

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.10.002

羌活地黄汤对佐剂性关节炎大鼠作用机制研究*

唐华燕 徐星宇 张 娜 顾明珠 王不易

(上海中医药大学附属市中医医院风湿科 上海 200071)

摘要 目的:研究羌活地黄汤对佐剂性关节炎(RA)大鼠辅助性T细胞/调节性T细胞(Th17/Treg)失衡、血清基质金属蛋白酶-3(MMP-3)、基质金属蛋白酶-13(MMP-13)以及滑膜组织血管内皮生长因子(VEGF)、核因子- κ B受体活化因子配基(RANKL)mRNA表达的影响。**方法:**取40只SD级大鼠进行研究,将其以随机数字表法分为正常对照组、模型组、羌活地黄汤组以及甲氨蝶呤组,每组各10只。除正常对照组外,其余各组大鼠均建立佐剂性RA动物模型。羌活地黄汤组予以羌活地黄汤灌胃干预,甲氨蝶呤组予以甲氨蝶呤灌胃干预,正常对照组及模型组均予以等量生理盐水灌胃干预。各组均进行为期28d的干预,比较各组体重、关节炎指数及关节肿胀度、外周血Th17/Treg相关指标、血清MMP-3、MMP-13水平、滑膜组织VEGF、RANKL mRNA表达。**结果:**模型组体重低于正常对照组,羌活地黄汤组、甲氨蝶呤组关节炎指数及关节肿胀度均低于模型组,而体重高于模型组(均 $P<0.05$)。模型组、羌活地黄汤组、甲氨蝶呤组的外周血CD4+IL-17+T、Th17/Treg均高于正常对照组,而Foxp3+CD4+CD25+Treg低于正常对照组,且羌活地黄汤组、甲氨蝶呤组的外周血CD4+IL-17+T、Th17/Treg均低于模型组,而Foxp3+CD4+CD25+Treg高于模型组(均 $P<0.05$)。模型组、羌活地黄汤组、甲氨蝶呤组的血清MMP-3、MMP-13水平均高于正常对照组,而羌活地黄汤组、甲氨蝶呤组的血清MMP-3、MMP-13水平均低于模型组(均 $P<0.05$)。模型组、羌活地黄汤组、甲氨蝶呤组的滑膜组织VEGF、RANKL mRNA表达水平均高于正常对照组,而羌活地黄汤组、甲氨蝶呤组的滑膜组织VEGF、RANKL mRNA表达水平均低于模型组(均 $P<0.05$)。**结论:**羌活地黄汤可改善佐剂性RA大鼠的症状以及Th17/Treg失衡状态,且有效改善其血清MMP-3、MMP-13水平以及滑膜组织VEGF、RANKL mRNA表达。

关键词: 类风湿关节炎;羌活地黄汤;Th17/Treg;基质金属蛋白酶;VEGF;RANKL

中图分类号: R593.22; R242 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2022)10-1806-05

Study on the Mechanism of Qianghuo Dihuang Decoction on Adjuvant Rheumatoid Arthritis Rats*

TANG Hua-yan, XU Xing-yu, ZHANG Na, GU Ming-zhu, WANG Bu-yi

(Department of Rheumatism, Shanghai Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, 200071, China)

ABSTRACT Objective: To study the effects of Qianghuo Dihuang decoction on helper T cells/regulatory T cells (Th17/Treg) imbalance, serum matrix metalloproteinase-3 (MMP-3), matrix metalloproteinase-9 (MMP-13) and vascular endothelial growth factor (VEGF), receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) mRNA expression in synovium tissue of adjuvant rheumatoid arthritis (RA) rats. **Methods:** 40 SD rats were taken for study, they were randomly divided into normal control group, model group, Qianghuo Dihuang decoction group and methotrexate group by random number table, with 10 rats in each group. Except for normal control group, adjuvant RA animal model was established in other groups. The Qianghuo Dihuang decoction group was given gavage intervention of Qianghuo Dihuang decoction, methotrexate group was given gavage intervention of methotrexate, normal control group and model group were given gavage intervention of normal saline. Each group was intervened for 28 days, the body weight, arthritis index, joint swelling degree, peripheral blood Th17/Treg related indicators, serum MMP-3 and MMP-13 levels, VEGF and RANKL mRNA expressions in synovial tissues were compared among all groups. **Results:** Body weight in model group was lower than that in normal control group, arthritis index and joint swelling degree in Qianghuo Dihuang decoction group and methotrexate group were lower than those in model group, but body weight was higher than that in model group (all $P<0.05$). The peripheral blood CD4+IL-17+T and Th17/Treg in model group, Qianghuo Dihuang decoction group and methotrexate group were higher than those in normal control group, while Foxp3+CD4+CD25+Treg were lower than that in normal control group. The peripheral blood CD4+IL-17+T and Th17/Treg in Qianghuo Dihuang decoction group and methotrexate group were lower than those in model group, while Foxp3+CD4+CD25+Treg were higher than that in model group (all $P<0.05$). The serum MMP-3 and MMP-13 levels in model group, Qianghuo Dihuang decoction group and methotrexate group were all higher than those in normal control group, while the serum MMP-3 and MMP-13 levels in Qianghuo

* 基金项目:国家重点研发计划"中医药现代化研究"重点专项(2018YFC1705502)

作者简介:唐华燕(1977-),女,硕士,副主任医师,研究方向:中医风湿病学,E-mail: doctanguhayan@163.com

(收稿日期:2021-12-08 接受日期:2021-12-30)

Dihuang decoction group and methotrexate group were lower than those in model group (all $P<0.05$). The VEGF and RANKL mRNA expression levels in synovium in model group, Qianghuo Dihuang decoction group and methotrexate group were higher than those in normal control group, while the VEGF and RANKL mRNA expression levels in synovium in Qianghuo Dihuang decoction group and methotrexate group were lower than those in model group (all $P<0.05$). **Conclusion:** Qianghudihuang Decoction can improve the clinical symptoms and Th17/Treg imbalance of adjuvant RA rats, and effectively improve the levels of MMP-3 and MMP-13 in serum, as well as the expressions of VEGF and RANKL mRNA in synovial tissues.

Key words: Rheumatoid arthritis; Qianghuo Dihuang decoction; Th17/Treg; Matrix metalloproteinases; VEGF; RANKL

Chinese Library Classification(CLC): R593.22; R242 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)10-1806-05

前言

类风湿关节炎(RA)属于临床上较为常见的慢性全身性免疫性疾病之一,以对称性关节周围肿痛为主要表现,病情严重者可能出现屈伸困难^[1-3]。该病尚无特异性治疗手段,病情呈渐进性发展,极易引发残疾,进一步增加患者的身心负担,已成为国内外广大医务工作者共同关注的疾病之一^[4-6]。因此,如何有效治疗 RA 显得尤为重要,亦是目前临床研究的热点。常规西医虽可有效缓解 RA 患者临床症状,但存在长期效果不佳以及易发生不良反应等不足之处。而中医治疗具有增效减毒的作用,可提高临床治疗效果,且有效避免西药所引起的一系列不良反应,安全性更佳。我国中医学在治疗免疫性疾病方面具有效果显著、不良反应少以及价格低廉等优势,具有较高的临床研究价值^[7,8]。羌活地黄汤是我国名医沈丕安教授根据数十年的经验所创制的经验方,在治疗强直性脊柱炎等自身免疫性疾病中疗效较好^[9],但其用于 RA 基础研究的相关报道尚不多见。鉴于此,本文通过研究羌活地黄汤对佐剂性 RA 大鼠辅助性 T 细胞/调节性 T 细胞(Th17/Treg)失衡、血清基质金属蛋白酶-3(MMP-3)、基质金属蛋白酶-13(MMP-13)以及滑膜组织血管内皮生长因子(VEGF)、核因子- κ B 受体活化因子配基(RANKL)mRNA 表达的影响,旨在为该药应用于 RA 治疗中提供基础理论依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 实验动物

取 40 只 SD 级大鼠进行研究。所有大鼠均由上海中医药大学实验动物中心提供,许可证号:SCXK(沪)20200081。大鼠体重 180~220 g,平均(200 $\pm$ 20)g。所有大鼠均进行为期 7 d 的适应性饲养,饲养条件如下:温度 25℃,湿度 45%,不限制饮水、饮食以及活动。将其以随机数字表法分作正常对照组、模型组、羌活地黄汤组以及甲氨蝶呤组,每组各 10 只。

1.2 仪器、试剂和药物信息

(1)仪器:DNM-9602 型酶标仪(选用北京普朗有限公司产品);Coulter Epics-XL4 流式细胞仪(选用美国贝克曼库尔特公司产品);Moticam 3000 型成像系统(购自美国麦克奥迪公司)。实时荧光 PCR 仪(购自美国 ABI 公司);5920R 型高速冷冻离心机(购自德国 Eppendorf Centrifuge 公司);BIOSPECTROMETER 型紫外分光光度计(购自德国 Eppendorf Centrifuge 公司)。(2)药物:羌活地黄汤方药组成如下:羌活、生地黄、黄芩、金雀根以及羊蹄根各 30 g;制川乌及制关白附各 9 g;白芥子

12 g;姜黄 12 g。由上海中医药大学附属市中医医院药剂科提供。甲氨蝶呤购自上海上药信谊药厂有限公司,国药准字 H31020644,规格 2.5 mg。(3)试剂:MMP-3、MMP-13 酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒均购自深圳晶美生物科技有限公司。注射用完全氟氏佐剂(购自美国 Sigma 公司)。Trizol、逆转录试剂盒及脱氧核糖核酸(DNA)marker 均购自日本 TaKaRa 公司;Taq DNA 聚合酶(购自美国 Promega 公司)。Th17/Treg 相关指标试剂盒均购自上海时代生物科技有限公司。

1.3 研究方法

1.3.1 造模及干预 常规酒精消毒左足趾皮下注射 0.1 mL 弗氏完全佐剂生理盐水乳剂,尾根部多点皮下注射该乳剂 0.1 mL 致炎。造模后实施关节炎指数评分:无关节炎即为 0 分;小趾关节足趾肿胀即为 1 分;大部分足趾及足底肿胀即为 2 分;踝关节以下全部肿胀即为 3 分;踝关节以内全部足趾肿胀,无法负重即为 4 分。将关节炎指数评分为 4 分大鼠视作造模成功^[10]。羌活地黄汤组予以羌活地黄汤灌胃干预,给药剂量为 10 mL/d。甲氨蝶呤组予以甲氨蝶呤灌胃干预,灌胃之前将甲氨蝶呤制成溶剂,给药剂量为 0.5 mg/kg。正常对照组及模型组均予以等量生理盐水(0.05 mL)灌胃干预。各组连续干预 28 d。

1.3.2 外周血 Th17/Treg 检测 在干预 28 d 后采集大鼠右心室静脉血 2 mL,经乙二胺四乙酸抗凝,分离外周血单个核细胞,以磷酸盐缓冲液进行调整,以 $5\times 10^4/\mu\text{L}$ 为宜。取细胞悬液 100 μL ,取 CD3、CD4-FITC、CD4 以及 CD25-PE 单克隆抗体置入阳性管,同时以同型对照抗体置入阴性管。室温条件下孵育 1 h,以生理盐水进行 2 次的洗涤处理,除去上清。滴加白细胞介素(IL)-17 以及叉头样蛋白 3(FoxP3)固定液 1 mL,4℃条件下孵育 1 h。加入 2 mL 破膜液洗涤,离心处理后去除上清液(离心速率为 1700 r/min,离心时长 5 min)。加入 100 μL 破膜液、IL-17、FoxP3-藻红蛋白-花菁素荧光染料 Cy5(Foxp3-PE-Cy5)以及同型对照抗体。室温孵育 60 min,滴加 2 mL 破膜液洗涤,再以生理盐水洗涤,除去上清,借助流式细胞仪检测 CD4+IL-17+T 及 Foxp3+CD4+CD25+Treg,并计算 Th17/Treg。

1.3.3 血清 MMP-3、MMP-13 水平检测 在干预 28 d 后采集大鼠静脉血 3 mL,以 10 cm 为离心半径,实施时长为 10 min 的 3000 r/min 离心处理,获取血清以 ELISA 法完成上述指标水平检测,具体操作遵循试剂盒说明书完成。

1.3.4 关节肿胀度评价 根据注射前后差值与注射前检测值的百分比进行评分,即肿胀度=(注射后检测值-注射前检测值)/注射前检测值 $\times 100\%$ ^[10]。肿胀度评分标准如下:肿胀度 $< 5\%$ 为 0 分,5%~15%即为 1 分,16~30%即为 2 分,31~60%即

为3分,>60%即为4分。

1.3.5 滑膜组织 VEGF、RANKL mRNA 表达水平检测 在干预28d后处死大鼠,无菌剥离滑膜组织,以无菌生理盐水进行清洗,并置入DEPC处理的Eppendorf管内,保存于液氮内备用。借助Trizol试剂盒完成总RNA的提取,并进行纯度、质量的检测。随后逆转录PCR制备cDNA,以实时荧光定量PCR检测。PCR反应体系如下:10×PCR Buffer,2.5 μL;10 mM dNTP,0.5 μL;25 mM MgCl₂,1.5 μL;10 mM Prime 各0.25 μL;10mM Probe,0.25 μL;TaqDNA聚合酶,1.25U;cDNA 2 μL;加入去离子水补足25 μL。反应条件如下:94℃预变性2 min,94℃变性15 s;64℃退火35s,72℃延伸1 min,共40个循环,于64℃35 s处读取荧光。以2^{-ΔΔCt}法计算相对表达量。VEGF引物序列如下:上游5'-CACATAGGAGAGATGAGCTTC-3';下游5'-CCGCCTCGGCTTGTCACAT-3'。RANKL引物序列如下:上游5'-TC

AAGCAGGAGTGCAATCG-3';下游5'-AGAATGCCTCTCACACAGG-3'。内参物U6上游5'-GTGCGTGTCTGTGGAGTCG-3';下游5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3。

1.4 统计学处理

借助SPSS 22.0软件完成数据分析,对符合正态分布的计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,实施LSD-t检验与单因素方差分析。 $P < 0.05$ 即差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组体重、关节炎指数及关节肿胀度对比

模型组体重低于正常对照组;羌活地黄汤组、甲氨蝶呤组关节炎指数及关节肿胀度均低于模型组,而体重高于模型组(均 $P < 0.05$),见表1。

表1 各组体重、关节炎指数及关节肿胀度对比($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of body weight, arthritis index and joint swelling degree in each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Body weight(g)	Arthritis index(points)	Joint swelling degree(points)
Normal control group	10	253.12±9.25	-	-
Model group	10	230.40±7.34 [#]	3.23±0.72	1.14±0.04
Qianghuo Dihuang decoction group	10	248.23±8.91 [*]	2.51±0.36 [*]	1.05±0.02 [*]
Methotrexate group	10	248.56±8.95 [*]	2.68±0.40 [*]	1.06±0.03 [*]
F	-	8.241	7.301	6.065
P	-	0.000	0.001	0.007

Note: compared with the normal control group, [#] $P < 0.05$. Compared with the model group, ^{*} $P < 0.05$.

2.2 各组外周血 Th17/Treg 相关指标对比

模型组外周血CD4+IL-17+T、Th17/Treg均高于正常对照组,而Foxp3+CD4+CD25+Treg低于正常对照组;羌活地黄汤组、甲氨蝶呤组外周血CD4+IL-17+T、Th17/Treg均低于模型

组,而Foxp3+CD4+CD25+Treg高于模型组(均 $P < 0.05$);羌活地黄汤组与甲氨蝶呤组上述各项指标对比差异均不明显(均 $P > 0.05$),见表2。

表2 各组外周血 Th17/Treg 相关指标对比($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of peripheral blood Th17 / Treg related indicators in each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	CD4+IL-17+T(%)	Foxp3+CD4+CD25+Treg(%)	Th17/Treg
Normal control group	10	6.62±1.03	6.64±0.52	0.96±0.07
Model group	10	14.33±1.24 [#]	3.26±0.34 [#]	4.47±0.72 [#]
Qianghuo Dihuang decoction group	10	8.12±0.62 ^{**}	6.14±0.67 ^{**}	1.52±0.23 ^{**}
Methotrexate group	10	8.20±0.63 ^{**}	6.13±0.64 ^{**}	1.56±0.28 ^{**}
F	-	22.583	11.289	17.397
P	-	0.000	0.000	0.000

Note: compared with the normal control group, [#] $P < 0.05$. Compared with the model group, ^{*} $P < 0.05$.

2.3 各组血清 MMP-3、MMP-13 水平对比

模型组血清MMP-3、MMP-13水平均高于正常对照组,而羌活地黄汤组、甲氨蝶呤组的血清MMP-3、MMP-13水平均低于模型组(均 $P < 0.05$),见表3。

2.4 各组滑膜组织 VEGF、RANKL mRNA 表达对比

模型组滑膜组织VEGF、RANKL mRNA表达水平均高于

正常对照组,而羌活地黄汤组、甲氨蝶呤组的滑膜组织VEGF、RANKL mRNA表达水平均低于模型组(均 $P < 0.05$),见表4。

3 讨论

迄今为止,关于RA的发病机制尚未彻底阐明,但有研究者认为CD4⁺T细胞亚群失衡可能在RA的关节炎症浸润、滑

表 3 各组血清 MMP-3、MMP-13 水平对比 (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of serum MMP-3 and MMP-13 levels in each group (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

Groups	n	MMP-3	MMP-13
Normal control group	10	50.20±7.35	45.34±7.16
Model group	10	123.10±17.25 [#]	107.22±14.83 [#]
Qianghuo Dihuang decoction group	10	66.23±8.12 ^{*#}	63.27±10.94 ^{*#}
Methotrexate group	10	65.71±8.09 ^{*#}	64.12±10.38 ^{*#}
F	-	24.955	33.782
P	-	0.000	0.000

Note: compared with the normal control group, [#]*P*<0.05. Compared with the model group, ^{*}*P*<0.05.

表 4 各组滑膜组织 VEGF、RANKL mRNA 表达对比 ($\bar{x} \pm s$)Table 4 Comparison of VEGF and RANKL mRNA expression in synovium of each group ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	VEGF mRNA	RANKL mRNA
Normal control group	10	0.01±0.00	0.08±0.02
Model group	10	0.06±0.01 [#]	0.27±0.06 [#]
Qianghuo Dihuang decoction group	10	0.03±0.01 ^{*#}	0.14±0.03 ^{*#}
Methotrexate group	10	0.03±0.01 ^{*#}	0.15±0.04 ^{*#}
F	-	20.305	25.978
P	-	0.000	0.000

Note: compared with the normal control group, [#]*P*<0.05. Compared with the model group, ^{*}*P*<0.05.

膜增殖以及骨破坏过程中起着至关重要的作用^[11-13]。Th17 属于新型 CD4⁺T 细胞亚群,其可通过分泌 IL-17 以及 IL-21 等多种细胞因子,继而参与自身免疫性疾病,加剧炎症反应^[14-16]。Treg 细胞则是特异表达转录因子 Foxp3 之一,具有免疫负性调节功能,且以 CD4⁺ 以及 CD25⁺ 为主^[17-19]。正常生理状态下, Th17 与 Treg 始终处于动态平衡,而在病理状态下,上述平衡会被打破,继而导致患者病情的进展。由此可见,有效改善 Th17/Treg 失衡可能对 RA 的治疗具有积极促进作用。中医认为, RA 属于 "痹症" 范畴,肾乃先天之本,精血之源,五脏之伤穷必及肾,痹症早期表现为邪实,且标实之中含有本虚,先天禀赋缺失、肾精亏虚为发病根本,久痹则邪伤气血阴阳,病及脏腑。久痹病邪内舍肝肾,致使关节、筋骨失养而挛缩,其中医辨证为风寒湿热痰瘀毒七邪及肾虚^[20-22]。因此,临床治疗当以祛风散寒、祛湿清热、解毒益肾等为主要目标。羌活地黄汤药性寒热交加,温良相辅,有助于寒热温凉之平衡,针对风寒湿热度五邪以及肾阴不足均有一定的效用。

本文结果发现,羌活地黄汤可有效改善 RA 大鼠体重、关节炎指数及关节肿胀度。这在李玉梅等人的研究报道中得以佐证^[23],羌活地黄汤方中以羌活为君药;生地黄、黄芩、制川乌以及制关白附为臣药;金雀根、白芥子以及羊蹄根为佐药;姜黄为使药。药性有寒有热、有温有凉,可使寒热温凉平衡,针对导致历节痹痛的风寒湿热毒五邪及肾阴不足,亦可针对历节痹痛的瘀滞以及痰饮二邪^[24-26]。因此,该方较为全面地缓解由 RA 引发的疼痛、肿胀、滑膜炎以及乏力等症状表现,促进疾病的康复,减少疾病对体重增长的影响。此外,羌活地黄汤可改善佐剂性 RA 大鼠 Th17/Treg 失衡状态。考虑原因,现代药理学证实,羌

活含有羌活挥发油,可对动物的肿胀具有一定的抑制作用,同时可降低腹腔毛细血管通透性,减少炎症渗出^[27];生地黄则有调节机体免疫功能的作用,可有效抑制血管内皮炎症以及关节滑膜炎^[28]。MMP-3、MMP-13 均是巨噬 MMPs 家族成员,可降解细胞外基质,且有大量研究报道证实两者均和 RA 的发生、发展密切相关^[29]。而本文结果发现,羌活地黄汤可显著降低 RA 大鼠血清 MMP-3、MMP-13 水平。这提示了羌活地黄汤治疗 RA 大鼠可显著改善 MMP-3、MMP-13 表达。分析原因可能和羌活地黄汤有效抑制 MMPs 的活性以及增强其抑制因子 TIMP 水平有关。另外,模型组、羌活地黄汤组、甲氨蝶呤组的滑膜组织 VEGF、RANKL mRNA 表达水平均高于正常对照组,而羌活地黄汤组、甲氨蝶呤组的滑膜组织 VEGF、RANKL mRNA 表达水平均低于模型组。其中 VEGF 具有特异性促进血管内皮细胞增殖以及维持血管内皮细胞分化状态,增强微血管通透性细胞因子的作用,继而在 RA 的发病过程中起着至关重要的作用。而 RANKL 可通过激活核因子- κ B、丝裂原活化蛋白激酶以及磷脂酰肌醇 3 激酶 / 蛋白激酶 B 等破骨细胞信号传导通路,从而对破骨细胞分化起到调控作用,参与了 RA 的发生、发展过程^[30-32]。两者的表达水平可有效反映 RA 患者病情严重程度,其表达水平降低充分证实了羌活地黄汤治疗 RA 的有效性。

综上所述,羌活地黄汤治疗佐剂性 RA 大鼠的效果显著,可促进症状改善, Th17/Treg 平衡的恢复,其主要作用机制可能和调控 MMP-3、MMP-13 以及 VEGF、RANKL mRNA 表达有关。

参 考 文 献 (References)

- [1] Wang W, Wang X, Tang X, et al. Classifying rheumatoid arthritis by Traditional Chinese Medicine Zheng: a multi-center cross-sectional

- study[J]. J Tradit Chin Med, 2019, 39(3): 425-432
- [2] 庞春艳, 常志芳, 王馨, 等. 肽基精氨酸脱亚胺酶 4 在类风湿关节炎中的表达及意义[J]. 东南大学学报(医学版), 2021, 40(2): 158-163
- [3] Zhang L, Cao Z, Yang Y, et al. Traditional Chinese medicine on treating active rheumatoid arthritis: A protocol for systematic review and meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(24): e20642-20643
- [4] Zhang Q, Liu J, Zhang M, et al. Apoptosis Induction of Fibroblast-Like Synoviocytes Is an Important Molecular-Mechanism for Herbal, Medicine, along with its Active Components in Treating, Rheumatoid, Arthritis[J]. Biomolecules, 2019, 9(12): 795-796
- [5] Liu Z, Shen J, Shen Z, et al. The clinical efficacy of traditional Chinese medicine in the treatment of rheumatoid arthritis with interstitial lung disease: A protocol of systematic review and meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(41): e22453-22454
- [6] Lu MC, Livneh H, Chiu LM, et al. A survey of traditional Chinese medicine use among rheumatoid arthritis patients: a claims data-based cohort study[J]. Clin Rheumatol, 2019, 38(5): 1393-1400
- [7] Kong XY, Wen CP. On Research Progress of Western and Chinese Medicine Treatment on Pre-Rheumatoid Arthritis [J]. Chin J Integr Med, 2019, 25(9): 643-647
- [8] Wang K, Zhang D, Liu Y, et al. Traditional Chinese medicine formula Bi-Qi capsule alleviates rheumatoid arthritis-induced inflammation, synovial hyperplasia, and cartilage destruction in rats[J]. Arthritis Res Ther, 2018, 20(1): 43-45
- [9] 徐静雯, 何文姬, 胡燕琪, 等. 名老中医沈丕安补肾壮督法辨治强直性脊柱炎经验[J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(7): 736-739
- [10] 李培培, 解国雄, 宋珊珊, 等. 大鼠佐剂性关节炎模型表现特征及评价指标[J]. 中国免疫学杂志, 2012, 28(5): 453-457
- [11] Delavari S, Ghafourian M, Rajaei E, et al. Evaluation of CD4+/CD25+/high/CD127low/- Regulatory T Cells in Rheumatoid Arthritis Patients[J]. Iran J Immunol, 2021, 18(3): 176-180
- [12] Zhang H, Yin L, Lu M, et al. Evodiamine attenuates adjuvant-induced arthritis in rats by inhibiting synovial inflammation and restoring the Th17/Treg balance[J]. J Pharm Pharmacol, 2020, 72(6): 798-806
- [13] Li M, Yang C, Wang Y, et al. The Expression of P2X7 Receptor on Th1, Th17, and Regulatory T Cells in Patients with Systemic Lupus Erythematosus or Rheumatoid Arthritis and Its Correlations with Active Disease[J]. J Immunol, 2020, 205(7): 1752-1762
- [14] Liu J, Hong X, Lin D, et al. Artesunate influences Th17/Treg lymphocyte balance by modulating Treg apoptosis and Th17 proliferation in a murine model of rheumatoid arthritis [J]. Exp Ther Med, 2017, 13(5): 2267-2273
- [15] Dinesh P, Rasool M. Berberine mitigates IL-21/IL-21R mediated autophagic influx in fibroblast-like synoviocytes and regulates Th17/Treg imbalance in rheumatoid arthritis [J]. Apoptosis, 2019, 24(7-8): 644-661
- [16] Feng Z, Zhai Y, Zheng Z, et al. Loss of A20 in BM-MSCs regulates the, Th17/Treg balance in Rheumatoid Arthritis [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 427-428
- [17] Wen L, Jiang W, Zhou M, et al. Effect of combined application of iguratimod in the treatment of active rheumatoid arthritis on bone metabolism, Th17 cells and Treg cells [J]. Am J Transl Res, 2021, 13(3): 1676-1684
- [18] Niu HQ, Li ZH, Zhao WP, et al. Sirolimus selectively increases circulating Treg cell numbers and restores the Th17/Treg balance in rheumatoid arthritis patients with low disease activity or in DAS28 remission who previously received conventional disease-modifying anti-rheumatic drugs[J]. Clin Exp Rheumatol, 2020, 38(1): 58-66
- [19] Sun J, Li L, Li L, et al. Metallothionein-1 suppresses rheumatoid arthritis pathogenesis by shifting the Th17/Treg balance [J]. Eur J Immunol, 2018, 48(9): 1550-1562
- [20] 黄石, 段贤春, 潘凌宇, 等. 基于网络药理学探究桃红四物汤治疗类风湿性关节炎作用机制 [J]. 中国药理学通报, 2021, 37(3): 437-444
- [21] 李虹竹, 袁思, 赵家莹, 等. 针灸联合独活寄生汤治疗类风湿性关节炎的 Meta 分析[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(32): 5232-5239
- [22] 杨丽, 刘荣华, 黄四碧, 等. 类风湿性关节炎的发病机制及治疗药物研究进展[J]. 中国药房, 2021, 32(17): 2154-2159
- [23] 李玉梅, 陈永强. 羌活地黄汤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]. 中国中医骨伤科杂志, 2014, 22(2): 12-14
- [24] 卢雪花, 刘晨, 王蓉蓉, 等. 羌活对佐剂性关节炎大鼠背根神经节 P2X 受体表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(11): 2564-2567
- [25] 高欢欢, 薛志鹏, 李泰贤, 等. 治疗膝骨关节炎的中成药的组方规律分析[J]. 中国药房, 2019, 30(15): 2096-2100
- [26] 李露, 杨越, 张解玉, 等. 从“脾肾靶效应”浅论中医药治疗类风湿性关节炎的思路[J]. 世界中西医结合杂志, 2021, 16(4): 777-780
- [27] 郭培, 郎拥军. 羌活化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中成药, 2019, 41(10): 2445-2459
- [28] 黄传君, 赵方正, 张才擎. 生地黄有效成分梓醇药理作用机制研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2017, 51(2): 93-97
- [29] 谢芳, 陆庆荣, 蔡金伟, 等. 羌活地黄汤对大鼠佐剂性关节炎软骨金属蛋白酶-1、13 及基质金属蛋白酶抑制剂-1 的影响[J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(16): 3078-3080
- [30] 孙剑, 费强, 郑晓, 等. 羌活地黄汤对胶原性关节炎大鼠成纤维样滑膜细胞 IL-17 及 RANKL 表达的影响 [J]. 上海中医药大学学报, 2014, 28(2): 52-55
- [31] Chen Z, Wang H, Xia Y, et al. Therapeutic Potential of Mesenchymal Cell-Derived miRNA-150-5p-Expressing Exosomes in Rheumatoid, Arthritis, Mediated by the Modulation of MMP14 and VEGF [J]. J Immunol, 2018, 201(8): 2472-2482
- [32] Ilchovska DD, Barrow DM. An Overview of the NF- κ B mechanism of pathophysiology in rheumatoid arthritis, investigation of the NF- κ B ligand RANKL and related nutritional interventions [J]. Autoimmun Rev, 2021, 20(2): 102741-102743