

本文引用: 戴宗顺, 唐媛媛, 尧忠柳, 彭清华, 林 也, 蔡 雄. 青附蠲痹汤治疗类风湿关节炎病证作用的网络药理学分析与实验验证[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(11): 2054–2062.

青附蠲痹汤治疗类风湿关节炎病证作用的网络药理学分析与实验验证

戴宗顺^{1,2}, 唐媛媛¹, 尧忠柳³, 彭清华¹, 林 也^{1*}, 蔡 雄^{1*}

1. 湖南中医药大学中医学院, 湖南 长沙 410208; 2. 宁乡市人民医院中医风湿免疫科, 湖南 长沙 410600;

3. 湖南中医药大学第一中医临床学院, 湖南 长沙 410007

[摘要] **目的** 基于网络药理学与动物实验, 探究青附蠲痹汤治疗类风湿关节炎(RA)风寒湿痹证的活性成分、潜在靶点和关键通路, 并验证其药效。**方法** (1) 网络药理学研究: 通过 SwissADME 筛选青附蠲痹汤中符合 Lipinski 五规则且具有良好口服生物利用度的活性成分; 利用 SwissTargetPrediction 与 Batman-TCM 数据库预测成分靶点; 采用 Cytoscape 3.10.0 构建“药物-成分-靶点”网络; 基于 STRING 数据库构建蛋白质-蛋白质相互作用网络, 运用 CytoHubba 插件依据 Degree, Betweenness, Closeness 3 项中心性指标筛选核心靶点; 通过 ClusterProfiler 进行 GO 功能与 KEGG 通路富集分析。(2) 动物实验验证: 建立佐剂性关节炎(AIA)风寒湿痹证大鼠模型, 随机分为模型组、甲氨蝶呤组(1.0 mg/kg, 1 周 3 次)及青附蠲痹汤低、中、高剂量组 4.59、9.18、18.36 g/(kg·d), 每组 6 只, 另设正常组。自造模结束后次日开始药物干预, 连续给药至第 42 天, 每 3 天测量足肿胀容积与足关节炎评分; ELISA 检测血清 IL-1 β 、IL-6、IL-10、TNF- α 及 IL-17A 水平; 采用 HE、Masson 和 SO-FG 染色观察关节组织病理变化。**结果** 网络药理学筛选出 24 个活性成分及 331 个作用靶点。KEGG 富集分析显示 PI3K-Akt、mTOR 等信号通路可能发挥关键作用。动物实验证实, 与模型组相比, 青附蠲痹汤高剂量组可显著减轻足肿胀程度($P<0.01$)与足关节炎评分($P<0.001$), 并显著降低血清 IL-1 β 、IL-6、IL-10、TNF- α 及 IL-17A 水平($P<0.000 1$)。关节组织病理学结果表明, 青附蠲痹汤能明显抑制滑膜增生、炎症细胞浸润、胶原沉积及骨软骨破坏, 且呈剂量依赖性改善。**结论** 青附蠲痹汤治疗 RA 病证药效作用显著, 其可能通过“多成分-多靶点-多通路”协同作用机制发挥功效作用。

[关键词] 类风湿关节炎; 青附蠲痹汤; 风寒湿痹证; 网络药理学; 炎症因子

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.11.005

Network pharmacology and experimental study on Qingfu Juanbi Decoction in treating rheumatoid arthritis of wind-cold-damp pattern

DAI Zongshun^{1,2}, TANG Yuanyuan¹, YAO Zhongliu³, PENG Qinghua¹, LIN Ye^{1*}, CAI Xiong^{1*}

1. School of Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Department of Chinese Medicine Rheumatology, Ningxiang People's Hospital, Changsha, Hunan 410600, China; 3. The First Clinical School of Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China

[Abstract] **Objective** To identify the active ingredients, potential targets, and key pathways of Qingfu Juanbi Decoction (QFJBD) in treating rheumatoid arthritis (RA) of wind-cold-damp Bi-impediment pattern based on network pharmacology, and to validate its pharmacological effects through animal experiments. **Methods** (1) Network pharmacology research: Active ingredients in QFJBD that comply with Lipinski's Rule of Five and exhibit good oral bioavailability were screened using SwissADME. Potential

[收稿日期] 2025-08-05

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82274506); 湖南省自然科学基金项目(2025JJ90123); 长沙市自然科学基金项目(kq2208499); 湖南中医药大学院校联合课题重点项目(2022XYLH158)。

[通信作者] * 蔡 雄, 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: caixiong@hnucm.edu.cn; 林 也, 女, 博士, 讲师, E-mail: linye96@qq.com。

targets of these ingredients were predicted via Swiss Target Prediction and Batman-TCM databases. A "herb-compound-target" network was constructed using Cytoscape 3.10.0. A protein-protein interaction (PPI) network was established via the STRING database, and core targets were identified using CytoHubba plugin according to three centrality metrics (Degree, Betweenness, and Closeness). GO functional and KEGG pathway enrichment analyses were performed with the ClusterProfiler package. (2) Animal experimental validation: An adjuvant-induced arthritis (AIA) rat model of wind-cold-damp Bi-impediment pattern was established. Model rats were randomly assigned into the model group, methotrexate (MTX) group (1.0 mg/kg, three times per week), and low-, medium-, and high-dose QFJBD groups [4.59, 9.18, and 18.36 g/(kg·d), respectively], with six rats in each group. A normal group ($n=6$) was also included. Medication intervention began on the day after modeling completion and continued until day 42. Paw swelling volume and arthritis scores were measured every three days. Serum levels of IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , and IL-17A were detected by ELISA after the intervention. Histopathological changes in joint tissues were observed using HE, Masson, and SO-FG staining. **Results** Network pharmacology screening identified 24 active compounds and 331 potential therapeutic targets in QFJBD. KEGG enrichment analysis revealed that signaling pathways such as PI3K-Akt and mTOR may play pivotal roles. Animal experiments demonstrated that, compared with the model group, the high-dose QFJBD group exhibited significantly alleviated paw swelling ($P<0.01$) and reduced arthritis scores ($P<0.001$). Additionally, the serum levels of IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , and IL-17A markedly decreased ($P<0.0001$). Histopathological examination indicated that QFJBD significantly inhibited synovial hyperplasia, inflammatory cell infiltration, collagen deposition, and bone/cartilage destruction, showing dose-dependent amelioration. **Conclusion** QFJBD exerts significant therapeutic effects on RA of wind-cold-damp pattern, likely through a synergistic mechanism of action involving multiple components, multiple targets, and multiple pathways.

[**Keywords**] rheumatoid arthritis; Qingfu Juanbi Decoction; wind-cold-damp Bi-impediment pattern; network pharmacology; inflammatory factor

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以慢性对称性多关节炎、滑膜增生及骨破坏为主要特征的自身免疫性疾病,其发病与遗传、环境及免疫紊乱等多因素相关^[1-2]。RA在中医学中属于“痹证”范畴,尤以“尪痹”最为相符。《素问·痹论篇》曰“风寒湿三气杂至,合而为痹也”,提示了其以“风寒湿”外邪侵袭为主要病因的基本病机,为后世“痹证”理论奠定了基础^[3-5]。在此基础上,“尪痹”又进一步发展出更为复杂的病因病机,正气亏虚,外感风、寒、湿三气,邪气闭阻经络、痹阻筋骨,致气血运行不畅,久则内邪化生,内外感召、复感三邪,邪气久羁而损及肝肾,导致筋骨失养、关节形变,终成“尪痹”之病^[6]。RA的治疗药物虽然从非甾体抗炎药发展至生物制剂与小分子靶向药,但其作用靶点仍相对单一或有限,并伴随特异性与非特异性毒副作用。因此,探寻理想的RA治疗手段仍是当前面临的重大挑战。

中医药辨证论治RA,在改善临床症状、缓解病情进展及延缓骨破坏方面具有显著的优势^[7]。青附蠲痹汤化裁自《金匱要略·中风历节病脉证并治第五》之乌头汤,是湖南中医药大学附属医院风湿免疫科在长期临床实践中,反复验证并广泛应用的经验方^[8]。

方中青风藤祛风通络,制附子温阳散寒,黄芪补气托毒,白芍养血柔筋,牡丹皮活血散瘀。五药合用,共奏祛风除湿、散寒通痹、补气养血、通经活络之功,标本兼顾、寒温并调。其组方思路深契《素问·痹论篇》“风寒湿三气杂至,合而为痹”之论,与《金匱要略·中风历节病脉证并治第五》中“荣卫俱虚,三气乘虚入于筋脉骨节”之病机相呼应,体现出“调肝脾肾三脏,祛邪扶正共举”的辨证施治理念^[9]。

临床研究结果表明,青附蠲痹汤治疗寒湿痹阻型类风湿关节炎疗效确切,能够显著改善患者的疾病活动评分(DAS28)及中医证候积分,并有效降低红细胞沉降率(简称血沉)、类风湿因子及C反应蛋白水平。其作用机制可能与抑制促炎性细胞因子肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 的表达,下调基质金属蛋白酶-3(proteins of the matrix metalloproteinase-3, MMP-3)并上调金属蛋白酶组织抑制剂-1(tissue inhibitor of metal protease 1, TIMP-1)水平,从而减轻滑膜炎反应和组织破坏有关^[8]。为进一步阐明其药效物质基础与作用机制,本研究拟运用网络药理学方法,系统预测青附蠲痹汤干预RA的活性成分

与潜在作用靶点,并构建佐剂性关节炎(adjuvant-induced arthritis, AIA)风寒湿痹证大鼠模型,进而从整体动物水平综合评价该方干预 RA 病证的药效学作用。

1 材料

1.1 药材

本研究所用制附子、青风藤、黄芪、白芍、牡丹皮饮片购自湖南中医药大学第一附属医院,经性状检查,均符合《中华人民共和国药典》(2020 年版)标准。制附子(批号:009211002,河北安草堂药业有限公司);青风藤(批号:2100101,长沙新林制药有限公司);黄芪(批号:202201,湖南春可回中药饮片有限公司);白芍(批号:210501,湖南春可回中药饮片有限公司);牡丹皮(批号:210701,湖南荣康中药饮片有限公司)。

1.2 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 36 只(体质量 50~70 g),由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。动物饲养于湖南中医药大学实验动物中心[许可证号:SYXK(湘)2019-0009],环境条件为温度 23~25 ℃,相对湿度 45%~70%,光暗周期 12 h/12 h。研究方案经湖南中医药大学实验动物中心伦理审查批准(伦理号:LL2019092003)。实验过程中无动物死亡,所有操作均遵守实验动物伦理。

1.3 试剂

热灭活结核分枝杆菌 H37R(货号:6183641)购自美国碧迪医疗;矿物油(货号:8042-47-5)购自美国 Sigma 公司;异氟烷(货号:084978)购自深圳市瑞沃生命科技;戊巴比妥钠(货号:JX082085)购自上海依赫生物科技有限公司;甲氨蝶呤(货号:M1243390A)购自上海吉至生化科技有限公司;多聚甲醛(BL539A)购自北京索莱宝科技有限公司;二甲苯(货号:10023418)、无水乙醇(货号:100092683)购自中国医药集团有限公司;大鼠(IL-1 货号:MM-0046R2)、IL-17A(货号:MM-70049R2)、IL-10(货号:MM-0195R2)、IL-6(货号:MM-0190R2)、TNF- α (货号:MM-0180R2)ELISA 试剂盒购自江苏酶免实业有限公司;HE 染液(货号:G1005)、Masson 染液(货号:G1039)、番红固绿染液(SO-FG,货号:G1053)、通用型组织固定液(货号:G1101)、环保型脱蜡液(货号:G1128)均购自 Servicebio 公司。

1.4 仪器

足肿测定仪(意大利 UGO 公司,型号:Basile

37140);正置光学显微镜及成像系统(日本尼康公司,型号:ECLIPSE Ni-U 型);多功能酶标仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司,型号:RT-6100);电子天平(日本岛津公司,型号:ATY224)。

2 方法

2.1 药物制备

本研究依据体表面积换算法,将临床成人日剂量(青风藤 18 g、制附子 9 g、黄芪 30 g、白芍 30 g、牡丹皮 15 g,合计 102 g)折算为小鼠的等效剂量,设定青附蠲痹汤 3 个给药梯度(以青附蠲痹汤所含生药量计):临床 0.5 倍等效剂量 4.59 g/(kg·d)、临床 1 倍等效剂量 9.18 g/(kg·d)、临床 2 倍等效剂量 18.36 g/(kg·d)。按临床日剂量 10 倍称取饮片青风藤 180 g、制附子 90 g、黄芪 300 g、白芍 300 g 和牡丹皮 150 g(合计 1020 g)。煎制方法如下:先将制附子以 8 倍质量的水浸泡 0.5 h,煎煮 0.5 h 后加入其余药材,同煎 2 h;滤渣后再以 6 倍水煎煮 1 h。合并两次滤液,于 60 ℃减压浓缩,分别配制成 0.459 g/mL(0.5 倍剂量)、0.918 g/mL(1 倍剂量)和 1.836 g/mL(2 倍剂量)的浓缩液,供灌胃给药使用。

将甲氨蝶呤以 DMSO 溶解配制母液 10 mg/mL,再稀释至 0.1 mg/mL,按给药体积 10 mL/kg 灌胃,对应剂量 1 mg/kg。

2.2 青附蠲痹汤治疗 RA 的网络药理学分析

首先,利用 SwissADME 按 Lipinski 规则并结合高胃肠道吸收条件筛选候选活性成分;随后使用 SwissTargetPrediction 与 Batman-TCM(Score cutoff=20, $P<0.05$)预测作用靶点,并在 UniProt 数据库对靶点进行标准化处理^[10]。同时,整合 GeneCards 等 8 个数据库的 RA 相关靶点,采用 Venn 图获得 QFJBT 与 RA 的交集靶点。使用 Cytoscape 3.10.0 构建“药物-成分-靶点”网络,在 STRING 数据库(置信度>0.70)生成蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络,并以 CytoHubba 对网络进行拓扑学分析,筛选 Degree、Betweenness 和 Closeness 中心性均在前 10% 的关键 Hub 靶点。最终,采用 Cluster Profiler 进行 GO 与 KEGG 富集分析,并利用微生信软件进行可视化。

2.3 动物造模及给药

SPF 级雄性 SD 大鼠,按体质量分层随机分为正常组、AIA 风寒湿痹证模型组、甲氨蝶呤组(1 mg/kg, 1 周 3 次)及青附蠲痹汤低、中、高剂量组 4.59 g/(kg·d)、

9.18 g/(kg·d)及 18.36 g/(kg·d)。除正常组外,其余各组大鼠每天均置于智能人工气候箱内接受风寒湿造模(温度 4 ℃、相对湿度 90%~95%、风速 5 m/s, 时间 4 h),14 d 后于大鼠尾根部皮下注射 0.1 mL 含 200 μg 热灭活结核分枝杆菌的完全弗氏佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA)诱导 AIA,并在 CFA 免疫后继续行风寒湿造模 6 d^[11-12]。造模完成后,各组分别给予相应药物干预 42 d,实验结束时取材。

2.4 青附蠲痹汤对 AIA 风寒湿痹证大鼠治疗作用

造模后,每天观察大鼠精神状态、自主活动及关节炎发病情况等。自造模后第 9 天起,每 3 d 进行双后足容积测量、四肢关节炎指数评分及体质量称量^[13]。实验结束时,经腹主动脉采血,分离血清,ELISA 检测 IL-1β、IL-6、IL-10、IL-17A 及 TNF-α 水平。取大鼠后足踝关节组织,4%多聚甲醛固定,EDTA 脱钙,乙醇梯度脱水,石蜡包埋后切片,采用 HE、Masson 和 SO-FG 观察关节组织病理变化。

2.5 数据处理

采用 GraphPad Prism 9.5.5 软件进行统计分析。计量资料用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,两组间比较使用独立样本 *t* 检验,多组间比较使用单因素方差分析(*one-way ANOVA*)。以 *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 青附蠲痹汤治疗 RA 的网络药理学分析

基于 ADME 参数,从青附蠲痹汤中筛选出 24 个

活性成分(白芍 3 个、牡丹皮 6 个、黄芪 4 个、青风藤 3 个、制附子 9 个,其中白芍与牡丹皮含有同一种成分)。在此基础上预测并汇总对应作用靶点,经去重后获得 556 个潜在靶点。结合 GeneCards 等 8 个疾病数据库,共获取与 RA 相关的靶点 6 058 个,经 Venn 分析得到 331 个共同作用靶点(图 1),构建“药物-成分-共同靶点”网络(图 2)。利用 STRING 数据库对 331 个共同靶点进行 PPI 分析,构建包含 329 个节点和 1 544 条边的 PPI 网络,平均节点度为 9.39。进一步采用 Cytohubba 插件按 MCC 算法筛选前 30 位的核心靶点,并构建核心靶点 PPI 可视化网络(图 3)。

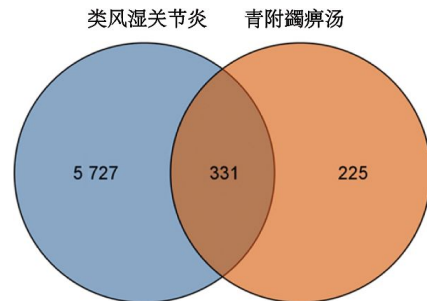


图 1 青附蠲痹汤与类风湿关节炎共同作用靶点 Venn 图

Fig.1 Venn diagram of overlapping targets between QFJBD and RA

通过微生信软件对 GO 富集结果排名前十的条目进行可视化。结果显示,共富集到 2 814 个生物过程(biological process, BP)、255 个分子功能(molecular function, MF)及 113 个细胞组分(cellular component,

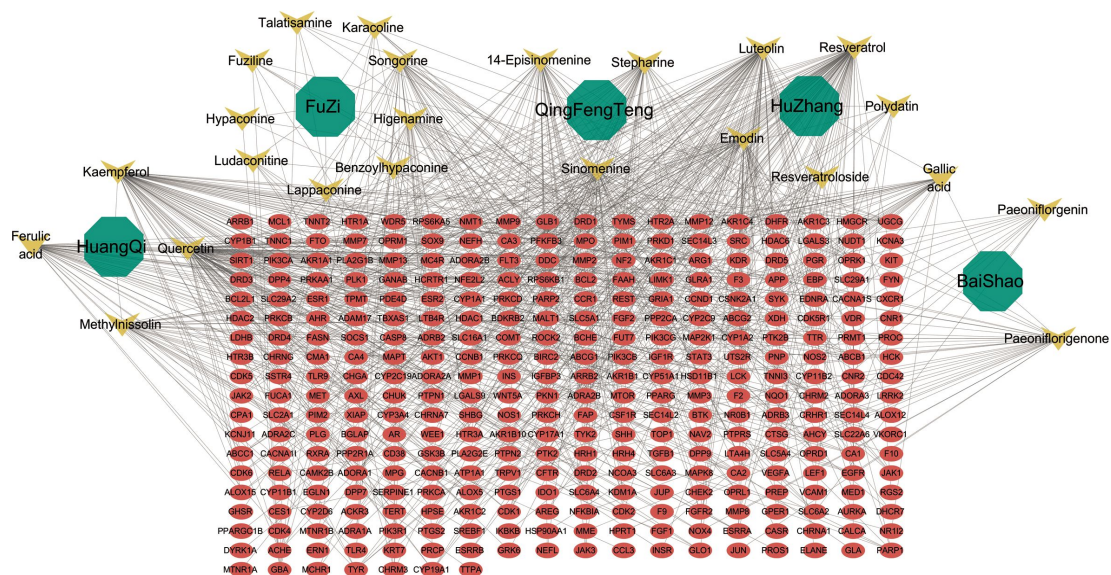


图 2 药物-成分-共同靶点互作网络图

Fig.2 Herb-component-target interaction network diagram

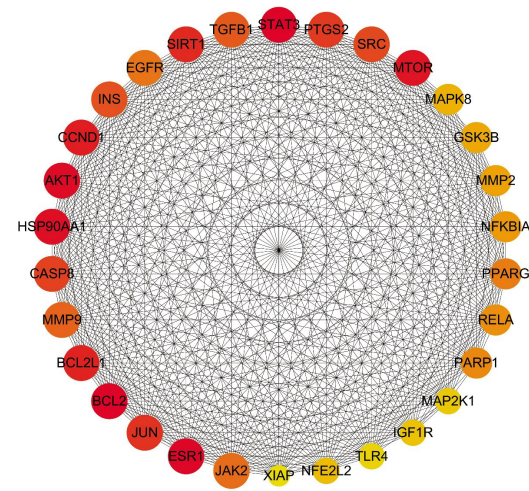


图 3 青附薏苡汤抗 RA Hub 靶点的 PPI 网络可视化分析图
Fig.3 Visualization of the PPI network of Hub targets for QFJBD against RA

注:网络图中节点越大、颜色越深,表示该节点越重要。

CC)条目($P<0.05$)(图 4A)。此外,KEGG 通路分析提示,PI3K-Akt 信号通路、mTOR 信号通路和 TNF 信号通路为青附薏苡汤干预 RA 的关键通路(图 4B)。

3.2 青附薏苡汤对 AIA 风寒湿痹证大鼠关节炎的影响

造模后第 9~15 天,AIA 风寒湿痹证模型组大鼠均表现出典型的关节炎体征,包括关节肿胀、活动受

限及风湿结节形成,并伴有全身状态异常如精神萎靡、毛发粗糙无光泽(图 5A)。与正常组比较,AIA 风寒湿痹证模型组足肿胀容积、关节炎指数评分增加、体质量降低($P<0.000\ 1$)。与 AIA 风寒湿痹证模型组相比,甲氨蝶呤组大鼠足肿胀容积、关节炎指数评分均降低($P<0.005$);青附薏苡汤高剂量组足肿胀容积及关节炎指数评分降低($P<0.01$),但青附薏苡汤高剂量组的体质量变化差异无统计学意义($P>0.05$)。与甲氨蝶呤组比较,青附薏苡汤高剂量组足肿胀容积、关节炎指数评分降低,体质量增加($P<0.05$)。与青附薏苡汤低、中剂量组比较,青附薏苡汤高剂量组大鼠足肿胀容积及关节炎指数评分均降低($P<0.05, P<0.01$),体质量增加($P<0.05$)。详见图 5。

3.3 青附薏苡汤剂量依赖性抑制 AIA 风寒湿痹证模型大鼠血清炎症因子水平

ELISA 结果显示,与正常组比较,AIA 风寒湿痹证模型组大鼠血清 IL-1 β 、IL-6、IL-10、TNF- α 和 IL-17A 水平均显著升高($P<0.000\ 1$)。与 AIA 风寒湿痹证模型组比,甲氨蝶呤组大鼠血清 IL-1 β 、IL-10、IL-6、TNF- α 和 IL-17A 水平均显著下降($P<0.000\ 1, P<0.001, P<0.01$);青附薏苡汤高剂量组大鼠血清 IL-

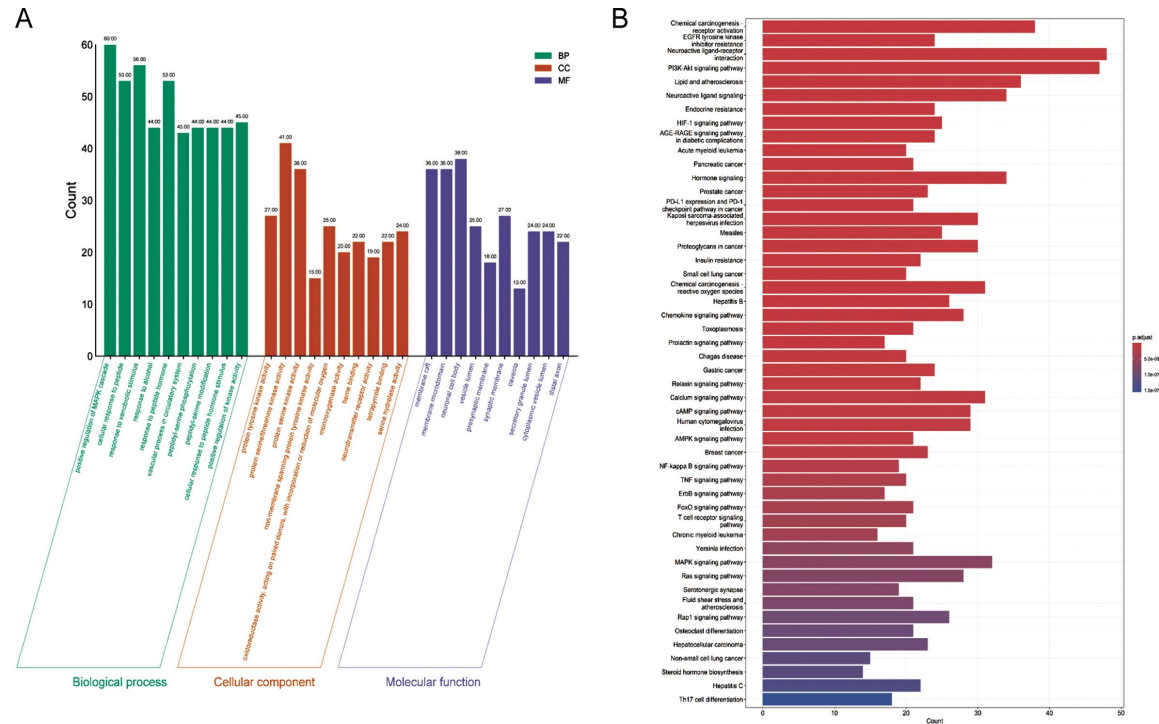


图 4 GO 和 KEGG 功能富集条形图

Fig.4 GO and KEGG functional enrichment bar plot

注:A. 条形图下方字母为 GO 条目名称,左侧为基因数目;B. 气泡图左侧文字为 KEGG 通路名称,下面数字为基因的数目,条形图表示富集在 KEGG 上的基因,条形图颜色越红,代表 P 值越小。

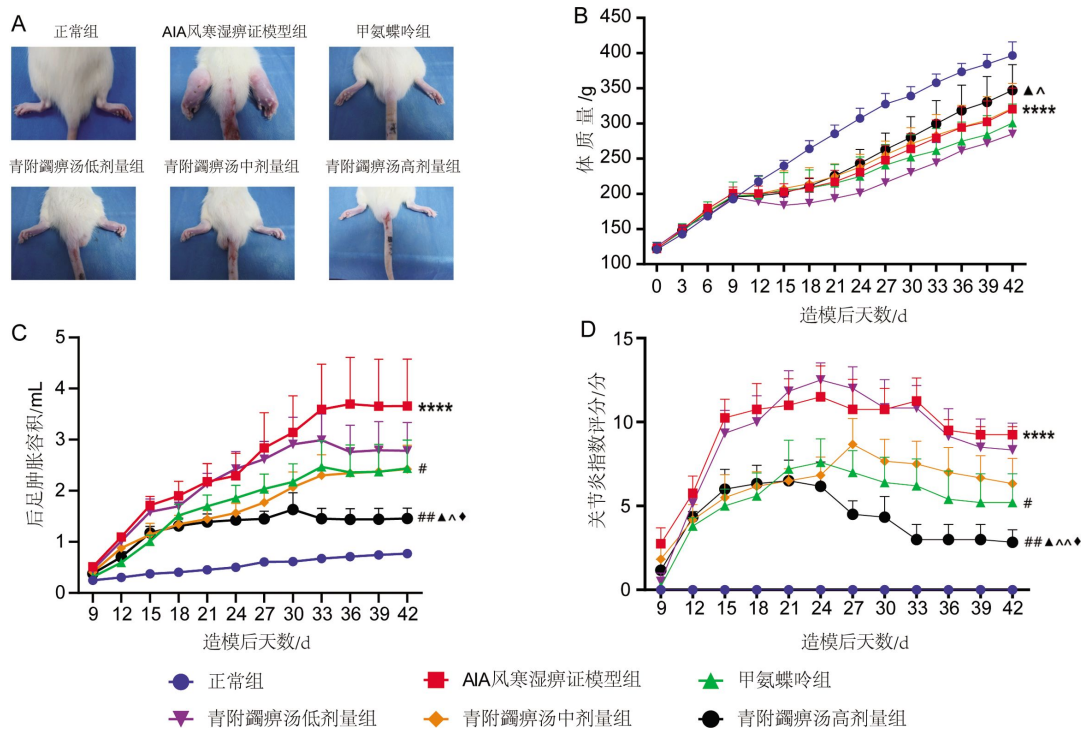


图5 各组大鼠足肿胀容积、关节炎指数评分、体质量比较($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig.5 Comparison of paw swelling volume, arthritis index scores, and body weights among different groups of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

注:A.各组大鼠代表性关节炎表现图片;B.各组大鼠体重变化;C.各组大鼠后足肿胀体积变化;D.各组大鼠关节炎指数评分变化。与正常组比较,**** $P<0.0001$;与AIA 风寒湿痹证模型组比较,* $P<0.05$,# $P<0.01$;与甲氨蝶呤组比较,▲ $P<0.05$;与青附燭痹汤低剂量组比较,△ $P<0.05$,~ $P<0.01$;与青附燭痹汤中剂量组比较,◆ $P<0.05$ 。

IL-1 β 、IL-10、TNF- α 、IL-17A、IL-6 水平下降($P<0.0001$)。与青附燭痹汤低剂量组比较,青附燭痹汤高剂量组大鼠IL-1 β 、IL-10、IL-6、TNF- α 水平降低($P<0.0001$),IL-17A 水平差异无统计学意义($P>0.05$)。与青附燭痹汤中剂量组比较,青附燭痹汤高剂量组大鼠IL-10 水平降低($P<0.001$),IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、IL-17A 水平无统计学差异($P>0.05$)。详见图6。

3.4 青附燭痹汤改善 AIA 风寒湿痹证模型大鼠关节病理损伤并促进软骨修复与胶原重塑

HE 染色显示,与正常组相比,AIA 风寒湿痹证模型组大鼠出现明显的滑膜增生、炎症细胞浸润及软骨破坏,评分显著增加($P<0.0001$)。与AIA 风寒湿痹证模型组比较,甲氨蝶呤组组织病理学评分降低($P<0.01$);青附燭痹汤中、高剂量组组织病理学评分降低($P<0.05$ 或 $P<0.001$)。与青附燭痹汤低剂量组比较,青附燭痹汤高剂量组组织病理学评分降低($P<0.001$),但青附燭痹汤中、高剂量之间组织病理学评分无统计学差异。详见图7A—B。

Masson 染色结果显示,正常组大鼠关节胶原纤维排列规则、结构清晰,未见异常沉积。与正常组相比,AIA 风寒湿痹证模型组大鼠关节组织中胶原纤维密度增高,分布紊乱,出现明显纤维增生与沉积现

象,纤维化程度显著,评分升高($P<0.0001$)。与AIA 风寒湿痹证模型组比较,甲氨蝶呤组胶原纤维结构病理评分降低($P<0.05$),青附燭痹汤低、中剂量组胶原结构病理评分有所下降,但无统计学差异($P>0.05$),青附燭痹汤高剂量组胶原结构病理评分下降($P<0.01$)。与青附燭痹汤低剂量组比较,青附燭痹汤高剂量组胶原结构病理评分下降($P<0.05$)。详见图7C—D。

SO—FG 染色表明,正常组大鼠踝关节软骨结构完整,软骨基质均匀、染色清晰,软骨细胞排列规整,潮汐线明显。与正常组比较,AIA 风寒湿痹证模型组软骨基质染色变浅,结构紊乱,软骨细胞数量减少,潮汐线模糊或缺失,提示软骨受损严重,软骨结构病理评分显著增高($P<0.0001$)。与AIA 风寒湿痹证模型组比较,甲氨蝶呤组大鼠软骨结构病理评分降低($P<0.001$),青附燭痹汤中、高剂量组大鼠软骨结构病理评分下降($P<0.01$ 或 $P<0.001$)。与青附燭痹汤低剂量组比较,青附燭痹汤高剂量组大鼠软骨结构病理评分下降($P<0.01$);但青附燭痹汤中、高剂量组胶原结构病理评分无统计学差异($P>0.05$)。详见图7E—F。

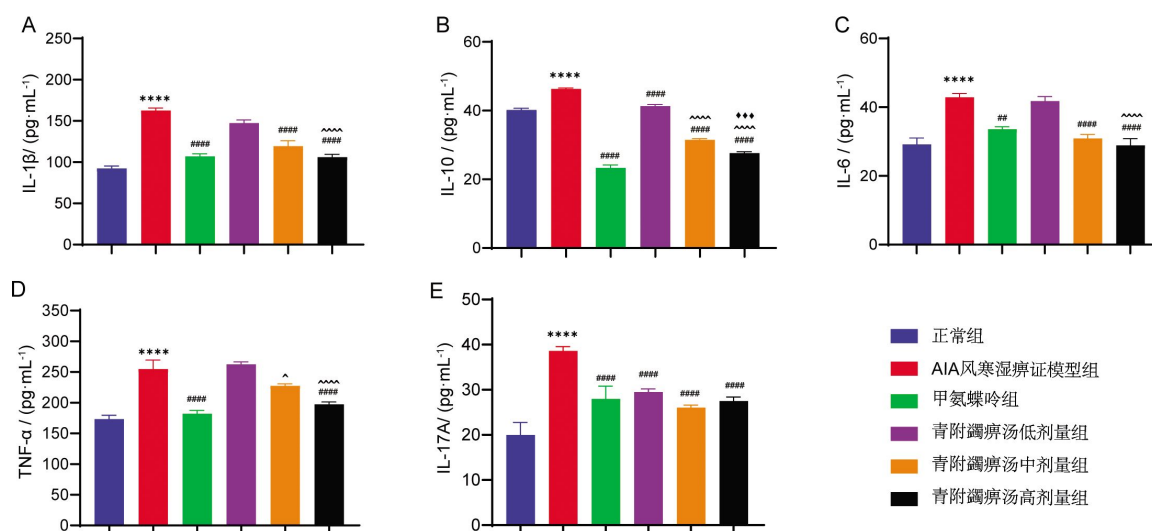


图 6 青附燭痹汤对 AIA 风湿痹证大鼠血清中炎症因子表达的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig.6 Effects of QFJBD on the expression of inflammatory factors in the serum of rats with AIA of wind-cold-damp Bi-impediment pattern ($\bar{x} \pm s, n=6$)

注: A. IL-1 β ; B. IL-10; C. IL-6; D. TNF- α ; E. IL-17A。与正常组比较, **** $P < 0.0001$; 与 AIA 风湿痹证模型组比较, # $P < 0.01$, ### $P < 0.0001$; 与青附燭痹汤低剂量组比较, ^ $P < 0.05$, ~ $P < 0.0001$; 与青附燭痹汤中剂量组比较, * $P < 0.05$ 。

4 讨论

RA 作为一种由免疫失调介导的全身炎症性疾病,其病理核心在于异常免疫激活所引发的慢性滑膜炎,临床以对称性、侵蚀性多关节炎为主要特征,常导致进行性关节破坏及多系统受累^[14-16]。本研究网络药理学与动物实验相结合,评价青附燭痹汤对 RA 风湿痹证的药效作用,并探究其潜在机制。网络药理学结果显示,青附燭痹汤所含 24 种活性成分可能通过作用于 331 个潜在靶点,涉及 PI3K-Akt、mTOR 等关键信号通路,从而发挥抗炎与免疫调节作用。既往研究提示,在 RA 病理进程中,PI3K-Akt 信号通路的异常活化可促进滑膜成纤维细胞增殖、抑制其凋亡,并诱导 IL-6、IL-1 β 等炎症因子过度释放,进而加剧关节炎症反应及骨侵蚀^[17-18]。据此推测,青附燭痹汤可能通过调节 PI3K-Akt 轴及其下游 AKT、mTOR 等关键分子,抑制滑膜异常增生、恢复细胞凋亡平衡并减少促炎因子分泌,最终缓解关节炎症与骨破坏。

在 RA 的病理进程中,多种促炎性细胞因子交织形成复杂的炎症网络,驱动关节炎症与组织结构破坏。IL-1 β 可促进滑膜细胞异常增殖并加剧炎症浸润^[19-20]。IL-6 不仅参与调节免疫失衡,还能促进破骨细胞活化,从而加剧骨质侵蚀^[21-22]。TNF- α 作为炎症

反应的重要启动因子,可刺激滑膜细胞增生、诱导基质金属蛋白酶分泌并促进破骨细胞分化,最终导致软骨与骨组织的不可逆损伤^[23]。此外,IL-6 与 TNF- α 在 RA 中存在显著的协同效应,共同放大炎症级联反应并加重关节组织损伤^[24-25]。同时,辅助性 T 细胞 17 等免疫细胞分泌的 IL-17A 水平升高,可促进血管翳形成,进而加速关节侵蚀进程^[26-27]。

甲氨蝶呤作为 RA 治疗的锚定药物,虽疗效明确,但其潜在的肝肺毒性、骨髓抑制等不良反应,以及显著的个体差异及起效缓慢等特点,在一定程度上限制了其临床应用^[28-30]。通过长期临床实践,该方临床疗效较为确切,不良反应轻、患者耐受性良好^[8]。本研究动物实验表明,青附燭痹汤对 AIA 风湿痹证大鼠具有显著的干预作用。与模型组相比,该方可明显减轻关节肿胀、降低关节炎指数评分,并有效下调血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 及 IL-17A 等关键促炎因子水平。组织病理学结果显示,青附燭痹汤能够抑制滑膜组织增生、减少炎症细胞浸润,减轻软骨与骨组织的结构性损伤。上述发现提示,青附燭痹汤可为不耐受甲氨蝶呤组或寻求替代治疗方案的患者提供新的选择,并具备与西药联合应用、实现“增效减毒”的潜在价值。

然而,本研究仍存在一定局限性。其一,尽管初步证实青附燭痹汤具有抗炎与骨保护作用,但其确

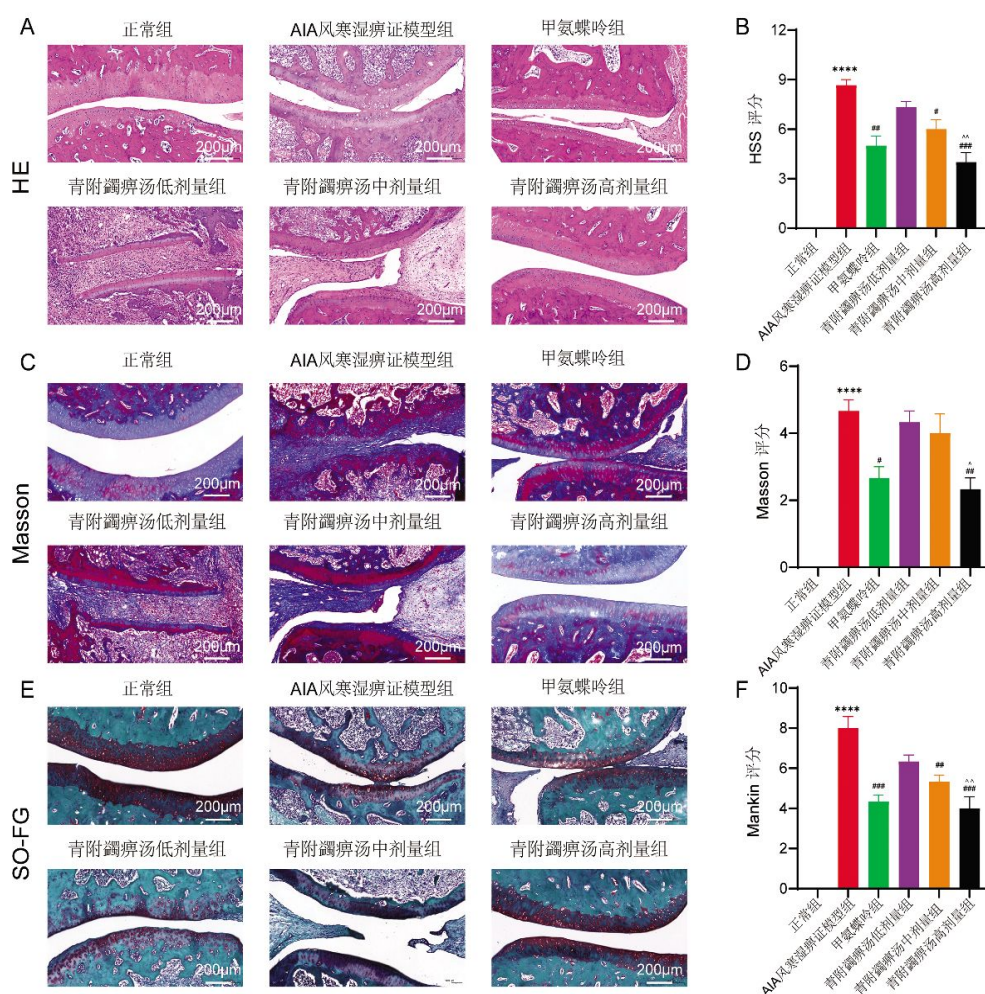


图7 青附燭痹汤对AIA 风寒湿痹证大鼠组织病理改变的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.7 Effects of QFJBD on the histopathological changes in rats with AIA of wind-cold-damp Bi-impediment pattern ($\bar{x} \pm s, n=3$)

注:A.关节组织 H&E 染色代表性图像与组织病理学评分(HSS 评分)统计结果;B.关节组织 Masson 染色代表性图像与胶原纤维沉积半定量分析;C.关节组织 SO-FC 染色代表性图像与软骨损伤评分统计结果。与正常组比较,**** $P<0.0001$;与 AIA 风寒湿痹证模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$;与青附燭痹汤低剂量组比较,^ $P<0.05$,~ $P<0.01$ 。

切的药效物质基础与分子机制尚未完全阐明。网络药理学结果提示其作用涉及多靶点、多通路的复杂调控网络,仍需通过化学成分分离鉴定与关键靶点验证实验加以确认。其二,动物实验与临床实践之间存在种属差异与外推性限制。后续有必要整合转录组学、蛋白质组学与代谢组学等多组学技术,系统解析青附燭痹汤的物质基础与作用通路,并在此基础上开展更高质量的循证研究,以提升其机制阐释与临床证据等级。

参考文献

- [1] GRAVALLESE E M, FIRESTEIN G S, KOSCAL N, et al. What is rheumatoid arthritis[J]. New England Journal of Medicine, 2024, 390(13): e32.
- [2] BROCK J, BASU N, SCHLACHETZKI J C M, et al. Immune mechanisms of depression in rheumatoid arthritis[J]. Nature Reviews Rheumatology, 2023, 19(12): 790-804.
- [3] 程雪妮, 刘健, 刘胜锋, 等. 基于《黄帝内经》“不通”“不仁”痹病理理论探析类风湿关节炎肢体麻木治疗思路[J]. 陕西中医药大学学报, 2025, 48(5): 73-76.
- [4] 张伯礼, 吴勉华, 林子强. 中医内科学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2017: 363.
- [5] 谢青云. 《诸病源候论》导引系列之“风湿痹候”导引法[J]. 家庭中医药, 2016, 23(7): 54-55.
- [6] 林也, 廖菁, 戴宗顺, 等. 基于“风寒湿三气杂至合而为痹”的类风湿关节炎病因病机与病证动物模型研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(11): 6611-6615.
- [7] 姜泉, 巩勋, 焦娟, 等. 类风湿关节炎病证结合诊疗指南(2025年)[J]. 中医杂志, 2025, 66(17): 1842-1856.
- [8] 李鑫, 林也, 陈小娟, 等. 青附燭痹汤治疗寒湿痹阻型类风湿

- 湿关节炎的临床疗效观察[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(1): 403–407.
- [9] 刘淑清, 顾映赞, 汪红平, 等. 《黄帝内经》痹证理论在类风湿关节炎中的运用[J]. 中医文献杂志, 2024, 42(5): 73–76.
- [10] SHI L, ZHAO Y, FENG C R, et al. Therapeutic effects of Shaogan Fuzi decoction in rheumatoid arthritis: Network pharmacology and experimental validation[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13: 967164.
- [11] 李 鑫, 魏艳霞, 林 也, 等. 风寒湿外邪对痹证(佐剂性关节炎)发生发展的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2017, 37(12): 1496–1501.
- [12] CAI X, WONG Y F, ZHOU H, et al. Manipulation of the induction of adjuvant arthritis in Sprague–Dawley rats[J]. *Inflammation Research*, 2006, 55(9): 368–377.
- [13] TANG Y, WU H, YAN P, et al. Targeting overexpressed HSPA8 by halofuginone suppresses aberrant proliferation and invasion of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes[J]. *Pharmacological Research*, 2025, 216: 107762.
- [14] DÍAZ-GONZÁLEZ F, HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ M V. Rheumatoid arthritis[J]. *Medicina Clinica*, 2023, 161(12): 533–542.
- [15] BROWN P, PRATT A G, HYRICH K L. Therapeutic advances in rheumatoid arthritis[J]. *BMJ*, 2024, 384: e070856.
- [16] GRAVALLESE E M, FIRESTEIN G S. Rheumatoid arthritis—common origins, divergent mechanisms[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2023, 388(6): 529–542.
- [17] 展俊平, 黄 硕, 孟庆良, 等. 缺氧微环境下补阳还五汤通过抑制 BNIP3–PI3K/Akt 通路抑制类风湿关节炎滑膜成纤维细胞的线粒体自噬[J]. 南方医科大学学报, 2025, 45(1): 35–42.
- [18] 李浩林, 陈 平, 王海东, 等. 基于 PI3K/AKT/NFATc1 通路探讨针刀疏筋解结术抑制类风湿关节炎大鼠骨破坏的作用及机制[J]. 针刺研究, 2025, 50(2): 131–140.
- [19] LOZADA–MELLADO M, LLORENTE L, HINOJOSA–AZAOLA A, et al. Inflammatory profile in patients with rheumatoid arthritis and sarcopenia[J]. *Clinical Rheumatology*, 2024, 43(6): 1865–1870.
- [20] YOKOTA K, SATO K, MIYAZAKI T, et al. Characterization and function of tumor necrosis factor and interleukin –6 –induced osteoclasts in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2021, 73(7): 1145–1154.
- [21] CACCIAPAGLIA F, PERNIOLA S, STANO S, et al. Modulation of IL–6 receptor/STAT3 downstream signaling in rheumatoid arthritis patients[J]. *Experimental and Molecular Pathology*, 2025, 141: 104951.
- [22] KISHIMOTO T, KANG S J. IL–6 revisited: From rheumatoid arthritis to CAR T cell therapy and COVID–19[J]. *Annual Review of Immunology*, 2022, 40: 323–348.
- [23] CHAABO K, KIRKHAM B. Rheumatoid arthritis–anti–TNF[J]. *International Immunopharmacology*, 2015, 27(2): 180–184.
- [24] LIU J Y, IDBORG H, KOROTKOVA M, et al. Urinary prostanoids are elevated by anti–TNF and anti–IL6 receptor disease–modifying antirheumatic drugs but are not predictive of response to treatment in early rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2024, 26(1): 61.
- [25] 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.
- [26] ZHENG Y Q, WEI W, ZHU L, et al. Effects and mechanisms of Paeoniflorin, a bioactive glucoside from paeony root, on adjuvant arthritis in rats[J]. *Inflammation Research*, 2007, 56(5): 182–188.
- [27] LAPKINA N A, BARANOV A, RECHKINA O P, et al. IL–17A, IL–17F, and IL–23 in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 2025, 522(1): 369–374.
- [28] YU J, ZHOU P. The advances of methotrexate resistance in rheumatoid arthritis[J]. *Inflammopharmacology*, 2020, 28(5): 1183–1193.
- [29] JUGE P A, LEE J S, LAU J, et al. Methotrexate and rheumatoid arthritis associated interstitial lung disease[J]. *The European Respiratory Journal*, 2021, 57(2): 2000337.
- [30] SANDHU A, DHIR V, AHMAD S, et al. Clinico–genetic model to predict methotrexate intolerance in rheumatoid arthritis[J]. *Clinical Rheumatology*, 2020, 39(1): 201–206.

(本文编辑 苏 维)