

黑骨藤追风活络胶囊治疗风寒湿痹型类风湿关节炎的临床疗效及机制

古金华^{1*}, 吴娅琳¹, 陈文礼², 赵平¹

(1. 宜宾市第二人民医院, 四川 宜宾 644000; 2. 广西中医药大学, 南宁 530200)

[摘要] **目的:**探讨黑骨藤追风活络胶囊治疗风寒湿痹型类风湿关节炎的临床疗效及深层作用机制。**方法:**将80例宜宾市第二人民医院确诊的风寒湿痹型类风湿关节炎患者随机分为观察组与对照组,各40例,对照组给予口服洛索洛芬钠,60 mg/次,3次/d,氨甲蝶呤(MTX)7.5~2 mg/次,1次/周;观察组在口服洛索洛芬钠基础上加用黑骨藤追风活络胶囊治疗,0.9 g/次,3次/d,连续服药3个月;采用视觉模拟评分法(VAS)观察治疗前后关节压痛数、关节肿胀数、关节肿胀指数、双手平均握力、静息痛、晨僵时间变化;酶联免疫吸附试验(ELISA)检测两组患者治疗前后血清中血沉(ERS),C-反应蛋白(CRP),类风湿因子(RF)含量变化;ELISA法检测两组患者治疗前后关节液中白细胞介素(IL)-17A,IL-18,IL-27含量变化;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测两组患者治疗前后关节液微小 mRNA (microRNA, miR)-146a,miR-16表达变化。**结果:**经 Ridit 分析,观察组临床疗效优于对照组($P < 0.05$);观察组治疗后关节压痛数、关节肿胀数、关节肿胀指数、双手平均握力、静息痛、晨僵时间改善程度均显著优于对照组($P < 0.01$);观察组治疗后血清 ERS,CRP,RF 含量明显低于对照组;观察组治疗后关节液 IL-17A,IL-18,IL-27 含量及 miR-146a,miR-16 表达明显低于对照组。**结论:**黑骨藤追风活络胶囊可能通过降低 miR-146a,miR-16 表达,调控炎症因子释放,进而减轻自身免疫因子的表达,从而达到改善风寒湿痹型 RA 患者体征及症状的作用。

[关键词] 黑骨藤追风活络胶囊; 类风湿关节炎; 白细胞介素-17A; microRNA-146a; microRNA-16

[中图分类号] R22;R24;R2-031;R287;R259 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)03-0180-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018030180

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171102.1855.036.html>

[网络出版时间] 2017-11-02 18:55

Clinical Efficacy and Mechanism of Heiguteng Zhuifeng Huoluo Capsule in Treating Rheumatoid Arthritis

GU Jin-hua^{1*}, WU Ya-lin¹, CHEN Wen-lin², ZHAO Ping¹

(1. The Second People's Hospital of Yibin, Yibin 644000, China;

2. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the clinical efficacy and deep mechanism of Heiguteng Zhuifeng Huoluo capsule in treatment of rheumatoid arthritis. **Method:** The 80 patients with rheumatoid arthritis diagnosed in The Second People's Hospital of Yibin were randomly divided into observation group (40 cases) and control group (40 cases). The control group was given with oral loxoprofen sodium 60 mg/time, 3 times/d; methotrexate (MTX) 7.5-2 mg/times, 1 time/week; the observation group was given with additional Heiguteng Zhuifeng Huoluo capsule based on oral loxoprofen sodium, 0.9 g/time, 3 times/d, for continuous 3 months. The changes of joint tenderness, joint swelling, joint swelling index, average grip strength, rest pain and morning stiffness time were observed by using visual analogue scale (VAS) before and after treatment. The levels of erythrocyte sedimentation

[收稿日期] 20170624(001)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81660758)

[通信作者] *古金华, 硕士, 副主任医师, 从事类风湿发病机制及治疗研究, Tel: 13890919089, E-mail: kyameidie@sina.cn

rate (ERS), C-reactive protein (CRP) and rheumatoid factor (RF) were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) before and after treatment. The changes of interleukin (IL) -17A, IL-18 and IL-27 in synovial fluid were measured by ELISA. Real-time PCR was used to detect the expression levels of microRNA (miR) -146a and miR-16 in the synovial fluid before and after treatment. **Result:** The clinical efficacy of the observation group was better than that of the control group ($P < 0.05$) by Ridit analysis. The number of joint tenderness, joint swelling, joint swelling index, average grip strength, rest rest pain and morning stiffness were significantly better in observation group than those in control group ($P < 0.01$). The expression levels of ERS, CRP and RF in serum of the observation group were significantly lower than those in control group, and the expression levels of IL-17A, IL-18, IL-27, miR-146a and miR-16 in synovial fluid of observation group were also significantly lower than those in control group. **Conclusion:** Heiguteng Zhuifeng Huoluo capsule can reduce the expression of miR-146a and miR-16, regulate the release of inflammatory factors, and reduce the expression of autoimmune factors, so as to improve the signs and symptoms of rheumatoid arthritis.

[Key words] Heiguteng Zhuifeng Huoluo capsule; rheumatoid arthritis; interleukin-17A; microRNA-146a; microRNA-16

类风湿关节炎(RA)在我国患病率为0.32% ~ 0.36%,自然病程10年致残率可超过60%,多见于中年女性^[1],RA临床中尚缺乏有效的治疗方法,目前西医主要应用甲氨蝶呤(MTX)治疗RA^[2],但RA患者素来体虚,甲氨蝶呤不良反应较多,如消化系统损害、神经系统损害、黏膜损害、生殖系统损害等不良反应限制了临床治疗^[3]。RA是一种以炎性滑膜炎及侵蚀性关节炎为特征的慢性系统性自身免疫性疾病,临床表现为对称性多关节红肿疼痛及功能障碍、晨僵、体重减轻、低热、严重疲乏等症状,严重者可出现关节畸形,严重影响患者的身心健康与生活质量。血清及关节液中炎症因子在RA的发展中起着至关重要的作用^[4-5]。微小RNA(microRNA, miR)是一类可调控基因表达的内源性非编码单链小分子,长度为18~24个核苷酸,具有对于靶蛋白调控作用,近年来发现miR-146a, miR-16与RA有着密切关系,可调节RA患者外周血及关节液中炎症因子的表达,有可能成为治疗RA的潜在靶点^[6-7]。

黑骨藤追风活络胶囊是普遍流传于苗族民间的有效经验方,主要由青风藤、黑骨藤、追风伞组成,方药出自《湘西苗药汇编》^[8],苗族医主治“抬奥、抬蒙、僵见风”,即中医理论中“祛风除湿,通络止痛”。已有研究证实,黑骨藤追风活络胶囊能够有效降低RA患者血清与关节液中的炎症因子表达,减轻RA大鼠关节肿胀程度,其机制可能与黑骨藤追风活络胶囊可调节免疫器官功能有关^[9]。但该药治疗RA患者临床疗效及作用机制尚未见报道,本研究拟采用RA患者病情评价(DAS-28)量表评判经黑骨藤追风活络胶囊治疗RA患者的临床疗效,检测血清

中类风湿因子(RF),关节液中炎性因子含量及miR-146a, miR-16表达,挖掘黑骨藤追风活络胶囊治疗RA的深层机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2016年1月至2017年3月宜宾市第二人民医院风湿免疫科收治的RA患者住院患者80例,病程为(1.9 ± 1.2)月;按随机数字法分为观察组40例,观察组出现1例胃部不适,退出试验,实际入组39例(男女比例为6:33),年龄24~59岁,平均(38.5 ± 3.9)岁;对照组40例(男女比例为8:32),年龄27~56岁,平均(39.3 ± 4.2)岁,两组患者性别、年龄、病程无统计学差异,具有可比性。本研究通过宜宾市第二人民医院伦理委员会审查,伦理批件号YBSPH2016[K]字004。

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 RA诊断标准参照《类风湿关节炎诊断及治疗指南》^[10]进行评判,关节功能分级标准采用美国风湿病学会(ACR)标准,采用DAS-28标准^[11]判断病情活动程度,DAS-28参与关节包括,肩、肘、腕、掌指关节、近端指间关节、膝关节。DAS-28评分=0.56 × 压痛关节计数 + 0.28 × 肿胀关节计数 + 0.7 × 血沉(ERS) + 0.014 × 视觉模拟评分法(VAS);活动程度评判标准,DAS28 ≤ 2.6分为缓解,2.6 < DAS28 < 3.2分为低度活动,3.2 ≤ DAS28 < 5.1为中度活动,DAS28 ≥ 5.1为高度活动。

1.2.2 风寒湿痹证诊断标准 参照《中药新药临床研究指导原则》^[12],主证,关节疼痛,痛有定处,晨僵,屈伸不利;次证,手足沉重,活动不便,肌肤麻木不仁,舌苔白腻,脉濡缓。

1.3 纳入标准 ①年龄 18 ~ 60 岁;②未使用糖皮质激素或慢作用缓解病情抗风湿药 (DMARDs) 治疗;③关节功能为 I ~ III 级;④DAS28 \geq 2.6 分。所有患者均签署知情同意书。

1.4 排除标准 ①伴有其他免疫性系统疾病,如系统性红斑狼疮等者;②严重心肺功能异常或合并有急性慢性感染的患者;③肝肾功能异常,丙氨酸氨基转移酶 (AST), 天冬氨酸氨基转移酶 (ALT), 尿肌酐 (Cr) 高于参考值上限的患者;④白细胞低于参考值下限者;⑤有明显消化道不适症状者;⑥妊娠、准备妊娠或哺乳期的患者。

1.5 药物、试剂及仪器 黑骨藤追风活络胶囊 (贵州老来福医药有限公司, 国药准字 Z20025279); 氨甲蝶呤片 (上海药业有限公司, 国药准字 H31020644); 洛索洛芬钠片 (第一三共制药有限公司, 国药准字 H20030769); ESR, C 反应蛋白 (CRP), RF, 白细胞介素-17A (IL-17A), 白细胞介素-18 (IL-18), 白细胞介素-27 (IL-27) 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒 (Abcam 公司, 货号分别为 Ab54364, Ab52387, Ab53637, Ab50486, Ab50989, Ab53047); FTC3000 型实时荧光定量聚合酶链式反应 (Real-time PCR) 仪 (美国 Funlyng Biotech 公司)。

1.6 分组及治疗方法 对照组口服洛索洛芬钠 60 mg/次, 3 次/d; 氨甲蝶呤片 (7.5 ~ 2) mg/次, 1 次/周; 观察组在口服洛索洛芬钠基础上加用黑骨藤追风活络胶囊 (由青风藤、黑骨藤及追风伞 3 味药物) 治疗, 0.9 g/次, 3 次/d, 连续服药 3 个月。

1.7 疗效评定 采用美国类风湿治疗指南 (ACR) 制定的 20% 缓解 (ACR20), 50% 缓解 (ACR50), 70% 缓解 (ACR70) 标准^[10], 其含义为 RA 患者日常生活能力、关节功能自我评价、主要体征、医生评价及 ESR, CRP 等 5 方面改善 > 70% (ACR70), 即为显效; 上述指标改善介于 20% ~ 70% 即为有效; 未达到 20% 为无效。

1.8 观察指标 关节肿胀指数标准参照卫生部《类风湿关节炎诊断及治疗指南》^[10] 计算, 无肿胀为 0 分, 轻度肿胀为 1 分, 中度肿胀为 2 分, 重度肿胀为 3 分; 休息痛分数及晨僵时间评分采用 VAS^[13]。

1.9 样本收集

1.9.1 血清收集 各组患者于入院后次日及口服黑骨藤追风活络胶囊 3 个月后清晨空腹采血 3 mL, 血液样本置于促凝管中, 静置 1 h 后于 4 °C, 2 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 抽取上层血清, 并置

于 -80 °C 保存, 每 6 个月进行 1 次集中检测。

1.9.2 关节液收集 各组患者取仰卧位, 常规消毒后铺设消毒巾, 分别于治疗前、后行常规膝关节穿刺, 并抽取关节液 1 mL, 完成后再次消毒并用创可贴封闭针孔。将收集关节液置于 -80 °C 冰箱保存, 每 6 个月进行 1 次集中检测。

1.10 ELISA 检测 ESR, CRP, RF, IL-17A, IL-18, IL-27 含量 取各组患者血清 10 μ L, 进行 ESR, CRP 及 RF 含量检测; 取各组患者关节液样本 10 μ L, 进行 IL-17A, IL-18, IL-27 含量检测, 所有步骤严格按照说明书进行。

1.11 Real-time PCR 检测 miR-146a, miR-16 表达 引物由北京华大公司合成, miR-146a (212 bp): 上游 5'-GATGTGTATCCTCAGCTTTG-3', 下游 5'-CGATGACAGAGATATCCCAG-3'; miR-16 (236 bp): 上游 5'-TAGCAGCACATAAATATTGGCG-3', 下游 5'-AACATGTACAGTCCATGGATG-3'; 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH, 258 bp): 上游 5'-CAGGGTGCTTTTAACTCTGCT-3', 下游 5'-GATTTTGGAGGGATCTCGCT-3'。PCR 反应条件: 94 °C 2 min, 94 °C 20 s, 60 °C 34 s, 共 42 次循环。采用 FTC3000 型 Real-time PCR 仪自带软件进行扩增、溶解曲线分析, 实验结果采用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法分析数据。

1.12 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件对所得数据进行统计分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 比较采用 *t* 检验; 计量资料用率表示, 采用卡方检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床疗效比较 Ridit 分析结果显示, 观察组临床疗效明显优于对照组 (*P* < 0.05)。见表 1。

表 1 两组患者临床疗效比较

组别	ACR70	ACR50	ACR20	无效
对照	5	19	9	7
观察	8 ¹⁾	23 ¹⁾	7	1

注: 与对照组相比¹⁾ *P* < 0.05。

2.2 两组患者治疗前后主要体征及症状比较 与治疗前比较, 两组患者关节肿胀个数、关节压痛个数、关节肿胀指数、休息痛分数及晨僵时间减少, 双手平均握力增加 (*P* < 0.01); 治疗后与对照组比较, 观察组肿胀个数、关节压痛个数、关节肿胀指数、休息痛分数及晨僵时间减少, 双手平均握力增加 (*P* < 0.01)。见表 2。

表 2 两组患者治疗前后主要体征变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Changes of main signs between two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	关节肿胀/个	关节压痛/个	关节肿胀指数/分	双手平均握力/mmHg	休息痛/分	晨僵时间/min
对照	治疗前	40	9.6 ± 2.1	19.6 ± 3.4	11.36 ± 2.46	45.86 ± 5.67	6.94 ± 1.37	63.59 ± 7.25
	治疗后	40	4.5 ± 0.4 ¹⁾	8.8 ± 1.5 ¹⁾	5.26 ± 1.73 ¹⁾	63.38 ± 6.15 ¹⁾	4.08 ± 0.56 ¹⁾	30.94 ± 3.61 ¹⁾
观察	治疗前	40	10.3 ± 2.8	19.5 ± 3.6	11.82 ± 3.05	46.17 ± 6.83	6.79 ± 1.51	65.12 ± 6.97
	治疗后	39	3.1 ± 1.1 ^{1,2)}	4.1 ± 1.3 ^{1,2)}	2.48 ± 1.01 ^{1,2)}	79.2 ± 11.28 ^{1,2)}	2.04 ± 0.48 ^{1,2)}	18.91 ± 2.3 ^{1,2)}

注:1 mmHg = 0.133 kPa;与同组治疗前相比¹⁾ $P < 0.01$;与对照组治疗后相比²⁾ $P < 0.01$ (表 3 ~ 5 同)。

2.3 两组患者治疗前后血清 ERS, CRP, RF 含量比较 与本组治疗前相比较,两组患者血清 ERS, CRP, RF 含量均显著降低 ($P < 0.01$);治疗后与对照组相比,观察组 ERS, CRP, RF 含量更低 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 两组患者治疗前后血清 ERS, CRP, RF 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of levels of serum ERS, CRP and RF between two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	ERS/mm·h ⁻¹	CRP/mg·L ⁻¹	RF/U·mL ⁻¹
对照	治疗前	40	43.38 ± 6.28	25.69 ± 3.84	95.48 ± 10.47
	治疗后	40	32.94 ± 4.46 ¹⁾	16.72 ± 2.57 ¹⁾	63.37 ± 8.56 ¹⁾
观察	治疗前	40	44.57 ± 4.73	26.28 ± 4.13	94.81 ± 8.15
	治疗后	39	18.86 ± 2.19 ^{1,2)}	12.17 ± 2.06 ^{1,2)}	32.47 ± 4.66 ^{1,2)}

2.4 两组患者治疗前后关节液 IL-17A, IL-18, IL-27 含量比较 与本组治疗前相比较,患者关节液 IL-17A, IL-18, IL-27 含量明显降低 ($P < 0.01$);治疗后与对照组比较,观察组 IL-17A, IL-18, IL-27 含量降低更加显著 ($P < 0.01$)。见表 4。

表 4 两组患者治疗前后关节液 IL-17A, IL-18, IL-27 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of expression of IL-17A, IL-18 and IL-27 in synovial fluid between two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	IL-17A	IL-18	IL-27
对照	治疗前	40	68.57 ± 8.31	124.38 ± 25.77	108.43 ± 13.44
	治疗后	40	46.71 ± 4.68 ¹⁾	84.15 ± 8.06 ¹⁾	73.48 ± 8.09 ¹⁾
观察	治疗前	40	70.28 ± 6.42	126.46 ± 18.56	107.85 ± 14.23
	治疗后	39	32.33 ± 4.08 ^{1,2)}	66.17 ± 7.54 ^{1,2)}	52.88 ± 4.31 ^{1,2)}

2.5 两组患者治疗前后关节液 miR-146a, miR-16 表达比较 与本组治疗前比较,两组患者关节液中 miR-146a 及 miR-16 表达降低 ($P < 0.01$);治疗后与对照组相比,观察组患者关节液中 miR-146a 及 miR-16 表达更低 ($P < 0.01$)。见表 5。

2.6 不良反应及安全性评价 用药期间,所有患者均未出现恶心、腹泻、胃部不适等相关不良反应,两组患者未发现其他不良事件。治疗前后血、尿常规,肝、肾功能及电解质等均无统计学差异。

表 5 两组患者治疗前后关节液 miR-146a 及 miR-16 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of expression levels of miR-146a and miR-16 in synovial fluid between two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	miR-146a	miR-16
对照	治疗前	40	4.36 ± 0.53	3.05 ± 0.29
	治疗后	40	2.06 ± 0.31 ¹⁾	1.64 ± 0.23 ¹⁾
观察	治疗前	40	4.49 ± 0.41	3.24 ± 0.37
	治疗后	39	1.34 ± 0.26 ^{1,2)}	1.27 ± 0.22 ^{1,2)}

3 讨论

RA 属于中医学“痹病”范畴,痹本为虚,正气虚衰为内因,风、寒、湿三气杂至,邪阻经络,流注四肢,关节经络不通,痛则不止,治法应以祛风散寒、除湿止痛为主。黑骨藤追风活络胶囊中黑骨藤可活血通络、祛风止痛,青风藤具有祛风除痹、通经消肿之功,追风伞则有活血止痛、祛风通络之效。黑骨藤与追风伞共用,加强了祛风湿、通经络作用的同时,更起到活血功效,所谓“治风先治血,血行风自灭”;三药联用,极大限度的发挥了祛风止痛、消肿利节的功效。已有研究证实,苗药黑骨藤治疗 RA 具有良好的作用,其作用机制可能与抑制毛细血管通透性增加、调节免疫功能及炎症因子有关^[14-15]。齐柳娅等^[16]研究发现,追风伞总黄酮可有效抑制前列腺素 E₂ (PGE₂) 的表达,起到抗炎镇痛的功效。青风藤有效成分青藤碱,其结构与吗啡近似,具有非常好的镇痛抗炎作用,无成瘾性,具有较强的免疫抑制作用,早已作为抗 RA 药物用于临床^[17-19]。

本研究发现,常规治疗也可使风寒湿痹型 RA 患者体征、症状及血清中 ERS, CRP, RF 有所改善,但黑骨藤追风活络胶囊无论从临床症状还是血清指标分析,整体疗效更加明显,这与相关研究结果相似^[20]。

炎症反应是目前 RA 的公认发病机制之一, IL-17A, IL-27 在 RA 患者血清及关节液中含量明显增高,并且与 RA 疾病活动评分呈正相关,可作为提示 RA 活动期和关节损伤的标志^[21-22]。高水平的 IL-18 可诱导 Th1 细胞过多产生干扰素- γ , 导致 RA 的发生^[23]。本研究发现,经过黑骨藤追风活络胶囊治

疗后,IL-17A,IL-18及IL-27在关节液中含量降低,说明黑骨藤追风活络胶囊可显著降低RA患者关节腔内的炎症反应,也有可能是改善风寒湿痹型RA疾病活动的因素之一。已有研究证实miR146a可通过核转录因子(NF)- κ B信号通路,刺激促炎性因子的释放,例如TNF- α ,IL-1 β 和IL-17,参与RA的发生、发展^[24-25]。WU等^[26]研究发现,miR-16可能影响RA患者Th17/Treg失衡,进而影响RA的病情活动。本研究发现,经黑骨藤追风活络胶囊治疗后,RA患者关节液miR-146a,miR-16表达较治疗前及常规治疗后明显降低,值得注意的是,miR-146a,miR-16表达降低的同时,外周血ERS,CRP,RF,关节液中IL-17A,IL-18及IL-27表达同时降低,推测黑骨藤追风活络胶囊可能通过降低miR-146a,miR-16的表达,调控炎症因子释放,进而减轻自身免疫因子的表达,从而达到改善风寒湿痹型RA患者体征及症状的作用。

综上所述,黑骨藤追风活络胶囊通过影响miR-146a,miR-16的表达,调控关节液中炎症因子的释放,减轻局部炎症反应,缓解骨侵蚀,从而减轻风寒湿痹型RA患者关节疼痛、肿胀程度,增加握力,改善风寒湿痹型RA患者生活质量,建立治疗信心,为该方药治疗风寒湿痹型RA提供可靠临床依据。

[参考文献]

[1] 唐福林. 类风湿关节炎的诊治和预后[J]. 临床内科杂志, 2004, 21(3): 148-151.

[2] 张春华. 甲氨蝶呤与来氟米特治疗类风湿性关节炎的临床疗效和安全性研究[J]. 重庆医学, 2015, 44(4): 511-513.

[3] 杨雨薇, 董迪, 宋菲, 等. 我院34例注射用甲氨蝶呤不良反应报告的回溯性分析[J]. 中国药物警戒, 2014, 11(9): 557-560.

[4] 苏江, 朱静, 程佳, 等. 不同时期类风湿关节炎患者血清炎症因子的变化及临床意义[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(5): 2252-2254.

[5] Khatri A, Goss S, JIANG P, et al. Pharmacokinetics of ABT-122, a TNF- α -and IL-17A-Targeted Dual-Variable domain immunoglobulin, in healthy subjects and patients with rheumatoid arthritis; results from three phase I trials [J]. Clin Pharmacol Ther, 2017, 20(3): 580.

[6] Fikova M, Aradi B, Senolt L, et al. Association of circulating miR-223 and miR-16 with disease activity in patients with early rheumatoid arthritis [J]. Ann Rheum Dis, 2014, 73(10): 1989-1904.

[7] 冯知涛, 李娟, 任洁, 等. 类风湿关节炎患者外周血miR-146a及miR-16的表达与病情活动的相关性[J]. 南方医科大学学报, 2011, 31(2): 320-323.

[8] 欧志安. 湘西苗药汇编[M]. 长沙: 岳麓书社, 1990: 322-323.

[9] 骆镜妃, 胡宗科, 邓康, 等. 黑骨藤追风活络胶囊抗类风湿关节炎的药理作用及机制[J]. 中南医学科学杂志, 2016, 44(2): 140-146.

[10] 中华医学会风湿病学分会. 类风湿关节炎诊断及治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志, 2005, 9(5): 294-297.

[11] 刘娟云, 王春芳, 许瑞. 宣痹消痛汤联合甲氨蝶呤片治疗类风湿关节炎的临床观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(6): 183-186.

[12] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床指导研究指导原则[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 115-118.

[13] Albayrak Gezer I, Balkarli A, Can B, et al. Pain, depression levels, fatigue, sleep quality, and quality of life in elderly patients with rheumatoid arthritis [J]. Turk J Med Sci, 2017, 47(3): 847-853.

[14] 黄明进, 罗春丽, 郭刚, 等. 黑骨藤抗类风湿性关节炎作用及其分子机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 174-177.

[15] 梁江, 马武开, 刘正奇, 等. 黑骨藤乙醇提取物影响人类类风湿关节炎滑膜成纤维细胞增殖, 及COX-2、PGE-2表达的研究[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(1): 24-27.

[16] 齐柳娅, 郁建平, 田晶, 等. 追风伞总黄酮抗风湿活性的研究[J]. 中国新药与临床药理, 2010, 21(4): 369-372.

[17] 黎炼, 罗志刚. 青藤碱的免疫抑制作用机制的研究进展[J]. 中南医学科学杂志, 2015, 43(1): 86-89.

[18] 王金凤. 青藤碱治疗类风湿关节炎的研究进展[J]. 中国医药导报, 2014, 11(26): 161-163.

[19] 董文乐, 翟发林. 青藤碱药理作用及制剂临床应用研究概况[J]. 天津医药, 2012, 40(4): 76-78.

[20] 王和鸣, 葛继荣, 陈治英. 黑骨藤追风活络胶囊治疗痹病的临床研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 1999, 7(2): 1-5.

[21] 林辉, 陈永涛, 周燕莉, 等. 类风湿关节炎血清和关节液白细胞介素-17A与疾病活动的关系[J]. 华西医学, 2013, 28(10): 1521-1524.

[22] LAI X, WANG H, CAO J, et al. Circulating IL-27 is elevated in rheumatoid arthritis patients [J]. Molecules, 2016, 21(11): E1565.

[23] 志详, 金文涛, 杨春秀, 等. 类风湿关节炎患者白介素18水平的变化及意义[J]. 第二军医大学学报, 2005, 26(10): 1201-1202.

[24] Boqunia-Kubik K, Wysoczanska B, Piatek D, et al. Significance of polymorphism and expression of miR-146a and NF- κ B₁ genetic variants in patients with rheumatoid arthritis [J]. Arch Immunol Ther Exp, 2016, 64(1): 131-136.

[25] 王阶, 姚魁武, 刘咏梅, 等. 冠心病血瘀证转录组学研究——病证结合生物标志物研究思路与方法[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(19): 1-5.

[26] WU Y H, LIU W, XUE B, et al. Upregulated expression of microRNA-16 correlates with Th17/Treg cell imbalance in patients with rheumatoid arthritis [J]. DNA Cell Biol, 2016, 35(12): 853-860.

[责任编辑 张丰丰]