

# 满药赤雹根总皂苷对Ⅱ型胶原性关节炎大鼠脾组织中CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>表达的影响<sup>△</sup>

刘克明\*,佟继铭,祝晴晴,聂佳,刘永平\*(承德医学院中药研究所/河北省中药研究与开发重点实验室,河北承德 067000)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)25-3541-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.25.23

**摘要** 目的:研究满药赤雹根总皂苷(TSTR)对Ⅱ型胶原性关节炎(CIA)大鼠脾组织中T淋巴细胞亚群CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>表达的影响,探讨TSTR治疗类风湿性关节炎(RA)的机制。方法:随机取8只大鼠作为正常对照组(NC组),其余72只大鼠尾根部及背部多点注射牛Ⅱ型胶原蛋白与弗氏完全佐剂的混合剂复制CIA模型。将成模的50只大鼠随机分为模型组(MC组)、雷公藤多苷片(TG)组(12 mg/kg,阳性对照)和TSTR低、中、高剂量组(20、40、80 mg/kg),每组10只。给药组大鼠连续ig给药35 d,每天1次;NC组和MC组大鼠ig等体积蒸馏水。测定大鼠踝关节肿胀度,计算大鼠关节炎指数,苏木精-伊红染色后观察大鼠滑膜组织病变,免疫组化法检测大鼠脾组织中CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>表达。结果:给药35 d后,MC组大鼠的踝关节肿胀度、关节炎指数和脾组织中CD4<sup>+</sup>表达及CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值均显著高于NC组( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),CD3<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>表达显著低于NC组( $P<0.05$ );滑膜组织出现充血及大量炎症细胞浸润。各给药组大鼠的踝关节肿胀度、关节炎指数、脾组织中CD4<sup>+</sup>表达及CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值均显著低于MC组( $P<0.05$ ),脾组织中CD3<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>表达均显著高于MC组( $P<0.05$ );TG组 and TSTR中、高剂量组大鼠滑膜组织出现轻度充血及少量炎症细胞浸润,TSTR低剂量组大鼠滑膜组织未见明显充血或炎症细胞浸润。结论:上调脾组织中CD3<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>的表达和下调脾组织中CD4<sup>+</sup>的表达可能是TSTR治疗RA的作用机制之一;TSTR剂量为20 mg/kg时效果最好。

**关键词** 满药;赤雹根总皂苷;Ⅱ型胶原性关节炎;T淋巴细胞亚群;大鼠

## Effects of Total Saponins of Man Medicine *Thladiantha dubia* Root on the Expressions of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> in Spleen Tissue of Rats with Type II Collagen-induced Arthritis

LIU Keming, TONG Jiming, ZHU Qingqing, NIE Jia, LIU Yongping (Institute of Chinese Materia Medica of Chengde Medical University/Key Laboratory of Research and Development for TCM in Hebei Province, Hebei Chengde 067000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To investigate the effect of total saponins of Man medicine *Thladiantha dubia* root (TSTR) on the expressions of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> in spleen tissue of rats with type II collagen-induced arthritis (CIA), and explore its mechanism in the treatment of rheumatoid arthritis (RA). METHODS: 8 rats were taken as normal control group (NC group), the others 72 rats were injected mixture of bovine type II collagen and Freund's complete adjuvant in tail and back to induce CIA model. The 50 modeled rats were randomly divided into model group (MC group), tripterygium polyglycoside (TG) group (12 mg/kg, positive control), TSTR low-dose, medium-dose, high-dose groups (20, 40, 80 mg/kg), 10 in each group. Rats in medicine groups were intragastrically administrated for 35 d, once a day; rats in NC group and MC group were intragastrically administrated equal volume of distilled water. Ankle swelling degree of rats was determined, arthritis indexes were calculated, HE staining was used to observe the lesions in synovial tissue, and immunohistochemistry was used to detect the expressions of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> in spleen tissue of rats. RESULTS: After 35 d of administration, ankle swelling degree, arthritis indexes, CD4<sup>+</sup> expression in spleen tissue, and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio in MC group were significantly higher than NC group ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ), expressions of CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> were significantly lower than NC group ( $P<0.05$ ); and there was congestion and massive inflammatory cell infiltration in synovial tissue. The ankle swelling degree, arthritis indexes, expression of CD4<sup>+</sup> in spleen tissue, and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio in administration groups were significantly lower than MC group ( $P<0.05$ ); the expressions of CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> in spleen tissue in administration groups were significantly higher than MC group ( $P<0.05$ ); TG group, TSTR medium-dose and high-dose groups showed mild congestion and a small amount of inflammatory cell infiltration in synovial tissue of rats, and TSTR low-dose group showed no obvious congestion or inflammatory cell infiltration. CONCLUSIONS: Up-regulating the expressions of CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> and down-regulating the expression of CD4<sup>+</sup> may be one of the mechanisms of TSTR in the treatment of RA; and with best efficacy when the TSTR dose of 20 mg/kg.

<sup>△</sup>基金项目:河北省高等学校科学技术研究项目(No.ZD2016013);河北省科技计划项目(No.14272502D)

\*硕士研究生。研究方向:中药学。E-mail:m18003244992@163.com

#通信作者:教授,博士生导师。研究方向:中药药理学。电话:0314-2291888。E-mail:lyp@cdmc.edu.cn

类风湿性关节炎(Rheumatoid arthritis, RA)是以慢性炎症为主要表现的自身免疫性疾病。RA的全身性表现除了关节肿胀、变形、疼痛之外,还有发热、皮下结节、心包炎、动脉炎和周围神经病变等,其发病机制一直是国内外专家研究的重点。研究表明,RA的发生发展与细胞亚群失衡和免疫功能紊乱有着密切联系<sup>[1]</sup>,T淋巴细胞亚群和B淋巴细胞亚群在RA的发病机制中起关键作用。关节组织中有大量T淋巴细胞浸润,细胞免疫调节功能紊乱以致免疫应答失衡,是导致患者各组织病理损伤的重要因素<sup>[2]</sup>,其中T淋巴细胞亚群CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>的表达,能够反映多种免疫细胞与RA间促炎/抗炎的平衡关系。

赤菴(Thladiantha dubia)属葫芦科多年蔓生草本植物,药用部位为根,为满族民间常用药材。其具有抗炎、镇痛的作用,多用于治疗跌打损伤、腰腿痛、风湿痛等<sup>[3-4]</sup>,且无明显的毒副作用。前期研究表明,赤菴根总皂苷(TSTR)对RA具有一定的改善作用<sup>[5]</sup>。在本研究中,笔者通过观察TSTR对II型胶原性关节炎(CIA)大鼠脾组织中T淋巴细胞亚群CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>表达的影响,进一步探讨TSTR治疗RA的相关机制。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Nikon80i显微镜及摄像装置(日本Olympus公司);TDL-40B离心机(上海安亭科学仪器制造厂);DNP-9052电热恒温培养箱(上海精宏实验设备有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

TSTR(承德医学院中药研究所,批号:20150618,纯度:55.2%);雷公藤多苷片(TG,远大医药黄石飞云制药有限公司,批号:110301,规格:0.2 mg/片);牛II型胶原蛋白(美国Chondrex公司,批号:150230);弗氏完全佐剂(FCA,美国Sigma公司,批号:124K8942);多聚甲醛(天津市风船化学试剂科技有限公司);二甲苯、切片石蜡、无水乙醇(天津市福晨化学试剂厂);大鼠CD4<sup>+</sup>一抗和小鼠CD3<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>一抗(美国Santa Cruz公司,批号:SC7219、SC20047、SC53063);兔抗大鼠免疫球蛋白G(IgG)免疫组化试剂盒、兔抗小鼠IgG免疫组化试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司,批号:201603、201602);其余试剂均为国产分析纯。

### 1.2 动物

SPF级Wistar大鼠80只,♂,8周龄,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)2012-0001。

## 2 方法

### 2.1 分组、造模与给药

大鼠先适应性饲养1周后,随机取8只作为正常对照组(NC组),其余大鼠均ip 5%水合氯醛(1 mL/100 g)麻醉,剪去背部及尾根部的鼠毛,多点注射牛II型胶原蛋

白与FCA的混合制剂,以注射点周围显现白泡为佳,1周后再加强注射1次复制CIA模型。从造模后第21天开始,计算大鼠关节炎指数(AI)值,若AI≥6则表示造模成功。将造模成功的50只大鼠随机分为模型组(MC组)、TG组(12 mg/kg)<sup>[6]</sup>和TSTR低、中、高剂量组(20、40、80 mg/kg),每组10只。给药组大鼠每天ig给药1次,NC组和MC组大鼠ig等体积蒸馏水,连续给药35 d。

### 2.2 踝关节肿胀度检测

用游标卡尺测定造模后给药前及给药后7、14、21、28、35 d大鼠的左、右踝关节直径(cm),并计算踝关节肿胀度:踝关节肿胀度(%)=(造模组大鼠左、右踝关节直径之和-NC组大鼠左、右踝关节直径之和)/NC组大鼠左、右踝关节直径之和×100%。

### 2.3 AI值的计算

参考文献[6]方法进行AI值的计算,评分标准为:无红肿,记为0分;稍肿,记为1分;小趾关节及足跖关节可见肿胀,记为2分;踝关节以下部位足爪肿胀,记为3分;包括踝关节在内的明显关节肿胀,记为4分。AI=四肢肢体关节肿胀评分之和,最高得分为16分。

### 2.4 HE染色观察大鼠膝关节滑膜组织病变

取大鼠膝关节滑膜组织,经梯度酒精脱水、二甲苯透明、浸蜡、包埋,制得5 μm厚切片,行苏木精-伊红(HE)染色,中性树胶封片。显微镜下观察各组大鼠膝关节滑膜组织病变。

### 2.5 免疫组化检测大鼠脾组织中CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>表达

取大鼠脾组织,用10%甲醛固定,24 h后组织常规脱水包埋蜡块(3 μm);切片脱蜡至水,进行抗原修复、灭活内源性酶,然后按免疫组化试剂盒说明书操作,其中一抗为大鼠CD4<sup>+</sup>抗体和小鼠CD3<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>抗体(1:20),二抗为兔抗大鼠IgG抗体和兔抗小鼠IgG抗体。显微镜下观察CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>的表达(染色后细胞膜和胞浆中出现淡黄色或黄褐色为阳性表达),每张切片取5个不同视野,对积分光密度(IOD)值进行测定。

### 2.6 统计学方法

采用SPSS 19.0统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 $t$ 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 踝关节肿胀度的测定结果

与NC组比较,其余各组大鼠给药前及给药后不同时间踝关节肿胀度明显升高( $P < 0.01$ );与MC组比较,各给药组大鼠从给药后第7天开始踝关节肿胀度均有不同程度降低;从给药后第28天开始,各给药组大鼠踝关节肿胀度均显著降低( $P < 0.01$ ),结果见表1。

### 3.2 AI值的测定结果

与NC组比较,其余各组大鼠的AI值均显著升高

表1 各组大鼠踝关节肿胀度的测定结果( $\bar{x} \pm s, \%$ )

Tab 1 Determination results of ankle swelling degree in each group( $\bar{x} \pm s, \%$ )

| 组别        | n  | 剂量,mg/kg | 给药前            | 给药后不同时间         |                 |                 |                 |                 |
|-----------|----|----------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|           |    |          |                | 第7天             | 第14天            | 第21天            | 第28天            | 第35天            |
| NC组       | 8  |          | 4.88 ± 1.11    | 7.69 ± 1.11     | 9.99 ± 0.68     | 12.59 ± 1.05    | 13.56 ± 2.02    | 11.54 ± 1.54    |
| MC组       | 10 |          | 47.82 ± 7.90** | 49.22 ± 10.48** | 47.14 ± 8.14**  | 42.79 ± 3.48**  | 41.20 ± 9.49**  | 34.36 ± 6.84**  |
| TG组       | 10 | 12       | 47.64 ± 8.90** | 43.65 ± 11.88** | 33.42 ± 6.43*** | 28.73 ± 7.86*** | 27.50 ± 3.48*** | 26.36 ± 2.72*** |
| TSTR 低剂量组 | 10 | 20       | 46.78 ± 4.28** | 37.83 ± 5.76*** | 31.07 ± 4.49*** | 28.53 ± 6.01*** | 27.47 ± 4.39*** | 25.30 ± 3.31*** |
| TSTR 中剂量组 | 10 | 40       | 46.75 ± 5.12** | 43.41 ± 9.60**  | 39.49 ± 4.62*** | 39.70 ± 3.20**  | 30.86 ± 6.53*** | 23.49 ± 4.39*** |
| TSTR 高剂量组 | 10 | 80       | 45.93 ± 3.89** | 40.98 ± 4.15*** | 36.76 ± 5.39*** | 39.43 ± 5.07**  | 31.73 ± 6.06*** | 24.97 ± 2.55*** |

注:与NC组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与MC组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\*\* $P < 0.01$

Note: vs. NC group, \*\* $P < 0.01$ ; vs. MC group, \* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$

( $P < 0.01$ );与MC组比较,各给药组大鼠从给药后第7天开始AI值均有不同程度降低;从给药后第14天开始,

各给药组大鼠的AI值均显著降低( $P < 0.01$ ),结果见表2。

表2 各组大鼠AI值的测定结果( $\bar{x} \pm s, \text{分}$ )

Tab 2 Determination results of AI in each group( $\bar{x} \pm s, \text{score}$ )

| 组别        | n  | 剂量,mg/kg | 给药前           | 给药后不同时间        |                |                |                |                |
|-----------|----|----------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|           |    |          |               | 第7天            | 第14天           | 第21天           | 第28天           | 第35天           |
| NC组       | 8  |          | 0             | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              |
| MC组       | 10 |          | 9.20 ± 2.82** | 10.08 ± 1.03** | 10.30 ± 0.67** | 10.50 ± 0.71** | 10.20 ± 0.63** | 10.00 ± 0.94** |
| TG组       | 10 | 12       | 8.90 ± 1.97** | 9.60 ± 0.70**  | 8.40 ± 0.84*** | 7.90 ± 0.32*** | 6.90 ± 0.88*** | 6.50 ± 0.71*** |
| TSTR 低剂量组 | 10 | 20       | 9.20 ± 2.62** | 9.40 ± 1.51*** | 7.60 ± 0.84*** | 7.20 ± 1.03*** | 6.80 ± 0.92*** | 6.20 ± 1.14*** |
| TSTR 中剂量组 | 10 | 40       | 8.80 ± 2.35** | 9.90 ± 1.73**  | 8.40 ± 0.84*** | 7.70 ± 0.68*** | 7.00 ± 0.82*** | 6.60 ± 0.97*** |
| TSTR 高剂量组 | 10 | 80       | 9.00 ± 1.89** | 10.20 ± 0.79** | 8.60 ± 0.69*** | 8.00 ± 0.82*** | 7.50 ± 0.71*** | 7.10 ± 0.99*** |

注:与NC组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与MC组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\*\* $P < 0.01$

Note: vs. NC group, \*\* $P < 0.01$ ; vs. MC group, \* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$

### 3.3 膝关节滑膜组织病变的观察结果

NC组大鼠膝关节滑膜组织正常,未见炎症病变;MC组大鼠膝关节滑膜组织细胞排列紧密、紊乱,并出现充血、大量炎症细胞浸润;TG组和TSTR各剂量组大鼠膝关节滑膜组织轻度充血,有少量炎症细胞浸润,且以TSTR低剂量组改善最为明显,结果见图1。

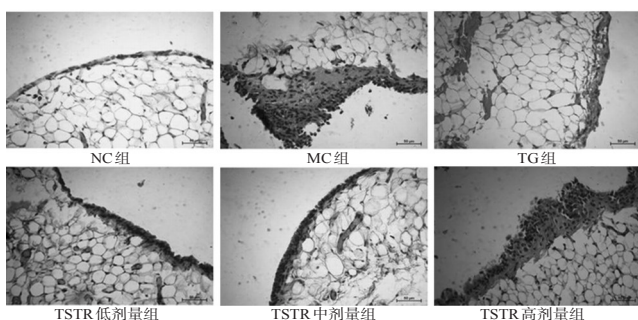


图1 各组大鼠膝关节滑膜组织的病理观察结果(HE, ×400)

Fig 1 Pathological observation results of knee synovial tissue of rats in each group (HE, ×400)

### 3.4 脾组织中CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>表达测定结果

与NC组比较,其余各组大鼠脾组织中CD3<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>表达水平均显著降低( $P < 0.05$ ),CD4<sup>+</sup>水平和CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值均显著升高( $P < 0.05$ );与MC组比较,TG组和TSTR各剂量组大鼠脾组织中CD3<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>水平均显著升高( $P < 0.05$ ),CD4<sup>+</sup>水平和CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值均显著降低

( $P < 0.05$ ),且以TSTR低剂量组指标变化最为明显。测定结果见表3,免疫组化图见图2。

表3 各组大鼠脾组织中CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>表达测定结果( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 3 Determination results of the expressions of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> in spleen tissue of rats in each group( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别        | n  | 剂量,mg/kg | IOD值                |                     |                     |                                    |
|-----------|----|----------|---------------------|---------------------|---------------------|------------------------------------|
|           |    |          | CD3 <sup>+</sup>    | CD4 <sup>+</sup>    | CD8 <sup>+</sup>    | CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> |
| NC组       | 8  |          | 0.029 1 ± 0.002 3   | 0.023 2 ± 0.002 5   | 0.037 2 ± 0.002 8   | 0.622 9 ± 0.055 2                  |
| MC组       | 10 |          | 0.009 7 ± 0.001 3*  | 0.047 9 ± 0.000 9*  | 0.019 1 ± 0.000 9*  | 2.510 7 ± 0.071 6*                 |
| TG组       | 10 | 12       | 0.023 4 ± 0.002 7** | 0.024 2 ± 0.002 2** | 0.030 0 ± 0.002 3** | 0.810 8 ± 0.096 9**                |
| TSTR 低剂量组 | 10 | 20       | 0.023 5 ± 0.001 8** | 0.025 1 ± 0.001 6** | 0.031 1 ± 0.000 9** | 0.807 8 ± 0.031 9**                |
| TSTR 中剂量组 | 10 | 40       | 0.017 6 ± 0.001 9** | 0.030 5 ± 0.002 2** | 0.025 7 ± 0.001 8** | 1.195 0 ± 0.155 2**                |
| TSTR 高剂量组 | 10 | 80       | 0.015 5 ± 0.002 2** | 0.044 7 ± 0.003 0** | 0.021 7 ± 0.000 9** | 2.053 8 ± 0.073 1**                |

注:与NC组比较,\* $P < 0.05$ ;与MC组比较,\* $P < 0.05$

Note: vs. NC group, \* $P < 0.05$ ; vs. MC group, \* $P < 0.05$

## 4 讨论

本研究采用牛Ⅱ型胶原蛋白与FCA的混合剂造模,与RA患者的病理特征有许多相似之处<sup>[7]</sup>。TSTR生药中总皂苷含量为3%,本研究以人与大鼠的体表面积进行换算,20、40、80 mg/kg分别相当于人临床用0.5、1、2倍剂量。TG具有较强的抗炎及免疫抑制作用,临床上主要用于治疗RA等自身免疫性疾病,疗效明显,但其会对肾和生殖系统产生不可逆的损伤<sup>[8]</sup>,具体原因不详。

RA的病理特征主要为各种炎症细胞浸润滑膜组

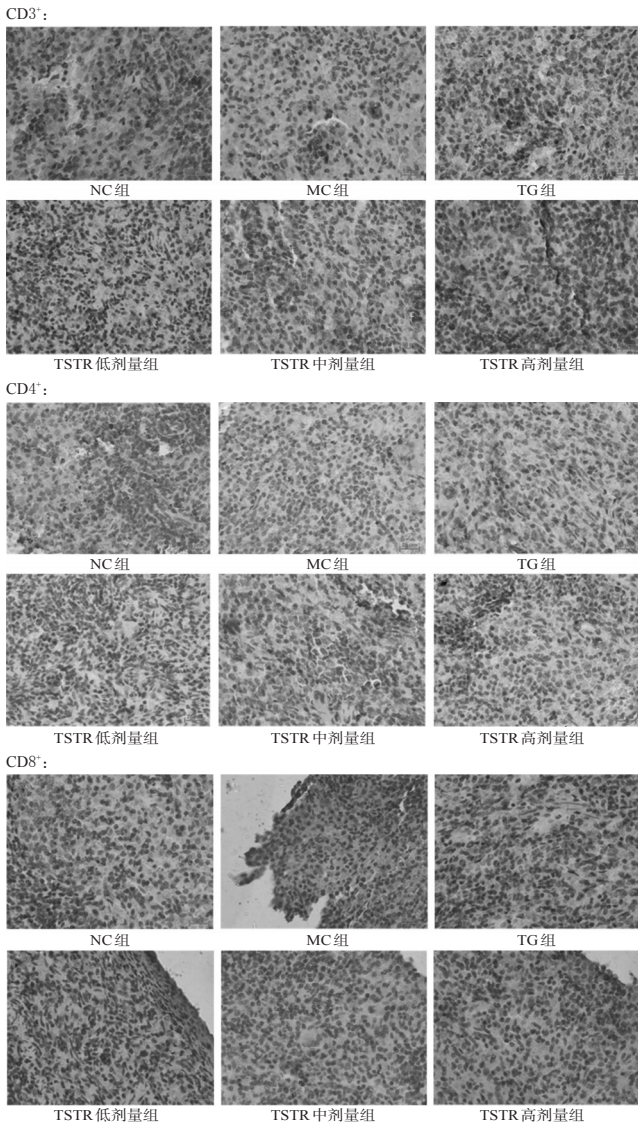


图2 各组大鼠脾组织中CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>表达的免疫组化图(×400)

Fig 2 Immunohistochemistry figures of the expressions of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> in spleen tissue of rats in each group (×400)

织,随后出现骨组织破坏,最终导致关节功能丧失。本研究发现,造模大鼠膝关节滑膜组织出现细胞排列紊乱、充血、炎症细胞浸润等炎症病变,各剂量TSTR对CIA大鼠滑膜炎有显著的缓解作用,且以低剂量TSTR作用效果最好。

脾作为人体最大的免疫器官,内含大量的淋巴细胞和巨噬细胞,是机体细胞免疫和体液免疫的中心。CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>分子是存在于T淋巴细胞中具有显著免疫作用的标志<sup>[9]</sup>。CD3<sup>+</sup>代表成熟的T淋巴细胞,其细胞水平可反映总的T淋巴细胞水平<sup>[10]</sup>。T淋巴细胞依据其作用的不同可分为辅助性T细胞和抑制性T淋巴细胞。CD4<sup>+</sup>为辅助性T淋巴细胞,源于胸腺,其高表达能使破骨细胞分化从而促进RA的发病<sup>[11]</sup>。CD8<sup>+</sup>发挥着抑

制细胞及体液免疫的功能,具有细胞毒效应,能够杀伤被感染的细胞<sup>[12]</sup>。本研究结果显示,造模后大鼠脾组织中CD3<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>水平显著降低,CD4<sup>+</sup>水平和CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值显著升高;给予不同剂量TSTR后,大鼠脾组织中上述指标均显著改善,且以低剂量TSTR作用效果最好。

综上所述,TSTR治疗RA的机制可能与其下调脾组织中T淋巴细胞亚群CD4<sup>+</sup>表达、上调CD3<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>表达、降低CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值有关。但实验结果各指标均显示,以TSTR给药剂量为20 mg/kg时作用效果最为明显,笔者推测这可能与以下因素有关:TSTR为本课题组自制,该批次样品可能纯度更高;TSTR成分复杂,其可能对不同指标的影响程度不同,但其具体原因有待进一步分析证实。

### 参考文献

- [1] Jutley G, Raza K, Buckley CD. New pathogenic insights into rheumatoid arthritis[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2015, 27(3):249-255.
- [2] 李英楠,赵育松,李秀.类风湿关节炎患者外周血T细胞亚群异常及调节的研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2002, 22(5):359-361.
- [3] Vignali DA, Vignali KM. Profound enhancement of T cell activation mediated by the interaction between the TCR and the CD3 domain of CD4[J]. *J Immunol*, 1999, 162(3):1431-1439.
- [4] 刘永平,陈建双,张玉玲,等.赤霉素总皂苷镇痛作用研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2011, 38(5):993-995.
- [5] 洪文婷,刘永平,梅爱敏,等.赤霉素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.
- [6] 王学勇,张元,许建阳,等.金铁锁总皂苷抗类风湿性关节炎作用及其作用机制研究[J]. *中国中药杂志*, 2006, 31(5):419-421.
- [7] 谢雪健,申雨燕,宋杰,等.全反式视黄酸对CIA大鼠血清炎症性细胞因子及软骨损伤相关蛋白表达的影响[J]. *四川大学学报*, 2016, 47(4):479-484.
- [8] 王景红,刘菁华,汪文琪,等.类风湿关节炎常用药物及其不良反应[J]. *中国药房*, 2014, 25(48):4601-4603.
- [9] 柴立民,陈惠民,吴志奎.类风湿关节炎的自身免疫应答机制[J]. *医学综述*, 2011, 17(3):357-359.
- [10] 王喜英,毛少华,张小青,等.细胞因子和淋巴细胞亚群在类风湿关节炎中检测的临床意义[J]. *中原医刊*, 2008, 35(5):33-34.
- [11] 曾燕.类风湿关节炎滑膜Foxp3调节性T细胞浸润的临床相关性研究[D].广州:中山大学,2009.
- [12] 王艳霞.类风湿性关节炎滑膜淋巴细胞CD3、CD4、CD8的表达及意义[D].天津:天津医科大学,2012.

(收稿日期:2017-04-24 修回日期:2017-06-15)

(编辑:林 静)