

# 赤菴根总皂苷对 II 型胶原诱导性关节炎 大鼠 IL-15, IL-34 表达的影响

田沂凡, 佟继铭, 马帅, 刘永平\*

(承德医学院 中药研究所, 河北省中药开发与研究重点实验室, 河北 承德 067000)

**[摘要]** **目的:**观察赤菴根总皂苷(total saponins of *Thladiantha dubia* root, TSTR)治疗牛 II 型胶原诱导性关节炎(CIA)大鼠,血液及膝关节滑膜中破骨细胞(OC)正反馈因子白细胞介素-15(IL-15), IL-34 的水平变化,探讨 TSTR 治疗大鼠 CIA 的作用机制。**方法:**雄性 Wistar 大鼠 80 只,随机取 10 只作为正常组,其余大鼠均于尾根部及背部皮内多点注射牛 II 型胶原与完全弗氏佐剂混匀的乳剂。7 d 后同法操作,以首次注射后 14 d,大鼠关节炎指数(AI 值)≥4 分为造模成功,将模型大鼠随机分为模型组, TSTR 低、中、高剂量组(20, 40, 80 mg·kg<sup>-1</sup>)和雷公藤多苷(TG)阳性药组(12 mg·kg<sup>-1</sup>),各药物组均灌胃给予相应药物 35 d,每天 1 次。观察大鼠足爪肿胀度,评价 AI 值;采用苏木精-伊红染色法(HE)观察滑膜病理变化;酶联免疫吸附测定(ELISA)检测大鼠血清中 IL-15, IL-34 含量;逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)检测大鼠滑膜中 IL-15, IL-34 mRNA 表达水平;蛋白质印迹法(Western blot)检测滑膜中 IL-15, IL-34 蛋白表达水平。**结果:**与正常组比较,模型组大鼠 AI 值显著增高( $P < 0.01$ ),滑膜细胞中炎性细胞的数量增多,在血清和滑膜组织中,IL-15, IL-34 的含量、基因和蛋白表达均显著增高( $P < 0.01$ );与模型组比较, TSTR 各剂量组和 TG 组 AI 值显著降低( $P < 0.01$ );且 TSTR 低剂量组和 TG 组滑膜中炎性细胞数量及血管数量明显减少; TSTR 低剂量组和 TG 组大鼠血清中 IL-15, IL-34 表达和滑膜中 IL-15, IL-34 蛋白表达, IL-15, IL-34 mRNA 的表达均显著降低( $P < 0.05, P < 0.01$ )。**结论:**TSTR 对 CIA 大鼠的治疗作用,可能与抑制血液和滑膜组织中 IL-15, IL-34 的表达有关。

**[关键词]** 赤菴根总皂苷; II 型胶原; 关节炎; 白细胞介素-15 (IL-15); IL-34

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)12-0126-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017120126

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170324.1426.038.html>

**[网络出版时间]** 2017-03-24 14:26

## Effect of Total Saponins of *Thladiantha dubia* Root on Expression of IL-15, IL-34 in Rats with Arthritis Induced by Type II Collage

TIAN Yi-fan, TONG Ji-ming, MA Shuai, LIU Yong-ping\*

(Institute of Chinese Medicine, Chengde Medical College, Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Research and Development of Hebei Province, Chengde 067000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effect of total saponins of *Thladiantha dubia* root (TSTR) on changes of interleukin-15 (IL-15) and interleukin-34 (IL-34) in the blood and knee synovial membrane in the treatment of type II collagen-induced arthritis (CIA) rats, and explore the mechanism of TSTR in treating CIA rats. **Method:** The 80 male Wistar rats were selected, and ten of them were randomly taken as normal control group. The remaining rats were injected with the mixed emulsion of bovine type II collagen and complete Freund's adjuvant in multiple points on back and tail root. After 7 days, it was carried out with the same operation.

**[收稿日期]** 20170105(009)

**[基金项目]** 河北省科技厅支撑项目(14272502D);河北省教育厅重大项目(ZD 2016013);河北省教育厅自然科学基金项目(277)

**[第一作者]** 田沂凡,在读硕士,从事中药药理与毒理研究工作, Tel: 0314-2291143, E-mail: 980642578@qq.com.

**[通讯作者]** \*刘永平, 硕士, 教授, 硕士生导师, 从事中药药理与毒理研究工作, Tel: 0314-2291888, E-mail: lyp@edmc.edu.cn.

Fourteen days after the first injection, those with arthritis index (AI value)  $\geq 4$  points were identified as successful modeling. The successfully modeled rats were randomly divided into model group, TSTR low, medium and high dose groups (20, 40, 80 mg·kg<sup>-1</sup>) and tripterygium glycoside (TG, 12 mg·kg<sup>-1</sup>) positive drug group. Rats in each group received corresponding drugs for 35 days by intragastric administration, 1 time/day. Then the paw swelling in rats was observed and AI values were evaluated; the morphological changes of synovium were observed with htoxylin eosin (HE) staining; the levels of IL-15 and IL-34 in serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); Western blot and reverse transcriptase PCR (RT-PCR) were used respectively to measure the protein and mRNA expression levels of IL-15, IL-34 in synovium. **Result:** As compared with the normal group, AI value was increased in the model group ( $P < 0.01$ ); the number of inflammatory cells in synovial cells was increased, and the levels of IL-15 and IL-34 in serum and synovial tissues were significantly increased ( $P < 0.01$ ). As compared with the model group, AI value was significantly decreased in each dose TSTR groups and TG positive group ( $P < 0.01$ ), and the inflammatory cells number and vascular quantity in the synovial membrane were significantly decreased in TSTR low dose group and the positive drug group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); the expression levels of IL-15 and IL-34 in the serum and the expression levels of IL-15 and IL-34 in the synovial membrane were significantly decreased in the low-dose TSTR group and the TG positive group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** The therapeutic effect of TSTR on CIA rats may be related to the inhibition of IL-15 and IL-34 expression in blood and synovium.

[**Key words**] total saponins of *Thladiatha dubia* root; collagen II; arthritis; interleukin-15 (IL-15); IL-34

类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种自身免疫功能障碍性疾病,其中以关节和滑膜的病变为最主要的损害,病情的反复及久治不愈常导致患者受累关节畸形甚至致残,严重影响了患者的身体健康和生活质量。单纯的抗炎镇痛不是治疗 RA 的根本目标,防止和减轻 RA 患者骨质的破坏已成关键,而近年来研究发现,中医药在治疗 RA 骨破坏方面具有良好的疗效,且安全可靠<sup>[1]</sup>。

赤雹根为葫芦科多年蔓生草本植物赤雹的干燥成熟块根,是我国满族民间长期沿用药材,常用于治疗腰腿痛、风湿痛、痛经、软组织损伤,疗效显著,且无明显的毒副作用<sup>[2]</sup>。课题组前期已对破骨细胞 (OC) 活化密切相关的正反馈因子的白细胞介素 (IL)-1 $\beta$ , IL-6, 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 及影响 OC 生成的骨保护素 (OPG)/核周因子- $\kappa$ B 受体活化因子配体 (RANKL)/核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 通路进行了研究<sup>[3-8]</sup>,证明了赤雹根总皂苷 (TSTR) 对完全弗氏佐剂诱导的类风湿性关节炎 (adjuvant arthritis, AA) 大鼠有很好的治疗作用,但是随着技术的进步,研究人员发现胶原诱导性关节炎 (CIA) 大鼠较 AA 模型大鼠其遗传背景和免疫病理学改变与临床 RA 更为相似,而成为目前研究类风湿性关节炎较为理想的动物模型。本实验旨在前期研究的基础上,采用 CIA 模型大鼠,选取雷公藤多苷 (TG) 为阳性药物,

对与 OC 形成,成正反馈作用的细胞因子 IL-15, IL-34 采用不同的实验方法,从基因、蛋白等层面研究,探讨 TSTR 治疗大鼠 CIA 的作用机制,为临床治疗 RA 寻求更多的治疗靶点,也为进一步研究开发赤雹根提供实验依据。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级雄性 Wistar 大鼠 80 只,体重 160 ~ 180 g,本研究所涉及的动物相关操作均在承德医学院动物伦理委员会的批准下进行 (批准号 20150526),购于北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK (京) 2012-0001,实验过程中,严格遵循承德医学院实验动物伦理委员会的准则,善待动物,无虐待动物行为。

**1.2 药物及试剂** TSTR 由承德医学院中药研究所药理毒理实验室制备,纯度 55.2%; TG 片 (安徽新陇海药业有限公司,批号 100301); 弗氏完全佐剂 (美国 Sigma 公司,批号 F5881); 牛 II 型胶原 (美国 Chondrex 公司,批号 20022); IL-15 及 IL-34 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒 (上海酶联科技有限公司,批号分别为 M1003009, M10099523); IL-15 及 IL-34 一抗 (美国 Santa Cruz 公司,批号分别为 SC-7889, SC-135176); 内参  $\beta$ -肌动蛋白 ( $\beta$ -actin) (美国 Bioworld 公司,批号 AP0060-50); 逆转录 PCR (RT-PCR) 转录及扩增试剂盒 (北京天根生化有限公司,批

号分别为 KR106-02, FP205-02); 引物设计采用上海生物工程股份有限公司, 其他试剂均为国产分析纯。

**1.3 仪器** SORVALL Biofuge Fresco 型冷冻离心机(德国 Kendro Labrotary 公司), DYY-6B 型稳压稳流电泳仪(北京市六一仪器厂), DU800 型紫外可见分光光度计(美国 Ckman Coulter 公司), ZF 型紫外透射反射分析仪(上海嘉鹏科技有限公司), Multiskan MK3 型酶联仪(芬兰 Thermo 公司), iCycler 型 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司)。

**2 方法**

**2.1 CIA 大鼠的制备** 大鼠 80 只, 按随机数字表法取 10 只作为正常组, 将其余大鼠用 5% 的水合氯醛按 10 mL·kg<sup>-1</sup> 腹腔麻醉后, 剪去大鼠背部及尾根部的毛, 皮内多点注射乳剂 0.25 mL(牛二型胶原 10 mL)2 g·L<sup>-1</sup> 与等体积的完全弗氏佐剂(CFA)混合的乳剂, 全程无菌操作, 充分乳化的标注是: 将乳化好的乳剂滴至放有水的烧杯中不会扩散, 正常组大鼠注射同体积的生理盐水。第 7 天取同样量的乳剂再加强注射一次。以首次注射后 14 d, 关节炎指数(AI)值 ≥ 4 分为造模成功。AI 值评判标准: 肢体关节肿胀按 0 ~ IV 级评分<sup>[9]</sup>。0 级为无红肿; I 级为指关节稍肿; II 级为小趾关节及足趾关节肿胀; III 级为踝关节以下足爪肿胀; IV 级为包括踝关节在内的全部足爪肿胀。AI 值 = 四肢肢体关节肿胀级评分之和(I 级为 1 分, 总分为 16 分)。

**2.2 大鼠的分组及给药** 将造模成功的大鼠随机分为模型组, TSTR 20, 40, 80 mg·kg<sup>-1</sup> 组和 TG 12 mg·kg<sup>-1</sup> 阳性药组, 各药物组均灌胃给予相应药物 1 次 1 d, 共 35 d, 正常组和模型组给予等体积蒸

馏水灌胃。

**2.3 评估 AI 值** 评估 AI 值, 观察大鼠造模前、成模后、给药结束后关节炎严重程度变化。

**2.4 苏木素-伊红(HE)染色观察滑膜病理变化** 采用多聚甲醛液将组织固定、常规脱水、石蜡包埋, 5 μm 切片, HE 染色, 光镜下观察其病理变化。

**2.5 ELISA 测定血清 IL-15, IL-34 的水平** 腹主动脉取血, 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清, 备用, 按照 ELISA 法试剂盒说明书操作。

**2.6 RT-PCR 检测滑膜中 IL-15, IL-34 mRNA 表达** 取新鲜组织 50 ~ 100 mg 置于匀浆器, 加入 Trizol 1 mL, 冰上充分研磨, 按 Trizol 法提取组织总 RNA; 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的完整性; 紫外分光光度计测定 RNA 纯度及浓度; 逆转录合成 cDNA 第一链(逆转录反应液配方按试剂盒说明书配制)逆转录反应程序为: 30 °C 10 min, 42 °C 30 min, 99 °C 5 min, 5 °C 5 min, 产物 cDNA 于 -20 °C 保存。PCR 扩增反应程序为: 94 °C 预变性 2 min, 94 °C 变性 30 s, 59 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 共 30 个循环, 产物于 -20 °C 保存。(IL-15, IL-34 与 β-actin 引物序列及退火温度见表 1, 反应液依照试剂盒说明书配制) PCR 反应产物分析: 取 PCR 产物 1 μL 与 6 × DNA loading buffer 5 μL 上样缓冲溶液混匀, 上样于含 EB 0.5 mg·L<sup>-1</sup> 的 2% 琼脂糖凝胶, 以 120 V 电压进行电泳, 在紫外透射仪下观察并摄取图像。应用 Quantity One 4.6.2 凝胶定量分析软件测定图像的灰度值, 进行定量分析。各目的基因 mRNA 表达的相对水平结果以相对灰度值, 即目的条带与内参 β-actin 条带灰度值的比值来表示。

表 1 IL-15, IL-34 与 β-actin 引物序列及退火温度

Table 1 Sequences and annealing temperature of IL-15, IL-34 and β-actin primer

基因名称	引物序列	产物大小/bp
IL-15	上游 5'-GTGACTTTCATCCCAGTTGC-3'	125
	下游 5'-TGCAAGGTAGAGCACGTTTC-3'	
IL-34	上游 5'-AGCCTTGTTGGATAAAGTCTTC-3'	123
	下游 5'-GACTCTGGACTGTGGGATG-3'	
β-actin	上游 5'-TGTCACCAACTGGGACGATA-3'	165
	下游 5'-GGGGTGTGAAGGTCTCAAA-3'	

注: 退火温度均为 59 °C。

**2.7 蛋白质免疫印迹(Western blot)法测定膝关节滑膜中 IL-15, IL-34 的蛋白表达** 取新鲜组织 50 ~ 100 mg 置于匀浆器, 冰上研磨提取组织总蛋白; BCA 法测定蛋白浓度; SDS-PAGE 电泳, 5% 的浓缩胶 80 V, 30 min, 15% 的分离胶 120 V, 45 min; 150 A 转膜 2 h; 牛奶封闭 2 h; 一抗过夜; 洗膜 15 min,

2 次, 10 min, 1 次; 二抗孵育 2 h; 洗膜 5 min, 3 次; 显影、定影; 胶片经扫描后, 采用 Quantity One 软件对显影出的条带进行分析, 计算分析 IL-15, IL-34 条带与 β-actin 条带的灰度比值, 作为 IL-15, IL-34 蛋白的相对表达水平。

**2.8 统计学分析** 采用 SPSS 19.0 统计软件处理

数据,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对 CIA 大鼠 AI 值的影响** 给药前,与正常组比较,模型组和各药物组大鼠 AI 值增高,差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ),与模型组比较,各药物组之间差异无统计学意义,模型建立成功;给药后,与正常组比较,各给药组 AI 值降低,但差异无统计学意义,与模型组比较,TSTR 各剂量组和 TG 组大鼠 AI 值显著降低,差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。见表 2。

表 2 TSTR 对 CIA 大鼠 AI 值的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effect of TSTR on AI in CIA rats ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	给药前	给药后
正常	-	0	0
模型	-	$12.25 \pm 2.32^{2)}$	$13.38 \pm 0.92^{2)}$
TSTR	20	$12.50 \pm 2.20^{2)}$	$1.25 \pm 0.71^{4)}$
	40	$11.88 \pm 2.36^{2)}$	$5.75 \pm 0.71^{4)}$
	80	$12.13 \pm 2.17^{2)}$	$8.63 \pm 1.60^{4)}$
TG	12	$12.50 \pm 1.60^{2)}$	$2.25 \pm 0.71^{4)}$

注:与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>4)</sup>  $P < 0.01$ (表 3~5 同)。

**3.2 对 CIA 大鼠滑膜组织病理变化的影响** 在光学显微镜下观察,正常组的滑膜组织排列较模型组疏松,未见充血、水肿等的炎性现象,滑膜细胞增生及血管翳形成不可见;与正常组比较,模型组滑膜组织细胞排列密集且凌乱,滑膜组织细胞数量较多,出现充血及大量炎性细胞,可观察到淋巴细胞;与模型组比较,TSTR 低剂量组及 TG 组滑膜组织充血及炎性细胞数量明显减少,TSTR 其他剂量组滑膜组织病理变化不明显。见图 1。

### 3.3 对 CIA 大鼠血清中 IL-15,IL-34 表达的影响

与正常组比较,模型组大鼠血清 IL-15,IL-34 含量显著升高,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ );与模型组比较,TSTR 20,40  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组及 TG 组 IL-15 含量明显低,差异有统计学意义 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ),TSTR 80  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组 IL-15 含量降低,但差异不具有统计学意义,TSTR 各剂量组及 TG 组 IL-34 含量显著降低,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。见表 3。

**3.4 对 CIA 大鼠滑膜中 IL-15,IL-34 mRNA 表达的影响** 各组内参  $\beta$ -actin mRNA 表达水平较均一,与正常组比较,IL-15,IL-34 mRNA 表达模型组显著增高,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ );与模型组比较,TSTR 各剂量组和 TG 组大鼠 IL-15,IL-34 mRNA

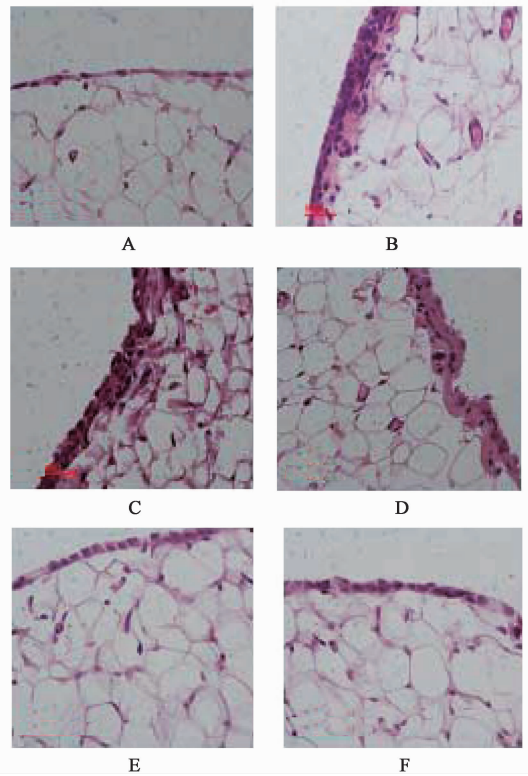


图 1 TSTR 对 CIA 大鼠滑膜组织病理变化的影响 (HE,  $\times 400$ )

Fig. 1 Effect of TSTR on pathological change of synovial tissue in CIA rats (HE,  $\times 400$ )

表 3 TSTR 对 CIA 大鼠血清中 IL-15,IL-34 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Effect of TSTR on IL-15, IL-34 expression in serum of CIA rats ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	IL-15	IL-34
正常	-	$0.04 \pm 0.01$	$0.03 \pm 0.00$
模型	-	$0.24 \pm 0.08^{2)}$	$0.07 \pm 0.01^{2)}$
TSTR	20	$0.05 \pm 0.02^{4)}$	$0.03 \pm 0.01^{4)}$
	40	$0.14 \pm 0.04^{3)}$	$0.05 \pm 0.01^{4)}$
	80	$0.16 \pm 0.05$	$0.05 \pm 0.01^{4)}$
TG	12	$0.07 \pm 0.02^{4)}$	$0.03 \pm 0.01^{4)}$

显著降低,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ),且从差值来看,TSTR 20  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组 IL-15,IL-34 mRNA 表达比 TSTR 40,80  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  低,接近 TG 组表达。见图 2 及表 4。

**3.5 对 CIA 大鼠滑膜中 IL-15,IL-34 蛋白表达的影响** 与正常组比较,模型组大鼠滑膜中 IL-15,IL-34 蛋白表达显著增高,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ),与模型组比较,TSTR 各剂量组和 TG 组 IL-15,IL-34 蛋白表达明显低,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,

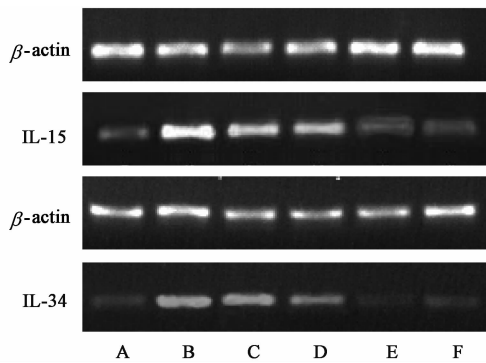


图 2 各组大鼠滑膜中 IL-15, IL-34 mRNA 的表达  
Fig. 2 Expression of IL-15, IL-34 mRNA in synovial membrane of each group

表 4 TSTR 对 CIA 大鼠滑膜中 IL-15, IL-34 mRNA 表达的影响  
( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 4 Effect of TSTR on expression of IL-15, IL-34 mRNA in synovial membrane of CIA rats ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	IL-15/β-actin	IL-34/β-actin
正常	-	0.22 ± 0.03	0.17 ± 0.02
模型	-	1.14 ± 0.07 <sup>2)</sup>	0.83 ± 0.06 <sup>2)</sup>
TSTR	20	0.39 ± 0.01 <sup>4)</sup>	0.25 ± 0.05 <sup>4)</sup>
	40	0.77 ± 0.06 <sup>4)</sup>	0.58 ± 0.09 <sup>4)</sup>
	80	0.83 ± 0.04 <sup>4)</sup>	0.72 ± 0.04 <sup>4)</sup>
TG	12	0.27 ± 0.02 <sup>4)</sup>	0.23 ± 0.04 <sup>4)</sup>

$P < 0.01$ ), 且差值和剂量成反比关系, 证明 TSTR 低剂量比中、高剂量效果好。见图 3, 表 5。

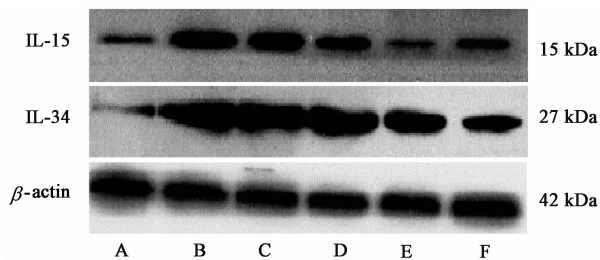


图 3 各组大鼠滑膜中 IL-15, IL-34 蛋白的表达  
Fig. 3 Expression of IL-15, IL-34 protein in synovial membrane of each group rats

表 5 TSTR 对 CIA 大鼠滑膜中 IL-15, IL-34 蛋白表达的影响  
( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 5 Effect of TSTR on expression of IL-15, IL-34 protein in synovial membrane of CIA rats ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	IL-15/β-actin	IL-34/β-actin
正常	-	0.44 ± 0.07	0.38 ± 0.06
模型	-	2.04 ± 0.08 <sup>2)</sup>	1.43 ± 0.04 <sup>2)</sup>
TSTR	20	0.66 ± 0.10 <sup>4)</sup>	0.98 ± 0.03 <sup>4)</sup>
	40	0.91 ± 0.07 <sup>4)</sup>	1.24 ± 0.06 <sup>4)</sup>
	80	1.23 ± 0.15 <sup>4)</sup>	1.31 ± 0.17 <sup>3)</sup>
TG	12	0.75 ± 0.10 <sup>4)</sup>	0.7 ± 0.06 <sup>4)</sup>

#### 4 讨论

全球成人 RA 的发病率为 0.5% ~ 1.0%, RA 是一种自身免疫功能障碍性疾病, 以进行性关节软骨和骨的毁损为特征, 伴有多系统、慢性、炎症性疾病, 严重影响患者的生活质量<sup>[10]</sup>。目前为止, 医学界还没有攻克 RA 这一世界性的难题, 研究表明, 骨破坏是 RA 患者致残的主要原因, 虽相关机制仍未完全阐明, 但破骨细胞 (osteoclast, OC) 在关节炎骨破坏中的作用已被大量实验所证实。多种细胞因子参与调控 OC 的生成、活化, 成为近年来 RA 研究的重点, 其中 IL-1, 肿瘤坏死因子-α (TNF-α), NF-κB 受体激活蛋白配体 (RANKL), 巨噬细胞集落刺激因子 (M-CSF), IL-6, IL-7, IL-15 等对 OC 的形成起正反馈作用<sup>[11]</sup>。OC 及其调控因子的研究成为治疗 RA 骨破坏的潜在靶点, 具有重要的研究意义和实用价值。

IL-15 目前被认为是炎症反应中的上游细胞因子, 可以启动 IL-1, IL-6, GM-CSF 等一系列下游分子在内的炎症反应, 具有明显的促炎症效应, 还对单核巨噬细胞和中性粒细胞的活化有调节作用, 能增强血管内皮细胞与白细胞之间的黏附, 有助于白细胞聚集于炎症局部, 从而扩大炎症反应; IL-15 还能促进 T 细胞生长和分化, 加速 B 细胞增殖, 促进 OC 分化, 加速 RA 骨破坏的发生, 同时, IL-15 可诱导分泌骨质降解关键性酶 (MMP-3 和 MMP-1) 加重骨质破坏; IL-34 则是一种高选择性分泌蛋白, 其受体为集落刺激因子-1 受体 (CSF-1R)<sup>[12-13]</sup> 在破骨细胞成熟过程中, 可完全替代 M-CSF 在 RANKL 介导的作用, 即在 M-CSF 缺失的情况下, 也可作用于破骨前体细胞, 促使 OC 分化、成熟。

RA 是一种反复发作性、以肢体小关节疼痛为主要病症的疾病, 传统医学中多把此类病症归为“痹证”范畴, 虽然没有 RA 这一病名, 但是从患者体征、临床症状等, 可以看出古代医家对该病认识由来已久。《黄帝内经》中就提出了“痹”病, 如《素问·逆调论》所云“……病名曰骨痹, 是人当挛节也”。东汉张仲景在《金匮要略·痉湿喝病脉证》中指出“病者, 一身尽疼, 发热, 日晡所剧者, 名风湿”。古代医家多认为气血不足, 营卫失调是此病发生的重要内因, 风寒湿热之邪是本病发生的重要外因, 治疗的原则多从这几个方面辨证施治, 遣方用药。中药雷公藤功效祛风除湿、通络止痛, 从雷公藤中提取制备的 TG 片具有较强的抗炎及免疫抑制作用, 长期以来在用于治疗 RA 方面疗效显著, 但是近年来发现其安全范围较窄<sup>[14]</sup>, 寻找毒副作用小, 疗效显著

的抗 RA 药物尤为迫切。本实验采用免疫机制和病理学改变与临床 RA 更为相似的 CIA 模型大鼠研究 TSTR 对 RA 的治疗作用,选取 TG 片为阳性药物,结果显示 TSTR 低、中剂量能够有效的降低 CIA 大鼠 AI 值, TSTR 对 CIA 大鼠 IL-15, IL-34 血清含量, 蛋白、基因等均有不同程度的抑制或改变, 这提示 TSTR 治疗大鼠 CIA 的机制可能与抑制 IL-15, IL-34 的表达有关, TSTR 通过降低 CIA 模型大鼠体内 IL-15, IL-34 的含量, 抑制骨滑膜组织增生, 减轻软骨和骨破坏, 从而发挥抗 RA 的作用。因此, TSTR 有开发为治疗 RA 良好药物的前景。

[参考文献]

[1] 周平生, 贾冬梅, 程仕萍, 等. 类风湿性关节炎骨破坏的中医药研究进展[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(11): 2446-2449.

[2] 宋立人, 红恂, 丁绪亮, 等. 现代中药大辞典. 上册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 1022.

[3] 洪文婷, 刘永平, 梅爱敏, 等. 赤菴根总皂苷对佐剂性关节炎大鼠 IL-1 $\beta$  活性的影响[J]. 中国药房, 2015, 26(31): 4368-4370.

[4] 祝晴晴, 梅爱敏, 刘永平, 等. 赤菴根总皂苷对类风湿性关节炎大鼠 NF- $\kappa$ B p65 和 IL-6 表达的影响[J]. 中药药理学与临床, 2015, 35(6): 62-65.

[5] 陈建双, 于海荣, 张玉玲, 等. 赤菴根总皂苷对类风湿性关节炎大鼠血清细胞因子的影响[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(5): 1097-1098.

[6] 顾士栋, 阎昊, 佟继铭, 等. 赤菴根总皂苷对类风湿性

关节炎大鼠足跖组织中 NF- $\kappa$ B p65 活性作用的研究[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(8): 1845-1847.

[7] 赵春颖, 刘永平, 马帅, 等. 赤菴根总皂苷对佐剂性关节炎大鼠血清及足 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 水平的影响[J]. 中药药理学与临床, 2015, 31(2): 34-38.

[8] 邹君, 刘永平, 顾世栋, 等. 赤菴根总皂苷对类风湿性关节炎大鼠血清 OPG/RANKL 水平的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(8): 218-220.

[9] 吴虹, 陈尹, 魏伟, 等. 梔子总苷对大鼠佐剂性关节炎治疗作用及部分机制的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(11): 49-52.

[10] Kvien T K. Epidemiology and burden of illness of rheumatoid arthritis [J]. Pharmacoeconomics, 2004, 22(S1): 1-12.

[11] 王霖, 王文杰. 破骨细胞在类风湿性关节炎骨破坏中的作用及其调控机制[J]. 生理科学进展, 2004, 35(3): 269-272.

[12] LIN H, Lee E, Hestir K, et al. Discovery of a cytokine and its receptor by functional screening of the extracellular proteome [J]. Science, 2008, 320(5877): 807-811.

[13] 周学平, 周玲玲, 陈晨, 等. 清风通痹颗粒干预类风湿性关节炎破骨细胞分化相关因子分泌的研究[J]. 中国免疫学杂志, 2014, 30(2): 202-208.

[14] 李莉霞, 金若敏, 李仪奎, 等. 雷公藤多苷抗炎作用的安全范围及抗炎机制[J]. 中国新药与临床杂志, 2006, 25(2): 91-95.

[责任编辑 周冰冰]