

运脾祛风除湿方对胶原诱导性关节炎模型大鼠的影响

黄琳 周东海 何志兴 王俏 温成平 章云

浙江中医药大学基础医学院 杭州 310053

摘要: [目的]探究运脾祛风除湿方对胶原诱导性关节炎(collagen induced arthritis, CIA)型大鼠模和类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)的影响。[方法]将 32 只 Wistar 大鼠随机分为空白对照组、模型组、中药组和西药组 4 组,每组 8 只。以胶原注射的方式构建 CIA 模型,中药组和西药组在初次胶原注射当天分别予运脾祛风除湿方和羟氯喹预防性灌胃治疗,通过关节评分、肿胀度、痛阈、踝关节 X 线摄片,以及血清白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、C-反应蛋白(C reactive protein, CRP)、抗环瓜氨酸肽抗体(anti-cyclic citrullinated peptide antibody, ACPA)、抗牛Ⅱ型胶原抗体水平和辅助性 T 细胞 17(T helper cells 17, Th17)/调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)比例评估各组大鼠 CIA 病情。[结果]与空白对照组比较,模型组大鼠炎症评分、关节肿胀度均显著增高,痛阈显著降低,血清中 IL-6、抗Ⅱ型胶原抗体和 CRP 的水平显著增高, Th17/Treg 细胞比例明显增加,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较,运脾祛风除湿方预防性治疗,能显著降低 CIA 大鼠的关节炎症评分,减轻关节肿胀程度及破坏程度,降低血清中 ACPA、IL-6、CRP 和抗Ⅱ型胶原抗体的水平,并且在不影响脾脏指数的情况下抑制 Th17/Treg 比例,差异均有统计学意义($P < 0.05$);羟氯喹预防性治疗对 CIA 病情的缓解效果不显著。说明运脾祛风除湿方能通过延缓 RA 发病、减轻 RA 关节炎评分发挥预防和治疗作用。[结论]运脾祛风除湿方预防性治疗可有效推迟 RA 的发生,缓解关节症状,降低炎症因子及抗体水平,维持 Th17/Treg 免疫平衡。

关键词: 胶原诱导性关节炎;运脾祛风除湿方;羟氯喹;预防性治疗;类风湿关节炎;免疫调节;抗环瓜氨酸肽抗体;炎症

中图分类号: R331 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-5509(2020)10-0929-06

DOI: 10.16466/j.issn1005-5509.2020.10.001

Effect of Yunpi Qufeng Chushi Prescription on CIA Rats HUANG Lin, ZHOU Donghai, HE Zhixing, et al School of Basic Medicine, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou(310053), China

Abstract: [Objective] To investigate the effects of Yunpi Qufeng Chushi Prescription(YQCP) on collagen-induced arthritis(CIA) rats model and rheumatoid arthritis(RA). [Methods] Thirty-two Wistar rats were randomly divided into 4 groups: Blank control group, model group, Chinese medicine group and western medicine group. Rats were immunized with bovine type II collagen to induce CIA. On the day of the first collagen injection, rats in Chinese medicine group and western medicine group were given YQCP and hydroxychloroquine prophylactic gavage, respectively. During the experiment, joint score, swelling degree, pain threshold, ankle X-ray, interleukin-6(IL-6), C reactive protein(CRP), anti-cyclic citrullinated peptide antibody(ACPA), anti-bovine type II collagen antibody levels and T helper cells 17(Th17)/regulatory T cells(Treg) ratio were detected to evaluate the condition of the rats. [Results] Compared with blank control group, model group showed significantly improved joint inflammation score and swelling, reduced pain threshold, enhanced serum level of IL-6, CRP and anti-type II collagen antibody as well as increased Th17/Treg percentage, and the differences were statistically significant($P < 0.05$). Compared with model group, the preventive treatment of YQCP could significantly reduce the joint inflammation score, swelling and destruction, reduced serum level of IL-6, CRP, ACDA and anti-type II collagen antibody and repair Th17/Treg immune balance, and the differences were statistically significant($P < 0.05$); while hydroxychloroquine preventive treatment has no significant effect on the relief of CIA. The results showed that the YQCP could play a preventive and therapeutic role by delaying RA onset and reducing RA score. [Conclusion] The preventive treatment of YQCP can effectively delay the occurrence RA, relieve joint symptoms, reduce inflammatory factors and antibody levels, and maintain Th17/Treg immune balance.

Key words: collagen-induced arthritis; Yunpi Qufeng Chushi Prescription; hydroxychloroquine; preventive treatment; rheumatoid arthritis; immune-regulation; anti-cyclic citrullinated peptide antibody; inflammation

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种难治性的风湿免疫病,临床表现以持续性滑膜炎和全身性炎症为主,伴有类风湿因子和(或)抗环瓜氨酸肽抗体(anti-cyclic citrullinated peptide antibody, ACPA)水平增高,常可累及关节外其他器官。目前,RA在我国大陆地区发病率为0.42%,其中约50%患者在发病第1年即出现骨侵蚀,并可造成终身残疾,严重影响患

者生活质量^[1]。研究认为,越早对RA患者进行药物干预,其获得临床持续缓解的概率越高^[2-4]。

目前临床上对RA患者的治疗以单用或联合使用传统抗风湿药为主,如甲氨蝶呤、羟氯喹和柳氮磺吡啶等,而现有临床指南仍缺乏针对RA早期的用药推荐。因此,寻找对RA早期有效的干预方案是目前亟需解决的临床关键问题。在RA治疗上,中医药具有早期

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFC1705500);浙江中医药大学中青年科研创新基金项目(KC201904);浙江中医药大学校级科研基金项目(2019ZR04)

Fund projects: National Key R&D Program of China(2018YFC1705500); Zhejiang Chinese Medical University Young and Middle-aged Research and Innovation Fund Project(KC201904); Zhejiang Chinese Medical University Research Fund Project(2019ZR04)

通讯作者:章云, E-mail: zhangyun@zcmu.edu.cn

干预、多靶点治疗、降低西药毒副作用等优势^[5]。运脾祛风除湿方是浙江中医药大学温成平教授治疗RA患者多年经验的总结方剂,对RA转化具有较好的预防作用。胶原诱导性关节炎(collagen induced arthritis, CIA)动物模型与RA的免疫学和病理特征高度相似,目前广泛用于RA致病机理及治疗机制的研究^[6]。本研究通过预防性给药方式研究运脾祛风除湿方水煎剂对CIA模型大鼠关节炎症、血清炎症因子、自身抗体指标及辅助性T细胞17(T helper cells 17, Th17)/调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)免疫平衡的影响,为中医药预防性治疗RA提供可靠的科学依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物 SPF级雌性Wistar大鼠32只,7~8周龄,体重130~150g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供[实验动物生产许可证号:SCXK(沪)2017-0005],饲养于浙江中医药大学实验动物中心全封闭SPF环境中[实验动物使用许可证号:SYXK(浙)2018-0012],室温25℃,相对湿度40%~60%,每日光照12h,可自由摄食和饮水。本研究经过浙江中医药大学动物伦理审查(批准标号:IACUU-20190218-01)。

1.2 主要试剂和药品 牛Ⅱ型胶原和不完全弗氏佐剂购于Chondrex公司(批号:190201、190201);大鼠白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、C反应蛋白(C reactive protein, CRP)酶联免疫吸附检测(enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA)试剂盒购于Multiscience公司(批号:A30690741、A30690741);大鼠ACPA、大鼠抗牛Ⅱ型胶原ELISA试剂盒购于Cusabio公司(批号:E13830、EQ027975);细胞活化刺激液购于Biolegend公司(批号:423304);硫酸羟氯喹片购于上海上药中西制药有限公司(批号:190169);运脾祛风除湿方饮片由浙江中医药大学中药饮片有限公司提供。

1.3 胶原乳化及CIA造模 本研究造模时参考CIA造模时普遍采用的剂量^[7-9],初次免疫注射牛Ⅱ型胶原200μg免疫,加强免疫时注射牛Ⅱ型胶原100μg免疫。

1.3.1 胶原乳化 将0.05mol·L⁻¹的醋酸溶液5mL加入10mg冻干的牛Ⅱ型胶原,轻轻混匀,4℃过夜,使用高速分散机将浓度为2mg·mL⁻¹的胶原溶液和等体积不完全弗氏佐剂混匀制成乳剂,整个乳化过程在冰浴中进行。将一滴乳剂滴入水中,以乳剂滴入水中成团不散开作为乳化充分的标准。将充分乳化的乳剂转移至预冷的1mL注射器中。

1.3.2 CIA造模 在距离大鼠尾根部4cm处平行鼠尾皮下进针,直至针尖距离尾根部2.5cm,每只大鼠注射乳剂200μL(含胶原200μg),注射后按压针孔防止乳液流出;7d后同样方法在距离尾根2cm处进针,直至针尖距离尾根部0.5cm,注射乳剂100μL(含胶原100μg)。两次均需确保1h内将胶原乳剂注射完毕。

1.4 药物制备 运脾祛风解毒除湿方水煎剂包括:苍术10g,防风6g,青风藤15g,金银花15g,虎杖15g,土茯苓20g,徐长卿12g(后下),炒薏苡仁18g,炙甘草6g,昆明山海棠15g,菟丝子15g。药材以无纺布袋装,按先后煎下顺序分开,提前以单蒸水浸泡1h。昆明山海棠先煎1h,水量没过药材,再放入其余药材同煎1h,徐长卿关火前10min加入。二煎煎煮40min,合并两次药液,浓缩至1.4g·mL⁻¹。羟氯喹混悬液制备:将羟氯喹片置于蒸馏水中制成3.6mg·mL⁻¹混悬液,每次灌胃前摇晃混匀。

1.5 分组及给药 大鼠适应性饲养1周后,按照随机数字表法随机分为4组,分别为空白对照组、模型组、中药组和西药组,每组8只。模型组、中药组和西药组行CIA造模,中药组及西药组在初次胶原注射当天(第0天)开始给药。给药剂量按成人临床用量参照《药理实验方法学》^[10]中人和大鼠体表面积折算的等效剂量比值计算得出,中药组大鼠的给药量为生药14.13g/(kg·d),羟氯喹给药量为18mg/(kg·d),各组均灌胃给药,给药体积为中药组1mL/100g,西药组为0.5mL/100g,西药组以纯净水补够体积;空白对照组及模型组按1mL/100g灌胃纯净水,1次/d,持续给药至初次免疫后第35天。

1.6 检测指标

1.6.1 关节炎症相关指标检测

1.6.1.1 关节评分 各组大鼠于造模第0、7、14、21、28、35天测体重并行关节炎症指数评分,同时检测左、右后足趾的容积。关节炎评分标准:关节正常为0分;单一趾关节炎性红肿为1分;2个及2个以上趾关节红肿,但未到达整个脚掌,或整个脚掌轻度红肿为2分;整个脚掌中度红肿为3分;整个脚掌重度红肿,或踝关节变形、僵直为4分^[11]。整个试验过程所有评分均由同一人完成。

1.6.1.2 足趾容积测量 实验者左手固定住大鼠,右手按压测量侧膝关节使其足部充分伸直,分别将双侧足踝垂直浸入盛水的容积测量仪,使液平面与跟骨末

端平齐,记录下容积测量仪读数,每侧足趾测量2遍^[12]。计算其平均足趾容积,分析足趾肿胀度。所有足趾容积测量均由同一人完成。

1.6.1.3 机械痛阈检测 采用Dixon^[13]的“up and down”法测量大鼠的机械痛阈。将实验大鼠置于带有独立隔间的塞孔5mm×5mm的机械筛网上,适应环境30min,待其安静后开始测量。用一系列标准化的Von-Frey刺激丝垂直刺激大鼠左侧后肢足底外侧皮肤,直至刺激丝出现弯曲,并保持5s,观察大鼠是否在刺激时间内或移开瞬间出现缩足反应。所用的Von-Frey刺激丝共计11根,其力度分别为1、1.4、2、4、6、8、10、15、20、25、26g。首先从10g开始,两次刺激间隔时间最少为5s,若无缩足反应,则选择更强力度的刺激丝;若出现缩足反应,则选用力度较弱一级的刺激丝,依次类推,直至找到引起缩足反应的最细刺激丝,记录1次结果,继续依次刺激5次,共记录6次结果,计算50%缩足阈值。若用26g刺激大鼠仍无缩足反应,或1g刺激大鼠即发生缩足反应,则将其痛阈记录为26g或1g。

1.6.2 血清炎症指标及自身抗体检测 实验第21天每组处死3只大鼠,第35天处死各组剩余大鼠。大鼠提前12h禁食不禁水,腹腔注射3%戊巴比妥麻醉,心脏取血后脱颈处死,血液静置2h后3 000r·min⁻¹离心15min,分离血清,-80℃保存备用。大鼠IL-6、CRP、抗Ⅱ型胶原抗体和ACPA采用ELISA试剂盒检测,具体操作参照试剂盒说明进行。

1.6.3 大鼠体重和脾脏指数 从初次免疫开始,每隔7d称取大鼠体重并记录。实验第35天,在无菌条件下分离各组大鼠脾脏,剔除脾脏结缔组织和脂肪组织,称重,并计算脾脏指数。脾脏指数=脾脏重量/体重。

1.6.4 关节影像学检测 取4%多甲醛固定的左后足,采用美国柯达公司小动物成像设备进行拍摄,参数选择fov 60mm,曝光时间10s,滤膜选择0.4mm,获取图像经自带软件Carestream Molecular Imaging Software Standand Edition V5.3.5.18701转化为X线骨密度值,调整灰度值(min=0.2,Gamma1,max=1.4)使踝关节显示清晰。造模第21天,每组随机选取3只大鼠,按上述方法取踝关节,用于X线检测。第35天测量各组剩余大鼠。

1.6.5 Th17/Treg比值检测 脾脏充分研磨,取适量细胞加入5mL流式管,每管加入细胞活化刺激液0.5μL,轻轻涡旋混匀,置于37℃培养箱活化4~6h。活

化完成后加入磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline,PBS)2mL,混匀离心后倒去上清液,剩余约100μL液体加入表面染色抗体CD4和CD25进行表面染色,单染管分别单独加入对应抗体,4℃孵育30min以上,以PBS清洗后加入1×文头框蛋白P3(forkhead box P3,Foxp3)固定液1mL,离心倒去上清液,轻轻涡旋混匀,每管加入Foxp3、IL-17A抗体,避光孵育60min;每管加入1×破膜清洗液1mL,离心倒去上清液,后加入1×破膜清洗液400μL混匀,上机分析。

1.7 统计学分析 采用GraphPad Prism 8.02统计软件进行统计学分析。组间比较采用单因素方差分析和两因素方差分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

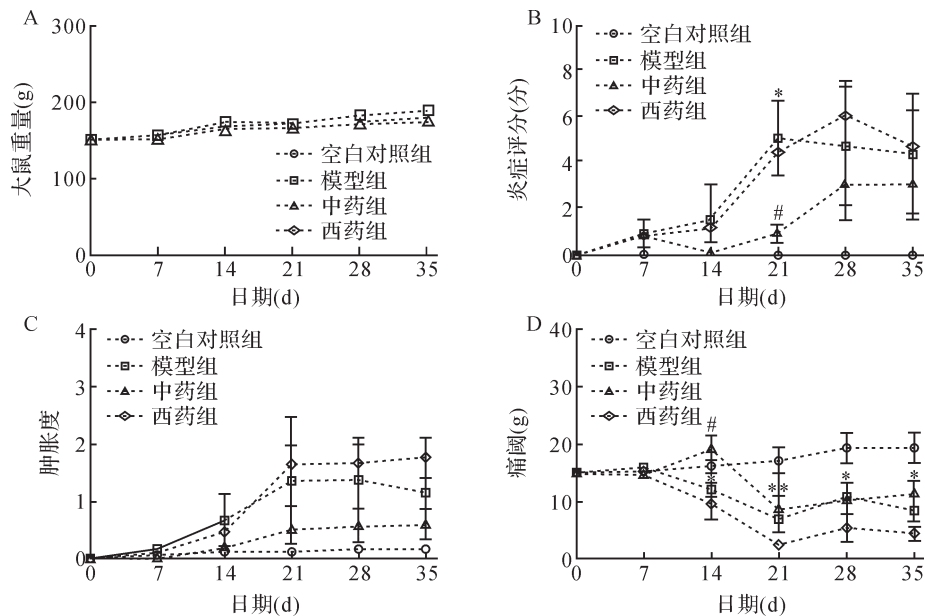
2.1 各组大鼠关节炎进程比较 CIA模型建立和给药过程中动态监测大鼠体重,提示各组大鼠体重差异无统计学意义($P>0.05$)。见图1A。

关节炎相关指标检测提示,与空白对照组比较,模型组第21天炎症评分显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,中药组第21天评分明显降低($P<0.05$),西药组上述时点评分差异无统计学意义($P>0.05$)。见图1B。说明运脾祛风除湿方能通过延缓RA发病、减轻RA关节炎评分发挥预防和治疗作用,对于阻止RA关节炎评分升高的防治效果优于羟氯喹。

关节肿胀度结果显示,西药组造模第21天以后关节肿胀度高于模型组,而中药组大鼠的平均肿胀程度始终低于西药组和模型组,但组间差异无统计学意义($P>0.05$)。见图1C。

痛阈检测发现,与空白对照组比较,造模第14天模型组痛阈值显著降低($P<0.05$);与模型组比较,中药组痛阈值显著升高($P<0.05$)。造模第21天,与空白对照组比较,模型组痛阈值降低($P<0.01$);与模型组比较,中药组痛阈值相近,差异无统计学意义($P>0.05$);造模第35天,中药组痛阈值略有回升,与模型组差异无统计学意义($P>0.05$);但仍然低于空白对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图1D。

2.2 各组大鼠影像学差异比较 空白对照组关节软骨光滑,并有明显的关节间隙。中药组第21天肉眼观察未发现明显肿胀,X线摄片也未发现明显异常。模型组与西药组则出现不同程度的组织肿胀,其中模型组肿胀程度最高。同时,模型组X线下观察出现足趾关节间隙狭窄及关节融合现象,西药组关节间隙模糊



注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$

Note: Two arrows represents the two immunization times for rats. Compared with blank control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; compared with model group, # $P<0.05$

图1 各组大鼠关节炎进程变化

Fig.1 Changes of arthritis in each group

欠清晰。至第35天,中药组大鼠关节出现轻度肿胀,X线下足趾关节间隙狭窄,但症状仍然轻于模型组和西药组。模型组与西药组肿胀程度较前减轻,但是X线下观察,模型组关节融合程度加重,关节弯曲变形,西药组则出现明显的关节破坏。见图2。

2.3 各组大鼠血清炎症及抗体水平比较 造模第35天时,与空白对照组比较,模型组ACPA水平略有升高,但差异无统计学意义($P>0.05$);而抗Ⅱ型胶原抗体、IL-6和CRP水平升高,差异有统计学意义($P<0.01$, $P<0.05$)。与模型组比较,中药组ACPA、抗Ⅱ型胶原抗体、IL-6和CRP水平降低,差异有统计学意义($P<0.01$, $P<0.05$);西药组ACPA、抗Ⅱ型胶原抗体、IL-6和CRP水平降低,其中抗Ⅱ型胶原抗体和CRP差异有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。见图3。

2.4 各组大鼠脾脏指数及Th17/Treg比值比较 与空白对照组比较,造模第35天时模型组Th17/Treg比值显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,中药组和西药组都能不同程度降低Th17/Treg比值($P<0.01$, $P<0.05$)。各组比较,脾脏指数差异无统计学意义($P>0.05$)。见图4。

3 讨论

RA在中医早期文献中并没有明确记载,根据其

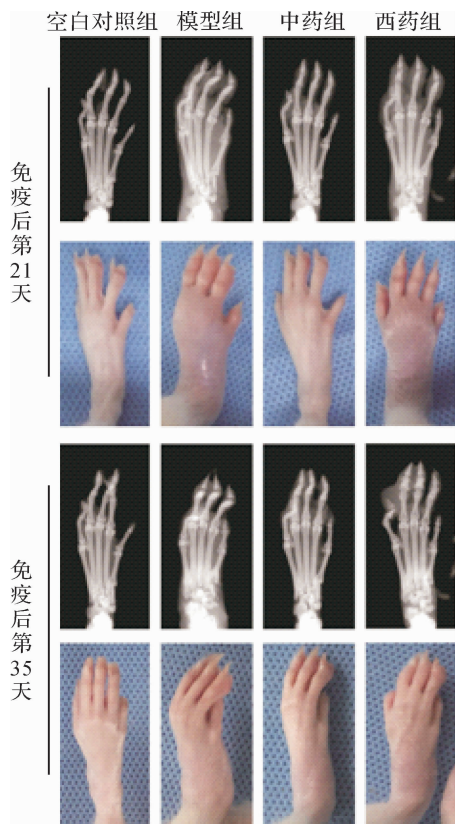
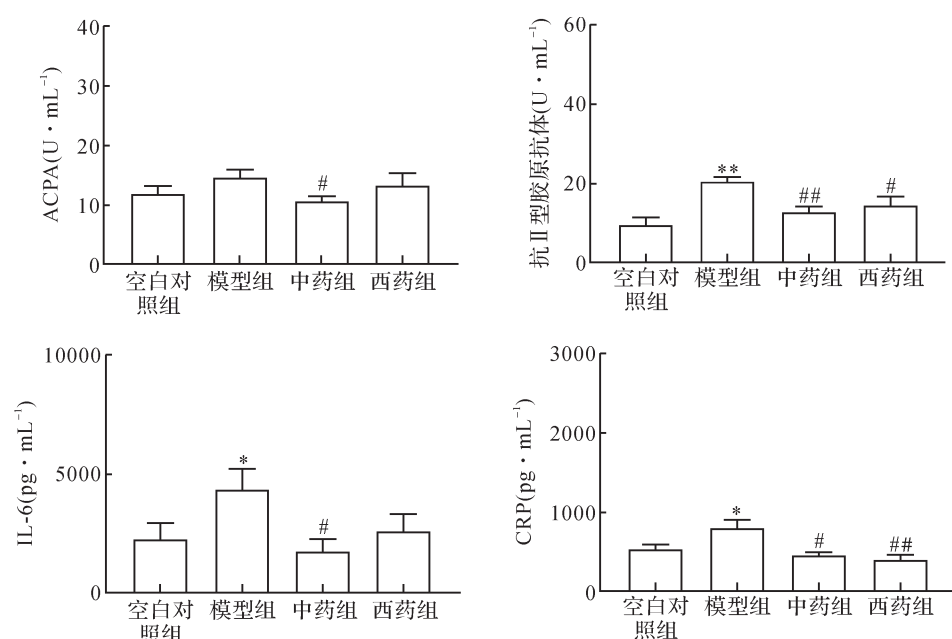


图2 各组大鼠影像学检测

Fig.2 X-ray examination in each group

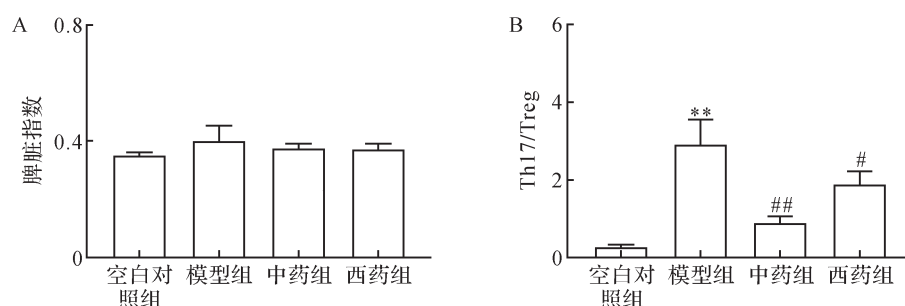


注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$

Note: Compared with blank control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; compared with model group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$

图3 各组大鼠血清炎症及RA相关抗体水平比较

Fig.3 Comparison of serum inflammation and RA relative antibody levels in each group



注:与空白对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$

Note: Compared with blank control group, ** $P<0.01$; compared with model group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$

图4 各组大鼠脾脏指数和Th17/Treg比值比较

Fig.4 Comparison of the spleen index and ratio of Th17/Treg in each group

临床表现可纳入“痹症”的范畴。迄今为止,对于RA早期尚无基于循证证据的统一治疗方案。2008年美国风湿病协会主张RA早期患者可给予羟氯喹治疗^[4],此外多项研究结果显示羟氯喹单药或可以用于RA早期的治疗^[15-16]。因此,课题组参照以上指南并咨询临床一线专家,采用羟氯喹作为RA预防性治疗的阳性对照药。

温成平教授继承国医大师何任治疗痹症的学术思想,结合现代技术手段,经过长期研究后提出,脾虚湿困是正虚邪侵的内在基础,脾虚生湿才变生出各种邪气合邪致病。水湿内生、痰瘀交阻则关节肿胀

僵硬,疼痛缠绵难愈,日久进一步损伤肾阴肾阳而造成痼疾难愈。在此基础上,温成平教授结合多年临床经验,总结出以运脾祛风除湿方为基本方治疗RA早期的中医治疗方案。运脾祛风除湿方由苍术、防风、青风藤、金银花、虎杖、土茯苓、徐长卿、炒薏苡仁、炙甘草、昆明山海棠和菟丝子组成,方中以苍术、防风健脾祛风除湿为君,青风藤、金银花、土茯苓、虎杖祛湿通络散瘀为臣,薏苡仁、徐长卿健脾祛风化湿,昆明山海棠、菟丝子祛风除湿、补益肝肾共为佐药,甘草调和诸药为使。文献报道显示,运脾祛风除湿方中的苍术、青风藤等药物可有效抗炎镇痛,土茯苓、昆

黄琳,等:运脾祛风除湿方对胶原诱导性关节炎模型大鼠的影响

明山海棠等药物具有免疫抑制的功能,常用于风湿痹症的治疗和相关研究^[17-20]。本研究结果显示,运脾祛风除湿方预防性治疗可明显延缓关节炎症发生时间,降低炎症评分及关节肿胀度,阻止大鼠关节破坏与变形。

研究发现,RA发病早期的病理学特征与活动期有所不同^[21-22],这期间滑膜液中存在瞬时性的特征性细胞因子谱^[23-24]。既往报道中羟氯喹干预关节炎症动物模型的给药时间集中在关节炎症出现之后,抗体产生之前给药对关节炎症动物模型影响的研究有限^[25]。本研究提示,运脾祛风除湿方可通过下调炎症因子(IL-6和CRP)和抗体(ACPA和Ⅱ型胶原抗体)水平,缓解关节炎症。而本研究也发现西药组大鼠关节肿胀评分、足趾容积、ACPA以及IL-6的水平均未发生明显改善,以上指标分析提示运脾祛风除湿方早期预防性用药疗效优于羟氯喹。

Th17是一类可分泌炎症细胞因子IL-17的T细胞亚群,可促进组织炎症反应,而Treg细胞是一类具有免疫抑制作用的T细胞亚群^[26]。既往研究证明,Th17/Treg细胞失衡与RA的病情严重程度密切相关^[27]。本研究结果显示,运脾祛风除湿方可显著逆转CIA模型的Th17/Treg免疫失衡,且效果优于羟氯喹,这可能是运脾祛风除湿方预防性给药有效改善RA病情的免疫学基础,但其具体作用机制需要进一步深入研究。

本研究首次通过实验研究证明,运脾祛风除湿方预防性给药可有效推迟RA关节炎的发生,缓解关节症状,降低炎症因子及抗体水平,维持Th17/Treg免疫平衡。研究结果将为运脾祛风除湿方的临床运用提供实验依据,进一步证明中医药早期干预RA进展的可行性。

参考文献:

References:

- [1] Scott D L, Wolfe F, Huizinga T W. Rheumatoid arthritis [J].Lancet,2010,376(9746):1094-1108.
- [2] 格里·S·菲尔斯坦,拉尔夫·C·巴德,雪莉·E·加布里埃尔,等.凯利风湿病学[M].9版.栗占国,译.北京:北京大学医学出版社,2015:1243-1244.
Gary S. Firestein, Ralph C. Budd, Sherine E. Gabriel, et al. Kaili Rheumatology[M].Ninth Edition.Beijing:Peking University Medical Press,2015:1243-1244.
- [3] Arnd K, Stephanie F, Jürgen R, et al.Bone loss before the clinical onset of rheumatoid arthritis in subjects with anti-

citruinated protein antibodies [J].Ann Rheum Dis,2014,73(5):854-860.

- [4] Van Steenberg H W, Van der Helm-van Mil A H. Clinical expertise and its accuracy in differentiating arthralgia patients at risk for rheumatoid arthritis from other patients presenting with joint symptoms[J].Rheumatology(Oxford),2016,55(6):1140-1141.
- [5] Huang L, Lyu Q, Xie D L, et al.Deciphering the potential pharmaceutical mechanism of Chinese traditional medicine(Guizhi-Shaoyao-Zhimu) on rheumatoid arthritis [J].Sci Rep,2016,6:1-12.
- [6] Nho J H, Lee H J, Jung H K, et al.Effect of *Saururus chinensis* leaves extract on type II collagen-induced arthritis mouse model[J].BMC Complement Med Ther,19(1):1-10.
- [7] Hsu Y, Hsieh P, Chang M. Interleukin-19 blockade attenuates collagen-induced arthritis in rats[J].Rheumatology, 2012,51(3):434-442.
- [8] Zou L, Zhang G, Liu L, et al. Relationship between PI3K pathway and angiogenesis in CIA rat synovium [J].Am J Transl Res,2016,8(7):3141-3147.
- [9] Griffiths M M. Immunogenetics of collagen-induced arthritis in rats[J].Int Rev Immunol,1988,4(1):1-15.
- [10] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2002:1861.
XU Shuyun, BIAN Rulian, CHEN Xiu. Pharmacological Experimental Methodology[M].Third Edition.Beijing:People's Health Publishing House,2002:1861.
- [11] 王娟,孙寒晓,陈光亮,等.高脂饮食减弱胶原诱导性关节炎小鼠体液免疫应答的初步研究[J].现代免疫学,2018,38(6):441-448.
WANG Juan, SUN Hanxiao, CHEN Guangliang, et al. High fat diet attenuates collagen-induced arthritis by inhibiting the humoral immune response[J].Current Immunology,2018,38(6):441-448.
- [12] 陈莹,杨路,洗培凤,等.不同蜂针剂量对佐剂性类风湿性关节炎大鼠血清TNF- α 、IL-1 β 、IL-6的影响[J].中华中医药学刊,2017,35(5):1151-1154.
CHEN Ying, YANG Lu, XIAN Peifeng, et al. Effects of different doses of bee venom therapy on TNF- α , IL-1 β and IL-6 in rats with adjuvant-induced rheumatoid arthritis [J].Chin Archives Tradit Chin Med,2017,35(5):1151-1154.
- [13] Dixon W J. The up-and-down method for small samples [J].Am Stat Assoc,1965,60(312):967-978.
- [14] Saag K G, Teng G G, Patkar N M, et al. American College of Rheumatology 2008 recommendations for the use of nonbiologic and biologic disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis[J].Arthrit Care Res,2008,59(6):762-784.
- [15] Suarez-almazor M, Belseck E, Shea B, et al. Antimalarials for treating rheumatoid arthritis[J].Cochrane Database SystRev,2000(4):CD000959.

(下转第948页)

展[J].世界最新医学信息文摘,2019,19(25):81-82.

JIA Yanmin, Gegentana. Research progress of interleukin-2 and oral mucosa-related diseases[J]. World Lat Med Inform, 2019, 19(25):81-82.

- [22] Watson J D, Morrissey P J, Namen A E, et al. Effect of IL-7 on the growth of fetal thymocytes in culture[J]. J Immunol, 1989, 143(4):1215-1222.

- [23] Jiang Q, Huang J, Li W Q, et al. Role of the intracellular domain of IL-7 receptor in T cell development[J]. J Immunol, 2007, 178(1):228-234.

- [24] Dibirdik I, Langlie M C, Ledbetter J A, et al. Engagement of interleukin-7 receptor stimulates tyrosine phosphorylation, phosphoinositide turnover, clonal proliferation of human T-lineage acute lymphoblastic leukemia cells[J]. Blood, 1991, 78(3):564-570.

- [25] Seckinger P, Fougereau M. Activation of src family kinases in human pre-B cells by IL-7[J]. J Immunol, 1994, 153(1):97-109.

(收稿日期:2020-04-12)

(上接第934页)

- [16] 国家风湿病数据中心及CSTAR专家共识组. 羟氯喹治疗风湿性疾病专家共识[J]. 中华风湿病学杂志, 2014, 18(3):148-150.

National Rheumatology Data Center and CSTAR Expert Consensus Group. Expert consensus of hydroxychloroquine in the treatment of rheumatic diseases[J]. Chin J Rheumatol, 2014, 18(3):148-150.

- [17] 陈祝锋, 张震宇. 昆明山海棠抑制大鼠同种异体肢体移植排斥反应的研究[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2019, 33(10):958-960.

CHEN Zhufeng, ZHANG Zhenyu. Role of *Tripterygium hypoglaucum* hutch in preventing acute rejection in rat limb allograft[J]. J Chin Pract Diag Ther, 2019, 33(10):958-960.

- [18] 邱伟建, 肖鹏, 吴学建. 苍术素抑制白细胞介素-1 β 诱导的人骨关节炎软骨细胞炎症[J]. 中华实验外科杂志, 2019, 36(8):1442-1444.

QIU Weijian, XIAO Peng, WU Xuejian. Atractylodesin inhibits interleukin-1 β -induced osteoarthritis of human chondrocytes[J]. Chin J Exp Surg, 2019, 36(8):1442-1444.

- [19] 吉金雨, 郭哲, 黄亚光, 等. 青藤碱抑制类风湿关节炎骨破坏机制的研究进展[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(14):2338-2341, 2346.

JI Jinyu, GUO Zhe, HUANG Yaguang, et al. The research progress of sinomenine reducing bone reconstruction in rheumatoid arthritis[J]. J Pract Med, 2019, 35(14):2338-2341, 2346.

- [20] 范九梅, 马卓. 土茯苓药理学研究概述[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(8):36-37, 57.

FAN Jiumei, MA Zhuo. Research progress of *Smilax glabra* Roxb in pharmacy[J]. J Anhui Agric Sci, 2018, 46

(8):36-37, 57.

- [21] Van Nies J, Tsonaka R, Gaujoux-viala C, et al. Evaluating relationships between symptom duration and persistence of rheumatoid arthritis: Does a window of opportunity exist? Results on the Leiden early arthritis clinic and espoir cohorts[J]. Ann Rheum Dis, 2015, 74(5):806-812.

- [22] Boers M. Understanding the window of opportunity concept in early rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2003, 48(7):1771-1774.

- [23] Raza K. Early rheumatoid arthritis is characterised by a distinct and transient synovial fluid cytokine profile of T cell and stromal cell origin[J]. Arthritis Res Ther, 2019, 21(1):226.

- [24] Raza K, Falciani F, Curnow S J, et al. Early rheumatoid arthritis is characterized by a distinct and transient synovial fluid cytokine profile of T cell and stromal cell origin[J]. Arthritis Res Ther, 2005, 7(4):784-795.

- [25] Smith R J, Sly L M. Type II collagen-induced arthritis in the diabetic-resistant biobreeding rat: Inflammatory and histopathological features of joint pathology and effects of antiinflammatory and antirheumatic drugs on this chronic arthritic process[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1996, 277(3):1801-1813.

- [26] Omenetti S, Pizarro T T. The Treg/Th17 axis: A dynamic balance regulated by the gut microbiome[J]. Front Immunol, 2015, 6:1-8.

- [27] 张莹, 周小莉. Th17/Treg平衡在类风湿关节炎发病和治疗中的意义[J]. 中国医药导报, 2015, 12(24):48-52.

ZHANG Ying, ZHOU Xiaoli. Significance of balance of Th17/Treg in the pathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis[J]. Chin Med Herald, 2015, 12(24):48-52.

(收稿日期:2020-05-18)