

优化马钱子总生物碱贴膏剂对大鼠佐剂性关节炎的治疗作用及其机制

王绚^{1*}, 陈军^{2,3}, 蔡宝昌^{2,3}

(1. 南京医科大学附属南京儿童医院, 南京 210008; 2. 江苏省中药炮制重点实验室, 南京 210023;
3. 南京中医药大学 国家教育部中药炮制规范化及标准化工程研究中心, 南京 210023)

[摘要] **目的:** 考察优化马钱子总生物碱贴膏剂(MTAP)对大鼠佐剂性关节炎(AA)的治疗作用及其机制。**方法:** 60只大鼠随机分为模型组、正常组、扶他林乳胶剂组(24 mg·kg⁻¹), MTAP低、中、高剂量组(12, 24, 48 mg·kg⁻¹)。大鼠足跖皮内注射弗氏完全佐剂造模后, 给药组于腹部脱毛区域给予一定面积的贴膏剂, 模型组、正常组给予空白基质的贴膏剂, 隔天给药1次, 连续治疗30 d。采用足容积法测定足肿胀度, MTT法检测刀豆蛋白(Con A)和脂多糖(LPS)诱导的脾淋巴细胞增殖反应, ELISA法测定腹腔巨噬细胞(PMΦ)产生白介素-1β(IL-1β)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)的水平, HE染色法光镜观察关节病理形态学变化等。**结果:** 与正常组比较, 模型组关节滑膜组织可见多量炎细胞浸润, 有不同程度的充血、水肿; AA大鼠T、B细胞增殖水平显著升高($P < 0.05$), 腹腔巨噬细胞产生的IL-1β, TNF-α的含量亦显著升高($P < 0.05$)。与模型组比较, MTAP给药组对大鼠原发性和继发性肿胀有明显的治疗作用($P < 0.05$), 对AA大鼠升高的TNF-α水平、增强的T、B细胞增殖反应及关节病理形态改变等方面均有不同程度的改善作用($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论:** MTAP对大鼠佐剂性关节炎有一定的治疗作用, 其作用机制可能与其改善AA大鼠异常的细胞免疫功能, 调节细胞因子的平衡有关。

[关键词] 优化马钱子总生物碱贴膏剂; 佐剂性关节炎; 炎症; 免疫调节

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)21-0144-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014210144

Effects and Mechanisms of Modified Total Alkaloids Patch from *Strychnou nux-vomica* on Adjuvant Arthritis Rats

WANG Xuan^{1*}, CHEN Jun^{2,3}, CAI Bao-chang^{2,3}

(1. Nanjing Children's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210008, China;
2. Jiangsu Key Laboratory of Chinese Medicine Processing, Nanjing 210023, China;
3. Engineering Center of State Ministry of Education for Standardization of Chinese Medicine Processing, Nanjing 210023, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the therapeutic effects and mechanisms of modified total alkaloids patch from *Strychnou nux-vomica* (MTAP) on adjuvant arthritis rats. **Method:** Sixty rats were randomly divided into adjuvant arthritis (AA) model group, normal group, Diclofenac Diethylamine Emulgel group (24 mg·kg⁻¹), and MTAP groups (12, 24, 48 mg·kg⁻¹). Complete Freund's adjuvant (FCA) was used to induce AA in rats. MTAP groups were treated with patch on abdominal hair removal area, the model group and the normal group were given blank matrix patch every other day for continuous 30 days. Paw swelling of AA rats was measured with volume meter. Meanwhile, splenic lymphocyte proliferation response induced by concanavalin A (Con A) or lipopolysaccharide (LPS) was examined with MTT assay. interleukin-1β (IL-1β), tumor necrosis factor α (TNF-α) production of peritoneal macrophage (PMΦ) were estimated by enzyme linked immune sorbent assay

[收稿日期] 20140401(001)

[基金项目] 国家科技部“十一五”重大新药创制专项(2009ZX09103-342)

[通讯作者] * 王绚, 药师, 从事中药新剂型与药物动力学研究, E-mail: xuan_jeanne@163.com

(ELISA). HE staining was used to examine the pathological changes in joint synovium of the rats. **Result:** Compared with normal group, more inflammatory cells infiltrated joint synovial tissues with congestion and edema in AA model group; T and B cell proliferation was significantly increased ($P < 0.05$), the contents of IL-1 β and TNF- α from PM Φ were also increased significantly ($P < 0.05$). Compared with model group, AA rats with MTAP significantly attenuated primary and secondary hind paw swelling ($P < 0.05$). Meanwhile, it remarkably regulated the splenic T and B cell proliferation response, down-regulated TNF- α production ($P < 0.05$, $P < 0.01$), improved the pathological impairment of joints. **Conclusion:** MTAP can ameliorate the symptom of adjuvant arthritis in rats. Its active mechanism may be related to modulation of the immune function of abnormal cells and the regulation of cytokines.

[**Key words**] modified total alkaloids patch from *Strychnou nux-vomica*; adjuvant arthritis; inflammation; immunomodulation

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是以关节滑膜为靶器官的自身免疫疾病,以免疫调节失常,关节组织慢性炎症性病变为主要特征^[1],因其发病机制尚未明确,目前缺乏真正有效而副作用小的治疗药物,是一种严重影响人类健康的慢性疾病。中药马钱子具有散热消瘀、通痹止痛、接骨续伤的功效,可用于风湿顽痹、类风湿性关节炎等病证。总生物碱是马钱子中公认的有效部位,目前的研究表明:马钱子总生物碱中至少有16种生物碱成分^[2],马钱子碱作为马钱子的主要成分之一,具有很强的镇痛抗炎免疫等药理活性^[3-4]。另一主要成分士的宁是马钱子总生物碱中毒性最强的生物碱类成分,且在镇痛、抗炎、免疫等方面的药理活性均不够突出^[5]。故若能除去马钱子总生物碱中的大部分士的宁,得到优化马钱子总生物碱^[6](MTAF, modified total alkaloid fraction),并将其制备成外观性状良好、透皮吸收快的优化马钱子总生物碱贴膏剂(MTAP, modified total alkaloids patch),则能实现减毒增效,解决了强烈的中枢神经毒性是限制马钱子总生物碱临床应用与制剂开发的这一最大障碍。前期药理实验已证实,MTAF具有较强的抗炎镇痛作用,但其能否用于自身免疫性疾病如RA的治疗尚未见报道。

本实验旨在观察MTAP外用治疗佐剂性关节炎(adjuvant arthritis, AA)的作用,检测其对AA大鼠脾淋巴细胞增殖、腹腔巨噬细胞中白介素-1 β (IL-1 β),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及滑膜病理改变的影响,初步探讨该药对AA的治疗作用及机制,旨在为开发治疗RA的新制剂提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 雄性Wistar大鼠60只,体重(180 \pm 20)g,由浙江省实验动物中心提供,动物合格证号SCXK(浙)20080033。动物于实验前适应环境1周,

自由摄食和饮水,自然光照,控制室温(20 \pm 2) $^{\circ}$ C。

1.2 药品及试剂 马钱子购于浙江中医药大学中药饮片厂,批号20090219,经南京中医药大学陈建伟教授鉴定为马钱科植物马钱 *Strychnos nux-vomica* L.的干燥成熟种子;MTAF(纯度 $>95\%$);MTAP,经聚乙烯吡咯烷酮(批号F20100203)、聚乙二醇(批号090616)、甘油(批号F20100203)等辅料按照一定比例混合,由TB-04D型实验用精密涂布机制备,贴膏剂中MTAF的含量为0.5637 mg \cdot cm $^{-2}$ 。

弗氏完全佐剂(FCA,批号CAS9007-81-2)、刀豆蛋白A(ConA,批号2700803 1B 60854)和溴化-3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑(MTT,批号2012/08)均由美国Sigma公司提供;RPMI1640培养液(上海玉博生物科技有限公司,批号31800-022);IL-1 β 检测试剂盒(批号EK1405)、TNF- α 检测试剂盒(批号EK0394)由南京建成生物工程研究所提供;新生小牛血清(杭州四季青公司,56 $^{\circ}$ C水浴灭活0.5 h,批号090514),磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.4)自制;扶他林乳胶剂(北京诺华制药有限公司,批号X3914),其他为国产分析纯试剂。

1.3 仪器 YLS-7B型足趾容积测量仪(山东医学科学院设备站),XDS-1B型生物显微镜(日本Olympus光学仪器有限公司),CO $_2$ 细胞培养箱(美国Forma Scientific),Model 680型酶标分光光度读板仪(美国Bio-RAD),SW-CJ-1F型超净工作台(苏州净化设备有限公司),TDL80-2B型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

2 方法

2.1 AA模型大鼠的造模方法与整体观察 取健康Wistar大鼠60只,随机分为模型组、正常组、扶他林乳胶剂组(24 mg \cdot kg $^{-1}$),MTAP低剂量组(12 mg \cdot kg $^{-1}$),中剂量组(24 mg \cdot kg $^{-1}$)和高剂量组(48 mg \cdot kg $^{-1}$)。

kg⁻¹), 每组 10 只。于每鼠右后足趾内注射 Freund's 完全佐剂 0.1 mL 致炎, 正常组大鼠注射同体积的生理盐水。扶他林乳胶剂组给予 54 mg 涂抹于动物腹部脱毛区域, 给药组于脱毛区域给予一定面积的贴膏剂 [低剂量组 (2×2) cm², 中剂量组 (4×2) cm², 高剂量组 (4×4) cm²], 正常组和模型组给予空白基质贴膏剂, 均以医用胶带外裹固定防止撕咬。连续给药 30 d, 每隔 1 天给药 1 次。在致炎前 24 h 和致炎后的 24 h, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 23, 26, 30 d 分别测量大鼠左、右后足的容积, 求出致炎后与致炎前足容积的差值即为足肿胀度 (ΔmL = 致炎后容积 - 致炎前容积), 观察 MTAP 对 AA 大鼠关节肿胀的影响, 并观察各组大鼠前肢、尾部病变情况, 有无红肿、结节等, 末次给药后 1 h 取血留血清, 采用 ELISA 法进行细胞因子 IL-1β, TNF-α 的含量测定。

2.2 病理学检测 用药完毕后处死大鼠, 取材分析。分离大鼠左、右后足膝关节, 4% 多聚甲醛固定, 10% EDTA 脱钙, 常规包埋、切片, HE 染色后光镜下观察病理组织学变化。

2.3 脾淋巴细胞增殖反应测定 造模后处死大鼠后, 无菌取脾, 按常规方法制备大鼠脾细胞悬液, 调整细胞密度为 2×10⁷/L。于 96 孔培养板上每孔加入脾细胞悬液 100 μL, 再加入 100 μL 的含 ConA (终质量浓度 3 mg·L⁻¹) 的 RPMI 1640 培养液和 LPS (终质量浓度 12 mg·L⁻¹) 的 RPMI 培养液, 每份 3 个复孔, 37℃, 5% CO₂ 培养箱培养 48 h, 终止培养前 4 h 每孔加入 5 g·L⁻¹ MTT 20 μL 振荡后继续培养, 离心弃上清,

每孔加入 DMSO 120 μL, 充分溶解混匀, 于酶标仪 490 nm 处测吸光度 (A), 结果以 3 个复孔 A 的均值表示。

2.4 腹腔巨噬细胞 IL-1β, TNF-α 的诱导与检测 按常规方法制备大鼠腹腔巨噬细胞 (peritoneal macrophages, PMΦ), 用 RPMI 1640 培养液调至细胞数 2×10⁶/L, 于 24 孔培养板上每孔加入 PMΦ 悬液 1 mL, 37℃, 5% CO₂ 培养箱中培养 2 h 贴壁, 弃上清液, 用含 5% 小牛血清的 D-Hank's 液洗 3 次, 除去非黏附细胞获单层 PMΦ 每孔分别加入 0.9 mL RPMI 1640 培养液, 0.1 mL LPS (终质量浓度 4 mg·L⁻¹), 置 5% CO₂ 培养箱 37℃ 培养 48 h, 收集上清液, -20℃ 保存待测。按 ELISA 检测试剂盒说明书检测 IL-1β 和 TNF-α 的含量。

2.5 统计学处理 所有数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据结果应用 SPSS 11.5 统计软件分析, 组间比较采用单因素方差分析。P < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况观察 各组大鼠在摄食、活动度、毛色、二便等方面无明显差异。造模前后每天测量大鼠体重, 所测体重经统计学处理, 同实验阶段大鼠体重之间无显著性差异。

3.2 MTAP 对 AA 大鼠原发性足肿胀的影响 由表 1 得知, 各组注射佐剂侧足爪从第 1 天起持续肿胀 3 d 左右, 而后肿胀逐渐消退, 第 10 天起再次持续肿胀。第 19 天至第 30 天, 高剂量组与模型组比较, 足肿胀度有显著性差异, 表明高剂量组对大鼠原发性足肿胀具有明显的抑制作用, 但起效较缓。

表 1 MTAP 对 AA 大鼠原发性足肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	0 d 足容积 /mL	左足肿胀度/mL					
			13 d	16 d	19 d	23 d	26 d	30 d
模型	-	1.50 ± 0.05	1.14 ± 0.07 ¹⁾	0.98 ± 0.19 ¹⁾	1.30 ± 0.15 ¹⁾	1.96 ± 0.23 ²⁾	2.26 ± 0.51 ²⁾	2.51 ± 0.87 ²⁾
正常	-	1.64 ± 0.06	0.17 ± 0.06	0.14 ± 0.01	0.22 ± 0.10	0.18 ± 0.02	0.24 ± 0.16	0.20 ± 0.01
扶他林	24	1.53 ± 0.08	0.93 ± 0.09	0.95 ± 0.18	0.99 ± 0.08 ³⁾	1.06 ± 0.21 ³⁾	1.07 ± 0.17 ⁴⁾	1.35 ± 0.27 ³⁾
MTAP	12	1.52 ± 0.13	0.91 ± 0.21	1.02 ± 0.43	1.33 ± 0.26	1.84 ± 0.78	1.99 ± 0.32	2.27 ± 0.24
	24	1.51 ± 0.23	1.04 ± 0.19	1.18 ± 0.32	1.54 ± 0.35	2.08 ± 0.63	2.12 ± 0.70	1.95 ± 0.22
	48	1.58 ± 0.24	0.78 ± 0.10	0.78 ± 0.25	0.96 ± 0.17 ³⁾	1.20 ± 0.25 ³⁾	1.48 ± 0.08 ³⁾	1.40 ± 0.05 ⁴⁾

注: 与正常组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01; 与模型组比较³⁾ P < 0.05, ⁴⁾ P < 0.01 (表 2 ~ 4 同)。

3.3 MTAP 对 AA 大鼠继发性足肿胀的影响 各组大鼠给药前左后足肿胀度无明显差异, 各组在给药后 13 d 发生继发性反应, 23 d 后尾部出现不同程度的红肿结节等。与模型组比较, 低、中、高各剂量组均能降低大鼠左后足肿胀度, 表明 MTAP 对大鼠继发性足肿胀具有一定的抑制作用。见表 2。

3.4 对关节炎大鼠滑膜病理的影响 对 AA 大鼠膝关节滑膜切片进行病理学观察, 见图 1。正常组关节腔内滑膜组织表面见 1 ~ 2 层, 细胞排列规则整齐, 呈扁平状, 滑膜下层可见少量血管组织, 未见炎细胞浸润和血管翳生成。模型组关节滑膜组织可见多量炎细胞浸润, 有不同程度的充血、水肿等。大鼠

表2 MTAP对AA大鼠继发性足肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	0 d足容积 /mL	左足肿胀度/mL					
			13 d	16 d	19 d	23 d	26 d	30 d
模型	-	1.51 ± 0.03	0.15 ± 0.03	0.13 ± 0.03	0.16 ± 0.01	0.32 ± 0.13 ¹⁾	0.46 ± 0.29 ¹⁾	0.50 ± 0.24 ²⁾
正常	-	1.65 ± 0.10	0.13 ± 0.05	0.12 ± 0.02	0.14 ± 0.03	0.15 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.14 ± 0.09
扶他林	24	1.51 ± 0.12	0.15 ± 0.06	0.11 ± 0.01	0.23 ± 0.07	0.25 ± 0.12	0.18 ± 0.08 ³⁾	0.15 ± 0.04 ⁴⁾
MTAP	12	1.55 ± 0.13	0.04 ± 0.01 ³⁾	0.07 ± 0.03	0.05 ± 0.01 ³⁾	0.14 ± 0.08 ³⁾	0.26 ± 0.15	0.41 ± 0.11
	24	1.50 ± 0.24	0.07 ± 0.02	0.12 ± 0.08	0.14 ± 0.02	0.16 ± 0.07	0.25 ± 0.15	0.21 ± 0.13 ³⁾
	48	1.61 ± 0.12	0.05 ± 0.01 ³⁾	0.02 ± 0.01 ³⁾	0.01 ± 0.01 ⁴⁾	0.02 ± 0.01 ⁴⁾	0.11 ± 0.03 ³⁾	0.12 ± 0.08 ³⁾

中、高剂量组用药后,膝关节病理损伤均有不同程度的减轻,关节滑膜内只有少量炎细胞浸润,其余形态未见异常。而低剂量组AA大鼠病理改变并不明显。

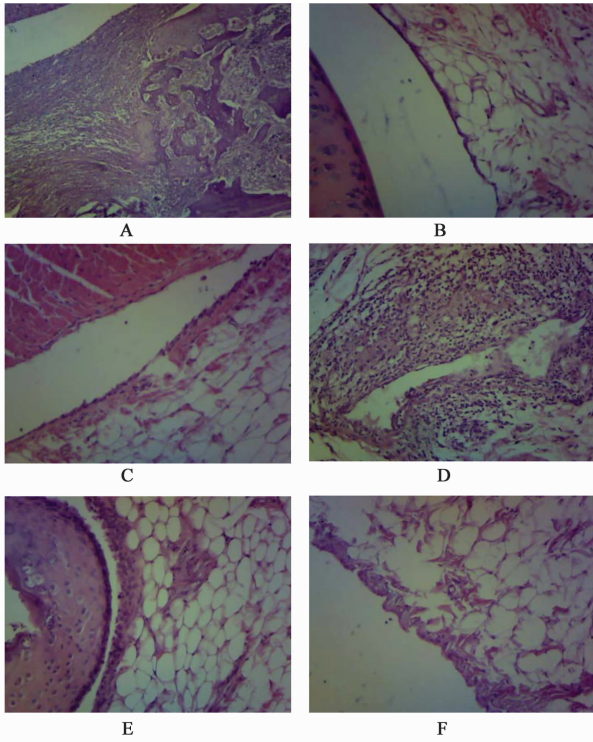


图1 各组大鼠右膝关节滑膜病理照片(HE, ×100)
A. 模型组; B. 正常组; C. 扶他林乳剂 24 mg·kg⁻¹组;
D. MTAP 12 mg·kg⁻¹组; E. MTAP 24 mg·kg⁻¹组;
F. MTAP 48 mg·kg⁻¹组

3.5 MTAP对AA大鼠脾淋巴细胞增殖的影响 大鼠致炎后第30天检测T、B细胞增殖反应,结果表明与正常组相比,AA大鼠T、B细胞增殖水平升高,而高剂量组可以降低T细胞的增殖水平($P < 0.05$),低剂量组和中剂量组无显著性差异;中剂量组和高剂量组可以明显降低B细胞的增殖水平($P < 0.05$),低剂量组无显著性差异。见表3。

3.6 MTAP对AA大鼠腹腔巨噬细胞产生IL-1 β ,

表3 MTAP对AA大鼠T、B细胞增殖反应的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	T细胞增殖/A	B细胞增殖/A
模型	-	0.919 ± 0.483 ¹⁾	0.496 ± 0.120 ¹⁾
正常	-	0.236 ± 0.014	0.238 ± 0.017
扶他林	24	0.292 ± 0.013 ³⁾	0.290 ± 0.025 ³⁾
MTAP	12	0.420 ± 0.139	0.392 ± 0.089
	24	0.357 ± 0.114	0.324 ± 0.073 ³⁾
	48	0.257 ± 0.022 ³⁾	0.260 ± 0.016 ⁴⁾

TNF- α 的影响 AA模型组腹腔巨噬细胞产生的IL-1 β , TNF- α 的含量高于正常组($P < 0.05$);高剂量组TNF- α 的含量明显低于模型组($P < 0.05$)。低、中、高各剂量组IL-1 β 含量与模型组相比无显著性差异。见表4。

表4 MTAP对AA大鼠腹腔巨噬细胞中IL-1 β , TNF- α 的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	IL-1 β /ng·L ⁻¹	TNF- α /ng·L ⁻¹
模型	-	252.4 ± 25.9 ¹⁾	6.73 ± 1.19 ¹⁾
正常	-	180.6 ± 20.8	5.78 ± 0.99
扶他林	24	139.1 ± 91.4 ³⁾	4.09 ± 0.94 ³⁾
MTAP	12	226.3 ± 16.3	5.45 ± 2.64
	24	243.4 ± 25.2	5.72 ± 1.97
	48	215.9 ± 46.2	5.00 ± 0.37 ³⁾

4 讨论

RA是一种常见的以慢性多关节炎病变为主要表现的全身性免疫性疾病,其病理损伤以免疫反应所介导的炎症为主。以FCA诱导的大鼠AA模型具有与RA相似的疼痛、踝关节肿胀以及活动受限等反应,并出现以细胞免疫变化为主的免疫功能紊乱,其病理表现特征与人类风湿性关节炎类似,是筛选和研究治疗RA药物常用的模型之一^[7]。

RA 的转归主要依赖于炎性细胞和细胞因子动态平衡的变化。IL-1 β , TNF- α 是 RA 发病机制中居中心地位的促炎症细胞因子,参与 RA 滑膜炎的病理发展过程^[8-10]。TNF- α 可诱导其他细胞产生更加广泛的致炎物质,增加糖蛋白降解,释放骨钙等,从而导致骨和软骨的破坏。TNF- α 还可通过刺激血管内皮细胞表达黏附分子,刺激单核-吞噬细胞和其他细胞分泌趋化性细胞因子,引起白细胞在炎症部位的聚集^[11-12]。IL-1 β 是使 RA 的炎症应答放大并转化为破坏反应的主要细胞因子^[13],作用于内皮细胞,促进炎细胞聚集,加重关节局部炎症反应。

实验结果显示,致炎后大鼠右足即呈现急性炎症反应。13 d 后左足发生肿胀,MTAP 高剂量组对 AA 大鼠继发性炎症有明显抑制作用,并且对 AA 大鼠升高的巨噬细胞分泌的 TNF- α 水平、增强的 T、B 细胞增殖反应及关节病理形态改变等方面均有不同程度的改善作用。提示 MTAP 具有调节紊乱的细胞免疫功能,呈现免疫抑制的特点。其可能是通过下调高水平的 TNF- α ,抑制细胞因子的促炎效应,而不通过降低 IL-1 β 水平治疗 AA。

RA 是慢性顽疾,属于中医“痹证”范畴,寻找不良反应小、靶向性好,安全有效的药物,日益成为科研和临床的热点。本研究首次证明面向关节炎治疗时,去除大部分士的宁后制得的 MTAP 对大鼠佐剂性关节炎有显著的治疗作用,能抑制急性病期的进一步发展,为 RA 的临床治疗提供了可靠依据。本研究对揭示 MTAP 治疗类风湿性关节炎的作用机制及开发创新药物具有重要意义。

[参考文献]

[1] Suzuki Y, Wakabayashi T, Saito E, et al. Benefits and risks of glucocorticoid therapy for the treatment of rheumatoid arthritis and management of glucocorticoid-induced osteoporosis [J]. Clin Calcium, 2009, 19 (3):404.
[2] Deng Xu-Kun, Yin Wu, Li Wei-Dong, et al. The anti-tumor effects of alkaloids from the seeds of *Strychnos nux-vomica* on HepG2 cells and its possible mechanism

[J]. J Ethnopharmacol, 2006, 106 (2):179.
[3] 徐丽君,魏世超,陆付耳,等. 马钱子若干组分治疗实验性关节炎的比较研究[J]. 同济医科大学学报, 2001, 30(6):564.
[4] Yin Wu, Wang Tian-Shan, Yin Fang-Zhou, et al. Analgesic and anti-inflammatory properties of brucine and brucine N-oxide extracted from seeds of *Strychnos nux-vomica* [J]. J Ethnopharmacol, 2003, 88 (2):205.
[5] 魏世超,徐丽君,张秀桥,等. 马钱子总生物碱对大鼠佐剂性关节炎的作用[J]. 中国药理学通报, 2001, 17 (4):479.
[6] 王绚,陈军,屈艳格,等. 马钱子生物碱类成分经皮给药后在小鼠体内的药动学研究[J]. 中草药, 2011, 42 (12):2484.
[7] Kojima F, Naraba H, Sasaki Y, et al. Prostaglandin E₂ is an enhancer of interleukin-1 beta2 induced expression of membrane-associated prostaglandin E synthase in rheumatoid synovial fibroblasts [J]. Arthritis Rheum, 2003, 48 (10):2819.
[8] 杨兴海,吴杰,郭莲军. 资木瓜皂苷提取工艺的优化及对大鼠佐剂性关节炎抗炎免疫机制的研究[J]. 华西药学杂志, 2010, 25(5):547.
[9] Jiang Jieyun, Xu Qiang. Immunomodulatory activity of the aqueous extract from rhizome of *Smilax glabra* in the later phase of adjuvant-induced arthritis in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2003, 85 (1):53.
[10] 侯丽萍,周晓莉,田永峰,等. 通络止痛胶囊对佐剂性关节炎大鼠血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的调节[J]. 浙江中医药杂志, 2009, 44(2):96.
[11] Schett Georg, Smolen Josef S. New insights in the mechanism of bone loss in arthritis [J]. Curr Pharm Des, 2005, 11(23):3039.
[12] Jeong J G, Kim J M, Cho H, et al. Effects of IL-1 beta on gene expression in human rheumatoid synovial fibroblasts [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 324(1):3.
[13] Yadav V S, Mishra K P, Singh D P, et al. Immunomodulatory effects of curcumin [J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2005, 27 (3):485.

[责任编辑 聂淑琴]