

艾灸对实验性 RA 家兔 IL-10、IL-17、OPN 的影响

任继刚, 雷 泉, 王大雪, 牛彩琴

(川北医学院附属医院中医科, 四川 南充, 637000)

[摘要] 目的: 观察艾灸对实验性类风湿性关节炎(RA)家兔外周血中白细胞介素(IL)-10、IL-17及骨桥蛋白(OPN)表达的影响,并探索艾灸治疗RA的抗炎机制。方法:选取日本大耳白兔30只,将其随机分为空白组、模型组、治疗组,每组各10只,采用福氏完全佐剂法制备实验性RA模型。在造模后第7天,治疗组采用悬灸肾俞、足三里穴疗法,每穴各灸5壮,1次/d,以6d为1个疗程,共干预3个疗程。检测各组血清中IL-10、IL-17及OPN的含量。结果:IL-10、IL-17、OPN模型组与空白组比较,治疗组与模型组比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。结论:艾灸治疗对实验性RA家兔有显著的抗炎作用,可有效降低血清IL-17及OPN含量,上调IL-10的表达,其抗炎的作用机制可能是通过调节OPN的表达,进而调节Th17/Treg而实现的。

[关键词] 类风湿性关节炎;艾灸;OPN;IL-10;IL-17;实验研究

[中图分类号] R259.932.2 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2019.09.062

Effect of moxibustion on interleukin-10, interleukin-17, and osteopontin in rabbits with rheumatoid arthritis: An experimental analysis

REN Jigang, LEI Xiao, WANG Daxue, NIU Caiqin

(Department of Traditional Chinese Medicine, Affiliated Hospital of Chuanbei Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of moxibustion on the expression of interleukin-10 (IL-10), interleukin-17 (IL-17), and osteopontin (OPN) in peripheral blood in rabbits with rheumatoid arthritis (RA), as well as the anti-inflammatory mechanism of moxibustion in the treatment of RA. Methods: A total of 30 Japanese white rabbits were selected and randomly divided into blank group, model group, and treatment group, with 10 rabbits in each group. A model of RA was established by complete Freund's adjuvant. On day 7 after modeling, the rabbits in the treatment group were given suspended moxibustion at Shenshu and Zusanli once a day, with 5 moxa cones for each acupoint; each course of treatment was 6 days, and intervention was performed for 3 courses. The serum levels of IL-10, IL-17, and OPN were measured for each group. Results: There were significant differences in IL-10, IL-17, and OPN between the model group and the blank group, as well as between the treatment group and the model group ($P < 0.01$). Conclusion: Moxibustion exerts a marked anti-inflammatory effect on rabbits with RA and can effectively reduce serum IL-17 and OPN and increase serum IL-10, possibly by regulating OPN and T helper 17 cells/regulatory T cells.

[Key words] rheumatoid arthritis; moxibustion; osteopontin; interleukin-10; interleukin-17; experimental study

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以对称性多关节炎为主要临床表现的自身免疫性疾病,病理改变以滑膜细胞增生、血管翳形成进而侵蚀软骨、破坏关节为特征,具有较高的发病率和致残率。中医药疗法在RA的治疗中占有重要的地位,特别是艾灸对RA具有肯定的疗效^[1-2],且易于推广。但目前针灸治疗RA的作用机制尚未明确,研究表明,骨桥蛋白(OPN)作为一种潜在的致炎因子,在促进RA的炎症反应中具有重要作用^[3-4]。因此,本研究观察艾灸对实验性RA家兔外周血中白细胞介素(IL)-10、IL-17及OPN表达的影响,从OPN角度探讨艾

灸治疗RA的抗炎机制。

1 实验材料

1.1 动物 日本大耳白兔30只,雌雄各半,体质量(2.5 ± 0.25)kg,由川北医学院动物实验中心提供,实验动物质量合格证许可证号:SCXK(川)2013-24。

1.2 药物及试剂 福氏完全佐剂(FCA),购于美国Sigma公司。

2 实验方法

2.1 动物分组 采用随机数字表法将30只日本大耳白兔随机分为空白组、模型组、治疗组,每组各10只,雌雄各半。

基金项目:川北医学院附属医院院内项目(编号:2017-128)

第一作者:任继刚,男,医学硕士,医师,研究方向:针灸调节神经、免疫、内分泌疾病的机制研究

2.2 模型制备 于实验开始的第1天,对每只造模日本大耳白兔进行常规备皮,消毒后取双后肢膝关节腓骨下缘,以髌韧带外侧凹陷为穿刺点,用FCA按0.5ml/kg平均注射于双侧膝关节腔内,造成膝关节佐剂性关节炎。

2.3 干预方法 治疗组给予艾灸治疗。造模后第7天,将动物固定在兔架上,暴露背部(治疗穴位部位剃毛2cm×2cm),参照《实验针灸学》^[5]的动物穴位图谱,每天用小艾炷(5mg/壮)悬灸双侧肾俞、足三里穴各5壮,1次/d,以6次为1个疗程,共治疗3个疗程,每个疗程之间休息1d。空白组、模型组同法固定于治疗台,不施灸治疗。

2.4 观察指标 1)组织形态学观察。治疗3个疗程后,用心脏空气栓塞法处死实验动物,完整暴露滑膜组织,用眼科镊轻轻夹住其游离端,用刀片完整切下,立即用4%多聚甲醛液固定。以石蜡包埋切片,HE染色,光镜下观察其炎性细胞浸润、血管翳及滑膜增生等。2)实验指标检测。采用

ELISA法检测各组家兔滑膜液中OPN、IL-17、IL-10的含量。

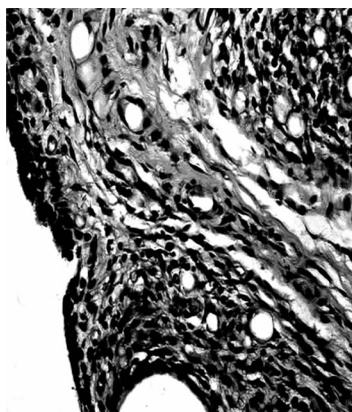
2.5 统计学方法 采用SPSS 20.0统计软件进行统计分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

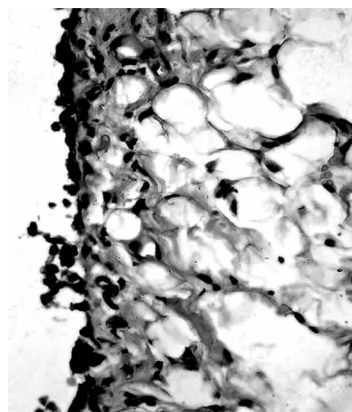
3.1 艾灸对家兔滑膜组织病理形态的影响 1)空白组的滑膜组织中,滑膜细胞单层,排列整齐,呈扁平形,无血管增生,无纤维化,无乳头状增生,未见炎性细胞浸润;2)模型组中,滑膜细胞增生呈多层,增生活跃,滑膜组织中纤维组织增生,毛细血管增多,扩张充血,可见大量炎性细胞及纤维母细胞浸润,表明有炎性液体和炎性细胞渗出;3)治疗组与模型组比较,家兔的滑膜组织纤维增生层数变少,增生反应降低,血管翳形成减少,炎细胞浸润缓解,滑膜组织充血水肿程度减轻。(见图1)



空白组



模型组



治疗组

图1 各组家兔滑膜组织形态检测图(×400)

3.2 艾灸对家兔血清炎症因子及OPN的影响 IL-10、IL-17、OPN水平模型组与空白组比较,及治疗组与模型组比较,差异均有统计学意义。(见表1)

表1 各组家兔血清炎症因子及OPN比较($\bar{x} \pm s$, pg/ml)

组别	只数	IL-10	IL-17	OPN
空白组	10	114.03 ± 5.45	108.58 ± 5.42	4.23 ± 0.05
模型组	10	105.18 ± 4.47 ^a	129.23 ± 14.48 ^a	8.78 ± 0.07 ^a
治疗组	10	109.20 ± 3.98 ^b	110.52 ± 5.29 ^b	5.26 ± 0.08 ^b

注:与空白组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.01$ 。

4 讨论

RA属中医学“痹证”范畴,其病因病机以正气虚弱、感受外邪,导致邪气痹阻经络为特点。目前其病因和发病机制尚不明确,RA病理改变中滑膜炎症是其中心环节。由于该病的发病机制复杂,目前现代医学和中医学均未能根治或有效预防。在RA的研究中发现,Th17/Treg平衡调节机制在其病理过程中具有重要的作用^[6]。OPN作为一种潜在的细胞因子,通过多种途径参与RA的炎症反应、血管翳形成和骨破坏等病理过程中。本研究结果也证实了艾灸对实

验性RA模型家兔有确切的抗炎效应,可调节其相关炎症因子,减轻炎症反应,调节OPN的表达。因此,初步推断艾灸对实验性RA家兔滑膜炎症的抑制作用可能是通过调节OPN的表达,进而调节Th17/Treg平衡实现的,但其具体的调节机制仍有待进一步研究。

参考文献

- [1] 吴晓,景中坤,马文彬,等. 近10年艾灸治疗类风湿关节炎的实验研究进展[J]. 中华中医药学刊,2018,36(5):1089-1091.
- [2] 王兴,张秀荣,张鸿婷,等. 调督通脉针灸法对佐剂性关节炎大鼠滑膜TNF- α 、IL-10表达的影响[J]. 中医药信息,2012,29(6):88-90.
- [3] 张鸽,吴玉林. 骨桥蛋白在类风湿关节炎发病机理中的研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学,2007,12(5):488-492.
- [4] 任继刚,罗薇,刘旭光. 骨桥蛋白与类风湿性关节炎病理研究进展[J]. 吉林医学,2014,35(33):7450-7452.
- [5] 林文注. 实验针灸学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1994:286.
- [6] 杨金娜,刘晓光,李覃. Th17/Treg平衡在类风湿关节炎中的作用的研究进展[J]. 中国药理学通报,2013,29(8):1045.

(收稿日期:2018-10-10)