

## 通阳刮痧疗法对佐剂性关节炎大鼠 TNF- $\alpha$ 及 T 淋巴细胞亚群的影响\*

苏荣华<sup>1</sup>, 刘颖<sup>1</sup>, 王光义<sup>2\*\*</sup>, 吕明庄<sup>2</sup>

(1. 贵州医科大学, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学附院 针灸科, 贵州 贵阳 550004)

**[摘要]** 目的: 探讨通阳刮痧疗法对佐剂性关节炎大鼠的治疗效果及可能机制。方法: 将大鼠随机分为正常对照组、模型组、刮痧组, 采用弗氏完全佐剂建立佐剂性关节炎大鼠模型(AA), 采用足容积法检测大鼠足部肿胀度, 酶联免疫法检测肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), 流式细胞仪检测 T 淋巴细胞亚群(CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>)的比值。结果: 模型组与正常组相比, 大鼠足部肿胀明显、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值下降, TNF- $\alpha$ 含量升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 刮痧组和模型组相比, 大鼠足部肿胀减轻、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值升高, TNF- $\alpha$ 含量下降, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 结论: 通阳刮痧疗法对 AA 大鼠机体免疫功能有良性的调节作用, 其机制可能是降低血清 TNF- $\alpha$ 含量, 调整外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>的比值, 使失衡的免疫功能得到恢复。

**[关键词]** 通阳刮痧疗法; 佐剂性关节炎; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; T 淋巴细胞; 大鼠, Sprague-Dawley

**[中图分类号]** R593.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)09-0919-03

## Influence of Tong Yang Scraping Therapy on TNF- $\alpha$ , T Lymphocyte Subsets in Adjuvant Arthritis Rats

SU Ronghua<sup>1</sup>, LIU Ying<sup>1</sup>, WANG Guangyi<sup>2</sup>, LV Mingzhuang<sup>2</sup>

(1. Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. Department of Acupuncture and Moxibustion, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the therapeutic effect of Tong Yang scraping therapy on adjuvant arthritis rats and its possible mechanism. **Methods:** The adjuvant arthritis rat model (AA) was established by Freund's complete adjuvant, rats were randomly divided into normal control group, model group, scraping group. The rat foot swelling was detected by the foot volume method, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) was detected by enzyme-linked immunoassay (ELISA), and T lymphocyte subsets (CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>) ratio was detected by Flow Cytometry. **Results:** Compared with normal control group, in model group rats' feet swelled significantly, the ratio of CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> decreased significantly, and levels of TNF- $\alpha$  increased significantly ( $P < 0.05$ ). Compared with model group, in scraping group the swelling levels of rats' feet alleviated, levels of TNF- $\alpha$  were reduced, and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio increased. And the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Tong Yang scraping therapy on AA rats plays a positive regulation role in immune function. The mechanism may be that it can decrease the content of serum TNF- $\alpha$ , regulate the ratio of peripheral blood T lymphocyte subsets CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, and recover imbalanced immune function.

**[Key words]** Tong Yang scraping therapy; adjuvant arthritis; tumor necrosis factor- $\alpha$ ; T lymphocytes; rats, Sprague-Dawley

\* [基金项目] 国家中管局全国中医药名老专家传承工作室建设项目(2014)

\*\* 通信作者 E-mail: 905075205@qq.com

网络出版时间: 2015-08-07 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150807.2248.022.html>

类风湿性关节炎(Rheumatoid arthritis, RA)是一种自身免疫性疾病,它具有很高的致残率,是造成人类劳动力丧失和致残的原因之一<sup>[1]</sup>。目前RA病因病机尚不明,亦无特效治疗方法,且由于治疗RA的药物需要长期服用,都有一定副作用,故探索疗效好,副作用少的疗法,显得十分重要。“通阳刮痧疗法”属于中医经络理论的外治法,适应症广,疗效肯定,操作方便,特别对慢性疾病疗效显著<sup>[2-3]</sup>。本研究观察“通阳刮痧疗法”对佐剂性关节炎(adjutant arthritis, AA)大鼠足肿胀度、TNF- $\alpha$ 和CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>的比值的影响,探讨其对AA大鼠的治疗作用及可能机制,为临床治疗RA提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

健康SD大鼠36只,8~12周龄,体重(200±20)g,雌雄各半,由贵州医科大学实验动物中心提供。弗氏完全佐剂由美国Sigma公司生产,购于北京爱瑞生物公司(批号F6850-12ml),TNF- $\alpha$ 试剂盒购于北京永辉生物技术有限公司,流式细胞仪(美国BD公司FACSCalibur)。

### 1.2 方法

**1.2.1 造模及分组** 将36只SD大鼠适应性喂养1周后,随机抽取12只作为正常组,在右侧后足垫皮下注射0.15 mL生理盐水;余24只在右侧后肢足垫皮下注射0.15 mL弗氏完全佐剂,根据文献[4]方法造模。造模24 h后大鼠足部开始出现炎性反应肿胀,48 h反应明显,将大鼠随机分为模型组和刮痧组,每组各12只。

**1.2.2 治疗** 正常组:自由饮水进食,于固定的时间进行捉拿,不予治疗。模型组:造模后第3日进行捉拿,不予治疗。刮痧组:(1)大鼠固定俯卧位,剪去其背部毛发,在背部均匀擦上凡士林,用自制的推刮工具沿着督脉的大椎到长强推刮,12~15次,以出痧为度;(2)沿背部脊椎两侧足太阳膀胱经第一侧线上进行推刮,12~15次,以出痧为度,重点推刮相应五脏背俞穴(肝俞、脾俞、肾俞);(3)沿任脉的膻中→中脘→气海均匀缓慢推刮12~15次;刮痧疗法隔日1次,6次为1周期,共3个周期。

### 1.3 观察指标

**1.3.1 足部肿胀度检测** 于造模前1天、造模后

第3天、治疗结束时,采用自制足容积测定仪,测量大鼠足部肿胀度。

**1.3.2 T淋巴细胞亚群检测** 在末次治疗24 h后,采用腹主动脉采血法,取2~3 mL全血于ED-TAK2抗凝试管中,应用流式细胞仪测定T淋巴细胞亚群(CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>)水平。

**1.3.3 TNF- $\alpha$ 检测** 用另一试管取血2~4 mL,不抗凝,静置12~20 min后,3 500 r/min离心15 min,分离血清,血清放置-20℃。采用酶联免疫法测定TNF- $\alpha$ 的含量,按试剂盒说明操作。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 19.0统计学分析软件进行数据分析,计量资料采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,进行单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 足部肿胀度

造模前3组大鼠足部肿胀度比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ );造模后第3天,刮痧组、模型组与空白组比较足部肿胀明显,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );治疗结束后,刮痧组大鼠足部肿胀减轻,与模型组相比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 各组大鼠在不同时间内足部肿胀度比较( $\bar{x} \pm s$ , mL)

Tab.1 Comparison of rats' feet swelling levels between experimental groups

组别	<i>n</i>	造模前	造模后第3天	治疗结束后
正常组	12	1.32 ± 0.33	1.37 ± 0.67	1.35 ± 0.55
模型组	12	1.27 ± 0.51	2.77 ± 0.42 <sup>(1)</sup>	2.82 ± 0.72 <sup>(1)</sup>
刮痧组	12	1.34 ± 0.64	2.80 ± 0.75 <sup>(1)</sup>	1.91 ± 0.45 <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>与正常组比较, $P < 0.05$ ; <sup>(2)</sup>与模型组比较, $P < 0.05$

### 2.2 血清TNF- $\alpha$ 含量

末次治疗24 h后,模型组与正常组相比,血清TNF- $\alpha$ 含量升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );刮痧组与模型组比,血清TNF- $\alpha$ 含量下降,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

### 2.3 CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>

末次治疗24 h后,模型组与正常组比较,大鼠外周血中T淋巴细胞亚群CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>的比值下降,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );刮痧组与模型

组比较,大鼠外周血中 T 淋巴细胞亚群 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 的比值升高,接近正常组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 2 各组大鼠血清 TNF-α 水平 (ng/L)  
Tab. 2 Comparison of rats' serum TNF-α levels between experimental groups

组别	n	TNF-α
正常组	12	20.33 ± 5.32
模型组	12	50.73 ± 3.78 <sup>(1)</sup>
刮痧组	12	35.54 ± 4.34 <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> 与正常组比较,  $P < 0.05$ ; <sup>(2)</sup> 与模型组比较,  $P < 0.05$

表 3 各组大鼠血液 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>

Tab. 3 Comparison of rats' serum CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> levels between experimental groups

组别	n	CD4 <sup>+</sup> (%)	CD8 <sup>+</sup> (%)	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
正常组	12	49.84 ± 2.97	18.08 ± 0.60	2.76 ± 0.22
模型组	12	34.20 ± 1.96 <sup>(1)</sup>	14.78 ± 1.09 <sup>(1)</sup>	2.32 ± 0.36 <sup>(1)</sup>
刮痧组	12	58.12 ± 1.69 <sup>(2)</sup>	22.96 ± 0.36 <sup>(2)</sup>	2.53 ± 0.27 <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> 与正常组比较,  $P < 0.05$ ; <sup>(2)</sup> 与模型组比较,  $P < 0.05$

3 讨论

“通阳刮痧疗法”是在中医经络理论指导下,以调整机体功能、防治疾病为目的的外治法。通阳刮痧疗法在背部以推刮督脉和膀胱经为主,督脉主人体一身之阳气,为“阳脉之海”,两侧膀胱经上的背俞穴与人体五脏六腑紧密相连,二者在同一平面上,经气相互贯通,与脏腑之气相通,可以调节脏腑阴阳气血,为治本之法。“通阳刮痧疗法”在腹部以推刮任脉为主,膻中为宗气会聚之所,疏利上焦气机,中脘调节脾胃升降疏通中焦,气海为元气发生之处,总调下焦,振奋元气,3 穴共同调节三焦各部脏腑气机。本研究通过通阳刮痧疗法,以督脉为主,一阴一阳,一通一调,共奏调和阴阳、调理气机、调节脏腑功能,以达到治疗疾病的目的。本研究发现“通阳刮痧疗法”能有效缓解 AA 大鼠足部肿胀,减轻炎症反应,与模型组比较差异有统计学意义。

TNF-α 是单核细胞和巨噬细胞产生的炎症因子,可通过多种途径参与局部炎症的反应,促使血管翳的形成,加快关节、组织的损伤,在 RA 发病机制中有重要作用<sup>[5-6]</sup>。本研究发现,“通阳刮痧疗法”能降低 AA 大鼠血清 TNF-α 水平,起到控制机

体炎症反应的作用。

RA 属于中医痹症的范畴,是一种自身免疫性疾病。T 淋巴细胞在体内执行细胞免疫功能及免疫调节作用,根据 T 细胞表面的 CD 分化抗原及其在免疫应答中的不同功能,划分为 CD4<sup>+</sup> 细胞和 CD8<sup>+</sup> 细胞两大亚群,CD4<sup>+</sup> 细胞主要是辅助、促进 B 细胞产生抗体和活化巨噬细胞,参与增强免疫应答过程,称为辅助性 T 细胞 (TH); 而 CD8<sup>+</sup> 细胞主要具有抑制 T 细胞活化、抑制 B 细胞合成和分泌抗体等作用,参与抑制免疫应答过程,称为抑制性 T 细胞 (Ts)。这两类 T 细胞在功能上相互促进和制约,调节着免疫应答过程的进展,保持免疫系统功能上的平衡。CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 表示辅助性 T 淋巴细胞与抑制性 T 淋巴细胞之间的功能平衡状态,是机体免疫内环境稳定最重要的指标<sup>[7-8]</sup>。“通阳刮痧疗法”使 AA 大鼠外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 的比值升高至接近正常,有效调节机体免疫功能。

“通阳刮痧疗法”对 AA 大鼠机体免疫功能有良好的调节作用,其机制可能是降低血清 TNF-α 含量,调整外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 的比值,使失衡的免疫功能得到恢复。

4 参考文献

[1] 葛均波,徐永健. 内科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2013:808.

[2] 吕明庄,李丽红,王瑞,等. 通阳刮痧疗法治疗慢性疲劳综合征 57 例[J]. 世界中医药, 2008(3):91-93.

[3] 湛河琴,胡潘武. 通阳刮痧疗法对慢性疲劳大鼠行为学的干预研究[J]. 中国中医药咨询, 2011(16):496-497.

[4] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1993:9821.

[5] 丁立珉,孙万邦. 细胞因子在类风湿关节炎发病机制中作用的研究进展[J]. 中国当代医药, 2012(7):12-14.

[6] 李霞,孙健,范成明,等. 细胞因子与类风湿关节炎[J]. 大连大学学报, 2000(4):102-105.

[7] 孙庆申,蔡雪晖,童光志,等. CD4 和 CD8 分子在细胞免疫中的作用及其与 PRRSV 感染的关系[J]. 中国预防兽医学报, 2002(2):151-152.

[8] 秦林,孙蓉,吕丽丽,等. 中药寒热配伍抗炎增效与调节 T 细胞亚群紊乱的相关性研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2005(7):28-30.

(2015-05-10 收稿,2015-07-21 修回)

中文编辑:周 凌;英文编辑:刘 华