

· 药理 ·

木瓜醇提物对大鼠类风湿性关节炎模型关节炎及滑膜细胞凋亡的影响

顾正位, 冯帅, 蒋海强, 魏盛, 梁晓东, 赵海军*, 郭庆梅*
(山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] 目的:探讨木瓜醇提取物(CFE)对类风湿性关节炎(RA)大鼠模型的作用及机制。方法:将60只雄性SD大鼠随机分为正常组,模型组,CFE低、中、高剂量组及雷公藤多苷片组。除正常组外,其余各组分别从每只大鼠右后足跖皮内注入完全弗氏佐剂0.1 mL,复制RA模型。灌胃给药,CFE低、中、高剂量组剂量分别为0.15,0.30,0.60 g·kg⁻¹·d⁻¹,雷公藤多苷片组的剂量为0.009 g·kg⁻¹·d⁻¹,正常组及模型组灌胃等体积的蒸馏水,每天1次,连续30 d。观察大鼠足肿胀度、炎症指数、脏器指数,采用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测血清中白细胞介素-1 β (IL-1 β),白细胞介素-6(IL-6),白细胞介素-10(IL-10)及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的水平,苏木素-伊红(HE)染色观察各组大鼠滑膜组织病理变化情况,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠关节B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2),Bcl-2相关X蛋白(Bax)及死亡因子(Fas)蛋白表达情况。结果:与正常组比较,模型组大鼠足肿胀度、炎症指数显著升高($P<0.01$);血清中的促炎因子IL-1 β ,IL-6,TNF- α 水平显著升高($P<0.01$),抗炎因子IL-10显著降低($P<0.01$),滑膜组织中Bcl-2表达明显升高($P<0.05$);与模型组比较,CFE中、高剂量组足趾肿胀程度及炎症指数显著降低($P<0.01$),CFE各剂量组滑膜组织增生及炎症细胞浸润等病理变化减轻,血清中的促炎因子IL-1 β ,IL-6,TNF- α 水平明显降低($P<0.05$),抗炎因子IL-10明显升高($P<0.05$),Bax,Fas的表达量升高,Bcl-2的蛋白表达量显著降低($P<0.01$)。结论:CFE能够降低RA关节炎程度,具有较好的抗RA功效,这可能与CFE诱导的关节滑膜细胞凋亡有关。

[关键词] 类风湿性关节炎;木瓜醇提物;凋亡;炎症;佐剂型关节炎

[中图分类号] R2-0;R289;R285.5;R593.22 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)18-0045-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201836

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200713.1514.002.html>

[网络出版日期] 2020-7-13 16:42

Effect of Chaenomelis Fructus Alcohol Extract on Arthritis Inflammation and Apoptosis of Synovial Cells in Rheumatoid Arthritis Model

GU Zheng-wei, FENG Shuai, JIANG Hai-qiang, WEI Sheng, LIANG Xiao-dong,
ZHAO Hai-jun*, GUO Qing-mei*
(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To study the protective effect and mechanism of Chaenomelis Fructus alcohol extract (CFE) on the synovium of rheumatoid arthritis (RA). **Method:** Sixty male SD rats were randomly divided into normal group and model group. RA model was made by injection of complete Freund's adjuvant, and then was randomly divided into model group, CFE low, medium and high dose group and Tripterygium glycoside group according to the inflammatory score. The CFE groups (0.15, 0.30, 0.60 g·kg⁻¹·d⁻¹) had

[收稿日期] 20200510(002)

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2013CB531803);国家“重大新药创制”科技重大专项(2SQ2017ZX09301041);山东省重点研发计划项目(2018GSF119004);山东省高校青创人才引育计划项目(鲁教人字[2019]9号-201)

[第一作者] 顾正位,在读博士,副教授,从事中药质量控制及资源开发研究,E-mail:zhengweidada@126.com

[通信作者] *赵海军,副教授,从事中西医结合治疗脑缺血机制研究,E-mail:hajunzhao@sdutcm.edu.cn;

*郭庆梅,教授,从事中药资源开发研究,E-mail:qmguo@sina.com

intra-gastric administration once a day for 30 d after the model establishment. The blank control group and the model group were given the same volume saline water by gavage. After all the drugs were given, the blood, joint tissues and synovium tissue of rats were collected. The levels of interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10) and tumor necrosis factor (TNF) - α in serum were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), the pathological changes of synovium were observed by hematoxylin eosin (HE) staining, and the expressions of B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (Bax) and death factor (Fas) in joints were detected by Western blot. **Result:** Compared with normal group, the swelling degree and inflammation index of rats' feet in model group increased significantly, the levels of inflammatory factors IL-1 β , IL-6, TNF- α in serum increased ($P<0.01$), anti-inflammatory factor IL-10 decreased ($P<0.01$), the protein expression of Bax, Fas and Bcl-2 increased, and the statistical results of Bcl-2 showed significant difference ($P<0.05$). Compared with model group, the swelling degree and inflammation index of the plantar of RA rats were improved in the middle and high dose groups of CFE ($P<0.01$), the pathological changes such as synovial tissue hyperplasia and inflammatory cell infiltration were reduced in each dose group, and the levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in serum were reduced ($P<0.05$), anti-inflammatory factor IL-10 increased ($P<0.05$), the disorder of inflammatory cytokine in the model was corrected, Bax, Fas expression increased, Bcl-2 protein expression decreased ($P<0.01$). **Conclusion:** CFE can reduce the degree of inflammation in RA joint and has obvious anti RA effects, which may be related to the apoptosis of synoviocytes induced by CFE.

[Key words] rheumatoid arthritis; Chaenomelis Fructus alcohol extract; apoptosis; inflammation; adjuvant arthritis

类风湿性关节炎(RA)是一种慢性、进行性的累及关节的自身免疫性疾病,致畸和致残率高,给患者造成了极大的痛苦^[1]。有关研究表明,关节组织炎症以及滑膜细胞凋亡障碍是RA发生发展的主要原因^[2-4]。其在临床上的治疗以糖皮质激素、雷公藤及雷公藤苷等免疫抑制剂为主,但久用副作用较大。因此,对于RA而言,寻找合适的治疗药物依然具有重要的临床意义和科学价值。木瓜味酸、性温,为久风湿痹、筋脉拘急之要药,故在治疗风湿痹痛、筋脉拘挛等疾病方面应用较广。已有实验研究了木瓜苷、木瓜总皂苷等提取物的抗RA效果,但对于木瓜醇提物(CFE)的抗风湿效果鲜有报道^[5-7]。故本研究以RA模型大鼠为研究对象,观察CFE对RA模型大鼠关节炎指数、病理变化的影响、血清炎症因子白细胞介素-1 β (IL-1 β),白细胞介素-6(IL-6),白细胞介素-10(IL-10)及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的含量及滑膜组织中B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2), Bcl-2相关X蛋白(Bax)及死亡因子(Fas)蛋白表达情况,探讨CFE治疗RA方面的作用。

1 材料

1.1 动物 SPF级SD雄性大鼠60只,8周龄,体重160~200 g,购自北京维通利华实验动物有限公司,合格证号SCXK(京)2016-0006。实验动物饲养于山东中医药大学实验动物中心,按组分笼饲养,

室内通风及光线良好,温度控制在22~25℃,相对湿度在55%~70%。实验期间严格按照实验动物伦理学的要求,为保证实验动物福利,每周1次调换笼位,保证大鼠自由饮水和摄食。本研究经过山东中医药大学实验动物伦理委员会批准。

1.2 药品与试剂 雷公藤多苷片(江苏美通制药有限公司,批号181101);0.9%氯化钠注射液(山东科伦药业有限公司,批号B180301002);完全弗氏佐剂(美国Sigma公司,批号SLBK1731V);70%乙醇(天津富宇化工有限责任公司);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号G1120);IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-10酶联免疫吸附检测(ELISA)试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,批号分别是ML028592, E20181017-31063A, ML028593, ML028592);BCA蛋白定量试剂盒(广州碧云天生物技术有限公司,批号分别为P0013, P0012);兔抗鼠Bcl-2多克隆抗体,兔抗鼠Fas多克隆抗体,山羊抗兔二抗(美国Affinity公司,批号分别是AF6139, AF5342, S0001);兔抗鼠Bax多克隆抗体,兔抗鼠 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(美国Proteintech Group公司,批号分别为50599-2-Ig, 60008-1-Ig)。

1.3 仪器 LD24-0.8型电子天平(日本岛津公司);RT-2100型多功能全自动酶标仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司);EPS-300型电泳用稳压电源,VE-

180型SDS-PAGE蛋白电泳仪,VE-186型蛋白转膜仪(上海天能科技有限公司);5417R型台式冷冻高速离心机(德国Eppendorf公司);KW-7C型足趾容积测量仪(南京卡尔文生物科技有限公司)。

2 方法

2.1 药材准备 所使用的皱皮木瓜采自安徽宣城,经山东中医药大学药系郭庆梅教授鉴定为蔷薇科木瓜属植物皱皮木瓜 *Chaenomeles speciosa* 的成熟果实。称取皱皮木瓜药材 1.0 kg,3 倍量 70% 乙醇加热回流提取 3 次,每次 2 h,冷却后经 3 层 100 目纱布过滤,合并滤液,将滤液经 75 °C 旋蒸减压回收乙醇,并浓缩至 500 mL。利用水浴将浓缩液蒸至无醇味。-80 °C 冷冻 12 h,经真空冷冻为冻干粉保存,得率为 18%。HPLC 含量测定显示其主要成分为齐墩果酸、熊果酸,含量之合计 2.08%。

2.2 模型制备 SD 大鼠适应性饲养 1 周,根据体质量随机分组,参考文献[8]方法,在正常组大鼠右后足跖皮内注入注射生理盐水 0.1 mL,其余各组分别从每只大鼠相同部位注入完全弗氏佐剂 0.1 mL。观察 3 d,24 h 出现足部急性炎性反应肿胀,48 h 出现继发性全身多发性关节炎,出现前肢或对侧肢体甚至耳、尾部红肿或炎性结节,提示造模成功^[9]。为保持每只大鼠的注射剂量及注射部位一致性,注射由受过培训、操作熟练的人员完成,以建立稳定统一的 RA 模型。

2.3 动物分组及给药 造模完成后,根据其关节肿胀及体质量情况,将模型大鼠随机分为模型组,CFE 低、中、高剂量组,雷公藤多苷片组。记录大鼠体质量和关节炎指数评分。按照《中药药理研究方法学》中的换算方法并结合参考文献[10]确定各组用药剂量,低剂量组按照 0.15 g·kg⁻¹·d⁻¹ 的剂量灌胃,中剂量组按照 0.30 g·kg⁻¹·d⁻¹ 的剂量灌胃,高剂量组按照 0.60 g·kg⁻¹·d⁻¹ 的剂量灌胃,阳性药物组按照雷公藤多苷等效剂量 0.009 g·kg⁻¹·d⁻¹ 灌胃。于造模成功后每天上午固定时间进行灌胃,持续 30 d。正常组及模型组以等量生理盐水灌胃。

2.4 标本采集及脏器指数计算 末次灌胃后取材,利用 10% 水合氯醛麻醉动物,取脾脏、胸腺,肝、肾、关节滑膜,称质量,计算脏器指数,脏器指数=各组大鼠脏器质量/各组大鼠的体质量×100%。

2.5 大鼠关节炎炎症评分 评分过程采用双盲法,根据参考文献[11]方法,对每组大鼠进行关节炎肿胀度及炎症评分。RA 大鼠模型建立成功后在第 14、30 天测量足跖的体积(mL)及足趾肿胀度。肿

胀度具体评分标准如下 0 分,正常;1 分,大鼠单趾轻微变红肿胀;2 分,大鼠足趾变红肿胀数量>1 个;3 分,大鼠单只关节肿胀;4 分,大鼠单只关节及全爪红肿导致关节不能弯曲。每只大鼠的炎症评分为 4 只爪子及关节炎评分的总和,将炎症评分>2 分的动物纳入实验各组。

2.6 HE 染色观察滑膜组织病理变化 滑膜组织经固定、梯度乙醇脱水、二甲苯透明、液体石蜡浸蜡、石蜡包埋,切片、脱蜡、水化及染色等过程,制备 HE 染色切片,于光学显微镜下观察各组大鼠关节炎的病变情况。

2.7 ELISA 检测血清中炎症因子变化 腹主动脉取血,静置 2 h,4 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,分离得到血清;按照试剂盒的操作说明,检测血清 IL-1 β , IL-6, TNF- α 及 IL-10 的含量,用酶标仪在 450 nm 波长处测量吸光度 *A*。

2.8 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 Bax, Bcl-2, Fas 蛋白的表达 利用蛋白提取试剂盒提取滑膜组织的总蛋白,并以 BCA 试剂盒检测样品蛋白浓度。各组取含有相同总蛋白质量的样品液进行电泳,转移蛋白至 PVDF 膜上,加 5% 脱脂奶粉,室温条件下封闭 2 h,兔源 Bax, Bcl-2 及 Fas 一抗稀释倍数分别为 1:2 000, 1:1 000, 1:1 000,羊抗兔二抗稀释倍数为 1:5 000,增强化学发光法显色,以凝胶成像系统拍照,并以 Image J 软件分析各组蛋白相对表达量。

2.9 统计学分析 采用 SPSS 23.0 统计软件进行实验数据统计,处理过的计量资料数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 RA 模型大鼠体质量及脏器指数的影响 与正常组比较,模型组造模后第 30 天模型组体质量降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,CFE 中、高剂量组体质量明显增加 ($P < 0.05$);与正常组比较,雷公藤多苷组的肝、脾及肾的体积增大,脏器指数明显升高 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 1。

3.2 对 RA 模型大鼠踝关节肿胀度及炎症指数影响 与正常组比较,造模后第 14 天,模型组踝关节肿胀度及炎症指数评分明显增加 ($P < 0.01$),造模后第 30 天,模型组肿胀度及炎症指数评分显著增加 ($P < 0.01$);用药第 30 天,与模型组比较,CFE 低剂量组大鼠脚趾体积渐小,关节肿胀度及炎症指数明显降低 ($P < 0.05$),CFE 中、高剂量组大鼠关节肿胀度及炎症指数降低更加明显 ($P < 0.01$)。见表 2。

3.3 对 RA 模型大鼠关节病理改变的影响 正常组

表 1 CFE 对 RA 模型大鼠体质量及脏器指数的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Effect of CFE on weight and organ index of arthritis model rats($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	体质量/g			肝脏指数/%	肾脏指数/%	脾脏指数/%	胸腺指数/%
		第 0 天	第 14 天	第 30 天				
正常	-	256.73±4.78	299.62±10.91	467.05±30.83	2.39±0.05	0.70±0.01	0.21±0.01	0.20±0.01
模型	-	259.58±1.22	296.71±15.59	365.71±29.21 ¹⁾	2.52±0.07	0.71±0.01	0.20±0.01	0.20±0.02
雷公藤多苷片	9×10 ⁻³	261.35±4.92	298.04±28.35	429.28±36.89 ³⁾	3.35±0.25 ¹⁾	0.77±0.04 ^{1,3)}	0.25±0.03 ¹⁾	0.21±0.02
CFE	0.15	257.81±1.79	311.74±18.32	389.55±36.19 ¹⁾	2.46±0.06	0.69±0.02	0.23±0.02	0.20±0.04
	0.3	265.22±3.06	301.03±18.68	408.79±42.33	2.36±0.04	0.71±0.05	0.22±0.01	0.19±0.01
	0.6	267.74±3.79	303.06±20.66	433.28±31.76 ³⁾	2.41±0.11	0.69±0.02	0.20±0.02	0.20±0.03

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)。

表 2 CFE 对 RA 模型大鼠足肿胀度及关节炎炎症指数的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effect of CFE on swelling degree and arthritis scores of RA model rats($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	足肿胀度/mL		炎症指数	
		第 14 天	第 30 天	第 14 天	第 30 天
正常	-	1.97±0.28	1.98±0.30	0	0
模型	-	2.81±0.11 ²⁾	2.70±0.11 ¹⁾	8.69±1.41 ²⁾	9.70±1.53 ²⁾
雷公藤多苷片	9×10 ⁻³	2.66±0.19	2.13±0.17 ⁴⁾	7.24±1.19 ²⁾	4.45±1.26 ^{2,4)}
CFE	0.15	2.76±0.21	2.10±0.10 ³⁾	8.16±2.23 ²⁾	7.37±2.09 ²⁾
	0.3	2.70±0.14	2.08±0.08 ⁴⁾	8.85±1.64 ²⁾	6.08±1.33 ^{2,4)}
	0.6	2.64±0.24	2.03±0.20 ⁴⁾	8.28±1.24 ²⁾	4.28±1.17 ^{2,4)}

大鼠的滑膜排列整齐,未见到增生以及血管翳形成。模型组大鼠滑膜细胞出现增生性改变,排列紊乱,并可见血管翳出现。给药后其炎症改变与模型组比较有不同程度的改善,CFE 高剂量组对于炎性细胞浸润、血管翳形成等方面改善效果最优。见图 1。

3.4 对 RA 模型大鼠血清 IL-1 β , IL-6, IL-10 及

TNF- α 水平的影 响 与正常组比较,模型组大鼠血清中 IL-1 β , IL-6 及 TNF- α 水平显著升高($P<0.01$), IL-10 水平显著降低($P<0.01$);与模型组比较,CFE 中、低剂量组大鼠血清中 IL-1 β , IL-6 以及 TNF- α 水平出现不同程度下降($P<0.01$), IL-10 水平显著增高($P<0.01$)。见表 3。

表 3 CFE 对 RA 模型大鼠血清炎症因子水平的影 响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Effect of CFE on level of serum inflammatory factors in RA model rats($\bar{x}\pm s, n=10$)

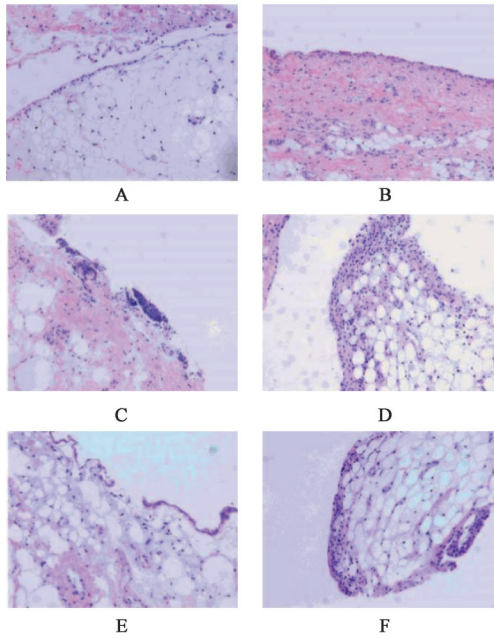
组别	剂量/g·kg ⁻¹	IL-1 β / μ g·L ⁻¹	IL-6/ μ g·L ⁻¹	IL-10/ng·L ⁻¹	TNF- α / μ g·L ⁻¹
正常	-	0.18±0.04	60.22±11.36	160.76±14.92	142.13±27.66
模型	-	0.30±0.04 ²⁾	96.44±14.19 ²⁾	86.28±12.13 ²⁾	300.68±31.41 ²⁾
雷公藤多苷片	9×10 ⁻³	0.20±0.02 ⁴⁾	66.57±9.28 ⁴⁾	150.92±16.79 ⁴⁾	150.76±16.38 ⁴⁾
CFE	0.15	0.26±0.02	90.75±15.63 ²⁾	92.94±20.64 ²⁾	240.48±20.19 ²⁾
	0.3	0.26±0.03 ¹⁾	82.67±12.83 ¹⁾	110.77±16.38 ^{2,4)}	221.12±22.86 ^{2,4)}
	0.6	0.21±0.02 ⁴⁾	69.32±10.66 ⁴⁾	145.66±15.28 ⁴⁾	166.37±18.99 ⁴⁾

3.5 对 RA 模型大鼠关节滑膜 Bax, Bcl-2, Fas 蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组 Bax 蛋白表达量升高,但未显示出显著性差异;模型组 Bcl-2 的表达量明显升高($P<0.05$);与模型组比较,CFE 低剂量组 Bax 蛋白水平明显升高($P<0.05$),CFE 中、高剂量组表达水平提高更加显著($P<0.01$),CFE 低剂量组

Bcl-2 蛋白水平明显降低($P<0.05$),CFE 中、高剂量组 Bcl-2 的蛋白表达显著降低($P<0.01$),Fas 蛋白表达水平显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$)。见图 2,表 4。

4 讨论

RA 是一种主要累及骨关节的自身免疫性疾病



A. 正常组; B. 模型组; C. CFE 低剂量组; D. CFE 中剂量组; E. CFE 高剂量组; F. 雷公藤多苷片组(图2同)

图1 CFE对大鼠关节滑膜组织病理变化的影响(HE, ×200)

Fig. 1 Effect of CFE on pathological changes of synovium tissue in rats(HE, ×200)

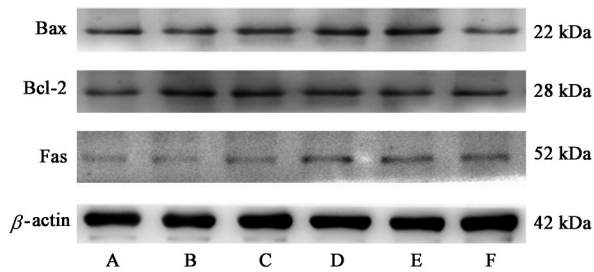


图2 RA模型大鼠Bax, Bcl-2及Fas蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of Bax, Bcl-2 and Fas protein expression in RA model rats

病,发病机制复杂,给患者造成了严重生活不便和极大痛苦。木瓜味酸、性温,入肝、脾经,有平肝舒筋和胃化湿之功,具舒筋活络、健脾开胃、舒肝止痛、祛风除湿之效,可用于预防和治疗风湿病等病证^[12-14]。

研究发现,模型组大鼠关节明显红肿,踝关节变形严重,行动迟缓。CFE各组用药30 d后,大鼠脚趾体积渐小,肿关节变形的程度降低,活动受限的程度降低,炎症指数明显好转,尤以中、高剂量组的治疗效果最为显著。这些结果证实了CFE对RA的治疗作用。同时,本研究病理组织形态学观察也证实CFE可降低RA模型大鼠炎症和炎症评分。提示CFE可有效抑制RA模型大鼠关节炎症反应,改善关节病理改变。在模型组中,促炎因子IL-1, IL-6及TNF- α 大量分泌,而抗炎因子IL-10则分泌减少,这不仅促进了炎症形成,还加重了关节的局部结构损伤^[15-17]。经治疗,CFE可显著降低大鼠血清中炎症因子IL-1 β , IL-6, TNF- α 水平,提高IL-10的水平,因此,CFE抗炎的机制可能与抑制促炎症因子产生、提高抗炎因子水平有关。

在RA累及关节中的滑膜细胞数量取决于增生与凋亡的细胞比例,本研究的病理结果显示,模型组大鼠滑膜细胞出现增生性改变,其排列亦较为紊乱,并可见血管翳的出现。滑膜细胞的凋亡减少。Bax, Bcl-2是参与细胞凋亡调节的主要分子^[18]。Bcl-2的蛋白在RA模型中,Bax及Bcl-2蛋白表达水平升高,表明炎症均可刺激两者的分泌,这与文献报道的研究结果是一致的^[19]。在给予CFE干预后,滑膜局部Bax蛋白表达水平升高,且具有剂量依赖性,干预后滑膜组织白表达水平降低。这说明经CFE治疗后Bax及Bcl-2的比例发生了改变,这有利于Bax形成二聚体,诱导凋亡发生,最终改善滑膜细胞异常增殖状态,达到治疗RA的作用。促进细胞凋亡的另一蛋白Fas一旦活化,可通过自身的死亡结构域结合、聚集衔接蛋白Fas相关死亡结构域,改变Fas结构域的构象,再经一系列反应激活半胱氨酸蛋白酶(Caspase)-8, Caspase-3, 引发细胞凋亡^[20]。在本实验中,尽管模型组的Fas蛋白表达量增加,但这可能与其反应性的增高有关;经CFE干预后,Fas

表4 CFE对RA模型大鼠凋亡相关蛋白表达水平的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Effect of CFE on level of inflammation related protein expression in RA model rats($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Bax/ β -actin	Bcl-2/ β -actin	Fas/ β -actin
正常	-	0.31 \pm 0.01	0.29 \pm 0.09	0.27 \pm 0.02
模型	-	0.39 \pm 0.09	0.41 \pm 0.03 ¹⁾	0.32 \pm 0.06
雷公藤多苷片	9 \times 10 ⁻³	0.50 \pm 0.02 ^{2,4)}	0.31 \pm 0.03 ⁴⁾	0.42 \pm 0.03 ^{2,4)}
CFE	0.15	0.51 \pm 0.10 ²⁾	0.36 \pm 0.06	0.40 \pm 0.03
	0.3	0.77 \pm 0.09 ^{2,4)}	0.31 \pm 0.04 ⁴⁾	0.45 \pm 0.05 ^{2,4)}
	0.6	0.90 \pm 0.13 ^{2,4)}	0.26 \pm 0.06 ⁴⁾	0.47 \pm 0.01 ^{2,4)}

蛋白表达增加,且蛋白水平随剂量增加而增加,滑膜细胞凋亡逐渐增多,滑膜结构逐渐改善。

综上所述,CFE可减轻RA模型的炎症反应,改善体内环境中细胞因子的紊乱状态,修复滑膜组织,这种作用可能与促进RA滑膜组织中的细胞凋亡有关。并且与雷公藤多苷片比较,CFE对肝脏的影响较小,这预示着其具有相对较高的安全性。因此,CFE是有潜力的抗RA药物,但相关机制仍有待于深入研究。

[参考文献]

[1] 卜祥伟,张红红,张建萍,等. 类风湿关节炎的中医药研究进展[J]. 环球中医药,2019,12(2):297-303.

[2] 王言,吴虹,邓然,等. 关节滑膜炎性微环境对类风湿关节炎发生发展作用的研究进展[J]. 中国药理学通报,2020,36(6):754-759.

[3] 杨传刚,王冬. 免疫细胞参与类风湿关节炎发病的研究进展[J]. 国际老年医学杂志,2020,41(1):62-64.

[4] 付玉,王文迪,许苏旸,等. 黄精多糖对大强度运动后人体外周血淋巴细胞凋亡的影响[J]. 成都体育学院学报,2018,44(5):73-78.

[5] 薛丹. 皱皮木瓜多糖的制备及抗类风湿关节炎药理学活性研究[D]. 上海:第二军医大学,2015.

[6] 刘婷,张斗胜. 抗风湿性关节炎的中药及作用机制研究进展[J]. 药学研究,2020,39(1):44-48.

[7] 李冀,李想,高彦宇. 中医药治疗类风湿性关节炎研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2019,21(12):5-8.

[8] 袁娟,胡玲,宋小鸽,等. 艾灸对类风湿性关节炎大鼠关节滑膜组织Toll样受体4-骨髓样分化因子88-核转录因子- κ B信号通路的影响[J]. 针刺研究,2015,40(3):199-204.

[9] 霍新慧,李盼,党欢,等. 刺山柑结合艾灸对类风湿性关节炎大鼠血清IFN- γ /IL-4的影响[J]. 辽宁中医杂志,2020,47(4):183-186.

[10] 杨彬,黄俊卿,张继伟. 基于HMGB1/TLR4/NF- κ B信号通路考察木瓜提取物对脊髓损伤大鼠的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(15):167-175.

[11] 盛节英,周洪雷,周倩,等. 基于UPLC-Q-Exactive

Orbitrap-MS分析宣木瓜饮片化学成分[J]. 中草药,2018,49(20):4773-4779.

- [12] 余纳,蔡小燕,林小军,等. 薏贝素对大鼠胶原诱导性关节炎炎症评分及炎症细胞因子的影响[J]. 南昌大学学报:医学版,2016,56(4):19-22.
- [13] 王海燕,覃慧林,张永峰,等. 木瓜三萜对佐剂性关节炎大鼠关节滑膜组织中Akt,NF- κ B和促炎因子的表达影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(5):141-146.
- [14] DENG Y J, HUANG L X, ZHANG C H, et al. Novel polysaccharide from *Chaenomeles speciosa* seeds: structural characterization, α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity evaluation[J]. Int J Biol Macromol,2020,153:755-766.
- [15] LIU F, SHEN X H, SU S, et al. Fc γ RI-coupled signaling in peripheral nociceptors mediates joint pain in a rat model of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheumatol,2020,doi:10.1002/art.41386.
- [16] DEANE K D, HOLERS V M. The Natural History of Rheumatoid Arthritis[J]. Clin Ther, 2019, 41(7):1256-1269.
- [17] 武晔,王晓磊,姜淑华,等. 银苓消肿丸对湿热痹阻型类风湿关节炎患者血清IL-1、IL-6、BlyS表达的影响[J]. 风湿病与关节炎,2017,6(6):21-24.
- [18] KOOHPEYMA H, GOUDARZI I, ELAHADI S M, et al. Folic acid protects rat cerebellum against oxidative damage caused by homocysteine: the expression of Bcl-2, Bax, and Caspase-3 apoptotic genes[J]. Neurotox Res,2020,37(3):564-577.
- [19] ZHANG Y, WANG G, WANG T, et al. Nrf2-Keap1 pathway-mediated effects of resveratrol on oxidative stress and apoptosis in hydrogen peroxide-treated rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes[J]. Ann N Y Acad Sci,2019,1457(1):166-178.
- [20] ZHU A, WANG M, ZHOU G, et al. Fas/FasL, Bcl2 and Caspase-8 gene polymorphisms in Chinese patients with rheumatoid arthritis[J]. Rheumatol Int, 2016,36(6):807-818.

[责任编辑 孙丛丛]