

天麻-附子祛风通络药对抗类风湿性关节炎 风寒湿痹症大鼠的干预机制

郭步伐¹, 杨杰^{1*}, 彭启伦¹, 范光忠¹, 姚维一², 邓佳丽², 龚弟鸿², 丁维俊²

¹毕节医学高等专科学校基础医学系, 毕节 551700; ²成都中医药大学基础医学院, 成都 610075

摘要:阐释天麻-附子祛风通络药对抗类风湿性关节炎(RA)的作用机制。采用CIA法复制RA大鼠模型,并辅以风寒湿刺激条件。以关节炎指数 ≥ 4 筛选RA大鼠模型,分为正常组、模型组以及天麻-附子药对各剂量配比组。ELISA法检测各组大鼠血清RF、CRP、TXB₂、PGE₂和PGI₂的变化。RT-qPCR法检测各组大鼠全血COX-1和COX-2 mRNA表达的变化。结果表明:给药21天之后,与模型组相比,各剂量配比组大鼠关节炎指数下降,体重增加,明显降低血清RF、CRP、PGE₂、PGI₂水平,并能下调各组大鼠全血COX-2 mRNA的表达。因此,天麻-附子药对通过下调COX-2 mRNA表达,降低炎症因子PGE₂和PGI₂的含量而具有抗炎抗风湿作用。

关键词:天麻-附子;祛风通络药对;类风湿性关节炎;风寒湿痹症;干预机制。

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)5-0831-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.5.016

The intervention mechanism of *Gastrodia elata* Bl and Radix *Aconiti Lateralis Preparata* herb pairs (GRHP) on rats with rheumatoid arthritis and wind-cold-dampness arthralgia

GUO Bu-fa¹, YANG Jie^{1*}, PENG Qi-lun¹,

FAN Guang-zhong¹, YAO Wei-yi², DENG Jia-li², GONG Di-hong², DING Wei-jun²

¹Department of Fundamental Medicine, Bijie Medical College, Bijie 551700, China;

²Department of Fundamental Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China

Abstract: To explain the mechanism of GRHP against rheumatoid arthritis (RA). RA rats' model was constructed by collagen-induced arthritis (CIA) method and wind-cold-dampness stimulant condition, and screened by arthralgia index (AI) more than four. RA rats were classified to four groups such as model and three dose-ratio groups of GRHP except for normal group. Blood serum cytokine level of each rat was determined by ELISA approach, for example, rheumatoid factor (RF), C-reactive protein (CRP), thromboxane B₂ (TXB₂), prostaglandin E₂ (PGE₂) and prostacycline (PGI₂). Whole blood COX-1 and COX-2 mRNA expression of each rats was determined by Real time quantitative PCR approach. As was shown in results, AI and blood serum cytokine level such as RF, CRP, PGE₂ and PGI₂ were markedly decreased, whole blood COX-2 mRNA expression reduced, body weight increased in the rats of dose-ratio groups by comparing with model group twenty-one day after intragastric administration. Therefore, GRHP has anti-inflammatory and anti-rheumatoid arthritis effects by downregulating COX-2 mRNA expression and decreasing proinflammatory factor level such as PGE₂, PGI₂, et al.

Key words: *Gastrodia elata* Bl and Radix *Aconiti Lateralis Preparata*; couplet medicines for dispelling wind and dredging colaterals; rheumatoid arthritis; wind-cold-dampness arthralgia; intervention mechanism.

天麻为兰科植物天麻属的干燥块茎,主产于四川、云南、贵州等地。天麻味甘、药性平和,附子辛、

甘、大热、有小毒。由于两种中药均味甘,因此两药配伍组成祛风通络药对,能相互调和其药性,广泛用于类风湿性关节炎的治疗^[1]。首先, Peng等^[2]筛选与天麻配伍具有祛风通络功效的400首方剂,从中发现天麻与川芎、当归、牛膝和附子等配伍频次之

收稿日期:2020-03-04 接受日期:2020-04-24

基金项目:贵州省科技计划(黔科合基础[2019]1003)

*通信作者 Tel:86-857-2162860; E-mail: yangjie2012@sina.cn

高,在治疗顽固性痹症中发挥着重要作用。Lai 等^[3]采用“中医传承辅助系统”筛选出与天麻进行配伍的 106 首方剂,认为天麻与附子配伍是祛风通络治疗痹病的最佳药物组合。其次,天麻与附子配伍组成祛风通络药对在《太平圣惠方》、《圣济总录》和《奇效良方》天麻丸中均有记载,其中明代方贤著所著《奇效良方》天麻丸中天麻与附子配伍的剂量比为 1:1 和 3:2。当今,Chen 等^[4]根据古方天麻丸研制的天麻浸膏丸用于治疗类风湿性关节炎,其总有效率为 82.8%。因此,我们在古方天麻丸所含天麻-附子剂量配比的基础上设计天麻-附子药对 1:1、3:2 和 2:3 剂量比组,观察天麻-附子药对三种剂量配比抗 RA 的疗效;在此疗效的基础上,从环加氧酶 COX-2/COX-1 角度阐释天麻-附子祛风通络药对抗胶原诱导的 RA 风寒湿痹症大鼠模型^[5]的干预机制。

1 材料与仪器

1.1 实验材料

1.1.1 药品

红天麻 *Gastrodia elata* Bl 购自贵州毕节大方天麻公司,附子 *Radix Aconiti Lateralis Preparata* 购自四川江油鑫临附子药业有限公司。产地分别为贵州毕节大方和四川江油。由成都中医药大学邓赞教授鉴定。

天麻-附子祛风通络药对(1:1、3:2、2:3)冻干粉制备:按比例称取天麻、附子粗粉,分别加 10 倍体积水浸泡 30 min,先煎附子 1 h,再加天麻煎 1 h,过滤;第二次在残渣中加 8 倍体积水煎煮 1 h,过滤,合并两次滤液,浓缩至相对密度 1:1.1 的膏状物,再制成天麻-附子药对不同剂量配比的冻干粉,4 °C 保存备用。

1.1.2 试剂

牛 II 型胶原(美国 Chondrex 公司,批号:20022),完全弗氏佐剂(美国 Chondrex 公司,批号:7023);大鼠类风湿因子 RF(批号:ERC156),C 反应蛋白 CRP(批号:ERC07),血栓素 B₂ TXB₂(批号:ERC88),前列腺素 E₂ PGE₂(批号:ERC16),前列环素 PGI₂(批号:ERC129)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒均购自依科赛生物科技有限公司。Beyo-Fast™ SYBR Green qPCR Mix (2X)(碧云天生物技术公司,批号:D7260)。PrimeScript™ RT Reagent Kit (TaKaRa 公司,批号:RR037A)。

1.1.3 动物

SPF 级 SD 雄性大鼠 60 只,6 周龄,购自成都达硕动物有限公司,许可证号 SCXK(川)2015-030。

饲养于成都中医药大学基础医学实验中心清洁级动物房,自由饮水和进食。

1.2 仪器

FYL-YS-138L 恒温冷藏柜(北京福意联医疗设备有限公司),Multiskan MK3 全自动酶标仪(美国 Thermo Scientific 公司),CFX96 荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司),NanoDrop2000 超微量分光光度计(美国 Thermo 公司)。

2 方法

2.1 类风湿性关节炎风寒湿痹症大鼠模型的建立

选用 SPF 级 SD 雄性大鼠 60 只,6 周龄,大鼠适应性喂养 1 周后,任意选取 8 只大鼠作为正常组,其余大鼠参考文献按照胶原诱导的关节炎法(CIA 法)^[5]造模。取 2 g/L 牛 II 型胶原置于 4 °C 冰箱中过夜,与含有 5 g/L 卡介苗的完全弗氏佐剂(CFA)等体积混合,充分研磨至乳白色黏稠液体,使之乳化,胶原最终质量浓度为 1 g/L。于大鼠的尾根部至后背部进行皮下注射胶原乳化剂 0.2 mL。14 天后按初次致炎的方法和剂量重复致炎。风寒湿刺激条件:自致炎第 1 天起,将致炎大鼠置于恒温冷藏柜中,风速 18 m/s,相对湿度 95% ~ 100%,每次 30 min,每天 1 次,连续 18 天。定期观察大鼠的一般情况、关节肿胀程度、颜色、关节活动情况等变化。

2.2 动物分组及给药

致炎 21 天,根据关节炎指数 ≥ 4 筛选模型建立成功的大鼠,按各组大鼠关节炎指数无统计学差异,均匀地分为模型组、天麻-附子祛风通络药对 1:1(含药对生药 2.7 g/kg)、2:3(含药对生药 3.4 g/kg)、3:2(含药对生药 3.4 g/kg)剂量比组,每组 8 只,灌胃给药每日一次,连续 21 天。正常组和模型组按 10 mL/kg 灌胃生理盐水。各给药组剂量均按体表面积换算的成人临床等效剂量^[5]的 1.5 倍进行计算,同时以明代《奇效良方》天麻丸所含天麻附子配伍的比例为依据。

2.3 检测指标

2.3.1 大鼠体重

致炎前起,每周称量并记录大鼠体重。

2.3.2 关节炎指数

致炎第 21 天起,每周按大鼠多发性关节炎全身 5 级评分法^[5,6]对病变程度进行评分。0 分,正常;1 分,足趾关节红肿;2 分,多个趾关节或趾跖关节肿胀;3 分,踝关节以下的足爪肿胀;4 分,全部足爪肿胀。累计四肢关节炎积分为每只大鼠的关节炎指

数,最高为 16 分。

2.3.3 血清细胞因子

致炎 42 天后,10% 水合氯醛(0.35 mL/100 g)腹腔注射麻醉各组大鼠,心脏取血 2~3 mL,3 000 rpm 离心 20 min,分离血清,-80 °C 保存备用。ELISA 法测定血清类风湿因子(RF)、C 反应蛋白(CRP)、血栓素 B₂(TXB₂)、前列腺素 E₂(PGE₂)和前列环素(PGI₂)的水平。

2.3.4 RT-qPCR 检测各组大鼠全血 COX-1 和 COX-2 mRNA 的表达量

致炎 42 天后,10% 水合氯醛(0.35 mL/100 g)腹腔注射麻醉各组大鼠,心脏取血 1~2 mL,置于含有乙二胺四乙酸(EDTA)的离心管中,加 3 倍体积

红细胞裂解液,轻轻颠倒混匀,3 000 rpm 离心 10 min,弃上清,用 2 mL 磷酸缓冲液(PBS)洗涤细胞 2 次,放入 1 mL RNA Later 之中,-80 °C 保存。

根据 Multisource Total RNA Miniprep Kit (AXY-GEN, AxyPrep™, 07418KD1) 试剂盒操作说明书提取各组样本总 RNA。按照 PrimeScript™ RT Reagent Kit (Takara) 说明书进行反转录操作。采用 20 μL 反应体系(SYBR Green qPCR Mix 10 μL, Forward Primer 1 μL, Reverse Primer 1 μL, cDNA 2 μL, dH₂O 6 μL),扩增反应条件如下:95 °C 30 s 热启动和预变性,95 °C 5 s 变性,60 °C 35 s 退火,72 °C 30 s 充分延伸,共 40 个循环。引物信息见表 1。 β -actin 为内参基因,相对表达水平采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式进行计算。

表 1 引物信息

Table 1 Primer information

引物名称 Prime name	5'→3'序列 5'→3' sequence
大鼠 β -actin-F	CACCCGCGAGTACAACCTTC
大鼠 β -actin-R	CCCATACCCACCATGACACC
大鼠 COX-1-F	GTCTGCCTCAACACCAAGAC
大鼠 COX-1-R	ATGGCTGGCCTAGAACTCAC
大鼠 COX-2-F	GCTTCTCCCTGAAACCTTACACAT
大鼠 COX-2-R	GCTTCAACTCTGCAGCCATT

2.4 统计学方法

采用 PRIM 6.0 统计软件,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间进行单因素方差分析,方差齐则采用 LSD 进行比较,方差不齐则采用秩和检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 天麻-附子不同剂量配比对大鼠一般情况及体重的影响

致炎 10 天,类风湿性关节炎风寒湿痹症大鼠足趾皮肤发红,轻度肿胀,致炎 14 天再次强化免疫,大鼠足背、踝关节肿胀明显,活动量减少,食少,体重增长缓慢,甚至下降;致炎 21 天,大鼠足背、踝关节肿胀进一步加重,体重下降,下肢触地无力。自致炎第 21 天开始给药,各治疗组大鼠体重逐渐上升,见表 2。致炎第 42 天(给药第 21 天),各治疗组大鼠体重较模型组明显升高(见表 2)。

表 2 天麻-附子不同剂量配比对大鼠体重的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of different dose-ratios of GRHP on rats' weight ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	21 天 Day 21 (g)	28 天 Day 28 (g)	35 天 Day 35 (g)	42 天 Day 42 (g)
正常组 Normal	-	245.0 ± 7.4	274.0 ± 8.6	295.0 ± 8.5	307.5 ± 9.1
模型组 Model	-	246.7 ± 6.5	246.9 ± 5.5	241.1 ± 6.0*	235.7 ± 3.9 [#]
TF11 组 TF11 group	2.7	243.3 ± 9.2	259.1 ± 11.8	277.1 ± 13.3	305.3 ± 16.3 [△]
TF32 组 TF32 group	3.4	243.4 ± 6.7	257.6 ± 9.2	278.7 ± 12.2	290.7 ± 15.7 ^{△△}
TF23 组 TF23 group	3.4	234.7 ± 7.6	256.1 ± 8.8	275.0 ± 11.3	281.5 ± 12.6 ^{△△}

注:与正常组相比,* $P < 0.05$;[#] $P < 0.01$ 。与模型组相比,[△] $P < 0.01$;^{△△} $P < 0.05$ 。TF11、TF32、TF23 组分别为天麻-附子药对 1:1、3:2、2:3 剂量比组。

Note: Compared with normal, * $P < 0.05$; [#] $P < 0.01$. Compared with model, [△] $P < 0.01$; ^{△△} $P < 0.05$. TF11, TF32 and TF23 group were GRHP 1:1, 3:2 and 2:3 dose-ratio groups, respectively.

3.2 天麻-附子不同剂量配比对大鼠关节炎指数的影响

致炎 28 天,模型组大鼠关节炎指数达到高峰。

各治疗组随着治疗时间的延长,关节炎指数逐渐下降。致炎 42 天(给药第 21 天),各治疗组与模型组相比,其关节炎指数明显下降(见表 3)。

表 3 天麻-附子不同剂量比在大鼠关节炎指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 3 Effect of different dose-ratios of GRHP on rats' AI ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	21 天 Day 21 (g)	28 天 Day 28 (g)	35 天 Day 35 (g)	42 天 Day 42 (g)
模型组 Model	-	4.8 ± 0.4	4.9 ± 0.4	4.8 ± 0.3	4.8 ± 0.3
TF11 组 TF11 group	2.7	5.5 ± 1.1	5.8 ± 1.5	4.6 ± 1.4	3.0 ± 0.6*
TF32 组 TF32 group	3.4	5.1 ± 0.6	4.8 ± 0.5	3.6 ± 0.5	3.3 ± 0.5*
TF23 组 TF23 group	3.4	4.8 ± 0.5	4.4 ± 0.3	3.4 ± 0.4	2.6 ± 0.3 [#]

注:与模型组相比,* $P < 0.05$;[#] $P < 0.01$ 。

Note:Compared with model,* $P < 0.05$;[#] $P < 0.01$.

3.3 天麻-附子不同剂量配比对血清 RF、CRP 水平的影响

表 4 所示,模型组血清 RF、CRP 水平明显高于正常组,可成为类风湿性关节炎风寒湿痹症大鼠模型的判定标准之一。与模型组相比,天麻-附子 1:

1、2:3、3:2 剂量比组能明显降低类风湿性关节炎风寒湿痹症大鼠血清 RF 和 CRP 的水平($P < 0.05, P < 0.01$),因而各剂量比组可改善大鼠足趾及踝关节肿胀症状。

表 4 天麻-附子不同剂量比在大鼠血清 RF 和 CRP 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Effect of different dose-ratios of GRHP on RF and CRP levels in rats' blood serum($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	血清 RF 浓度 Concentration of RF (mIU/mL)	血清 CRP 浓度 Concentration of CRP (ng/mL)
正常组 Normal	-	346.2 ± 131.5	321.6 ± 75.4
模型组 Model	-	922.1 ± 122.9*	724.9 ± 127.8*
TF11 组 TF11 group	2.7	455.2 ± 77.4 [#]	419.3 ± 32.9 [#]
TF32 组 TF32 group	3.4	362.1 ± 93.1 [△]	291.2 ± 77.3 [△]
TF23 组 TF23 group	3.4	278.8 ± 95.7 [△]	311.8 ± 65.7 [△]

注:与正常组相比,* $P < 0.01$ 。与模型组相比,[#] $P < 0.05$;[△] $P < 0.01$ 。

Note:Compared with normal,* $P < 0.01$ 。Compared with model,[#] $P < 0.05$;[△] $P < 0.01$ 。

3.4 天麻-附子不同剂量配比对血清 TXB₂、PGE₂、PGI₂ 水平的影响

表 5 所示,致炎 42 天,与正常组相比,模型组血清 PGE₂ 和 PGI₂ 水平明显升高,为类风湿性关节炎

风寒湿痹症大鼠主要的致炎因子之一。与模型组相比,各剂量配比组血清 PGE₂ 和 PGI₂ 水平下降,其中天麻-附子药对 1:1 剂量组和 2:3 剂量组下降最为明显, $P < 0.01$ 。

表 5 天麻-附子不同剂量比在大鼠血清 TXB₂、PGE₂、PGI₂ 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 5 Effect of different dose-ratios of GRHP on TXB₂, PGE₂ and PGI₂ levels in rats' blood serum ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	TXB ₂ 浓度 Concentration of TXB ₂ (pg/mL)	PGE ₂ 浓度 Concentration of PGE ₂ (pg/mL)	PGI ₂ 浓度 Concentration of PGI ₂ (mg/mL)
正常组 Normal	-	2.1 ± 0.7	39.7 ± 8.4	29.6 ± 5.6
模型组 Model	-	1.2 ± 0.3	114.6 ± 19.1*	52.7 ± 7.4 [#]
TF11 组 TF11 group	2.7	0.8 ± 0.1	31.5 ± 8.4 [△]	10.3 ± 2.9 [△]
TF32 组 TF32 group	3.4	1.0 ± 0.2	22.0 ± 8.4 ^{△△}	14.8 ± 6.3 ^{△△}
TF23 组 TF23 group	3.4	1.0 ± 0.3	50.2 ± 17.2 [△]	23.9 ± 7.1 [△]

注:与正常组相比,* $P < 0.01$;[#] $P < 0.05$ 。与模型组相比,[△] $P < 0.01$;^{△△} $P < 0.05$ 。

Note:Compared with normal,* $P < 0.01$;[#] $P < 0.05$ 。Compared with model,[△] $P < 0.01$;^{△△} $P < 0.05$ 。

3.5 天麻-附子不同剂量比对 COX-1 和 COX-2 mRNA 表达的影响

致炎 42 天,与正常组相比,模型组 COX-1 mRNA 表达低于正常组,COX-2 mRNA 表达高于正常

组, $P < 0.05$ 。与模型组相比,各剂量组能明显降低 COX-2 mRNA 的表达。各剂量组之间 COX-1 mRNA、COX-2 mRNA 表达无统计学差异(见表 6)。

表 6 天麻-附子不同剂量比对大鼠全血 COX mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 6 Effect of different dose-ratios of GRHP on rats' whole blood COX mRNA expression($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	COX-1 mRNA 相对表达量 COX-1 mRNA relative expression level	COX-2 mRNA 相对表达量 COX-2 mRNA relative expression level
正常组 Normal	-	1.5 ± 0.6	0.9 ± 0.4
模型组 Model	-	0.4 ± 0.2*	5.2 ± 3.4*
TF11 组 TF11 group	2.7	0.3 ± 0.0	0.6 ± 0.2 [#]
TF32 组 TF32 group	3.4	0.3 ± 0.0	0.4 ± 0.2 [#]
TF23 组 TF23 group	3.4	0.4 ± 0.2	0.4 ± 0.1 [△]

注:与正常组相比,* $P < 0.05$ 。与模型组相比,[#] $P < 0.05$;[△] $P < 0.01$ 。

Note:Compared with normal,* $P < 0.05$. Compared with model,[#] $P < 0.05$;[△] $P < 0.01$.

4 讨论

类风湿性关节炎是一种以关节滑膜炎为特征的慢性全身性自身免疫性疾病。滑膜炎持久反复发作,可导致关节内软骨和骨的破坏,关节功能障碍,甚至残废,严重影响患者的生活质量^[7,8]。目前,CIA 和 AIA 法是常见的复制类风湿性关节炎动物模型的方法之一,CIA 法大鼠模型关节炎症状与人类类风湿性关节炎相类似^[9]。经大鼠尾根部至后背部皮下注射胶原乳剂 14 天之后,大鼠足趾及踝关节红肿症状逐渐加重,饮食减少乃至体重增幅减少。致炎 21 天,以关节炎指数 ≥ 4 为模型判定标准,显示 52 只 SD 大鼠成模率为 61.54%。血清 RF、CRP 水平是类风湿性关节炎的诊断标准之一^[8],我们采用 ELISA 法检测类风湿性关节炎大鼠血清 RF 和 CRP 的水平。结果显示,与正常组相比,模型组大鼠血清 RF、CRP 血清浓度明显升高,进一步证实 RA 模型复制成功。

药对是临床上常用的两味药物的配伍形式。根据中药药性理论,天麻味甘、药性平和,附子辛、甘、大热、有小毒,两味药配伍组成祛风通络药对用于类风湿性关节炎的治疗。在与天麻配伍具有祛风通络功效的 400 首方剂中,其中天麻与附子配伍的频次较高^[2]。《太平圣惠方》、《奇效良方》和《圣济总录》中记载的天麻丸所用的天麻-附子剂量配比为 1:1 和 3:2。因此,本课题组在古方天麻丸所用天麻-附子剂量配比的基础上,观察天麻-附子剂量配比 1:1、3:2 和 2:3 抗 RA 的疗效。

首先,给药 21 天(致炎 42 天)之后,天麻-附子

药对各剂量比可降低 RA 大鼠关节炎指数及血清 RF、CRP 的水平,同时增加其各剂量组大鼠的体重,提示了天麻-附子祛风通络药对各剂量配比组具有较好的抗炎抗风湿作用(见表 2、表 3 和表 4)。从 RA 大鼠关节炎指数、血清炎症因子水平到 COX mRNA 表达程度,天麻附子 1:1 和 3:2 剂量比组对各检测指标的影响与模型组相比,统计学差异不一致;然而,天麻附子药对 2:3 剂量比组对各检测指标的影响,与模型组相比, P 值均小于 0.01,可认为是天麻附子药对抗 RA 的最佳剂量比,在于此剂量比附子用量稍高于天麻,并与附子温通经络治疗痹症的中医理论有一定的关系^[10,11]。

其次,COX 是影响花生四烯酸代谢的限速酶,包括 COX-1 和 COX-2 两种类型,COX-1 mRNA 表达于胃粘膜、肾血管等正常组织中,具有生理性保护作用,COX-2 mRNA 在炎症刺激下强烈表达,并促进前列腺素等炎症因子的释放^[12,13]。大多数研究均表明^[14,15],COX 表达于类风湿性关节炎滑膜组织中,COX-1 mRNA 表达衍生的 TXA₂ 具有促凝作用,COX-2 mRNA 表达衍生的 PGI₂ 具有抗凝作用,因此,TXA₂ 与 PGI₂ 在生理功能上呈现相互拮抗。TXA₂ 半衰期较短,难以检测,故通过检测 TXB₂ 的浓度进行间接地评价^[16]。表 5 所示,各组大鼠血清中 PGI₂ 的浓度明显高于 TXB₂ 的浓度,与 COX mRNA 表达程度相关(见表 6)。由于天麻-附子药对各剂量比组均能明显降低 RA 大鼠 COX-2 mRNA 的表达,对 COX-1 mRNA 表达影响较小(见表 6),且各剂量组能明显降低 RA 大鼠血清 PGE₂ 和 PGI₂ 的含

量(见表5),因此天麻-附子药对通过下调 COX-2 mRNA 表达而成为其具有抗炎抗风湿作用的原因之一。

至今,从单味药到复方,从单一成分到多组分,从单一靶点到多靶点网络效应,天麻药对研究层次逐渐深入。由天麻与川芎组成的两味方含有 20 种活性成分,与 48 个偏头痛相关靶点结合,产生了潜在的协同治疗效应^[17,18]。天麻钩藤饮是治疗脑缺血及相关疾病的常用方剂,其主要的药物是天麻和钩藤,其神经保护效应的分子机制在于能上调 Nrf-2、Bcl-2 及抗氧化反应信号转导通路基因的表达,明显缩短大脑中央动脉阻塞的范围^[19]。我们首次从 COX-2/COX-1 角度阐释古方天麻丸中天麻-附子祛风通络药对剂量配比抗 RA 的作用机制,其天麻-附子药对多成分、多靶点和多途径的网络效应机制有待于进一步深入研究。

参考文献

- 1 Wang YY, Ten J. Analysis of ancient clinical medication rules for treatment of stroke based on traditional Chinese medicine inheritance support system [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2015, 21: 197-201.
- 2 Peng DP, Tang XH, Zhou RB. Study of the compatibility laws of gastrodia dispelling wind and dredging collaterals [J]. *J Yunnan Univ Tradit Chin Med* (云南中医学院学报), 2016, 39: 35-38.
- 3 Lai ZF, Tang XH, Jian YM. Compatibility application of *Gastrodia elata* Bl with qufeng tongluo efficacy in the treatment of arthromyodynia [J]. *J Basic Chin Med* (中国中医基础医学杂志), 2016, 22: 856-859.
- 4 Cheng BX, Kang JN. Clinical efficacy analysis of gastrodia pellet against rheumatic joint disease [J]. *J Chin Pat Med* (中成药), 1987, 3: 17-18.
- 5 Wei W, Wu XM, Li YJ. *Pharmacological Experimental Methodology: 4th Edition* (药理实验方法学: 第四版) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2010: 750-751.
- 6 Jin H, Ma N, Li X, et al. Application of GC/MS-based metabolomic profiling in studying the therapeutic effects of *Aconitum carmichaeli* with *Ampelopsis japonica* extract on collagen-induced arthritis in rats [J]. *Molecules*, 2019, 24: 1934-1952.
- 7 Haikal SM, Abdeltawab NF, Rashed LA, et al. Combination therapy of mesenchymal stromal cells and interleukin-4 attenuates rheumatoid arthritis in a collagen-induced murine model [J]. *Cells*, 2019, 8: 823-839.
- 8 Guo Q, Zheng K, Fan D, et al. Wu-Tou decoction in rheumatoid arthritis: integrating network pharmacology and *in vivo* pharmacological evaluation [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 230-243.
- 9 Grötsch B, Bozec A, Schett G. *In vivo* models of rheumatoid arthritis [J]. *Method Mol Biol*, 2019, 1914: 269-280.
- 10 Xie YF, Li YX, Liu MC, et al. Study on toxicity mechanism of aconitum carmichaeli lipid-soluble alkaloids to adjuvant-induced arthritis model rats based on plasma metabolomics [J]. *Chin Pharm* (中国药房), 2019, 30: 79-83.
- 11 Chen HM, Chen QL, Li MT, et al. Study on the effects of different components of Radix Aconiti Lateralis on rats with acute heart failure [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2019, 31: 415-421.
- 12 Kij A, Mateuszuk L, Sitek B, et al. Simultaneous quantification of PGI₂ and TXA₂ metabolites in plasma and urine in NO-deficient mice by a novel UHPLC/MS/MS method [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 129: 148-154.
- 13 Li X, Wu ZX, He B, et al. Tetrandrine alleviates symptoms of rheumatoid arthritis in rats by regulating the expression of cyclooxygenase-2 and inflammatory factors [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16: 2670-2676.
- 14 Peng A, Lu X, Huang J, et al. Rheumatoid arthritis synovial fibroblasts promote TREM-1 expression in monocytes via COX-2/PGE2 pathway [J]. *Arthritis Res Ther*, 2019, 21: 169-180.
- 15 Leng P, Li D, Sun Y, et al. Effects of human cyclooxygenase-2 gene silencing on synovial cells of rheumatoid arthritis mediated by lentivirus [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46: 274-280.
- 16 Mao YK, Su JZ, Liu MP, et al. Pharmacodynamic differences of different proportion of Rhizoma Chuanxiong and *Gastrodia elata* Bl in migraine rats with hyperactivity of liver-yang [J]. *Pharmacol Clin Chin Nat Med* (中药药理与临床), 2015, 31: 157-158.
- 17 Li Y, Zhang J, Zhang L, et al. Systems pharmacology to decipher the combinational anti-migraine effects of Tianshu formula [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 174: 45-56.
- 18 Yoon HY, Lee EG, Lee H, et al. Kaempferol inhibits IL-1 β -induced proliferation of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts and the production of COX-2, PGE2 and MMPs [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 32: 971-977.
- 19 Xian JW, Choi AY, Lau CB, et al. *Gastrodia* and *Uncaria* (Tianma Gouteng) water extract exerts antioxidative and antiapoptotic effects against cerebral ischemia *in vitro* and *in vivo* [J]. *Chin Med*, 2016, 11: 27.