

应细胞的增殖情况。经过 SRBC 免疫的小鼠脾细胞悬液与一定量的 SRBC 混合,在补体参与下,使分泌抗体的脾细胞周围的 SRBC 溶解,形成肉眼可见的空斑。溶血空斑数可反应抗体生成细胞(B 淋巴细胞)数。

本研究结果表明:乌药能显著增加溶血空斑数,提高加 Con A 和不加 Con A 脾细胞培养液之间的吸光度差值;提高小鼠胸腺和脾脏器指数。乌药的这些功能除提高胸腺脏指数外与胸腺肽相似。胸腺肽不仅没有提高胸腺脏指数,反而明显降低胸腺指数。这可能是由于胸腺肽是由胸腺分泌的产物,外源性胸腺肽反而反馈性抑制胸腺的发育。上述结果表明乌药主要是通过促进胸腺和脾脏的发育,促进 T 淋巴细胞的分化和 B 淋巴细胞的产生而提高免疫功能。另外乌药还能显著降低实验性脂肪肝大鼠的血清 TC、LDL、ALT、AST 水平,说明乌药具有降血脂和对脂肪性肝损伤的护肝作用。

综上所述,乌药有增强免疫功能、降脂、保护脂肪性肝损伤的药理作用,对脂肪肝且伴有免疫功能低下的患者应用效果会更好。

乌药增强免疫功能方面本实验仅进行了对 Con A 诱导的小鼠淋巴细胞转化试验、对抗体生成细胞的影响试验和对免疫器官脏指数影响的研究;乌药护肝方面本实验仅进行了实验性脂肪肝模型的研究。为更全面和深入的探索乌药在增强免疫功能和保肝、护肝方面的药理作用,乌药在细胞免疫功能、单核-巨噬细胞功能、NK 细胞活性等免疫功能方面^[9]和对 CCl₄、D-半乳糖等急性肝损伤模型^[10]方面的护肝作用尚待进一步研究。

REFERENCES

- [1] LI Q L, CHOU G X, DOU C G, et al. Studies on the analgesic and anti-inflammatory action of Radix Linderae extract [J]. J Med Mater(中药材), 1997, 20(12): 629-631.
- [2] GU L Y, LUO Q, XIAO M, et al. Anti-oxidative and hepatoprotective activities of the total flavonoids from the leaf of *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm. against mice liver injury induced by carbon tetrachloride [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharm(中药新药与临床药理), 2008, 19(6): 447-450.
- [3] GUAN M, WANG J W, BIAN C M, et al. Study on the *in vitro* bacteriostatic and bactericidal activity of different solvent extracts from Radix Linderae [J]. J Anhui Agri Sci(安徽农业科学), 2012, 40(14): 8161-8164.
- [4] KOBAYASHI W, MIYASE T, SANO M, et al. Prolyl endopeptidase inhibitors from the roots of *Lindera strychnifolia* [J]. Biol Pharm Bull, 2002, 25(8): 1049-1052.
- [5] YAN R W, PENG X M, ZOU G L. Anticancer and antioxidant activity of *Lindera strychnifolia* extracts [J]. J Wuhan Univ(武汉大学学报), 2011, 57(3): 265-268.
- [6] OHNO T, TAKEMURAG, MURATA I, et al. Water extract of the root of *Lindera strychnifolia* slows down the progression of diabetic nephropathy in db/db mice [J]. Life Sci, 2005, 77(12): 1391-1403.
- [7] MA X P, ZHANG L L, NIE J H, et al. Effect of Xiaoliu tablet on mice with experimental endometriosis, anti-inflammatory and analgesia [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(3): 257-261.
- [8] WANG T, LIU W, ZHUANG H C, et al. Experimental research of toxicity attenuation of stronger neo-minophagen C injection with chemotherapy and radiotherapy in mice [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(9): 943-948.
- [9] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[S]. 2003: 22-34.
- [10] YANG Y, ZHANG Y P, LIANG G Y. Protective effect of Xiaohuaqingfengteng capsule on acute liver injury mice and its acute toxicity test [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(11): 1166-1170.

收稿日期: 2014-09-26

附子白芍配伍对佐剂性关节炎大鼠的抗炎活性研究

孙萍萍¹, 黄萍^{2*}, 薛俊超¹(1.浙江省立同德医院, 杭州 310012; 2.浙江省肿瘤医院, 杭州 310053)

摘要: 目的 观察附子白芍配伍前后对佐剂性关节炎模型大鼠抗炎活性的影响。方法 采用完全弗氏佐剂诱导建立佐剂性关节炎大鼠炎症痛模型,随机分为模型组、附子组、白芍组、附子白芍配伍组,以雷公藤多苷为阳性药,另设正常组。分别测定各组大鼠足跖肿胀体积,ELISA 法测定血清中 PGE₂、IL-1 β 和 TNF- α 浓度。结果 与模型组比较,雷公藤多苷组、附子组、白芍组,配伍组均能够降低大鼠左右后足的肿胀度以及血清中的 PGE₂、IL-1 β 和 TNF- α 浓度,其中附子白

基金项目:浙江省中医药科技计划项目(2013ZA006)

作者简介:孙萍萍,女,硕士生,主管中药师 Tel:(0571)89972243 E-mail:sunpingping8210@126.com *通信作者:黄萍,女,硕士,主任药师 Tel:(0571)88122118 E-mail:huangpwly@sina.com

芍配伍组、雷公藤多苷组、白芍组作用最强($P<0.01$), 附子组和白芍组均弱于配伍组, 附子组的抑制作用最弱, 与配伍组有显著统计学差异($P<0.01$)。结论 附子、白芍均有不同程度的抗炎活性, 两者配伍能显著增强各单味药尤其是附子的抗炎活性, 表明两者配伍具有明显的协同增效作用。

关键词: 附子; 白芍; 配伍; 抗炎活性

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2015)05-0538-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.05.005

Study of Anti-inflammatory Activity of Compatibility of Aconiti Lateralis Radix Praeparata and Paeoniae Radix Alba on the Adjuvant Arthritis Rats

SUN Pingping¹, HUANG Ping^{2*}, XUE Junchao¹(1.Tongde Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310012, China; 2. Zhejiang Cancer Hospital, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the anti-inflammatory effect of Aconiti Lateralis Radix Praeparata combined with Paeoniae Radix Alba on the arthritic rat. **METHODS** The rat model was established by injecting the complete Freund's adjuvant into the subcutis of their left rear paws. The rats were randomly divided into control group, model group, tripterygium glycosides group, Aconiti Lateralis Radix Praeparata group, Paeoniae Radix Alba group and combinational group(treated with Aconiti Lateralis Radix Praeparata and Paeoniae Radix Alba). Meanwhile, the volume of paw swelling was measured, and the serum levels of PGE₂, IL-1 β and TNF- α were detected by ELISA. **RESULTS** Compared with model group, the tripterygium glycosides group, Aconiti Lateralis Radix Praeparata group, Paeoniae Radix Alba group and combinational group could decrease the swelling degree of the rat paws and decrease the serum concentration of PGE₂, IL-1 β , TNF- α . And the combinational group, tripterygium glycosides group, Paeoniae Radix Alba group had the strongest effect ($P<0.01$), Aconiti Lateralis Radix Praeparata group and Paeoniae Radix Alba group were weaker than the combination group, the weakest inhibitory action of aconite group, with significant difference with compound group($P<0.01$). **CONCLUSION** Both of Aconiti Lateralis Radix Praeparata and Paeoniae Radix Alba treatment group have obviously anti-inflammation activity. The combination treatment can significantly enhance the anti-inflammation activity of any single one. It may indicate that synergy effects are generated during the combinational treatment of the two herb.

KEY WORDS: Aconiti Lateralis Radix Praeparata; Paeoniae Radix Alba; compatibility; anti-inflammatory activity

疼痛是伴随着现有的或潜在的组织损伤的一种令人不愉快的感觉和情绪上的感受^[1]。炎性疼痛是临床上最为常见, 也是公认最难治疗的一种, 它是组织损伤和炎症后释放许多炎性介质, 包括白介素-1(IL-1), 肿瘤坏死因子(TNF- α)和前列腺素(PG)等引起的^[2-3]。这些介质是引发局部炎症的主要因素, 它们改变了局部血管的通透性, 导致局部红肿, 同时会启动一系列级联反应, 改变外周神经末梢传导性, 敏化外周痛觉感受器。

目前临床上对多种急慢性疼痛多采取以西药治疗为主, 但由于镇痛药的成瘾性、耐药性及不良反应等特点, 寻找不良反应和依赖性小的止痛中药成为新的趋势^[4-5]。附子白芍是中医治疗风湿痹症常用的传统药对, 也是现代治疗风湿性关节炎、类风湿关节炎等疾病的常用药对^[6]。

大鼠佐剂性关节炎(adjuvant arthritis, AA)是研究类风湿性关节炎的重要模型^[7]。本实验采用 AA 大鼠模型, 探讨附子白芍两者配伍前后对完全弗氏佐剂(CFA)诱导的 AA 大鼠模型的抗炎活性的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药物与试剂 CFA(美国 Sigma, 批号: CAS9007-84-2); 乙醚(批号: 20111015)、碘伏(批号: 20120819)、雷公藤多苷(批号: 20130522)、PGE₂ 检测试剂盒(批号: 20130624)、IL-1 β 检测试剂盒(批号: 20130528)和 TNF- α 检测试剂盒(批号: 20130610)均购于南京建成生物公司。

附子、白芍均购于华东医药公司, 经浙江省立同德医院余平副主任药师鉴定附子为毛茛科植物卡氏乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的子根, 白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的根。

1.1.2 仪器 YAMATO RE-300 旋转蒸发仪(日本大和); ELX808IV 酶标仪(美国 Biotek); TU-1810 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); 万分之一电子分析天平(赛多利斯); 5810 低温高速离心机(德国 Eppendorf)。

1.1.3 动物 SD 大鼠, δ , 60 只, 体质量(200 \pm 20)g, 动物合格证号: SCXK(沪)2008-0016, 均由

浙江中医药大学实验动物中心提供。

1.2 方法

1.2.1 药物的制备 取附子 200 g、白芍 200 g、附子白芍配伍 300 g(附子:白芍=1:2), 分别加 10 倍量的水, 浸泡 30 min 后煎煮 1.5 h, 煎煮 2 次, 合并药液浓缩至 $1\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 放置 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中备用。

1.2.2 AA 大鼠的制备 所有动物均用乙醚麻醉后, 碘伏消毒左侧后足跖, 于跖底注射 CFA $150\text{ }\mu\text{L}$, 空白大鼠每只用同样方法于左后足跖皮内注射等量生理盐水。

1.2.3 动物分组与给药 将 50 只造模成功的 SD 大鼠随机分成 5 组, 每组 10 只, 分别为模型组、阳性药组、附子组、白芍组、附子白芍配伍组, 另取 10 只空白大鼠作为正常组。AA 大鼠从注射 CFA 当天开始灌胃给药, 药量按照人的药用量折算的 5 倍给药, 经计算可得, 正常组和模型组给予生理盐水 $2\text{ mL}\cdot\text{d}^{-1}$, 阳性药组给予雷公藤多苷 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 附子组给予 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 白芍组给予 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 附子白芍组给予 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 连续给药 22 d。

1.2.4 指标测量

1.2.4.1 足跖肿胀体积的测量 按照文献方法^[8], 用玻璃足容器测大鼠后肢踝关节周围以下部分体积, 分别于造模当天以及第 2, 3, 4, 7, 10, 13, 16, 19 天测量左后足跖体积, 再于第 10, 13, 16, 19 天测量右后足跖的体积, 再按以下公式计算足跖肿胀率。

足跖肿胀率=(注射后体积-注射前体积)/注射前体积 $\times 100\%$ 。

1.2.4.2 血清 PGE₂、IL-1 β 和 TNF- α 的检测 于第 22 天给药后 2 h, 将大鼠用水合氯醛溶液麻醉后, 腹主动脉取血 4 mL 左右, 注入干燥无菌的试管中, $3\ 500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上层血清进行测定。用 ELISA 法测定血清中 PGE₂、IL-1 β 和 TNF- α , 具体测定方法均按试剂盒说明书进行。

1.2.5 统计方法 采用 SPSS 17.0 统计软件, 所有数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P<0.05$ 为差异有显著性, 结合统计表和统计图进行分析。

2 结果

2.1 AA 模型的建立和评价

参考相关的文献^[8], 大鼠 AA 原发性的病变主要表现为早期致炎部位的局部炎症反应和发病过程中大鼠体征的变化, 其中大鼠足趾肿胀度可以

作为评价 AA 模型的主要指标之一。而在实验过程中可观测到: 正常组大鼠在造模当天出现轻度红肿, 至次日就明显好转。模型组大鼠左后足跖注射 CFA 后即在注射部位出现早期的炎症反应, 左足跖明显红肿热甚, 行走不方便, 3 d 后达到高峰, 此后逐渐减轻, 但于 7 d 后再度肿胀; 此外, 发病过程中可见大鼠精神萎靡、毛发无光泽、出现多发性的关节肿胀和活动障碍。造模后的第 10 天左右出现右后足跖肿胀等继发病变, 并逐日明显, 至 13 d 达到高峰, 关节活动受限, 部分大鼠耳和尾部出现红斑, 此后肿胀逐渐减轻直到观察结束。因此可以判定模型复制成功。

2.2 对大鼠足跖肿胀度的影响

造模后第 2~19 天, 与正常组相比, 其余各组的左侧足跖容积均显著升高。与模型组大鼠比较, 造模后 2~4 d, 各组对左侧足跖肿胀抑制不明显, 均无统计学意义; 而第 7 天后, 阳性药组、附子组、白芍组、附子白芍配伍组均对左侧足跖肿胀度有明显的抑制作用, 其中阳性药组、附子白芍配伍组、白芍组作用最强($P<0.01$), 附子组次之($P<0.05$); 此外, 附子白芍配伍组与阳性药的治疗效果相当; 附子组和白芍组对左侧足跖肿胀抑制的程度弱于配伍组。结果见表 1。

与模型组大鼠比较, 阳性药组、附子组、白芍组、附子白芍配伍组均对右侧足跖肿胀度有明显的抑制作用, 其中附子白芍配伍组、阳性药组、白芍组作用最强($P<0.01$), 附子组次之。与阳性药组比较, 配伍组在治疗效果上无统计学差异($P>0.05$), 附子组和白芍组均弱于配伍组, 附子组的抑制作用最弱, 与配伍组有显著统计学差异($P<0.01$)。结果见表 2。

2.3 对大鼠血清 PGE₂、IL-1 β 和 TNF- α 炎症因子的影响

与正常组相比, 模型组大鼠血清中 PGE₂、IL-1 β 和 TNF- α 浓度明显增加(均 $P<0.01$)。与模型组相比, 阳性药组、附子组、白芍组、附子白芍配伍组均对大鼠血清中 PGE₂ 和 IL-1 β 浓度均有明显的抑制作用, 在降低模型大鼠血清 PGE₂ 水平上, 附子组>白芍组>阳性药组>配伍组, 均极为显著($P<0.01$); 而在降低大鼠血清 IL-1 β 水平上, 阳性药组>配伍组>白芍组>附子组, 均极为显著($P<0.01$); 此外, 与阳性药组比较, 各给药组均能降低模型大鼠 TNF- α 的水平, 作用效果阳性药组>配伍组>白芍组>附子组。结果见表 3。

表 1 附子白芍配伍对 AA 大鼠左后足容积的影响(n=10)

Tab. 1 Effect of compatibility of Aconiti Lateralis Radix Praeparata and Paeoniae Radix Alba on volume of left pleopoda of AA rat(n=10)

组别	AA 大鼠左后足容积/%								
	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 7 天	第 10 天	第 13 天	第 16 天	第 19 天
正常组	1.69±0.01	3.33±0.03	4.16±0.02	4.20±0.03	4.98±0.04	5.88±0.06	6.72±0.07	7.24±0.08	7.26±0.07
模型组	102.50±9.87 ¹⁾	108.76±10.87 ¹⁾	124.36±11.83 ¹⁾	106.72±9.87 ¹⁾	109.24±9.95 ¹⁾	110.92±12.03 ¹⁾	117.64±10.85 ¹⁾	108.40±10.17 ¹⁾	99.16±9.53 ¹⁾
阳性药组	90.00±9.01 ³⁾	93.22±8.84 ³⁾	111.76±10.44 ³⁾	102.3±8.06 ³⁾	86.55±7.38 ³⁾	74.78±6.53 ³⁾	67.22±5.97 ³⁾	57.98±4.85 ³⁾	44.53±3.99 ³⁾
附子组	95.83±8.63 ³⁾	99.15±7.98 ³⁾	115.12±10.57 ³⁾	103.36±9.74 ²⁾	95.79±8.55 ³⁾	84.87±7.73 ³⁾	78.99±6.54 ³⁾	71.42±7.17 ³⁾	55.46±4.72 ³⁾
白芍组	93.33±8.37 ³⁾	96.61±9.04 ³⁾	119.32±10.34 ²⁾	101.68±9.05 ²⁾	93.28±8.09 ³⁾	84.03±7.93 ³⁾	76.47±7.67 ³⁾	67.22±6.21 ³⁾	52.94±4.97 ³⁾
配伍组	90.83±9.87 ³⁾	94.06±9.12 ³⁾	113.45±11.01 ³⁾	94.11±8.38 ³⁾	91.60±7.92 ³⁾	78.15±6.89 ³⁾	73.11±6.48 ³⁾	63.03±5.64 ³⁾	49.57±4.02 ³⁾

注：与正常组比较，¹⁾P<0.01；与模型组相比，²⁾P<0.05，³⁾P<0.01。

Note: Compared with momal group, ¹⁾P<0.01; compared with model group, ²⁾P<0.05; ³⁾P<0.01.

表 2 附子白芍配伍对 AA 大鼠右后足容积的影响(n=10)

Tab. 2 Effect of compatibility of Aconiti Lateralis Radix Praeparata and Paeoniae Radix Alba on volume of right pleopoda of AA rat(n=10)

组别	AA 大鼠右后足容积/%				
	第 1 天	第 10 天	第 13 天	第 16 天	第 19 天
正常组	1.71±0.11	5.84±0.09	6.69±0.14	7.18±0.41	7.32±0.21
模型组	103.50±10.32 ¹⁾	91.67±8.86 ¹⁾	101.22±10.01 ¹⁾	94.55±9.07 ¹⁾	87.24±8.03 ¹⁾
阳性药组	91.00±9.41 ³⁾	83.15±7.93 ³⁾	88.44±8.04 ³⁾	87.38±8.24 ³⁾	79.79±7.11 ³⁾
附子组	95.63±9.23 ³⁾	89.22±8.52	93.42±8.83 ³⁾	91.21±8.51 ³⁾	86.55±7.74
白芍组	93.55±9.43 ³⁾	86.78±8.07 ²⁾	91.96±8.92 ³⁾	89.68±8.11 ³⁾	83.28±8.12 ³⁾
配伍组	90.53±8.83 ³⁾	85.01±7.62 ³⁾	89.99±8.32 ³⁾	88.17±8.24 ³⁾	80.60±7.27 ³⁾

注：与正常组比较，¹⁾P<0.01；与模型组相比，²⁾P<0.05，³⁾P<0.01。

Note: Compared with momal group, ¹⁾P<0.01; compared with model group, ²⁾P<0.05; ³⁾P<0.01.

表 3 附子白芍配伍对 AA 大鼠血清 PGE₂、IL-1β 和 TNF-α 的影响

Tab. 3 Effect of compatibility of Aconiti Lateralis Radix Praeparata and Paeoniae Radix Alba on PGE₂, IL-1β and TNF-α

组别	PGE ₂ /ng·mL ⁻¹	IL-1β/pg·mL ⁻¹	TNF-α/pg·mL ⁻¹
正常组	22.15±2.08	530.44±40.87	26.65±2.08
模型组	45.30±3.94 ¹⁾	848.95±15.38 ¹⁾	33.25±4.05 ¹⁾
阳性组	37.11±3.25 ³⁾	681.03±15.00 ³⁾	28.84±2.85 ³⁾
附子组	32.42±3.16 ³⁾⁴⁾	748.84±12.33 ³⁾⁵⁾	30.16±2.26 ²⁾
白芍组	35.34±2.95 ³⁾	720.68±8.26 ³⁾⁵⁾	29.68±2.18 ³⁾
配伍组	39.77±2.82 ³⁾	701.23±8.41 ³⁾	29.10±3.01 ³⁾

注：与正常组相比，¹⁾P<0.01；与模型组相比，²⁾P<0.05，³⁾P<0.01；与配伍组比较，⁴⁾P<0.05，⁵⁾P<0.01。

Note: Compared with momal group, ¹⁾P<0.01; compared with model group, ²⁾P<0.05, ³⁾P<0.01; compared with combination group, ⁴⁾P<0.05, ⁵⁾P<0.01.

3 讨论

炎症的发生发展与局部 PGE₂ 量有密切关系，它能使局部毛细血管扩张，血管通透性增加，组织充血，血浆渗出，组织水肿，发生炎症，局部高浓度的 PGE₂ 能加速炎症进展，促进胶原酶和其他中性蛋白酶的产生，导致软骨基质崩解，软骨

吸收和骨破坏^[9]。此外，IL-1β 亦与炎症的发生发展和转归有着密切的关系，它在缺氧缺血及应激状态下表现为明显的上行调节和持续的分泌增多^[10]。而 TNF-α 在活动性类风湿性关节炎中亦是重要的标志炎症因子，它参与 3 种病理过程^[11]。

风湿性关节炎、类风湿关节炎等疾病属于中医“痹证”范畴，风寒湿邪侵袭，痰湿瘀阻经络是其主要病因机制。《神农本草经疏》：“附子，药性大热而善走，故亦善除风寒湿三邪，三邪祛则诸证自瘳矣。”白芍中的白芍总苷已作为第 1 个免疫调节剂用于类风湿性关节炎的临床治疗^[12]。TGP 能抑制佐剂性关节炎大鼠的炎症反应，恢复破坏的骨组织，可调节滑膜细胞的超微结构，通过调节巨噬细胞样滑膜细胞和成纤维细胞样滑膜细胞中促分裂原活化蛋白激酶的磷酸化而抑制致炎介质的产生^[13]。白芍敛阴养血，缓急止痛，和营柔肝，平抑肝阳。附子温阳散寒，回阳救逆。两味药一阳一阴，一寒一热，一收一散，相反相成，附子以温肾之真阳推动脏腑气血，助白芍滋养阴血。白芍酸收敛阴，缓附子之燥烈，温阳散寒且

不伤阴耗血。附子配白芍，回阳而益阴、祛寒而止痛。

本研究结果显示，附子、白芍提取物均有降低大鼠血清中炎性细胞因子 PGE₂、IL-1 β 和 TNF- α 含量的作用，减缓类风湿关节炎免疫介导炎症反应的作用，具有较好的抗炎作用，提示附子白芍提取物可能通过抑制 PGE₂、IL-1 β 和 TNF- α 的合成和释放来发挥抗炎的作用。本实验对附子与白芍配伍前后疗效进行比较，研究附子与白芍配伍的意义，结果附子与白芍配伍具有显著治疗作用，且配伍后作用优于单用附子或单用白芍，充分体现了中医配伍理论的显著意义，为临床运用中药治疗炎性疼痛提供了依据。

REFERENCES

- [1] 张林, 罗容, 鲁艺, 等. 中药镇痛新药开发的中西医结合研究进展[J]. 世界中西医结合杂志, 2012, 7(6): 543-545.
- [2] CHEN X H, ZHANG L, WANG H M, et al. Effects of tanshinone on the changes of TNF- α , IL-1 β and IL-1Ra in rabbit model with spinal cord ischemia reperfusion injury [J]. Chin J Tradit Med Traumatol Orthop(中国中医骨伤科杂志), 2012, 20(4): 1-3.
- [3] PARK C K, LÜ N, XU Z Z, et al. Resolving TRPV1 and TNF- α -mediated spinal cord synaptic plasticity and

inflammatory pain with neuroprotectin D1 [J]. J Neurosci, 2011, 31(42): 15072-15085.

- [4] 张湘杰, 何永恒. 花椒、延胡索、没药、三七镇痛的药理学研究概述[J]. 海峡药学, 2009, 21(2): 62.
- [5] 高冲, 刘平. 中药镇痛作用机制及其发展概况[J]. 承德医学院学报, 2010, 27(3): 321-323.
- [6] 刘家骅. 药对[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 324.
- [7] 邵传森, 朱圣禾. 临床疾病与免疫[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 125.
- [8] 徐淑云, 卞如镰, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 915.
- [9] LU J, XING J H, LI J H. Prostaglandin E2 (PGE2) inhibits glutamatergic synaptic transmission in dorsolateral periaqueductal gray (dl-PAG) [J]. Brain Res, 2007(1162): 38-47.
- [10] ZHANG W H, JIANG J P. Roles and mechanisms of interleukin-1 β during inflammatory pain [J]. Chin Bull Life Sci(生命科学), 2010, 22(3): 291-295.
- [11] CHEN J, SONG Y, YANG J, et al. The contribution of TNF- α in the amygdala to anxiety in mice with persistent inflammatory pain [J]. Neuroscience Lett, 2013(541): 275-280.
- [12] HU C L, LIN B, ZHENG C J, et al. Advances in studies on natural medicines and their action mechanism for treatment of rheumatoid arthritis [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2011, 42(7): 1435-1439.
- [13] ZHENG Y Q, WEI W. Total glucosides of paeony suppresses adjuvant arthritis in rats and intervenes cytokine-signaling between different types of synoviocytes [J]. Int Immunopharmacol, 2005, 5(10): 1560-1573.

收稿日期: 2014-07-12

异硫氰酸苜蓿酯抑制人胶质瘤 U87MG 细胞体外侵袭和诱导凋亡的作用和机制

霍焱¹, 魏会宇¹, 马永建¹, 朱彧^{2*} (1.天津医科大学眼科医院药剂科, 天津医科大学眼视光学院, 天津医科大学眼科研究所, 天津 300384; 2.天津市环湖医院检验科, 天津 300060)

摘要: 目的 研究异硫氰酸苜蓿酯对人胶质瘤 U87MG 细胞体外侵袭和凋亡的影响, 并初步探讨其作用机制。方法 采用 MTS 实验考察异硫氰酸苜蓿酯对肿瘤细胞体外增殖的抑制作用; 2, 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 异硫氰酸苜蓿酯作用 24 h 后, 采用 Transwell 实验、黏附实验和划痕实验观察异硫氰酸苜蓿酯对人胶质瘤细胞侵袭、黏附和迁移能力的影响; 应用 Real-time-PCR 和 Western blot 法检测相应浓度异硫氰酸苜蓿酯处理后人胶质瘤 U87MG 细胞中 MMP-2、MMP-9、CD44、Survivin、Bcl-2、Net1、RhoA、caspase-3、caspase-8 和 p-AKT 的表达变化; 应用报告基因技术检测 NF- κ B 转录活性的变化; 采用 ELISA 法测定胞内 8-OH-dG 含量; 10, 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 异硫氰酸苜蓿酯作用 24 h 后, 采用流式细胞术观察其对细胞凋亡的作用。结果 异硫氰酸苜蓿酯可显著抑制人胶质瘤 U87MG 细胞体外增殖; 与 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组相比, 2, 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 异硫氰酸苜蓿酯对人胶质瘤细胞 U87MG 侵袭、黏附和迁移能力有明显的抑制作用; 不同浓度异硫氰酸苜蓿酯处理后, 肿瘤细胞 MMP-2、MMP-9、CD44、Survivin、Bcl-2、NET1 和 RhoA 的 mRNA 和蛋白表达、AKT 磷酸化水平和 NF- κ B 转录活性明显下调, caspase-3 和 caspase-8 表达以及 8-OH-dG 含量显著上调; 10, 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 异硫氰酸苜蓿酯可显著诱导细胞凋亡。结论 异硫氰酸苜蓿酯抑制人胶质瘤细胞 U87MG 的侵袭能力, 诱导细胞凋亡, 其机制可能与抑制 AKT/NF- κ B 信号转导途径, 进而调节侵袭和凋亡相关基

基金项目: 天津市卫生局科技基金(2013KY17); 天津市应用基础与前沿技术计划(14JCQNJC12000)

作者简介: 霍焱, 男, 药师 Tel: (022)58280827 E-mail: zhuyutj@126.com *通信作者: 朱彧, 男, 博士, 副主任技师 Tel: (022)60367853 E-mail: zhuyutj@126.com