

引用:李思蒙,赵用,孔德花,马宝东,陈岩松,甘雨.苓泽合剂对痛风性关节炎模型大鼠踝关节滑膜组织中MMP-1、LP-PLA2和Col II的影响[J].中医药导报,2025,31(12):27-33.

苓泽合剂对痛风性关节炎模型大鼠踝关节滑膜组织中MMP-1、LP-PLA2和Col II的影响

李思蒙¹,赵用²,孔德花²,马宝东³,陈岩松²,甘雨²

(1.辽宁中医药大学,辽宁 沈阳 110847;

2.辽宁中医药大学附属第二医院,辽宁 沈阳 110034;

3.辽宁中医药大学附属医院,辽宁 沈阳 110032)

[摘要] 目的:探讨苓泽合剂对痛风性关节炎模型大鼠踝关节滑膜组织中MMP-1、LP-PLA2和Col II的影响。方法:将84只SPF级健康雄性SD大鼠随机分为正常组、模型组、苓泽合剂低剂量组、苓泽合剂中剂量组、苓泽合剂高剂量组、依托考昔组和痛风定组,每组12只。除正常组外其余各组均采用3%氧嗪酸钾溶液腹腔注射结合尿酸钠(MSU)关节腔注射建立GA大鼠模型,造模成功后开始药物治疗,药物剂量跟随大鼠体质量等比例加减,干预一段时间后分别于造模前及造模4 h、24 h、48 h、72 h后测量大鼠踝关节肿胀度,观察和检测各组大鼠模型踝关节滑膜组织病理学形态变化和MMP-1、LP-PLA2和II型胶原表达情况并分析其相关性。结果:与正常组比较,模型组大鼠各时间节点关节肿胀度均升高,大鼠模型关节滑膜组织中MMP-1表达升高,LP-PLA2表达升高、II型胶原表达降低,II型胶原含量明显降低($P<0.001$)。与模型组比较,苓泽合剂组能减轻大鼠关节肿胀度、降低MMP-1表达、降低LP-PLA2表达、增加II型胶原表达。结论:苓泽合剂对急性痛风性关节炎MSU结晶沉积导致的炎症反应及软骨损伤有较好的防治作用。

[关键词] 痛风性关节炎;苓泽合剂;基质金属蛋白酶-1;脂蛋白相关磷脂酶A2;II型胶原;大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2025)12-0027-07

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.12.005

Effect of Lingze Mixture (苓泽合剂) on MMP-1, LP-PLA2 and Col II in Synovium of Ankle in Gout Arthritis Model Rats

LI Simeng¹, ZHAO Yong², KONG Dehua², MA Baodong³, CHEN Yansong², GAN Yu²

(1.Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang Liaoning 110847, China; 2.The Second Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang Liaoning 110034, China; 3.Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang Liaoning 110032, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effects of Lingze mixture on MMP-1, LP-PLA2 and Col II in the synovium of ankle in rats with gouty arthritis. Methods: Totally 84 healthy male SD rats with SPF grade were randomly divided into normal group, model group, Lingze mixture low-dose group, Lingze mixture medium-dose group, Lingze mixture high-dose group, etoricoxib group and tougfengding (痛风定) group, with 12 rats in each group. With the exception of the normal group, a gouty arthritis rat model was established in all other groups via intraperitoneal injection of a 3% potassium oxonate solution combined with intra-articular injection of

*基金项目:辽宁省科学技术计划项目(2022JH2/101300047);沈阳市科学技术计划项目(24-214-3-180);第五批全国中医临床优秀人才项目(国中医药人教函[2022]1号);第一批辽宁省中医临床优秀人才项目(辽卫发[2021]7号);辽宁省间也名中医工作室建设项目2024(辽中医药综合学[2024]19号)

通信作者:赵用,女,主任中医师,研究方向为中医药防治中医内科风湿免疫疾病

monosodium urate (MSU). After successful modeling, drug treatment was started, and the drug dose was increased or decreased in proportion to the weight and mass of the rats. After intervention for a period of time, the ankle swelling degree of the rats was measured before and after 4 h, 24 h, 48 h and 72 h, respectively. The histopathological changes of ankle synovium and the expression of MMP-1, LP-PLA2 and type II collagen in each group were observed and analyzed. Results: Compared with the normal group, the joint swelling degree of rats in the model group was increased at all time points, and the expression of MMP-1 and LP-PLA2 in the synovial tissue of the rat model joints was increased, while the expression of type II collagen and serum content of type II collagen was significantly decreased ($P<0.001$). Compared with model group, Lingze mixture group could reduce joint swelling, decrease MMP-1 and LP-PLA2 expression and increase type II collagen expression. Conclusion: Lingze mixture can prevent and cure inflammation and cartilage damage in acute gouty arthritis caused by MSU crystal deposition.

[Keywords] gouty arthritis; Lingze mixture; MMP-1; LP-PLA2; type II collagen; rat

痛风性关节炎(gouty arthritis, GA)是当前最严重和最常见的风湿类疾病之一。中国痛风发病率从1990年每10万人122.522例增加到2021年151.612例;患病率从每10万人中640.679例上升至810.359例;致残指标也显著增长,且痛风在男性及中老年人中患病率更高^[1]。2050年全球痛风患者总数预计将攀升至9 580万^[2],痛风性关节炎主要是由于体内嘌呤代谢紊乱及尿酸排泄的减少使得尿酸水平的异常升高所致,长时间高饱和尿酸水平使得尿酸钠(monosodium urate, MSU)析出在关节及周围软组织中,使关节出现红、肿、热、痛等表现^[3]。目前临幊上针对痛风性关节炎的治疗主要聚焦在缓解症状方面,多使用非甾体抗炎药(NSAIDs)、非布司他、苯溴马隆、碳酸氢钠片、白细胞介素-1受体拮抗剂等来快速缓解症状^[4-5];但临幊病情易反复,且部分药物对胃肠道、皮肤、心血管及肝肾功能等会产生不同程度的不良影响。与之比较,中医药对于治疗痛风性关节炎反复急性发作所引发的炎症反应和软骨破坏在临幊上疗效颇佳^[6-7],且安全性良好、副作用较小。苓泽合剂为辽宁中医药大学附属第二医院临床应用协定方,该方治疗急性痛风性关节炎疗效显著。苓泽合剂对痛风性关节炎大鼠模型的IL-1 β 、IL-6、PGE₂和TNF- α 等炎症因子的表达有明显的抑制作用^[8-9]。本研究拟通过建造痛风性关节炎大鼠模型,在基质金属蛋白酶1(matrix metallopeptidase 1, MMP-1)、脂蛋白相关磷脂酶A2(lipoprotein-associated phospholipase A2, LP-PLA2)和II型胶原等角度,探讨明确苓泽合剂在抑制痛风性关节炎炎症级联反应及软骨治疗中的疗效,为苓泽合剂后续临床应用提供相关实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 84只SPF级雄性SD大鼠,体质量(200±20)g,购于辽宁长生生物技术股份有限公司,生产许可证号:SCXK(辽)2020-0001,动物质量合格证号:210726231102134754。饲养环境:干燥,通风,光暗周期12 h,温度20~23℃,湿度50%~60%,自由饮水和进食,适应性饲养1周。动物使用许可证号:SCXK(辽)2023-0004,本实验已通过辽宁中医药大学附属第二医院动物实验伦理委员会审批(编号:2023019;记录编号:D001-RS01)。

1.2 药物与试剂 苓泽合剂为本院协定方,其药物组成如下:

土茯苓30 g,泽泻30 g,川黄柏20 g,苍术15 g,知母25 g,当归20 g,红花15 g,黄芪15 g,白芍15 g。上述中药材均购于辽宁中医药大学附属第二医院,并由本院制剂室人员按照常规煎煮方法进行浸泡及2次煎煮,然后根据人与不同种实验动物间用药量换算结果^[10],将其分别浓缩至0.416 25 g/mL、0.832 5 g/mL和1.665 0 g/mL,将其装入专用中药汤剂包装袋中置于4℃冰箱冷藏保存备用。痛风定胶囊(四川升和药业股份有限公司,批号:Z10970025);依托考昔片(杭州默沙东制药有限公司,批号:HJ20181027);氯喹酸钾(沈阳市沈北新区卡缇瑟试剂经销部,批号:S17112—100 mg);尿酸钠(美国Sigma公司,批号:BCCF5862);II型胶原抗体(北京索莱宝科技有限公司,批号:C8150—100 mg);MMP-1抗体(艾博抗贸易有限公司,批号:b134184—100 uL);LP-PLA2抗体(美国MedChemexpress生物科技有限公司,批号:HY-145653-1 mg);10×多聚赖氨酸(批号:P2100—10 mL)、柠檬酸钠抗原修复液(×50)(批号:C1032—50 mL)、EDTA抗原修复液(荧光×50)(批号:C1034—50 mL)、1xPBS缓冲液(pH7.2~7.4)(批号:P1020—500 mL)、封闭山羊血清(原液)(批号:SLO38—100 mL)、苏木素伊红(HE)染色试剂盒(批号:G1120—3×100 mL);改良Harris苏木素染色液(免疫组化)(批号:G1150—500 mL)、DAB显色试剂盒(批号:DA1010—2×10 mL)、抗荧光衰减封片剂(含DAPI)(批号:S2110—25 mL)、胰蛋白酶-EDTA消化液(批号:T1320—100 mL)、甘油明胶封片剂(批号:S2150—10 mL)均购自北京索莱宝科技有限公司;大鼠Col II,ELISA试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,批号:ml002871)。

1.3 主要仪器 THUNDERimageDM4B型荧光显微镜(德国徕卡仪器有限公司);SMP500-14652-PNPQ型酶标仪(Soft-Max);BGZ-140型电热鼓风干燥箱(上海博讯医疗生物仪器股份有限公司);42591597型ThermoFisher高速冷冻离心机[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]。

1.4 造模与分组 将84只大鼠按照随机数字表法分为7组:正常组、模型组、苓泽合剂低剂量组、苓泽合剂中剂量组、苓泽合剂高剂量组、依托考昔组和痛风定组,各12只。适应性喂养1周后,除正常组外其余6组按照吕军等^[11-12]提出的改良痛风性关节炎造模方法进行造模,采用3%氯喹酸钾溶液1 mL/100 g

进行腹腔注射,2次/d。正常组则采用相同方式注入等体积生理盐水。连续注射1周后,收集大鼠目内眦静脉血测量血尿酸水平,验证高尿酸血症模型,待成型后并连续药物干预3 d后,开始右踝关节造模,在第4天用10%水合氯醛(0.3 mL/100 g)腹腔注射麻醉,用6号注射针在各组大鼠右侧踝关节后侧沿跟腱内侧以30°~40°方向将30uL MSU混悬液注入,正常组大鼠腹腔及右踝关节腔注入等剂量生理盐水,并分别适当涂抹红霉素软膏预防感染,造模成功后继续药物干预3 d,第7天开始取材。

1.5 实验给药 高尿酸血症造模成功后开始药物干预。依托考昔组大鼠每日灌胃剂量为5.4 mg/kg;痛风定组大鼠每日灌胃剂量为0.432 g/kg;苓泽合剂高、中、低组大鼠每天灌胃的剂量分别为16.650 0.8325 0.4.162 5 g/kg;各给药组在高尿酸血症造模和右踝关节造模成功后分别连续灌胃干预3 d。

1.6 观察指标

1.6.1 大鼠踝关节肿胀度 用游标卡尺测量法分别于造模前及造模4 h、24 h、48 h和72 h后测量各大鼠关节肿胀度。将游标卡尺的2个测量爪轻轻放置在关节两侧,测量爪要与关节表面垂直,尽量贴合关节的轮廓,避免对关节造成压迫;读取并记录此时游标卡尺的数值;然后计算关节肿胀度。肿胀度=(造模后周径-造模前周径)/造模前周径×100%。

1.6.2 大鼠模型踝关节病理形态学 造模成功后麻醉大鼠,取各组大鼠模型右侧踝关节滑膜组织置于4%甲醛溶液内固定,将病理标本通过脱钙、脱水浸蜡、包埋、切片、苏木精-伊红(HE)染色等相关处理后,将其置于光镜下观察组织病理形态学变化。

1.6.3 大鼠模型关节软骨中MMP-1、LP-LPA2和Ⅱ型胶原表达 将大鼠踝关节通过去蜡修复和磷酸盐缓冲(PBS)冲洗后采用过氧化物酶进行封闭。PBS清洗后在1%山羊血清的PBS稀释的一抗中孵育,样品用PBS清洗后室温下孵育二抗。孵育后将切片置入新鲜二氨基联苯胺(diaminobenzidine,DAB)溶液显色,采用Image J图像分析软件分析各组照片的阳性信号,观察各组MMP-1、LP-LPA2和Ⅱ型胶原表达水平。

1.6.4 血清中Ⅱ型胶原表达水平 给药结束后,在各组大鼠腹主动脉取血,于室温下静置30 min,3 500 r/min离心15 min。取上清液采用酶联免疫吸附法(ELISA)在全自动生化仪器上测定各组血清中Ⅱ型胶原的剂量。

1.7 统计学方法 实验数据用Graphpad Prism软件分析数据并绘制柱状图,计量资料符合正态分布时,以“均数±标准差”($\bar{x}\pm s$)表示,不符合则采用非参数法检验。组间数据比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行分析;多组间两两比较采用SNK-q检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

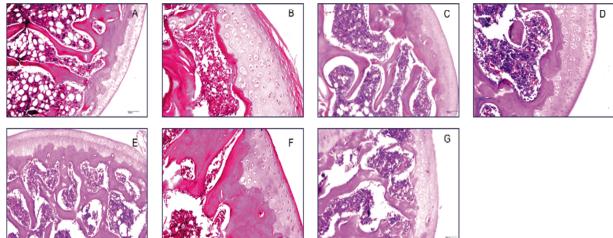
2.1 各组大鼠踝关节肿胀度比较 与正常组大鼠比较,模型组在造模4 h、24 h、48 h和72 h后踝关节肿胀度均升高($P<0.001$)。造模4 h后,与模型组大鼠比较,痛风定组、依托考昔组和苓泽合剂中剂量组踝关节肿胀度均降低,差异有统计学意义($P<0.01$);造模72 h后,痛风定组、依托考昔组和苓泽合剂高剂量组大鼠关节肿胀度均降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。(见表1)

表1 各组大鼠踝关节肿胀度比较 ($\bar{x}\pm s$, %)

组别	n	4 h	24 h	48 h	72 h
正常组	12	0.27±0.02	0.26±0.03	0.26±0.02	0.22±0.04
模型组	12	0.29±0.02 ^a	0.29±0.04 ^a	0.29±0.04 ^a	0.28±0.04 ^a
苓泽合剂低剂量组	12	0.29±0.04	0.28±0.03	0.28±0.03	0.28±0.04
苓泽合剂中剂量组	12	0.28±0.02 ^b	0.28±0.04	0.28±0.03	0.27±0.04
苓泽合剂高剂量组	12	0.29±0.02 ^a	0.28±0.05	0.27±0.03	0.26±0.02 ^c
依托考昔组	12	0.27±0.04 ^a	0.27±0.04	0.26±0.04	0.25±0.02 ^c
痛风定组	12	0.28±0.02 ^b	0.27±0.03	0.27±0.02	0.25±0.03 ^c

注:与正常组比较,^a $P<0.001$;与模型组比较,^b $P<0.01$,^c $P<0.05$ 。

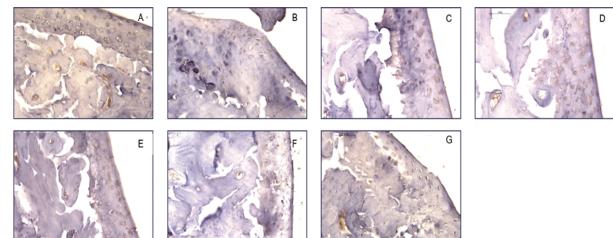
2.2 苓泽合剂对大鼠软骨组织病理变化影响 正常组大鼠可见透明软骨膜表面光滑,软骨细胞分布均匀。模型组大鼠可见透明软骨膜表面损坏、不光滑,排列紊乱、透明软骨细胞层数量增多,有的部位可见浸润的炎症细胞。依托考昔组大鼠透明软骨膜表面整体较为光滑,透明软骨细胞层数目明显增加,软骨细胞排列基本整齐,偶见少量的炎症细胞。苓泽合剂高、中、低剂量组大鼠软骨膜表面损伤均得到修复,苓泽合剂高、中剂量组和依托考昔组大鼠疗效相接近,优于痛风定组和苓泽合剂低剂量组大鼠。(见图1)



注:A.正常组;B.模型组;C.依托考昔组;D.痛风定组;E.苓泽合剂高剂量组;F.苓泽合剂中剂量组;G.苓泽合剂低剂量组。

图1 各组大鼠软骨组织病理学形态变化比较 (HE染色, $\times 20$)

2.3 免疫组化检测各组大鼠关节软骨中MMP-1、Ⅱ型胶原和LP-LPA2表达 根据图2~3的观察结果,与正常组大鼠比较,模型组滑膜组织中MMP-1的表达显著升高。进一步分析发现,依托考昔组、痛风定组及苓泽合剂低、中、高剂量组大鼠均显示出MMP-1表达水平的降低。苓泽合剂低剂量组和依托考昔组大鼠的MMP-1表达水平相较于苓泽合剂中、高剂量组有所升高。



注:A.正常组;B.模型组;C.依托考昔组;D.痛风定组;E.苓泽合剂高剂量组;F.苓泽合剂中剂量组;G.苓泽合剂低剂量组。

图2 各组大鼠 MMP-1 病理结果和表达情况比较
(免疫组化, $\times 20$)

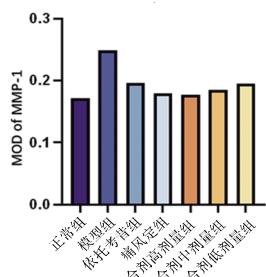
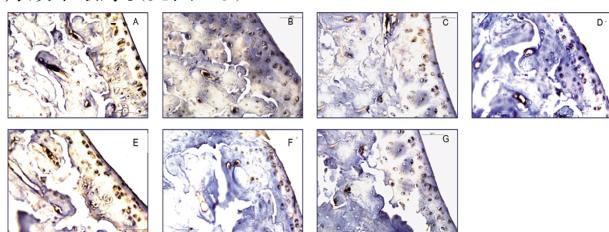


图3 免疫组化MMP-1结果柱状图

与正常组大鼠比较,模型组滑膜组织中Ⅱ型胶原表达降低,模型组大鼠的关节炎症和软骨损伤较为严重。与模型组大鼠比较,依托考昔组、痛风定组的Ⅱ型胶原表达有所升高,说明这两种药物对急性痛风性关节炎的软骨损伤有一定的治疗效果。与模型组大鼠比较,苓泽合剂高、中、低剂量组的Ⅱ型胶原表达也有所升,其中苓泽合剂高剂量组的升高为明显,苓泽合剂中剂量组次之,苓泽合剂低剂量组最低。这表明苓泽合剂对Ⅱ型胶原的表达有剂量依赖性的抑制作用,高剂量的苓泽合剂对降低痛风性关节炎造成的软骨损伤的治疗效果最好。(见图4~5)



注:A.正常组;B.模型组;C.依托考昔组;D.痛风定组;E.苓泽合剂高剂量组;F.苓泽合剂中剂量组;G.苓泽合剂低剂量组。

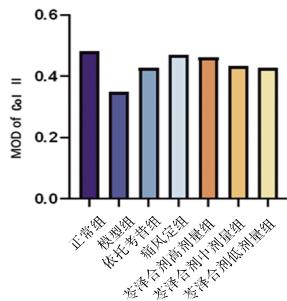
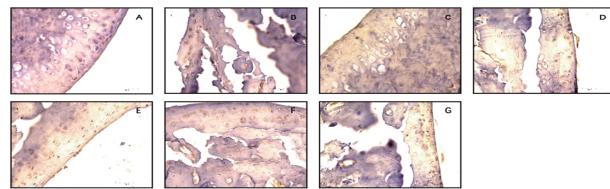
图4 各组大鼠Ⅱ型胶原病理结果和表达情况比较
(免疫组化,×20)

图5 免疫组化Ⅱ型胶原结果柱状图

正常组可见组织结构完整,细胞排列整齐,LP-PLA2的表达水平较低,免疫组化染色较浅,表明正常状态下LP-PLA2的表达水平较低。与正常组大鼠比较,模型组组织结构出现明显异常,细胞排列紊乱,LP-PLA2的表达水平显著升高,免疫组化染色较深,表明急性痛风性关节炎模型大鼠中LP-PLA2的表达水平显著增加。依托考昔组和痛风定组大鼠LP-PLA2的表达水平均降低,表明两者对LP-PLA2均有抑制作用。苓泽合剂低、中、高剂量组均能够显著抑制急性痛风性关节炎大鼠LP-PLA2的表达,且其抑制作用具有剂量依赖性,高剂量苓泽合剂的抑制效果最强,中剂量次之,低剂量也有一定的抑制作用。(见图6~7)



注:A.正常组;B.模型组;C.依托考昔组;D.痛风定组;E.苓泽合剂高剂量组;F.苓泽合剂中剂量组;G.苓泽合剂低剂量组。

图6 各组大鼠LP-PLA病理结果和表达情况比较

(免疫组化,×20)

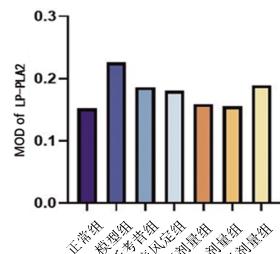
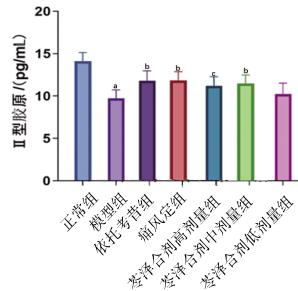


图7 免疫组化LP-PLA2结果柱状图

2.4 各组大鼠模型血清中Ⅱ型胶原表达情况 与正常组大鼠比较,模型组Ⅱ型胶原水平明显降低,差异有统计学意义($P<0.001$);与模型组大鼠比较,苓泽合剂中剂量组、依托考昔组和痛风定组均显著降低($P<0.001$),苓泽合剂高剂量组明显降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。(见图8、表2)



注:与正常组比较,^a $P<0.001$;与模型组比较,^b $P<0.001$,^c $P<0.05$ 。

图8 大鼠关节软骨中Ⅱ型胶原表达

表2 各组大鼠血清中Ⅱ型胶原表达比较 ($\bar{x}\pm s$)

分组	n	Ⅱ型胶原
正常组	12	14.11±1.04
模型组	12	9.73±1.00 ^a
苓泽合剂低剂量组	12	10.24±1.28
苓泽合剂中剂量组	12	11.60±1.01 ^b
苓泽合剂高剂量组	12	11.18±1.09 ^c
依托考昔组	12	11.81±1.16 ^b
痛风定组	12	11.82±1.05 ^b

注:与正常组比较,^a $P<0.001$;与模型组比较,^b $P<0.001$,^c $P<0.05$ 。

3 讨 论

痛风性关节炎的发病机制复杂,一般认为是因为血尿酸剂量过于饱和超出溶解度(约6.8 mg/dL)时,使得MSU结晶析出沉积,MSU晶体会触发炎症细胞反应,因此MSU晶体的存

在也被认为是诊断痛风的必要条件^[13]。当痛风急性发作时,沉积的MSU作为损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns,DAMPs)会激活先天免疫系统。当其被中性粒细胞或单核细胞等吞噬细胞所摄取后,一方面会增加细胞内钠离子剂量。为了维持细胞内渗透压平衡,水会代偿性进入细胞诱导细胞肿胀(水变性),使得细胞内钾离子外逸^[14]。K⁺外流会激活NLRP3的上游调控信号。细胞内K⁺剂量下降(通常低于90mM)会解除K⁺对NLRP3蛋白的抑制作用,从而激活NLRP3小体^[15]。K⁺外流的同时也会伴随Ca²⁺内流。Ca²⁺的大量内流会导致线粒体超载,加剧线粒体功能障碍,促进线粒体大量产生线粒体活化氧(mitochondrial reactive oxygen species, mtROS)并氧化线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA),进一步激活NF-κB和NLRP3炎症小体等多种通路^[16-18]。当NLRP3小体被激活后,NLRP3会与ASC结合,之后ASC会募集半胱天冬酶原1前体(pro-Caspase-1)形成多聚复合体,诱导pro-Caspase-1自剪切活化成为具有活性的Caspase-1,继而将无活性的白细胞介素-1β前体(pro-IL-1β)和白细胞介素-18前体(pro-IL-18)等转化为具有生物活性的IL-1β和IL-18,进一步诱导各种促炎细胞因子(如TNF-α、IL-1β、IL-6)的表达和促进炎症反应和免疫应答^[19]。另一方面MSU结晶会激活TOLL样受体4(toll-like receptor 4, TLR4),通过MyD88接头蛋白向下传递信号,激活相关激酶(IRAK1/4、IKKα/β/γ),降解核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)的抑制蛋白(IκB)释放NF-κB发生核转位,结合促炎基因启动子区,从而诱导上调NLRP3炎症小体、炎症因子TNF-α、IL-6、TNF-α和IL-1β前体的转录和表达。这些促炎细胞因子(IL-1β、IL-6、TNF-α等)的过度表达会招募中性粒细胞浸润关节腔,通过释放活性氧、蛋白酶及脂类介质(如白三烯)加剧炎症。因此MSU结晶所导致的炎症级联反应会导致沉积部位出现类似红肿热痛的症状。当中性粒细胞达到饱和时,会通过中性粒细胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs)来促进痛风炎症消退,形成“晶体沉积-先天免疫激活-炎症级联-自发缓解”的发展链条,这样反复发作最终会使急性痛风发作发展成为慢性痛风性肾病。其中软骨损伤是痛风性关节炎的早期病理改变^[20],关节软骨主要由软骨细胞以及细胞外基质构成。细胞外基质包含胶原蛋白、蛋白聚糖等重要成分,对于维持软骨的正常结构和功能起着关键作用。MSU的物理摩擦和持续的炎症微环境以及抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路会导致软骨细胞死亡及基质降解,Ⅱ型胶原的纤维结构会不断遭受破坏,使得关节软骨渐渐失去原本正常的形态与功能,变得愈发脆弱且容易受损,进而对关节的活动产生影响,促进软骨下骨侵蚀和痛风石形成,最终导致关节畸形^[21-23]。

脂蛋白相关磷脂蛋白酶A2(lipoprotein-associated phospholipase A2, LP-PLA2),别称血小板活化因子乙酰水解酶(platelet-activating factor acetylhydrolase, PAF-AH),是磷脂酶A2(phospholipase A2, PLA2)超家族中的一员。脂蛋白相关磷脂酶A2由炎症细胞分泌,可以通过水解氧化修饰低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, OX-LDL)中的氧化磷脂(oxidized phospholipids, OXPL)生成促炎物质溶血磷脂酰

胆碱(lysophosphatidylcholine, LysoPC)和氧化游离脂肪酸(oxidized free fatty acid, OX-FFA);LysoPC和OX-FFA可以激活NF-κB通路、NLRP3通路和MAPK通路趋化释放更多的炎症细胞和细胞因子,进而招募中性粒细胞,通过活化氧和蛋白酶进一步损伤组织,形成更多ox-LDL和促炎介质。这两种物质会直接刺激滑膜细胞增生和关节破坏。实验可见相较于正常组,模型组的LP-PLA2的表达显著升高,猜测LP-PLA2与痛风性关节发病时所造成的炎症反应和软骨损伤有一定相关性,以往也有实验证实存在这种相关性^[24-25]。

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是一类高度保守的蛋白水解酶,基质金属蛋白酶-1(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)属于基质金属蛋白酶族系。MMP-1在正常生物的软骨关节等组织中表达量很低,只有在受到炎症等刺激时才会出现相应的升高。MMP-1被过度激活则会导致胶原变性并遭到降解,促使机体合成新的纤维组织,即构成胶原降解的起始环节^[26-27]。Ⅱ型胶原若被降解或破坏,将直接破坏软骨^[28]。关节软骨遭受损伤后,则会破坏关节腔内相对稳定的微环境,进而继发性地催生出多种炎症因子。若同时关节腔内还出现了滑膜增厚等状况,关节腔内的微环境将会继续恶化,进而刺激关节滑膜组织产生更多炎症因子,引发滑膜炎症并加重软骨损伤,导致病情不断进展^[29]。若能降低MMP-1蛋白的含量或表达,则可缓解痛风性关节炎所造成的软骨破坏^[30-31]。相关研究发现,通过芩泽合剂进行干预的实验组不仅明显降低了痛风性关节炎模型大鼠的关节肿胀度和滑膜组织中MMP-1、LP-PLA蛋白的表达水平,而且使Ⅱ型胶原的表达水平得到了有效提高,且效果与剂量成正比例递增。这表明芩泽合剂有通过降低软骨组织中MMP-1的活性来减轻痛风性关节炎模型大鼠的炎症反应及软骨损伤的效应机制。

在中医理论体系中,鉴于痛风急性发作时期所呈现出的关节相关症状,临幊上大多把急性痛风性关节炎划分至“痹证”“历节”“白虎”等范畴内。《素问·痹论篇》指出,痹证的主要病因在于风邪、寒邪、湿邪这三种邪气相互交织侵袭人体。当它们侵入人体后,会致使经络闭阻,进而使得气血运行失去顺畅,最终导致肌肉、筋骨以及关节等部位出现疼痛症状。病机大多由于饮食不节,嗜食肥甘厚味,损伤脾胃,或情志失调,肝郁乘犯脾土,脾胃运化失常,水湿内停,蕴久化热,湿热胶结,化毒成瘀,痹阻筋肉关节而生。或为机体正虚感受六淫或内生五淫六郁^[32],表现为关节急性红肿热痛,总体属本虚标实,实责之湿热瘀毒。芩泽合剂由土茯苓、泽泻、知母、苍术、川黄柏、当归、红花、黄芪和白芍共9味中药组成。方中土茯苓和泽泻为君药,土茯苓性味甘淡平,归肝、胃经。《本草纲目·卷十八》曰:“健脾胃,强筋骨,去风湿,利关节。”有研究表明土茯苓不仅能显著降低高尿酸血症小鼠血清尿酸、肌酐和尿素氮水平,改善肾功能,还可抑制IL-1β、肿瘤坏死因子-α(tumour necrosis factor-α, TNF-α)表达,减少这类细胞因子生成,减轻其进一步产生的肾损伤炎性级联反应,起到肾保护作用^[33]。中医学认为除湿的关键在于治脾,所以可以采用健脾利湿泄浊之法。正所谓“通阳不在温,而在利小便”。泽泻可“逐三焦膀胱停水”,为“除湿之圣药”。泽泻味甘,性寒,归肾、膀胱经。

《神农本草经》载泽泻：“味甘，寒。主风寒湿痹……能行水上。”土茯苓配伍泽泻可以有清热利湿，化浊解毒，通利关节之效。知母、苍术和川黄柏共为臣药，可以清利湿热，燥湿散寒。其中知母中的知母总皂苷可有效抑制滑膜组织中炎性细胞的浸润，削弱成纤维样滑膜细胞的迁移、侵袭能力，具有明显的关节保护作用^[34]。苍术可以升高抑炎因子IL-4水平，降低促炎因子TNF-α、IL-1β、IL-6水平，以及IL-6、IL-8、TNF-α mRNA和蛋白表达^[35]。川黄柏中的黄柏碱可以降低尿酸水平、抑制炎症反应^[36]。当归和红花共为佐药，配伍可以活血通络，除瘀祛毒。当归中的苯酞二聚体能够显著抑制IL-6和TNF-α的水平，抑制iNOS和COX-2蛋白的表达，下调NF-κB、MAPK和STATs信号通路，从而发挥抗炎作用^[37]。红花中的羟基红花黄色素A(HSYA)具有抗炎作用^[38]。黄芪与白芍相伍共为使药，一温一寒，相互制约，相互调和，加强补气、养血止痛、抗炎的作用。上述药物相互配合有清利湿热，泄湿逐瘀，通痹止痛之效。

综上，模型组大鼠的软骨膜表面被损坏，且伴有不同程度炎症细胞浸润，同时血清MMP-1和LP-PLA2水平升高，可能与MSU沉积引起的滑膜炎症反应有关，并造成不同程度的软骨损伤。苓泽合剂组相较于模型组可在镜下见到软骨膜表面损伤均得到修复，且血液中MMP-1和LP-PLA2表达水平降低，软骨Ⅱ型胶原含量升高。其中苓泽合剂中、高剂量组疗效优于低剂量组。已有研究显示，苓泽合剂能显著降低血清中促炎因子IL-6和TNF-α的含量^[8-9]。

本研究为苓泽合剂后续临床应用提供相关实验依据，为痛风在临幊上诊治提供了新方向，但本研究关于其具体机制的研究并未彻底明确，相关后续有待进一步验证，需继续挖掘更多潜在的作用靶点和生物标志物，构建更为完整的分子调控网络，为深入理解其作用机制提供更丰富的数据支持。

参考文献

- [1] XIE S W, XIAO H, XU L, et al. A comprehensive analysis of trends in the burden of gout in China and globally from 1990 to 2021[J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 3310.
- [2] Global, regional, and national burden of low back pain, 1990–2020, its attributable risk factors, and projections to 2050: A systematic analysis of the Global Burden of Disease Study 2021[J]. *Lancet Rheumatol*, 2023, 5(6):e316–e329.
- [3] 刘维.痛风及高尿酸血症中西医结合诊疗指南[J].中医杂志,2023,64(1):98-106.
- [4] 中国民族卫生协会重症代谢疾病分会,高尿酸血症相关疾病诊疗多学科共识专家组.中国高尿酸血症相关疾病诊疗多学科专家共识(2023年版)[J].中国实用内科杂志,2023,43(6):461-480.
- [5] 赵尹瑜,刘懿贤,吴逢波.白细胞介素1受体拮抗剂治疗痛风急性发作有效性及安全性的Meta分析[J].中国药业,2022,31(1):110-116.
- [6] 杨军,姚金龙,梁爽,等.基于TLR4/NF-κB/NLRP3通路介导滑膜细胞焦亡探讨宣痹通络膏对急性痛风性关节炎的作用机制[J].中医药导报,2023,29(7):41-45.
- [7] 王彬,林松青,范世珍,等.加味四妙散汤剂结合解毒散外敷治疗急性痛风性关节炎60例临床观察[J].中医药导报,2021,27(1):91-94.
- [8] 赵用,马宝东,陈岩松,等.苓泽合剂对急性痛风性关节炎大鼠血IL-1β表达影响[J].辽宁中医药大学学报,2018,20(7):43-46.
- [9] 赵用,刘佳,马宝东,等.苓泽合剂对急性痛风性关节炎大鼠血清IL-6、TNF-α含量的影响[J].湖南中医药大学学报,2019,39(1):28-31.
- [10] 赵伟,孙国志.不同种实验动物间用药量换算[J].畜牧兽医科技信息,2010(5):52-53.
- [11] 吕军,方和金,吴涛.一种改进的痛风性关节炎大鼠模型制备方法[J].中国现代医学杂志,2014,24(18):17-21.
- [12] 吕军,吕芳,方和金,等.高尿酸血症并急性痛风性关节炎大鼠模型的建立[J].中国现代医学杂志,2013,23(27):11-16.
- [13] PASCUAL E, BATLLE-GUALDA E, MARTÍNEZ A, et al. Synovial fluid analysis for diagnosis of intercritical gout[J]. *Ann Intern Med*, 1999, 131(10):756-759.
- [14] SCHETT G, SCHAUER C, HOFFMANN M, et al. Why does the gout attack stop? A roadmap for the immune pathogenesis of gout[J]. *RMD Open*, 2015, 1(Suppl 1): e000046.
- [15] ZEFFERINO R, PICCOLI C, DI GIOIA S, et al. How cells communicate with each other in the tumor microenvironment: Suggestions to design novel therapeutic strategies in cancer disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(5): 2550.
- [16] WANG Y X, LI X, ZHAO F C. MCU-dependent mROS generation regulates cell metabolism and cell death modulated by the AMPK/PGC-1α/SIRT3 signaling pathway[J]. *Front Med*, 2021, 8:674986.
- [17] SRINIVASAN S, GUHA M, KASHINA A, et al. Mitochondrial dysfunction and mitochondrial dynamics—The cancer connection[J]. *Biochim Biophys Acta Bioenerg*, 2017, 1858(8):602-614.
- [18] DI MAMBRO T, PELLIELO G, AGYAPONG E D, et al. The tricky connection between extracellular vesicles and mitochondria in inflammatory-related diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(9):8181.
- [19] 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.
- [20] CHOI H K, NIU J B, NEOGI T, et al. Nocturnal risk of gout attacks[J]. Arthritis Rheumatol, 2015, 67(2):555–562.
- [21] FILIPPUCCI E, RIVEROS M G, GEORGESCU D, et al. Hyaline cartilage involvement in patients with gout and calcium pyrophosphate deposition disease. An ultrasound study[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2009, 17(2):178–181.
- [22] 邓燕晗,曾志鹏.高尿酸血症与痛风[J].家庭医学(下半月),2023,(8):10-11.
- [23] 肖璐.Sox8下调介导尿酸钠盐晶体诱导的软骨自噬性损伤[D].广州:南方医科大学,2023.
- [24] 俞冰,张剑勇,黄华,等.痛风泰颗粒对急性痛风性关节炎模型大鼠炎症因子的影响[J].中国药房,2013,24(23): 2125–2127.
- [25] 谢兴文,王春亮,徐世红,等.忍冬藤痛风颗粒对痛风性关节炎模型大鼠MMP-3和ILP-PLA2的影响[J].中国中医骨伤科杂志,2016,24(2):6–8,13.
- [26] 黄晓巍,张永和,周鸣,等.痛风安胶囊对尿酸钠痛风模型动物关节炎反应的影响[J].中华中医药学刊,2007,25(10): 2114–2115.
- [27] 管剑龙,韩星海,施桂英,等.细胞因子和药物对软骨细胞和滑膜细胞金属蛋白酶活性的调节[J].第二军医大学学报,2000,21(9):861–864.
- [28] 陈燕,张会英.骨关节炎中Ⅱ型胶原相关分子标记物研究进展[J].检验医学,2010,25(6):488–490.
- [29] LI M Z, YIN H, YAN Z N, et al. The immune microenvironment in cartilage injury and repair[J]. Acta Biomater, 2022, 140:23–42.
- [30] 姜旭淦,陈盛霞,吴亮,等.消化酶在口服Ⅱ型胶原蛋白治疗类风湿性关节炎中的作用[J].江苏大学学报(医学版), 2011, 21(2): 108–112, 116.
- [31] 赵志玲.基质金属蛋白酶及其抑制剂与类风湿性关节炎的研究进展[J].解放军药学学报,2005,21(1):54–56.
- [32] 宜娟娟,曹玉举.《伤寒杂病论》对风湿骨病诊疗理论探讨[J].中医研究,2023,36(1):13–18.
- [33] 丁瑞,洪权,耿晓东,等.土茯苓治疗小鼠高尿酸血症的机制研究[J].中国中西医结合肾病杂志,2019,20(2):97–100.
- [34] 刘攀旺.知母总皂苷抑制滑膜成纤维细胞病理性糖酵解抗RA滑膜增生的机制研究[D].成都:成都中医药大学, 2021.
- [35] 于艳,贾天柱,吴振起,等.麸炒茅苍术挥发油抗LPS诱导HCoEpiC炎症损伤的作用[J].时珍国医国药,2021,32(5): 1134–1139.
- [36] 李敏,全云云,王婷,等.川黄柏及其活性成分治疗痛风病作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2024,30(1):286–298.
- [37] 刘员,王欢欢,吕洁丽,等.当归苯酞riligustilide抑制LPS诱导的RAW 264.7细胞炎症反应及机制研究[J].中华中医药学刊,2024,42(7):140–146, 284.
- [38] 揭立士,时孝晴,刘子修,等.桃仁-红花通过抑制NF-κB信号通路改善IL-1β诱导的软骨炎症和降解[J].中药新药与临床药理,2023,34(7):936–947.

(收稿日期:2025-04-08 编辑:时格格)