

本文引用:廖婉婷,潘文疆,陈明珠,等.七叶莲对佐剂性关节炎大鼠的治疗效果及对血清白细胞介素-4、白细胞介素-10和肿瘤坏死因子- α 水平的影响[J].新乡医学院学报,2023,40(2):113-118. DOI:10.7683/xxyxb.2023.02.003.

【基础研究】

七叶莲对佐剂性关节炎大鼠的治疗效果及对血清白细胞介素-4、白细胞介素-10和肿瘤坏死因子- α 水平的影响

廖婉婷¹, 潘文疆², 陈明珠¹, 林少梅¹, 梁荣生¹

(1. 泉州医学高等专科学校药理学教研室, 福建 泉州 362000; 2. 晋江市医院血管介入科, 福建 晋江 362200)

摘要: **目的** 探讨七叶莲对佐剂性关节炎(AA)大鼠的治疗效果及其对血清白细胞介素(IL)-4、IL-10、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平的影响。**方法** 将50只雄性Sprague Dawley大鼠按随机数字表法分为正常对照组、模型组、吡喹啉美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组,每组10只。模型组、吡喹啉美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠于左后足趾皮下注射弗氏完全佐剂100 μ L制备AA模型。造模成功后,吡喹啉美辛组大鼠给予2.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 吡喹啉美辛灌胃作为阳性对照,低剂量七叶莲组和高剂量七叶莲组大鼠分别给予10.0、25.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 七叶莲灌胃,正常对照组和模型组大鼠给予等体积生理盐水灌胃,均每日1次,连续给药10 d。实验期间观察各组大鼠进食、饮水、皮毛、关节肿胀等一般情况。分别于造模后及给药2、5、8、10 d时,采用关节炎指数(AI)评分评估模型组、吡喹啉美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠全身关节炎病变程度。分别于造模前、造模后及给药2、5、8、10 d时,使用游标卡尺测量各组大鼠后足跖厚度,以后足跖厚度表示大鼠足跖肿胀度。给药10 d后,采用酶联免疫吸附试验检测各组大鼠血清中IL-4、IL-10、TNF- α 水平。**结果** 实验期间,正常对照组大鼠进食、饮水正常,皮毛整洁,神态活泼,无关节肿胀;模型组大鼠进食、饮水量下降,活动减少,精神倦怠,局部关节肿胀明显,甚至出现溃烂;低剂量七叶莲组和高剂量七叶莲组大鼠给药6 d后,进食、饮水逐渐增加,神态良好,局部出现的溃烂开始结痂;吡喹啉美辛组上述表现较模型组也有改善。造模后及给药2、5 d时,模型组、吡喹啉美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠的AI评分比较差异无统计学意义($P > 0.05$);给药8、10 d时,吡喹啉美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠AI评分比较差异无统计学意义($P > 0.05$);给药8、10 d时,吡喹啉美辛组和高剂量七叶莲组大鼠AI评分显著低于模型组($P < 0.05$)。造模前,5组大鼠后足跖厚度比较差异无统计学意义($P > 0.05$);造模后及给药2 d时,模型组、吡喹啉美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠后足跖厚度比较差异无统计学意义($P > 0.05$);给药5、8、10 d时,吡喹啉美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠后足跖厚度均显著大于正常对照组($P < 0.05$);给药5、8、10 d时,吡喹啉美辛组、高剂量七叶莲组大鼠后足跖厚度均显著低于模型组($P < 0.05$);给药8 d时,低剂量七叶莲组大鼠后足跖厚度显著低于模型组($P < 0.05$)。模型组大鼠血清中IL-4水平显著低于正常对照组($P < 0.05$);吡喹啉美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠血清中IL-4水平显著高于模型组($P < 0.05$)。模型组、吡喹啉美辛组、低剂量七叶莲组大鼠血清中IL-10水平显著低于正常对照组($P < 0.05$);吡喹啉美辛组、高剂量七叶莲组大鼠血清中IL-10水平显著高于模型组和低剂量七叶莲组($P < 0.05$)。模型组大鼠血清中TNF- α 水平显著高于正常对照组和高剂量七叶莲组($P < 0.05$)。**结论** 高剂量七叶莲可显著改善AA大鼠的关节炎病变程度和足肿胀度,作用机制可能与其调控血清中IL-4、IL-10、TNF- α 水平有关。

关键词: 七叶莲;佐剂性关节炎;白细胞介素-4;白细胞介素-10;肿瘤坏死因子- α

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2023)02-0113-06

Therapeutic effect of *Schefflera arboricola* Hayata on adjuvant arthritis rats and its effect on the levels of serum interleukin-4, interleukin-10 and tumor necrosis factor- α

LIAO Wanting¹, PAN Wenjiang², CHEN Mingzhu¹, LIN Shaomei¹, LIANG Rongsheng¹

(1. Department of Pharmacology, Quanzhou Medical College, Quanzhou 362000, Fujian Province, China; 2. Department of

DOI:10.7683/xxyxb.2023.02.003

收稿日期:2022-05-17

基金项目:福建省天然药物药理学重点实验室开放课题(编号:FJNMP-201802)。

作者简介:廖婉婷(1988-),女,福建泉州人,硕士,讲师,研究方向:药理学。

通信作者:梁荣生(1968-),男,福建泉州人,硕士,副教授,研究方向:药理学;E-mail:506273284@qq.com。

Vascular Intervention, Jinjiang Hospital, Jinjiang 362200, Fujian Province, China)

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effect of *Schefflera arboricola* Hayata on adjuvant arthritis (AA) rats and its effect on serum interleukin (IL)-4, IL-10 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) levels. **Methods** Fifty male Sprague Dawley rats were divided into the normal control group, model group, indomethacin group, low-dose *Schefflera arboricola* Hayata group and high-dose *Schefflera arboricola* Hayata group according to random number table method, with 10 rats in each group. Rats in the model group, indomethacin group, low-dose *Schefflera arboricola* Hayata group and high-dose *Schefflera arboricola* Hayata group were intradermally injected with 100 μ L Freund's complete adjuvant on the left hind toe to prepare the AA model. After successful modeling constructed, the rats in the indomethacin group were given 2.5 mg \cdot kg⁻¹ indomethacin by gavage as a positive control, the rats in the low-dose *Schefflera arboricola* Hayata group and high-dose *Schefflera arboricola* Hayata group were given 10 and 25 mg \cdot kg⁻¹ *Schefflera arboricola* Hayata by gavage, and the rats in the normal control group and model group were given the same volume of normal saline by gavage, once a day for 10 consecutive days. During the experiment, the general conditions of rats in each group were observed, such as eating, drinking, fur, joint swelling, etc. After modeling and 2, 5, 8, 10 days of administration, the degree of systemic arthritis of rats in the model group, indomethacin group, low-dose *Schefflera arboricola* Hayata group and high-dose *Schefflera arboricola* Hayata group was evaluated by the arthritis index (AI) score. Before and after modeling, and 2, 5, 8 and 10 days of administration, the thickness of the hind paw of rats in each group was measured with vernier caliper, and the thickness of the hind paw represented the degree of swelling of the rat's foot. After 10 days of administration, the levels of serum IL-4, IL-10 and TNF- α of rats in each group were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** During the experiment, the rats in the normal control group ate and drink normally, the fur was clean, the appearance was lively, and there was no joint swelling; in the model group, the amount of food and water consumption decreased, the activity decreased, the mental fatigue, local joint swelling was obvious, and even ulceration occurred; after 6 days of administration, the rats in the low-dose *Schefflera arboricola* Hayata group and high-dose *Schefflera arboricola* Hayata group eating and drinking gradually increased, their mien were good, and local ulceration began to scab; the above performance of rats in the indomethacin group were also improved compared with the model group. There was no significant difference in AI scores of rats among the model group, indomethacin group, low-dose *Schefflera arboricola* Hayata group and high-dose *Schefflera arboricola* Hayata group after model establishment and at 2 and 5 days of administration ($P > 0.05$); at 8 and 10 days of administration, there was no significant difference in AI scores among the indomethacin group, low-dose *Schefflera arboricola* Hayata group and high-dose *Schefflera arboricola* Hayata group ($P > 0.05$); at 8 and 10 days of administration, the AI scores of rats in the indomethacin group and high-dose *Schefflera arboricola* Hayata group were significantly lower than those in the model group ($P < 0.05$). Before modeling, there was no significant difference in the thickness of hind foot among the five groups ($P > 0.05$); after model establishment and at 2 days of administration, there was no significant difference in the thickness of hind foot among the model group, indomethacin group, low-dose *Schefflera arboricola* Hayata group and high-dose *Schefflera arboricola* Hayata group ($P > 0.05$); at 5, 8 and 10 days of administration, there was no significant difference in the thickness of hind foot among the indomethacin group, low-dose *Schefflera arboricola* Hayata group and high-dose *Schefflera arboricola* Hayata group ($P > 0.05$); after model establishment and at 2, 5, 8 and 10 days of administration, the thickness of hind foot of rats in the model group, indomethacin group, low-dose *Schefflera arboricola* Hayata group and high-dose of *Schefflera arboricola* Hayata group was significantly higher than that in the normal control group ($P < 0.05$); at 5, 8 and 10 days of administration, the thickness of hind foot of rats in the indomethacin group and high-dose *Schefflera arboricola* Hayata group was significantly lower than that in the model group ($P < 0.05$); at 8 days of administration, the thickness of hind food of rats in the low-dose *Schefflera arboricola* Hayata group was significantly lower than that in the model group ($P < 0.05$). The level of IL-4 in serum of rats in the model group was significantly lower than that in the normal control group ($P < 0.05$); the level of IL-4 in serum of rats in the indomethacin group, low-dose *Schefflera arboricola* Hayata group and high-dose *Schefflera arboricola* Hayata group was significantly higher than that in the model group ($P < 0.05$). The level of IL-10 in serum of rats in the model group, indomethacin group and low-dose *Schefflera arboricola* Hayata group was significantly lower than that in the normal control group ($P < 0.05$); the level of IL-10 in serum of rats in the indomethacin group and high-dose *Schefflera arboricola* Hayata group was significantly higher than that in the model group and low-dose *Schefflera arboricola* Hayata group ($P < 0.05$). The level of TNF- α in serum of rats in the model group was significantly higher than that in the normal control group and the high-dose *Schefflera arboricola* Hayata group ($P < 0.05$). **Conclusion** High-dose of *Schefflera arboricola* Hayata can significantly improve the degree of arthritis and foot swelling in AA rats. The mechanism may be related to its effect on regulation of IL-4, IL-10 and TNF- α level.

Key words: *Schefflera arboricola* Hayata; adjuvant arthritis; interleukin-4; interleukin-10; tumor necrosis factor- α

类风湿关节炎(rheumatic arthritis, RA)是一种慢性、全身性且临床常见的自身免疫性疾病,临床主要表现为多关节疼痛、肿胀、畸形,甚至功能丧失^[1]。目前,RA发病机制尚未完全清楚。大量研究表明,抑炎因子与促炎因子动态平衡的失调在RA的发生、发展进程中发挥关键性的作用^[2-3]。目前,常见治疗RA的非甾体类抗炎药物、抗风湿药物、糖皮质激素等的疗效和安全性较低^[4],因此,亟待开发安全、有效的抗RA药物。完全弗氏佐剂诱导的佐剂性关节炎(adjutant arthritis, AA)大鼠模型在临床表现、病理学和免疫学改变方面与RA有很多相似特征,常作为经典的实验动物模型用于研究RA的病理机制和治疗药物^[5]。七叶莲性温、味苦,有抗炎、镇痛、催眠等功效,对坐骨神经痛、三叉神经痛、胃溃疡和十二指肠溃疡疼痛以及RA有良好的疗效^[6-7]。基于此,本研究旨在探讨七叶莲对AA大鼠的治疗效果,及其对血清白细胞介素(interleukin, IL)-4、IL-10、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)水平的影响,以期明确七叶莲治疗RA的可能机制,为其在临床RA治疗中的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 健康雄性清洁级 Sprague Dawley 大鼠 50 只,购自上海斯莱克实验有限责任公司[许可证号:SCXK(沪)2019-0002],体质量 150~210 g,饲养于泉州医学高等专科学校清洁级实验动物房,室温 23~25℃,湿度 45%~65%,自由摄食和饮水,垫料每日更换 1 次。

1.2 主要药物、试剂与仪器 七叶莲片购自泉州中侨药业有限公司(国药准字 Z35020528),吡哆美辛购自上海国药集团化学试剂有限公司,乌来糖溶液购自北京化学试剂公司,弗氏完全佐剂购自美国 Sigma 公司;大鼠 IL-4、IL-10、TNF- α 酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒购自美国 RD 公司;电子天平购自上海良平仪器仪表有限公司,低温离心机购自德国赛多利斯公司,数显游标卡尺购自青岛易购五金工具有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组、模型建立及干预措施 将 50 只大鼠按随机数字表法分为正常对照组、模型组、吡哆美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组,每组 10 只。模型组、吡哆美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠制备 AA 模型。具体造模方法:大鼠腹腔注射质量分数 200 g·L⁻¹ 乌来糖溶液(5 mL·kg⁻¹)麻醉,于大鼠左后足趾皮内用微量注射器注射弗氏完全佐剂 100 μ L,分 3 处注射,具体

为足趾垫下 2 处,足趾背部 1 处,诱导大鼠产生炎症反应,14 d 后,大鼠出现明显关节红肿,关节炎指数(arthritis index, AI)评分 >5 分为造模成功^[8]。造模成功后,吡哆美辛组大鼠给予 2.5 mg·kg⁻¹ 吡哆美辛灌胃作为阳性对照,低剂量七叶莲组和高剂量七叶莲组大鼠分别给予 10.0、25.0 mg·kg⁻¹ 七叶莲灌胃,正常对照组和模型组大鼠给予等体积生理盐水灌胃,均每日 1 次,连续给药 10 d。

1.3.2 各组大鼠一般情况观察 实验期间观察各组大鼠进食、饮水、皮毛、关节肿胀等一般情况。

1.3.3 大鼠关节炎病变程度评分 分别于造模后及给药 2、5、8、10 d 时,采用 AI 评分^[9] 评估模型组、吡哆美辛组、低剂量七叶莲组和高剂量七叶莲组大鼠全身关节炎病变程度。AI 评分为 5 级评分法:0 分为无红肿;1 分为小趾关节红肿;2 分为趾关节和足跖红肿;3 分为踝关节以下红肿;4 分为包括踝关节在内的全部足爪红肿。累计大鼠四肢的 AI 评分,最高 16 分,分数越高表示关节炎病变程度越严重。

1.3.4 大鼠足肿胀度测量 分别于造模前、造模后及给药 2、5、8、10 d 时,使用游标卡尺测量各组大鼠后足跖厚度,以后足跖厚度表示大鼠足跖肿胀度。用自制大鼠固定器限制大鼠活动,用手轻柔拉直大鼠左后肢,用黑色记号笔在大鼠后足跖测量处进行标记,用游标卡尺测量后足跖厚度,测量 3 次,取均值。

1.3.5 ELISA 法检测大鼠血清中 IL-4、IL-10 和 TNF- α 水平 给药 10 d 后,各组大鼠腹腔注射质量分数 200 g·L⁻¹ 乌来糖溶液(5 mL·kg⁻¹)进行麻醉,取腹主动脉血 5 mL,使用低温离心机 4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取血清,于 -80℃ 冰箱保存备用。使用 ELISA 试剂盒检测各组大鼠血清中 IL-4、IL-10、TNF- α 水平,严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两两比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 5 组大鼠一般情况比较 实验期间,正常对照组大鼠进食、饮水正常,皮毛整洁,神态活泼,无关节肿胀;模型组大鼠进食、饮水量下降,活动减少,精神倦怠,局部关节肿胀明显,甚至出现溃烂;七叶莲高剂量和低剂量组大鼠给药 6 d 后,进食、饮水逐渐增加,神态良好,局部出现的溃烂开始结痂;吡哆美辛组上述表现较模型组也有改善。

2.2 模型组、吡哆美辛组、低剂量七叶莲组和高剂量七叶莲组大鼠 AI 评分比较 结果见表 1。造模

后及给药 2、5 d 时,模型组、吡罗美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠的 AI 评分比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。给药 8、10 d 时,吡罗美辛组和高剂量七叶莲组大鼠 AI 评分显著低于模型组($P < 0.05$)。给药 8、10 d 时,低剂量七叶莲组与模型组大鼠的 AI 评分比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。给药 8、10 d 时,吡罗美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠 AI 评分比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。造模后及给药 2、5、8、10 d 时,模型组、

低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠 AI 评分组内各时间点比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。造模后及给药 2、5、8 d 时,吡罗美辛组大鼠 AI 评分各时间点比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。吡罗美辛组大鼠给药 10 d 时 AI 评分显著低于造模后、给药 2 d 时,差异有统计学意义($P < 0.05$);吡罗美辛组大鼠 AI 评分给药 10 d 时与给药 5、8 d 时比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 模型组、吡罗美辛组、低剂量七叶莲组和高剂量七叶莲组大鼠 AI 评分比较

Tab.1 Comparison of AI scores of rats among the model group, indomethacin group, low-dose *Schefflera arboricola* Hayata group and high-dose *Schefflera arboricola* Hayata group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	AI 评分				
		造模后	给药 2 d 时	给药 5 d 时	给药 8 d 时	给药 10 d 时
模型组	10	8.91 ± 0.84	10.25 ± 0.85	9.25 ± 1.12	9.5 ± 0.83	9.62 ± 0.93
吡罗美辛组	10	8.72 ± 0.44	8.60 ± 0.57	6.43 ± 0.84	6.58 ± 0.69 ^a	5.42 ± 1.34 ^{abc}
低剂量七叶莲组	10	9.15 ± 0.53	9.43 ± 0.65	8.43 ± 1.40	7.86 ± 0.56	7.72 ± 0.29
高剂量七叶莲组	10	8.86 ± 0.56	8.29 ± 0.52	6.42 ± 0.83	6.71 ± 0.78 ^a	6.72 ± 0.48 ^a

注:与模型组比较^a $P < 0.05$;与造模后比较^b $P < 0.05$;与给药 2 d 时比较^c $P < 0.05$ 。

2.3 5 组大鼠后足跖厚度比较 结果见表 2。造模前,5 组大鼠后足跖厚度比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。造模后及给药 2、5、8、10 d 时,模型组、吡罗美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠后足跖厚度均显著高于正常对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。给药 5、8、10 d 时,吡罗美辛组、高剂量七叶莲组大鼠后足跖厚度均显著低于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。给药 8 d 时,低剂量七叶莲组大鼠后足跖厚度显著低于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。造模后及给药 2 d 时,模型组、吡罗美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠后足跖厚度比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。给药 5、10 d 时,低剂量七叶莲组与模型组大

鼠后足跖厚度比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。给药 5、8、10 d 时,吡罗美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠后足跖厚度比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

正常对照组大鼠造模前、造模后及给药 2、5、8、10 d 的后足跖厚度比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。模型组、吡罗美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠造模后及给药 2、5、8、10 d 时的后足跖厚度均显著低于造模前,差异有统计学意义($P < 0.05$)。造模后及给药 2、5、8、10 d 时,模型组、吡罗美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠的后足跖厚度组内两两比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 5 组大鼠后足跖厚度比较

Tab.2 Comparison of thickness of hind food of rats among the five groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	后足跖厚度/mm					
		造模前	造模后	给药 2 d 时	给药 5 d 时	给药 8 d 时	给药 10 d 时
正常对照组	10	6.15 ± 0.32	6.36 ± 0.21	6.52 ± 0.56	6.67 ± 0.83	7.13 ± 0.57	7.17 ± 0.69
模型组	10	6.06 ± 0.74	7.84 ± 0.17 ^{ab}	7.92 ± 0.25 ^{ab}	8.15 ± 0.14 ^{ab}	8.25 ± 0.23 ^{ab}	8.15 ± 0.13 ^{ab}
吡罗美辛组	10	6.01 ± 0.96	7.62 ± 0.82 ^{ab}	7.45 ± 0.29 ^{ab}	7.34 ± 0.17 ^{abc}	7.60 ± 0.16 ^{abc}	7.55 ± 0.19 ^{abc}
低剂量七叶莲组	10	5.90 ± 0.08	7.86 ± 0.17 ^{ab}	7.89 ± 0.24 ^{ab}	7.86 ± 0.14 ^{ab}	7.83 ± 0.15 ^{abc}	8.12 ± 0.85 ^{ab}
高剂量七叶莲组	10	6.03 ± 0.54	7.78 ± 0.16 ^{ab}	7.92 ± 0.34 ^{ab}	7.64 ± 0.18 ^{abc}	7.57 ± 0.17 ^{abc}	7.58 ± 0.10 ^{abc}

注:与正常对照组比较^a $P < 0.05$;与造模前比较^b $P < 0.05$;与模型组比较^c $P < 0.05$ 。

2.4 5 组大鼠血清中 IL-4、IL-10 和 TNF- α 水平比较 结果见表 3。模型组大鼠血清中 IL-4 水平显著低于正常对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。吡罗美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠血清中 IL-4 水平显著高于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。吡罗美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠血清中 IL-4 水平比较差异无统计

学意义($P > 0.05$)。

模型组、吡罗美辛组、低剂量七叶莲组大鼠血清中 IL-10 水平显著低于正常对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。吡罗美辛组、高剂量七叶莲组大鼠血清中 IL-10 水平显著高于模型组、低剂量七叶莲组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。正常对照组与高剂量七叶莲组大鼠血清中 IL-10 水平比较差异

无统计学意义($P > 0.05$)。模型组与低剂量七叶莲组大鼠血清中 IL-10 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。吡啶美辛与高剂量七叶莲组大鼠血清中 IL-10 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

模型组大鼠血清中 TNF- α 水平显著高于正常对照组、高剂量七叶莲组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。正常对照组、吡啶美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠血清中 TNF- α 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表3 5组大鼠血清中 IL-4、IL-10 和 TNF- α 水平比较

Tab.3 Comparison of the levels of IL-4, IL-10 and TNF- α in serum of rats among the five groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-4/(ng · L ⁻¹)	IL-10/(ng · L ⁻¹)	TNF- α /(ng · L ⁻¹)
正常对照组	10	23.00 ± 1.64	482.07 ± 56.95	64.23 ± 23.43
模型组	10	11.89 ± 1.94 ^a	261.95 ± 13.67 ^a	101.01 ± 24.26 ^a
吡啶美辛组	10	18.70 ± 1.32 ^b	353.61 ± 70.97 ^{abc}	79.84 ± 23.03
低剂量七叶莲组	10	18.62 ± 2.83 ^b	254.25 ± 42.25 ^a	84.94 ± 27.52
高剂量七叶莲组	10	21.63 ± 1.78 ^b	446.57 ± 73.08 ^{bc}	69.53 ± 12.64 ^b

注:与正常对照组比较^a $P < 0.05$;与模型组比较^b $P < 0.05$;与低剂量七叶莲组比较^c $P < 0.05$ 。

3 讨论

七叶莲作为传统的民间中草药,具有广泛的药理活性,有祛风止痛、活血化瘀、舒筋活络等功效,民间常将其叶子捣烂外敷用于骨折及出血性疼痛^[10]。有研究证实,七叶莲的提取物具有显著的镇痛、抗炎、免疫抑制等作用,临床可用于治疗风湿病^[11]。吡啶美辛可抑制前列腺素的释放,有效缓解 RA 疼痛及局部症状^[12],在本研究中作为七叶莲治疗 AA 大鼠的阳性对照试剂。本研究结果显示,模型组大鼠进食、饮水量下降,活动减少,精神倦怠,局部关节肿胀明显,甚至出现溃烂;高剂量七叶莲组和低剂量七叶莲组大鼠给药 6 d 后,进食、饮水逐渐增加,神态良好,局部出现的溃烂开始结痂;吡啶美辛组上述表现较模型组也有改善;说明七叶莲可改善 AA 大鼠的一般情况。本研究结果显示,给药 8、10 d 时,吡啶美辛组和高剂量七叶莲组大鼠 AI 评分显著低于模型组,说明给药 8、10 d 时高剂量七叶莲可显著改善 AA 大鼠的关节炎病变程度。此外,本研究结果显示,给药 5、8、10 d 时,吡啶美辛组、高剂量七叶莲组大鼠足肿胀度均显著低于模型组;吡啶美辛组、低剂量七叶莲组、高剂量七叶莲组大鼠后足跖厚度组内两两比较差异无统计学意义;说明给药 8、10 d 时高剂量七叶莲可显著改善 AA 大鼠的足肿胀度。本课题组前期研究发现,七叶莲可显著降低 AA 大鼠炎症细胞浸润,减轻软骨细胞组织的破坏,明显改善炎症程度^[13]。

目前,RA 的发病机制尚未完全清楚。有研究认为,RA 患者体内的 T 细胞功能异常表现为辅助 T 细胞(helper T cell, Th) 1 和 Th2 的失调,并引起促炎因子和抑炎因子水平的失衡^[14]。IL-4 是由活化的 Th2 分泌产生的细胞因子,在 RA 的发生和发展中扮演着抑炎因子的作用^[15],具体作用机制为:(1) IL-4 促进巨噬细胞黏附到血管内皮细胞并逸出血管,进而沿趋化梯度移动到炎症部位;(2) IL-4 可通过促进 Th2 的扩增和抑炎因子的释放,抑制 IL-2、IL-8 和 TNF- α 的释放,从而抑制 Th1 介导的免疫应答,起到改善 RA 的作用^[16-17]。IL-10 是由 Th2、肥大细胞等多种细胞分泌的细胞因子,可发挥免疫抑制的作用,抑制中性粒细胞、单核细胞分泌 TNF- α 、干扰素- γ 等致炎细胞因子;抑制单核细胞表达主要组织相容性复合体-II 类分子抗原和 CD80、CD86 等协同刺激因子,减弱抗原提呈功能,发挥抗炎作用^[18-20]。TNF- α 是活化的 Th1 分泌的细胞因子,不仅是一种有效的肿瘤细胞杀伤因子,还是 RA 发病中重要的促炎细胞因子,过表达可引起慢性炎症^[21]。本研究结果表明,与正常对照组比较,模型组大鼠血清中 IL-4、IL-10 水平显著下降, TNF- α 水平显著升高;高剂量七叶莲组大鼠血清中 IL-4、IL-10 水平显著高于模型组, TNF- α 水平显著低于模型组;高剂量七叶莲组大鼠血清中 IL-4、IL-10、TNF- α 水平与吡啶美辛组比较差异无统计学意义;其原因可能为:AA 大鼠 Th2 细胞分泌的抑炎因子明显占劣势, Th1 细胞分泌的促炎细胞因子明显占优势,导致 Th1/Th2 细胞分泌的细胞因子出现明显的失衡, Th1/Th2 的平衡向 Th1 偏移,细胞因子网络的平衡受到破坏。高剂量七叶莲通过上调 AA 大鼠血清中 Th2 细胞因子 IL-4、IL-10 的表达,发挥免疫抑制和免疫调控作用,减轻 AA 大鼠的关节肿胀度、降低 AI 指数,抑制关节炎细胞浸润,这可能是其治疗 RA 的作用机制之一;下调血清中 TNF- α 水平,抑制 Th1 细胞反应,提高 Th2 细胞的优势,促进 AA 大鼠体内 Th1/Th2 平衡的恢复,纠正 RA 的炎症损害,这可能是七叶莲治疗 RA 的又一作用机制。

综上所述,高剂量七叶莲可显著改善 AA 大鼠的关节炎病变程度和足肿胀度,机制可能与其对血清中 IL-4、IL-10、TNF- α 水平的调控有关。但对于复杂的细胞因子网络,本研究还未能全面地解释七叶莲对 RA 治疗中复杂的免疫调节作用,下一步的研究重点为通过基因芯片技术,全面检测全基因表达谱的改变,以期寻找位于网络中心的信号通路和基因,进一步明确 RA 的发病机制,为应用七叶莲治疗 RA 打下扎实的理论基础。

参考文献:

- [1] UHLIG T, MOE R H, KVIEN T K. The burden of disease in rheumatoid arthritis[J]. *Pharmacoeconomics*, 2014, 32(9): 841-851.
- [2] KRONZER V L, DAVIS J M. Etiologies of rheumatoid arthritis: update on mucosal, genetic, and cellular pathogenesis[J]. *Curr Rheumatol Rep*, 2021, 23(4): 21.
- [3] OHGI K, KAJIYA H, GOTO-T K, et al. Toll-like receptor 2 activation primes and upregulates osteoclastogenesis via lox-1[J]. *Lipids Health Dis*, 2018, 17(1): 132.
- [4] 苏雨荷, 王刚, 文振华, 等. 类风湿关节炎的发病机制及药物治疗研究进展[J]. 西北药学杂志, 2021, 36(5): 857-861.
SU Y H, WANG G, WEN Z H, et al. Research progress on the pathogenesis and drug treatment of rheumatoid arthritis[J]. *J Northwest Pharm*, 2021, 36(5): 857-861.
- [5] 祁芳, 李艳玲, 艾坤, 等. SD大鼠佐剂性关节炎模型的建立与评估[J]. 湖南中医药大学学报, 2016, 36(1): 23-26.
QI F, LI Y L, AI K, et al. The establishment and evaluation of adjuvant-induced arthritis in SD rats[J]. *J Hunan Univ Chin Med*, 2016, 36(1): 23-26.
- [6] 孙爱静, 徐先祥, 黄晓东, 等. 七叶莲抗炎镇痛作用及机制研究[J]. 中药材, 2014, 37(2): 311-315.
SUN A J, XU X X, HUANG X D, et al. Studies on the anti-inflammatory and analgesic effects of *Schefflera arboricola* Hayata and its mechanism[J]. *J Chin Med Mater*, 2014, 37(2): 311-315.
- [7] 林小凤, 张慧, 隋臻, 等. 七叶莲不同溶剂提取部分的抗炎镇痛作用[J]. 中国生化药物杂志, 2012, 33(4): 346-349.
LIN X F, ZHANG H, SUI Z, et al. Anti-inflammatory and analgesic activities of compounds isolated from the *Schefflera arboricola* Hayata with different solvents[J]. *Chin J Biochem Pharm*, 2012, 33(4): 346-349.
- [8] KUMAR A, DHALIWAL N, DHALIWAL J, et al. Astaxanthin attenuates oxidative stress and inflammatory responses in complete Freund-adjuvant-induced arthritis in rats [J]. *Pharmacol Rep*, 2019, 72(1): 104-114.
- [9] DARAM P, JITTA S R, SHREEDHARA C S, et al. Investigation of anti-inflammatory and anti-arthritis potentials of terminalia catappa bark using *in vitro* assays and carrageenan-induced inflammation, complete Freund's adjuvant induced arthritis model in rats [J]. *S Afr J Bot*, 2021, 141: 313-321.
- [10] 中国医科院药用植物研究所. 中药学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 561-565.
INSTITUTE OF MEDICINAL PLANTS, CHINESE ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES. Science of Chinese pharmacology [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1994: 561-565.
- [11] 刘同祥, 张艳萍. 七叶莲的研究进展[J]. 中央民族大学学报(自然科学版), 2010, 19(2): 75-77.
LIU T X, ZHANG Y P. Research progress on *Schefflera arboricola* root [J]. *J Minzu Univ China (Nat Sci Edit)*, 2010, 19(2): 75-77.
- [12] 杨海波. 疏风胜湿汤联合叫喙美辛治疗类风湿性关节炎随机平行对照研究[J]. 实用中医内科杂志, 2015, 29(1): 95-97.
YANG H B. Expelling wind and dampness decoction combined with indomethacin random parallel controlled study on treatment of rheumatoid arthritis [J]. *J Pract Trad Chin Int Med*, 2015, 29(1): 95-97.
- [13] 廖婉婷, 潘文疆, 蔡聪艺, 等. 七叶莲对佐剂性关节炎大鼠的治疗作用[J]. 海峡药学, 2018, 22(6): 25-27.
LIAO W T, PAN W J, CAI C Y, et al. Therapeutic effect of Paris polyphylla Smith in Freund's complete adjuvant arthritis rats [J]. *Strait Pharm J*, 2018, 22(6): 25-27.
- [14] 杨渐, 张晓昕, 刘倩, 等. 钩吻素子对佐剂诱导关节炎大鼠 T 辅助细胞因子平衡偏移的调节作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2018, 32(9): 719-725.
YANG J, ZHANG X X, LIU Q, et al. Regulation of Koumine on the balance shift of T helper cytokines in rats with adjuvant-induced arthritis [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2018, 32(9): 719-725.
- [15] DONG C, FU T, JI J, et al. The role of interleukin-4 in rheumatic diseases [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2018, 45(8): 747-754.
- [16] 李伟, 王佳怡, 肖春媛, 等. IL-4 通过促进 CD30 分子表达抑制类风湿关节炎患者 T 细胞功能的研究[J]. 同济大学学报(医学版), 2021, 42(4): 528-533.
LI W, WANG J Y, XIAO C Y, et al. IL-4 inhibits T cell function in patients with rheumatoid arthritis through promoting CD30 expression [J]. *J Tongji Univ (Med Sci)*, 2021, 42(4): 528-533.
- [17] SUN Y H, WEI S T, ZONG S H, et al. Correlation between IL-4 gene polymorphisms well as its mRNA expression and rheumatoid arthritis [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(17): 3879-3885.
- [18] TAKASUGI K, YAMA M, IWAHASHI M, et al. Induction of tumour necrosis factor receptor-expressing macrophages by interleukin-10 and macrophage colony-stimulating factor in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2006, 8(4): R126.
- [19] JOHNSON J L, JONES M B, COBB B A, et al. Polysaccharide-experienced effector T cells induce IL-10 in FoxP3 + regulatory T cells to prevent pulmonary inflammation [J]. *Glycobiology*, 2018, 28(1): 50-58.
- [20] 周惠敏, 胡志刚. 白细胞介素-10 抑制类风湿关节炎患者的研究进展[J]. 医疗装备, 2019, 32(23): 197-199.
ZHOU H M, HU Z G. Research progress of interleukin-10 inhibition in patients with rheumatoid arthritis [J]. *Med Equipm*, 2019, 32(23): 197-199.
- [21] BJARNADÓTTIR U, EINARSDÓTTIR H K, STEFÁNSDÓTTIR E, et al. Resolution of Th/Tc17-driven inflammation during anti-TNF α treatment of rheumatoid arthritis reveals a unique immune biomarker profiling pattern [J]. *Scand J Immunol*, 2021, 95(1): e131116.

(本文编辑:郭 潇)