

基于 NF- κ B、RANK 探讨七味通痹口服液对类风湿关节炎大鼠的影响

包东桥¹, 徐斌¹, 林超¹, 钱星¹, 姚远¹, 张亚云¹, 马志¹, 卞慧敏^{1,2*}

(1.江苏省中药药效与安全性评价重点实验室, 江苏 南京 210023; 2.南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023)

摘要:目的 研究七味通痹口服液(QWTB)对胶原诱导关节炎(Collagen-induced arthritis, CIA)大鼠模型的治疗作用及其机制。方法 大鼠右侧足趾和尾根部皮下多点注射弗氏完全佐剂和Ⅱ型胶原混合物复制大鼠 CIA 模型, 成模后随机分为模型组, QWTB 12.20、6.10、3.05 g/kg 3 个剂量组和醋酸地塞米松(0.893 mg/kg)组(地米组), 另设空白对照组。21 d 后, 在尾根部皮下注射进行激发免疫, 14 d 后处死。观察 QWTB 对大鼠足趾容积, 继发病变, 血清中 TNF- α 、IL-1 α 、IL-17 水平及关节滑膜 NF- κ B、RANK、RANKL 蛋白表达的影响。结果 QWTB 3 个剂量均可不同程度地抑制关节炎大鼠足趾肿胀度, 减轻继发病变, 降低炎性细胞因子和滑膜 NF- κ B、RANK、RANKL 蛋白表达, 其中 12.20、6.10 g/kg 剂量组与模型组比较均有显著性差异($P < 0.05 \sim 0.01$)。结论 QWTB 可以通过下调炎性细胞因子水平, 抑制骨损伤, 减轻 CIA 大鼠关节病变。

关键词:七味通痹口服液; 胶原诱导关节炎; 炎性细胞因子; RANK/RANKL

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-0482(2018)03-0287-05

DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2018.0287

The Effect on Rheumatoid Arthritis Rats of Qiwei Tongbi Oral Liquid Based on NF- κ B and RANK

BAO Dong-qiao¹, XU Bin¹, LIN Chao¹, QIAN Xing¹, YAO Yuan¹, ZHANG Ya-yun¹, MA Zhi¹, BIAN Hui-min^{1,2*}

(1. Jiangsu Key Laboratory for Pharmacology and Safety Evaluation of Chinese Materia Medica, Nanjing, 210023, China; 2. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the therapeutic effect and mechanism of Qiwei Tongbi(QWTB) oral liquid on the rat model of collagen-induced arthritis (CIA). **METHODS** The mixture of Freund's complete adjuvant and type II collagen was injected into the right toe and tail root with subcutaneous multipoint method to copy the CIA rat model. Successful model rats were randomly divided into model group, QWTB 12.20, 6.10, 3.05 g/kg groups and dexamethasone acetate 0.893 mg/kg group, respectively. Saline solution was injected into control group rats ($n=10$). After 21 d, rheumatoid arthritis was stimulated by the tail root subcutaneous injection, and the rats were executed after 14 d. Rats toes volume, the secondary lesion, inflammation score, the level of TNF- α , IL-1 α and IL-17, and the protein expression of NF- κ B, RANK and RANKL in the synovium of joint were examined to determine the effect of QWTB on CIA rats. **RESULTS** Three doses of QWTB inhibited the swelling degree of the arthritis in rats toes, reduced the secondary lesion, and decreased the inflammation score and the levels of inflammatory cytokines. High dose group and middle dose group showed significant differences, compared with model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **CONCLUSION** QWTB can decrease the levels of inflammatory cytokines to alleviate joint injury of CIA rats.

KEY WORDS: QWTB; collagen-induced arthritis; inflammatory cytokines index; RANK/RANKL

类风湿关节炎(Rheumatoid arthritis, RA)是一种自身免疫性疾病,其主要病理变化为关节滑膜慢性炎症、炎性细胞浸润、血管翳形成并向邻近骨组织侵蚀、细胞外基质发生降解,导致骨质破坏、关节畸形和功能丧失。由于 RA 的作用机制尚不明确,现代医学方法难以治愈,大多药物毒副作用显著,长期用药依从性较差。而在临床,使用中药治疗该病疗效显著且副作用少。七味通痹口服液(QWTB)是

临床有效验方开发的中药复方口服液。为进一步证实该方的药理作用,我们设计了本实验,以期临床应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物

SD 大鼠,雄性,体质量(160 $\pm$ 20)g,由上海斯莱克实验动物有限公司提供,许可证号:SCXK(沪)2012-0002,大鼠适应性饲养 1 周后开始造模。

收稿日期:2017-10-19

基金项目:江苏省科技厅社会发展基金(BE2011846)

作者简介:包东桥(1990—),男,硕士研究生。* 通信作者:卞慧敏,女,研究员,博士生导师,主要从事中药心脑血管药理研究, E-mail: hmbian@sina.com

1.2 药物及试剂

①QWTB: 蚂蚁 30 g, 青风藤 35 g, 鸡血藤 28 g, 鹿衔草 35 g, 石楠藤 35 g, 千年健 35 g, 威灵仙 28 g, 制备成棕褐色液体, 气味芳香, 每 1 mL 含 2.26 g 生药, 批号: 20130501。原液稀释成每 1 mL 含生药量为 1.22、0.61、0.31 g 3 种浓度, 冷藏备用。②Ⅱ型胶原、弗氏完全佐剂、弗氏不完全佐剂, 均购自美国 chondrex 公司, 批号: 130042、130021、130097。③醋酸地塞米松片剂, 规格: 0.75 mg/片, 天津药业新郑制药有限公司, 批号: 131212, 用 0.5% CMC-Na 配制成 0.089 3 mg/mL 的混悬液。④TNF- α 、IL-1 α 、IL-17 ELISA 试剂盒, 武汉伊莱瑞特生物科技有限公司, 批号: E-EL-R0019、E-EL-R0011、E-EL-R0566。

1.3 模型复制方法

将Ⅱ型胶原乳液与弗氏完全佐剂(CFA)等体积混合成乳液, 每只大鼠在右侧足趾注射 0.05 mL, 尾根部皮下多点注射 0.15 mL, 使得每只免疫的胶原量为 2 μ g。造模后随机分为模型组, QWTB 3.05、6.10、12.20 g/kg 3 个剂量组和醋酸地塞米松 0.893 mg/kg 组(地米组), 共 5 组。另取 10 只大鼠将弗氏不完全佐剂(IFA)以同样方法注射, 使之成为空白对照组(对照组)。QWTB 组和地米组给予对应浓度的药物, 模型组和空白对照组给予 0.5% CMC-Na, 每 100 g 体质量灌胃给药 1.0 mL。

激发免疫: 于首次免疫 21 d 后, 将Ⅱ型胶原乳液与弗氏完全佐剂(CFA)等体积混合成乳液, 剂量减半, 每只大鼠尾根部皮下多点注射 0.15 mL, 使得每只免疫的胶原量为 1 μ g。给药并观察继发病变 14 d 后, 10%水合氯醛麻醉, 颈动脉取血, 离心留取血清-20 $^{\circ}$ C 保存备检, 取膝关节和踝关节的滑膜-70 $^{\circ}$ C 冻存备用。

1.4 观察指标及检测方法

1.4.1 足趾肿胀度 造模前用记号笔在大鼠右后肢踝关节周围作标记, 用 XLS-7A 足趾容积测量仪测量容积作为正常值, 激发免疫前同法测量左足容积作为对照。第 1 次免疫后每天测量右足趾容积, 第 2 次激发免疫后隔天观察继发病变左足趾容积变化: 肿胀度 = 不同时间点检测值 - 基础值。

1.4.2 ELISA 试剂盒检测炎性细胞因子 按照 ELISA 试剂盒操作说明书, 检测血清中 TNF- α 、IL-1 α 、IL-17 的含量。

1.4.3 免疫组化、Western blot 检测关节滑膜 NF- κ B 水平 免疫组化方法: 取下滑膜存放于福尔马林, 脱水, 石蜡包埋。切片, 烤片 60 $^{\circ}$ C, 1 h, 然后脱蜡及复水。1 份 30% 双氧水加 10 份蒸馏水, 室温 10 min, 蒸馏水洗 3 次, 每次 3 min。将切片浸入 0.01 mol/L 枸橼酸缓冲液, 微波中加热至沸腾(98~100 $^{\circ}$ C), 冷却(约 5~10 min), 反复 2 次。将切片自然冷却至室温, PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min。封闭, 5% BSA, 室温 20 min, 甩去多余液体。滴加一抗, 37 $^{\circ}$ C, 1 h 后, PBS 洗涤 3 次, 每次 3 min。滴加二抗, 37 $^{\circ}$ C, 15~30 min, PBS 洗涤 3 次, 每次 3 min, 滴加 SABC, 37 $^{\circ}$ C, 30 min, PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min, 1 mL 蒸馏水中分别滴加显色剂, 混匀。DAB 显色剂配置好后, 滴加于切片, 室温, 镜下检测反应时间(约 5 min)。自来水冲洗干净, 过蒸馏水。苏木素复染 2 min, 自来水冲洗。脱水, 树胶封片, 镜检、摄片。每张切片随机观察 5 个高倍视野, 应用 Image Pro Plus 5.0 图像分析系统进行处理, 随机选择, 自动采点分析, 测得阳性细胞积分吸光度值, 分析比较各组 NF- κ B 表达量的变化(积分吸光度值越高, 表示阳性细胞区域越大或信号越强)。

Western blot 方法: 取冻存的关节滑膜, 用裂解液裂解细胞, 提取细胞总蛋白并进行电泳, 而后将蛋白转移至硝酸纤维素膜上, 置于含脱脂奶粉的封闭液室温封闭 1~2 h。TBST 洗膜, 加入一抗孵育 1 h, TBST 洗膜后加入二抗室温孵育 1 h, TBST 洗膜。用显影液进行显色反应。以 β -actin 为内参, 实验均重复 3 次。

1.5 统计学方法

实验数据采用 SPSS13.0 统计软件进行分析, 计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用两样本均数的 t 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 QWTB 对大鼠免疫后右足肿胀度的影响

首次免疫 1 h 后, 对照组轻微肿胀, 模型大鼠右足趾肿胀明显, 随时间的延长逐渐加重, 至第 5 天肿胀达到高峰, 随后肿胀逐渐减轻, 至实验结束仍未完全消退, 与对照组比较有显著性差异(P < 0.05~0.01)。各给药组均有不同程度的抑制足趾肿胀的作用, 地米组从 6 h 起, QWTB 6.10、12.20 g/kg 剂量从 24 h 起, 3.05 g/kg 剂量从 72 h 起与模型组比较有显著性差异(P < 0.05~0.01), 见表 1。

表 1 QWTB 对大鼠胶原性关节炎足趾肿胀度的影响($\bar{x}\pm s$,mL, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	基础值	1 h	3 h	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	5 d
对照组	—	1.71±0.20	2.12±0.26	2.17±0.26	2.24±0.25	2.35±0.29	2.23±0.13**	2.29±0.12**	2.34±0.11**	2.39±0.16**
模型组	—	1.68±0.08	1.98±0.14	2.09±0.13	2.21±0.19	2.61±0.26	2.63±0.26	2.60±0.17	2.72±0.12	2.87±0.22
地米组	8.928×10 ⁻⁴	1.69±0.10	1.98±0.18	1.96±0.17	1.98±0.22*	1.97±0.24**	2.24±0.29**	2.02±0.20**	2.11±0.16**	1.95±0.15**
QWTB 组	3.05	1.72±0.23	1.99±0.19	2.07±0.20	2.31±0.28	2.53±0.28	2.48±0.22	2.50±0.24	2.49±0.18**	2.63±0.34
	6.10	1.68±0.23	1.87±0.23	2.02±0.22	2.22±0.26	2.54±0.24	2.36±0.25*	2.41±0.19*	2.46±0.13**	2.48±0.14**
	12.20	1.78±0.14	1.91±0.16	2.06±0.18	2.24±0.24	2.58±0.37	2.45±0.23	2.54±0.21	2.44±0.14**	2.32±0.17**
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d
对照组	—	2.40±0.14**	2.35±0.15**	2.31±0.16**	2.26±0.18**	2.28±0.17**	2.32±0.12**	2.31±0.13**	2.32±0.15**	2.35±0.13**
模型组	—	2.87±0.30	2.91±0.29	2.87±0.31	2.84±0.29	2.85±0.22	2.85±0.18	2.82±0.16	2.81±0.14	2.85±0.17
地米组	8.928×10 ⁻⁴	1.87±0.12**	1.84±0.13**	1.82±0.14**	1.81±0.14**	1.87±0.12**	1.91±0.12**	1.82±0.08**	1.76±0.08**	1.69±0.09**
QWTB 组	3.05	2.73±0.42	2.65±0.41	2.55±0.34*	2.49±0.35*	2.47±0.31**	2.53±0.32*	2.50±0.31*	2.53±0.31*	2.54±0.28**
	6.10	2.41±0.21**	2.47±0.17**	2.48±0.23**	2.45±0.24**	2.45±0.27*	2.47±0.26*	2.46±0.23**	2.44±0.25**	2.44±0.26**
	12.20	2.28±0.20**	2.32±0.14**	2.27±0.09**	2.22±0.09**	2.21±0.08**	2.26±0.12**	2.29±0.14**	2.27±0.13**	2.27±0.13**
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	15 d	16 d	17 d	18 d	19 d	20 d	21 d		
对照组	—	2.38±0.09**	2.39±0.17**	2.39±0.13**	2.38±0.12**	2.39±0.10**	2.37±0.13**	2.36±0.13**		
模型组	—	2.84±0.19	2.85±0.17	2.85±0.16	2.84±0.16	2.85±0.17	2.85±0.18	2.87±0.19		
地米组	8.928×10 ⁻⁴	1.72±0.06**	1.75±0.10**	1.79±0.11**	1.80±0.12**	1.82±0.13**	1.82±0.13**	1.81±0.14**		
QWTB 组	3.05	2.55±0.30**	2.54±0.32**	2.53±0.32**	2.54±0.32**	2.53±0.24**	2.54±0.26**	2.50±0.28**		
	6.10	2.48±0.29**	2.42±0.27**	2.44±0.27**	2.42±0.26**	2.45±0.24**	2.44±0.24**	2.43±0.24**		
	12.20	2.28±0.09**	2.29±0.11**	2.28±0.08**	2.30±0.12**	2.30±0.12**	2.30±0.14**	2.24±0.13**		

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

2.2 QWTB 对Ⅱ胶原激发后大鼠继发病变(CIA)的影响

激发后第 2 天大鼠产生继发病变,左足趾开始肿胀,随时间的延长逐渐加重,至第 6 天肿胀达到高峰,随后肿胀度略有下降,观察至实验结束足趾肿胀

仍未完全消退,与对照组比较有显著性差异($P<0.05\sim 0.01$)。各给药组均有不同程度的抑制继发病变的作用,与模型组比较有显著性差异($P<0.05\sim 0.01$),见表 2。

表 2 QWTB 对Ⅱ胶原激发后大鼠继发病变(CIA)的影响($\bar{x}\pm s$,mL, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	4 d	6 d	8 d	10 d	12 d	14 d
对照组	—	0.05±0.06**	0.07±0.09**	0.05±0.14**	0.009±0.13**	-0.04±0.17**	-0.05±0.16**
模型组	—	0.65±0.34	0.72±0.32	0.73±0.32	0.68±0.32	0.65±0.33	0.58±0.30
地米组	8.928×10 ⁻⁴	0.23±0.12**	0.22±0.11**	0.21±0.09**	0.18±0.09**	0.16±0.09**	0.15±0.09**
QWTB 组	3.05	0.38±0.46	0.51±0.63	0.48±0.62	0.45±0.57	0.41±0.51	0.38±0.49
	6.10	0.20±0.24**	0.40±0.32	0.42±0.30	0.33±0.28*	0.24±0.24*	0.19±0.21**
	12.20	0.32±0.25*	0.41±0.34	0.33±0.27*	0.19±0.22**	0.11±0.19**	0.03±0.17**

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

2.3 QWTB 对炎性细胞因子水平的影响

造模后模型组大鼠 IL-1α、IL-17、TNF-α 等炎性细胞因子水平均明显升高,与对照组比较均有显著性差异($P<0.01$)。各给药组均可降低 IL-1α、IL-17、TNF-α 等细胞因子水平,与模型组比较有显著性差异($P<0.05$),且呈剂量依赖性,见表 3。

表 3 QWTB 对 CIA 大鼠炎性细胞因子水平的影响($\bar{x}\pm s$,pg·mL⁻¹, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	IL-1α	IL-17	TNF-α
对照组	—	75.40±10.62**	36.31±8.71**	82.69±12.47**
模型组	—	169.70±22.17	71.26±13.25	173.67±30.35
地米组	8.928×10 ⁻⁴	82.99±9.16**	41.49±7.79**	96.25±10.78**
QWTB 组	3.05	121.98±9.70**	57.20±7.23**	122.37±11.97**
	6.10	99.19±8.98**	53.76±4.73**	104.85±9.44**
	12.20	91.45±6.48**	44.95±5.68**	107.74±6.33**

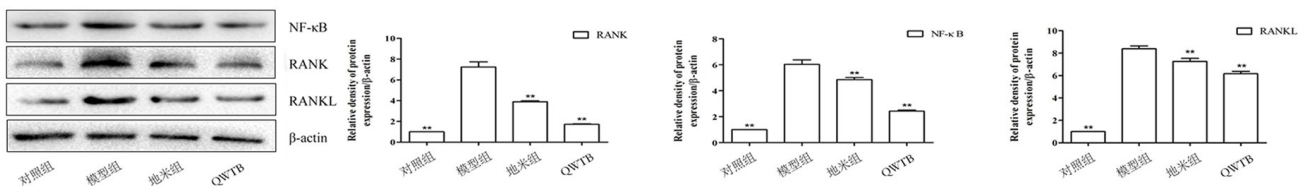
注:与模型组比较,** $P<0.01$ 。

2.4 QWTB 对 CIA 大鼠关节滑膜蛋白 NF-κB、RANK、RANKL 表达的影响

Western blot 结果见图 1,造模后模型组大鼠的 NF-κB、RANK、RANKL 表达明显升高,与对照组比

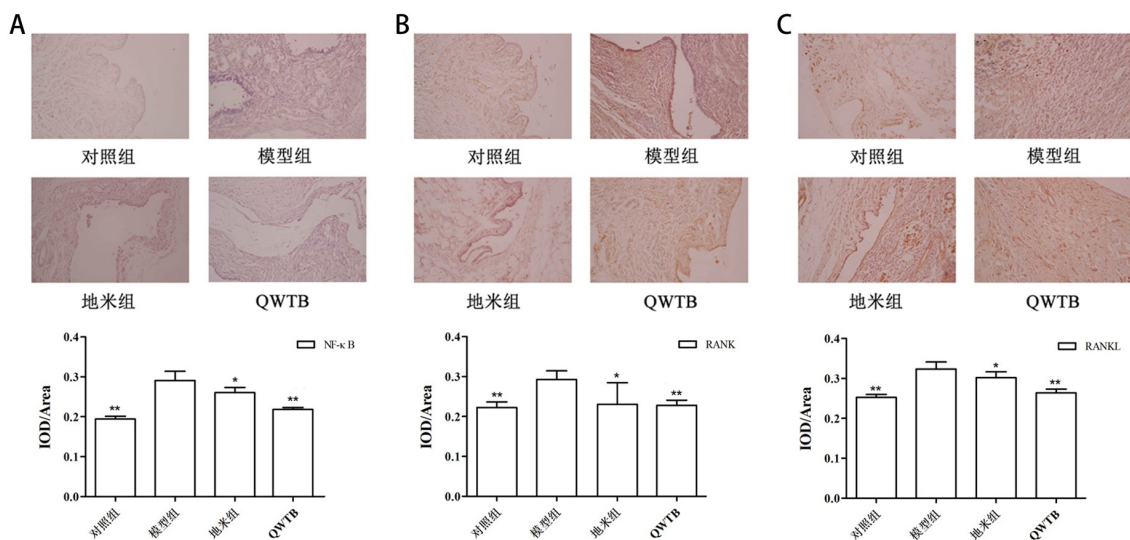
较有显著性差异($P < 0.01$)。QWTB 组与地米组均可不同程度地抑制 NF- κ B、RANK、RANKL 的表达,与模型组比较,具有显著性差异($P < 0.01$)。免疫组化结果见图 2,结果表明造模后大鼠关节滑膜 NF- κ B、RANK、RANKL 的表达明显升高,与对照组

比较,有显著性差异($P < 0.01$);地米组和 QWTB 组 12.20 g/kg 剂量组均可抑制 NF- κ B、RANK、RANKL 的表达,与模型组比较有显著性差异($P < 0.05 \sim 0.01$)。



注:与模型组比较, * $P < 0.01$, ** $P < 0.01$, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$ 。

图 1 QWTB 对 CIA 大鼠 NF- κ B、RANK、RANKL 蛋白水平的影响



注: A. NF- κ B; B. RANK; C. RANKL; 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$ 。

图 2 免疫组化检测 QWTB 对 CIA 大鼠 NF- κ B、RANK、RANKL 的影响 ($\times 100$)

3 讨论

RA 在祖国医学中称为痹症,亦称其为“尪痹”或“顽痹”。其病因多为先天不足或后天失养,肾虚不能濡养肝木,筋骨失养而成骨松筋挛,关节变形不得屈伸。尪痹发病关键在于风寒湿邪入肾伤骨,骨质受损,关节变形。久病不愈,病邪深入,常累及于肝肾,寒湿、痰浊、瘀血,互为胶结、凝聚不散,导致骨损筋挛肉削,使病情日益加重^[1]。QWTB 由蚂蚁、鸡血藤、鹿衔草、青风藤、石楠藤、千年健、威灵仙等 7 味中药组成,蚂蚁、鸡血藤、鹿衔草可补益肝肾、补血活血,发挥补充正气的作用。而青风藤、石楠藤、千年健、威灵仙可祛风除湿、通络止痛,抵抗外邪入侵导致的气血痹阻不通。诸药配伍,标本兼顾,主治肝肾不足,风湿阻络引起的关节损伤。实验结果表明 QWTB 可以有效控制模型大鼠关节原发和继发

炎症,对大鼠关节组织具有良好的保护作用。

RA 的治疗主要是在早期疾病过程中能够有效减轻炎症和抑制骨破坏^[2]。RA 患者血清内炎症细胞因子是导致关节滑膜炎的主要原因,直接造成滑膜坏死、充血水肿、过度增生等病理变化^[3]。核转录因子 NF- κ B 的活化是 RA 滑膜的共同特征,能调节多种炎症反应相关基因的转录水平^[4],在 RA 发病初始和炎症持续过程中起到重要作用^[5]。研究表明,抑制 NF- κ B 的活化可抑制多种炎症细胞因子的表达^[6]。另外,白细胞介素在炎症环境下大量增加,损伤关节滑膜^[7],促进血管生成,产生血管翳^[8]。如 IL-1 α 可增强 TNF 超家族与其他白介素细胞家族的表达,还能诱导各类炎症细胞因子产生^[9]。IL-17 是 T 细胞源性促炎因子,可刺激成纤维细胞分泌炎症因子,进一步激活 NF- κ B 的转录活性。目前认为

IL-17 促进 RA 骨破坏的机制可能包括诱导 IL-1 和 TNF- α 产生,间接加剧关节破坏。此外,RA 造成的骨破坏,主要由破骨细胞(Osteoclast,OC)过度表达所致,而 IL-17 与 IL-1 之间存在着交叉调控的作用,并直接刺激 OC 前体的分化与活化^[10]。OC 过度表达打破原先骨生成与破坏的动态平衡,使平衡向破骨方向移动,是骨破坏的最直接因素。TNF- α 与多种疾病相关,在 RA 中直接促进炎症发生^[11],在其他炎性因子存在的环境下加速了炎症进行,并诱导 OC 前体分化^[12]。TNF 的两个主要激活途径是 NF- κ B 和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路,并且两者在破坏性关节炎的发病机制中的作用已被报道^[13]。在本实验中,QWTB 有效抑制了 IL-1 α 、IL-17、TNF- α 、NF- κ B 的表达,减轻了炎细胞浸润、滑膜变性、充血水肿等病理状况,使得炎症和骨组织破坏减轻。

RANKL 与 RANK 受体在破骨细胞前体和成熟的破骨细胞表面上结合,导致破骨细胞分化和激活^[14]。而造模后 RA 发生时,即可诱导其膜上的 RANKL 表达。RANK 是 RANKL 的唯一信号受体,两者结合后即可将信号传入破骨前体细胞,并通过引起级联扩增反应而促使破骨细胞分化、成熟。RANK 和 RANKL 过度表达,导致破骨细胞过度分化,打破原有成骨细胞与破骨细胞相对平衡,使得破骨细胞数量增多、作用增强,表现为 RA 中的关节损伤。而 RANK 又是 NF- κ B 信号通路激活的重要参与者,RANKL 与 RANK 结合后,诱导下游转录因子 NF- κ B 活化,促进破骨相关基因表达^[15]。在本实验中,QWTB 有效抑制了 RANK、RANKL 的表达,减少 NF- κ B 信号通路激活,阻止破骨细胞过度分化,使得骨组织破坏减轻。

目前,大多数药物在治疗炎症与骨质流失时难以兼顾,而本实验表明 QWTB 能够同时控制 RA 病程中的炎症和骨损伤,且毒副作用小,较之醋酸地塞米松,有自身的优势,更适合临床长期使用。

参考文献:

- [1] 焦树德.类风湿关节炎从尫痹论治[J].江苏中医药,2008,40(1):5-6.
- [2] KYBURZ D, FINCKH A. The importance of early treatment for the prognosis of rheumatoid arthritis[J]. Swiss Med Wkly, 2013,143: w13865.

- [3] CHEMEL M, BRION R, SEGALIN Y AI, et al. Bone morphogenetic protein 2 and transforming growth factor β 1 inhibit the expression of the pro-inflammatory cytokine IL-34 in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts[J]. Am J Pathol, 2017, 187(1):156-162.
- [4] WARDWELL PR, FORSTNER MB, BADER RA. Investigation of the cytokine response to NF- κ B decoy oligonucleotide coated polysaccharide based nanoparticles in rheumatoid arthritis in vitro models[J]. Arthritis Res Ther, 2015,17(1):1-11.
- [5] GU R, SANTOS LL, NGO D, et al. Macrophage migration inhibitory factor is essential for osteoclastogenic mechanisms in vitro and in vivo mouse model of arthritis[J]. Cytokine, 2015, 72(2):135-145.
- [6] FRANK S, PETERS MA, WEHMEYER C, et al. Regulation of matrix metalloproteinase-3 and matrix metalloproteinase-13 by SUMO-2/3 through the transcription factor NF- κ B[J]. Ann Rheum Dis, 2013,72(11):1874-1881.
- [7] KOMATSU N, TAKAYANAGI H, KOMATSU N, et al. Inflammation and bone destruction in arthritis: synergistic activity of immune and mesenchymal cells in joints[J]. Front Immunol, 2012,3:77.
- [8] 徐蕾,陈月月,徐长松,等.七味通痹口服液治疗类风湿性关节炎 30 例[J].南京中医药大学学报,2012,28(6):586-588.
- [9] HIROSHI I, HIDEHIRO Y, SHIBATA TN, et al. Dual role of interleukin-17 in pannus growth and osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2011, 13(1):R14.
- [10] LIAO C, CHENG T, WANG S, et al. Shear stress inhibits IL-17A-mediated induction of osteoclastogenesis via osteocyte pathways[J]. Bone, 2017, 101:10-20.
- [11] KITAURA H, KIMURA K, ISHIDA M, et al. Immunological reaction in TNF- α -mediated osteoclast formation and bone resorption in vitro and in vivo[J]. Clin Dev Immunol, 2013, 2013:181849.
- [12] ZHAO B, GRIMES SN, LI S, et al. TNF-induced osteoclastogenesis and inflammatory bone resorption are inhibited by transcription factor RBP-J[J]. J Exp Med, 2012, 209(2):319-334.
- [13] UWADA J, YAZAWA T, ISLAM MT, et al. Activation of muscarinic receptors prevents TNF- α -mediated intestinal epithelial barrier disruption through p38 MAPK[J]. Cell Signal, 2017, 35:188-196.
- [14] YASUDA H. RANKL, a necessary chance for clinical application to osteoporosis and cancer-related bone diseases[J]. World J Orthop, 2013,4(4):207-217.
- [15] REMENTER CW, WU M, BURANAPHATTHANA W, et al. An inducible, ligand-independent receptor activator of NF- κ B gene to control osteoclast differentiation from monocytic precursors[J]. PLoS One, 2013, 8(12):e84465.

(编辑:杨巍敏)