

# 肾茶对急性痛风性关节炎大鼠的抗炎作用研究

陈珠 杨彩霞 倪婉晔 毛晓健 赵荣华

**【摘要】 目的** 观察肾茶水煎剂对大鼠急性痛风性关节炎的抗炎作用。**方法** 采用微晶型尿酸钠分别诱导大鼠急性踝关节肿胀和急性痛风性关节炎模型,以苯溴马隆为阳性对照,观察肾茶水煎剂对大鼠肿胀度的影响,并测定大鼠血清尿酸值(serum uric acid, SUA)及黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)活性,ELISA 试剂盒检测血清白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1, IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-8(IL-8)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )水平。**结果** 模型组关节肿胀度、IL-1 $\beta$ 及IL-8水平明显高于正常对照组( $P<0.05$ ),肾茶水煎剂高、中、低剂量能不同程度抑制大鼠踝关节肿胀度,降低血清IL-1 $\beta$ 、IL-8水平( $P<0.05$ );TNF- $\alpha$ 水平与模型组比较无显著性差异。同时肾茶水煎剂可显著降低大鼠血清SUA水平及XOD活性( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。**结论** 肾茶水煎剂对大鼠急性踝关节肿胀和急性痛风性关节炎有很好的控制作用,可能与其抑制尿酸生成、利尿以促进尿酸排泄、抑制炎症细胞因子IL-1 $\beta$ 、IL-8表达有关。

**【关键词】** 肾茶; 急性痛风性关节炎; 抗炎

**【中图分类号】** R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2016.09.005

**Anti-inflammation effect of *Clerodendranthus spicatus* on rats with acute gouty arthritis** CHEN Zhu, YANG Cai-xia, NI Wan-ye, et al. Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China

Corresponding author: MAO Xiao-jian, E-mail: 1224346204@qq.com

**【Abstract】 Objective** To observe the anti-inflammation effect of *Clerodendranthus spicatus* on rats with acute gouty arthritis (AGA). **Methods** Except the normal group, the others were given ankle injection with sodium urate crystal solution to induce the acute gouty arthritis model. The positive group

基金项目: 云南省高校南药协同创新项目(30270101400)

作者单位: 650500 昆明, 云南中医学院中药学院

作者简介: 陈珠(1989-), 女, 2014级在读硕士研究生。研究方向: 临床中药学。E-mail: 1225493904@qq.com

通讯作者: 毛晓健(1967-), 女, 硕士, 教授, 硕士生导师。研究方向: 临床中药学、中药药理。E-mail: 1224346204@qq.com

were used the Benzbromarone, the influence of the aqueous extract of *Clerodendranthus spicatus* on rats ankle swelling, the level of serum uric acid and the activities of xanthine oxidase in the serum was observed. ELISA was used to detect serum IL-1 $\beta$ , IL-8 and TNF- $\alpha$ . **Results** Compared with normal group, the level of IL-1 $\beta$  and IL-8 was higher of AGA model group ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). High, middle and low dose of the aqueous extract of *Clerodendranthus spicatus* could significantly inhibit ankle swelling and reduce serum IL-1 $\beta$  and IL-8 level at different degrees, reduce the level of serum uric acid (SUA) and the activities of xanthine oxidase (XOD) in the serum. Compared with the model group, the difference was significant ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The aqueous extract of *Clerodendranthus spicatus* has obvious curative effect on acute gouty arthritis in rats. The therapeutic effect of AGA is related to decreasing in the levels of IL-1 $\beta$ , IL-8 in the serum. It can effectively inhibit the activities of xanthine oxidase, and decrease the formation of uric acid and promote the excretion of uric acid.

**【Key words】** *Clerodendranthus spicatus*; Acute gouty arthritis; Anti-inflammation

肾茶为唇形科植物肾茶 *Clerodendranthus spicatus*(thunb.) C. Y. Wu ex H. W. Li 的全草,具有清热、利尿、排石作用,主要用于急慢性肾炎、膀胱炎、尿路结石和胆结石等<sup>[1]</sup>,产于广东、海南、广西、云南、台湾等地。肾茶全草含黄酮类、三萜类、甾醇类、挥发油、多酚酸类及其它成分(有机酸、多糖、肌醇等)<sup>[2]</sup>;其中黄酮在抗炎、降尿酸和保护肾脏方面均起主要作用;在尿酸钠所致炎症模型中,有机酸起主要抗炎作用;大量研究表明<sup>[3]</sup>,肾茶水提物所得的肌醇有使尿液碱化及增加尿酸排泄量而达到排石的作用;同时肾茶 50% 乙醇提取物也显示出相对较高的降尿酸的效果,可能与其含有丰富的多酚有关。

痛风是一种由于嘌呤代谢紊乱产生过多尿酸或(及)尿酸排泄减少,并在体内蓄积沉淀所致的一组代谢性疾病,临床主要表现为一系列综合征,例如:高尿酸血症、痛风性关节炎、痛风石、痛风肾病、尿酸性结石,均属尿酸盐所致的不同临床表现。中医将其归属于“痹证”“尿浊”“厉节”等范畴,多与现代人饮食无度、酗酒和高嘌呤饮食、家族遗传史及肥胖、创伤和手术及一些药物的诱发有关。目前现代医学对痛风的治疗,虽然能有效控制痛风性关节炎及降尿酸,但毒副作用较大,易复发。因而,寻找疗效独特、绿色安全的中药是治疗痛风的必然趋势。本文基于对肾茶的药效研究,按照 Mc Carty DJ<sup>[4]</sup>经典造模方法采用微晶型尿酸钠(monosodium urate, MSU)诱导大鼠痛风性关节炎模型,初步探索其对急性痛风性关节炎的药效学作用,以期为临床应用提供实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 药物和试剂

肾茶植株购自云南西双版纳州,经云南中医

学院中药学院俞捷副教授鉴定为唇形科植物肾茶 *Clerodendranthus spicatus*(thunb.) C. Y. Wu ex H. W. Li。阳性对照药为苯溴马隆(江苏省昆山龙灯瑞迪制药有限公司,生产批号:1403305,规格:50 mg/片),实验时取药片研碎,用蒸馏水配成实验所需浓度;尿酸钠(Sigma 公司,生产批号:U2875-5g);大鼠白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )试剂盒均购自联科生物技术有限公司,生产批号:70-E-EK301B2、70-E-EK3822;白细胞介素-8(IL-8)、黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,生产批号:H008、A002;尿酸(serum uric acid, SUA)测定试剂盒购自中生北控生物科技股份有限公司,生产批号:000020110。

### 1.2 实验动物

雄性 SD 大鼠 60 只,体质量(180 $\pm$ 20)g,由昆明医学院实验动物中心提供,许可证号:SCXK(滇)2011-0004;实验大鼠饲料由昆明医学院实验动物中心提供,许可证号:SCXK(滇)2011-0005。实验动物购买后在实验室条件下适应性饲养 1 周。

### 1.3 肾茶水煎剂的制备

肾茶全草适量,加 8 倍量蒸馏水浸泡 30 分钟,然后煎煮 30 分钟(以煮沸时算起),过滤,残渣再加水煮 30 分钟左右。最后收集合并滤液,加热蒸发浓缩至浓度为 6.0 g/kg,临用时稀释成 3.0 g/kg、1.5 g/kg,分别作为高、中、低剂量组使用浓度,放入 4℃ 冰箱保存备用。

### 1.4 分组与给药

60 只大鼠随机分 6 组,分别为正常对照组、模型组、阳性药组(苯溴马隆组)、肾茶组(高、中、低剂量),每组 10 只;阳性对照组给予苯溴马隆 4.2 mg/kg,

表 1 肾茶水煎剂对 MSU 致大鼠急性痛风性关节炎足踝关节周径的影响( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	剂量(g/kg)	致炎前(cm)	周径(cm)						
			2 h	4 h	8 h	12 h	24 h	48 h	72 h
正常对照组	—	2.96±0.05	3.18±0.04	2.96±0.09	3.09±0.07	3.03±0.10	3.01±0.13	3.01±0.12	3.02±0.04
模型组	—	3.02±0.04	3.63±0.12 <sup>a</sup>	3.68±0.13 <sup>a</sup>	3.93±0.13 <sup>a</sup>	4.09±0.19 <sup>a</sup>	3.98±0.18 <sup>a</sup>	3.63±0.10 <sup>a</sup>	3.54±0.13 <sup>a</sup>
苯溴马隆组	0.0042	3.02±0.08	3.25±0.08 <sup>c</sup>	3.38±0.04 <sup>c</sup>	3.72±0.03 <sup>c</sup>	3.86±0.04 <sup>c</sup>	3.71±0.10 <sup>c</sup>	3.43±0.07 <sup>c</sup>	3.33±0.08 <sup>c</sup>
肾茶高剂量	6.0	2.96±0.05	3.31±0.09 <sup>c</sup>	3.40±0.07 <sup>c</sup>	3.68±0.12 <sup>c</sup>	3.77±0.08 <sup>c</sup>	3.66±0.05 <sup>c</sup>	3.42±0.08 <sup>c</sup>	3.29±0.05 <sup>c</sup>
肾茶中剂量	3.0	2.96±0.05	3.43±0.06 <sup>c</sup>	3.48±0.05 <sup>c</sup>	3.78±0.19 <sup>b</sup>	3.92±0.09 <sup>b</sup>	3.65±0.13 <sup>c</sup>	3.38±0.10 <sup>c</sup>	3.31±0.09 <sup>c</sup>
肾茶低剂量	1.5	2.86±0.11	3.36±0.09 <sup>c</sup>	3.64±0.09	3.95±0.00	4.03±0.03	3.74±0.06 <sup>c</sup>	3.53±0.05	3.43±0.03 <sup>b</sup>

注：与正常对照组比较，<sup>a</sup> $P<0.01$ ；与模型组比较，<sup>b</sup> $P<0.05$ ，<sup>c</sup> $P<0.01$ 。

肾茶组高剂量 6.0 g/kg、中剂量 3.0 g/kg、低剂量 1.5 g/kg，正常组及模型组给予等体积蒸馏水；其中肾茶高、中、低剂量组于造模前 10 天开始连续灌胃给药，灌胃体积为 10 mL/kg，阳性对照组苯溴马隆于造模前 2 天灌胃给药，每天灌胃给药 1 次。

1.5 造模方法

造模当天，将模型组、苯溴马隆组、肾茶高、中、低剂量组按照 Mc Carty DJ<sup>[4]</sup>经典方法开始造模。以酒精局部消毒，用 1 mL 灭菌注射针于受试大鼠右侧踝关节背侧从 45°方向插入胫骨肌腱内侧，将 0.2 mL 尿酸钠溶液注入到踝关节腔内进行造模；正常对照组给予 0.2 mL 无菌生理盐水，以关节囊对侧鼓起为注入标准。

1.6 检测指标

1.6.1 踝关节肿胀度的测定 每组大鼠分别于造模后 2、4、8、12、24、48、72 小时，采用傅线法测量右侧踝关节同一部位周径，每只测 3 次，取平均值。

1.6.2 血样分析 于造模后 72 小时，大鼠眼内眦静脉取血，4000 rpm，离心 10 分钟，分离血清，按 ELISA 法检测试剂盒操作说明书，绘制标准曲线，测定血清中 IL-1 $\beta$ 、IL-8、TNF- $\alpha$  含量。

1.7 统计学处理

实验数据采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析，计量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示，组间比较采用单因素方差分析，预先用 Homogeneity of Variances 进行方差齐性检验，数据方差齐进行 LSD 检验，数据方差不齐采用 Tamhane's T2 非参数法比较。 $P<0.05$  为差异有统计学意义， $P<0.01$  为差有显著统计学意义。

2 结果

2.1 肾茶水煎剂对大鼠踝关节周径的影响

与正常对照组相比，模型组大鼠注射 MSU 2 小时后关节及足趾开始出现红肿和功能障碍，发生率

100%。踝关节肿胀程度在 4 小时表现明显，8~12 小时达高峰期，在 48 小时后开始逐步消退。与模型组比较，苯溴马隆组、肾茶高、中、低剂量组在各个时间段均能不同程度降低大鼠踝关节肿胀程度，差异有统计学意义( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。见表 1。

2.2 肾茶水煎剂对大鼠血清尿酸、黄嘌呤氧化酶的影响

经尿酸钠溶液注射后，模型组较正常对照组血尿酸浓度显著升高( $P<0.01$ )，提示急性痛风性关节炎造模成功。同时，模型组较正常对照组大鼠黄嘌呤氧化酶活性显著增加( $P<0.01$ )。与模型组比较，肾茶高、中剂量组和苯溴马隆组均能显著降低血尿酸水平( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )，肾茶高剂量和苯溴马隆组能显著降低黄嘌呤氧化酶活性( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 肾茶水煎液对 MSU 致大鼠急性痛风性关节炎模型血尿酸、黄嘌呤氧化酶的影响( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	剂量(g/kg)	血尿酸值( $\mu\text{mol/L}$ )	黄嘌呤氧化酶值(U/L)
正常对照组	—	36.88±8.23	23.82±0.69
模型组	—	55.87±3.54 <sup>a</sup>	30.29±2.41 <sup>a</sup>
苯溴马隆	0.0042	45.32±7.09 <sup>c</sup>	25.38±0.65 <sup>b</sup>
肾茶高剂量	6.0	42.64±4.64 <sup>c</sup>	25.72±0.94 <sup>b</sup>
肾茶中剂量	3.0	45.16±1.76 <sup>b</sup>	26.34±1.86
肾茶低剂量	1.5	54.77±0.29	27.60±1.88

注：与正常对照组比较，<sup>a</sup> $P<0.01$ ；与模型组比较，<sup>b</sup> $P<0.05$ ，<sup>c</sup> $P<0.01$ 。

2.3 肾茶水煎剂对大鼠血清 IL-1 $\beta$ 、IL-8、TNF- $\alpha$  含量的影响

与正常对照组相比，模型组大鼠造模后血清中 IL-1 $\beta$ 、IL-8 和 TNF- $\alpha$  含量均有明显升高( $P<0.01$ )；与模型组相比，肾茶高、中、低剂量组和苯溴马隆组不同程度地降低血清中 IL-1 $\beta$  含量( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )；肾茶高剂量组能显著降低大鼠血清中 IL-8 含量( $P<0.05$ )；各给药组大鼠血清中 TNF- $\alpha$  的含量变化无统计学差异。见表 3。

表 3 肾茶水煎液对 MSU 致大鼠急性痛风性关节炎模型 IL-1 $\beta$ 、IL-8、TNF- $\alpha$  含量的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量(g/kg)	IL-1 $\beta$ (pg/mL)	IL-8(pg/mL)	TNF- $\alpha$ (pg/mL)
正常对照组	—	338.25 $\pm$ 11.58	19.46 $\pm$ 2.89	187.80 $\pm$ 28.12
模型组	—	387.73 $\pm$ 6.13 <sup>b</sup>	27.16 $\pm$ 0.38 <sup>b</sup>	363.20 $\pm$ 66.21 <sup>b</sup>
苯溴马隆	0.0042	346.29 $\pm$ 11.79 <sup>d</sup>	17.69 $\pm$ 3.79 <sup>d</sup>	258.15 $\pm$ 58.03
肾茶高剂量	6.0	367.15 $\pm$ 5.97 <sup>e</sup>	18.30 $\pm$ 6.80 <sup>e</sup>	302.12 $\pm$ 40.47 <sup>a</sup>
肾茶中剂量	3.0	368.41 $\pm$ 0.62 <sup>e</sup>	24.62 $\pm$ 2.95	380.39 $\pm$ 74.73 <sup>b</sup>
肾茶低剂量	1.5	361.79 $\pm$ 14.57 <sup>e</sup>	26.72 $\pm$ 1.16	385.10 $\pm$ 29.39 <sup>b</sup>

注:与正常对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ,<sup>b</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$ ,<sup>d</sup> $P<0.01$ 。

### 3 讨论

痛风最典型的临床症状是突发性足趾关节的红、肿、剧烈疼痛等一系列急性关节炎表现。痛风性关节炎的核心是中性粒细胞介导的炎症,增强的中性粒细胞—内皮细胞黏连是急性痛风产生的本质,炎性细胞因子白介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、白介素-8(IL-8)、肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )等在急性痛风性关节炎的免疫和病理过程中起了重要作用<sup>[5]</sup>。黄嘌呤氧化酶活性的升高有利于嘌呤类向尿酸生成转化。金沈锐等<sup>[6]</sup>研究表明,雌雄小鼠或同性小鼠之间,血尿酸正常值差异较大,尤以雌鼠个体之间血尿酸值波动较明显,故本实验仅选用雄鼠,且造模所用药物为尿酸钠晶体,可致大量炎性细胞浸润,以尿酸浊毒流行于脉络为主,通过排石即可排除尿酸盐结晶,以达到祛邪外出而正安的目的,临床上可根据不同沉积部位、病程,选择不同排石疗法<sup>[7]</sup>。现代研究证实了肾茶在抗炎、利尿、抑菌、健肾、抗高血糖、降压、抗肿瘤、提高机体免疫力等多方面均有广阔的发展前景。其中关于肾茶抗炎、排石利尿的报道较为集中,也是本文研究肾茶治疗痛风的重要原因。

肾茶作为一种保健茶,主要以单方泡饮为主。本实验主要探讨肾茶水煎剂对大鼠急性痛风性关节炎模型的影响,因尿酸盐晶体可直接刺激滑膜及其周围软组织中单核细胞产生 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  继而诱导趋化因子 IL-8 的产生,抗 TNF- $\alpha$  能明显抑制内皮细胞的激活和中性粒细胞的募集,从而抑制炎症反应,降低急性痛风性关节组织局部 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平,可能终止炎性细胞因子的恶性循环,是急性痛风性关节炎有效治疗的作用靶点<sup>[8]</sup>。黄嘌呤氧化酶活性的降低可有效抑制嘌呤类转化成尿酸,进而减少尿酸的生成途径。阳性药选用苯溴马

隆,主要通过抑制肾小管对尿酸的重吸收而增加尿酸的排泄从而发挥降尿酸的作用。在踝关节腔及足趾皮下注射尿酸钠晶体造模后,大鼠踝关节肿胀程度明显增加,肾茶水煎剂高、中、低剂量组能不同程度抑制急性痛风性关节炎大鼠踝关节肿胀度;肾茶高、中剂量能显著降低急性痛风性关节炎大鼠血清尿酸值,可能与其利尿促进尿酸的排泄有关。同时,肾茶高剂量能明显降低黄嘌呤氧化酶的含量,效果与阳性药苯溴马隆比较无统计学差异。本次实验结果表明,肾茶的抗急性痛风性关节炎作用可能与其降低血清 IL-1 $\beta$ 、IL-8、TNF- $\alpha$  含量,抑制尿酸生成及增加尿酸排泄有关。

### 参 考 文 献

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2006: 3081-3082.
- [2] Zou J, Zhu YD, Zhao WM. Two new alkyl glycosides from Clerodendranthus spicatus[J]. J Asian Nat Prod Res, 2008, 10(7-8): 603-607.
- [3] 任文辉,洪俐芳. 猫须草的药理作用研究进展[J]. 中草药, 2013, 44(20): 2946-2950.
- [4] 陈奇. 中药药效研究思路与方法[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005: 651-660.
- [5] 李迎春,徐建华. 急性痛风性关节炎的发病机制及研究进展[J]. 安徽医学, 2013, 34(1): 96-98.
- [6] 金沈锐,郑军,刘绍唐. 小鼠高尿酸血症模型初探[J]. 成都中医药大学学报, 1999, 22(1): 49-50.
- [7] 王坤. 排石疗法在痛风防治中的运用初探[J]. 四川中医, 2013, 31(4): 29-30.
- [8] Chen CJ, Shi Y, Hearn A, et al. MyD88-dependent IL-1 receptor signaling is essential for gouty inflammation stimulated by monosodium urate crystals[J]. J Clin Invest, 2006, 116(8): 2262-2271.

(收稿日期: 2016-04-11)

(本文编辑: 韩虹娟)