

基于 NLRP3 炎性体信号通路研究桂枝芍药知母汤 治疗痛风性关节炎的作用机制

房树标^{1,2}, 王永辉², 李艳彦², 周然^{2*}

(1. 湖北中医药大学基础医学院, 武汉 430065; 2. 山西中医学院, 太原 030024)

[摘要] **目的:**探讨桂枝芍药知母汤(GT)对尿酸钠致痛风性关节炎(GA)模型大鼠关节滑膜组织中炎性信号表达的影响。**方法:**180只雄性SD大鼠随机分配到3个实验,分别为关节滑膜免疫组化实验,酶联免疫吸附测定(ELISA)实验,蛋白质免疫印迹(Western blot)实验。各实验取大鼠60只,按体重随机分为6组,每组10只,分别为模型组,正常组,GT高、中、低剂量组(4,8,16 g·kg⁻¹),秋水仙碱阳性药组(3×10⁻⁴ g·kg⁻¹)。实验组均ig给药,正常组、模型组给予等容积的蒸馏水,每天1次,连续给药7d。第5天ig前,大鼠足踝关节注射尿酸钠悬液诱导GA。取大鼠关节滑膜组织,免疫组化检测Nod样受体蛋白3(NLRP3)炎性体的表达,Image-Pro Plus6.0图像分析系统测定平均积分吸光度(IA),Western blot检测凋亡相关斑点样蛋白(ASC),半胱氨酸天冬氨酸酶-1(Caspase-1)信号衔接蛋白表达,ELISA测定炎性因子白细胞介素-1β(IL-1β),白细胞介素-6(IL-6),肿瘤坏死因子-α(TNF-α),核因子-κB(NF-κB)表达水平。**结果:**造模72h后,与正常组比较,模型组大鼠关节滑膜组织中NLRP3,ASC,Caspase-1,L-1β,IL-6,TNF-α,NF-κB表达明显升高(P<0.05),Caspase-12表达明显降低(P<0.05);与模型组比较,GT高、中剂量组NLRP3,ASC,GT各剂量组Caspase-1表达水平均显著降低(P<0.05),Caspase-12表达明显升高(P<0.05),GT各组IL-1β,IL-6,TNF-α,NF-κB表达均明显降低(P<0.05)。**结论:**GT治疗GA的作用机制可能与降低NLRP3,ASC,Caspase-1表达,抑制IL-1β分化成熟及NF-κB活化,降低NLRP3炎性体信号通路炎性因子表达有关。

[关键词] 桂枝芍药知母汤; 痛风性关节炎; Nod样受体蛋白3炎性体; 关节滑膜组织

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)09-0091-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016090091

Research on Mechanism of Guizhi Shaoyao Zhimu Tang in Treatment of Gouty Arthritis Based on NLRP3 Inflammasomes Signaling Pathway

FANG Shu-biao^{1,2}, WANG Yong-hui², LI Yan-yan², ZHOU Ran^{2*}

(1. Basic Medicine College of Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China;

2. Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Guizhi Shaoyao Zhimu Tang (GT) on inflammatory signal expression in synovial tissues of joint of rats with monosodium urate crystal-induced gouty arthritis (GA). **Method:** Totally 180 male SD rats were randomly divided into 3 experiments [the Immunohistochemistry, enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), Western blot experiment] with 60 rats each experiment divided into 6 groups with 10 rats each group according to weight. The high, medium and low dose group of GT (4, 8, 16 g·kg⁻¹) and colchicine group (3×10⁻⁴ g·kg⁻¹) were treated with medicine by gastric administration, the normal and model group were given equal volume of distilled water. Medicine or distilled water was given once daily for seven consecutive days throughout the experiment. On the fifth day, GA model was made by injection of monosodium urate in the ankle joint cavity of rat. The synovial tissues of the rats were taken and expression of nod-

[收稿日期] 20151120(020)

[基金项目] 山西省科技创新团队建设项目(2012081018)

[第一作者] 房树标,博士,主管药师,从事新药物物质基础研究,Tel:15863871008,E-mail:zyfzy116@163.com

[通讯作者] *周然,博士,教授,从事中药药理及实验方剂学研究,Tel:18636117158,E-mail:wyh766188@sina.com

like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasomes were detected with immunohistochemistry and integrated absorbance (IA) was measuring with Image-Pro Plus 6.0 analysis system. The expression levels of apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC), Caspase-1 signaling proteins were detected by Western blot. Expression of inflammatory cytokine such as interleukin-1 beta (IL-1 β) and interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), nuclear factor- κ B (NF- κ B) were detected with ELISA. **Result:** Compared with normal group after 72 hours, the expression of NLRP3 inflammasomes, ASC, Caspase-1 and IL-1 β , IL-6, TNF- α , NF- κ B in synovial tissues of the joint of GA rats significantly increased ($P < 0.05$), whereas Caspase-12 significantly decreased ($P < 0.05$). the expression of NLRP3 inflammasomes, ASC in medium and high dose group of GT and Caspase-1 in all group of GT significantly decreased than the model group ($P < 0.05$), whereas Caspase-12 increased ($P < 0.05$) and there was significant decreasing change in IL-1 β , IL-6, TNF- α , NF- κ B in all dose group of GT. **Conclusion:** The action mechanism of GT on GA in rats is related to decreasing the expression levels of NLRP3, ASC and Caspase-1 and increasing the expression of Caspase-12, and accordingly inhibiting the maturation of IL-1 β and the activation of NF- κ B, reducing the expression of inflammatory factors in NLRP3 inflammasomes signaling pathway.

[**Key words**] Guizhi Shaoyao Zhimu Tang; gouty arthritis; nod-like receptor protein 3 inflammasomes; synovial tissues of joint

近年来,随着人们生活水平的不断提高,尿酸钠致痛性关节炎(GA)在我国的发病率明显升高,且呈年轻化趋势,严重影响着人们的工作及身心健康。目前非甾类抗炎药、秋水仙碱、糖皮质激素是治疗GA的传统用药,却有严格的禁忌症和明显的毒副作用。因此,深入研究GA病因病机,从传统医学中发掘疗效确切,副作用少的GA治疗方药具有重要医学价值和社会意义。桂枝芍药知母汤(GT)出自《金匮要略·中风历节病脉证并治篇》,具有祛风除湿、温经散寒、滋阴清热之功效。主治风寒湿痹日久,渐次化热伤阴之风湿历节,非常切合GA的病因病机,在临床治疗GA上取得很好的疗效^[1-2]。通过抑制Nod样受体蛋白3(nod-like receptor protein 3, NLRP3)炎性体及白细胞介素-1 β (IL-1 β)表达治疗GA的相关研究^[3-4]表明NLRP3炎性体信号通路是GA炎症发作的关键途径之一。药理研究表明,GT具有较好抗炎、消肿、镇痛等作用,能有效控制GA的症状,但其具体作用机制尚无研究^[5-6]。课题组拟以GA大鼠为模型,观察GT对模型大鼠关节滑膜组织中NLRP3炎性体信号通路中相关受体蛋白及炎性因子的表达,以进一步探明GT治疗GA的药效作用机制,为GT治疗GA的临床应用及药物开发提供新的理论和实验依据。

1 材料

1.1 动物 健康雄性SD大鼠180只,体重180~200g,购于湖北省实验动物研究中心,SPF级,合格证号SCXK(鄂)2008-0005,实验前适应性饲养7d。

1.2 药物及试剂 桂枝芍药知母汤煎剂,其药物组成为桂枝12g,白芍9g,甘草6g,麻黄6g,生姜15g,白术15g,知母12g,防风12g,附子12g。药材购自湖北金药堂大药房有限公司,经湖北中医药大学药学院陈科力教授鉴定,均符合2010版药典要求。原方参照传统水煮工艺,加工成煎剂,浓缩成质量浓度为1.25~1.30(80℃)的浸膏,约40mL,相当于含生药2g·mL⁻¹,给药前可根据需要适当稀释。秋水仙碱(西双版纳药业有限责任公司,批号140706),尿酸钠(monosodium urate crystals,MSU,上海谷研生物科技有限公司,批号6519R416,取MSU2.0g,研成细粉,加生理盐水适量研磨,并稀释至100.0mL,配制成质量浓度为20g·L⁻¹的尿酸钠注射悬液),多聚甲醛(国药集团化学试剂有限公司,批号20131127);二抗试剂盒Rabbit/Mouse Code K5007,兔抗鼠NLRP3抗体及羊抗兔IgG-AP抗体(批号分别为AR1009,BA3677,BA1011,武汉博士德生物工程有限公司);兔抗鼠凋亡相关斑点样蛋白(ASC)抗体(美国Immuno Way公司,批号YT0365),兔抗鼠半胱氨酸天冬氨酸酶-1(Caspase-1)抗体(美国Proteintech公司,批号22915-1),大鼠 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(天津三箭公司,批号KM9001),增强型化学发光试剂(ECL,碧云天生物有限公司,批号P0018),BCA蛋白定量试剂盒(艾德来,批号PP0102),硝酸纤维素膜(美国Millipore公司,批号IPVH00010),显影定影液(美国Kodak公司,批号6610190);白细胞介素1 β (IL-1 β),IL-6,

肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 检测试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司, 批号分别为 1151142415, 1331145511, 2401149511); 核因子- κ B (NF- κ B) 检测试剂盒 (美国 Abnova 公司, 批号 0465441), 其他常规试剂由湖北百奥斯生物科技有限公司配制。

1.3 仪器 RM2255 型轮转式切片机及 APV2000 型高速均质机 (德国 Leica 公司), CKX41-F32FL 型倒置显微镜 (美国 Olympus 公司), ME204E 型电子天平 (瑞士梅特勒公司), RT6100 型酶标仪 (美国雷杜公司), 200 型匀浆器 (美国 PRO 公司), Microfuge22R 型低温高速离心机 (美国 Beckman Coulter 公司), DYZC-24DN 型迷你电泳槽 (北京六一仪器厂)。

2 方法

2.1 分组及给药 180 只大鼠随机分配到 3 个实验, 即关节滑膜免疫组化实验, ELISA 实验, 蛋白质免疫印迹 (Western blot) 实验。各实验取健康雄性 SD 大鼠 60 只, 按体重随机分为 6 组, 每组 10 只, 分别为模型组, 正常组, GT 高、中、低剂量组, 秋水仙碱阳性药组。正常组、模型组给予等容积的蒸馏水 *ig*。其余实验组均 *ig* 给药, 每天 1 次, 连续给药 7 d。GT 低、中、高剂量组用药剂量 (相当生药) 分别为 4, 8, 16 $g \cdot kg^{-1}$, 秋水仙碱组用药剂量为 $3 \times 10^{-4} g \cdot kg^{-1}$ 。

2.2 GA 大鼠模型制备 第 5 天 *ig* 前, 大鼠 *ip* 戊巴比妥钠 ($35 mg \cdot kg^{-1}$) 麻醉。除正常组注入等体积的生理盐水外, 其余各组以 4.5 号针头向右踝关节腔注入 MSU 混悬液 0.2 mL, 以对侧鼓起为注入标准, 诱导急性 GA 模型。

2.3 关节滑膜组织中 NLRP3 平均积分吸光度 IA 的表达 关节滑膜免疫组化实验于造模 72 h 后, 将所有实验动物过量麻醉处死, 取右侧踝关节 (关节近端及远端各保留约 0.5 cm), 去皮, 置于 4% 多聚甲醛溶液中固定 24 h, 用 4% 的盐酸水溶液脱钙, 至用细针可以顺利穿过为准后分别使用梯度乙醇脱水 (100%, 100%, 95%, 95%, 90%, 80%), 每次 2 min, 二甲苯透明, 常规石蜡包埋切片, 采用免疫组织化学二步法染色。脱水, 修复, 阻断, 加抗体孵育 (兔抗鼠 NLRP3 配制 1:100), DAB 染色, 封片, 镜检; 每张切片取 5 个高倍视野 (10×40), 用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件测定各组 IA, 计算平均 IA 值。

2.4 关节滑膜组织中 ASC, 半胱氨酸天冬氨酸酶-1 (Caspase-1), Caspase-12 蛋白表达 关节滑膜 Western blot 实验于造模 72 h 后脱颈法处死大鼠, 参

照文献[7]方法取大鼠关节滑膜组织, 分组装入冷冻管后移入 $-70^{\circ}C$ 低温冰箱中保存, 用于 Western blot 检测。显色条带以 Quantity One 4.62 版凝胶 IA 分析软件进行分析, 测定各组 IA。

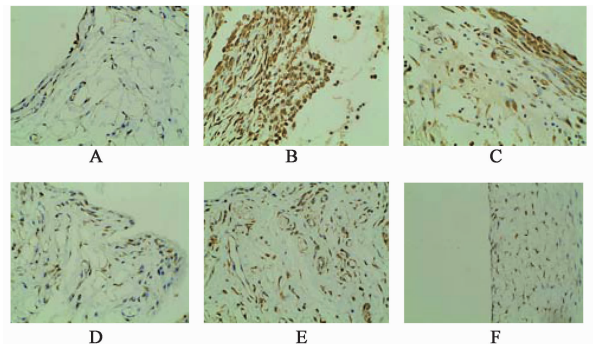
2.5 关节滑膜组织 IL-1 β , IL-6, TNF- α , NF- κ B 表达 关节滑膜 ELISA 实验于造模 72 h 后, 将所有实验动物过量麻醉处死, 剪取右侧踝关节加入适量液氮, 研钵研磨至粉碎, 加入适量生理盐水用匀浆器研匀, $3\ 000 r \cdot min^{-1}$ 离心 10 min 后, 取上清液, 按 ELISA 法检测试剂盒操作说明书, 绘制标准曲线, 测定。

2.6 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学分析, 所有数据资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 LDS 单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般状况观察 造模前正常组、模型组和 GT 组大鼠皮毛光泽色白, 活动正常, 关节无红肿, 饮食正常; 造模 2 h 后, 模型大鼠均出现关节红肿, 活动减少, 舔足等现象, 炎症因子 IL-1 β , IL-6, TNF- α 检测结果明显高于正常组 ($P < 0.05$), 表明痛性关节炎模型大鼠造模成功。

3.2 对大鼠关节滑膜组织中 NLRP3 平均 IA 表达的影响 与正常组比较, 模型组大鼠关节滑膜组织中 NLRP3 平均 IA 表达水平明显升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 秋水仙碱组和 GT 高、中剂量组大鼠关节滑膜组织中 NLRP3 平均 IA 表达水平均降低 ($P < 0.05$), GT 低剂量组大鼠关节滑膜组织中 NLRP3 平均 IA 表达水平仅呈降低趋势, 但无统计学差异。见图 1, 表 1。



A. 正常组; B. 模型组; C. GT $4 g \cdot kg^{-1}$ 组; D. GT $8 g \cdot kg^{-1}$ 组; E. GT $16 g \cdot kg^{-1}$ 组; F. 秋水仙碱 $3 \times 10^{-4} g \cdot kg^{-1}$ 组 (图 2 同)

图 1 GT 对大鼠关节滑膜组织中 NLRP3 受体表达的影响 (免疫组化, $\times 400$)

Fig. 1 Effects of GT on expression of NLRP3 in joint synovial tissue of rats (IHC, $\times 400$)

表 1 GT 对大鼠关节滑膜组织中 NLRP3 IA 值影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 1 Effects of GT on IA of NLRP3 in joint synovial tissue of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	NLRP3
正常	-	0.35 ± 0.01
模型	-	0.70 ± 0.03 ¹⁾
GT	4	0.67 ± 0.02 ²⁾
	8	0.47 ± 0.02 ²⁾
	16	0.50 ± 0.02 ²⁾
秋水仙碱	3×10^{-4}	0.43 ± 0.01 ²⁾

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

3.3 对大鼠关节滑膜组织中 ASC, Caspase-1, Caspase-12 蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组大鼠关节滑膜组织 ASC, Caspase-1 蛋白表达明显升高 ($P < 0.05$), Caspase-12 蛋白表达明显降低 ($P < 0.05$);与模型组比较,秋水仙碱组,GT 高剂量组 ASC,各剂量组 Caspase-1 均降低 ($P < 0.05$),GT 高、中剂量组 Caspase-12 蛋白表达明显升高 ($P < 0.05$)。见图 2,表 2。

3.4 对大鼠关节滑膜组织炎性因子 IL-1 β , IL-6, TNF- α , NF- κ B 表达的影响 与正常组比较,模型组大鼠关节滑膜组织 IL-1 β , IL-6, TNF- α , NF- κ B 水平明显升高 ($P < 0.05$);与模型组比较,秋水仙碱组和

表 3 GT 对大鼠关节滑膜组织炎性因子 IL-1 β , IL-6, TNF- α , NF- κ B 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of GT on expression of inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, TNF- α and NF- κ B in joint synovial tissues of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	IL-1 β / $ng \cdot L^{-1}$	IL-6/ $\mu g \cdot L^{-1}$	TNF- α / $\mu g \cdot L^{-1}$	NF- κ B/ $\mu g \cdot L^{-1}$
正常	-	76.14 ± 23.40	0.53 ± 0.02	0.27 ± 0.01	0.42 ± 0.02
模型	-	389.43 ± 26.91 ¹⁾	0.82 ± 0.03 ¹⁾	0.40 ± 0.02 ¹⁾	0.74 ± 0.03 ¹⁾
GT	4	165.72 ± 34.45 ²⁾	0.62 ± 0.01 ²⁾	0.30 ± 0.01 ²⁾	0.52 ± 0.01 ²⁾
	8	147.50 ± 29.48 ²⁾	0.57 ± 0.02 ²⁾	0.25 ± 0.01 ²⁾	0.47 ± 0.02 ²⁾
	16	88.10 ± 27.75 ²⁾	0.50 ± 0.02 ²⁾	0.24 ± 0.01 ²⁾	0.40 ± 0.02 ²⁾
秋水仙碱	3×10^{-4}	84.53 ± 35.83 ²⁾	0.48 ± 0.03 ²⁾	0.40 ± 0.01	0.38 ± 0.03 ²⁾

4 讨论

“NLRP3 炎性体信号通路”中 NLRP3 是 Nod 样受体之一 NLRP 蛋白家族中的一个典型代表,是固有免疫系统识别病原体的一类重要感受器,广泛参与对病原相关分子模式(PAMP)的识别,同时也可以感知内源性损伤相关的分子模式(DAMPs),引起相应的炎症反应^[8-9]。当 NLRP3 识别的配体直接或间接地结合于亮氨酸重复序列(LRR)时,NLRP3 被活化而且构象发生变化,暴露出核苷酸结合寡聚化结构域(NACHT)结构域,通过 ATP 聚合形成高度有序的 NLRP3 蛋白寡聚体。随后通过其效应结构域 PYD 募集凋亡相关斑点样蛋白 ASC 和带有半胱天冬酶活化募集结构域(Caspase activating

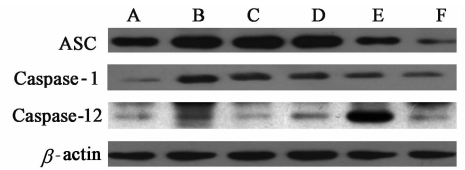


图 2 GT 对大鼠关节滑膜组织中 ASC, Caspase-1, Caspase-12 蛋白表达的影响

Fig. 2 Effects of GT on protein expression of ASC, Caspase-1 and Caspase-12 in joint synovial tissues of rats

表 2 GT 对大鼠关节滑膜组织中 ASC, Caspase-1, Caspase-12 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Effects of GT on protein expression of ASC, Caspase-1 and Caspase-12 in joint synovial tissues of rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	ASC	Caspase-1	Caspase-12
正常	-	1.27 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.08 ± 0.01
模型	-	1.52 ± 0.02 ¹⁾	0.45 ± 0.06 ¹⁾	0.06 ± 0.01 ¹⁾
GT	4	1.51 ± 0.04	0.11 ± 0.05 ²⁾	0.06 ± 0.02
	8	1.59 ± 0.06	0.09 ± 0.03 ²⁾	0.14 ± 0.01 ²⁾
	16	0.93 ± 0.02 ²⁾	0.07 ± 0.01 ²⁾	0.89 ± 0.03 ²⁾
秋水仙碱	3×10^{-4}	0.37 ± 0.01 ²⁾	0.06 ± 0.01 ²⁾	0.06 ± 0.01

GT 各组大鼠关节滑膜组织 IL-1 β , IL-6, TNF- α , NF- κ B 均降低 ($P < 0.05$)。见表 3。

andrecruitment domain, CARD)的 Caspase-1,形成复杂的复合物即 NLRP3 炎性体^[10-11]。ASC 的 CARD 与 Caspase-1 的 CARD 区相互作用。活化的 Caspase-1,也称白细胞介素 IL-1 β 转化酶,可以诱导激活 IL-1 β 前体。并将 IL-1 β 的前体在天冬氨酸裂解,形成活化的成熟 IL-1 β 分泌到细胞外,产生各种免疫反应^[12-13]。

MSU 晶体是痛风的关键诱导因素,同时也是 NLRP3 炎性小体的激动剂。尿酸盐晶体被巨噬细胞吞噬后可能通过促进钾离子外流^[14]和诱导线粒体产生大量活性氧 ROS^[15-16],使 NLRP3 炎性体活化,激活 Caspase-1,分解无活性的 IL-1 前体(pro-IL-1 β),分泌和释放成熟的 IL-1 β ^[17-18],活化的 IL-1 β 被

靶细胞(如滑膜细胞)上的 IL-1 受体结合,激活炎症转录因子(如 NF- κ B),生成大量炎症介质,如 TNF- α , IL-6^[19]等,进一步加重其诱导的炎症反应^[20]。Pope 等^[21]将尿酸钠晶体注入鼠腹腔以模拟痛风性炎症过程,发现 NLRP3/Caspase 和 ASC 缺陷鼠较正常鼠血 IL-1 β 浓度明显降低,腹腔中性粒细胞显著减少,证实了 NLRP3 炎性体是尿酸钠结晶诱发的炎症反应所必需的。

现代药理学研究表明,GT 对大鼠急性 GA 细胞因子 IL-1, IL-4, IL-6, TNF- α 等表达具有一定的影响,初步证明了其减轻炎症作用^[1-2]。实验结果表明,GT 能够显著降低模型大鼠关节滑膜组织中 NLRP3 平均 IA, ASC 及 Caspase-1 蛋白表达及炎性细胞因子 IL-1 β , TNF- α , IL-6 的表达,从一定程度揭示 GT 抗炎机制可能与降低 NLRP3 炎性体, ASC, Caspase-1 表达,增加 Caspase-12 表达,抑制 IL-1 β 分化成熟及 NF- κ B 活化,降低 NLRP3 炎性体信号通路炎性因子表达有关。

实验中发现, Caspase-1 蛋白在 Western blot 检测中呈 2 条紧挨着的色带,结果显示给药组其中一条色带的蛋白表达显著增加,据文献报道认为是 Caspase-12 蛋白,具有干扰,抑制 NLRP3 炎性体活化作用,进而抑制炎性因子 IL-1 β 表达^[22]。与秋水仙碱不同的是,GT 各剂量组不仅抑制模型大鼠关节滑膜组织中 Caspase-1 表达,同时增加了 Caspase-12 表达,提示 GT 治疗 GA 新的抗炎机制。

[参考文献]

[1] 房莉萍. 从桂枝芍药知母汤探析急性痛风性关节炎的治疗[J]. 中国中医急症, 2011, 20(8):1367,1376.
[2] 何力. 桂枝芍药知母汤加味治疗急性痛风性关节炎 45 例疗效观察[J]. 四川中医, 2015, 33(2):103-104.
[3] Wei H, Hu C, Xie J, et al. Dolirioside A attenuates monosodium urate crystals-induced inflammation by targeting NLRP3 inflammasome[J]. Eur J Pharmacol, 2014, 740:321-328.
[4] Terkeltaub R, Sundry J S, Schumacher H R, et al. The interleukin 1 inhibitor rilonacept in treatment of chronic gouty arthritis: results of a placebo-controlled, monosequence crossover, non-randomised, single-blind pilot study [J]. Ann Rheum Dis, 2009, 68 (10): 1613-1617.
[5] 肖碧跃, 赵国荣, 曾序求, 等. 桂枝芍药知母汤对大鼠急性痛风性关节炎细胞因子 IL-1、IL-4 的影响[J]. 中医药导报, 2011, 17(12):16-18.
[6] 李雅, 肖碧跃, 赵国荣, 等. 桂枝芍药知母汤对急性痛风性关节炎大鼠 IL-6、TNF- α 表达的影响[J]. 新中医, 2013, 45(11):131-132.

[7] 胡雨峰. 桂枝芍药知母汤对 CIA 模型大鼠 Toll 样受体信号转导通路的作用和机制研究[D]. 南京:南京中医药大学, 2012.
[8] Shi Y, Evans J E, Rock K L. Molecular identification of a danger signal that alerts the immune system to dying cells[J]. Nature, 2003, 425(6957):516-521.
[9] Martinon F. Detection of immune danger signals by NLRP3[J]. J Leukoc Biol, 2008, 83(3):507-511.
[10] Kersse K, Vanden Berghe T, Lamkanfi M, et al. A phylogenetic and functional overview of inflammatory caspases and caspase-1-related CARD-only proteins[J]. Biochem Soc Trans, 2007, 35(S6):1508-1511.
[11] Martinon F, Pétrilli V, Mayor A, et al. Gout-associated uric acid crystals activate the NLRP3 inflammasome [J]. Nature, 2006, 440 (7081):237-241.
[12] Burns K, Martinon F, Tschopp J. New insights into the mechanism of IL-1 β maturation [J]. Curr Opin Immunol, 2003, 15(1):26-30.
[13] Franchi L, Eigenbrod T, Muñoz-Planillo R, et al. The inflammasome: a caspase-1 activation platform that regulates immune responses and disease pathogenesis [J]. Nat Immunol, 2009, 10(3):241-247.
[14] Shi Y, Mucsi A D, Ng G. Monosodium urate crystals in inflammation and immunity[J]. Immunol Rev, 2010, 233(1):203-217.
[15] 童玉娜, 何妮妮. NALP3 炎性体与非感染性炎症疾病[J]. 生理科学进展, 2011, 42(4):317-320.
[16] 李翔, 田焜, 张艳. NLRP3 炎性复合体在抗感染免疫中的作用[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2012, 28(4):439-441.
[17] Latz E. The inflammasomes: mechanisms of activation and function [J]. Curr Opin Immunol, 2010, 22(1):28-33.
[18] Cassel S L, Joly S, Sutterwala F S. The NLRP3 inflammasome: a sensor of immune danger signals[J]. Semin Immunol, 2009, 21(4):194-198.
[19] McGeough M D, Pena C A, Mueller J L, et al. IL-6 is a marker of inflammation with no direct role in inflammasome-mediated mouse models [J]. J Immunol, 2012, 189(6):2707-2711.
[20] Martinon F. Mechanisms of uric acid crystal-mediated autoinflammation [J]. Immunol Rev, 2010, 233(1):218-232.
[21] Pope R M, Tschopp J. The role of interleukin-1 and the inflammasome in gout [J]. Arthritis Rheum, 2007, 56(10):3183-3188
[22] Saleh M, Mathison J C, Wolinski M K, et al. Enhanced bacterial clearance and sepsis resistance in caspase-12-deficient mice [J]. Nature, 2006, 440 (7087):1064-1068.

[责任编辑 周冰冰]