

• 论著 •

新风胶囊对佐剂性关节炎大鼠补体水平的影响

刘 健¹, 郭 雯², 程华威², 黄传兵¹

(1. 安徽中医学院第一附属医院风湿科, 安徽 合肥 230031; 2. 安徽中医学院, 安徽 合肥 230038)

【摘要】 目的: 观察新风胶囊(XFC)对佐剂性关节炎(AA)大鼠的治疗作用及其对血清补体水平的影响。方法: 60 只大鼠(雌雄各半)随机分为正常对照组、模型组、XFC 组和雷公藤多甙(TPT)组, 每组 15 只。用弗氏完全佐剂分别向除正常对照组外的其余动物右后足跖皮内注射 0.1 ml 致炎; 测定各组大鼠血清补体 C3 和 C4 水平、关节炎指数(AI)及足跖肿胀度。结果: XFC 和 TPT 均能降低 AA 大鼠的足跖肿胀度和 AI(P 均 <0.01); XFC 组与 TPT 组血清补体 C3 水平较模型组显著升高, C4 水平显著降低($P<0.01$); 与 TPT 组比较, XFC 组治疗后 C3 显著升高($P<0.05$)。相关分析显示: C3 与表现炎症程度的 AI 及足跖肿胀度之间呈直线负相关($r_1=-0.401$, $r_2=-0.428$, P 均 <0.05)。结论: XFC 可以抑制模型大鼠足跖肿胀度, 降低 AI。XFC 改善 AA 大鼠血清补体的作用优于 TPT, 提示其通过升高体内过低的补体水平, 从而调节体内紊乱的免疫反应可能是 XFC 治疗类风湿性关节炎的部分作用机制。

【关键词】 新风胶囊; 关节炎; 佐剂性; 血清; 补体

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1008-9691(2006)02-0093-04

Effects of Xinfeng capsule (新风胶囊) on serum levels of complement in rats with adjuvant arthritis LIU Jian¹, GUO Wen², CHENG Hua-wei², HUANG Chuan-bing¹. 1. Department of Rheumatism, The First Affiliated Hospital, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031, Anhui, China; 2. Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038, Anhui, China

【Abstract】 Objective: To observe the curative effects of Xinfeng capsule (XFC, 新风胶囊) on rats with adjuvant arthritis (AA) and its effect on complement. **Methods:** Sixty rats (30 males and 30 females) were randomly divided into normal control group, model group, XFC treated group, tripterygium wilfordii polycoride tablet (TPT, 雷公藤多甙) treated group, 15 rats in each group. Except the rats of normal control group, the others were intracutaneously injected with 0.1 ml of Freund's complete adjuvant in the right hind limb. Serum C3 and C4 levels, the arthritis index (AI) and the toes and ankle swelling of each rat were detected. **Results:** XFC and TPT could decrease the rate of toes and ankle swelling and AI (all $P<0.01$). The serum levels of C3 increased and C4 decreased markedly in XFC and TPT treated group compared to those of the model group (all $P<0.01$). After treatment, the serum level of C3 of XFC treated group significantly increased in comparison with that of TPT treated group ($P<0.05$). And there was a significant negative correlation between the level of C3 and AI, degrees of toes and ankle swelling in the rats with AA in all the treated groups ($r_1=-0.401$, $r_2=-0.428$, both $P<0.05$). **Conclusion:** Xinfeng capsule can restrain the toes and ankle swelling and decrease the AI in rats with AA. It can regulate the disorder of immune system, improve the too low levels of serum complement, and these may be its partial mechanism for treating rheumatoid arthritis.

【Key words】 Xinfeng capsule; adjuvant arthritis; serum; complement

基金项目: 安徽省自然科学基金资助项目(050431002)

作者简介: 刘 健(1964-), 男(汉族), 安徽人, 医学博士, 教授, 主任医师, 中国中西医结合学会第 4、5 届理事会理事, 中华中医药学会风湿病分会常务理事, 中国中西医结合学会风湿病专业委员会委员, 中国中医药学会内科延缓衰老专业委员会副秘书长, 中国医师协会养生专业委员会常委, 中国中西医结合学会青年工作委员会委员, 全国中西医结合风湿病防治协作组领导小组成员; 曾荣获安徽省第 5 届青年科技奖、安徽青年“五四”奖章、安徽省卫生厅有突出贡献的中青年专家、安徽省杰出青年中医等光荣称号, 并获安徽省 2000 年度自然科学三等奖 1 项、安徽省高校 2000、2003 年度科技进步二等奖各 1 项 (Email: liujianahzy@yahoo.com.cn)。

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以关节病变为主的慢性全身性自身免疫性疾病, 具有反复发作、致残率高等特点, 目前仍无特效疗法。近几年中医药治疗 RA 的临床与实验研究成果显著, 中药抗 RA 具有独特的优势, 既有抗炎、镇痛作用, 又具备免疫抑制及免疫调节效应, 表现出整体调节, 多途径、多环节的作用。针对 RA 中医病机为气血不足、脾虚湿盛、痰瘀互结^[1]的特点, 我们研制了以益气健脾、化湿通络为治则的中药制剂新风

胶囊(XFC),应用于临床取得了满意疗效^[2],基础研究从不同方面得到的结论是,XFC 对大鼠佐剂性关节炎(adjuvant arthritis, AA)有较好的作用^[3-6]。本研究拟观察 XFC 对 AA 大鼠血清补体水平的影响,以进一步探讨其免疫作用机制,报告如下。

1 材料与方法

1.1 试剂和材料:清洁级 Wistar 大鼠 60 只,雌雄各半,体重(200±20)g,由安徽省医学科学研究所动物室提供(合格证号:皖医实动准字 03 号)。XFC 由安徽中医学院第一附属医院制剂中心提供,药物主要成分有薏苡仁、黄芪、蜈蚣、雷公藤等,每粒胶囊中含生药浸出物 0.5 g。雷公藤多甙(TPT)片由上海医科大学红旗制药厂生产,每片含 TPT 提取物 10 mg(批号:040101)。弗氏完全佐剂(Freund's complete adjuvant, FCA)由美国 Sigma 公司提供(批号:084k8928)。

1.2 动物模型建立与分组:60 只大鼠随机分成 4 组:正常对照组、模型组、TPT 组和 XFC 组,每组 15 只。参照文献[7]方法制备 AA 大鼠模型。除正常对照组外,向每鼠右后足跖皮内注射 FCA 0.1 ml 致炎,制成 AA 模型。致炎后 19 d 开始给药治疗,剂量相当于人临床用量的 6 倍。XFC 组:将 XFC 去壳研成细末,加生理盐水制成 0.18 mg/L 混悬液,按 10 ml/kg 灌胃,每日 1 次;TPT 组:将 TPT 研成细末,加生理盐水制成 0.6 g/L 混悬液,按 10 ml/kg 灌胃,每日 1 次;两组给药均 30 d。正常对照组及模型组给予 10 ml/kg 生理盐水灌胃,每日 1 次。

1.3 检测指标及方法:末次用药 24 h 后,用体积分数为 10%的水合氯醛以 1 ml/kg 腹腔注射麻醉,经腹主动脉取血 4~6 ml,4 000 r/min(离心半径为 114 mm)离心 10 min,取血清,置-80℃冰箱待测。

1.3.1 关节炎指数(arthritis index, AI):动物致炎后 12 d 开始观察并记录全身关节病变程度,3 d 观察 1 次。全身关节病变按 5 级评分法评价,根据未注射 FCA 的 3 个肢体病变程度累计积分,计算 AI^[8]。无红肿为 0 分;小趾关节红肿为 1 分;趾关节及足跖肿胀为 2 分;踝关节以下的足爪肿胀为 3 分;包括踝关

节在内的全部足爪肿胀为 4 分。

1.3.2 足跖肿胀度:分别在制模前,给药前 1 d(致炎后 18 d),给药后 2、7、15、22 和 29 d 测量各组大鼠右后足跖的容积,根据公式计算各组大鼠足跖肿胀度(E)^[8]。

$$E(\%) = (V_t - V_n) / V_n \times 100\%$$

式中:V_n、V_t 分别代表制模前、后右后足跖的容积。

1.3.3 补体 C3、C4 含量:采用速率散射免疫比浊法,用英国佰明翰公司 MININEPH 特种蛋白及其配套试剂。

1.4 统计学分析:采用 SPSS 11.5 统计软件处理数据。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各变量之间采用相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 模型观察:制模后 3 d 开始,AA 大鼠出现懒动,扎堆,精神倦怠甚至萎靡,体重明显下降,饮食、饮水量下降;8 d 后毛发失去光泽,竖毛,懒动,扎堆,精神倦怠甚至萎靡,体重明显下降,饮食、饮水量下降。治疗组大鼠给药后 7 d 体重、饮食、饮水量开始增加,精神转好,较活跃;给药后 10 d 大鼠毛发较光泽,活跃;给药后 18 d 大鼠症状基本消失,体重、饮食、饮水量仍有增加,其中 XFC 组增加较 TPT 组明显。而模型组大鼠各症状无明显改善。

2.2 XFC 对 AA 大鼠足跖肿胀度的影响(表 1):给药前 1 d 各组大鼠足跖肿胀度差异无显著性。与模型组比较,给药后 7 d XFC 组和 TPT 组大鼠足跖肿胀度均开始逐渐下降(P 均 < 0.01);至给药后 29 d 两组足跖肿胀度均显著低于模型组(P 均 < 0.01),XFC 组与 TPT 组间差异无显著性($P > 0.05$)。

2.3 XFC 对 AA 大鼠 AI 的影响(表 2):致炎后 12 和 18 d,各组大鼠的 AI 差异均无显著性。与模型组比较,XFC 组大鼠的 AI 从给药后 2 d 开始即明显下降($P < 0.05$);TPT 组给药后 7 d AI 明显降低($P < 0.01$);给药后 29 d, XFC 组 AI 明显降低, TPT 组亦有显著降低(P 均 < 0.01),同时 XFC 组 AI 明显低于 TPT 组($P < 0.05$)。

2.4 XFC 对 AA 大鼠血清补体 C3 和 C4 水平的影

表 1 XFC 对 AA 大鼠足跖肿胀度的影响($\bar{x} \pm s, n=15$)

Table 1 Effects of Xinfeng capsule on toes and ankle swelling in AA rats of each group($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	给药前 1 d	给药后 2 d	给药后 7 d	给药后 15 d	给药后 22 d	给药后 29 d
模型组	(82.22±12.41)%	(87.78±13.58)%	(95.56±11.07)%	(105.56±9.13)%	(110.12±11.18)%	(92.86±9.47)%
XFC 组	(81.67±14.56)%	(73.89±8.70)%*	(67.78±9.92)%**	(61.67±9.40)%**	(55.36±8.56)%**	(49.40±10.84)%**△
TPT 组	(80.56±18.01)%	(76.11±10.18)%	(70.56±9.33)%**	(67.22±10.54)%**	(61.90±12.00)%**	(57.74±7.28)%**

注:与模型组同时间点比较;* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与 TPT 组同时间点比较;△ $P < 0.05$

表 2 XFC 对 AA 大鼠 AI 的影响($\bar{x}\pm s, n=15$)

Table 2 Effects of Xinfeng capsule on AI in AA rat of each group($\bar{x}\pm s, n=15$)

组别	致炎后 12 d	致炎后 18 d	给药后 2 d	给药后 7 d	给药后 15 d	给药后 22 d	给药后 29 d
模型组	3.73±0.70	6.46±1.13	6.60±1.30	6.88±1.08	7.38±0.92	6.33±0.52	7.71±0.95 ^{##}
XFC 组	3.73±0.80	6.67±1.45	6.53±1.81 ^{##}	6.41±1.31 ^{##**}	5.38±1.25 ^{##}	4.40±0.91 ^{##}	3.70±0.95 ^{##***△}
TPT 组	3.93±0.80	6.53±1.30	6.33±1.11	6.43±1.13 ^{**}	5.60±0.89	5.67±1.03	3.57±0.53 ^{##***}

注:与本组致炎后 18 d 比较: ^{##} $P<0.01$;与模型组同时时间点比较: ^{**} $P<0.01$;与 TPT 组同时时间点比较: [△] $P<0.05$

响(表 3):与正常对照组比较,模型组 C3 显著降低($P<0.01$);与模型组比较,XFC 组 C3 显著升高($P<0.01$),XFC 组和 TPT 组 C4 也均显著降低(P 均 <0.01),同时 XFC 与 TPT 组比较,C3 显著升高($P<0.05$)。

2.5 AA 大鼠血清补体 C3 和 C4 水平与足跖肿胀度、AI 的相关性分析(表 4):补体 C3 水平与足跖肿胀度、AI 均呈直线负相关(P 均 <0.05),与其他指标之间无直线相关性(P 均 >0.05)。

表 3 XFC 对 AA 大鼠血清补体 C3 和 C4 水平的影响($\bar{x}\pm s, n=15$)

Table 3 Effect of Xinfeng capsule on serum levels of C3 and C4 in each group($\bar{x}\pm s, n=15$) g/L

组别	C3	C4
模型组	0.818 6±0.171 6 ^{##}	0.052 0±0.012 6
XFC 组	1.438 6±0.223 2 ^{**△}	0.047 2±0.008 9 ^{**}
TPT 组	1.291 3±0.328 8 ^{**}	0.039 6±0.011 9 ^{**}
正常对照组	1.877 3±0.238 0	0.042 2±0.008 4

注:与正常对照组比较: [#] $P<0.01$;与模型组比较: ^{**} $P<0.01$;与 TPT 组比较: [△] $P<0.05$

表 4 大鼠血清补体 C3 和 C4 水平与足跖肿胀度、AI 的相关性分析

Table 4 Correlation analysis between serum C3 or C4 and toes and ankle's swelling, AI of AA rat

指标	r 值	
	足跖肿胀度	AI
C3	-0.428 [*]	-0.401 [*]
C4	0.134	0.101

注: ^{*} $P<0.05$

3 讨论

RA 是一种以关节滑膜慢性炎症为特征的自身免疫性疾病,其主要病变发生在滑膜,累及关节软骨、韧带、肌腱及全身组织,引起关节肿痛,继而破坏软骨,使关节间隙变窄,晚期出现关节畸形、功能活动障碍,最终导致不同程度的残疾^[8]。研究表明补体在 RA 发病中也具有重要作用,主要由补体激活过程中产生的裂解产物和补体及其受体减少或缺陷所致;免疫复合物(immunology complex, IC)的形成导致补体 C3、C4 由经典途径激活时的水平均下降,而

经旁路途径激活时 C3 降低,C4 水平保持正常。同时补体因清除免疫复合物而减少且功能减低,也容易发生自身免疫性疾病如 RA。其中 C3 在缺乏或活性减低时,即使抗体水平正常,防御功能也减弱,细胞吞噬和清除 IC 的功能明显减低,易发生 RA;C4 在生理性清除 IC 中起重要作用,缺乏易发生 RA。可见在 RA 中补体系统介导的损伤均起着中心和主导的作用^[9]。

目前,西药治疗 RA 疗效难以令人满意,且不良反应严重。而中医药治疗 RA 具有独特的优势,其疗效已得到广泛认同。XFC 的配方以中医药整体调节为基本原则,可获益气健脾、化湿通络综合效用,全方位中疾病正虚邪实的基本病机,扶正祛邪^[2-4]。方中重用黄芪、薏苡仁为君药。黄芪益气健脾、补中固表,具有良好的调节免疫作用,能促进巨噬细胞的吞噬功能,诱生内源性干扰素,促进淋巴母细胞转化,增强网状内皮细胞的吞噬功能,发挥机体防御功能,对免疫抑制剂造成的免疫功能低下有明显的保护作用。蜈蚣祛风止痉、通络止痛、攻毒散结,可以通过改善微循环,促进病变部位的新陈代谢而起到良好的镇痛作用。雷公藤具有祛风除湿、通经活络、消肿止痛之功,可明显抑制病变关节肿胀、毛细血管通透性和肉芽肿;雷公藤还能作用于淋巴细胞而对免疫系统起抑制作用,其中以对体液免疫作用较为显著;雷公藤及其总甙、总生物碱和雷公藤乙酯提取物有明显的抗炎作用。方中 4 味药都具有不同程度的抗炎镇痛作用,合用可消肿止痛。

AA 模型是研究 RA 的常用特异性病理模型,属于研究 RA 的经典免疫性关节炎动物制模方法,我们采用 AA 模型对 XFC 进行了大量的实验研究^[3-6]。本研究中采用 AA 模型观察了 XFC 对 AA 大鼠的免疫治疗作用。结果表明,XFC 能够降低 AA 大鼠的足跖肿胀度、AI 和 C-反应蛋白,其作用与 TPT 相似,并且能显著提高血清补体 C3 水平。C3 与表现 AA 大鼠炎症程度的 AI、足跖肿胀度之间也呈直线负相关,从侧面也说明补体 C3 水平与 RA 的炎症活动性关系密切,可在一定程度上反映病情的变化,对于预测 RA 病情和疗效具有重要参考价

值。XFC 改善 AA 大鼠血清补体的作用优于 TPT, 提示其是通过升高体内过低的补体水平而调节体内紊乱的免疫反应的, 这可能是 XFC 治疗 RA 的部分作用机制。

参考文献:

- [1] 刘健, 韩明向, 崔宜武, 等. 类风湿性关节炎中医证候学研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 1999, 5: 35-37.
- [2] 刘健, 韩明向, 方朝晖, 等. 新风胶囊治疗类风湿性关节炎的临床研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2001, 8: 202-205.
- [3] 刘健, 郑志坚, 韩明向, 等. 新风胶囊对佐剂性关节炎大鼠滑膜细胞及胸腺淋巴细胞超微结构作用的实验研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2001, 8: 344-346.
- [4] 刘健, 张梅奎, 韩明向. Tunel 法检测新风胶囊对 AA 大鼠滑膜细胞

- 腺及胃黏膜细胞凋亡的影响[J]. 中医药学刊, 2003, 21: 54-56.
- [5] 刘健, 郑志坚, 韩明向, 等. 新风胶囊对佐剂性关节炎大鼠脾脏及胃黏膜细胞超微结构作用的实验研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2002, 9: 76-78.
- [6] 张晓东, 刘晓辉, 刘健. 新风胶囊对佐剂性关节炎大鼠滑膜和胸腺 Fas、FasL、Bcl-2 的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2004, 11: 86-90.
- [7] 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: 1382.
- [8] 蒋明, 朱立平, 林孝义. 风湿病学(上册)[M]. 北京: 科学出版社, 1995: 815-819.
- [9] 张进玉. 类风湿性关节炎[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 134.

(收稿日期: 2005-11-26)

(本文编辑: 郭方)

• 治则 • 方剂 • 针灸 •

从《内经》“治未病”论述急危病防治

李雅琴

(浙江省象山县中医医院, 浙江 象山 315700)

【关键词】 治未病; 既病防变; 急危重病

中图分类号: R221 文献标识码: B 文章编号: 1008-9691(2006)02-0096-01

“治未病”理论肇始于《内经》, 发展于张仲景, 体现在临床上未病先防、既病防变、防其复发等几个方面理论内涵, 这是中医一大优势。但长期以来, 人们把“治未病”局限于预防范畴, 其实既病防变, 治疗疾病于未传之时是临床上治疗疾病很重要的一个环节。特别在对危急重患者抢救时, 防治于病情未恶化之先, 是治疗各种急危重病尚须努力探讨的课题。

1 “治未病”在急危重病时理论内涵

张仲景不惟对《内经》、《难经》加以继承, 并且在中医学整体恒动观指导下, 立足临床实践, 发展了“治未病”理论。他在《金匱要略》中指出: “夫治未病者, 见肝之病, 知肝传脾, 当先实脾。”强调肝之病, 多传变至脾, 治疗当注意顾及未病之脏腑, 以防疾病发展与传变。正如全国名医严苍山在温病治疗中提出: “在卫应兼清气, 在气须顾凉血, 杜其传变为上工。”这也属于“治未病”内容。以整体观为理论依据, 掌握疾病传变规律, 特别是急危重病的抢救, 旨在把握治疗时机, 用药宜于病情传变之先, 防止疾病加重及疾病发展恶化, 这就是“治未病”中既病防变

在治疗急危重病时的内涵实质。

2 “治未病”在急危重病时因势制宜

因势制宜“治未病”, 在临床急危重病抢救时, 就是从动态角度去观察疾病, 分析病机, 注意疾病发展和传变方向、速度、程度、范围、传变趋势, 然后来辨识患者神态、呼吸、面色、四肢、舌象、脉象, 以便及时阻止疾病传变, 不失治疗最佳时机。以心厥为例, 本为阳虚气虚较重, 若心阳阻遏、心气不足、鼓动无力, 则为心厥并心悸; 若心肾阳虚, 水邪泛滥, 水饮凌心射肺, 则为心厥并心水; 若正气大虚, 心阳暴脱, 心脉瘀阻, 则为心厥并心脱。因此, 心厥胸痛时, 应密切观察病情动态变化, 及早于未出现并发症之先, 降低病死率。

3 “治未病”在急危重病时病案举例

患者男性, 68 岁, 2001 年 1 月 25 日入院。高血压病史 10 余年, 冠心病 3 年, 经常胸闷、胸痛, 服硝酸甘油后疼痛可缓解, 近几日由于天气骤冷, 胸痛症状加剧, 可放射到左肩背部, 疼痛剧烈, 服硝酸甘油后疼痛仍不能缓解, 由急诊转入病房, 胸痛彻背, 面色苍白, 四肢冰冷, 皮肤出汗, 心情烦躁, 大便 2 d 未行, 小便正常, 舌质紫暗, 苔薄白, 脉弦细而数。查体: 血压 100/70 mm Hg (1 mm Hg =

0.133 kPa), 呼吸频率 24 次/min, 脉搏 92 次/min, 形体肥胖, 精神萎靡; 心率 92 次/min, 律齐, 各瓣膜听诊区未闻及病理性杂音, 两肺无异常, 双下肢无水肿; 心肌酶检查: 肌酸激酶(CK) 858 U/L, 肌酸激酶同工酶(CK-MB) 55.9 U/L, 乳酸脱氢酶(LDH) 340.5 U/L。心电图示: 急性前壁心肌梗死。按照急性心肌梗死常规治疗。从患者血压、意识、面色、四肢、舌象、脉象等分析, 心厥将并心脱。依据中医“治未病”理论, 既病防变, 治疗其未传变之先, 必须抓住时机, 及时抢救。急用回阳救逆固脱法, 加参附注射液及独参汤。药后上症明显好转, 病情渐渐稳定, 后经中西医结合治疗, 无厥脱、心悸、心水并发症, 及时阻截其传变途径, 掌握治疗主动权。

综上所述, “治未病”中既病防变是指疾病已经发生, 则争取早期诊断与治疗, 特别是急危重病, 作为医者, 应能很好地把握疾病传变规律与传变形式, 揣度疾病发生、发展趋势, 先安未受邪之脏, 随机施治。正如《内经》提出, “卒然逢之, 早遏其路”, 是抢救急危重病患者的关键, 值得临床上进一步验证。

(收稿日期: 2006-03-02)

(本文编辑: 李银平)

作者简介: 李雅琴(1955-), 女(汉族), 浙江象山人, 主任医师。