

本文引用: 韩天然, 纪青灼, 王小玉, 吴琳, 邵立仕, 李泽光. 秦皮苷调节 SDF-1/CXCR4 信号通路对类风湿关节炎大鼠炎性反应的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(3): 402-408.

秦皮苷调节 SDF-1/CXCR4 信号通路对类风湿关节炎大鼠炎性反应的影响

韩天然¹, 纪青灼², 王小玉¹, 吴琳¹, 邵立仕³, 李泽光^{4*}

1. 黑龙江中医药大学第一临床医学院, 黑龙江 哈尔滨 124000; 2. 青岛大学附属青岛市海慈医院针推康复中心, 山东 青岛 266000;
3. 韩记民康中医内科诊所神经内科, 河北 保定 072550; 4. 黑龙江中医药大学附属第一医院风湿科, 黑龙江 哈尔滨 124000

[摘要] **目的** 探讨秦皮苷调节基质细胞衍生因子-1(SDF-1)/CXCR4 趋化因子受体 4(CXCR4)信号通路对类风湿性关节炎(RA)大鼠炎性反应的影响。**方法** 大鼠随机分为正常组、RA 组、秦皮苷低剂量(0.2 g/kg)组、秦皮苷高剂量(0.4 g/kg)组、秦皮苷高剂量(0.4 g/kg)+NUCC-390(2.2 mg/kg)组, 每组 10 只。除正常组外, 其余各组以 II 型胶原诱导建立 RA 模型。干预后检测各组大鼠关节炎指数(AI)与足容积; Micro-CT 扫描检测踝关节骨质形态; HE 染色观察踝关节组织病理形态; ELISA 法检测血清与关节液炎症因子白细胞介素(IL)-6、IL-18、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、C-反应蛋白(CRP)、类风湿因子(RF)水平; Western blot 检测踝关节组织 SDF-1、CXCR4 蛋白表达水平。**结果** 与正常组比较, RA 组大鼠 AI, 足容积, 骨破坏评分, 踝关节组织病理形态学评分, IL-6、IL-18、TNF- α 、CRP、RF 水平及 SDF-1、CXCR4 蛋白表达水平均升高($P<0.05$); 与 RA 组比较, 秦皮苷低、高剂量组 AI, 足容积, 骨破坏评分, 踝关节组织病理形态学评分, IL-6、IL-18、TNF- α 、CRP、RF 水平及 SDF-1、CXCR4 蛋白表达水平均降低($P<0.05$), 且秦皮苷高剂量组各指标水平相比秦皮苷低剂量组降低($P<0.05$); 与秦皮苷高剂量组比较, 秦皮苷高剂量+NUCC-390 组 AI, 足容积, 骨破坏评分, 踝关节组织病理形态学评分, IL-6、IL-18、TNF- α 、CRP、RF 水平及 SDF-1、CXCR4 蛋白表达水平均升高($P<0.05$)。**结论** 秦皮苷可通过下调 SDF-1/CXCR4 信号通路减轻 RA 大鼠炎性反应并改善其关节炎症状。

[关键词] 类风湿关节炎; 秦皮苷; 基质细胞衍生因子-1; CXCR4 趋化因子受体 4; 炎性反应

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.03.002

Effects of fraxin on inflammatory response in rats with rheumatoid arthritis by regulating SDF-1/CXCR4 signaling pathway

HAN Tianran¹, JI Qingzhuo², WANG Xiaoyu¹, WU Lin¹, TAI Lishi³, LI Zeguang^{4*}

1. The First Clinical School of Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang 124000, China;

2. Acupuncture and Rehabilitation Center, Qingdao Hiser Hospital of Qingdao University, Qingdao, Shandong 266000, China;

3. Department of Neurology, Hanji Minkang TCM Internal Medicine Clinic, Baoding, Hebei 072550, China; 4. Department of Rheumatology, The First Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang 124000, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of fraxin on inflammatory response in rats with rheumatoid arthritis (RA) by regulating stromal cell-derived factor-1 (SDF-1)/CXCR4 chemokine receptor 4 (CXCR4) signaling pathway. **Methods** Rats were randomly divided into normal group, RA group, low-dose (0.2 g/kg) fraxin group, high-dose (0.4 g/kg) fraxin group, high-dose (0.4 g/kg) fraxin+NUCC-390 (2.2 mg/kg) group, with 10 rats in each group. The RA model was established with type II collagen

[收稿日期] 2024-11-15

[基金项目] 黑龙江省自然科学基金项目(2023085J08)。

[通信作者] * 李泽光, 男, 博士, 教授, E-mail: HLjzy-Lzg@163.com。

induction in all groups except the normal group. After the intervention, the arthritis index (AI) and paw volume of rats in each group were measured. Micro-CT scanning was performed to assess the bone morphology of the ankle joints. Histopathological morphology of the ankle joint tissue was observed using HE staining. ELISA was used to test the levels of inflammatory cytokines interleukin (IL)-6, IL-18, tumor necrosis factor- α (TNF- α), C-reactive protein (CRP), and rheumatoid factor (RF) in the serum and synovial fluid. Western blot was performed to measure the protein expression levels of SDF-1 and CXCR4 in the ankle joint tissue. **Results** Compared with the normal group, the RA group exhibited increased levels of AI, paw volume, bone destruction score, histopathological morphological score of the ankle joint, and the levels of IL-6, IL-18, TNF- α , CRP, RF, as well as the protein expression levels of SDF-1 and CXCR4 ($P<0.05$). Compared with the RA group, both the low-dose and high-dose fraxin groups showed decreased levels of AI, paw volume, bone destruction score, histopathological morphological score of the ankle joint, and the levels of IL-6, IL-18, TNF- α , CRP, RF, as well as the protein expression levels of SDF-1 and CXCR4 ($P<0.05$). Furthermore, the high-dose fraxin group exhibited lower levels of these indicators compared to the low-dose fraxin group ($P<0.05$). Compared with the high-dose fraxin group, the high-dose fraxin+NUCC-390 group showed increased levels of AI, paw volume, bone destruction score, histopathological morphological score of the ankle joint, and the levels of IL-6, IL-18, TNF- α , CRP, RF, as well as the protein expression levels of SDF-1 and CXCR4 ($P<0.05$). **Conclusion** Fraxin can alleviate the inflammatory response and relieve arthritis symptoms in RA rats by downregulating the SDF-1/CXCR4 signaling pathway.

[**Keywords**] rheumatoid arthritis; fraxin; stromal cell-derived factor-1; CXC chemokine receptor 4; inflammatory response

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是免疫系统过度激活造成的一种进行性、对称性自身免疫病,非化脓性滑膜炎性增生、关节软骨侵蚀和骨进行性破坏是其主要病理特征,可造成关节晨僵并伴有发红、肿胀、疼痛等,严重影响患者正常生活与工作,还可对患者家庭和社会造成严重负担^[1-2]。免疫细胞大量浸润和关节无菌性炎症是RA的主要发病机制,还可促进其病情进展,因此,减轻关节炎是改善RA关节滑膜增生和骨质损伤症状的有效手段^[3-4]。基质细胞衍生因子-1(stromal cell derived factor-1, SDF-1)是一种具有强趋化效力的细胞因子,又称为CXC趋化因子配体12(C-X-C motif chemokine ligand 12, CXCL12),可与其受体CXC趋化因子受体4(CXC chemokine receptor 4, CXCR4)结合,影响炎症与软骨细胞分化、成熟、存活过程,与关节炎的发生发展密切相关,下调CXCR4可显著消除RA小鼠炎症^[5],下调CXCL12/CXCR4信号通路可明显抑制RA大鼠炎症并改善其关节病理损伤^[6]。基于此研究背景可知,SDF-1/CXCR4是治疗RA的重要靶标。秦皮是始载于《神农本草经·中经》的常用中药,具有清热解暑、收涩止痢、燥湿、止带、明目之功,能用于RA的临床治疗,其水煎液可降低RA大鼠炎症并改善其踝关节病理组织形态^[7]。秦皮苷是秦皮的主要活性成分,可通过抑制软骨细胞凋亡减轻膝骨关节炎大鼠软骨损伤^[8]。但秦皮苷是否可通过抑制SDF-1/CXCR4信号通路治疗RA,目前并不清楚。本文通过建立RA大鼠模型,探究秦皮苷调节SDF-1/

CXCR4信号通路对其炎性反应的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 6周龄雄性SPF级Wistar大鼠52只,体质量200~220 g,购自杭州子源实验动物科技有限公司,许可证号:SCXK(沪)2024-0004,适应性饲养于相对湿度45%~60%、温度23~25℃的环境内,进行昼夜(12 h/12 h)交替光照并自由进食饮水。本研究已获得黑龙江中医药大学伦理委员会批准,伦理审批编号:HZYLLKT202432301。

1.1.2 主要试剂与仪器 牛Ⅱ型胶原蛋白(规格:10 mg,免疫级,美国Chrono公司,批号:20021);秦皮苷(纯度:HPLC \geq 98%,四川省维克奇生物科技有限公司,批号:WKQ-0000435);NUCC-390(纯度:98.18%,美国TargetMol公司,批号:T12269);大鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-18、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)ELISA试剂盒(英国Abcam公司,批号:ab236712、ab234570、ab213909、ab108827);HE染色试剂盒(英国Abcam公司,批号:ab245880);兔抗大鼠GAPDH、SDF-1、CXCR4抗体(英国Abcam公司,批号:ab9485、ab25117、ab124824);大鼠类风湿因子(rheumatoid factor, RF)ELISA试剂盒(上海艾连达生物科技有限公司,批号:ALD28663)。

NEMO NMC-200型Micro-CT仪(平生医疗科技有限公司);HM325型石蜡切片机(德国MICROM

公司);CX31 型倒置显微镜(日本 OLYMPUS 公司);MK3 型多功能酶标仪(美国 Thermo Labsystems 公司);SE400 型垂直电泳系统、TE62 型蛋白转印系统(美国 Amersham 公司);MiniChemi 610 型化学发光成像仪(北京赛智科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 造模与药物干预 以 II 型胶原诱导建立 RA 模型^[9]。以 0.1 mol/L 冰醋酸溶液 20 mL 溶解牛 II 型胶原,与冷弗氏完全佐剂等体积混合,冰水浴内进行充分搅拌乳化获得 0.1 mg/mL II 型胶原乳剂,4 °C 下保存备用。取 Wistar 大鼠 42 只,剃除尾根部和背部脊柱两侧毛发,每处皮内注射 0.1 mL II 型胶原乳剂进行免疫。8 d 后于大鼠左后足跖部皮内注射 0.1 mL II 型胶原乳剂进行加强免疫,2 周后完成造模,观察大鼠双后足与踝关节肿胀情况。以 5 级评分法评估大鼠关节炎指数(arthritis index, AI),以 AI≥2 分表示 RA 模型制备成功^[10]。RA 模型大鼠共制备成功 40 只,将其随机分为 RA 组、秦皮苷低剂量组、秦皮苷高剂量组、秦皮苷高剂量+NUCC-390 组,每组 10 只,另取 10 只 Wistar 大鼠用同样方式皮内注射等量生理盐水,设为正常组。

造模成功 24 h 后进行药物干预。用 0.2、0.4 g/kg 的秦皮苷分别干预秦皮苷低剂量组、秦皮苷高剂量组大鼠^[8];用 0.4 g/kg 的秦皮苷与 2.2 mg/kg 的 NUCC-390^[11]联合干预秦皮苷高剂量+NUCC-390 组大鼠;秦皮苷和 NUCC-390 均用生理盐水溶解,秦皮苷做腹腔注射,NUCC-390 做肌内注射,正常组、RA 组大鼠用等剂量生理盐水进行腹腔与肌内注射,每组大鼠每天干预 1 次,连续干预 28 d。

1.2.2 大鼠 AI 与足容积检测 药物干预结束后 24 h 评估各组大鼠 AI。双后足与踝关节未肿胀为 0 分;小趾关节红肿为 1 分;足趾与趾关节肿胀为 2 分;踝关节以下足爪肿胀为 3 分;全部足爪肿胀包括踝关节为 4 分^[10]。用足趾测量仪测定大鼠足容积,将踝关节以下足趾浸入容量杯内读取数值,即可得足容积,取双后肢足趾平均值。

1.2.3 标本采集 麻醉各组大鼠后断尾采血、离心,获得血清样本保存于-80 °C 冰箱中。以尾静脉空气栓塞处死各组大鼠,均用 1 mL 生理盐水冲洗踝关节腔后离心冲洗液,获得关节液样本保存于-80 °C 冰箱中。截取大鼠左下肢,剥去关节周围附着肌肉后冲洗,截取约 360 mg 关节组织用 EDTA 溶解骨质

中的钙盐,用 RIPA 裂解液提取总蛋白保存于-80 °C 冰箱中;剩余关节组织投入 10%甲醛中固定 3 d,取出放入 10%硝酸溶液内脱钙 3 d,流水冲洗后用石蜡包埋,用石蜡切片机切成 5~7 μm 的组织薄片备用。

1.2.4 Micro-CT 扫描检测踝关节骨质形态并进行评分 截取大鼠右下肢,剥去关节面肌肉后冲洗,固定在 Micro-CT 上进行扫描成像,观察踝关节骨质形态并进行骨破坏评分^[12]。关节骨质正常,评 0 分;关节骨质早期轻度异常,关节间隙轻微狭窄,评 1 分;关节骨质早期明确异常,有明显侵蚀,关节间隙轻微狭窄,评 2 分;关节骨质中度破坏,关节间隙狭窄<正常 50%,评 3 分;关节骨质重度破坏,关节间隙狭窄>正常 50%,但关节间隙尚未消失,评 4 分;关节骨质重度破坏,关节间隙消失,评 5 分。

1.2.5 HE 染色及组织病理形态学评分 取各组大鼠踝关节组织石蜡切片,脱蜡后流水冲洗,依次滴加苏木精与伊红染液,按 HE 染色试剂盒操作说明书进行 HE 染色。水洗后封片干燥、固定,光镜下观察踝关节组织病理形态并拍摄图像。根据滑膜炎与增生、血管翳生成、软骨与骨破坏情况进行组织病理形态学评分^[13]。滑膜炎性细胞浸润情况:无、局部浸润、弥漫性浸润,分别评 0、1、2 分;滑膜增生情况:无、一个关节面增生、多个关节面增生,分别评 0、1、2 分;血管翳与软骨破坏情况:无、血管翳覆盖软骨但软骨无破坏、血管翳覆盖软骨且软骨破坏,分别评 0、1、2 分;骨破坏情况:无、轻度、严重,分别评 0、1、2 分。病理形态学评分为 4 项评分之和,总分为 0~8 分。

1.2.6 ELISA 法检测炎症因子水平 将各组大鼠血清及关节液自-80 °C 冰箱取出,4 °C 下进行解冻,采用 ELISA 法于酶标仪内检测 IL-6、IL-18、TNF-α、CRP、RF 水平,按 ELISA 试剂盒操作说明书进行检测。

1.2.7 Western blot 检测 SDF-1、CXCR4 蛋白水平 取各组大鼠踝关节组织总蛋白,测定其浓度后进行煮沸变性。每组取 20 μg 上样行 SDS-PAGE 电泳,通过全湿式电转将其转印至硝酸纤维素膜上。封闭后孵育一抗(SDF-1、CXCR4、GAPDH 抗体均以 1:1 000 比例稀释),4 °C 下过夜。二抗以 1:2 000 比例稀释,并于 37 °C 下孵育 2 h。洗涤后显色各组蛋白,化学发光成像仪内拍摄蛋白图像并定量其灰度,用 GAPDH 作内参对照,归一化各组 SDF-1 与 CX-

CR4 蛋白表达。

1.3 统计学分析

实验数据以 GraphPad Prism 9.0 软件做统计学分析,以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,组间多重比较行单因素方差分析,事后两两比较行 SNK-*q* 检验,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 AI 与关节肿胀程度比较

与正常组比较,RA 组 AI 与足容积均升高($P<0.05$);与 RA 组比较,秦皮苷低、高剂量组 AI 与足容积均降低($P<0.05$);与秦皮苷低剂量组比较,秦皮苷高剂量组 AI 与足容积均降低($P<0.05$),秦皮苷高剂量+NUCC-390 组 AI 与足容积均升高($P<0.05$);与秦皮苷高剂量组比较,秦皮苷高剂量+NUCC-390 组 AI 与足容积均升高($P<0.05$)。详见表 1。

表 1 各组大鼠 AI 与足容积比较($n=10, \bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of AI and paw volume among different groups of rats ($n=10, \bar{x}\pm s$)

组别	AI/分	足容积/mL
正常组	0.00±0.00	1.10±0.17
RA 组	3.10±0.43*	2.46±0.25*
秦皮苷低剂量组	1.70±0.57**	1.80±0.19**
秦皮苷高剂量组	0.50±0.50 [△]	1.17±0.15 [△]
秦皮苷高剂量+NUCC-390 组	2.90±0.54* [△]	2.35±0.21* [△]

注:与正常组相比,* $P<0.05$;与 RA 组相比,** $P<0.05$;与秦皮苷低剂量组相比,[△] $P<0.05$;与秦皮苷高剂量组相比,[▲] $P<0.05$ 。

2.2 各组大鼠踝关节骨质形态结果

正常组大鼠踝关节骨质形态完好,关节结构清晰、正常;RA 组大鼠踝关节结构破损、模糊且有部分相邻关节面融合,楔骨、骰骨、距骨等骨质呈虫蚀样增生,踝关节骨质形态发生明显病变;秦皮苷低、高剂量组大鼠踝关节骨质病变均减轻,秦皮苷高剂

量组相比秦皮苷低剂量组进一步减轻;秦皮苷高剂量+NUCC-390 组大鼠踝关节骨质病变相比秦皮苷低、高剂量组加重。详见图 1。

与正常组比较,RA 组骨破坏评分升高($P<0.05$);与 RA 组比较,秦皮苷低、高剂量组骨破坏评分均降低($P<0.05$);与秦皮苷低剂量组比较,秦皮苷高剂量组骨破坏评分降低($P<0.05$),秦皮苷高剂量+NUCC-390 组骨破坏评分升高($P<0.05$);与秦皮苷高剂量组比较,秦皮苷高剂量+NUCC-390 组骨破坏评分升高($P<0.05$)。详见表 2。

表 2 各组大鼠踝关节骨破坏评分比较($n=10, \bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of ankle joint bone destruction scores among different groups of rats ($n=10, \bar{x}\pm s$)

组别	骨破坏评分/分
正常组	0.00±0.00
RA 组	3.90±0.63*
秦皮苷低剂量组	2.10±0.54**
秦皮苷高剂量组	0.50±0.50 [△]
秦皮苷高剂量+NUCC-390 组	3.50±0.61* [△]

注:与正常组相比,* $P<0.05$;与 RA 组相比,** $P<0.05$;与秦皮苷低剂量组相比,[△] $P<0.05$;与秦皮苷高剂量组相比,[▲] $P<0.05$ 。

2.3 各组大鼠踝关节组织病理检测结果

正常组大鼠踝关节软骨、骨质、滑膜组织形态正常,滑膜组织无明显炎症细胞浸润;RA 组大鼠踝关节软骨、骨质破损且关节面粗糙,有血管翳形成,滑膜组织增生并可见明显炎症细胞浸润,踝关节组织发生明显病理损伤;秦皮苷低、高剂量组大鼠踝关节组织病理损伤均减轻,秦皮苷高剂量组相比秦皮苷低剂量组进一步减轻;秦皮苷高剂量+NUCC-390 组大鼠踝关节组织病理损伤相比秦皮苷低、高剂量组加重。详见图 2。



图 1 各组大鼠踝关节 Micro-CT 扫描成像图

Fig.1 Micro CT scanning images of ankle joints in each group of rats

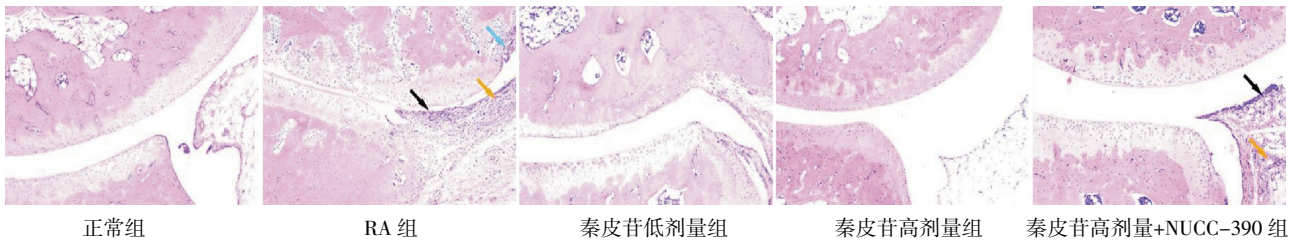


图 2 各组大鼠踝关节组织病理形态图(HE, ×100)

Fig.2 Pathological morphology images of ankle joint tissue in each group of rats (HE, ×100)

注:黑色箭头指向炎性浸润;蓝色箭头指向血管增生部位;橙色箭头指向滑膜增生。

与正常组比较,RA 组病理形态学评分升高($P<0.05$);与 RA 组比较,秦皮苷低、高剂量组病理形态学评分均降低($P<0.05$);与秦皮苷低剂量组比较,秦皮苷高剂量组病理形态学评分降低($P<0.05$),秦皮苷高剂量+NUCC-390 组病理形态学评分升高($P<0.05$);与秦皮苷高剂量组比较,秦皮苷高剂量+NUCC-390 组病理形态学评分升高($P<0.05$)。详见表 3。

表 3 各组大鼠踝关节组织病理形态学评分比较($n=10, \bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of pathological morphology scores of ankle joint tissue among different groups of rats ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	病理形态学评分/分
正常组	0.00±0.00
RA 组	6.80±0.62*
秦皮苷低剂量组	4.10±0.56**
秦皮苷高剂量组	1.50±0.32 ^{#△}
秦皮苷高剂量+NUCC-390 组	6.50±0.64* ^{△▲}

注:与正常组相比,* $P<0.05$;与 RA 组相比,** $P<0.05$;与秦皮苷低剂量组相比,[△] $P<0.05$;与秦皮苷高剂量组相比,[▲] $P<0.05$ 。

2.4 各组大鼠关节液及血清炎症因子水平比较

与正常组比较,RA 组关节液及血清 IL-6、IL-18、TNF- α 、CRP、RF 水平均升高($P<0.05$);与 RA 组比较,秦皮苷低、高剂量组关节液及血清 IL-6、IL-18、TNF- α 、CRP、RF 水平均降低($P<0.05$);与秦皮

苷低剂量组比较,秦皮苷高剂量组关节液及血清 IL-6、IL-18、TNF- α 、CRP、RF 水平均降低($P<0.05$),秦皮苷高剂量+NUCC-390 组关节液及血清 IL-6、IL-18、TNF- α 、CRP、RF 水平均升高($P<0.05$);与秦皮苷高剂量组比较,秦皮苷高剂量+NUCC-390 组关节液及血清 IL-6、IL-18、TNF- α 、CRP、RF 水平均升高($P<0.05$)。详见表 4—5。

2.5 各组大鼠踝关节组织 SDF-1/CXCR4 通路蛋白表达水平比较

与正常组比较,RA 组 SDF-1、CXCR4 蛋白表达水平升高($P<0.05$);与 RA 组比较,秦皮苷低、高剂量组 SDF-1、CXCR4 蛋白表达水平均降低($P<0.05$);与秦皮苷低剂量组比较,秦皮苷高剂量组 SDF-1、CXCR4 蛋白表达水平均降低($P<0.05$),秦皮苷高剂量+NUCC-390 组 SDF-1、CXCR4 蛋白表达水平均升高($P<0.05$);与秦皮苷高剂量组比较,秦皮苷高剂量+NUCC-390 组 SDF-1、CXCR4 蛋白表达水平均升高($P<0.05$)。详见图 3、表 6。

3 讨论

目前,RA 的标准治疗以糖皮质激素、免疫抑制剂等非甾体抗炎药为主,并辅助使用阿巴西普、利妥昔单抗等单克隆抗体治疗药物,可有效缓解 RA 患者关节病变,但很难达到根治效果,且部分患者

表 4 各组大鼠关节液 IL-6、IL-18、TNF- α 、CRP、RF 水平比较($n=10, \bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of IL-6, IL-18, TNF- α , CRP, and RF levels in joint fluid among different groups of rats ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	IL-6/(pg/mL)	IL-18/(pg/mL)	TNF- α /(pg/mL)	CRP/(μ g/mL)	RF/(IU/mL)
正常组	326.52±26.14	203.62±23.46	73.14±12.03	1.18±0.31	64.12±8.23
RA 组	513.64±34.57*	485.21±32.60*	167.56±20.14*	3.97±0.52*	135.67±10.84*
秦皮苷低剂量组	421.37±28.23**	347.05±26.73**	121.67±15.32**	2.53±0.41**	102.72±9.15**
秦皮苷高剂量组	338.05±27.92 ^{#△}	214.14±24.05 ^{#△}	81.02±13.25 ^{#△}	1.36±0.38 ^{#△}	69.25±8.19 ^{#△}
秦皮苷高剂量+NUCC-390 组	504.20±28.10* ^{△▲}	470.23±25.16* ^{△▲}	158.13±12.24* ^{△▲}	3.62±0.46* ^{△▲}	128.94±9.76* ^{△▲}

注:与正常组相比,* $P<0.05$;与 RA 组相比,** $P<0.05$;与秦皮苷低剂量组相比,[△] $P<0.05$;与秦皮苷高剂量组相比,[▲] $P<0.05$ 。

表5 各组大鼠血清 IL-6、IL-18、TNF- α 、CRP、RF 水平比较($n=10, \bar{x}\pm s$)Table 5 Comparison of serum levels of IL-6, IL-18, TNF- α , CRP, and RF among different groups of rats ($n=10, \bar{x}\pm s$)

组别	IL-6/(pg/mL)	IL-18/(pg/mL)	TNF- α /(pg/mL)	CRP/(\mu g/mL)	RF/(IU/mL)
正常组	287.43 \pm 16.86	176.25 \pm 14.68	60.19 \pm 6.12	1.07 \pm 0.29	56.13 \pm 7.21
RA 组	465.72 \pm 24.51*	410.36 \pm 23.12*	114.53 \pm 9.06*	3.56 \pm 0.47*	121.32 \pm 9.68*
秦皮苷低剂量组	379.35 \pm 20.74**	298.51 \pm 19.03**	89.74 \pm 7.60**	2.37 \pm 0.38**	90.75 \pm 8.06**
秦皮苷高剂量组	297.16 \pm 17.25* Δ	185.94 \pm 15.01* Δ	65.98 \pm 6.41* Δ	1.25 \pm 0.31* Δ	61.21 \pm 6.95* Δ
秦皮苷高剂量+NUCC-390 组	453.80 \pm 18.13* Δ \blacktriangle	398.13 \pm 13.97* Δ \blacktriangle	103.02 \pm 7.09* Δ \blacktriangle	3.32 \pm 0.43* Δ \blacktriangle	114.86 \pm 9.32* Δ \blacktriangle

注:与正常组相比,* $P<0.05$;与 RA 组相比,** $P<0.05$;与秦皮苷低剂量组相比, $\Delta P<0.05$;与秦皮苷高剂量组相比, $\blacktriangle P<0.05$ 。

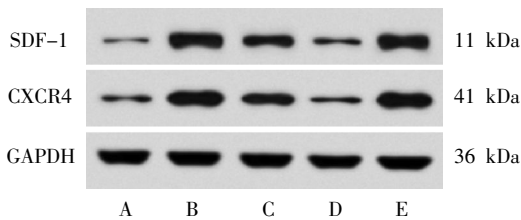


图3 各组大鼠踝关节组织 SDF-1、CXCR4 蛋白条带图

Fig.3 Band diagrams of SDF-1 and CXCR4 proteins in ankle joint tissue among different groups of rats

注:A.正常组;B.RA 组;C.秦皮苷低剂量组;D.秦皮苷高剂量组;E.秦皮苷高剂量+NUCC-390 组。

表6 各组大鼠踝关节组织 SDF-1、CXCR4 蛋白相对表达水平比较($n=10, \bar{x}\pm s$)Table 6 Comparison of relative expression of SDF-1 and CXCR4 proteins in ankle joint tissue among different groups of rats ($n=10, \bar{x}\pm s$)

组别	SDF-1	CXCR4
正常组	0.19 \pm 0.04	0.26 \pm 0.05
RA 组	1.13 \pm 0.11*	1.18 \pm 0.13*
秦皮苷低剂量组	0.67 \pm 0.07**	0.71 \pm 0.08**
秦皮苷高剂量组	0.21 \pm 0.05* Δ	0.28 \pm 0.06* Δ
秦皮苷高剂量+NUCC-390 组	1.10 \pm 0.09* Δ \blacktriangle	1.15 \pm 0.12* Δ \blacktriangle

注:与正常组相比,* $P<0.05$;与 RA 组相比,** $P<0.05$;与秦皮苷低剂量组相比, $\Delta P<0.05$;与秦皮苷高剂量组相比, $\blacktriangle P<0.05$ 。

不耐受,疗效较差,因此,仍需研发新型药物满足 RA 的临床治疗需求^[14-15]。本研究以 II 型胶原诱导建立 RA 模型,结果显示,造模大鼠足趾明显肿胀,且其 AI 相比正常组大鼠明显升高,提示 RA 大鼠模型建立成功。

现代医学仍然不确定 RA 的确切病因,但大量研究显示,自身免疫系统异常引发的炎性细胞激活、增殖、浸润与炎症因子大量生成,是造成关节炎性病变和骨破坏的主要病理机制,因此,治疗 RA 的关键是抑制免疫炎症^[4,16-17]。中医药防治 RA 具有悠久的

历史和丰富的临床经验,安全经济且疗效良好,具有广阔应用前景。RA 归属于中医学“痹证”“历节风”范畴,热毒是其主要病机,并可引发患者关节红、肿、热、痛等急性发作,治法以清热解毒为主^[4]。秦皮是我国传统中药材,具有明显的清热解毒之功,契合 RA 的病机,在 RA 临床治疗中有广泛应用,其水煎液能通过抑制炎症减轻 RA 大鼠踝关节损伤^[7]。秦皮苷是从秦皮中提取的一种天然活性物质,是秦皮的主要有效成分之一,可明显抑制脂多糖诱导的 M1 型巨噬细胞极化,通过降低炎症因子表达而抑制机体炎症,进而预防炎症性疾病的发生发展^[18];还可减轻肺炎克雷伯菌所致重症肺炎大鼠肺组织炎症损伤^[19];且可缓解膝骨关节炎大鼠软骨细胞凋亡及软骨损伤^[8]。因而推测秦皮苷可能是治疗 RA 的有效药物。本研究结果显示,以秦皮苷干预 RA 大鼠,可减少其炎症因子 IL-6、IL-18、TNF- α 、CRP、RF 的表达,减轻其体内炎症,降低 RA 大鼠 AI、足容积、踝关节组织病理形态学评分,并缓解其踝关节骨质形态病变,表明秦皮苷可抑制 RA 大鼠炎性反应,减轻其关节病理损伤,改善其关节红肿、骨质破坏等关节炎症状,提示秦皮苷在 RA 临床治疗中具有较好的应用前景。

SDF-1/CXCR4 是调控免疫系统激活与免疫炎症的重要信号,可通过调控软骨细胞存活、分化介导关节炎疾病的发生发展,下调 SDF-1 与 CXCR4 蛋白表达可有效减轻骨关节炎大鼠软骨损伤,修复受损软骨和软骨下骨,发挥明显的抗骨关节炎作用^[20-21],阻断 SDF-1/CXCR4 信号通路传导还可明显缓解 RA 大鼠关节损伤^[9]。本研究结果显示,RA 大鼠关节组织 SDF-1 与 CXCR4 表达相比正常组升高,以秦皮苷干预可逆转其表达变化趋势,表明 SDF-1/CXCR4 信号通路参与调控 RA 发病过程,并与秦皮苷

对 RA 大鼠的治疗作用有关;以秦皮苷和 SDF-1/CXCR4 信号激活剂 NUCC-390 联合干预 RA 大鼠,可降低秦皮苷单独干预对 RA 大鼠的抗炎作用,消除其对 RA 大鼠关节病理损伤的减轻作用,逆转其对 RA 大鼠关节红肿、骨质破坏等关节炎症状的改善作用,最终揭示秦皮苷可通过抑制 SDF-1/CXCR4 信号通路激活来减轻 RA 大鼠炎性反应。

综上所述,秦皮苷可抑制 RA 大鼠体内炎性反应,减轻其关节病理损伤,改善其关节肿胀、骨质破坏等关节炎症状,阻止 SDF-1/CXCR4 信号通路激活可能是秦皮苷治疗 RA 的药理机制之一。本文首次证实了秦皮苷对 RA 的潜在治疗作用,对其在 RA 临床治疗中的研发应用提供了理论基础,有助于 RA 治疗方案的改进。

参考文献

- [1] 刘洋,弓雪妍,苏雅珍,等. 人工智能在类风湿关节炎中的研究进展[J]. 中华风湿病学杂志, 2024, 28(6): 416-421.
- [2] 赵军一,赵凤,曲冰佳,等. 1990—2019 年中国类风湿性关节炎疾病负担现状和趋势分析[J]. 中国卫生统计, 2024, 41(3): 344-348, 353.
- [3] 赵磊,万磊,刘健,等. 基于巨噬细胞炎症极化研究新风湿胶囊改善类风湿关节炎患者炎症免疫反应的机制[J]. 中药药理与临床, 2023, 39(10): 70-73.
- [4] 刘建鑫,揭珊珊,薛欣,等. 黄连解毒汤“异病同治”类风湿关节炎和急性痛风性关节炎的机制探讨[J]. 中国中医基础医学杂志, 2023, 29(5): 742-746.
- [5] DING L, PARK D H, GAO B, et al. Low dose methotrexate impaired T cell transmigration through down-regulating CXCR4 expression in rheumatoid arthritis (RA)[J]. Arthritis Research & Therapy, 2024, 26(1): 173-190.
- [6] SI M, MA Z, ZHANG J, et al. Qingluoyin granules protect against adjuvant-induced arthritis in rats via downregulating the CXCL12/CXCR4-NF- κ B signalling pathway[J]. Pharmaceutical Biology, 2021, 59(1): 1441-1451.
- [7] 吴梦娟,聂安政,朱春胜,等. 秦皮水煎液干预类风湿性关节炎的作用研究[J]. 中医药信息, 2024, 41(6): 9-12.
- [8] QIAN Z G, RU X L, LIU C, et al. Fraxin prevents knee osteoarthritis through inhibiting chondrocyte apoptosis in an experimental rat osteoarthritis model[J]. Protein and Peptide Letters, 2021, 28(11): 1298-1302.
- [9] 郭从嘉,吴国泰,高慧琴,等. 秦艽与威灵仙组分配伍对类风湿关节炎大鼠的治疗作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(21): 3139-3143.
- [10] 李树岗,贾超,宋远瑛. IL-37b 作用于树突状细胞 CD39/ATP 轴抑制类风湿性关节炎大鼠炎症反应的作用及机制[J]. 免疫学杂志, 2022, 38(1): 51-58.
- [11] STAZI M, D'ESTE G, MATTAREI A, et al. An agonist of the CXCR4 receptor accelerates the recovery from the peripheral neuroparalysis induced by Taipan snake envenomation[J]. PLoS Neglected Tropical Diseases, 2020, 14(9): e0008547.
- [12] 黄禾. 18F-NaF micro-PET/CT 对胶原诱导性关节炎大鼠的早期诊断价值[D]. 泸州: 西南医科大学, 2017.
- [13] 陈莹,王升旭,杨路. 蜂针对类风湿关节炎大鼠 CD40-CD40L 的调控作用[J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(10): 2472-2475.
- [14] 姜平,常岑,许林帅,等. 类风湿关节炎治疗的进展与挑战[J]. 中国药理学杂志, 2024, 59(3): 200-209.
- [15] 贾宏声,王璠,陈春,等. 不同生物制剂治疗类风湿性关节炎有效性及安全性的网状 Meta 分析[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(29): 4748-4756.
- [16] 张雪芬,孙玥,张皖东. NLRC3 通过抑制 STING 信号通路,减轻类风湿关节炎患者巨噬细胞焦亡诱导的免疫炎症反应[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2024, 40(9): 818-825.
- [17] 张琴,张宏,杨春梅,等. 基于代谢组学和网络药理学的复方黑骨藤有效组分抗类风湿性关节炎机制研究[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(2): 507-516.
- [18] 韦虹,蒋春兰,覃再嫩,等. 秦皮苷对脂多糖诱导的巨噬细胞极化的影响[J]. 广西医科大学学报, 2022, 39(4): 569-576.
- [19] 尉飞,王湘雨,刘志勇. 秦皮苷对肺炎克雷伯菌所致重症肺炎大鼠肺组织损伤及纤维化的作用及机制研究[J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(1): 197-200, 290.
- [20] CHEN J, CHEN N, ZHANG T, et al. Rongjin Niantong Fang ameliorates cartilage degeneration by regulating the SDF-1/CXCR4-p38MAPK signalling pathway[J]. Pharmaceutical Biology, 2022, 60(1): 2253-2265.
- [21] YANG K Y, XIE Q, TANG T T, et al. Astragaloside IV as a novel CXCR4 antagonist alleviates osteoarthritis in the knee of monosodium iodoacetate-induced rats[J]. Phytomedicine, 2023, 108: 154506-154515.

(本文编辑 周旦)