

# 蜂针对佐剂性大鼠类风湿性关节炎 IL-15 影响的研究

陈莹<sup>1</sup>, 冼培凤<sup>1</sup>, 冯淑兰<sup>2</sup>, 杨路<sup>1</sup>

1. 南方医科大学, 广东 广州 510515; 2. 广州中医药大学, 广东 广州 510405

**[摘要]** 目的: 观察蜂针对佐剂性大鼠类风湿性关节炎(RA) 白细胞介素-15(IL-15) 的影响。方法: 将120只大鼠随机分为蜂针治疗组、激素治疗组、病理模型组、正常对照组, 每组各30只。正常对照组不造模, 其余3组采用 Freund 氏完全佐剂制造大鼠关节炎模型。蜂针治疗组: 取肾俞、足三里、命门、大椎穴, 用镊子轻轻捏住蜜蜂的腰部, 将其尾部对准穴位, 让其自然蛰入穴位并留针10 min。均治疗21天, 用 ELISA 法检测外周血 IL-15 水平。结果: 与正常对照组比较, 病理模型组、激素治疗组、蜂针治疗组 IL-15 水平均升高, 差异均有显著性意义 ( $P < 0.05$ ); 与病理模型组比较, 激素治疗组、蜂针治疗组 IL-15 水平明显下降, 差异均有显著性意义 ( $P < 0.05$ ); 与激素治疗组比较, 蜂针治疗组 IL-15 水平略高, 差异有显著性意义 ( $P < 0.05$ )。结论: 蜂针治疗 RA 可以有效降低 IL-15 水平, 从而有效缓解 RA 病情。

**[关键词]** 类风湿性关节炎(RA); 蜂针; IL-15; 动物模型

**[中图分类号]** R593.22; R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2014) 02-0197-03

## Effect of Bee Venom Therapy on Interleukin -15 in Rats with Adjuvant -induced Rheumatoid Arthritis

CHEN Ying, XIAN Peifeng, FENG Shulan, et al

**Abstract:** Objective: To observe the effect of bee venom therapy on interleukin-15(IL-15) in rats with adjuvant-induced rheumatoid arthritis. Methods: One hundred and twenty rats were equally randomized into bee venom group, hormone group, model group and normal group. Except the normal group, rats in the other three groups were given Freund's complete adjuvant to induce rheumatoid arthritis. Bee venom group was stung by the bees for 10 min on acupoints of Shenshu, Zusanli, Mingmen and Dazhui. After treatment, enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) was used for the detection of peripheral blood IL-15 level. Results: In comparison with normal group, IL-15 was increased in model group, bee venom group and hormone group ( $P < 0.05$ ). After treatment, IL-15 was decreased in bee venom group and hormone group ( $P < 0.05$  compared with the model group), and bee venom group had higher IL-15 than hormone group ( $P < 0.05$ ). Conclusion: Bee venom therapy is effective for the treatment of adjuvant-induced rheumatoid arthritis by decreasing IL-15 in rats.

**Keywords:** Rheumatoid arthritis; Bee venom therapy; Interleukin-15; Animal models

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性进行性的自身免疫性疾病, 以关节滑膜炎及对称性、破坏性的关节病变为主要特征, 发病率在我国约为 0.4%, 全球为 0.5%~1.0%, 且致残率高, 严

重影响学龄儿童的发育和青壮年的劳动力<sup>[1]</sup>。细胞因子参与了 RA 的整个病理过程中, 直接或间接介导 RA 炎症和组织损伤, 在 RA 的发病中具有促炎、抑炎或刺激、抑制正负反馈的免疫调控作用<sup>[2]</sup>。白细

**[收稿日期]** 2013-11-01

**[基金项目]** 广东省中医药局课题 (编号: 2010226)

**[作者简介]** 陈莹 (1985-), 女, 博士研究生, 研究方向: 针刺机理的研究。

**[通讯作者]** 杨路, E-mail: yl800526@163.com。

胞介素(IL)-15是参与RA发病过程多种炎性细胞因子中至关重要的一个,它能刺激肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、IL-6、IL-8、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)和IL-17等细胞因子的产生。同时,TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 也能刺激IL-15生成,它们组成以IL-15为中心的炎性细胞因子正反馈网络和环路,促进炎症的发展<sup>[3]</sup>。本研究主要探讨蜂针对佐剂性IL-15的影响,从而为蜂针治疗RA提供实验依据。

## 1 材料与方法

1.1 动物造模 正常Wistar大鼠120只,清洁级,雄性,体重(200±40)g,由广州中医药大学实验动物中心提供。自由饮食1周以上,随机取30只大鼠不予造模,其他大鼠均造成RA模型。采用Freund氏完全佐剂制造大鼠关节炎,于每只造模大鼠右后足跖皮内注射Freund氏完全佐剂0.05 mL致炎<sup>[4]</sup>。3天后观察大鼠右后足,肿胀明显者进入实验。

1.2 分组 动物随机分为蜂针治疗组、激素治疗组、病理模型组、正常对照组,每组各30只。蜂针治疗组大鼠造模后予蜂针治疗;激素治疗组大鼠造模后予激素治疗;病理模型组大鼠造模后不治疗;正常对照组大鼠不造模。

## 1.3 治疗方法

1.3.1 蜂针治疗组 取肾俞(Shenshu, BL23)、足三里(Zusanli, ST36)、命门(Mingmen, DU4)、大椎(Dazhui, DU14)穴。以75%酒精消毒所取的穴位,用镊子轻轻捏住蜜蜂(中华蜜蜂,由广东省昆虫研究所蜜蜂研究中心提供)的腰部,将其尾部对准穴位,让其自然蛰入穴位并留针10 min,待毒囊中的毒液全部排入大鼠穴位后,将毒刺拔除,每只活蜂只蛰1个穴位。蜂针治疗每天1次,每次1针(毒液量0.3 mg左右),每次治疗取1个穴位,以上穴位轮流交替。共治疗21天。

1.3.2 激素治疗组 每只大鼠每天腹腔注射0.2 mL醋酸氢化可的松注射液(10 mg/2 mL)。共治疗21天。

1.4 观察指标 所有治疗组大鼠经过21天的治疗后,每只大鼠眼球取血,完成后处死各组动物。用ELISA法检测所有大鼠外周血IL-15水平,试剂由Sigma公司提供。

1.5 统计学方法 数据运用SPSS13.0软件进行统计分析,实验结果以( $\bar{x} \pm s$ )表示,计量资料采用方差

分析,组间两两比较用 $t$ 检验。

## 2 结果

2.1 造模结果及脱落情况 90只造模大鼠均完成造模,进入实验研究。120只大鼠均完成实验研究,未见脱落。

2.2 4组大鼠血清IL-15水平比较 见表1。与正常对照组比较,病理模型组、激素治疗组、蜂针治疗组IL-15水平均升高,差异均有显著性意义( $P < 0.05$ );与病理模型组比较,激素治疗组、蜂针治疗组IL-15水平明显下降,差异均有显著性意义( $P < 0.05$ );与激素治疗组比较,蜂针治疗组IL-15水平略高,差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。

组别	n	IL-15
正常对照组	30	122.77 ± 14.90
病理模型组	30	378.40 ± 24.53
激素治疗组	30	219.84 ± 15.71
蜂针治疗组	30	281.43 ± 18.11

与正常对照组比较,① $P < 0.05$ ;与病理模型组比较,② $P < 0.05$ ;与激素治疗组比较,③ $P < 0.05$

## 3 讨论

RA属于中医学痹证、骨痹等范畴,是一种以慢性进行性关节病变为主的全身性自身免疫病,有较高的发病率和致残率,其发病机制至今尚未完全明了,并且尚无十分有效的治愈方法。现代医学则认为RA多与感染、遗传、免疫及细胞凋亡等相关<sup>[5]</sup>。其中免疫细胞、细胞因子及其抑制物在RA的发生发展中有重要作用。

IL-15属于促炎细胞因子,具有明显的促炎作用。动物实验证实,内皮细胞产生的IL-15能促进T细胞穿过血管内皮移向滑膜炎症部位<sup>[6]</sup>。IL-15还作为前炎性因子通过诱导其他细胞因子、黏附分子和蛋白酶的生成和(或)分泌来发挥生理与病理作用。此外,IL-15水平能反映关节破坏及滑膜增生的情况<sup>[7]</sup>,关节破坏及滑膜增生越严重,IL-15水平越高。体外实验研究表明,IL-15能诱导滑膜腔内的T细胞和滑膜巨噬细胞产生TNF- $\alpha$ <sup>[8~9]</sup>,能促进IL-17表达和诱导滑膜细胞分泌MMP-3和MMP-1<sup>[10]</sup>。在临床RA患者的血清中也得出IL-15水平与RA病情显著正相关<sup>[11]</sup>。因此,IL-15在RA发病机制中有很重要的作用。

蜂毒具有多种药理作用，直接或间接地抗炎止痛、调节免疫机能，并有类激素样的作用。中医学蜂针治疗是将蜂蜇与针灸结合在一起，通过蜂蜇对穴位的刺激，具有蜂毒和针灸的双重作用，可以活血化瘀、消肿止痛、通经活络、祛风散寒。蜂毒含有能抑制分泌性磷脂酶 A<sub>2</sub> 活性、抑制膜攻击复合物等作用的肽类(如蜂毒肽)、酶类及非肽类<sup>[12-13]</sup>，从而具有良好的抗炎作用。

本研究检测大鼠的 IL-15 水平以判断 RA 大鼠在激素治疗、蜂针治疗情况下的疗效，并以病理模型组和正常对照组作为对照，从而对比得出蜂针治疗 RA 有效的结论。根据实验结果发现，佐剂性 RA 经蜂针治疗后大鼠的 IL-15 水平较激素治疗组略高，但比病理模型组明显下降，可见蜂针治疗 RA 有效，能起到缓解病情的作用。

#### [参考文献]

- [1] 张义滨. 类风湿关节炎发病机制及其治疗方法研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2005, 21(1): 88-90.
- [2] Fournier, Catherine. Where do T cells stand in rheumatoid arthritis?[J]. Joint Bone Spine, 2005, 72(6): 527-532.
- [3] Morris JC, Janik JE, White JD, et al. Preclinical and phase I clinical trial of blockade of IL-15 using Mikβ1 monoclonal antibody in T cell large granular lymphocyte leukemia[J]. Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America, 2006, 103(2): 401-406.
- [4] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991: 305.
- [5] 宛春甫, 刘玉华, 李志华. 类风湿性关节炎的发病因素研究进展[J]. 疑难病杂志, 2005, 4(5): 317-319.
- [6] Oppenheimer-Marks N, Brezinschek RI, Mohamad-zadeh M, et al. Interleukin-15 is produced by endothelial cells and increases the transendothelial migration of T cells invitro and in the SCID mouse-human rheumatoid arthritis model in vivo [J]. J ClinInvest, 2004, 101(6): 1261-1272.
- [7] 刘洪, 廖琦, 郝亮. IL-15 在兔膝创伤性关节炎模型中的表达研究[J]. 南昌大学学报: 医学版, 2010, 50(1): 9-12.
- [8] McInnes IB, al-Mughales J, Field M, et al. The role of interleukin-15 in T cell migration and activation in rheumatoid arthritis[J]. Nat Med, 2000, 2(2): 175-182.
- [9] McInnes IB, Leung BP, Sturrock RD, et al. Interleukin-15 mediates T Cell-dependent regulation of tumor necrosis factor-alpha production in rheumatoid arthritis[J]. Nat Med, 2002, 3(2): 189-195.
- [10] Yan Wu, Lingxin Zhu, Hongxia Wei, et al. Regulation of matrix metalloproteinases, tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1, and extracellular metalloproteinase inducer by interleukin-17 in human periodontal ligament fibroblasts [J]. J Endod, 2013, 39(1): 62-67.
- [11] 张含玉. 类风湿性关节炎患者 IL-1、IL-15 的水平变化及意义[J]. 实用预防医学, 2008, 15(3): 870-871.
- [12] 邓鸣, 黄胜光. 蜂针治疗类风湿性关节炎研究进展[J]. 中国民间疗法, 2004, 12(1): 63-64.
- [13] 李万瑶. 蜂毒疗法[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2002: 2.

(责任编辑: 马力)

## 欢迎订阅 2014 年 《新中医》

无论国内还是国外，有中医的地方就有《新中医》，《新中医》摇中医之旗，宣中医之术，传中医之道，解中医之惑；《新中医》去伪存真，去粗取精，造就高手，培养名医。《新中医》坚持面向临床的办刊方针，及时展现当代中医的新观点、新思路、新成果、新技术、新方法、新经验，全心全意为广大读者服务。请新老读者到当地邮局订阅 2014 年《新中医》。《新中医》为广州中医药大学与中华中医药学会共同主办，每月 1 期，每期 160 页。刊号：ISSN0256-7415，CN44-1231/R。邮发代号：国内 46-38，国外 M186。定价：每期 18 元，全年 12 期共 216 元，地址：(510405) 广州市机场路 12 号。联系电话：020-36585482。