

本文引用:赵用,刘佳,马宝东,陈岩松,张宏,乔敏,甘雨.苓泽合剂对急性痛风性关节炎大鼠血清IL-6、TNF- $\alpha$ 含量的影响[J].湖南中医药大学学报,2019,39(1):28-31.

## 苓泽合剂对急性痛风性关节炎大鼠血清 IL-6、TNF- $\alpha$ 含量的影响

赵用,刘佳,马宝东\*,陈岩松,张宏,乔敏,甘雨  
(辽宁中医药大学附属第二医院风湿科,辽宁沈阳110034)

**[摘要]** **目的** 观察苓泽合剂对尿酸钠诱导的大鼠痛风性关节炎的抗炎作用,并探讨其作用机制。**方法** 将80只Wistar大鼠随机分为空白组、模型组、芬必得组、苯溴马隆组、痛风定组及苓泽合剂低、中、高剂量组,每组10只。用尿酸钠诱导大鼠痛风性关节炎,测定血清中白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )的含量。**结果** 与模型组比较,各给药组血清中IL-6与TNF- $\alpha$ 的含量均显著降低( $P<0.01$ )。苓泽合剂中剂量组、高剂量组与低剂量组比较,血清中IL-6、TNF- $\alpha$ 的含量明显下降( $P<0.05$ )。**结论** 苓泽合剂可抑制急性痛风性关节炎大鼠IL-6、TNF- $\alpha$ 的表达,治疗痛风性关节炎。

**[关键词]** 苓泽合剂;痛风性关节炎;IL-6;TNF- $\alpha$ 。

**[中图分类号]** R285.5;R684.3

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2019.01.007

### Effect of Lingze Mixture on Serum Levels of IL-6 and TNF- $\alpha$ in Rats with Acute Gouty Arthritis

ZHAO Yong, LIU Jia, MA Baodong\*, CHEN Yansong, ZHANG Hong, QIAO Min, GAN Yu

(Department of Rheumatology, The Second Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, Liaoning 110034, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the anti-inflammatory effect of Lingze Mixture on monosodium urate (MSU) crystal-induced gouty arthritis in rats and its mechanism of action. **Methods** Eighty Wistar rats were randomly divided into blank group, model group, fenbid group, benzbromarone group, Tongfengding group, and traditional Chinese medicine (TCM) Lingze Mixture groups (low, medium, and high doses), with ten rats in each group. A rat model of gouty arthritis was established by MSU crystals. Then the serum levels of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) were determined. **Results** Compared with the model group, levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  in serum in each model group were significantly decreased ( $P<0.01$ ). Compared with the low-dose Lingze Mixture group, the medium- and high-dose Lingze Mixture groups had significantly reduced serum levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Lingze Mixture can inhibit the expression of IL-6 and TNF- $\alpha$  in rats with acute gouty arthritis, thus achieving the aim of preventing and alleviating gouty arthritis.

**[Keywords]** Lingze Mixture; gouty arthritis; interleukin-6; tumor necrosis factor- $\alpha$

**[收稿日期]** 2017-11-14

**[基金项目]** 辽宁省自然科学基金项目(2013020164)。

**[作者简介]** 赵用,女,在读博士研究生,副主任医师,研究方向:风湿病的诊治。

**[通讯作者]** \*马宝东,男,主任医师, E-mail: 3384932@qq.com。

痛风性关节炎是由于尿酸升高而导致尿酸盐(monosodium urate, MSU)在关节囊、滑囊、软骨、骨质和其他组织中形成微晶体沉淀,引起非特异性的炎症反应<sup>[1]</sup>,MSU在关节周围组织沉积,刺激局部组织细胞膜形成破裂,引起白细胞的活化和吞噬,产生大量炎症细胞,释放白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等细胞因子,导致如局部血管扩张、白细胞集聚、血浆渗出、渗透性增加等一系列的连锁炎症反应,局部组织易被溶解侵蚀,使痛风性关节炎患者出现剧烈疼痛,局部红肿发热的症状<sup>[2-4]</sup>。本病在中医学属于“历节病”“痹证”等范畴<sup>[5]</sup>,苓泽合剂为我院协定方,临床用治痛风性关节炎十余年,由土茯苓、泽泻、苍术等9味中药组成,有清热消肿、利湿除痹、通络止痛之功。本实验采用MSU引起急性痛风性关节炎动物模型<sup>[6]</sup>,观察苓泽合剂对急性痛风性关节炎大鼠血清中IL-6和TNF- $\alpha$ 含量的影响,以探讨苓泽合剂对痛风性关节炎治疗的部分作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

80只健康雄性Wistar大鼠,质量(200 $\pm$ 20)g,由辽宁长生生物技术有限公司购入,公司许可证号:SCXK(辽)2015-0001。

### 1.2 实验药物

苓泽合剂(组成:土茯苓30g,泽泻30g,川黄柏20g,苍术15g,知母25g,生姜10g,当归20g,白芍15g,红花15g),由辽宁中医药大学制剂中心制备,生药浓度4.3g/mL;芬必得,由中美天津史克制药有限公司生产,批号:16110441,规格:0.3g/粒;苯溴马隆片,Excelsa GmbH(德国,昆山龙灯瑞迪制药有限公司分装),批号:1604591,规格:50mg/片;痛风定胶囊,四川升和药业股份有限公司,批号:1609104,规格:0.4g/粒;尿酸钠,美国Sigma公司,批号:1122B052,规格:10mg/瓶。

### 1.3 仪器与试剂

BS6005型电子天平(上海友声衡器有限公司),BSZOOS型电子天平(北京赛多利斯天平有限公

司),RB-200型智能热板仪(淮北正华生物仪器有限公司),UV1700紫外可见分光光度计(日本岛津公司),Anke TDL-60C离心机(上海安亭科学仪器厂),IL-6、TNF- $\alpha$ 试剂盒(北京奇松生物科技有限公司)。

### 1.4 造模方法

取尿酸钠研磨成粉,过筛,用灭菌注射用水制成100mg/mL尿酸钠溶液。参考相关文献<sup>[6]</sup>,在无菌条件下,模型组和各给药组将配制好的尿酸钠溶液0.1mL用6号注射针注入大鼠右后足跖皮下。空白组大鼠给予同体积生理盐水。

### 1.5 给药方法

按照“人与动物体表面积换算的等效剂量”换算方法计算大鼠给药量,将80只大鼠按每组10只随机分成空白组、模型组、芬必得组(0.144g/kg)、苯溴马隆组(18mg/kg)、痛风定组(0.86g/kg)、苓泽合剂中剂量组(33.30g/kg)、低剂量组(50%中剂量组药量,即16.65g/kg)、高剂量组(200%中剂量组药量,即66.60g/kg)。给药组大鼠按上述剂量口服给予相应药物20mL/kg,空白组和模型组给予同体积的蒸馏水,1次/d,连续给药7d。末次给药后30min造模,24h后取血检测相应检查指标。

### 1.6 指标检测

造模后4h眼眶取血2mL,以4000r/min离心15min,按试剂盒检测步骤及方法,采用酶联免疫法(ELISA)成批检测大鼠血清中IL-6、TNF- $\alpha$ 的含量。

### 1.7 统计学处理

运用SPSS 17.0统计学软件进行实验数据分析,计量资料用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,采用单因素方差分析比较多组样本的差异,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

与空白组相比较,模型组血清IL-6、TNF- $\alpha$ 含量均显著升高( $P<0.05$ ),表明造模成功;与模型组相比较,各给药组血清中IL-6、TNF- $\alpha$ 含量均显著降低( $P<0.01$ );与苓泽合剂低剂量组比较,苓泽合剂中、高剂量组血清中IL-6、TNF- $\alpha$ 含量显著降低( $P<$

0.05); 苓泽合剂中剂量组和高剂量组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结果见表1。

表1 各组急性痛风性关节炎大鼠血清 IL-6、TNF- $\alpha$  含量的变化( $n=10, \bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$ )

组别	IL-6	TNF- $\alpha$
空白组	122.12 $\pm$ 29.31	78.55 $\pm$ 2.24
模型组	291.31 $\pm$ 15.75*	112.75 $\pm$ 8.06*
苓泽合剂低剂量组	174.30 $\pm$ 13.78 <sup>##</sup>	103.98 $\pm$ 7.55 <sup>##</sup>
苓泽合剂中剂量组	146.68 $\pm$ 12.63 <sup>##<math>\Delta</math></sup>	92.01 $\pm$ 3.40 <sup>##<math>\Delta</math></sup>
苓泽合剂高剂量组	132.81 $\pm$ 15.75 <sup>##<math>\Delta</math></sup>	82.79 $\pm$ 2.59 <sup>##<math>\Delta</math></sup>
芬必得组	156.96 $\pm$ 12.69 <sup>##</sup>	98.73 $\pm$ 9.40 <sup>##</sup>
苯溴马隆组	265.99 $\pm$ 21.60 <sup>##</sup>	105.34 $\pm$ 4.61 <sup>##</sup>
痛风定组	159.47 $\pm$ 27.19 <sup>##</sup>	102.27 $\pm$ 3.17 <sup>##</sup>

注:与空白组比较,\* $P<0.05$ ;与模型组比较,## $P<0.01$ ;与苓泽合剂低剂量组比较, $\Delta P<0.05$

### 3 讨论

现代研究认为,急性痛风性关节炎的根本原因是高尿酸血症及其导致的关节局部 MSU 结晶的析出。在急性痛风性关节炎的发生及发展过程中,作为炎症趋化因子和激活因子的 IL-6、TNF- $\alpha$  起重要作用。IL-6 是多功能炎性细胞因子,是炎症介质网络的关键成分,在炎症反应中起重要作用。IL-6 不仅参与炎症反应,增加滑膜组织的炎症细胞,而且直接导致炎症,同时也通过促进其他炎症介质的释放间接导致炎症,并可趋化激活中性粒细胞。由此可见,IL-6 既是炎症反应的重要介质,更是调节炎症的始动因素,在急慢性痛风性关节炎的病程中,都起着极为重要的作用,更有学者将 IL-6 作为判断痛风性关节炎疾病活动性和严重程度的指标<sup>[7]</sup>。TNF- $\alpha$  主要由单核巨噬细胞和中性粒细胞分泌,为介导炎症反应的核心物质和前炎症网链中的一级细胞因子。一般认为,中性粒细胞、内皮细胞黏附是急性痛风性关节炎产生的本质,TNF- $\alpha$  可增加中性粒细胞的募集,上调内皮细胞选择素活性,使中性粒细胞和内皮细胞表面的黏附分子结合,为促炎症介质,可对局部部位产生浸润,导致炎性介质释放,引起关节局部如红肿热痛等炎症反应。TNF- $\alpha$  水平的变化既是急性痛风性关节炎发病的机制,也可反映关节炎反应的轻重,已被用于治疗痛风药物疗效评价<sup>[8-9]</sup>。

由上述发病机制可见,IL-6、TNF- $\alpha$  在痛风性关节炎的炎症病情中发挥着重要的作用。因此,抑制两者产生并阻断其所介导和激发的炎症过程,对缓解急性痛风性关节炎病情有积极意义。

中医学认为本病的病因或为饮食不节,嗜食肥甘厚味;或为脾肾亏虚,导致湿热内蕴,由外感风寒或日久化瘀,致营卫行涩,湿热瘀阻,经络不通,痹阻经络<sup>[10]</sup>。治疗应以清热消肿、利湿除痹、通络止痛为主。苓泽合剂由土茯苓、泽泻、知母、苍术、川黄柏、当归、红花、生姜和白芍九味中药组成。方中土茯苓、泽泻清热、消肿、利湿,为君药,两者均具有较强的抗炎作用,土茯苓镇痛作用较强,泽泻亦可利尿<sup>[11-12]</sup>。知母、苍术、川黄柏清热、利湿,为臣药。三者均有减轻炎症损伤的药理作用,知母还可保护血管内皮、抑制血管通透性、减轻水肿,苍术有明确的抑制 IL-6、TNF- $\alpha$  及 IL-8、PGE2 等炎性因子的作用,川黄柏还可保护肾脏、抑制免疫等<sup>[13-15]</sup>。当归、红花活血除痹、通络止痛,为佐药。两者除减轻炎症损伤及拮抗多种炎症因子外,当归还具有镇痛等功效<sup>[16-17]</sup>。生姜、白芍一温中化湿,一缓急止痛,为使药,两者均具抗炎等功效,白芍还有调和诸药、镇痛、抗自身免疫病等作用<sup>[18-19]</sup>。上述诸药合用,共奏清热消肿、利湿除痹、通络止痛之功,其现代药理学作用也部分揭示苓泽合剂在治疗痛风性关节炎过程中的基本作用机制。

近年来,我国高尿酸血症及痛风的患病率逐年增加。西医目前用于治疗急性痛风性关节炎的药物主要为秋水仙碱和非甾体类抗炎药,其胃肠道不良反应较多,常有肝肾损害,严重者可出现骨髓抑制。中药汤剂苓泽合剂药味组合简单常见,有较高的安全性,且性价比适宜,治疗痛风性关节炎疗效明确,值得临床推广。

### 参考文献

- [1] 刘安宁,张高生,黄晶,等.香芹酚对大鼠痛风性关节炎中血清炎性因子及软骨细胞凋亡的影响[J].临床和实验医学杂志,2017,16(6):531-534.
- [2] TONY M. Genomic Influences on Hyperuricemia and Gout[J]. Rheumatic Disease Clinics of North America, 2017,43(3):389-

- 399.
- [3] 陆小龙,曾朋,向黎黎,等.薏痹历节清酊对大鼠急性痛风性关节炎模型滑膜组织中 ICAM-1、NF- $\kappa$ B 表达的影响[J].湖南中医药大学学报,2017,37(12):1299-1302.
- [4] 周彪,郭玉星,陆小龙,等.薏痹历节清方对大鼠痛风性关节炎关节肿胀指数和滑膜组织中炎症因子的影响[J].云南中医学院学报,2017,40(3):15-18,32.
- [5] 张剑勇,王辉,谢静静,等.痛风泰颗粒对急性痛风大鼠 IL-1、IL-6 及 TNF- $\alpha$  含量的影响[J].新中医,2016,48(12):201-203.
- [6] DHANASEKAR C,RASOOL M. Morin, a dietary bioflavonol suppresses monosodium urate crystal-induced inflammation in an animal model of acute gouty arthritis with reference to NLRP3 inflammasome, hypoxanthine phosphor-ribosyl transferase, and inflammatory mediators[J]. Eur J Pharmacol,2016,7(86): 116-127.
- [7] FERNANDO M, GIEMBYCZ M, MC K. Bidirectional crosstalk via IL-6, PGE2 and PGD2 between murine myofibroblasts and alternatively activated macrophages enhances anti-inflammatory phenotype in both cells [J]. Br J Pharmacol,2016,173 (5): 899-912.
- [8] 刘昌盛,陈昉,何颖,等.白子菜提取物对急性痛风性关节炎大鼠模型抗炎作用的研究[J].湖南中医药大学学报,2016,36(8): 26-29,81.
- [9] GAO F, YANG Y, FENG X, et al. Interleukin-27 is elevated in sepsis-induced myocardial dysfunction and mediates inflammation[J]. Cytokine,2016,8(8): 1-11.
- [10] 谢兴文,王春亮,徐世红,等.忍冬藤痛风颗粒对痛风性关节炎模型大鼠 MMP-3 和 LP-PLA2 的影响 [J]. 中国中医骨伤科杂志, 2016,24(2):6-8.
- [11] 侯玮婷,罗佳波.复方茯苓多糖口服液抗肿瘤作用和免疫调节功能的初步研究[J].中药药理与临床,2017,32(2):78-81.
- [12] 汪锦飘,刘永茂,何志超,等.泽泻乙醇提取物对氧嗪酸钾盐致大鼠高尿酸血症模型的影响[J].中成药,2017,39(3):605-608.
- [13] 林彬.黄柏生品与各种炮制品滋阴及抗痛风作用比较[J].医学理论与实践,2017,29(19):3304-3305.
- [14] 庞雪,刘玉强,才谦,等.苍术麸炒前后活性部位药效比较研究[J].中国药房,2016,27(10):1308-1311.
- [15] 司晓丽,王燕,党文呈,等.百合知母汤对支气管哮喘大鼠气道炎症的影响[J].中医杂志,2017,58(14):1499-1502.
- [16] 李琴.当归拈痛汤加减联合刺络放血法治疗急性痛风性关节炎临床观察[J].云南中医中药杂志,2017,38(3):18-19.
- [17] 张彦丽,张硕峰,华国栋,等.红花对华法林抗凝作用的影响[J].中医药信息,2016,33(1):32-35.
- [18] 姜卫星,王海燕,索成云,等.生姜醇提取物对肝脏缺血再灌注大鼠氧化应激损伤的保护作用[J].中医药信息,2017,34(2):9-13.
- [19] 李振彬,马旭,杨静,等.白芍总苷治疗大鼠急性痛风性关节炎的作用及对血清 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的影响[J].新医学,2017,48 (6):380-384.

(本文编辑 杨 瑛)