

· 综 述 ·

芍药治疗类风湿关节炎分子生物学机制研究进展

刘若西¹, 张鹏², 徐展望³

(1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355; 2. 中国科学院深圳先进技术研究院, 广东 深圳 518055; 3. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250013)

摘 要 芍药在传统中医中被广泛用作治疗类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、肝炎等疾病, 有悠久的历史。文章对近年来其抗类风湿作用的分子生物学机制的研究进展进行了综述, 从其对抗类风湿关节炎的镇痛作用、抗炎作用、对滑膜增厚和新血管生成的抑制作用、对关节的保护作用四个方面进行了详细的阐述, 为进一步研究、利用和开发芍药提供参考。

关键词 类风湿性关节炎 白芍总苷 芍药苷 分子生物学机制

类风湿关节炎 (Rheumatoid Arthritis, RA) 是一种以关节和关节周围组织的非感染性炎症为主的全身性自身免疫性疾病, 主要病理特征为关节滑膜的异常增殖。RA 发病机制十分复杂, 目前尚无有效的根治方法。现代临床治疗 RA 主要采用非甾体抗炎药、改善症状药物、糖皮质激素及新型生物制剂, 总体上治愈率低, 副作用也较大。而中医药治疗 RA 拥有悠久的历史, 芍药 (*Paeonia lactiflora* Pallas) 的根部白芍在传统中医中被用于治疗包括 RA 在内的多种疾病。白芍总苷 (Total glycosides of paeony, TGP) 是白芍的水或乙醇提取物, 而芍药苷 (*Paeoniflorin*, PAE) 是其中含量最丰富的成分 (>90%) 并且在体外及体内试验中发挥主要药理学作用。近年来, 实验及临床研究发现了白芍总苷和芍药苷的抗炎^[1-2]、抗过敏^[3]、免疫调节^[4] 以及镇痛^[5] 等方面的作用。

1 镇痛作用

疼痛是 RA 最常见的症状。研究表明, 芍药在多种疼痛模型中都可以有效的缓解疼痛^[5-8]。最新研究发现, 腹腔注射 PAE 能够有效缓解内脏疼痛, 其部分作用机制可能是通过腺苷 A1 受体实现^[5]。脑内注射 PAE 同样可以产生显著的镇痛效果, 机制可能是调控中枢神经系统的 κ 阿片受体和 α_2 肾上腺素受体^[8] 以及调控细胞外信号调节激酶^[5]。

2 抗炎作用

关节滑膜的慢性炎症是 RA 的病理学基础。有报道称芍药可以同过降低毛细血管通透性和抑制炎症细胞浸润来治疗急性和慢性炎症。进一步实验证

实 TGP 或 PAE 通过抑制炎症介质前列腺素 E2、一氧化氮 (nitric oxide, NO)、活性氧自由基以及促炎细胞因子的合成来发挥抗炎作用。

2.1 对前列腺素 E2 合成的抑制 研究结果显示, 口服白芍总苷可以降低佐剂诱导的关节炎的模型 (adjuvant arthritis, AA) 大鼠腹膜巨噬细胞前列腺素 E2 的合成, PAE 能够降低胶原诱导的关节炎模型 (collagen induced arthritis, CIA) 大鼠成纤维样滑膜细胞前列腺素 E2 的水平^[9-10]。环磷酸腺苷与降低炎症介质的产生有关, 研究显示白芍总苷或 PAE 能够提高腹膜巨噬细胞和成纤维样滑膜细胞内环磷酸腺苷水平并增加前列腺素 4 受体的表达^[9-10]。以上结果显示芍药苷抑制腹膜巨噬细胞和成纤维样滑膜细胞前列腺素 E2 的合成是通过降低细胞内钙离子浓度和升高细胞内环磷酸腺苷水平实现的。

2.2 对 NO 合成的抑制和抗氧化作用 NO 是一种主要的炎症介质, 体外实验表明, TGP 能够显著抑制脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的大鼠腹膜巨噬细胞一氧化氮的合成和诱导性 NO 合酶 (Inducible Nitric Oxide Synthase, iNOS) 的表达^[11]。最新研究发现, PAE 能够降低 H_2O_2 诱导的人脐静脉内皮细胞 (Human Umbilical Vein Endothelial Cells, HUVECs) 产生的氧化性损伤, 其机制是提高内源性抗氧化物质的分泌并且降低细胞内活性氧自由基的表达^[12-13]。

2.3 对促炎细胞因子合成的抑制 细胞因子在介导炎症反应中有重要功能。PAE 浓度依赖的抑制脂多糖 (LPS) 诱导的小鼠巨噬细胞系 264.7 (RAW264.7) 肿瘤坏死因子 α (TNF- α), 白细胞介素 6 (interleukin, IL-6) 以及高迁移率族蛋白 1 的合成, 其分子生物学

机制为抑制 κB 抑制剂 ($I\kappa B$)/核因子 κB 通路的活化^[14]。口服芍药苷能够降低 CIA 大鼠的血浆中 IL- 1β 和 TNF- α 的含量^[15]。体内及体外研究证实芍药苷对 RA 滑膜炎的抑制作用主要通过平衡辅助性 T 细胞 1 和 2 的分化和功能以及抑制淋巴细胞、巨噬细胞和成纤维样滑膜细胞促炎细胞因子的合成来实现。

2.4 对趋化因子的抑制作用 趋化因子对白细胞在炎症部位的聚集起重要的引导作用。研究结果显示, PAE 可以明显降低肿瘤坏死因子 α 诱导的人微血管内皮细胞 1 中趋化因子 CCL2、CCL5、CCL20 和 CXCL8、CXCL16 等的信使 RNA 的表达。蛋白印记分析表明 PAE 抑制 TNF- α 诱导的核因子 κB 抑制蛋白 ($I\kappa B$) 和细胞外调节蛋白激酶的磷酸化, 以及核因子 κB 的核转位。这些结果都证明 PAE 的抗炎作用与抑制趋化因子的合成和白细胞迁移有关^[16]。

2.5 对关节炎模型中淋巴细胞增殖的抑制作用 淋巴细胞分泌大量细胞因子, 在 RA 病程中起重要作用。分泌芍药总苷能够抑制脂多糖诱导的从 CIA 大鼠脾脏中分离的 B 淋巴细胞和刀豆蛋白 A 诱导的 T 淋巴细胞的增殖; 在 CIA 大鼠模型中, 口服芍药总苷抑制脂多糖刺激的 B 淋巴细胞与刀豆蛋白 A 刺激的 T 淋巴细胞的增殖^[17]。此外, PAE 能够诱导鼠及人 T 淋巴细胞的凋亡, 此过程的分子生物学机制是通过氧化还原信号通路机制实现的^[18]。这些结果表明在实验性的关节炎模型中, 芍药总苷及 PAE 能够抑制淋巴细胞的增殖并且诱导其凋亡。

2.6 对中性粒细胞活化的抑制作用 中性粒细胞在非特异性免疫过程中起重要作用。中性粒细胞的活化引起呼吸爆发 (氧自由基的释放) 和脱颗粒 (弹性蛋白酶的释放), 导致炎症的发生。白芍总苷能够显著抑制中性粒细胞氧自由基和弹性蛋白酶的合成, 表明其对中性粒细胞的活化有抑制作用^[19]。

3 对滑膜肥厚和新血管生成的抑制作用

滑膜肥厚及血管翳的形成是 RA 的主要病理改变。给予白芍总苷灌胃的 AA 和 CIA 大鼠, 其关节滑膜肥厚及新血管和血管翳的形成状况显著减轻。白芍总苷能够显著抑制成纤维样滑膜细胞 (分离自 AA 和 CIA 大鼠) 的增殖并呈浓度依赖的特点。组织学检查表明, 口服 PAE 能够抑制 CIA 大鼠关节内血管翳和新血管的形成, 有效减轻关节滑膜的增生肥厚^[15]。此外, PAE 通过抑制 G 蛋白偶联受体激酶 2 的表达来

抑制成纤维样滑膜细胞的增殖^[10]。研究证实, 白芍总苷通过降低血管内皮生长因子的合成、抑制血管新生作用以及内皮细胞增殖来抑制 RA 中关节滑膜的新血管形成^[20]。

4 对关节的保护作用

RA 病变进入慢性期后, 其主要病理改变是滑膜肥厚, 形成许多绒毛样突起, 突向关节腔内或侵入到软骨和软骨下的骨质, 造成关节破坏。组织学检查表明芍药苷能够减轻 CIA 大鼠关节肿胀及皮下血肿, 降低平均关节炎指数, X 线片显示其骨破坏的程度也得到减轻^[15]。

5 结 语

大量体内体外实验表明 TGP/PAE 拥有镇痛、抗炎、免疫调节以及保护软骨的作用。在中国, 芍药被广泛用于治疗各类疾病拥有悠久的历史。近年来, 一些临床报道也相继证明了芍药的抗风湿疗效。随着科学研究技术的不断发展进步, 芍药抗类风湿作用的分子生物学机制被不断发现、明确, 为临床应用提供了理论依据, 也使得其抗风湿的应用逐渐走上国际舞台。当然, 我们还应当看到, 对于芍药抗风湿的分子生物学机制研究还并不透彻, 这也是以后我们重点发展的方向。通过对于芍药抗 RA 机理的研究, 结合现代医学发展的新模式会对 RA 的治疗提供更加广泛的切实选择, 展现其更广阔的应用前景。

6 参考文献

- [1] Zhang MH, Feng L, Zhu MM, et al. Antioxidative and anti-inflammatory activities of paeoniflorin and oxypaeoniflora on AGEs-induced mesangial cell damage [J]. *Planta medica*, 2013, 79 (14): 1319 - 1323.
- [2] Nam KN, Yae CG, Hong JW, et al. Paeoniflorin, a monoterpene glycoside, attenuates lipopolysaccharide-induced neuronal injury and brain microglial inflammatory response [J]. *Biotechnology letters*, 2013, 35 (8): 1183 - 1189.
- [3] Wang C, Yuan J, Wu HX, et al. Paeoniflorin inhibits inflammatory responses in mice with allergic contact dermatitis by regulating the balance between inflammatory and anti-inflammatory cytokines [J]. *Inflammation research: official journal of the European Histamine Research Society* [et al], 2013, 62 (12): 1035 - 1044.
- [4] Shi D, Ma A, Zheng H, et al. Paeoniflorin inhibits the maturation and immunostimulatory function of allergen-induced murine dendritic cells [J]. *International immunopharmacology*, 2014, 31 (2): 493 - 497.
- [5] Zhang XJ, Chen HL, Li Z, et al. Analgesic effect of paeoni-

- florin in rats with neonatal maternal separation-induced visceral hyperalgesia is mediated through adenosine A(1) receptor by inhibiting the extracellular signal-regulated protein kinase (ERK) pathway [J]. *Pharmacol biochem behav*, 2009, 94(1): 88-97.
- [6] 欧阳勇. 白芍醇提液抗炎镇痛作用研究[J]. *数理医药学杂志*, 2008(5): 600-602.
- [7] Lee B, Shin YW, Bae EA, et al. Antiallergic effect of the root of *Paeonia lactiflora* and its constituents paeoniflorin and paeonol [J]. *Archives of pharmacol research*, 2008, 31(4): 445-450.
- [8] Zhang XJ, Li Z, Leung WM, et al. The analgesic effect of paeoniflorin on neonatal maternal separation-induced visceral hyperalgesia in rats[J]. *The journal of pain: official journal of the American Pain Society*, 2008, 9(6): 497-505.
- [9] Chang Y, Wei W, Zhang L, et al. Effects and mechanisms of total glucosides of paeony on synoviocytes activities in rat collagen-induced arthritis[J]. *Journal of ethnopharmacology*, 2009, 121(1): 43-48.
- [10] Chen JY, Wu HX, Chen Y, et al. Paeoniflorin inhibits proliferation of fibroblast-like synoviocytes through suppressing G-protein-coupled receptor kinase 2 [J]. *Planta medica*, 2012, 78(7): 665-671.
- [11] 陈刚, 郭莉霞, 邓小红, 等. 白芍总苷对巨噬细胞一氧化氮和诱导型一氧化氮合酶生成的影响及其机制研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2008, 04(4): 345-351.
- [12] Chen T, Guo ZP, Jiao XY, et al. Protective effects of paeoniflorin against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells[J]. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 2011, 89(6): 445-453.
- [13] Liu L, Wang SY. Protective effects of paeoniflorin against aBETA25-35-induced oxidative stress in PC12 cells [J]. *Zhongguo Zhong yao za zhi*, 2013, 38(9): 1318-22.
- [14] Jiang WL, Chen XG, Zhu HB, et al. Paeoniflorin inhibits systemic inflammation and improves survival in experimental sepsis[J]. *Basic clin pharmacol toxicol*, 2009, 105(1): 64-71.
- [15] Wu D, Chen J, Zhu H, et al. UPLC-PDA determination of paeoniflorin in rat plasma following the oral administration of *Radix Paeoniae Alba* and its effects on rats with collagen-induced arthritis[J]. *Exp ther med*, 2014, 7(1): 209-217.
- [16] Chen T, Guo Z P, Jiao XY, et al. Paeoniflorin suppresses tumor necrosis factor- α induced chemokine production in human dermal microvascular endothelial cells by blocking nuclear factor-k B and ERK pathway [J]. *Arch dermatol res*, 2011, 303(5): 351-360.
- [17] 朱蕾, 魏伟. 白芍总苷对大鼠胶原性关节炎及其免疫功能的影响 [J]. *中国药学杂志*, 2007(20): 1547-1551.
- [18] Tsuboi H, Hossain K, Akhand AA, et al. Paeoniflorin induces apoptosis of lymphocytes through a redox-linked mechanism [J]. *Journal of cellular biochemistry*, 2004, 93(1): 162-172.
- [19] Jiang D, Chen Y, Hou X, et al. Influence of *Paeonia lactiflora* roots extract on cAMP-phosphodiesterase activity and related anti-inflammatory action [J]. *Journal of ethnopharmacology*, 2011, 137(1): 914-920.
- [20] Zheng YQ, Wei W, Zhu L, et al. Effects and mechanisms of Paeoniflorin, a bioactive glucoside from paeony root, on adjuvant arthritis in rats [J]. *Inflamm res*, 2007, 56(5): 182-188.

(2014-01-15 收稿 2014-04-20 修回)

(上接第 59 页)但在临床中多将下腰痛的原因考虑为椎间盘和软组织病变,常忽略了骶髂关节疾病也是腰腿痛的常见病因。

1992 年 Maugars 等首先在 CT 引导下向骶髂关节内注射皮质激素治疗骶髂关节疾病,有效率达 79.2^[4]。我们采用三维 DSA 引导下穿刺,并注射碘海醇使整个骶髂关节完全显影,随后注射等量镇痛药物,最终 13 例患者均取得了满意的临床效果。若穿刺位置不准确,药物外溢至关节表面,将导致疗效下降或无效;药物下沉至关节下部,则药物扩散会阻滞下部坐骨神经,影响下肢活动;若药物进入骨髓或血管,则容易导致毛细血管栓塞。因此,单纯在 C 形臂 X 线机、DSA 或 CT 引导下根据针尖是否在关节内来判断穿刺成功与否是不准确的,必须进行造影。

本组患者的治疗结果提示,三维 DSA 引导下骶髂关节封闭疗法可有效缓解骶髂关节疾病患者的腰部疼痛症状,改善患者腰部功能。

5 参考文献

- [1] 孙钢,郑召民. 影像引导下脊柱介入诊疗技术[M]. 2 版. 济南:山东科学技术出版社,2005:133-134.
- [2] MacNab I. Negative disc exploration. An analysis of the causes of nerve-root involvement in sixty-eight patients [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 1971, 53(5): 891-903.
- [3] 孙德海,纪春梅,李菁菁,等. 49 例骶髂关节诊断性注射治疗效果观察[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2010, 31(2): 233-234.
- [4] 程秀峰,谭魁麟,谭军. 骶髂关节注射皮质激素治疗脊柱关节病[J]. *颈腰痛杂志*, 2005, 26(5): 366-367.

(2014-02-06 收稿 2014-03-25 修回)