

论著·基础研究

雷公藤内酯醇对类风湿关节炎大鼠 TLR4/NF- κ B 信号通路的调控作用研究*

陈颖婷¹, 何柯新², 王云秀¹, 何 敏^{1△}, 郑智明¹

(1. 广东省中医院检验科, 广东广州 510120; 2. 广州市惠爱医院检验科, 广东广州 510108)

摘要:目的 观察雷公藤内酯醇治疗类风湿关节炎(RA)大鼠的疗效,并通过 Toll-样受体 4(TLR4)/核因子 κ B(NF- κ B)信号通路探讨其作用机制。方法 将 24 只健康 SD 大鼠,随机分为空白对照组、RA 模型组、阳性药双氯芬酸组、雷公藤内酯醇组,每组 6 只。采用热杀死结核分枝杆菌诱导 RA 模型组、阳性药双氯芬酸组、雷公藤内酯醇组大鼠制作 RA 模型;造模成功后,阳性药双氯芬酸组给予 10 mg/kg 双氯芬酸灌胃,雷公藤内酯醇组大鼠给予 6 mg/kg 雷公藤内酯醇灌胃,空白对照组和 RA 模型组大鼠给予等量 0.9% 氯化钠溶液灌胃。采用 ELISA 法测定大鼠血清中炎性细胞因子[肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-4、IL-6]表达水平;评价关节炎指数及足体积。免疫组织化学法检测关节滑膜组织 TLR4、NF- κ B、p-NF- κ B 蛋白表达,q-PCR 法检测滑膜组织 TLR4 mRNA 的表达。结果 与空白对照组比较,RA 模型组血清中 TNF- α 、IL-4、IL-6 表达水平显著升高($P < 0.05$);与 RA 模型组比较,阳性药双氯芬酸组血清中 TNF- α 、IL-4、IL-6 表达水平显著下降($P < 0.05$),且雷公藤内酯醇组 TNF- α 、IL-4、IL-6 表达水平呈极显著下降($P < 0.01$)。与 RA 模型组比较,雷公藤内酯醇组在第 8、12、16、20 天时关节炎指数和足体积显著降低($P < 0.05$),阳性药双氯芬酸组在第 12、16、20 天时关节炎指数和足体积显著降低($P < 0.05$)。与空白对照组比较,RA 模型组滑膜组织中 TLR4、NF- κ B、p-NF- κ B 蛋白表达量和 TLR4 mRNA 表达量显著上调($P < 0.05$);与 RA 模型组比较,阳性药双氯芬酸组滑膜组织中 TLR4、NF- κ B 蛋白表达量和 TLR4 mRNA 表达量显著下降($P < 0.05$),雷公藤内酯醇组滑膜组织中 TLR4、NF- κ B、p-NF- κ B 蛋白表达量和 TLR4 mRNA 表达量显著下调($P < 0.05$)。结论 雷公藤内酯醇可能通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路的信号因子表达,从而降低炎性因子的产生,减少炎性反应,起到治疗 RA 的作用。

关键词:雷公藤内酯醇; 内风湿性关节炎; Toll-样受体 4/核因子 κ B 信号通路**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2019.17.002**中图法分类号:**R593.22**文章编号:**1673-4130(2019)17-2053-05**文献标识码:**A

Regulation of tripterygiumwilfordii lactone alcohol on TLR4/NF- κ B signaling pathway in rheumatoid arthritis rats*

CHEN Yingting¹, HE Kexin², WANG Yunxiu¹, HE Min^{1△}, ZHENG Zhiming¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Guangdong Province Traditional Chinese Medical Hospital, Guangzhou, Guangdong 510120, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Guangzhou Huai Hospital, Guangzhou, Guangdong 510108, China)

Abstract:Objective To observe the therapeutic effect of tripterygiumwilfordii lactone alcohol on rheumatoid arthritis (RA) rats, and explore its mechanism through Toll-like receptor 4 (TLR4)/nuclear factor κ B (NF- κ B) signaling pathway. **Methods** Twenty-four healthy SD rats were randomly divided into blank control group, RA model group, positive drug diclofenac group and tripterygiumwilfordii lactone alcohol group with 6 rats in each group. Rats in RA model group, positive drug diclofenac group and tripterygiumwilfordii lactone alcohol group were induced by heat killing Mycobacterium tuberculosis to make RA model. After successful modeling, positive drug diclofenac group was given 10 mg/kg diclofenac acid by gavage, and tripterygiumwilfordii lactone alcohol group was given 6 mg/kg tripterygiumwilfordii lactone alcohol by gavage, rats in blank

* 基金项目:广东省中医药局科研项目(20161082);广东省科技计划项目(2014A020212502)。

作者简介:陈颖婷,女,主管技师,主要从事临床基础生化检验研究。 △ 通信作者, E-mail:13570381886@163.com。

本文引用格式:陈颖婷,何柯新,王云秀,等.雷公藤内酯醇对类风湿关节炎大鼠 TLR4/NF- κ B 信号通路的调控作用研究[J].国际检验医学杂志,2019,40(17):2053-2057.

control group and RA model group were given the same amount of 0.9% sodium chloride solution by gavage. The levels of inflammatory cytokines (TNF- α , IL-4 and IL-6) in serum of rats were determined by ELISA, and the arthritis index and foot volume were evaluated. The expression of TLR4, NF- κ B and p-NF- κ B in synovial tissue was detected by immunohistochemistry and the expression of TLR4 in synovial tissue was detected by q-PCR. **Results** Compared with the blank control group, the serum levels of TNF- α , IL-4 and IL-6 in RA model group were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with RA model group, the expression levels of TNF- α , IL-4 and IL-6 in serum of diclofenac group decreased significantly ($P < 0.05$), and the expression levels of TNF- α , IL-4 and IL-6 in tripterygiumwilfordii lactone alcohol group decreased significantly ($P < 0.01$). Compared with RA model group, the arthritis index and foot volume of tripterygiumwilfordii lactone alcohol group decreased significantly on the 8th, 12th, 16th and 20th day ($P < 0.05$), while the arthritis index and foot volume of positive drug diclofenac group decreased significantly on the 12th, 16th and 20th day ($P < 0.05$). Compared with the blank control group, the expression of TLR4, NF- κ B, p-NF- κ B protein and TLR4 mRNA in the synovial tissue of the RA model group were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with RA model group, the expression of TLR4, NF- κ B protein and TLR4 mRNA in synovial tissue of positive drug diclofenac group decreased significantly ($P < 0.05$), while the expression of TLR4, NF- κ B, p-NF- κ B protein and TLR4 mRNA in tripterygiumwilfordii lactone alcohol group decreased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion** Tripterygiumwilfordii lactone alcohol may play a role in the treatment of RA by inhibiting the expression of signal factors in TLR4/NF- κ B signaling pathway, thereby reducing the production of inflammatory factors and inflammatory response.

Key words: tripterygiumwilfordii lactone alcohol; rheumatoid arthritis; TLR4/NF- κ B

类风湿性关节(RA)在临幊上未能明确其发病机制,但是作为全身性、慢性、涉及身体免疫功能的疾病,具有高风险致残率,严重威胁现代人的生活。RA易引起侵袭性、对称性、小关节多关节炎症的发生,临幊表现多样复杂^[1-2]。西药多采用非甾体抗炎药、改善病情的抗风湿药、糖皮质激素和生物药物进行治疗,治疗期间需要长期坚持并与其他药物联合使用,由于RA病情的复杂性,导致用药时需要多方位联合用药,较为麻烦,很难长期坚持,不利于患者的病情发展^[3-4]。中医遵循辨证论治,从多角度治疗RA,认为RA的发生与正气、营卫及风寒湿三者相关,多采用扶正祛邪、活血养阴、祛风除湿等中药进行治疗。雷公藤是在临幊上对RA具有肯定疗效的中药,具有祛风除湿、通络止痛、消肿止痛、解毒杀虫等功效,其中的有效成分环氧二萜内酯化合物——雷公藤内酯醇,实验证实其具有抗炎和免疫抑制的作用,但关于其治疗机制的研究仍需深入研究^[5-6]。本研究通过Toll样受体4(TLR4)/核因子 κ B(NF- κ B)信号通路和炎症表现为切入点,观察雷公藤内酯醇的药效,并探索其具体作用基础。

1 材料与方法

1.1 材料 实验动物 SPF 级 SD 大鼠, 体质量(200±10)g, 购自广州中医药大学试验动物中心, 合格证号: SYXK(粤)2013-0001。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器 酶标仪购自美国 Bio-Rad 公司, 显微镜购自日本 Olympus 公司, LDZ5-2 型离心机购自北京离心机厂, RM2015 型切片机购自德国 Leica 公司, 多功能真彩色细胞图象分析管理系统购自美国 Media Cybernetics 公司。

1.2.2 试剂 雷公藤内酯醇购自中国药品生物制品鉴定所, 双氯芬酸钠肠溶片(批准文号 H11021540)购自北京诺华制药有限公司, 二甲基亚砜(DMSO)购自 Sigma 公司, 热杀死结核分枝杆菌购自 Difco 实验室。大鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-4、IL-6 ELISA 法检测试剂盒购自深圳宝安康生物公司。TLR-4 抗体(批号: dw253469)、NF- κ B(p65)抗体(批号: dw016352)、p-NF- κ B(p65)抗体(批号: ap160988)均购自 Abcam 公司。Trizol(批号: 122041)购自 Invitrogen 公司。Prime ScriptTM RT reagent Kit with gDNA Eraser(批号: AK3711)、SYBR Premix Ex TaqTM(批号: AKA2451)均购自 Takara 公司。

1.3 方法

1.3.1 动物分组 24 只 SD 大鼠适应性喂养 7 d 后, 保持 25 ℃室温和 75% 湿度, 将动物随机分成空白对照组、RA 模型组、阳性药双氯芬酸组、雷公藤内酯醇组, 每组 6 只。

1.3.2 RA 大鼠模型制作 RA 模型组、阳性药双氯芬酸组、雷公藤内酯醇组大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛全身麻醉后, 固定到手术台上, 呈现仰卧位, 固定头部

及四肢。在已消毒的大鼠尾根部皮下注射 0.2 mL 热杀死结核分枝杆菌(5 mg/mL),然后用消毒棉球压住注射部位,防止药物渗出和止血。注射位置不渗液后,松开固定的绳子和板,放于笼中让其自然苏醒和自由活动。

1.3.3 给药 造模成功后,阳性药双氯芬酸组大鼠给予双氯芬酸(10 mg/kg)灌胃,每日1次;雷公藤内酯醇组大鼠给予雷公藤内酯醇(6 mg/kg)灌胃,每日1次;空白对照组和 RA 模型组大鼠给予等量 0.9% 生理盐水灌胃,每日1次,共给药3周。

1.3.4 炎性细胞因子表达水平检测 灌胃3周后,乙醚轻麻醉大鼠,取各组大鼠眼底静脉丛血浆 1 mL,通过低温高速离心机设定 4 °C, 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液。按照大鼠 TNF-α、IL-4、IL-6 ELISA 试剂盒的说明书操作,于酶标仪测定 450 nm 波长处吸光度(A)值。以标准品浓度的对数为横坐标、测定的 A 值为纵坐标绘制标准曲线,公式计算血清 TNF-α、IL-4、IL-6 表达水平。

1.3.5 关节炎指数和足体积测量 利用四肢的病变程度累积计分,计算出关节炎指数。若无红肿,得 0 分;小趾关节轻度红肿,得 1 分;小趾关节和足跖肿胀,得 2 分;踝关节以下的趾甲肿胀,得 3 分;包括踝关节在内的全部趾甲、关节肿胀,得 4 分。每 4 天评价 1 次,共观察 20 d。用足趾容积测量仪测量大鼠的足体积,每 4 天测量 1 次。共观察 20 d。

1.3.6 TLR4、NF-κB、p-NF-κB 免疫组织化学检测 取各组大鼠受试部位膝关节滑膜组织,进行固定切片,切片进行脱蜡、入水、热修复抗原后,冷却至 25 °C 室温,PBS 洗涤 3 次,加入封闭液,室温放置 20 min 后,先后滴加一抗(稀释比例为 1:100)和二抗生物素化(IgG),并在切片上依次加入辣根酶标记链霉卵白素工作液(S-A/HRP)、DAB 显色、苏木素轻度复染,并进行脱水、透明、封片,运用图象分析管理系统分析,计算出平均 A 值。

1.3.7 受试关节滑膜组织 TLR4 mRNA 检测 取各组大鼠关节滑膜组织各 100 mg,通过 Trizol 试剂盒提取总 RNA,经核酸蛋白检测仪确认无污染,逆转录,采用 TakaRa 公司的 Prime Script™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒及 SYBR Premix Ex

Taq™ 合成模板 cDNA 和扩增目的基因 cDNA 片段,TLR4 上游引物 5'-CTC ACA AAC TCA GTG GCT GGA TTT A, 下游引物 3'-GTC TGG TCC CAC CAG ATT CTC, 179 bp; GAPDH 上游引物 5'-GAC ATG AAT GGC ATC GTG GA, 下游引物 3'-ATG CAG GGA TGA ACA ACT GG, 142 bp。扩增结束后以 GAPDH 为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式计算目的基因的相对表达量。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组数据比较采用单因素方差分析,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 血清炎性细胞因子表达水平比较 与空白对照组相比,RA 模型组血清中 TNF-α、IL-4、IL-6 表达水平显著升高($P < 0.01$);与 RA 模型组比较,阳性药双氯芬酸组血清中 TNF-α、IL-4、IL-6 表达水平下降($P < 0.05$),且雷公藤内酯醇组 TNF-α、IL-6 表达水平显著下降($P < 0.01$)。见表 1。

2.2 大鼠关节炎指数和足体积比较 造模后,大鼠关节出现肿胀和组织浸润,形成高透明度。与 RA 模型组比较,雷公藤内酯醇组在第 8、12、16、20 天时关节炎指数和足体积降低($P < 0.05$),阳性药双氯芬酸组在第 12、16、20 d 时关节炎指数和足体积降低($P < 0.05$)。见表 2、3。

2.3 各组 TLR4、NF-κB、p-NF-κB 免疫组织化学检测结果比较 与空白对照组比较,RA 模型组 TLR4、NF-κB、p-NF-κB 蛋白表达量升高($P < 0.05$)。与 RA 模型组比较,阳性药双氯芬酸组滑膜组织中 TLR4、NF-κB 蛋白表达量下降($P < 0.05$),雷公藤内酯醇组膜组织中 TLR4、NF-κB、p-NF-κB 蛋白表达量显著下调($P < 0.05$)。见表 4。

表 1 各组炎性细胞因子表达水平结果比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	TNF-α(pg/mL)	IL-4(pg/mL)	IL-6(pg/mL)
空白对照组	32.11±1.01	30.12±2.01	48.99±2.38
RA 模型组	343.52±10.98* *	503.22±21.31* *	452.68±25.66* *
阳性药双氯芬酸组	232.79±13.76#	383.75±15.21#	376.94±32.78#
雷公藤内酯醇组	178.32±12.87#	399.08±22.77#	287.54±42.04#

注:与空白组比较, * * $P < 0.01$;与 RA 模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

表 2 各组大鼠关节炎指数比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	第 4 天	第 8 天	第 12 天	第 16 天	第 20 天
RA 模型组	2.71±0.02	7.83±0.35	9.51±0.62	8.83±0.75	8.65±0.52
阳性药双氯芬酸组	2.54±0.12	7.35±0.46	6.01±0.33#	5.98±0.95#	5.85±0.33#
雷公藤内酯醇组	2.56±0.04	5.08±0.55#	5.93±0.65#	6.13±0.37#	6.09±0.52#

注:与 RA 模型组比较, # $P < 0.05$

表3 各组大鼠足体积比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	第4天	第8天	第12天	第16天	第20天
空白对照组	2.67±0.22	2.01±0.25	2.12±0.21	2.10±0.15	2.07±0.27
RA模型组	2.71±0.23	3.77±0.31*	4.21±0.27*	4.13±0.22*	4.36±0.26*
阳性药双氯芬酸组	2.31±0.31	3.41±0.32	3.05±0.23#	3.17±0.35#	2.92±0.32#
雷公藤内酯醇组	2.35±0.25	2.25±0.19#	2.88±0.23#	3.08±0.28#	3.15±0.25#

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

表4 各组 TLR4、NF- κ B、p-NF- κ B 免疫组织化学检测结果(平均 A 值)比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	TLR4	NF- κ B	p-NF- κ B
空白对照组	0.16±0.04	0.17±0.02	0.13±0.02
RA模型组	0.38±0.01*	0.34±0.03*	0.29±0.02*
阳性药双氯芬酸组	0.18±0.01#	0.19±0.02#	0.25±0.02
雷公藤内酯醇组	0.19±0.03#	0.20±0.01#	0.16±0.03#

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

2.4 各组 TLR4 mRNA 检测结果比较 与空白对照组比较, RA 模型组 TLR4 mRNA 表达量升高(0.62 ± 0.02 vs. $1.00 \pm 0.00, P < 0.05$);与 RA 模型组比较, 阳性药双氯芬酸组(0.68 ± 0.01)和雷公藤内酯醇组(0.71 ± 0.03)TLR4 mRNA 表达量下调($P < 0.05$)。

3 讨 论

雷公藤内酯醇是雷公藤的主要活性成分之一,是一个具有多种生物活性的天然产物,来源于中药雷公藤的根。近年来,国内外研究人员对雷公藤内酯醇做了大量研究,提示雷公藤内酯醇具有较为显著的抗炎作用,尤其是对 RA 有非常好的功效,能显著减轻骨关节疼痛、恢复关节功能、改善关节部位的组织液渗出性等^[7-9]。本研究通过建立 RA 大鼠模型,对雷公藤内酯醇组的关节炎指数和足体积观察,与 RA 模型组比较,雷公藤内酯醇组在第 8、12、16、20 天时关节炎指数和足体积降低($P < 0.05$),表明雷公藤内酯醇可以显著改善 RA 的病症,对 RA 治疗作用显著,与其他研究结果相一致。

Toll 样受体(TLRs)是 I 类跨膜蛋白的受体家族,它能够识别病原相关分子,并介导固有免疫应答。而 TLR4 是第一个被发现的 TLRs,外来刺激因子与 TLR4 受体绑定是激活固有免疫系统的第一步,经过一系列磷酸化的级联反应,使 NF- κ B 定植于细胞核,启动一系列炎性介质的释放,其中包括 TNF- α 、IL-4、IL-6 等促炎性细胞因子^[10]。近来发现,TLRs 在自身免疫性疾病,特别是 RA 的发病中有重要作用^[11-12]。有研究发现,活动期 RA 患者外周血单个核细胞对 TLR4 的表达明显增加,并与 RA 严重程度的评分密切相关;在关节周围也存在一些可以被 TLR4 识别的

病原体相关模式分子^[13-15]。熊小泉等^[16]通过对 AIA 大鼠外周血单个核细胞 TLR4 表达的研究,证明机体固有的先天性免疫系统参与了 RA 的病理过程。本研究结果也显示,在 RA 大鼠关节滑膜组织中,与空白对照组比较,RA 模型组中 TLR4、NF- κ B、p-NF- κ B 蛋白表达量和 TLR4 mRNA 表达量上调($P < 0.05$),提示 RA 与 TLR4/NF- κ B 信号通路的调控有关,表明 TLR4 及其介导的信号通路是 RA 发病过程中的重要环节。

NF- κ B 为普遍存在于细胞质中的转录因子,主要由 p65 和 p50 2 个亚单位结合成二聚体或异二聚体,其中 P65 为其主要功能亚单位,具有显著促炎活性。激活的 TLR4 可激发 IKB 激酶级联反应,激活 NF- κ B,从而启动与炎症免疫有关的细胞因子如 TNF- α 、IL-4、IL-6 等基因的表达,最终产生大量 TNF- α 、IL-4、IL-6 等炎性细胞因子。NF- κ B 能调节多种炎性基因的表达水平,与炎性反应的发生和发展密切相关^[17]。国内外均有研究发现, NF- κ B 的表达与活性在 RA 中起重要作用,并且有研究表明,雷公藤内酯醇通过抑制 NF- κ B 的活性和表达,在 RA 中发挥治疗作用^[18-21]。那么,在 RA 中雷公藤内酯醇对 NF- κ B 的上游信号通路 TLR4/NF- κ B 调控如何呢?国内外文献尚未见报道。本研究结果显示,与 RA 模型组比较,雷公藤内酯醇组在 RA 大鼠血清中 TNF- α 、IL-4、IL-6 表达水平呈极显著下降($P < 0.01$),说明雷公藤内酯醇可以降低炎性反应对 RA 的损伤。并且与 RA 模型组比较,雷公藤内酯醇组 RA 大鼠关节滑膜组织中 TLR4、NF- κ B、p-NF- κ B 蛋白表达量和 TLR4 mRNA 表达量下调($P < 0.05$),表明雷公藤内酯醇对 TLR4/NF- κ B 信号通路有抑制作用,并可能由此减轻炎性细胞因子对 RA 的炎性反应。

4 结 论

本实验对 RA 大鼠血清中 TNF- α 、IL-4、IL-6 表达水平及滑膜组织中 TLR4、NF- κ B、p-NF- κ B 蛋白表达进行了研究,结果表明,RA 与 TLR4/NF- κ B 信号通路的调控有关。雷公藤内酯醇可能通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路的信号因子表达,从而减少炎性因子的产生,减轻炎性反应,起到治疗 RA 的作用,为治疗 RA 新药开发提供新途径。

参考文献

- [1] 刘欢,杨晓凌.老年类风湿性关节炎的临床特征及血清炎症因子的改变[J].实用临床医药杂志,2017,21(3):188-190.
- [2] 王爽,王成武,刘艳华.中成药联合西药治疗类风湿性关节炎活动期的疗效观察[J].中国中医药现代远程教育,2017,15(2):95-96.
- [3] 王爱英.中西医结合法治疗类风湿性关节炎的临床研究[J].中外医疗,2016,36(9):175-176.
- [4] 饶莉,沈春瑾,石哲群,等.中西医结合治疗类风湿性关节炎的临床研究[J].中华中医药杂志,2016,31(2):546-548.
- [5] 张旭东,杨若松,陈伟,等.雷公藤内酯醇对佐剂性关节炎大鼠脊髓背根神经节中 MCP-1 及 CCR2 表达的影响[J].中成药,2016,47(6):1390-1393.
- [6] 谢怡敏,高永翔.中药治疗类风湿性关节炎的实验研究进展[J].中药与临床,2016,32(2):103-105.
- [7] 王娜.雷公藤内酯醇对类风湿性关节炎初发患者 NK 细胞免疫功能的影响[C]//中国免疫学会.第九届全国免疫学学术大会论文集.北京:中国免疫学会出版社,2014:2.
- [8] 彭桉平,黄宪章,刘瑞萍,等.雷公藤内酯醇调控 miR-155 抑制类风湿性关节炎患者单核细胞促炎反应[J].细胞与分子免疫学杂志,2014,30(6):635-638.
- [9] 王娟芳.雷公藤治疗类风湿性关节炎的疗效观察[J].内蒙古中医药,2017,36(4):31.
- [10] 钦丹萍,周毅骏,张绍珠,等.雷公藤多苷抗巨噬细胞炎症及对 TLR4/NF-κB 调控炎症作用的研究[J].中国中药杂志,2015,40(16):3256-3261.
- [11] 曾小威,李世刚.类风湿性关节炎治疗及免疫分子机制研究进展[J].中华实用诊断与治疗杂志,2015,29(11):1044-1046.
- [12] SEEUWS S, JACQUES P, VAN PRAET J, et al. A multiparameter approach to monitor disease activity in collagen induced arthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2010, 12(4):R160.
- [13] SERENA B, BARBARAV, ROBERTO C, et al. B-cell in rheumatoid arthritis: from pathogenic players to disease biomarkers[J]. Bio Med Res Int, 2014, 2014:681678.
- [14] GUO Y, ZHANG X, QIN M, et al. Changes in peripheral CD19⁺ Foxp3⁺ and CD19⁺ TGFβ⁺ regulatory B-cell populations in rheumatoid arthritis patients with interstitial lung disease[J]. J Thorac Dis, 2015, 7(3):471.
- [15] 马进,陈岷,李荻,等.中药联合抗风湿药治疗类风湿性关节炎活动期的临床观察[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(5):192-196.
- [16] 熊小泉,石文,黄宪章.TLR4 介导的固有免疫在类风湿关节炎模型大鼠发病过程中的意义[J].广东医学,2009,30(10):1471-1477.
- [17] 袁娟,胡玲,宋小鸽,等.艾灸对类风湿性关节炎大鼠关节滑膜组织 Toll 样受体 4-骨髓样分化因子 88-核转录因子-κB 信号通路的影响[J].针刺研究,2015,40(3):199-204.
- [18] WOO Y J, YOON B Y, JHUN J U, et al. Regulation of B cell activating factor (BAFF) receptor expression by NF-κB signaling in rheumatoid arthritis B cells[J]. Exp Mol Med, 2011, 43(6):350-357.
- [19] TSUBAKI M, TAKEDA T, KINO T, et al. Mangiferin suppresses CIA by suppressing the expression of TNF-α, IL-6, IL-1β, and RANKL through inhibiting the activation of NF-κB and ERK1/2[J]. Am J Transl Res, 2015, 7(8):1371-1381.
- [20] 胡永红,曾克勤,张明敏,等.雷公藤甲素对胶原诱导的关节炎大鼠滑膜细胞核转录因子-κB 表达与活性的影响[J].中华风湿病学杂志,2004,8(9):515-518.
- [21] 刘佳,童萍,左建平,等.LLDT-8 对风湿性关节炎滑膜细胞 NF-κB 信号通路的影响[J].现代免疫学,2018,38(4):265-270.

(收稿日期:2019-02-16 修回日期:2019-05-12)

(上接第 2052 页)

- cholangitis; a new era preface[J]. Clin Liver Dis, 2018, 22(3):XIII-XIV.
- [9] GARCIA-MARTINEZ I, SHAKER M E, MEHAL W Z. Therapeutic opportunities in damage-associated molecular pattern-driven metabolic diseases[J]. Antioxid Redox Signal, 2015, 23(17):1305-1315.
- [10] LAUDISI F, SPREAFICO R, EVRARD M A, et al. Cutting edge: the NLRP3 inflammasome links complement-mediated inflammation and IL-1 beta release[J]. J Immunol, 2013, 191(3):1006-1010.
- [11] ZAMBETTI L P, LAUDISI F, LICANDRO G A, et al. The rhapsody of NLRPs: master players of inflammation, and a lot more[J]. Immunol Res, 2012, 53(1/3):78-90.
- [12] SHI J J, ZHAO Y E, WANG K, et al. Cleavage of GSD-MD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death[J]. Nature, 2015, 526(7575):660-665.
- [13] MAN S M, KANNEGANTI T D. Gasdermin D: the long-awaited executioner of pyroptosis[J]. Cell Res, 2015, 25(11):1183-1184.
- [14] CAREY E J, ALI A H, LINDOR K D. Primary biliary cirrhosis[J]. Lancet, 2015, 386(10003):1565-1575.
- [15] 刘延刚,陈永春,宗英,等.NLRP3 炎症小体的活化及调控机制[J].第二军医大学学报,2016,37(7):868-872.

(收稿日期:2019-01-15 修回日期:2019-04-08)