠溶液,保存于4℃冰箱,用前摇匀。

1.3 主要试剂 IL-1、IL-6 ELISA试剂盒(英国abcam生物试剂有限公司提供,批号:YI091519DS);TNF- $\alpha$  ELISA试剂盒,Rat TNF- $\alpha$  Platinum ELISA(美国e-Bioscience)。

1.4 主要仪器 全自动酶标仪、电子天平、85V34超低温冰箱、水套式CO<sub>2</sub>培养箱、MK3型酶标仪、GL-20A型离心机、操作台、培养板等。均由深圳市中医院临床细胞分子实验室提供。

1.5 模型的制备 按照Mc Carty DJ经典造模方法<sup>[1]</sup>:各实验组大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉,选右踝关节外侧后方为穿刺点,针口斜面朝前上方与胫骨成45°夹角穿入踝关节腔,以4.5号针头向关节腔注入尿酸钠溶液50  $\mu$ L,以关节囊对侧鼓起为标准,建立急性痛风性关节炎的病理模型。模型组:只造模,不用药。空白组:不造模,不用药,依上法注射50  $\mu$ L灭菌注射用水。

1.6 给药及取材 4组实验大鼠适应性饲养1周后,分别按上述方法造模。造模成功后,分别予空腹灌胃药物。痛风颗粒组灌胃痛风泰颗粒混悬液,戴芬组灌胃戴芬混悬液,模型组灌胃生理盐水,空白组予常规饲养,不作处理。7天后检测大鼠右内踝关节液中的IL-1、IL-6及血清中TNF- $\alpha$ 的含量。按照熊远珍<sup>[2]</sup>提出的实验动物与人用药量的新换算标准,换算系数为0.16,所灌胃戴芬混悬液按9.375 mg/kg计算,痛风泰颗粒混悬液按10 mL/kg剂量灌胃,每天1次,7天后取材。取材方法:麻醉后固定,切开右内踝关节的关节囊,用少量生理盐水灌洗关节腔,收集关节液放置于-20℃冰箱中保存待检测<sup>[3]</sup>;断尾采血2 mL分离血清,保存于-20℃冰箱中,测定TNF- $\alpha$ 含量。

1.7 观测指标与方法 观察各组大鼠造模前后关节肤色、皮温、肿胀情况;活动情况;关节积液颜色、清亮度。测定大鼠IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 的含量,采用ELISA法。具体检测步骤、方法按试剂盒说明书进行操作。

1.8 统计学方法 所有数据均采用SPSS 13.0统计软件进行分析,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用单因素方差分析,组间比较选用 $t$ 检验。

## 2 结果

2.1 一般情况结果 痛风颗粒组、戴芬组、模型组大鼠右踝关节腔注入尿酸钠溶液1 h后即逐渐出现关节红肿,皮温升高,步态不稳。灌胃1周后,痛风泰颗粒组、戴芬组大鼠的红肿状况皆逐渐减轻,皮温逐渐降低,步态渐稳,关节液无色透明、质清,而模型组关节仍有红肿,步态不稳,关节液呈草黄色、质稍浊。空白组实验前后关节、步态无明显变化。

2.2 各组大鼠IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 含量比较 见表1。与空白组比较,模型组IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 的含量显著升高( $P < 0.05$ ),提示急性痛风模型造模成功。与模型组比较,痛风泰颗粒组和戴芬组IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 的含量显著下降,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。痛风泰颗粒组与戴芬组比较,差异无统计学意义。

表1 各组大鼠IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 含量比较( $\bar{x} \pm s$ , ng/L)

组别	$n$	IL-1	IL-6	TNF- $\alpha$
空白组	9	0.056 $\pm$ 0.086	136.03 $\pm$ 3.52	60.75 $\pm$ 15.08
模型组	9	0.125 $\pm$ 0.013 <sup>①</sup>	161.85 $\pm$ 1.07 <sup>①</sup>	109.86 $\pm$ 19.05 <sup>①</sup>
痛风泰颗粒组	9	0.064 $\pm$ 0.020 <sup>②</sup>	143.65 $\pm$ 2.79 <sup>②</sup>	46.35 $\pm$ 4.52 <sup>②</sup>
戴芬组	9	0.062 $\pm$ 0.014 <sup>②</sup>	141.86 $\pm$ 3.05 <sup>②</sup>	47.02 $\pm$ 5.53 <sup>②</sup>

与空白组比较,① $P < 0.05$ ;与模型组比较,② $P < 0.05$

## 3 讨论

痛风急性发作的机制是尿酸生成过多或/和尿酸排泄减少导致尿酸盐沉积,诱发炎症因子白三烯和糖蛋白化学趋化因子的释放,从而引发炎症反应,导致痛风性关节炎的急性发作。近年来,随着痛风的发病机制在分子生物学和免疫学方面研究的深入,发现在急性炎症过程中,炎症细胞、免疫球蛋白和细胞因子也随之发生了一系列变化。研究发现,中医药可以较明显的控制血白细胞介素-1(IL-1),白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ),白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、前列腺素E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)、细胞间黏附因子-1(ICAM-1)等细胞因子的水平,降低其表达,进而控制其炎症效应,改善症状<sup>[4-8]</sup>。

中医学认为,痛风的发生,内因多为先天禀赋不足,或过食肥甘,脾失健运,痰湿内生,湿久蕴热,气血运行不畅,热邪壅滞经络关节而致;外因为风、寒、湿之邪侵袭,留着于肢体、筋骨、关节,日久化热,湿热邪气痹阻经络和关节,不通则痛,发为本病。张剑勇教授根据多年的临床实践,使用痛风

泰颗粒治疗痛风湿热蕴结证,取得了较显著的疗效。痛风泰颗粒由土茯苓、萆薢、川牛膝、秦艽、山慈菇、赤芍、山茱萸组成。方中秦艽祛风湿,舒筋通络,止痹痛;土茯苓、萆薢健脾利水,清热解毒,祛湿降浊;山慈菇清热解毒,宣痹止痛;赤芍清热凉血、祛瘀止痛;山茱萸、川牛膝补肝肾、强筋骨、利关节。诸药合用,能使正气充盛,湿热浊邪得以排出,共奏清热祛湿、解毒化浊之功。全方清凉而不冰,化湿而不燥,宣透而不峻,祛邪不伤正,扶正不恋邪,标本兼治,阴阳并调。现代中药药理研究表明,山慈菇中含有秋水仙碱成分,能迅速消炎止痛,对急性痛风有特效<sup>[9]</sup>;土茯苓、萆薢<sup>[10-11]</sup>能降低尿酸;秦艽能溶解尿酸,缓解疼痛症状<sup>[12]</sup>;山茱萸能降低尿蛋白,改善肾功能<sup>[13]</sup>。既往研究发现,痛风泰颗粒对 IL-1 $\beta$ 、IL-8、ICAM-1、TNF- $\alpha$  的表达均具有抑制作用<sup>[4-5]</sup>。

本次研究显示,尿酸钠所致的大鼠局部关节红肿、皮温升高及步态不稳,与人类急性痛风性关节炎发作时所表现的红肿热痛、活动受限等症状相似。经过药物干预后,痛风颗粒组关节肿胀程度可明显减轻,步态渐稳,而且与模型组比较,IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$  水平呈低表达,提示痛风泰颗粒治疗急性痛风性关节炎是有效的。痛风颗粒组与戴芬组比较,二者在减轻关节肿痛、改善步态及降低 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$  水平方面均具有明显的疗效,提示两者作用效果相当。痛风泰颗粒治疗急性痛风性关节炎的作用机制可能是与抑制 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$  的表达相关,但其具体作用机理还有待进一步去证实。

#### [参考文献]

- [1] McCareng- Francis N, Allen JB, Mizel DI, et al. Suppression of arthritis by an inhibitor of nitric oxide synthase[J]. J Exp Med, 1993, 178(2): 749-754.
- [2] 熊远珍. 实验动物与人用药量的新换算[J]. 南昌大学学报:医学版, 1997(4): 41.
- [3] 陈德黎. 痛风泰颗粒剂对痛风兔 IL-1 $\beta$ 、IL-8 的影响及临床研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2009.
- [4] 张剑勇, 刘题章, 邱侠, 等. 痛风泰颗粒对兔滑膜细胞 IL-8 和 ICAM-1 表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(11): 2491-2492.
- [5] 张剑勇, 刘题章, 邱侠, 等. 痛风泰颗粒对兔滑膜细胞 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  表达的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2011, 6(3): 103-105.
- [6] 曹世霞, 祝捷, 张三印, 等. 秦皮总香豆素对急性痛风性关节炎大鼠模型 IL-1 $\beta$ 、IL-8、TNF- $\alpha$  的影响[J]. 四川中医, 2011, 29(3): 68-70.
- [7] 陈光亮, 吕红霞, 王媛媛, 等. 萆薢牛膝总皂苷对尿酸钠诱导的大鼠急性痛风性关节炎的防治作用[J]. 中药药理与临床, 2010, 26(1): 34-37.
- [8] 佟颖, 孟洁, 金汤. 痹宁胶囊对急性痛风性关节炎大鼠模型 IL-1 及 MMP-9 的研究[J]. 世界中医药, 2013, 5(8): 543-545.
- [9] 石瑶, 杨亚玲, 李晚谊, 等. 双水相萃取丽江山慈菇中的秋水仙碱[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(10): 1412-1416.
- [10] 郭淑云, 张薇, 张琰. 土茯苓对高尿酸症小鼠血清尿酸的影响[J]. 中国药业, 2012, 21(13): 3-4.
- [11] 费洪荣, 毛幼桦, 朱玮, 等. 粉萆薢降尿酸作用研究[J]. 医药导报, 2007, 26(11): 1270-1272.
- [12] 刘颖, 郑立运, 崔立然. 秦艽抗大鼠高尿酸血症作用机制研究[J]. 中国医学创新, 2013, 10(22): 143-144.
- [13] 黄黎明, 石晓强, 梁恒. 黄芪、山茱萸对肾炎小鼠尿蛋白谱的影响[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(13): 1324-1328.

(责任编辑:冯天保,郑锋玲)