

• 实验研究 •

肾茶治疗痛风性关节炎的作用机制研究

李仪杰^{1,2} 王丽欢^{1,2} 潘赐明^{1,2} 杨焕¹ 梁家榕¹ 叶斌^{1△}

[摘要] **目的:**探讨肾茶治疗痛风性关节炎大鼠模型的相关作用机制。**方法:**选取 40 只雄性 SD 大鼠并适应性饲养 1 周,随机分为空白组、模型组、秋水仙碱组、肾茶高、低剂量组,每组 8 只,除空白组和模型组进行生理盐水 7 d 灌胃干预,其余各组分别用秋水仙碱、肾茶高、低剂量水煎剂灌服。在干预 5 d 后采用改良的 Coderre 方法对大鼠右侧踝关节进行尿酸单钠晶体注射造模,在造模后 4~12 h 发现大鼠踝关节有明显的肿胀和功能障碍确认造模成功。各组大鼠分别在造模后 4,10,24,36,48 h 进行踝关节功能障碍指数及肿胀情况评估,并在造模 48 h 后,检测血清和滑膜组织中白细胞介素-6、白细胞介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 的浓度,踝关节软骨组织中 COL2、MMP-13、MMP-3 蛋白表达,并观察大鼠踝关节软骨病理情况。**结果:**模型组大鼠关节肿胀程度和功能障碍指数明显高于空白组,差异有统计学意义($P<0.01$);与模型组比,肾茶高剂量组和秋水仙碱组大鼠踝关节功能障碍指数较低肿胀度较轻,差异有统计学意义($P<0.05$)。肾茶高剂量组和秋水仙碱组大鼠血清中白细胞介素-6 和滑膜中的白细胞介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 的浓度炎性因子均显著低于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$);肾茶高剂量组与秋水仙碱组中炎性因子的表达水平差异无统计学意义($P>0.05$);同时肾茶高剂量组与秋水仙碱组显著抑制 MMP-13 及 MMP-3 蛋白表达,增加 COL2 表达,差异有统计学意义($P<0.05$),而秋水仙碱组对增加 COL2 表达不显著,差异无统计学意义($P>0.05$),且肾茶抑制炎性因子和与细胞外基质降解相关的酶表达都具有剂量依赖性;相对于模型组,肾茶高剂量组的大鼠踝关节软骨表面比较平滑,或有少量的毛糙样改变,且肾茶高剂量组的治疗效果优于秋水仙碱组。**结论:**肾茶可以通过抑制 MMP-13 和 MMP-3 表达及炎症反应减轻尿酸单钠诱导的软骨基质降解,起到保护关节软骨的作用,还能缓解痛风性关节炎大鼠的关节肿胀和功能障碍。

[关键词] 肾茶;痛风性关节炎;软骨;尿酸单钠晶体

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2023)05-0012-06

DOI:10. 20085/j. cnki. issn1005-0205. 230503

Mechanism of Clerodendranthus Spicatus on the Treatment of Gouty Arthritis

LI Yijie^{1,2} WANG Lihuan^{1,2} PAN Ciming^{1,2} YANG Huan¹ LIANG Jiarong¹ YE Bin^{1△}

¹ Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China;

² School of Traditional Chinese Medicine, Yunnan University of Chinese Medicine and Yunnan Key Laboratory of Sustainable Utilization of Southern Medicine, Kunming 650500, China.

基金项目:云南省科技人才和平台计划(202105AG070012)

云南省南药可持续利用研究重点实验室开放课题(202105AG070012XS2240)

云南中医药大学高层次人才科学研究项目(GCC202205)

云南省教育厅科学研究基金项目(2023Y0432)

¹ 云南中医药大学(昆明,650500)

² 云南中医药大学中药学院暨云南省南药可持续利用研究重点实验室

△通信作者 E-mail:13917526797@163.com

Abstract Objective: To investigate the mechanism related to Clerodendranthus spicatus on the treatment of gouty arthritis. **Methods:** 40 male SD rats were selected and fed adaptively for one week, and they were randomly divided into blank group, model group, colchicine group, Clerodendranthus spicatus high-dose and low-dose groups with 8 rats in each group. Gastrointestinal intervention was carried out for 7 d, and the others were fed with colchicine, Clerodendranthus

spicatus high-dose and low-dose water decoction. The modified Coderre method was used to inject monosodium urate (MSU) crystals into the right ankle joint of the rats to create a model on the 5th day of intervention. The model was established after 4 to 12 h. It was found that the ankle joint of the rat had obvious swelling and dysfunction. The rats were evaluated for ankle joint dysfunction index and swelling at 4, 10, 24, 36, and 48 h after modeling, and interleukin-6, interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α concentrations in serum and synovial tissue were detected 48 hours after modeling, so as COL2, MMP-13, MMP-3 protein expression in ankle cartilage tissue and pathological conditions of rat ankle cartilage.

Results: The joint swelling degree and dysfunction index of rats in the model group were significantly higher than those in the blank group ($P < 0.01$), and the ankle joint dysfunction index and swelling degree of the rats in the high-dose *Clerodendranthus spicatus* group and the colchicine group were significantly reduced compared with the model group ($P < 0.05$). The interleukin-6 in the serum of rats in the high-dose *Clerodendranthus spicatus* group and the colchicine group and the concentrations of interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α in the synovium were significantly lower than model group ($P < 0.05$), and there was no significant difference in the expression levels of inflammatory factors between the *Clerodendranthus spicatus* high-dose group and the colchicine group ($P > 0.05$). The expressions of MMP-13 and MMP-3 proteins of the *Clerodendranthus spicatus* high-dose group and colchicine group were significantly inhibited, and the expressions of COL2 were increased ($P < 0.05$), while the expressions of COL2 the colchicine group were not significantly increase ($P > 0.05$), and *Clerodendranthus spicatus* inhibited the expressions of inflammatory factors and enzymes related to extracellular matrix degradation in a dose-dependent manner. The surface of rat ankle articular cartilage in the high-dose *Clerodendranthus spicatus* group was smoother or had a small amount of roughness compared with the model group. The therapeutic efficacy of the high-dose *Clerodendranthus spicatus* group was better than the colchicine group. **Conclusion:** *Clerodendranthus spicatus* can inhibit the expressions of MMP-13 and MMP-3 and inflammatory response can reduce the degradation of cartilage matrix induced by MSU, protect cartilage, and relieve joint swelling and dysfunction in rats with gouty arthritis.

Keywords: *clerodendranthus spicatus*; gouty arthritis; cartilage; monosodium urate crystals

痛风性关节炎(Gouty Arthritis, GA)是由于尿酸水平升高导致尿酸单钠(Monosodium Urate, MSU)晶体沉积引起的关节炎症,全球患病率为 1.0%~6.8%^[1]。《贝叶经》记载民间傣药肾茶(*Clerodendranthus Spicatus*)具有清热除湿的功效,且研究表明肾茶可改善痛风性关节炎的症状^[2-3],但其机制尚不清楚。研究显示尿酸单钠可通过上调 MMP-3 和 MMP-13 的表达及 COL2 的下调,导致软骨合成分解代谢酶的紊乱,使软骨基质降解^[4-5]。本研究探讨肾茶是否通过抑制 MMP-3 和 MMP-13 的表达减少 COL2 的降解,从而保护尿酸单钠诱导的软骨损伤,延缓痛风性关节炎的进展。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选取 SPF 级 40 只 SD 雄性大鼠,6~8 周龄,体重为(220 \pm 10)g,购于斯贝福(北京)生物技术有限公司,实验场地:云南中医药大学动物实验中心。实验动物使用许可证号为 SYXK(滇)K2018-0003。并通过云南中医药大学实验动物伦理审查,严格按照实验动物有关条例进行,动物在温度为 20~25℃、湿度为 50%~60%环境下适应性饲养 1 周后进行后续实验。

1.2 实验药物

《中药大辞典》记载肾茶为唇形科肾茶属植物又名猫须草,分布于我国海南、广东和云南等省份,傣药肾

茶是一种单味药,味甘、微苦、性凉,归肝、膀胱、肾经,傣医认为其具有清热祛湿、排石通淋、凉血止血的功效,可用于风湿痹痛^[6]。肾茶(云南西双版纳版纳药业有限责任公司,批号为滇 20162806)煎煮方法:将药物适当磨碎后,取肾茶 300 g 用 3 000 mL 蒸馏水浸泡 30 min,煮沸 60 min,过滤收集滤液 2 000 mL,再加水 2 000 mL,煮沸 60 min,过滤收集滤液 1 000 mL,合并 2 次滤液,浓缩滤液至 500 mL,相当于 0.6 g/mL 备用。秋水仙碱片(云南西双版纳版纳药业有限责任公司,批号为 190217),0.5 mg/片,研磨成粉剂用生理盐水稀释至浓度为 0.9 mg/mL 秋水仙碱溶液备用。

1.3 主要仪器与试剂

尿酸单钠晶体(Sigma,批号为 BCBH6934Y),基质金属蛋白酶 13(Matrix Metalloproteinase 13, MMP-13)和 MMP-3 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司),II 型胶原蛋白(Collagen II, COL2)(abcam),二抗羊抗兔(北京全式金生物技术股份有限公司),GAPDH 抗体(北京索莱宝科技有限公司), β -actin 抗体(江苏亲科生物研究中心有限公司),大鼠白细胞介素 6(Interleukin-6, IL-6),白细胞介素 1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)和肿瘤坏死因子 α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)ELISA 试剂盒(江苏酶免实业有限公司);全波长酶标仪(瑞士 Tecan 有限公司, SPARK10M 型)、台式高速低温离心机(德国 Hettich 科学仪器有

限公司, Mikro185 型), 气体麻醉机(北京众实迪科技发展有限公司, ZS-MV-IDV 型), 显微镜(ZEISS), ChemiScope Capture 图像采集系统(上海勤翔有限责任公司)。

1.4 方法

1.4.1 实验分组 将 40 只大鼠采用随机数字表法分为空白组、模型组、秋水仙碱组、肾茶低剂量组、肾茶高剂量组, 每组各 8 只。文献研究证明, 中高剂量治疗效果明显, 以文献的中剂量作为本研究的低剂量^[3]。

1.4.2 造模 参照 Coderre 的改良方法进行造模, 前 5 d 正常灌胃给药, 在第 5 天给药前, 通过气体麻醉大鼠, 在大鼠右后踝关节进行碘伏消毒后用 1 mL 注射器进行关节腔内注射 0.2 mL 尿酸单钠溶液(25 mg/mL), 将 0.2 mL 生理盐水注入空白组大鼠关节腔内。注射前需要测量踝关节周径, 造模 4~10 h 后大鼠出现明显肿胀, 关节屈伸不便, 甚至出现三足步态现象, 提示急性痛风性关节炎大鼠造模成功。

1.4.3 给药 采用灌胃给药方式, 肾茶高、低剂量给药依据《药理实验方法学》中人与大鼠的等效剂量折算表计算大鼠每千克用药剂量(6, 12 g/kg), 秋水仙碱组给予秋水仙碱溶液(9 mg/kg)^[7], 模型组和空白组给予等体积生理盐水, 造模前 1 次/d, 造模后 2 次/d, 连续 7 d。

1.5 观察指标

1.5.1 大鼠踝关节肿胀程度 通过细线配合游标卡尺, 分别在痛风性关节炎造模前、造模后 4, 10, 24, 36, 48 h 测量并记录大鼠踝关节初始周径和肿胀后周径, 关节肿胀程度 = [(关节肿胀后周径 - 初始周径) / 初始周径] × 100%。

1.5.2 关节功能障碍指数 依据 Coderre 关于关节功能障碍指数分级评定标准。0 级为正常行走; 1 级为右后足轻轻着地, 轻度瘸腿; 2 级为右后足趾背着地, 明显瘸腿; 3 级为三足步态。

1.5.3 酶联免疫吸附法检测炎性因子含量 将 5 mL 大鼠腹主动脉血液放入速离心机中, 3 000 r/min 离心 15 min, 将离心出的血清转移至新的离心管 - 80 °C 冷冻备用。称取定量滑膜组织, 按照 1:9 比例加入磷酸盐缓冲溶液, 放入高速低温自动研磨仪中研磨 2 min, 制备成 10% 匀浆液, 12 000 r/min 离心 5 min, 取上清液测定。取出试剂盒, 操作步骤如下: 1) 标准品的加样; 2) 加样; 3) 加酶; 4) 温育; 5) 配液洗涤; 6) 显色; 7) 终止步骤操作。最后在酶标仪 450 nm 波长下测定各孔吸光度, 根据各浓度标准品所制作的标准曲线算出样本中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的含量。

1.5.4 Western Blot 法检测组织蛋白表达 取每个关节样本约 0.03 g 进行细胞裂解, 离心后取上清, 并

进行蛋白定量和制备蛋白样品; 加入 10 μ L 蛋白样本后用电压电泳, 再用 PVDF 膜进行电流转膜。裁剪出相应蛋白分子量所在的条带, 用 5% 脱脂奶粉室温下封闭 2 h, 配置抗 MMP-3、MMP-13 和 COL2 抗体进行孵育 4 °C 过夜; 次日回收一抗并在室温下孵育二抗 1 h, 配 ECL 底物发光液。采用 ChemiScope Capture 成像分析系统曝光扫描, 检测目的条带与内参条带灰度值的比值。

1.5.5 苏木精-伊红(HE)染色 用多聚甲醛固定组织 24~48 h 后进行脱钙处理, 样本软化后进行脱水浸蜡处理, 75% 乙醇及 85% 乙醇各 2 h; 90% 乙醇 1.5 h; 95% 乙醇 2 h; 无水乙醇(1) 2 h; 无水乙醇(2) 2 h, 65 °C 融化石蜡; 蜡熔化后将脱水后的组织放入包埋框中; 采用石蜡切片机将修整后的蜡片切成 10 μ m 的薄片; 载玻片固定薄片, 然后室温下备存。脱蜡: 将薄片依次置于二甲苯(1) 20 min; 二甲苯(2) 20 min; 无水乙醇(1) 5 min; 无水乙醇(2) 5 min; 75% 乙醇 5 min, 最后流动水洗。再依次进行苏木精染色和伊红染色; 最后封片和显微镜镜检, 并进行图像采集分析。

1.6 统计学方法

采用 Graphpad Prism 9.0.0 软件进行数据分析和绘制统计图。数据符合正态分布, 组间比较采用单因素方差分析, 采用 $\bar{x} \pm s$ 形式表示, 事后采用 LSD 检验进行两两比较, 方差不齐则采用非参数检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肾茶对大鼠关节肿胀情况的影响

与空白组相比较, 造模 4, 10, 24, 36, 48 h 后模型组踝关节肿胀度显著增加, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组相比较, 在造模后 10~24 h 内, 除空白组外, 其余各组肿胀度差异无统计学意义($P > 0.05$), 24~48 h 内干预组的肿胀度有所缓解, 秋水仙碱组造模后踝关节肿胀显著减轻, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 肾茶干预组肿胀情况呈剂量依赖性减轻, 肾茶高剂量组在造模后 36~48 h 关节肿胀情况均显著减轻, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 见表 1。

2.2 肾茶对大鼠关节功能障碍指数的影响

与空白组比较, 造模后 10 h 的时间点的各组大鼠踝关节功能障碍指数组间差异有统计学意义($P < 0.01$); 模型组在造模 10~48 h 后几乎所有大鼠都有明显的功能障碍, 差异有统计学意义($P < 0.001$)。空白组大鼠在 24 h 后踝关节功能基本恢复正常; 与模型组比, 秋水仙碱组和肾茶高剂量组较模型在 48 h 后大部分鼠关节功能恢复接近正常, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 而肾茶低剂量组在 48 h 后功能障碍情况差异无统计学意义, 见表 2。

表 1 大鼠踝关节肿胀度($\bar{x}\pm s,n=6,\%$)

组别	4 h	10 h	24 h	36 h	48 h
空白组	14.74±7.48	14.74±7.55	6.69±5.04	1.925±2.91	0.00±0.00
模型组	31.03±10.12 ¹⁾	54.3±7.31 ¹⁾	48.3±5.29 ¹⁾	39.95±2.43 ¹⁾	36.24±3.86 ¹⁾
秋水仙碱组	33.03±11.07	49.03±9.04	41.2±9.23 ²⁾	33.02±7.44 ²⁾	21.52±3.92 ²⁾
肾茶低剂量组	30.07±7.75	50.32±6.59	44.22±2.75	37.19±2.98	29.71±2.63 ²⁾
肾茶高剂量组	31.11±7.55	42.4±6.28 ²⁾	36.1±7.64 ²⁾	29.35±6.76 ²⁾	19.82±2.63 ²⁾

注:1)与空白组比较, $P<0.01$;2)与模型组比较, $P<0.05$ 。

表 2 大鼠关节功能障碍指数($n=8$)

等级	空白组			模型组			秋水仙碱组			肾茶低剂量组			肾茶高剂量组		
	10 h	24 h	48 h	10 h	24 h	48 h	10 h	24 h	48 h	10 h	24 h	48 h	10 h	24 h	48 h
0	5	7	8	0	0	0	0	0	4 ¹⁾	0	0	0	0	0	5 ¹⁾
1	3	1	0	0	0	0	0	2	4	0	0	4	0	2	3
2	0	0	0	0	0	7 ²⁾	3	2	0	0	1	4	3	4	0
3	0	0	0	8 ²⁾	8 ²⁾	1	5	4	0	8	7	0	5	2	0

注:1)与模型组相比 $P<0.01$;2)与空白组相比 $P<0.001$ 。

2.3 肾茶对大鼠炎症因子 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平的影响

模型组血清中 IL-6 和滑膜组织中 IL-1 β 、TNF- α 水平明显高于空白组,差异有统计学意义($P<0.0001$);与模型组相比,在滑膜组织和血清中,肾茶呈现剂量依赖性缓解炎症因子 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的

表达水平,差异有统计学意义($P<0.05$),且肾茶高剂量组与秋水仙碱组中 IL-6、IL-1 β 的表达水平差异无统计学意义($P>0.05$),见图 1。

2.4 肾茶对大鼠软骨组织中 MMP-13、MMP-3 及 COL2 蛋白表达水平的影响

经蛋白表达分析,与空白组相比,模型组中的

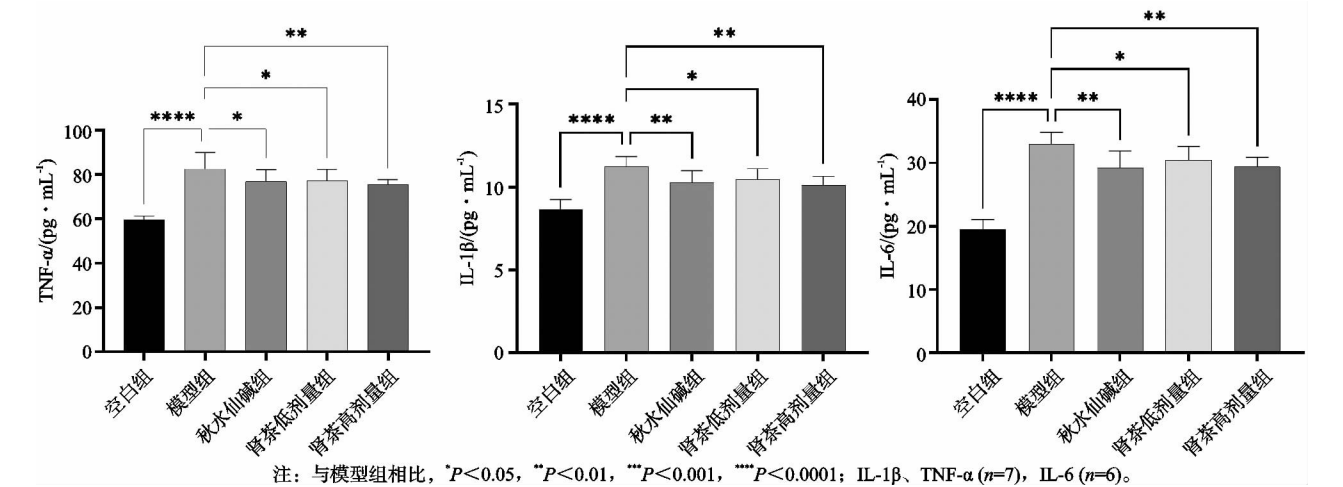


图 1 大鼠炎症因子 IL-6、IL-1 β 及 TNF- α 水平

MMP-13、MMP-3 表达明显增加,且 COL2 的表达显著低于空白组,差异有统计学意义($P<0.001$);与模型组相比,秋水仙碱组和肾茶高剂量组抑制 MMP-3 和 MMP-13 的蛋白表达,差异有统计学意义($P<0.01$),并且肾茶高剂量组相对于秋水仙碱组更有效提高 COL2 的蛋白表达,肾茶具有剂量依赖性抑制 MMP-13 及 MMP-3 表达,增加 COL2 的表达,起到抑制细胞外基质降解的作用,见图 2。

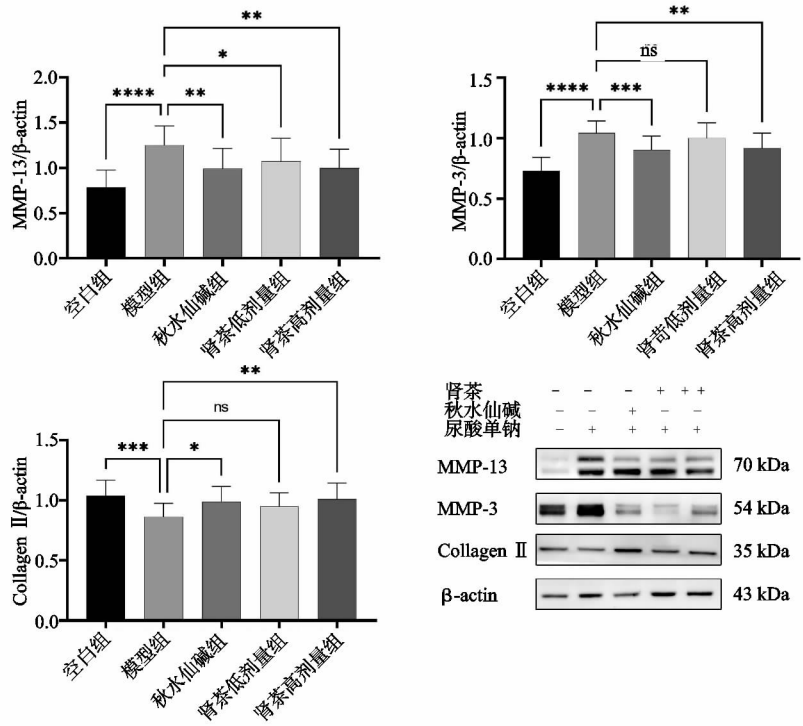
2.5 肾茶对关节软骨病理变化的影响

空白组软骨组织结构清楚完整,表层软骨细胞排列有序;模型组和秋水仙碱组都显示出软骨表面毛糙样和部分软骨残缺的改变,表层软骨细胞排列紊乱(如

箭头所示),模型组还伴有的滑膜炎;相对模型组,肾茶干预组的软骨表面比较平滑,或仅有少量的粗糙样改变,且肾茶高剂量组的效果优于秋水仙碱组和肾茶低剂量组,更有利于保护关节软骨细胞,见图 3。

3 讨论

痛风性关节炎是由于嘌呤代谢紊乱引发的血清尿酸水平升高,最终可导致尿酸单钠晶体在关节中沉积引起的急性关节炎。中医认为痛风性关节炎属“痹证”范畴,出现红、肿、热、痛症状。痛风性关节炎急性期治疗主要依赖于非甾体抗炎药、秋水仙碱等药物以缓解症状为主,然而长期使用这些药物会可能引起胃肠道反应、过敏性皮疹甚至损害肝肾功能等副作用^[8]。



注：与模型组相比，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ，*** $P<0.001$ ，**** $P<0.0001$ ；MMP-13 ($n=5$)，MMP-3、COL2 ($n=6$)。

图2 大鼠 MMP-13、MMP-3、COL2 蛋白表达水平

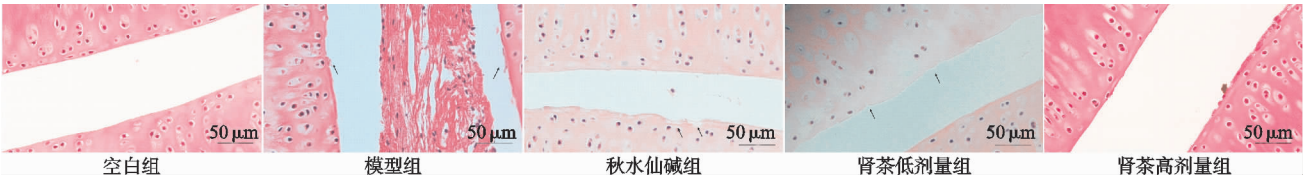


图3 大鼠踝关节病理切片(组织来源于大鼠右侧踝关节(矢状位)HE, ×400)

王耀光认为痛风性关节炎缓解期根据缓则治其本的原则，应补脾益肾、活血化瘀、泄浊解毒^[9]。研究表明肾茶含有黄酮类、酚类、萜类、挥发油等多种有效成分，具有改善肾功能、利尿排石、抗炎、抗氧化、抗菌、降血压等多种药效且毒副作用小^[6,10]，还用于高尿酸血症、急慢性肾炎、尿路结石、水肿等疾病治疗^[11]，但其对尿酸单钠诱导软骨损伤保护机制尚不清楚，因此有必要研究肾茶对痛风性关节炎中的软骨保护机制。

痛风性关节炎的发展可归纳为四个阶段^[12]，第一阶段为嘌呤代谢异常或肾脏尿酸排泄不足导致血尿酸升高；第二阶段表现为尿酸单钠晶体的形成和沉积；第三阶段为急性炎症反应期，是当前研究的主要方面。尿酸单钠作为一种病原相关分子，噬细胞广泛募集吞噬尿酸单钠晶体并直接与核苷酸寡聚化结构域(NOD)样受体结合，促进核苷酸寡聚化结构域样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)炎性体的形成和激活，导致促炎细胞因子 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 释放^[13-14]。如果关节损伤炎症持续时间较长，慢性滑膜炎将加快软骨细胞的凋亡、细胞外基质的降解和软骨下骨重塑，进而影响关节软骨的完整性^[15]。本研究

发现，痛风性关节炎大鼠血清和滑膜组织中的 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 明显升高，肾茶高剂量组可以有效减轻炎症因子的表达，从而防止滑膜炎在软骨组织中的破坏作用，而肾茶是否还会影响到 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 炎性体的活化，还需进一步验证。第四阶段表现为痛风石、慢性滑膜炎和关节损伤。报道称在痛风石-骨界面处有大量骨破骨细胞，尿酸单钠直接抑制成骨细胞的活力，增加骨吸收和炎症反应^[12,16]，影像学检查也显示在疾病晚期超声或双能 CT 上明显的尿酸钠晶体沉积，并伴有关节侵蚀，关节间隙会变宽或变窄，伴硬化和悬垂边缘^[12]。报道称尿酸单钠晶体以时间和剂量依赖性方式显著降低了原代软骨细胞的活力且软骨细胞的培养基中观察到 DNA 片段化^[17]。关节软骨是由软骨细胞和致密的 II 型胶原蛋白和蛋白聚糖的胞外基质(Extracellular Matrix, ECM)组成^[18]，健康软骨的结构完整性是通过软骨细胞中细胞外基质成分的合成代谢和分解代谢之间的微调平衡来维持的^[19]，当痛风性关节炎诱导胞外基质微环境的分解代谢增强，则容易影响软骨结构的完整性。胶原蛋白和蛋白聚糖的降解被认为是关节炎的早期表

现,先在关节表面开始降解,随着疾病进展发生在中部和深层区域,而且关节软骨缺乏固有的修复能力和血液营养供给能力,所以减少胞外基质降解是笔者研究的重点。胞外基质的降解是由于细胞外基质降解酶如基质金属蛋白酶和具有凝血酶反应蛋白基序的去整合素样和金属蛋白酶(A Disintegrant and Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs, ADAMTS)的激活引起的^[20-21]。Ⅱ型胶原蛋白和蛋白聚糖的降解是由于 MMPs 和 ADAMTS 的激活引起的^[20-21]。MMP-3 和 MMP-13 在骨关节炎的滑膜和软骨细胞中高度表达,在蛋白多糖的降解和胶原酶的激活中起重要作用,是靶向软骨降解的关键酶^[22-23],MMP-3 在促进 Pro-MMPs 的激活中起关键作用^[20];ADAMTS-5 在关节炎疾病早期调控中起主要作用^[21]。金属蛋白酶组织抑制剂(Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinases, TIMP)是在大多数组织中发现的 MMPs 的天然抑制剂,抑制 MMP-3 和 MMP-9 活性^[24]。研究发现尿酸单钠诱导软骨细胞的 MMP-3 和 ADAMTS-4 的表达,同时抑制 TIMPs 在关节和软骨细胞中的表达^[4]。报道称肾茶减少了碘乙酸钠诱导的软骨外植体的 MMP13 和 ADAMTS5 的 mRNA 表达^[2],与笔者的研究结果一致,肾茶通过抑制 MMP-3、MMP-13 的激活,并增加 COL2 表达,呈现剂量依赖性减少胞外基质的降解,苏木精-伊红染色结果发现肾茶高剂量组相对秋水仙碱组的软骨表面结构完整且无皲裂改变,因此痛风性关节炎引起的软骨损伤机制与胞外基质的降解密切相关,靶向抑制胞外基质降解的基质金属酶成为防止软骨损伤的重要机制^[5]。

综上所述,肾茶可以降低基质金属蛋白酶的表达,增加Ⅱ型胶原蛋白的表达,从而减轻了痛风性关节炎对关节软骨的损伤并延缓痛风性关节炎的进展,此外肾茶还能抑制炎症因子的表达,从而减轻滑膜炎对软骨的破坏作用。本研究的不足之处在于:尿酸单钠注射并不能完全模拟痛风性关节炎发生和发展的病理过程,后续将探索用高尿酸大鼠诱导痛风性关节炎模型,更好地阐明痛风性关节炎的发病机制;另外肾茶对软骨损伤作用的通路机制还不清楚,后期将从体外实验来验证肾茶对痛风性关节炎的软骨损伤作用的通路机制。

参考文献

- [1] DEHLIN M, JACOBSSON L, RODDY E. Global epidemiology of gout: prevalence, incidence, treatment patterns and risk factors[J]. *Nature Reviews Rheumatology*, 2020, 16(7):380-390.
- [2] BOKHARI R A, TANTOWI N, LAU S F, et al. Java Tea (*Orthosiphon stamineus*) protected against osteoarthritis by mitigating inflammation and cartilage degradation: a preclinical study[J]. *Inflammopharmacology*, 2018, 26

- (4):939-949.
- [3] 谢招虎,狄朋桃,李兆福. 猫须草治疗痛风的机制研究进展[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2019, 25(6):860-863.
- [4] ZHU F, YIN L, JI L, et al. Suppressive effect of Sanmiao formula on experimental gouty arthritis by inhibiting cartilage matrix degradation: an in vivo and in vitro study[J]. *International Immunopharmacology*, 2016, 30:36-42.
- [5] 王永涛,谢一舟,樊效鸿,等. 加味当归四逆汤对膝关节关节炎大鼠软骨退变的影响及作用机制研究[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2022, 30(11):7-12.
- [6] 张永怡,吴家超,李水萍,等. 民族药肾茶的化学成分与药理作用研究进展[J]. *中医药学报*, 2021, 49(1):112-120.
- [7] 丘青中,戚子荣,邢振龙. 萆薢祛风饮用于湿热蕴结证痛风性关节炎大鼠的疗效及机制研究[J]. *中国医药导报*, 2021, 18(13):19-22.
- [8] 徐东,朱小霞,曾学军,等. 痛风诊疗规范[J]. *中华内科杂志*, 2020(6):421-426.
- [9] 赵景峰,张诗元,王大海,等. 王耀光教授治疗痛风性关节炎临床经验总结[J]. *天津中医药*, 2022, 39(6):706-709.
- [10] 赵应红,林艳芳,张丽丽,等. 傣药芽糯妙(肾茶)的研究与应用[J]. *中国民族医药杂志*, 2008, 14(10):72-77.
- [11] ASHRAF K, SULTAN S, ADAM A. Orthosiphon stamineus Benth is an outstanding food medicine: review of phytochemical and pharmacological activities[J]. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 2018, 10(3):109-118.
- [12] DALBETH N, GOSLING A L, GAFFO A, et al. Gout[J]. *Lancet (London, England)*, 2021, 397(10287):1843-1855.
- [13] JHANG J J, LIN J H, YEN G C. Beneficial properties of phytochemicals on nlrp3 inflammasome-mediated gout and complication[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(4):765-772.
- [14] ROCK K L, KATAOKA H, LAI J J. Uric acid as a danger signal in gout and its comorbidities[J]. *Nature Reviews Rheumatology*, 2013, 9(1):13-23.
- [15] XIE J, WANG Y, LU L, et al. Cellular senescence in knee osteoarthritis: molecular mechanisms and therapeutic implications [J]. *Ageing Research Reviews*, 2021, 70:101413.
- [16] CHHANA A, CALLON K E, POOL B, et al. Monosodium urate monohydrate crystals inhibit osteoblast viability and function: implications for development of bone erosion in gout[J]. *Ann Rheum Dis*, 2011, 70(9):1684-1691.
- [17] HWANG H S, YANG C M, PARK S J, et al. Monosodium urate crystal-induced chondrocyte death via autophagic process[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(12):29265-29277.
- [18] FINDLAY D M, ATKINS G J. Osteoblast-chondrocyte interactions in osteoarthritis[J]. *Current Osteoporosis Reports*, 2014, 12(1):127-134.
- [19] ZHANG Y, LI S, JIN P, et al. Dual functions of microRNA-17 in maintaining cartilage homeostasis and protection against osteoarthritis[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1):2447.

侧重。综合各家而言,肺癌脊柱转移作为肺癌骨转移中的一种,推测其基本病机为正虚邪实、邪盛正衰,日久导致脏腑功能失调,从而出现癌毒四散,痰、瘀、毒、热、湿、寒等病理因素,相互搏结,侵犯于骨。

关于病位证素的分布规律,本研究结果显示主要涉及病位为肺、脾、肾。肺为本病的发病源头;脾主运化、统血、升清,病理因素湿、痰、血瘀、血虚均直接或间接由脾的功能异常而致;肾主骨,骨的异常为本病的直接表现。故本病的发生与肺、脾、肾三脏功能失调有较大关联,此结果与持本虚标实理论的各位医家的观点基本一致。

关于病性证素的分布规律,本研究结果显示气虚为首位病性证素。气是维持人的生命活动最基本的物质,内养脏腑,外濡腠理,气的不足会引起脏腑功能失调,卫外之力不足,机体自我修复能力下降,并导致营亏、血虚、阳虚、生湿、生痰、气滞、血瘀等多种病理变化,机体元气不足时,在外邪刺激下易引发一系列疾病,正如《灵枢·百病始生》中提到“邪不能独伤人”,故气虚是本病发生的重要且必要因素之一。且机体长期与癌毒做斗争,正气不断耗损,更使得各脏腑呈现气虚之象。本研究病性证素中出现频率排第二的为阳虚。何佩珊等^[13]发现阳虚证是骨转移癌患者临床最常见的证型之一。阳虚多由久病损伤、气虚进一步发展,或因自然衰老导致的命门火衰,或久居寒冷之地、常服寒凉食物所致。肺癌脊柱转移为肺癌晚期癌毒扩散,多已是病久气耗,加之本研究患者主要构成年龄段为 61~71 岁,《素问·上古天真论篇》所提到“女子……七七……天癸竭,地道不通”,“丈夫……八八……天癸竭,精少,肾脏衰”,都是自然衰老后肾阳衰竭的表现,故阳虚证的高频出现符合本病发生发展的规律及基本病机。湿是本研究中出现频率第三高的病性证素,湿邪一旦侵犯人体,如油入面,难以根除;且湿易与热、寒、风等其他病理因素相结合而产生新病,也易转变为

痰、饮之证;且湿为阴邪,最易损伤人之阳气,故湿邪久留于人体易致阳虚。本研究各证素经聚类分析后,最终确定得出肺癌脊柱转移的兼夹证型为:阳气亏虚证、痰湿内阻证、脾肾亏虚证、阴虚血瘀证、肝郁气滞证。

参考文献

- [1] 董智,赵军,柳晨,等. 肺癌骨转移诊疗专家共识(2019 版)[J]. 中国肺癌杂志,2019,22(4):187-207.
- [2] 押丽静,白彦萍,李锴,等. 中医证素的研究概况[J]. 环球中医药,2019,12(3):459-463.
- [3] 林丽珠,王思恩,黄学武. 肺癌中西医结合诊疗专家共识[J]. 中医肿瘤学杂志,2021,3(6):1-17.
- [4] 金连顺,张瞳,何伟炎,等. 基于知识图谱构建和定性访谈法探析张忠德教授辨治间质性肺病临床特征与方药规律[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2021,23(8):2838-2848.
- [5] 刘宗超,李哲轩,张阳,等. 2020 全球癌症统计报告解读[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志,2021,7(2):1-14.
- [6] 赫捷,李霓,陈万青,等. 中国肺癌筛查与早诊早治指南(2021,北京)[J]. 中国肿瘤,2021,30(2):81-111.
- [7] 国家卫生健康委员会. 原发性肺癌诊疗规范(2018 年版)[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志,2019,5(3):100-120.
- [8] 吴一龙,王长利,廖美琳,等. 免疫治疗:在混沌与曙光中探索[J]. 循证医学,2017,17(4):193-198.
- [9] 徐国品,夏黎明运用“培土生金法”治疗晚期肺癌临床经验[J]. 江西中医药大学学报,2018,30(6):25-27.
- [10] 江啸锋,张海波,陈惠惠. 刘伟胜辨治肺癌骨转移经验[J]. 山东中医杂志,2019,38(8):774-777.
- [11] 胡小勤,陈利国. 肺癌转移的痰瘀病机探讨[J]. 辽宁中医杂志,2006(12):1555-1556.
- [12] 钟佳,刘华,王理槐. 基于“癌毒传舍”理论防治肺癌转移[J]. 湖南中医药大学学报,2021,41(12):1950-1953.
- [13] 何佩珊,杨公博,姜敏,等. 阳虚证肺腺癌骨转移活体荧光成像模型的建立与评价[J]. 中华中医药杂志,2019,34(3):1220-1223.

(收稿日期:2022-11-16)

(上接第 17 页)

- [20] Multidisciplinary Expert Task Force on Hyperuricemia and Related Diseases Chinese Multidisciplinary Expert Consensus on the Diagnosis and Treatment of Hyperuricemia and Related Diseases[J]. Chinese Medical Journal, 2017,130(20):2473-2488.
- [21] SHU C C,FLANNERY C R,LITTLE C B,et al. Catabolism of fibromodulin in developmental rudiment and pathologic articular cartilage demonstrates novel roles for MMP-13 and ADAMTS-4 in C-terminal processing of SLRPs[J]. Int J Mol Sci,2019,20(3):579.
- [22] VAN GEFFEN E W,VAN CAAM A P M,SCHREURS W, et al. IL-37 diminishes proteoglycan loss in human OA carti-

lage:donor-specific link between IL-37 and MMP-3[J]. Osteoarthritis and Cartilage,2019,27(1):148-157.

- [23] MALEMUD C J. Inhibition of MMPs and ADAM/A DAMTS[J]. Biochemical Pharmacology, 2019, 165: 33-40.
- [24] MULYAD I,SUNNAT I,AZHARY M,et al. The correlation of age and body mass index with the level of both protease MMP3 and anti-protease TIMP-1 among Indonesian patients with chronic obstructive pulmonary disease: a preliminary findings[J]. BMC Research Notes,2018,11(1):551.

(收稿日期:2022-11-13)