

中医药对骨关节炎动物模型细胞因子作用研究进展

白雯 阎小萍 吕素飞 陶庆文 王建明 金玥 陈璐 赵超群 朱笑夏

【摘要】 骨关节炎以关节软骨及软骨下骨受累为主,目前发病机制尚不明确,细胞因子可能通过复杂的作用机制参与骨关节炎的形成。中医药能有效改善骨关节炎患者的症状及体征,具有独特优势。本文从细胞因子作用研究方面,通过对近年来中医药治疗骨关节炎动物模型的文献进行综述总结,认为中医药能够抑制白细胞介素(interleukin, IL)的形成,降低血清和关节液中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的水平,上调转化生长因子(transforming growth factor- β , TGF- β)的表达,提高 TGF- β 的水平,下调结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)的表达以降低 CTGF 介导的软骨细胞的增殖与表达,达到保护关节软骨,减缓骨关节炎骨赘的形成,减缓发病进程的目的。

【关键词】 中医药; 骨关节炎; 动物模型; 细胞因子

【中图分类号】 R684 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2015.08.038

Progress on the effects of cytokines in the animal model of osteoarthritis by traditional Chinese medicine treatment BAI Wen, YAN Xiao-ping, LV Su-fei, et al. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Corresponding author: YAN Xiao-ping, E-mail: yanxiaoping1688@126.com

【Abstract】 Osteoarthritis is a chronic disease, which mainly results from the articular cartilage damage of integrity and articular cartilage under plate of bone lesions. At present, the pathogenesis of osteoarthritis is still not clear. Cytokines may be involved in the pathogenesis through a complex mechanism. Traditional Chinese medicine has unique advantages in improving the symptoms and signs of patients with osteoarthritis. This paper reviewed the effects of cytokines in the animal model of osteoarthritis treated by Traditional Chinese medicine in recent years. It is reviewed that Traditional Chinese medicine can protect the articular cartilage, slow down osteoarthritis osteophyte formation and postpone the process of osteoarthritis by inhibiting the formation of IL(interleukin), reducing the level of TNF- α (tumour necrosis factor- α) in serum and synovial fluid, increasing TGF- β (transforming growth factor- β) expression and raising the level of it, decreasing CTGF(connective tissue growth factor) expression to slow down the formation of osteophyte and the progression.

【Key words】 Traditional Chinese medicine; Osteoarthritis; Animal model; Cytokines

细胞因子是由免疫细胞和某些非免疫细胞经

基金项目:北京市自然科学基金(7132222)

作者单位:100029 北京中医药大学[白雯(硕士研究生)、吕素飞(硕士研究生)、金玥(硕士研究生)、陈璐(硕士研究生)、赵超群(硕士研究生)、朱笑夏(硕士研究生)];中日友好医院中医风湿病科(阎小萍、陶庆文、王建明)

作者简介:白雯(1988-),2013 级在读硕士研究生。研究方向:中医风湿病。E-mail:619715626@qq.com

通讯作者:阎小萍(1945-),女,本科,主任医师,硕士研究生导师。研究方向:中医风湿病。E-mail: yanxiaoping1688@126.com

诱导而合成和分泌的一类具有生物活性的小分子蛋白,通过自分泌、旁分泌和内分泌的方式作用于靶器官,调节细胞的增殖与凋亡、蛋白质的合成、调节内分泌、非特异性调节免疫应答以及诱导炎症反应等。目前骨关节炎的发病机制尚不明确,多数研究者认为是生物学、生物化学、分子学及酶的反馈作用等复杂的多种机制相互作用的结果,诸多研究证实细胞因子同样参与骨关节炎的形成与发展。骨关节炎(osteoarthritis, OA)是累及关节软骨、软骨

下骨为主的复杂的慢性疾病,细胞因子通过复杂的作用机制参与 OA 的形成,诱导和促进软骨、软骨下骨及滑膜等组织的损伤与病变。当前中医药能有效改善 OA 患者的症状及体征,减轻患者痛苦,提高患者生活质量,为患者减轻精神和生活的负担,陶庆文等^[1]观察 60 例患者中药治疗前后平均 OA 指数、视觉模拟评分法 (visual analogue scale/Score, VAS) 及患者和医生对病情的总体评估,同时与 60 例西药组对照发现骨痹通方具有缓解和改善疼痛、僵硬、关节功能障碍的作用,是治疗膝 OA 安全且行之有效的方剂。近年来,研究者通过动物实验研究表明中医药能够影响细胞因子的代谢减缓关节炎的进展,笔者将近几年的资料整理作一综述汇报,系统阐明中医药对骨关节动物模型细胞因子的影响。

1 中医药对白细胞介素的作用

白细胞介素 (interleukin, IL) 简称白介素,目前命名的白介素有 IL-1 ~ IL-29, IL 能够促进免疫细胞增殖分化,诱导免疫类型和强度;诱导急性期反应,促进炎症反应等;在 OA 的形成机制中,IL 促进 OA 炎症反应的形成,破坏软骨基质。目前研究参与 OA 发病机制的 IL 主要有 IL-1、IL-6、IL-10、IL-12、IL-17、IL-18 等。大多研究表明中医药能够抑制 IL 的形成,减缓 OA 的发病进程。

1.1 IL-1

Heraud 等^[2]研究表明 IL-1 在调控软骨细胞凋亡方面发挥重要作用,IL-1 干扰正常软骨的代谢,影响软骨胶原和蛋白多糖的合成;同时还可以使基质金属蛋白酶 (metalloproteinase, MMP)/基质金属蛋白酶组织抑制因子 (tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP) 平衡失调,使软骨基质胶原和蛋白多糖分解进而导致软骨的破坏。软骨基质破坏不能为软骨细胞提供正常微环境,软骨细胞的代谢影响软骨基质成分分解与合成代谢的平衡。陈飞雁等^[3]研究指出威灵仙注射液可以通过抑制 IL-1 的水平对 OA 起防治作用。张爱玲等^[4]表明补肾壮骨颗粒能够有效降低 IL-1 的表达对 OA 起到治疗作用。王秀华等^[5]研究发现空白组未检测出 IL-1,模型组 (兔膝关节炎模型) 与治疗组 (西药组、丹参组) 均能检测出 IL-1,由此可以得出 IL-1 在 OA 发病过程中可能起重要作用;经过一段时间的膝关节腔内注射发现:造模组 (生理盐水组) IL-1 的

水平明显高于中药治疗组 (丹参组), $P < 0.01$; 差异有显著统计学意义;西药组 (激素) 低于中药组 (丹参组), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 研究表明丹参能有效降低 OA 中 IL-1, 同时能有效有效治疗 OA, 但效果略次于西药组。刘英杰等^[6]通过治疗组 (独活寄生汤) 与对照组相比发现:在治疗 3 周、5 周以后, IL-1 的水平下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 说明独活寄生汤通过抑制炎症因子 (IL-1) 的表达而达到治疗 OA 的作用。钟玉等^[7]证实复元胶囊通过降低 IL-1 的表达而达到抑制对软骨细胞的损伤。

1.2 IL-6

IL-6 是单核吞噬细胞等在 IL-1、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等诱导下产生的一种细胞因子,具有多种生物学活性,包括激活 T 细胞和 B 细胞,以及产生急性期蛋白等。Westacott 等^[8]研究指出健康人与 OA 患者软骨细胞都可以自发的分泌 IL-6,但是在正常人滑膜组织中检测不到 IL-6 的存在,OA 患者的滑膜组织中可以检测出大量 IL-6。Silaccip 等^[9]研究证实 IL-6 与 IL-6 受体结合形成复合物,这种复合物可诱导成骨细胞 MMP-13 增加,抑制 TIMP-1 在滑膜细胞和软骨细胞中表达,使 MMP/TIMP 之间的平衡受影响,引起关节软骨基质的退变。IL-6 同时可以协同 IL-1 的作用,抑制软骨细胞合成蛋白聚糖,导致软骨基质缺失。杨惠琴等^[10]治疗组 (青藤碱注射液组) 与模型组 (生理盐水组) 相比, P 值均小于 0.01, 有统计学意义,该研究表明青藤碱注射液能够有效减低 OA 关节液及血液中 IL-6 的水平,通过抑制 IL-6 的水平对 OA 起防治作用。孟祥奇等^[11]研究指出化痰祛湿剂通过抑制 IL-6、IL-1 的水平而达到对膝 OA 的防治目的。

1.3 IL-8

Yang 等^[12]研究表明:在 OA 患者软骨细胞骨桥蛋白的形成可以上调 IL-8 的表达,骨桥蛋白的形成与 IL-8 的浓度成正比。IL-8 是一种趋化因子,其生物学活性是激活和诱导中性粒细胞,诱导机体局部的炎症反应,达到杀菌和细胞损伤的目的。陈元良等^[13]研究发现:与正常对照组比较,模型组、骨碎补总黄酮治疗组和维固力治疗组动物血清中 IL-8 表达水平均明显升高。经 4 周的灌胃治疗后,骨碎补总黄酮组和维固力组的 IL-8 表达与模型组比较有明显降低 ($P < 0.01$);骨碎补总黄酮组与维固力组比较,IL-8 表达差异不明显 ($P > 0.05$)。骨碎补总黄酮

确实可以抑制炎症因子的分泌,阻断骨关节的炎症反应,其作用机制可能是通过抑制 IL-8 的释放而实现的。金晓东等^[14]研究表明与模型组相比,红花注射液能显著降低滑液中细胞因子 IL-8 的表达,这表明红花注射液可以通到降低炎症因子的表达达到对 OA 的治疗作用。

1.4 IL-10

IL-10 具有较强免疫抑制和免疫调节功能,同时还能促进软骨蛋白多糖的合成,保护软骨。陈文超等^[15]研究表明骨灵膏可能通过增强 IL-10 的抗炎作用阻止软骨退行性变,保护了关节软骨。

2 中医药对肿瘤坏死因子的作用

肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)分为 TNF- α 和 TNF- β 两种,前者主要由活化的单核/巨噬细胞产生,后者主要由活化的 T 细胞产生。目前 TNF 家族有 30 余种细胞因子,主要在调节免疫应答、诱导细胞凋亡和杀伤靶细胞等过程中发挥作用。Reboul 等^[16]研究指出 TNF- α 与 OA 软骨破坏及滑膜炎有一定关系, TNF- α 可以选择性地抑制蛋白多糖的合成,同时促进其蛋白多糖的降解,促进 OA 的形成。TNF- α 与相应受体结合,刺激滑膜细胞产生 PEG,促进软骨和骨的破坏。综上所述, TNF- α 能够诱导和促进 OA 的形成。然而,近年来越来越多的研究表明中药能够降低血清和关节液中 TNF- α 的水平达到保护关节软骨的作用。方策等^[17]通过测定血清和关节液 TNF- α 水平得出中药组关节液和血清中 TNF- α 明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),中药健骨活血丸能有效抑制兔 OA 血清和关节液中 TNF- α 的水平,达到对 OA 的保护和治疗作用。肖晓金^[18]等过检测 4 周、8 周时中药低、中、高剂量组兔子血清及关节液中 TNF- α 浓度,发现与模型组相比,高剂量组血清及关节液中 TNF- α 比模型对照组显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),由此可推测透骨消痛胶囊可能通过降低异常升高的 TNF- α 的水平,减轻炎症反应,减缓对软骨的破坏。朗继孝^[19]等研究证实壮骨颗粒可能通过影响 TNF- α 水平达到对 OA 的治疗作用。

3 中医药对 OA 中转化生长因子的影响

转化生长因子(transforming growth factor- β ,

TGF- β)是具有多功能的蛋白多肽,能抑制免疫细胞的增殖、淋巴细胞以及细胞因子的分化,抑制上皮细胞、破骨细胞、内皮细胞生长和脂肪、心肌、骨骼肌的形成;但能够促进成纤维细胞、成骨细胞的生长,同时也能促进细胞外基质如胶原蛋白、纤粘连蛋白的表达和抑制细胞外基质的降解,对细胞的形态发生、增殖和分化过程起着重要作用,有利于细胞修复。Livne 等^[20]证实 TGF- β 能促进细胞增殖、调节细胞分化、促进细胞外基质合成作用。TGF- β 可促进 OA 软骨细胞迅速生长^[21]。越来越多的研究表明,补肾中药能上调 TGF- β 的表达,提高 TGF- β 的水平。宁显明等^[22]采用原位杂交法测定膝骨关节软骨中的 TGF- β 的水平,分析正常组、模型组、西药组(芬必得组)、中药组 TGF- β 的表达及排列顺序得出补肾中药具有上调 TGF- β 在 OA 关节软骨中表达的作用,且修复后软骨细胞排列较规则。牛维等^[23]采用荧光定量-PCR 和蛋白免疫印迹杂交方法分别检测 TGF- β mRNA 和蛋白表达,分析得出鹿茸低剂量、高剂量组在灌胃后 2、4、6 周, TGF- β mRNA 和蛋白表达量逐步增加,且表达量均高于(正常组、西药组、模型组),有统计学意义,差异显著($P < 0.01$),证实了鹿茸通过上调 TGF- β 的表达,起到促进软骨细胞增殖、分化的作用。王孟琳^[24]等研究指出通过动物 OA 模型病理变化及测定软骨和滑膜组织中的 TGF- β 水平,得出杜灵注射液可能通过提高 TGF- β 的水平,促进软骨细胞的增生及细胞基质蛋白的合成达到保护软骨的作用。

4 中药对结缔组织生长因子的影响

结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)是一种富含半胱氨酸的分泌肽,具有多种生物学功能,参与机体血管生成、创伤修复、肿瘤的发生发展、骨的形成与修复等生理及病理过程。欧阳冰等^[25]认为 CTGF 能够促进软骨细胞的增殖,促进软骨胶原和蛋白多糖的合成,促进衰老软骨细胞反分化及抑制软骨细胞去分化。Kawata 等^[26]证实 CTGF 能够不仅促进软骨细胞的增殖、成熟与再生,同时还能刺激成骨细胞的增殖与分化。由此可见,CTGF 能够促进软骨细胞的增殖,参与骨的形成与修复。孙剑等^[27]通过实验研究发现阳和汤组 CTGF、CTGF mRNA 表达水平低于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$),证实了阳和汤可能通过下

调 CTGF 的表达以降低 CTGF 介导的软骨细胞的增殖与表达,减缓 OA 骨赘的形成。

5 结语与展望

中药能够通过调控部分细胞因子的表达抑制软骨细胞及软骨基质的破坏,促进软骨细胞的增生、分化,减缓 OA 骨赘的形成。但细胞因子对骨关节的形成是一个非常复杂的网络化的过程,多种细胞因子协同参与 OA 的形成,目前中医药研究能够有效调节部分细胞因子的表达而发挥作用,尚未能明确阐明如何调控诸多因子的表达来减缓 OA 的形成,而且实验研究尚未能反馈到有效的临床应用,因此应当进一步加强中医药对 OA 细胞因子的调控机制的研究与临床相关性研究,以期在 OA 治疗中取得更大的进展。

参 考 文 献

- [1] 陶庆文,徐愿,王建明,等.骨痹通方治疗膝骨关节炎的临床研究[J].风湿病与关节炎,2012,4(1):11-14.
- [2] Heraud F, Heraud A, Harmard MF. Apoptosis in normal and osteoarthritis human articular cartilage [J]. Ann Rheum Dis, 2000, 59(12):959-996.
- [3] 陈飞雁,顾湘杰,钟明康,等.威灵仙注射液对骨关节炎关节液与软骨白介素-1的影响[J].中国矫形外科杂志,2004,12(7):524-526.
- [4] 张爱玲,于沛林,王晓宁,等.补肾壮骨颗粒对兔膝骨性关节炎白介素-1和肿瘤坏死因子的影响[J].光明中医,2010,25(3):424-426.
- [5] 王秀华,刘元禄,苏姿兵,等.丹参关节内注射对兔膝骨关节炎细胞因子 IL-1 及 TNF 的影响[J].中医正骨,2003,15(10):1-2.
- [6] 刘英杰,马利杰,王相利,等.独活寄生汤对兔膝骨性关节炎关节液白细胞介素-1和肿瘤坏死因子的影响[J].河北中医,2007,29(8):748-749.
- [7] 钟玉,李荣亨,周小莉.复元胶囊对实验性兔骨关节炎白介素 1 及转化生长因子 β_2 的调节作用[J].重庆医科大学学报,2007,32(8):856-861.
- [8] Westacott CI, Sharif MI. Cytokines in osteoarthritis: mediators or markers of joint destruction[J]. Semin Arthritis Rheum, 1996, 25(4):254-272.
- [9] Silacci P, Dayer JM, Desgeorges A, et al. IL-6 and its soluble receptor induce TIMP-1 expression in synoviocytes and chondrocytes and block IL-1-induced collagenolytic activity[J]. J Biol Chem, 1998, 273(22):13625-13629.
- [10] 杨惠琴,陈礼容.青藤碱注射液对兔膝骨性关节炎关节液及血清 IL-6 的水平影响[J].中医药导报,2007,13(10):62-63.
- [11] 孟祥奇,惠初华,姜宏,等.化痰祛湿剂对兔膝骨性关节炎细胞因子 IL-1、IL-6、TNF- α 的影响[J].中国骨伤,2007,20(8):575-576.
- [12] Yang Y, Gao SG, Zhang FJ, et al. Effects of osteopontin on the expression of IL-6 and IL-8 inflammatory factors in human knee osteoarthritis chondrocytes [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2014, 18(23):3580-3586.
- [13] 陈元良,张寿,钟海波.骨碎补总黄酮对骨性关节炎血清 IL-1、IL-8 及 TNF- α 表达的影响[J].陕西中医,2013,34(9):1251-1253.
- [14] 金晓东,张鸣.红花注射液对兔膝关节炎软骨组织学及关节滑液 PGE₂、IL-8 的影响[J].中国中医骨伤科杂志,2009,17(3):18-19.
- [15] 陈文超,周然,王永辉.骨灵膏及其拆方制剂对 OA 模型大鼠 NO、IL-10 及 COL-II 的作用[J].光明中医,2014,29(8):1622-1625.
- [16] Reboul P, Pelletier JP, Tardif G, et al. The new collagenase, collagenase-3 is expressed and synthesized by human chondrocyte but not by synovial cells; a role in osteoarthritis [J]. J Clin Invest, 1996, 97(9):2011-2019.
- [17] 方策,宋德为,刘元禄.健骨活血丸对骨性关节炎模型兔关节液和血清中 TNF- α 表达的影响[J].中国中医骨伤科杂志,2013,21(5):12-14.
- [18] 肖晓金,包侠萍,陈文列,等.透骨消痛胶囊对兔膝关节炎模型血清与关节液炎症因子的影响[J].风湿病与关节炎,2013,11(2):35-38.
- [19] 朗继孝,陈德喜,王元善,等.壮骨颗粒对兔膝骨性关节炎白介素-1和肿瘤坏死因子的影响[J].山东中医杂志,2009,28(7):491-492.
- [20] Livne E, Laufer D, Ben-Ner E. Osteoarthritis in the temporomandibular joint (TMJ) of aged mice and the in vitro effect of TGF- β_1 on cell proliferation, matrix synthesis, and alkaline phosphatase activity[J]. Microsc Res Tech, 1997, 37(4):314-323.
- [21] Jahag JS, Lee JW, Han CD, et al. Transforming growth factor- β_1 responsiveness of human articular chondrocytes in vitro: normal versus osteoarthritis [J]. Yonsei Med J, 1997, (38):40-51.
- [22] 宁显明,樊粤光,徐传毅,等.补肾中药对膝骨关节炎软骨 TGF- β_1 表达的影响[J].中国中医骨伤科杂志,2004,12(1):36-38.
- [23] 牛维,孙志涛,汪睦勋,等.单味中药鹿茸调控骨关节炎软骨组织 TGF- β_1 表达的研究[J].时珍国医国药,2014,25(3):528-531.
- [24] 王孟琳,熊晓荣,王婧锦.杜灵注射液对兔膝骨关节炎 TGF- β_1 水平的影响作用[J].中国中医骨伤科杂志,2009,17(3):18-19.
- [25] 欧阳冰,林绵辉,左文建,等.结缔组织生长因子对体外培养的兔关节软骨细胞增殖和表型的影响[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,20(13):3816-3820.
- [26] Kawata K, Kubota S, Eguchi T, et al. Role of low-density lipoprotein receptor related protein 1 (Lrp1) in connective tissue growth factor (CTGF) protein transport in chondrocytes [J]. Cell Sci, 2012, 125(12):2965-2972.
- [27] 孙剑,陈朝蔚,何永淮,等.阳和汤对兔骨关节炎软骨细胞中结缔组织生长因子表达的影响[J].中国中医骨伤科杂志,2009,17(3):4-6.

(收稿日期:2015-05-05)

(本文编辑:蒲晓田)