

延龄草总皂苷对佐剂性关节炎模型大鼠的改善作用及机制[△]

谭晓茜^{1*}, 史伟文², 蒋安蓉¹, 柳蔚¹, 李世刚¹, 喻玲玲^{1#} (1. 三峡大学医学院, 湖北宜昌 443002; 2. 宜昌市中医医院药剂科, 湖北宜昌 443002)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)21-2635-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.21.13



摘要 目的: 研究延龄草总皂苷(TTM)对佐剂性关节炎模型大鼠的改善作用及机制。方法: 将SD大鼠随机分为造模组($n=44$)和空白组($n=6$), 造模组大鼠注射完全弗氏佐剂以复制佐剂性关节炎模型, 空白组大鼠同法注射等体积生理盐水。将造模成功的大鼠分为模型组、雷公藤多苷片组(40 mg/kg)和TTM低、中、高剂量组(50、100、200 mg/kg), 每组6只。各给药组大鼠灌胃相应药物, 空白组和模型组大鼠灌胃生理盐水, 每天1次, 连续9 d。末次灌胃后, 测定大鼠体质量、足肿胀度(双侧), 并进行关节炎性评分; 测定大鼠血清中肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素1 β (IL-1 β)、IL-6含量; 观察大鼠踝关节病理形态学变化; 检测大鼠膝关节组织中NOD样受体蛋白3(NLRP3)、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、胱天蛋白酶1(caspase-1)的蛋白表达水平; 检测大鼠踝关节滑膜组织中NLRP3的蛋白表达水平。结果: 与空白组比较, 模型组大鼠双侧足肿胀度, 血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6含量, 膝关节组织中NLRP3、ASC、caspase-1蛋白表达水平, 踝关节滑膜组织中NLRP3蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 体质量显著降低($P<0.05$); 滑膜细胞增生明显, 可见滑膜组织充血、炎性细胞浸润等。与模型组比较, TTM各剂量组大鼠上述指标水平大部分均显著逆转($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 滑膜细胞增生、滑膜组织充血及软骨细胞破坏等病理改变均减轻, 炎症细胞浸润减少。结论: TTM可改善大鼠类风湿性关节炎; 其作用机制可能与抑制NLRP3/caspase-1信号通路的活性, 降低炎症因子TNF- α 、IL-1 β 、IL-6的表达有关。

关键词 延龄草总皂苷; 关节炎; NOD样受体蛋白3; 抗炎; 大鼠

Improvement Effects of *Trillium tschonoskii* Total Saponins on Adjuvant-induced Arthritis Model Rats and Its Mechanism

TAN Xiaoxi¹, SHI Weiwen², JIANG Anrong¹, LIU Wei¹, LI Shigang¹, YU Lingling¹ (1. Medical College, China Three Gorges University, Hubei Yichang 443002, China; 2. Dept. of Pharmacy, Yichang Hospital of TCM, Hubei Yichang 443002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the improvement effects of *Trillium tschonoskii* total saponins (TTM) on adjuvant-induced arthritis model rats and its mechanism. METHODS: SD rats were randomly divided into model group ($n=44$) and blank group ($n=6$). Model group was given Complete Freund's adjuvant to induce the adjuvant-induced arthritis model; blank group was given constant volume of normal saline with same method. Model group were divided into model group, *Tripterygium wilfordii* polyglycoside tablets group (40 mg/kg), TTM low-dose, medium-dose and high-dose groups (50, 100, 200 mg/kg), with 6 rats in each group. Administration groups were given relevant medicine intragastrically; blank group and model group were given normal saline intragastrically, once a day, for consecutive 9 days. After last intragastric administration, the body weight and foot swelling degree (bilateral) were detected, and arthritis score was performed. The contents of tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin 1 β (IL-1 β) and IL-6 were detected; the pathomorphological changes of rat ankle were observed; protein expression of NOD-like receptor protein 3 (NLRP3), apoptosis associated spot-like protein (ASC), caspase-1 were detected; the protein expression of NLRP3 in synovial tissue of ankle joint were also determined. RESULTS: Compared with blank group, foot swelling degree, serum contents of TNF- α , IL-1 β and IL-6, the protein expression of NLRP3, ASC and caspase-1 in knee tissue as well as the protein expression of NLRP3 in synovial tissue of ankle joint were increased significantly in model group ($P<0.05$ or $P<0.01$), while the body weight was decreased significantly ($P<0.05$). The obvious proliferation of synovial cells, the congestion and inflammatory cell infiltration of synovial tissue were all observed. Compared with model group, most of the above indexes were all reversed significantly in TTM groups ($P<0.05$ or $P<0.01$); the pathological changes such as synovial cell proliferation,

congestion of synovial tissue and chondrocyte destruction were all relieved, and inflammatory cell infiltration was alleviated. CONCLUSIONS: TTM can improve rheumatoid arthritis of rats, the mechanism of which may be associated with inhibiting the activity of NLRP3/caspase-1 signaling pathway

[△] 基金项目: 宜昌市医疗卫生研究项目(No.A21-2-051)

* 药师, 硕士研究生。研究方向: 中药有效性评价。E-mail: 784249346@qq.com

通信作者: 副教授, 硕士生导师, 博士。研究方向: 天然药物应用。E-mail: yulingling@ctgu.edu.cn

and decreasing the expression of inflammatory factors TNF- α , IL-1 β , IL-6.

KEYWORDS *Trillium tschonoskii* total saponins; Arthritis; NOD-like receptor protein 3; Anti-inflammation; Rats

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以滑膜炎为主要特征的自身免疫性疾病,临床主要表现为疼痛、肿胀、关节僵硬、发热、乏力等,甚至有些患者表现出不可逆转的生理功能障碍^[1]。RA的发病过程涉及肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素6(IL-6)、IL-1 β 等多种炎症因子,但其具体发病机制尚不明确^[2]。相关研究发现,RA患者外周血的单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞中的NOD样受体蛋白3(NOD-like receptor protein 3, NLRP3)的表达上调^[3]。

延龄草别名“头顶一颗珠”,为百合科植物,是神农架四大名药之一,其根茎具有化痰、解毒、除风湿等功效,可用于治疗软组织损伤、外伤出血等^[4],其主要活性成分为延龄草总皂苷(TTM)^[5]。经本课题组前期研究发现,TTM具有明显的抗炎活性,对小鼠足肿胀具有显著的治疗效果^[6]。但是,TTM是否具有改善AA的作用,尚不明确。

胶原诱导性关节炎(collagen induced arthritis, CIA)和佐剂性关节炎(adjuvant-induced arthritis, AA)模型在RA动物模型中均应用广泛: CIA模型常用于RA的免疫机制研究,AA模型常用于RA药物疗效研究^[7-8]。且相较于CIA模型,AA模型具有成模率高、造模时间短、操作简单等优点^[9],故本研究选择建立AA模型大鼠,探究TTM对关节炎的改善作用及机制,以期TTM治疗RA提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有C2500-R-230V型微型高速离心机(美国Labnet公司)、ICV-450型电热恒温培养箱(日本Ason公司)、Flexstation 3型多功能酶标仪(美国Molecular Devices公司)、DYY-7C型电泳仪(北京六一仪器厂)、BX53型生物显微镜(日本Olympus公司)。

1.2 主要药品与试剂

本研究所用TTM由本实验室自制(112.96 g/kg,以生药量计)。其他药品与试剂有:雷公藤多苷片(浙江得恩德制药有限公司,国药准字Z33020422,规格10 mg), TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,批号分别为E-EL-R2856c、E-EL-R0015c、E-EL-R0012c),水合氯醛(广东光华科技股份有限公司,批号20100926),完全弗氏佐剂、4%多聚甲醛、苏木精-伊红(HE)染色液(美国Sigma公司,批号分别为F5881-10、158127、H9627), BCA蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号P0010),兔源GAPDH多克隆抗体(杭州贤至生物技术有限公司,批号AB-P-R001),兔源凋亡相关斑点

样蛋白(ASC)多克隆抗体(美国Affinity公司,批号DF6304),兔源NLRP3单克隆抗体(武汉爱博泰克生物科技有限公司,批号A5652),兔源胱天蛋白酶1(caspase-1)P10多克隆抗体(10/45 kDa)(北京博奥森生物技术有限公司,批号bs-20617R),辣根过氧化物酶标记的羊抗兔免疫球蛋白G二抗(武汉博士德生物工程有限公司,批号BA1054);其余试剂为实验室常用规格,水为纯净水。

1.3 动物

本研究所用动物为SPF级雄性SD大鼠,体质量180~200 g,购自三峡大学动物实验中心,动物生产许可证号为SCXK(鄂)2017-0012。动物饲养于室温为25℃、相对湿度为40%~70%的环境中,经适应性喂养后进行实验。实验过程符合三峡大学实验伦理委员会的相关要求。

2 方法

2.1 造模、分组与给药

将大鼠按照随机数字表法分为造模组($n=44$)和空白组($n=6$)。造模组大鼠右足趾处注射完全弗氏佐剂0.1 mL以致炎^[10];注射后第7天,在大鼠右侧尾部皮下注射完全弗氏佐剂0.1 mL来加强免疫,以复制AA模型。空白组大鼠同法注射等体积生理盐水。注射10 d后,造模组大鼠参考“0~4级关节炎性评分办法”对其双侧后足关节进行炎性评分^[11]:0分为无肿胀和红斑;1分为踝关节出现红斑和轻度肿胀;2分为踝关节到跖关节或掌关节出现红斑和轻度肿胀;3分为踝关节到跖趾关节或掌关节出现红斑和中度肿胀;4分为踝关节到趾关节出现红斑和重度肿胀。当大鼠双侧(右侧为原发侧,左侧为继发侧)足关节累计评分大于4时,则表明造模成功。剔除造模不成功大鼠14只,将造模成功的30只大鼠随机分为模型组、雷公藤多苷片组(40 mg/kg,剂量参考文献[12]设置)和TTM低、中、高剂量组(50、100、200 mg/kg,剂量根据本课题组前期研究结果设置^[13-15]),每组6只。各给药组大鼠灌胃相应药物[临用时均以羧甲基纤维素钠溶液(以生理盐水为溶剂)溶解],空白组和模型组大鼠灌胃生理盐水,灌胃体积为0.01 mL/g,每天1次,连续9 d。

2.2 大鼠体质量、足肿胀度、关节炎性评分的检测

末次灌胃后,称定各组大鼠体质量,并采用游标卡尺测量大鼠双侧后足踝关节同一位点(右侧为原发侧,左侧为继发侧)的厚度,平行测量3次,取平均值,并计算足肿胀度(足肿胀度=灌胃后大鼠踝关节厚度的平均值-造模前大鼠踝关节厚度的平均值)。另外,按照“2.1”项下方法对灌胃后大鼠双侧后足关节进行炎性评分。

2.3 大鼠血清中IL-1 β 、TNF- α 、IL-6含量的测定

采用ELISA法进行检测。各组大鼠体质量等基本情况观察结束后,以10%水合氯醛进行麻醉,于腹主动脉取血。血样于室温静置2 h后,以3 000 r/min离心10 min,吸取上层血清,按试剂盒说明书相关方法操作,以酶标仪测定血清中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的含量。

2.4 大鼠踝关节病理形态学观察

关节炎性评分后,处死各组大鼠并剖离脾脏组织,再剖取其关节组织(包括踝关节和膝关节)。将踝关节置于EDTA脱钙液中脱钙2个月,将膝关节置于-80℃下保存备用。将脱钙后的踝关节组织经梯度乙醇脱水、石蜡包埋、切片后,取各组大鼠切片(共36张,另外18张用于免疫组化实验)以二甲苯和梯度乙醇进行脱蜡和水合;然后将上述组织切片置于苏木精染色液中染色1 min,以自来水冲洗后,再置于盐酸乙醇溶液中浸泡3 s;继续以自来水冲洗后,将上述组织切片置于伊红染色液中染色1 min,再进行脱水、封闭,然后置于显微镜下观察大鼠踝关节病理形态学变化情况。

2.5 大鼠膝关节组织中NLRP3、ASC、caspase-1蛋白表达水平的检测

采用Western blot法进行检测。取“2.4”项下冻存的各组大鼠膝关节组织适量,经剪碎、裂解后,以12 000 r/min离心5 min,取上清液,采用BCA蛋白测定试剂盒检测蛋白浓度。蛋白经变性后,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),转膜70 min,以5%脱脂牛奶封闭2 h;以TBST缓冲液清洗10 min \times 3次,加入GAPDH、NLRP3、caspase-1P10、ASC一抗(稀释度均为1:1 000),于4℃孵育过夜;以TBST缓冲液清洗10 min \times 3次,加入二抗(稀释度为1:50 000),于室温孵育2 h;以TBST缓冲液清洗10 min \times 3次,加入ECL发光液显色,经全自动凝胶成像系统成像。采用Image J v1.8.0软件进行分析,以cleaved-caspase-1/caspase-1的比值表示caspase-1的蛋白表达水平,以目的蛋白与内参GAPDH灰度值的比值表示NLRP3、ASC的蛋白表达水平。

2.6 大鼠踝关节滑膜组织中NLRP3蛋白表达水平的检测

采用免疫组化法进行检测。取“2.5”项下脱钙后的各组大鼠踝关节组织切片(共18张),经脱蜡后,采用1%胰酶修复液于37℃条件下孵育1.5 h;以磷酸盐缓冲液(PBS,pH 7.4)冲洗5 min \times 3次,滴加3% H₂O₂溶液适量,静置10 min以修复抗原;以PBS冲洗5 min \times 3次,滴加山羊血清封闭20 min后,甩去多余液体,滴加NLRP3一抗(稀释度为1:100)50 μ L,4℃孵育过夜;以PBS冲洗5 min \times 3次,滴加二抗,于37℃孵育30 min;以PBS冲洗3 min \times 3次,甩去多余液体,滴加DAB显色液,室温孵育8 min,于光学显微镜下观察并拍照。当切片中出现棕黄色或棕褐色颗粒则为目的蛋白阳性表达。采用

IPP6.0软件分析蛋白阳性表达部分的光密度,并计算阳性率,以表示目的蛋白的表达水平。

2.7 统计学方法

数据采用SPSS 20.0统计软件进行分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 TTM对AA模型大鼠体质量、足肿胀度、关节炎性评分的影响

与空白组比较,模型组大鼠双侧足肿胀度、关节炎性评分均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),体质量显著降低($P<0.05$);与模型组比较,雷公藤多苷片组和TTM各剂量组大鼠双侧足肿胀度(TTM低剂量组原发侧足肿胀度除外)、关节炎性评分均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),TTM低剂量组大鼠体质量显著升高($P<0.05$),详见表1。

表1 各组大鼠体质量、足肿胀度、关节炎性评分的测定结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 1 Body weight, foot swelling degree and arthritis score of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	体质量,g	继发侧足肿胀度,mm	原发侧足肿胀度,mm	关节炎性评分,分
空白组	313.63 \pm 16.13	0	0	0
模型组	267.41 \pm 6.95*	3.30 \pm 0.33*	4.25 \pm 0.19*	6.33 \pm 0.82**
雷公藤多苷片组	279.56 \pm 8.60	1.13 \pm 0.07*	2.75 \pm 0.22*	4.17 \pm 0.75*
TTM低剂量组	286.05 \pm 12.02*	1.17 \pm 0.07*	3.17 \pm 0.24	4.33 \pm 0.63*
TTM中剂量组	277.70 \pm 8.99	0.90 \pm 0.04**	2.35 \pm 0.29*	2.50 \pm 0.84*
TTM高剂量组	277.56 \pm 7.64	0.82 \pm 0.01**	1.77 \pm 0.15*	2.17 \pm 0.75*

注:与空白组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

Note: vs. blank group,* $P<0.05$,** $P<0.01$; vs. model group,* $P<0.05$,** $P<0.01$

3.2 TTM对AA模型大鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6含量的影响

与空白组比较,模型组大鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6含量均显著升高($P<0.01$);与模型组比较,雷公藤多苷片组和TTM各剂量组大鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6含量均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),详见表2。

表2 各组大鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6含量的测定结果($\bar{x} \pm s, n=6, \text{pg/mL}$)

Tab 2 Serum contents of TNF- α , IL-1 β and IL-6 of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=6, \text{pg/mL}$)

组别	TNF- α	IL-1 β	IL-6
空白组	18.96 \pm 0.50	17.97 \pm 1.09	13.80 \pm 0.67
模型组	122.01 \pm 2.19**	111.63 \pm 3.79**	61.75 \pm 1.42**
雷公藤多苷片组	45.39 \pm 0.88**	39.70 \pm 1.49**	20.04 \pm 2.18*
TTM低剂量组	92.25 \pm 5.99*	72.69 \pm 7.59*	48.81 \pm 3.50**
TTM中剂量组	71.23 \pm 3.85**	61.80 \pm 1.02**	38.46 \pm 0.49**
TTM高剂量组	61.33 \pm 1.69**	51.59 \pm 0.93**	27.22 \pm 1.90**

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

Note: vs. blank group,** $P<0.01$; vs. model group,* $P<0.05$,** $P<0.01$

3.3 TTM对AA模型大鼠踝关节病理形态学的影响

空白组大鼠滑膜细胞无增生、充血、水肿以及炎症细胞浸润,软骨细胞呈椭圆形紧密排列;模型组大鼠滑膜细胞增生明显,可见滑膜组织充血、炎性细胞浸润、软骨细胞破坏、血管翳生成;雷公藤多苷片组和TTM各剂量组大鼠滑膜细胞增生、滑膜组织充血及软骨细胞破坏等病理改变均较模型组减轻,炎性细胞浸润减少,详见图1。

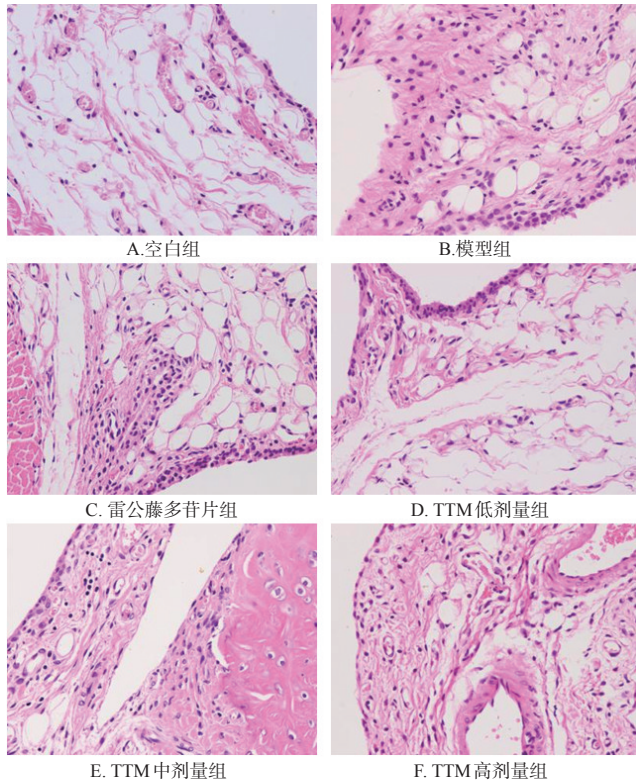


图1 各组大鼠踝关节病理形态学显微图(HE染色, ×400)

Fig 1 Pathomorphological micrograph of ankle joint of rats in each group(HE staining, ×400)

3.4 TTM对AA模型大鼠膝关节组织中NLRP3、ASC、caspase-1蛋白表达的影响

与空白组比较,模型组大鼠膝关节组织中NLRP3、ASC、caspase-1蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与模型组比较,雷公藤多苷片组和TTM各剂量组大鼠膝关节组织中上述蛋白表达水平均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),详见图2、表3。

3.5 TTM对AA模型大鼠踝关节滑膜组织中NLRP3蛋白表达的影响

与空白组比较,模型组大鼠踝关节滑膜组织中NLRP3蛋白表达水平显著升高($P<0.01$);与模型组比较,雷公藤多苷片组和TTM各剂量组大鼠踝关节滑膜组织中NLRP3蛋白表达水平均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),详见表4、图3。

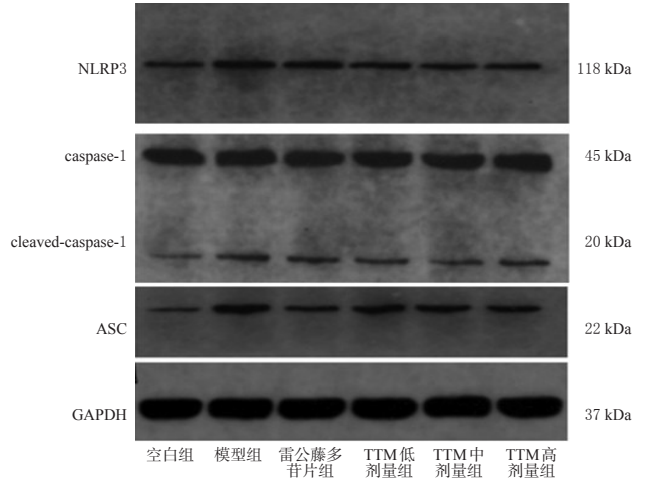


图2 各组大鼠膝关节组织中NLRP3、ASC、caspase-1蛋白表达的电泳图

Fig 2 Electrophoretic map of protein expression of NLRP3, ASC and caspase-1 in knee joint tissue of rats in each group

表3 各组大鼠膝关节组织中NLRP3、ASC、caspase-1蛋白表达水平的测定结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 3 Protein expression of NLRP3, ASC and caspase-1 in the knee joint tissue of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	NLRP3/GAPDH	ASC/GAPDH	cleaved-caspase-1/caspase-1
空白组	0.16±0.05	0.26±0.01	0.15±0.03
模型组	0.52±0.04**	0.70±0.03**	0.27±0.01*
雷公藤多苷片组	0.37±0.02*	0.33±0.04**	0.12±0.04*
TTM低剂量组	0.28±0.04**	0.60±0.02*	0.24±0.01*
TTM中剂量组	0.22±0.02**	0.56±0.03*	0.22±0.04*
TTM高剂量组	0.18±0.01**	0.45±0.04**	0.19±0.01*

注:与空白组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

Note: vs. blank group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; vs. model group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

表4 各组大鼠踝关节滑膜组织中NLRP3蛋白表达水平的测定结果($\bar{x} \pm s, n=6, \%$)

Tab 4 Protein expression of NLRP3 in synovial tissue of ankle joint of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=6, \%$)

组别	NLRP3	组别	NLRP3
空白组	0.57±0.05	TTM低剂量组	2.30±0.27*
模型组	3.69±0.14**	TTM中剂量组	1.91±0.06*
雷公藤多苷片组	1.75±0.05**	TTM高剂量组	1.13±0.06**

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

Note: vs. blank group, ** $P<0.01$; vs. model group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

4 讨论

本研究结果显示,经完全弗氏佐剂干预后,模型大鼠双侧足肿胀度、关节炎性评分以及血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6含量均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),体质量

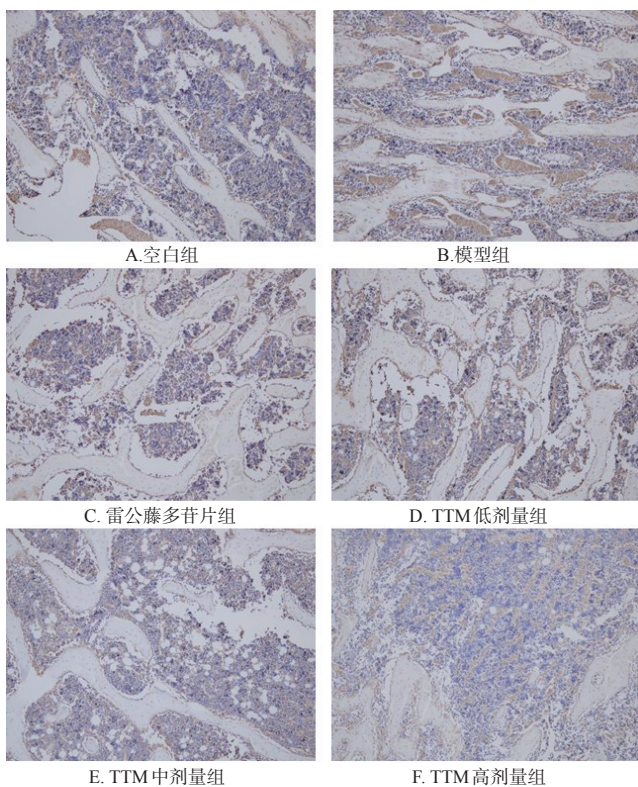


图3 各组大鼠踝关节滑膜组织中NLRP3蛋白表达的免疫组化图(免疫组化染色,×100)

Fig 3 Immunohistochemical map of NLRP3 protein expression in synovial tissue of ankle joint in rats of each group (immunohistochemical staining,×100)

显著降低($P<0.05$);滑膜细胞增生明显,可见滑膜组织充血、炎症细胞浸润、软骨细胞破坏、血管翳生成,表明模型大鼠体内炎症反应加剧,关节结构破坏严重。经不同剂量TTM干预后,大鼠上述大部分指标均明显逆转,滑膜细胞增生、滑膜组织充血及软骨细胞破坏等病理改变均减轻,炎性细胞浸润减少,提示TTM对AA模型大鼠具有明显的改善作用。

NLRP3炎症小体是由受体蛋白、ASC和caspase-1前体(pro-caspase-1)组成的多蛋白复合体,在正常细胞中表达较少^[3]。在一些免疫性疾病中,NLRP3可被激活,从而组装成多蛋白复合体,进而活化caspase-1;活化的caspase-1可将pro-IL-1 β 和pro-IL-18切割成成熟的IL-1 β 、IL-18,进而释放至细胞外,诱导炎症的发生^[16-17]。本研究结果显示,经TTM干预后,模型大鼠膝关节组织中NLRP3、ASC、caspase-1蛋白表达水平以及踝关节滑膜组织中NLRP3蛋白表达水平均显著降低。这提示,TTM可通过抑制NLRP3/caspase-1信号通路的活性,发挥改善关节炎的作用。

综上所述,TTM可改善大鼠AA;其作用机制可能与抑制NLRP3/caspase-1信号通路的活性,降低炎症因子TNF- α 、IL-1 β 、IL-6的表达有关。

参考文献

- [1] TANAKA Y. Rheumatoid arthritis[J]. *Inflamm Regen*, 2020,40:20.
- [2] EDILOVA M I, AKRAM A, ABDUL-SATER A A, et al. Innate immunity drives pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. *Biomed J*, 2020,44(2):172-182.
- [3] CHOULAKI C, PAPADAKI G, REPA A, et al. Enhanced activity of NLRP3 inflammasome in peripheral blood cells of patients with active rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2015,17(1):257.
- [4] 张嫚,李志勇,廖朝林,等.民族药头顶一颗珠的文献考证与鉴定[J].*时珍国医国药*,2011,22(10):2504-2506.
- [5] 杨杰.中药延龄草的活性成分研究[D].广州:广东药科大学,2018.
- [6] 喻玲玲,邹坤,杨进,等.延龄草提取物抗炎、镇痛和凝血作用的研究[J].*时珍国医国药*,2008,5(19):1178-1180.
- [7] 陶宁,张杰.Ⅱ型胶原诱导关节炎小鼠和大鼠模型述评[J].*山西医科大学学报*,2020,51(6):593-598.
- [8] KUMAR A, DHALIWAL N, DHALIWAL J, et al. Astaxanthin attenuates oxidative stress and inflammatory responses in complete Freund-adjuvant-induced arthritis in rats[J]. *Pharmacol Rep*, 2020,72(1):104-114.
- [9] 张敏娜.类风湿关节炎的实验动物模型及其评价[J].*实验动物科学*,2011,28(4):57-59.
- [10] 祁芳,李艳玲,艾坤,等. SD大鼠佐剂性关节炎模型的建立与评估[J].*湖南中医药大学学报*,2016,36(1):23-26.
- [11] 李培培,解国雄,宋珊珊,等.大鼠佐剂性关节炎模型表现特征及评价指标[J].*中国免疫学杂志*,2012,28(5):453-457.
- [12] 张学梅,廉莲,梁文波.复方雷公藤多苷的毒性研究[J].*辽宁中医杂志*,2005,31(7):719-720.
- [13] 李志勇,毕天,谭鹏,等.土家药头顶一颗珠不同使用条件的急性毒性实验[J].*时珍国医国药*,2014,25(9):2084-2085.
- [14] 刘红,艾明仙,阳辉.头顶一颗珠对脑缺血再灌注损伤大鼠的保护作用[J].*中药药理与临床*,2009,25(6):66-68.
- [15] 邱勇,李人鹏,刘粟,等.头顶一颗珠醇提取物对新生大鼠缺血/缺氧性脑损伤的保护作用[J].*中国药理学通报*,2016,32(11):1548-1552.
- [16] 黄统,郭赞,杨陈,等. NLRP3炎症小体在狼疮性肾炎中作用的研究进展[J].*中国免疫药杂志*,2018,34(1):127-131.
- [17] YANG Z, CAO J, YU C, et al. Caspase-1 mediated interleukin-18 activation in neutrophils promotes the activity of rheumatoid arthritis in a NLRP3 inflammasome independent manner[J]. *Joint Bone Spine*, 2016,83(3):282-289.

(收稿日期:2021-07-01 修回日期:2021-09-13)

(编辑:唐晓莲)