

雷公藤甲素微乳凝胶对 CIA 大鼠 T 细胞相关因子调节作用研究

管咏梅 张建林 刘 佳 余雅婷 金 晨 陈丽华 朱卫丰

(江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室,南昌,330004)

摘要 目的:观察雷公藤甲素微乳凝胶(TP-MBGs)外用对 CIA 大鼠 T 细胞相关因子表达水平的影响,以探究其治疗类风湿性关节炎的作用机制。方法:将 56 只 CIA 模型大鼠随机分成空白组、模型组、基质组、TP 灌胃组、TP 微乳高剂量组、TP-MBGs 高、中、低剂量组,给药 28 d 后处理,采用 ELISA 法检测各组大鼠皮肤(CD1 α 、IgA)、血清(IFN- γ 、IL-6、TNF- α 、Col II、IL-10)及滑膜细胞上清液(IL-1、PGE₂、TNF- α)中相关细胞因子的表达水平。结果:与空白对照组比较,模型组皮肤中 CD1 α 、血清中 IFN- γ 、IL-6、TNF- α 和滑膜细胞上清液中 IL-1、PGE₂、TNF- α 的表达水平明显升高;与模型组比较,TP-MBGs 中剂量组血清中的 TNF- α 及 IL-6、滑膜细胞上清液中的 IL-1 及 TNF- α 表达水平显著降低;TP-MBGs 高剂量组皮肤中 CD1 α 、血清中的 TNF- α 及 IFN- γ 、滑膜细胞上清液中的 IL-1 及 TNF- α 的表达水平显著降低。结论:雷公藤甲素微乳凝胶外用治疗类风湿性关节炎,可能通过调节皮肤免疫功能及抑制相关细胞因子的分泌,从而起到局部及全身治疗作用。

关键词 TP-MBGs; CIA 模型; RA; T 细胞相关因子; 调节作用; ELISA 法; 经皮给药; 机制

Regulatory Effects of Triptolide Microemulsion Gel on T Cell Related Factors in CIA Rats

Guan Yongmei, Zhang Jianlin, Liu Jia, Yu Yating, Jin Chen, Chen Lihua, Zhu Weifeng

(Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education,

Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

Abstract **Objective:** To observe the effects of triptolide microemulsion gel (TP-MBGs) on the expression of T cell related factors in CIA rats, and to explore the mechanism of its treatment of rheumatoid arthritis. **Methods:** A total of 56 CIA rats were randomly divided into a blank group, a model group, a matrix group, a TP intragastric administration group, a TP microemulsion high dose group, a TP-MBGs high, middle and low dose group. After 28 days of administration, the expression level of the rat skin of CD1 α , IgA, the serum of IFN- γ , IL-6, TNF- α , Col II, IL-10 and the synovial cell supernatant of IL-1, PGE₂, TNF- α were detected by ELISA. **Results:** Compared with the blank control group, the expression of CD1 α in skin, IFN- γ , IL-6, TNF- α in serum and IL-1, PGE₂, TNF- α in synovial cell supernatant were significantly increased in the model group. Compared with the model group, the expression levels of TNF- α and IL-6 in serum, IL-1 and TNF- α in the supernatant of synovial cells in the middle dose TP-MBGs group were significantly decreased than those in the model group. The expression of CD1 α in skin, TNF- α and IFN- γ in serum, IL-1 and TNF- α in synovial cell supernatant decreased significantly in high dose TP-MBGs group. **Conclusion:** Tripterygium wilfordii microemulsion gel for external treatment of rheumatoid arthritis may play a local and systemic role by regulating skin immune function and inhibiting the secretion of related cytokines.

Key Words TP-MBGs; CIA model; RA; T cell related factors; Regulation effects; ELISA; Transdermal administration; Mechanism

中图分类号: R285.5 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2019.07.002

类风湿性关节炎(Rheumatoid Arthritis, RA)是一种以关节炎性反应和骨损伤为主要特征的全身性自身免疫疾病,其患病率较高^[1-2]。全世界不同地区人群中 RA 的发病率为 0.18%~1.07%,其中北欧及北美地区 RA 的发病率竟达到 0.5%~1.1%^[3],如果不及时进行治疗,会导致关节破坏、畸形和功能障碍等,致残率极高,难以治愈,素有“不死癌症”之称。中药雷公藤治疗 RA 历史悠久,疗效佳,其主要

的活性成分之一是环氧化二萜内酯类化合物雷公藤甲素(Triptolide, TP),药理学研究表明 TP 具有显著的抗炎和免疫抑制作用,也是目前雷公藤制剂质量控制的指标性成分。为了改善目前临床上使用雷公藤口服制剂,产生的严重的肝、肾、生殖等毒性,课题组前期通过将 TP 制备成外用制剂微乳凝胶进行研究,TP 单体的研究可以改善雷公藤中成分复杂和 TP 含量差异大的问题。早期就有研究表明在给予

基金项目:国家自然科学基金地区项目(81460607)

作者简介:管咏梅(1979.10—),女,博士,副教授,硕士研究生导师,研究方向:中药新制剂与新技术研究, Tel: (0791) 87118614, E-mail: guanym2008@163.com

通信作者:陈丽华(1972.03—),女,博士,教授,博士研究生导师,研究方向:中药新技术与新剂型研究, Tel: (0791) 87118658, E-mail: chllhy98@163.com

雷公藤外用治疗后,血药浓度较口服血药浓度低,而治疗效果却与口服制剂相当,且不良反应较小^[4]。雷公藤甲素微乳凝胶(Triptolide Microemulsion Based Gels, TP-MBGs)外用可以直接作用在病灶部位,增加药物的渗透性,且前期药效学实验表明 TP-MBGs 对Ⅱ型胶原诱导关节炎(Collagen Induced Arthritis, CIA)模型大鼠具有较好的治疗效果。但对 TP-MBGs 治疗 RA 的作用机制的研究较少,故本实验通过建立 CIA 大鼠模型,从皮肤免疫及抗炎方面,研究 TP-MBGs 外用治疗 RA 的作用机制,以期为指导 TP-MBGs 临床使用提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SD 大鼠,雄性,体质量(200±20)g,(湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物许可证号:SCXK(湘)2011-0003,实验动物从业人员上岗证号:赣 3936)。

1.1.2 药物 TP(批号:160513,质量分数≥98%,成都普菲德生物技术有限公司)。

1.1.3 试剂与仪器 弗氏完全佐剂 7001(北京博蕾德生物科技有限公司,生产批号:160308);牛Ⅱ型胶原蛋白 20022(北京博蕾德生物科技有限公司,生产批号:160177);酶标仪(Multiskan Mk3 赛默飞世尔仪器有限公司);计算机(TFT185W80PS 冠捷显示科技有限公司);大鼠 TNF-α 试剂盒(KIT, XL-Er0201 Abcam 公司);转轮式切片机(徕卡-2016,德国);TSJ-Ⅱ型全自动封闭式组织脱水机(常州市中威电子仪器有限公司);BMJ-Ⅲ型包埋机(常州郊区中威电子仪器厂);PHY-Ⅲ型病理组织漂烘仪(常州市中威电子仪器有限公司);数码三目摄像显微镜(BA400Digital,麦克奥迪实业集团有限公司)等;图像分析软件 Image-Pro Plus 6.0(美国 Media Cybernetics 公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 雄性 SD 大鼠适应性饲养 1 周后,随机选取 8 只作为空白对照组,其余进行造模。将牛Ⅱ型胶原蛋白与弗氏完全佐剂在冰浴条件 1:1 乳化,形成稳定的乳化剂(水中成团)。在大鼠尾根部 2 cm 处注射乳化剂 0.2 mL/只,7 d 后在离大鼠尾根部 1.5 cm 处注射乳化剂 0.1 mL/只再次免疫 1 次。

从初次免疫第 1 天起,每日观察四肢肿胀情况,按照 0~4 级评分标准进行评分^[5],0 分:无关节炎;1 分:小趾关节轻度肿胀;2 分:小趾关节和足跖肿胀;3 分:踝关节以下的足爪肿胀;4 分:包括踝关节

在内全部关节肿胀。四肢评分之和为关节炎指数(Arthritis Index, AI),AI 越高,表明关节炎程度越严重。初次免疫后第 14 天进行关节炎指数评分, AI ≥ 4 即为造模成功,将 AI 评分不足大鼠剔除,最终随机选取 56 只 CIA 模型大鼠进行实验。将 56 只 CIA 模型大鼠,按评分梯度均匀分为模型组、基质组、TP 灌胃组、TP 微乳高剂量组、TP-MBGs 高、中、低剂量组,每组 8 只。

1.2.2 给药方法 空白对照组和模型组正常饲养,TP 灌胃组灌胃给药,其余各组均涂在患病关节部位,给药量见表 1,1 次/d,连续给药 28 d,为方便给药各组大鼠给药部位定期进行剃毛处理。

表 1 给药剂量和途径

动物	组别	给药浓度	给药途径
正常 SD 大鼠	空白对照组	—	经皮
CIA 模型大鼠	模型组	—	经皮
	基质组	0.1 g/只, 0.05 g/cm ²	经皮
	TP 灌胃组	13.57 mg/kg	灌胃
	TP 微乳高剂量组	0.035 1%	经皮
	TP-MBGs 低剂量组	0.010 3%	经皮
	TP-MBGs 中剂量组	0.020 0%	经皮
	TP-MBGs 高剂量组	0.035 1%	经皮

1.2.3 检测指标与方法

1.2.3.1 大鼠皮肤组织 CD1α、IgA 平均吸光度的测定 取大鼠皮肤,4%多聚甲醛固定后均按病理检验 SOP 程序进行。脱水、修剪、包埋、切片、染色、封片等,最后镜检。采用 BA200Digital 数码三目摄像显微摄像系统显微摄像系统对切片进行图像采集,每张切片先于 100 倍下观察全部组织,再根据组织大小及表达情况分别选取 1 个区域 400 倍采集图像。采用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统测定所采集全部图像的吸光度(absorbance A),并计算其平均值。

1.2.3.2 采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定大鼠血清中 IFN-γ、IL-6、TNF-α、ColⅡ、IL-10 的水平 各组大鼠采用 10%水合氯醛腹腔麻醉,于腹主动脉取血,室温放置 1 h,取上清液 2 000 r/min 离心 10 min 得血清。采用 ELISA 法检测血清中 ColⅡ、IFN-γ、IL-6、IL-10、TNF-α 的含量,其操作过程按照试剂盒提供的方法进行。

1.2.3.3 采用 ELISA 法测定大鼠滑膜细胞上清液中 IL-1、PGE₂、TNF-α 水平 在无菌条件下,取各组大鼠膝关节滑膜组织,用 D-hank's 液洗涤 3 次以去除血细胞,仔细剔除脂肪组织后,获得较纯的白色滑膜组织块。剪成约 1~2 mm² 大小,Ⅱ型胶原酶消化

3 h 后,离心收集未贴壁的细胞,经 0.25% 胰蛋白酶消化 5 min,离心弃去上清液,将细胞重悬于含 15% 胎牛血清的 DMEM 培养液中,置 37 ℃ 5% CO₂ 条件下培养 48 h,离心收集上清液,−80 ℃ 冰箱保存备用。按照试剂盒说明测定滑膜细胞上清液中 IL-1、PGE₂、TNF-α 的含量。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析,其中计数资料以(%)表示,采用 χ^2 检验,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TP 对大鼠皮肤组织 CD1α、IgA 平均吸光度的影响 模型组与空白对照组比较,CD1α 表达水平明显升高,且差异有统计学意义($P < 0.05$);其余各给药组与模型组比较,CD1α 均有降低趋势,其中 TP 灌胃组和 TP-MBGs 高剂量组降低程度明显($P < 0.05$),基质组与模型组几乎相等,而 IgA 的表达在各组之间差异无统计学意义。见表 2。

表 2 大鼠皮肤组织中 CD1α、IgA 平均吸光度($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	CD1α	IgA
空白对照组	0.264 7 ± 0.007 2	0.316 8 ± 0.036 8
模型组	0.285 9 ± 0.011 2 *	0.342 9 ± 0.038 5
基质组	0.285 8 ± 0.017 8	0.309 5 ± 0.045 2
TP 灌胃组	0.265 5 ± 0.007 6 [△]	0.312 1 ± 0.022 8
TP 微乳高剂量组	0.273 8 ± 0.011 0	0.321 4 ± 0.048 7
TP-MBGs 低剂量组	0.276 9 ± 0.011 1	0.374 5 ± 0.026 1
TP-MBGs 中剂量组	0.274 6 ± 0.020 6	0.347 2 ± 0.031 9
TP-MBGs 高剂量组	0.267 3 ± 0.005 6 [△]	0.346 5 ± 0.029 6

注:模型组与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;其余组与模型组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

2.2 TP 对大鼠血清中 IFN-γ、IL-6、TNF-α、Col II、IL-10 水平的影响 模型组与空白组比较,大鼠血清中 IFN-γ、IL-6、TNF-α 水平均升高,差异有统计学意义($P < 0.01$),而 Col II 与 IL-10 无统计学意义;基质组与模型组比较,各因子水平几乎相等;其余各组与模型组比较,TP 灌胃组、TP 微乳高剂量组及 TP-MBGs 高剂量组中 IFN-γ 浓度显著性降低($P < 0.05$),TP-MBGs 中、高剂量组及 TP 灌胃组的 TNF-α 水平显著降低($P < 0.05$),TP 灌胃组及 TP-MBGs 中剂量组的 IL-6 的水平显著降低($P < 0.05$);Col III 和 IL-10 的水平无明显变化,差异无统计学意义。见表 3。

2.3 TP 对大鼠滑膜细胞上清液中 IL-1、PGE₂、TNF-α 的影响 模型组与空白组大鼠比,滑膜细胞上清液中 IL-1、PGE₂ 及 TNF-α 的含量均有升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);基质组与模型组比较,IL-1、

PGE₂、TNF-α 水平几乎相等,差异无统计学意义;而与模型组比较,TP 灌胃组、TP-MBGs 高、中剂量组及 TP 微乳高剂量组中 IL-1、PGE₂ 及 TNF-α 的含量均降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

3 讨论

CIA 模型在临床表现、病理组织学及体液免疫反应方面与 RA 有诸多相似之处,是目前复制 RA 最佳的动物模型^[6-7],故本实验选择 CIA 为 RA 的动物模型进行研究。树突状细胞(DC)是目前所知功能最强的抗原提呈细胞,它的数量和活性将会直接影响免疫应答过程,从而直接参与 RA 的发展过程。CD1α 是树突状细胞的特征性抗原,在皮肤中大量表达并发挥免疫作用^[8]。本实验结果表明,模型组与空白比较,CD1α 的表达水平显著升高,而 TP 灌胃组、TP-MBGs 高剂量组与模型组比较,CD1α 的表达水平显著降低($P < 0.01$),说明在制备大鼠类风湿关节炎模型后,免疫功能出现异常,树突状细胞表达水平升高,RA 的发展与树突状细胞的表达密切相关,而 TP-MBGs 外用可通过下调皮肤中 CD1α 的表达水平从而起到治疗 RA 的作用。

RA 是自身免疫性疾病,因此对血液和关节滑膜细胞中的细胞因子进行研究,其中 IL-6 是一种重要的多效性细胞因子,由体内多种细胞分泌,是 RA 的关键细胞因子。它对 RA 的主要致病作用包括促进炎症反应相关的 B 细胞和 Th17 细胞的分化以及急性期蛋白的合成;诱导破骨细胞分化,造成关节损伤;与 IL-1 共同诱导基质金属蛋白酶(MMPs)的产生,破坏关节软骨等^[9]。在 RA 患者血清及受累关节的滑液中均可观察到 IL-6 浓度升高,并且浓度升高与患者临床表现的轻重相关^[10]。TNF-α 是一种多效性的细胞因子,是 RA 发病过程中主要的促炎因子,被认为是与 RA 滑膜炎性反应的发生和发展关系最密切的促炎递质,在 RA 的局部滑膜炎性反应、血管翳的生成和组织损伤中都发挥了重要作用,可作为疾病活动度的重要指标。本实验中,空白组与模型组比较,大鼠血清中 IL-6、TNF-α 及 IFN-γ 的水平显著升高,表明 RA 的发病过程与炎性反应因子的水平密切相关。TP 灌胃组与 TP-MBGs 中剂量组相较于模型组,IL-6 水平显著降低;TP 灌胃组、微乳高剂量组及 TP-MBGs 高剂量组的 IFN-γ 浓度较模型组显著降低;与模型组比较,TP 灌胃组及 TP-MBGs 中剂量组的 TNF-α 的表达水平显著降低。表明 TP-MBGs 外用可通过降低血清中相关炎性反应因子,发挥全身作用,从而达到治疗 RA 的效果。

表 3 大鼠血清中 IFN- γ 、IL-6、TNF- α 、Col II、IL-10 的水平 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	IFN- γ (ng/L)	IL-6 (ng/L)	TNF- α (ng/L)	Col II/ng · mL ⁻¹	IL-10(pg/mL)
空白对照组	180.608 4 $\pm$ 20.297 1	17.542 8 $\pm$ 2.188 2	169.993 8 $\pm$ 11.026 9	66.286 2 $\pm$ 4.333 2	138.113 1 $\pm$ 10.767 2
模型组	246.115 2 $\pm$ 45.545 2 ^{**}	22.180 0 $\pm$ 3.674 2 ^{**}	195.259 1 $\pm$ 21.423 1 ^{**}	62.964 3 $\pm$ 3.893 7	130.056 5 $\pm$ 21.017 5
基质组	241.330 6 $\pm$ 33.558 3	22.166 0 $\pm$ 1.444 1	195.545 7 $\pm$ 9.605 9	64.164 8 $\pm$ 2.851 1	128.104 3 $\pm$ 19.992 7
TP 灌胃组	201.296 4 $\pm$ 16.021 7 $^{\Delta}$	19.485 7 $\pm$ 1.495 3 $^{\Delta}$	178.506 8 $\pm$ 11.391 9 $^{\Delta}$	65.854 1 $\pm$ 2.876 5	135.948 0 $\pm$ 9.753 9
TP 微乳高剂量组	204.018 2 $\pm$ 11.032 4 $^{\Delta}$	20.277 2 $\pm$ 2.666 9	180.394 2 $\pm$ 16.923 5	65.541 3 $\pm$ 4.941 3	133.277 8 $\pm$ 13.796 0
TP-MBGs 低剂量组	228.995 2 $\pm$ 59.836 5	21.817 3 $\pm$ 1.318 7	184.746 0 $\pm$ 15.870 5	64.588 9 $\pm$ 5.605 2	130.258 2 $\pm$ 12.423 2
TP-MBGs 中剂量组	222.575 8 $\pm$ 38.395 9	19.914 3 $\pm$ 2.042 7 $^{\Delta}$	175.228 7 $\pm$ 13.144 2 $^{\Delta}$	64.543 7 $\pm$ 3.727 8	136.118 8 $\pm$ 9.195 8
TP-MBGs 高剂量组	201.265 1 $\pm$ 34.592 4 $^{\Delta}$	20.753 3 $\pm$ 1.471 1	178.606 8 $\pm$ 17.283 3 $^{\Delta}$	65.206 3 $\pm$ 3.447 4	132.743 9 $\pm$ 10.791 3

注:模型组与空白对照组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;其余组与模型组比较, $^{\Delta}P < 0.05$, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$

表 4 大鼠滑膜细胞上清液中 IL-1、PGE₂、TNF- α 的浓度 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	IL-1 (pg/mL)	PGE ₂ (ng/L)	TNF- α (ng/L)
空白对照组	57.401 1 $\pm$ 7.381 1	409.922 2 $\pm$ 51.162 7	118.394 6 $\pm$ 21.507 1
模型组	78.194 6 $\pm$ 10.737 7 ^{**}	534.444 3 $\pm$ 55.323 6 ^{**}	168.652 4 $\pm$ 23.044 0 ^{**}
基质组	77.325 5 $\pm$ 9.671 1	533.461 0 $\pm$ 35.418 2	166.760 0 $\pm$ 17.394 6
TP 灌胃组	64.410 8 $\pm$ 11.213 3 $^{\Delta}$	454.805 2 $\pm$ 69.287 1 $^{\Delta}$	137.685 7 $\pm$ 28.212 0 $^{\Delta}$
TP 微乳高剂量组	66.148 4 $\pm$ 7.998 4 $^{\Delta}$	475.483 5 $\pm$ 58.132 8	142.574 6 $\pm$ 20.330 8 $^{\Delta}$
TP-MBGs 低剂量组	71.003 4 $\pm$ 7.631 8	503.691 3 $\pm$ 52.393 2	153.394 6 $\pm$ 21.152 2
TP-MBGs 中剂量组	65.996 1 $\pm$ 14.613 4 $^{\Delta}$	468.746 5 $\pm$ 76.333 5 $^{\Delta}$	139.470 4 $\pm$ 29.743 7 $^{\Delta}$
TP-MBGs 高剂量组	65.971 4 $\pm$ 14.447 5 $^{\Delta}$	467.718 5 $\pm$ 83.233 1 $^{\Delta}$	141.383 3 $\pm$ 29.743 8 $^{\Delta}$

注:模型组与空白组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;其余组与模型组比较, $^{\Delta}P < 0.05$, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$

在机体处于炎症反应情况下,IL-1 被大量表达,它的 2 种亚型 IL-1 α 和 IL-1 β 在介导炎症反应和免疫过程中发挥重要作用。适量的 IL-1 可以增强机体抵御外界入侵的能力,而过多 IL-1 则引起关节损害,表现出类似 RA 的症状。在 RA 发病中 IL-1 可以刺激成纤维细胞增殖和血管翳生成,诱导产生更多 PGE₂,引起白细胞向滑膜部位聚集以及金属基质蛋白酶、胶原酶的分泌,加剧关节破坏^[11]。本实验中,较空白组,模型组大鼠滑膜细胞上清液中的 IL-1、PGE₂ 及 TNF- α 的水平明显升高;较模型组,TP 灌胃组、微乳高剂量组、TP-MBGs 中、高剂量组的 IL-1 及 TNF- α 水平显著降低;TP 灌胃组、TP-MBGs 中剂量组及 TP-MBGs 高剂量组中 PGE₂ 浓度明显降低。基质组与模型组差异无统计学意义,说明基质对 RA 不产生影响,表明 TP-MBGs 可降低局部滑膜细胞中的致炎因子,且 TP-MBGs 与灌胃组效果相当,这可能是其外用治疗 RA 的作用机制之一。

综上所述,TP-MBGs 外用治疗 RA,可能通过调节皮肤免疫功能及抑制相关细胞因子的分泌,从而起到局部及全身治疗作用。TP-MBGs 外用与 TP 口服相比效果相当,均有一定的治疗效果。其中微乳凝胶基质对 RA 无明显的治疗效果 TP-MBGs 较 TP 微乳指标更趋向于空白对照组,治疗效果更好。

参考文献

[1] Molendijk M, Hazes J M, Lubberts E. From patients with arthralgia,

pre-RA and recently diagnosed RA: what is the current status of understanding RA pathogenesis [J]. RMD Open, 2018, 4 (1): 1256-1262.

[2] 潘胡丹,刘良. 类风湿关节炎中医治疗经验探讨[J]. 中医杂志, 2016, 57(2): 173-175.

[3] 胡晓敏,宗英,余珊珊,等. 类风湿关节炎治疗药物的研发进展及趋势[J]. 中国新药杂志, 2017, 26(1): 36-43.

[4] 邓兆智,陈伟,史立,等. 复方雷公藤涂膜剂治疗类风湿性关节炎的对比研究[J]. 中医杂志, 1998, 2(39): 90-92.

[5] 刘佳维,王永辉,李艳彦,等. 黄芪桂枝五物汤对 CIA 模型大鼠关节滑膜细胞凋亡的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(14): 171-176.

[6] 周强,吕厚山,栗占国. 胶原诱导的关节炎动物模型研究现状及进展[J]. 中华风湿病学杂志, 2003, 7(4): 227-231.

[7] 姜旭光,姜明霞,孙永显,等. 用胶原性关节炎模型探讨中药治疗类风湿性关节炎作用机制的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(12): 62-65.

[8] 富霄鹏. CD1 蛋白家族及 CD1 蛋白和 TCR 相互作用的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(2): 309-313 + 318.

[9] 李岩昇,张卫婷. IL-6、TNF- α 之后的类风湿关节炎治疗关键靶点[J]. 生物工程学报, 2017, 33(1): 36-43.

[10] 苗平,陆梅生,张冬青. IL-6/IL-6 受体与类风湿关节炎关联性研究新进展[J]. 免疫学杂志, 2011, 27(4): 355-360.

[11] 汪洁,岳岳,成文翔,等. 类风湿性关节炎 IL-1/IL-1Ra 平衡关系的研究进展[J]. 中国当代医药, 2015, 22(12): 30-35.