

汝无糯鸡抗类风湿性关节炎的机制

曾肆, 谭谦, 童妍*

(西南交通大学 生命科学与工程学院, 成都 610031)

[摘要] **目的:**研究彝族药汝无糯鸡对佐剂性关节炎(AA)大鼠模型的滑膜病变及滑膜细胞核转录因子- κ B(NF- κ B), 基质金属蛋白酶-2(MMP-2)和MMP-9表达的影响,探讨其抗类风湿性关节炎(RA)的作用机制。**方法:**60只SD大鼠随机分成空白组,模型组,尼美舒利组,汝无糯鸡高、中、低剂量组(按生药量计5.0,2.5,1.25 g·kg⁻¹),采用完全弗氏佐剂建立AA大鼠模型,灌胃给药28 d后取样并处死大鼠,苏木素-伊红(HE)染色光镜下观察大鼠踝关节滑膜组织形态学变化,酶联免疫吸附法(ELISA)测定大鼠血清白细胞介素(IL)-1 β ,IL-6,IL-10,肿瘤坏死因子- α (TNF- α),一氧化氮(NO),前列腺素E₂(PGE₂)含量,免疫组化法检测大鼠滑膜组织中NF- κ B,MMP-2,MMP-9的表达水平。**结果:**彝族药汝无糯鸡组明显减轻滑膜细胞的异常增殖,减少炎性细胞浸润,各剂量组不同程度降低AA大鼠血清中IL-1 β ,IL-6,TNF- α ,NO,PGE₂的含量和升高IL-10的含量,降低关节滑膜组织NF- κ B,MMP-2,MMP-9的蛋白含量($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论:**彝族药汝无糯鸡治疗RA的作用机制可能是通过下调AA大鼠滑膜组织中NF- κ B,MMP-2,MMP-9的蛋白表达,抑制炎性细胞因子生成,从而加速细胞凋亡,改善滑膜病变。

[关键词] 彝族药汝无糯鸡; 类风湿性关节炎; 细胞核转录因子; 基质金属蛋白酶; 细胞因子

[中图分类号] R285.5; R29; R242 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)02-0146-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018020146

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171102.1906.058.html>

[网络出版时间] 2017-11-02 19:06

Mechanism on Anti-rheumatoid Arthritis of *Sarcandra hainanensis*

ZENG Si, TAN Qian, TONG Yan*

(College of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of *Sarcandra hainanensis* on synovial lesions and the expressions of nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B), matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), and MMP-9 in synoviocytes of rats with adjuvant arthritis (AA), and discuss relevant mechanism for anti-rheumatoid arthritis (RA). **Method:** Sixty rats were randomly divided into control group, model group, nimesulide group, and high, medium and low-dose *S. hainanensis* groups (5.0, 2.5, 1.25 g·kg⁻¹). Except for the control group, each group was injected with complete Freund's adjuvant (CFA) to establish the AA model. The rats were intragastrically (*ig*) administered for 28 days, then sampled and put to death. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes in synovial tissues. The levels of interleukin (IL) -1 β , IL-6, IL-10, tumor necrosis factor- α (TNF- α), nitric oxide (NO), and prostaglandin E₂ (PGE₂) in the serum of rats were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The expressions of NF- κ B, MMP-2 and MMP-9 in synovial tissues were detected by immunohistochemistry. **Result:** Compared with model group, the levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α , NO and PGE₂ in serum of *S. hainanensis* group were decreased in different degrees, while the content of IL-10 was significantly increased. The expressions of NF- κ B, MMP-2, and MMP-9 in synovial tissues of *S. hainanensis* group

[收稿日期] 20170814(025)

[基金项目] 凉山州技术研究开发与推广应用项目(14YYJS0045)

[第一作者] 曾肆,在读硕士,从事中药药理的研究,Tel:13308060344,E-mail: zengsil29@163.com

[通信作者] *童妍,博士,硕士生导师,从事中药药理与毒理的研究,Tel:13618028642,E-mail: tongyanmail@126.com

were lower than those in model group to varying degrees ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** *S. hainanensis* has an obvious anti-inflammatory effect on AA rats. Its mechanism of action may be down-regulation of the expressions of NF- κ B, MMP-2, and MMP-9 in synovial tissues, so as to accelerate apoptosis and alleviate synovial lesions of RA.

[**Key words**] *Sarcandra hainanensis*; rheumatoid arthritis; nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B); matrix metalloproteinases; cytokines

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种对称性的慢性自身免疫疾病,主要表现为滑膜炎、骨侵蚀、关节肿痛及变形等^[1]。其中滑膜炎和关节损害是RA发病机制中的重要部分,主要表现为滑膜细胞异常增殖和炎性细胞浸润,而白细胞介素(interleukin, IL)-1 β , IL-6, 肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等炎性介质以及滑膜血管翳侵入软骨分泌的基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)发挥着重要作用,造成滑膜炎和骨质的损伤^[2-3]。研究证实^[4],核转录因子- κ B(NF- κ B)的信号转导通路是炎症介质TNF- α , IL-10等在细胞内信号转导的常见途径。Yamasaki等^[5]研究表明NF- κ B可能是治疗RA的突破口。另外, MMPs与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的功能有紧密联系,对ECM的降解是RA患者关节破坏的必要环节^[6-7],其中, MMP-2, MMP-9是水解ECM导致关节破坏的关键酶。

当前抗类风湿药的种类繁多,但有的作用不明显,有的毒性和副作用较大^[8-9],而传统中医药对类风湿的治疗常有良效^[10-12]。彝族药汝无糯鸡,别名劳伤药、接骨草、山羊耳等,为金粟兰科植物海南草珊瑚的全草。据《中华本草》,《彝族药志》记载,汝无糯鸡性平,味苦微麻,具有清热解毒,活血祛瘀,舒筋止痛,通利关节之功效,可用于治疗风湿性关节炎、劳伤腰痛^[13-14]。在彝族人长期的行医用药实践中,常被用于治疗风湿痛症且效果显著,但其作用机制尚不明确。本课题组前期研究证实该药乙醇浸膏具有抗炎镇痛作用,并在RA的治疗中具有良好疗效^[15-16]。为进一步研究彝族药汝无糯鸡其他活性部位对RA的治疗作用,本实验拟通过观察彝族药汝无糯鸡石油醚部位对AA大鼠踝关节的滑膜组织中NF- κ B, MMP-2和MMP-9表达的影响,探讨其治疗RA可能的作用机制,从而为开发彝族药汝无糯鸡用于治疗RA提供更多理论依据。

1 材料

1.1 药物 彝族药汝无糯鸡产自凉山州,由四川省中药学校的闵伯清老师鉴定为金粟兰科植物海南草珊瑚 *Sarcandra hainanensis* 的全草。取该药材粉末

3 kg,用95%乙醇通过渗滤提取,合并提取液后减压浓缩,再加入适量的蒸馏水溶解,用石油醚萃取,收集石油醚层,减压浓缩得总浸膏18.42 g,即汝无糯鸡石油醚部位,得率0.614%,4℃冰箱保存备用。尼美舒利胶囊[远大医药(中国)有限公司,批号H20010751]。

1.2 动物 SD大鼠60只,雄性,体重(200±20)g,购自成都达硕实验动物有限公司,合格证号SCXK(川)2014-0189,实验的开展取得了成都达硕实验动物有限公司动物伦理委员会批准(编号成达[2016]0201)。

1.3 试剂 IL-1 β 试剂盒,IL-6试剂盒,IL-10试剂盒,一氧化氮(NO)试剂盒,前列腺素E₂(PGE₂)试剂盒,TNF- α 试剂盒(英国艾博抗公司生产,北京永辉生物科技有限公司进口分装,批号分别为XL-Er0187, XL-Er0196, XL-Er0201, XL-Er1184, XL-Er0308, XL-Er0359);NF- κ B抗体,兔多克隆抗体[购于艾博抗(上海)贸易有限公司,批号均为ab16502];MMP-2兔多克隆抗体,MMP-9兔多克隆抗体(购于北京博奥森生物技术有限公司,批号分别是bs-0412R, bs-4593R);弗氏完全佐剂(美国Sigma公司,批号为Lot SLBM2183V)。

1.4 仪器 Multiskan Mk3型酶标仪(美国Thermo Fisher公司);RM2016型转轮式切片仪(德国Leica公司);TSJ-II型全自动封闭式组织脱水机,PHY-III型病理组织漂烘仪(常州市中威电子仪器有限公司);BMJ-III型包埋机(常州郊区中威电子仪器厂);BA400Digital数码显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司)。

2 方法

2.1 造模及给药 60只SD大鼠被随机分成6组,空白组,模型组,尼美舒利组(0.03 g·kg⁻¹),汝无糯鸡高、中、低剂量组(含生药5.0, 2.5, 1.25 g·kg⁻¹) (根据预实验结果),每组10只,除空白组外,对其他5组大鼠每只大鼠右后足趾皮内注射0.1 mL弗氏完全佐剂,建立佐剂性关节炎(AA)大鼠模型^[15]。致炎后药物组连续灌胃给药(ig)28 d,空白组、模型

组大鼠灌胃等量蒸馏水。

2.2 大鼠血清细胞因子的含量测定 给药 28 d 后,各组大鼠股动脉采血后脱白处死,3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,留上层血清 4 ℃ 保存待测。酶联免疫吸附法(ELISA)测定大鼠血清中 IL-1β,IL-6,IL-10, TNF-α,NO,PGE₂ 的含量。向预先包被了 IL-1β,IL-6,IL-10,TNF-α,NO,PGE₂ 单克隆抗体的酶标孔中加入 IL-1β,IL-6,IL-10,TNF-α,NO,PGE₂,温育;温育后,加入生物素标记的抗 IL-1β,IL-6,IL-10,NO,PGE₂,TNF-α 抗体,再与链霉亲和素-HRP 结合,形成免疫复合物,再经过温育和洗涤,去除未结合的酶,然后加入显色剂 A,B,37 ℃ 避光显色 10 min,加终止液终止反应,以空白组调零,450 nm 依序测定各孔吸光度 A。

2.3 大鼠踝关节病理形态的变化 大鼠股动脉取血脱白处死后,取发炎侧大鼠足踝关节,10% 中性甲醛固定,5% 硝酸脱钙,不同浓度乙醇梯度脱水,用石蜡包埋、切片,苏木素-伊红(HE)染色,在光镜下检查是否有炎细胞浸润、滑膜细胞异常增殖、关节间隙变窄和骨侵蚀等现象。

2.4 大鼠滑膜组织 NF-κB, MMP-2, MMP-9 蛋白表达的测定 免疫组化染色 SP 法检查大鼠滑膜组织 NF-κB, MMP-2, MMP-9 蛋白基因表达,并测定 3 种蛋白的积分吸光度 IA。切片常规脱蜡至水,0.3% 过氧化氢灭活内源性过氧化物酶,水洗后进行抗原修复;滴加血清室温孵育 20 min,滴加一抗 4 ℃ 过夜,PBS 洗 3 次;滴加二抗,37 ℃ 孵育 30 min,PBS 洗 3 次;SP 复合物孵育 30 min,PBS 洗 4 次;DAB 试剂盒显色,2 min 后水洗;苏木素复染,最后脱水,透明并封片。采用美国 Media Cybernetics 公司生产的 Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统测定所采集全部图像的 IA,若每张切片采集多张图像,则取平均值。

2.5 统计学分析 采用 SPSS 17.0 统计软件分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间均值比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),两两比较采用 SNK-q 检验方法, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

3 结果

3.1 汝无糯鸡对 AA 大鼠血清中 IL-1β,IL-6,IL-10 含量的影响 与空白组比较,模型组 AA 大鼠血清中 IL-1β,IL-6 的含量显著增加($P < 0.01$),而 IL-10 的含量减少($P < 0.05$);相比模型组,尼美舒利组和彝族药汝无糯鸡组不同程度的抑制大鼠血清中 IL-1β,IL-6 生成,汝无糯鸡中、高剂量组有显著差异($P < 0.05$),同时 IL-10 的含量明显升高($P <$

0.01)。见表 1。

表 1 汝无糯鸡对 AA 大鼠血清中 IL-1β,IL-6,IL-10 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of *Sarcandra hainanensis* on levels of IL-1β, IL-6, and IL-10 in serum of AA rats($\bar{x} \pm s, n = 10$) ng·L⁻¹

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	IL-1β	IL-6	IL-10
空白	-	9.30 ± 1.08	8.50 ± 0.77	124.62 ± 12.60
模型	-	11.67 ± 0.94 ²⁾	10.79 ± 0.99 ²⁾	81.67 ± 19.25 ¹⁾
尼美舒利	0.03	10.20 ± 0.92 ³⁾	9.44 ± 1.06 ³⁾	103.24 ± 18.82 ³⁾
汝无糯鸡	5.0	9.29 ± 1.10 ⁴⁾	9.45 ± 1.81 ³⁾	117.89 ± 39.66 ⁴⁾
	2.5	10.24 ± 1.57 ³⁾	9.39 ± 1.30 ³⁾	115.14 ± 20.07 ⁴⁾
	1.25	10.44 ± 1.72	9.66 ± 1.58	114.88 ± 22.99 ⁴⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~5 同)。

3.2 汝无糯鸡对 AA 大鼠血清中 TNF-α,NO,PGE₂ 含量的影响 和空白组相比,模型组显著升高 AA 大鼠血清中 TNF-α,NO,PGE₂ 的含量($P < 0.01$);而与模型组比,尼美舒利组和彝族药汝无糯鸡中剂量组 AA 大鼠血清中 TNF-α,NO,PGE₂ 的含量均有下降($P < 0.05$),汝无糯鸡高剂量组显著降低($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 汝无糯鸡对 AA 大鼠血清中 TNF-α,NO,PGE₂ 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of *Sarcandra hainanensis* on levels of TNF-α, NO, and PGE₂ in serum of AA rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	TNF-α /ng·L ⁻¹	NO /μmol·L ⁻¹	PGE ₂ /ng·L ⁻¹
空白	-	166.27 ± 15.97	31.64 ± 2.80	291.03 ± 24.31
模型	-	257.83 ± 32.03 ²⁾	43.96 ± 6.49 ²⁾	409.39 ± 30.79 ²⁾
尼美舒利	0.03	225.29 ± 43.86 ³⁾	35.90 ± 8.99 ³⁾	335.80 ± 30.86 ⁴⁾
汝无糯鸡	5.0	193.02 ± 48.03 ⁴⁾	33.00 ± 4.69 ⁴⁾	337.36 ± 70.98 ⁴⁾
	2.5	207.06 ± 61.03 ³⁾	33.26 ± 3.74 ⁴⁾	341.71 ± 45.70 ³⁾
	1.25	236.25 ± 58.34	36.07 ± 9.62 ³⁾	362.62 ± 61.53

3.3 汝无糯鸡对 AA 大鼠足踝关节滑膜组织病理形态的影响 空白组滑膜细胞排列有序,无炎细胞浸润、纤维组织渗出。而模型组滑膜细胞大量增殖,排列松散混乱,大量炎细胞浸润,或形成血管翳,软骨表面损伤。而相比于模型组,彝族药汝无糯鸡组滑膜细胞增厚、纤维组织渗出等现象均有所改善,只有少量炎细胞浸润、巨噬细胞有轻度增生。见图 1。

3.4 汝无糯鸡对 AA 大鼠足踝关节滑膜组织中 NF-

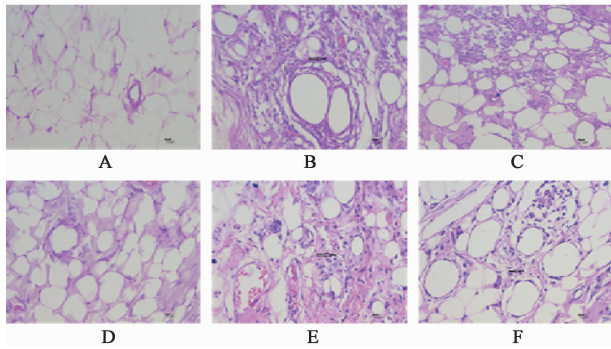


图 1 汝无糯鸡对 AA 大鼠滑膜组织病理学的影响(HE, × 400)

Fig. 1 Effect of *Sarcandra hainanensis* on synovial tissue pathology of AA rats (HE, × 400)

κB 表达的影响 NF-κB 蛋白定位于细胞浆,阳性细胞的胞浆呈棕黄色。相较于空白组,模型组 AA 大鼠滑膜组织中 NF-κB 含量显著提升($P < 0.01$);与模型组比,尼美舒利组和彝族药汝无糯鸡高、中剂量组的 NF-κB 蛋白含量不同程度减少($P < 0.01, P < 0.05$)。见表 3,图 2。

表 3 汝无糯鸡对 AA 大鼠滑膜组织中 NF-κB 蛋白水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of *Sarcandra hainanensis* on levels of NF-κB in synovial tissue of AA rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	IA
空白	-	0.172 3 ± 0.005 9
模型	-	0.209 8 ± 0.003 9 ²⁾
尼美舒利	0.03	0.178 2 ± 0.009 7 ⁴⁾
汝无糯鸡	5.0	0.183 5 ± 0.001 1 ⁴⁾
	2.5	0.191 3 ± 0.008 2 ³⁾
	1.25	0.202 8 ± 0.010 9

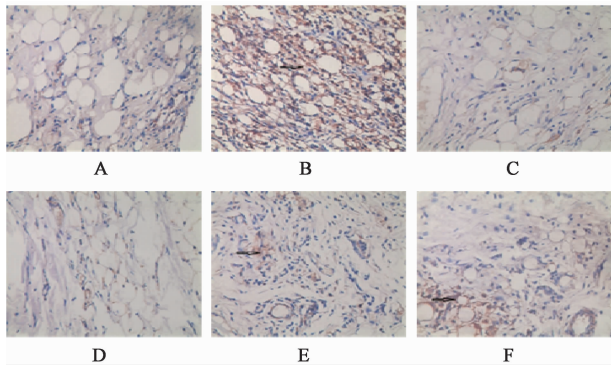


图 2 汝无糯鸡对 AA 大鼠滑膜组织中 NF-κB 蛋白水平的影响 (IHC, × 400)

Fig. 2 Effect of *Sarcandra hainanensis* on levels of NF-κB in synovial tissue of AA rats (IHC, × 400)

3.5 汝无糯鸡对 AA 大鼠足踝关节滑膜组织中 MMP-2 表达的影响 MMP-2 蛋白定位于细胞浆,阳性细胞的胞浆呈棕黄色。与空白组比较,模型组 AA 大鼠滑膜组织中 MMP-2 的含量增加($P < 0.01$);而与模型组相比,尼美舒利组和彝族药汝无糯鸡组的 MMP-2 蛋白含量均不同程度下降($P < 0.01, P < 0.05$)。见表 4,图 3。

表 4 汝无糯鸡对 AA 大鼠滑膜组织中 MMP-2 蛋白水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of *Sarcandra hainanensis* on levels of MMP-2 in synovial tissue of AA rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	IA
空白	-	0.163 7 ± 0.004 7
模型	-	0.186 1 ± 0.006 8 ²⁾
尼美舒利	0.03	0.164 3 ± 0.006 8 ⁴⁾
汝无糯鸡	5.0	0.170 0 ± 0.009 4 ⁴⁾
	2.5	0.175 9 ± 0.007 2 ³⁾
	1.25	0.176 7 ± 0.005 2 ³⁾

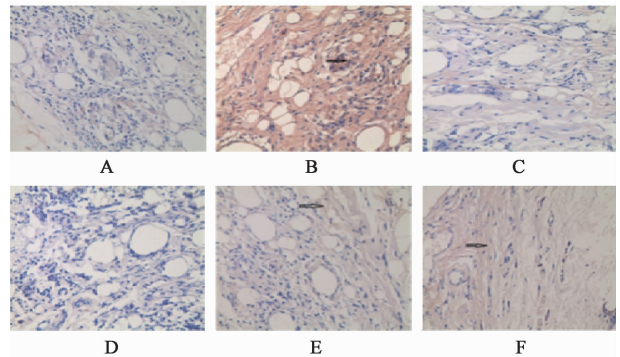


图 3 汝无糯鸡对 AA 大鼠滑膜组织中 MMP-2 蛋白水平的影响 (IHC, × 400)

Fig. 3 Effect of *Sarcandra hainanensis* on levels of MMP-2 in synovial tissue of AA rats (IHC, × 400)

3.6 汝无糯鸡对 AA 大鼠足踝关节滑膜组织中 MMP-9 表达的影响 MMP-9 蛋白定位于细胞浆,阳性细胞的胞浆呈棕黄色。和空白组相比,模型组 AA 大鼠滑膜组织中 MMP-9 蛋白水平有所提高($P < 0.01$)。与模型组比,尼美舒利组和彝族药汝无糯鸡组 AA 大鼠滑膜组织中的 MMP-9 含量均有不同程度降低($P < 0.01$)。见表 5,图 4。

4 讨论

RA 滑膜异常增生类似肿瘤性质,引发对软骨和骨的不可逆损伤,从而致使关节僵硬变形以及功能减退或完全丧失。在 RA 病变过程中涉及大量炎症因子,如 TNF-α, IL-1β, NO, PGE₂ 等。TNF-α 能刺激多核细胞产生前列腺素(PG)等炎症介质,促使

表 5 汝无糯鸡对 AA 大鼠滑膜组织中 MMP-9 蛋白水平的影响
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effect of *Sarcandra hainanensis* on levels of MMP-9 in synovial tissue of AA rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	IA
空白	-	0.171 1 ± 0.002 3
模型	-	0.192 3 ± 0.001 4 ²⁾
尼美舒利	0.03	0.171 4 ± 0.004 8 ⁴⁾
汝无糯鸡	5.0	0.172 8 ± 0.002 3 ⁴⁾
	2.5	0.179 7 ± 0.007 8 ³⁾
	1.25	0.181 7 ± 0.010 0

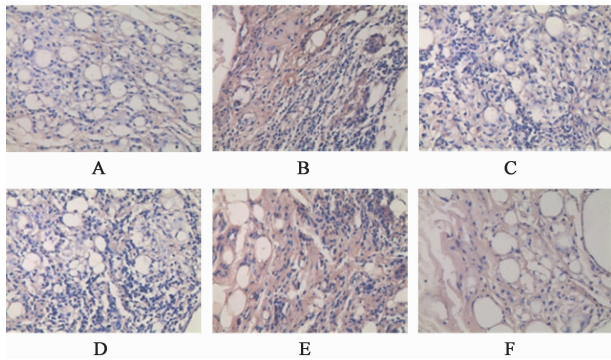


图 4 汝无糯鸡对 AA 大鼠滑膜组织中 MMP-9 蛋白水平的影响
(IHC, × 400)

Fig. 4 Effect of *Sarcandra hainanensis* on levels of MMP-9 in synovial tissue of AA rats (IHC, × 400)

破骨细胞和软骨细胞产生胶原降解酶和 MMPs, 导致软骨及骨破坏^[17]。TNF- α 是一个主要的炎性因子, IL-1 β 是关节组织破坏的决定性细胞因子, 因此在对 RA 的治疗中, 必须对 IL-1 β 和 TNF- α 实行双重阻断, 才能阻止关节的破坏。NF- κ B 是涉及炎性细胞因子表达的核转录因子, 在 RA 发展过程中有关键的调控作用, 主要表现为主导炎性反应、刺激滑膜细胞增殖、介入关节结构重建等。NF- κ B 被激活后, I κ B 蛋白激酶(NF- κ B 的抑制蛋白)从 NF- κ B 上降解, 使 NF- κ B 的核定位序列(Nuclear localization sequence, NLS)暴露而发生核移位, 进而调节某些基因的表达, 使一些促炎细胞因子(如 TNF- α , IL-1 等)表达增加, 引起滑膜病变。另外, NF- κ B 还可通过激活诱导型一氧化氮合成酶(NOS)及环氧合酶(COX-2)途径产生具有组织破坏性的 NO, PGE₂^[18]。

RA 易发生多关节进行性破坏, MMPs 在 RA 关节软骨及骨损伤中起着关键作用, 相关研究^[19]已经表明 MMPs 能分解软骨与骨中胶原、蛋白多糖及 ECM 大分子, 刺激血管翳侵袭软骨, 造成韧带、软骨和骨的损害。目前为止已发现 20 余种 MMP, 大部

分存在于结缔组织中, MMP-2, MMP-9 同为 MMPs 家族的胶原酶, 它们可以降解 ECM 中多种胶原、纤维结合素及蛋白多糖, 这些成分是关节软骨的重要组成部分, MMP-2 和 MMP-9 对 ECM 的降解是 RA 患者关节损伤的必要环节^[20-21]。MMP-9 与新生血管的形成有关, 能降解微血管基底膜和间质成分, 清除基质屏障, 从而促进血管内皮迁移和管腔形成, 是血管增生的重要先决条件^[22]。近年有研究发现 RA 患者的滑液及外周血中 MMP-2 及 MMP-9 蛋白含量均升高^[23-24], Uchibori 等^[25]通过对关节炎模型小鼠的实验研究证实 MMP-2, MMP-9 在关节炎的发病过程中有重要作用, 吴振彪等^[26]观察到 RA 患者血清中 MMP-2, MMP-9 蛋白含量明显高于健康人群。MMP-2 和 MMP-9 是引起关节病理损害的关键条件之一, 故控制 MMP-2, MMP-9 生成可作为治疗 RA 的目标方向。

本实验以 AA 大鼠为模型, 笔者观察到 AA 大鼠足踝关节滑膜组织中的 NF- κ B, MMP-2, MMP-9 的含量明显增加, 血清中 TNF- α , IL-1 β , PGE₂, NO 浓度也有所增加, 提示 AA 大鼠局部和全身产生较为严重的炎症反应, 而彝族药汝无糯鸡组对 AA 大鼠关节滑膜组织中 NF- κ B, MMP-2, MMP-9 表达及血清中 TNF- α , IL-1 β , PGE₂, NO 含量均有不同程度降低。NF- κ B 活性的降低, 可致多种炎性因子、趋化因子、生长因子、黏附分子、受体及酶等物质的生成相应减少。通过上述研究结果, 本课题组推测汝无糯鸡可能通过调节 NF- κ B 信号转导网络及相关因子, 下调 NF- κ B 的水平来增加细胞凋亡, 下调 MMP-2, MMP-9 的水平来阻止对关节软骨基质的降解和损害, 减少 TNF- α , IL-1 β , PGE₂, NO 等炎症因子的生成, 或者阻碍其致炎作用, 缓和滑膜组织的炎性反应和组织损伤, 阻碍或延缓 RA 的病理发展。这可能是彝族药汝无糯鸡保护关节组织, 治疗 RA 的作用途径之一, 其详细机制有待深入研究。

[参考文献]

[1] Kourilovitch M, Galarza-Maldonado C, Ortiz-Prado E. Diagnosis and classification of rheumatoid arthritis [J]. J Autoimmun, 1900, 49(2): 26-30.
 [2] Matsumoto K, Ikema K, Tanihara H. Role of cytokines and chemokines in pseudomonal keratitis [J]. Cornea, 2005, 24(8 Suppl): S43-S49.
 [3] Xanthoulea S, Pasparakis M, Kousteni S, et al. Tumor necrosis factor (TNF) receptor shedding controls thresholds of innate immune activation that balance

- opposing TNF functions in infectious and inflammatory diseases [J]. *J Exp Med*, 2004,200(3):367-376.
- [4] 崔宁, 杨娉婷, 赵丽娟, 等. 三氧化二砷在类风湿关节炎治疗中作用机制的探讨 [J]. *中华风湿病学杂志*, 2006,10(7):393-397.
- [5] Yamasaki S, Kawakami A, Nakashima T, et al. Importance of NF- κ B in rheumatoid synovial tissues: *in situ* NF- κ B expression and *in vitro* study using cultured synovial cells [J]. *Ann Rheum Dis*, 2001,60(7):678-684.
- [6] Murphy G, Knäuper V, Atkinson S, et al. Matrix metalloproteinases in arthritic disease [J]. *Arthritis Res Ther*, 2002,4 (Suppl 3):S39-S49.
- [7] Yoshihara Y, Nakamura H, Obata K, et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis or osteoarthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2000,59(6):455-461.
- [8] 高岚. 糖皮质激素类药物在类风湿性关节炎中的应用 [J]. *中国药物经济学*, 2014,9(6):71-72.
- [9] 王洪梅, 赖翔宇, 白浩. 不同剂量赛妥珠单抗治疗类风湿性关节炎有效性和安全性的系统评价 [J]. *中国免疫学杂志*, 2017,33(8):1213-1217.
- [10] 刘建磊, 李宝丽. 制附子对类风湿关节炎抗炎作用的实验研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011,17(17):184-187.
- [11] 吴宁, 曾佳, 王时敏, 等. 苗药四大血对大鼠佐剂性关节炎作用的研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014,20(2):120-123.
- [12] 邹晓慧, 董秋梅, 陈琨, 等. 蒙古族药忠伦阿汤对CIA大鼠MMP-3, MMP-9表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016,22(7):106-111.
- [13] 国家中医药管理局. *中华本草* [M]. 上海:上海科学技术出版社, 1998:674.
- [14] 云南省楚雄彝族自治州卫生局药检所. *彝族药志* [M]. 成都:四川人民出版社, 1983:82-83.
- [15] 童妍, 罗伦才, 季小平, 等. 彝族药劳伤药抗炎镇痛作用的实验研究 [J]. *中国民族民间医药*, 2016,25(6):1-3.
- [16] 童妍, 罗伦才, 季小平, 等. 彝族药劳伤药对佐剂性关节炎大鼠滑膜病变及NF- κ B蛋白表达的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2017,35(4):1020-1022.
- [17] Rossi D, Modena V, Sciascia S, et al. Rheumatoid arthritis: biological therapy other than anti-TNF [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015,27(2):185-188.
- [18] Lianxu C, Hongti J, Changlong Y. NF- κ Bp65-specific sirna inhibits expression of genes of COX-2, NOS-2 and MMP-9 in rat IL-1 β -induced and TNF- α -induced chondrocytes [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2006,14(4):367-376.
- [19] Singh D, Srivastava S K, Chaudhuri T K, et al. Multifaceted role of matrix metalloproteinases (MMPs) [J]. *Front Mol Biosci*, 2015,2(19):1-5.
- [20] Sugiyama E. Role of matrix metalloproteinase-3 in joint destruction in rheumatoid arthritis [J]. *Clin Calcium*, 2007,17(4):528-534.
- [21] Belotti D, Paganoni P, Giavazzi R. MMP inhibitors: Experimental and clinical studies [J]. *Int J Biol Marker*, 1999,14(4):232-238.
- [22] 张前德, 时彦标, 谈文峰, 等. 雷公藤甲素对类风湿关节炎滑膜成纤维细胞系MH7A中VEGF、MMP-9水平变化的影响 [J]. *南京医科大学学报:自然科学版*, 2008,28(7):902-905.
- [23] Yamanaka H, Makino K, Takizawa M, et al. Expression and tissue localization of membrane-types 1, 2, and 3 matrix metalloproteinases in rheumatoid synovium [J]. *Lab Invest*, 2000,80(5):677-687.
- [24] Giannelli G, Erriquez R, Iannone F, et al. MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 levels in patients with rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis [J]. *Clin Exp Rheumatology*, 2004,22(3):335-338.
- [25] Uchibori M, Nishida Y I, Sugiura H, et al. Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in pigmented villonodular synovitis suggests their potential role for joint destruction [J]. *J Rheumatol*, 2004,31(1):110-119.
- [26] 吴振彪, 卢宁, 王彦宏, 等. 基质金属蛋白酶MMP-2、MMP-9与类风湿性关节炎关节破坏的关系 [J]. *中国免疫学杂志*, 2006,22(3):260-262.

[责任编辑 邹晓翠]