

藤莓汤改善CIA模型大鼠关节滑膜免疫炎性损伤的机制研究*

杨蕾¹, 张正菊¹, 相瑞阳¹, 顾文², 张红红³, 何毓奎¹, 王达利¹,
刘慧¹, 马卫国¹, 孟凤仙^{1**}

(1. 北京中医药大学东方医院风湿科 北京 100078; 2. 北京中医医院风湿科 北京 100010;

3. 顺义中医院风湿科 北京 101300)

摘要:目的 通过观察藤莓汤(Tengmei Decoction, TMD)对胶原诱导性(collagen-induced arthritis, CIA)大鼠滑膜中突变型P53(Mutant P53, mt-p53)、增殖诱导配体(a proliferation-inducing ligand, APRIL)、白细胞介素2(Interleukin 2, IL-2)表达的影响,探讨藤莓汤抑制类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)滑膜免疫炎性损伤的分子机制。方法 建立CIA大鼠模型,中药给药组分为TMD高剂量组、TMD低剂量组,分别以TMD生药量31.8、15.9 g/(kg·d⁻¹)灌胃;模型组、阳性对照组分别予去离子水10 mL/(kg·d⁻¹)、来氟米特1.87 mg/(kg⁻¹·d⁻¹)灌胃;另设正常对照组,予去离子水10 mL/(kg·d⁻¹),各组连续干预12周。干预结束后检测mt-P53、APRIL、IL-2蛋白及mRNA表达。结果 与正常组比较,模型组APRIL、mt-P53、IL-2 mRNA转录水平上调($P < 0.01$);mt-P53、IL-2蛋白表达上调($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与模型组比较,各治疗组APRIL mRNA转录水平,mt-P53、IL-2 mRNA转录水平及蛋白表达水平下调, ($P < 0.01$, $P < 0.05$);结论 TMD能够降低大鼠关节滑膜、血清中mt-P53、IL-2、APRIL表达水平,改善关节炎模型大鼠关节滑膜免疫炎性损伤,可能与TMD抑制关节滑膜过度增殖,降低炎症因子的表达有关。

关键词:藤莓汤 胶原诱导性关节炎 mt-P53 增殖诱导配体 白细胞介素2 免疫炎性病理损伤

doi: 10.11842/wst.20190129003 中图分类号: R289.5 文献标识码: A

类风湿关节炎(Rheumatoid arthritis, RA)是由T、B细胞介导的全身性自身免疫病,以慢性滑膜炎为主要病理特征^[1]。RA主要以滑膜为靶组织,病理可见滑膜充血水肿,滑膜细胞增生,血管周围可见滑膜增生,肉芽组织增生和血管翳形成,关节软骨破坏,纤维样关节强直^[2],最终导致严重畸形、关节功能丧失。流行病学研究发现,全世界患病率约1%,我国患病率约0.3%,本病好发年龄为40-50岁,且女性患病率是男性的3倍^[3]。西医治疗RA主要以缓解症状、控制病情为

主,以非甾体抗炎药、改善病情抗风湿药、糖皮质激素类药物等为主要用药,这些药物虽能暂时缓解症状,但长期安全性并不明确。近年来,白芍总苷、雷公藤等在治疗RA中疗效确切,中医药能够通过多靶点、多途径、多环节治疗RA。因此,探究中药对RA的作用机制具有重要应用价值。

免疫炎性损伤贯穿着RA发病的始终,由于机体免疫稳态被打破,关节滑膜免疫系统被激活,大量的淋巴细胞浸润,引起了关节腔内环境稳态失衡,加速

收稿日期:2019-01-29

修回日期:2020-03-01

* 国家自然科学基金委员会面上项目(51772032):虎杖苷RGD三肽/叶酸双靶向MSNs载药系统的构建及其抑制RA免疫炎性代谢性损伤的应用基础研究;负责人:孟凤仙;北京中医药大学基本科研业务费在读研究生项目(2018-JYB-XS218):藤莓汤对II型胶原诱导性大鼠滑膜mt-p53/Tg12/NF-κB介导滑膜细胞代谢紊乱的机制研究;负责人:杨蕾。

** 通讯作者:孟凤仙,博士研究生导师,教授,主要研究方向:风湿免疫病、代谢病的中医临床及基础研究。

关节局部免疫-炎性的恶循环。本课题组前期研究发现,藤莓汤(Tengmei Decoction, TMD)能够有效缓解胶原诱导性(collagen-induced arthritis, CIA)大鼠关节肿胀情况,改善关节炎大鼠关节炎指数评分,能够抑制大鼠关节滑膜组织中炎性分子的表达,缓解模型大鼠关节滑膜局部炎性损伤。经研究发现,关节炎局部突变型P53(Mutant P53, mt-p53)既能够抑制成纤维细胞的凋亡、促进细胞增殖^[14],又能够通过激活NF- κ B途径,参与细胞外基质降解及关节软骨破坏^[15]。增殖诱导配体(a proliferation-inducing ligand, APRIL)则能够通过与其相应受体结合,直接/间接促进T、B细胞的形成、增殖,参与关节滑膜局部炎症反应及免疫调节^[17]。因此,本实验通过观察TMD对CIA模型大鼠APRIL、mt-P53、IL-2表达水平的影响,探讨其改善RA模型大鼠关节滑膜免疫炎性病理损伤的分子机制是否与调控滑膜局部mt-P53信号途径,抑制炎性细胞浸润,改善滑膜组织过度增殖有关。

1 材料与方法

1.1 动物

实验所需要的动物为:SPF级雄性SD大鼠40只,体重 210 ± 10 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)2012-0001。其中6只为正常组,剩余均为造模组,饲养环境:温度 21°C - 22°C ,相对湿度60%-70%,自由饮食,适应性喂养1周。

1.2 药物

实验所需要的药物为:藤莓汤^[6](忍冬藤30 g、蛇莓15 g、乌梢蛇10 g、没药10 g、桑枝15 g、穿山龙15 g等)浓煎成50 mL,由北京中医药大学东方医院药剂科提供;来氟米特片(10 mg,苏州长征-欣凯制药有限公司,批号:130126)。

1.3 试剂与仪器

实验所需要的试剂与仪器为:牛II型胶原(美国Chondrex,批号:130087),完全弗氏佐剂(美国Sigma公司,批号:CAS9007-81-2),Anti-P53 antibody(英国Abcam公司,批号:ab131442),IL-2 ELISA试剂盒(美国eBioscience公司,批号:87728012),Beta-Actin抗体(英国Abcam公司,批号:ab6276),GAPDH、目标上下游引物为(上海)英骏公司合成。

定量PCR仪(美国ABI公司),DYY-10C电泳仪(北京六一仪器厂),5810R台式冷冻离心机(德国

Eppendorf公司),JY-2Y1转膜仪(北京君意东方公司),UV-2000紫外分光光度计(上海尼柯公司),RT-6000型酶标仪(深圳雷杜公司)。

1.4 模型制备、分组及干预方法

根据造模方法^[5-6]取牛CII乳剂于大鼠尾根部皮内注射,0.2 ml/只,记录当天为初次免疫,9天后,每只大鼠尾根部皮内注射0.1 ml乳化剂,作为加强免疫,正常组两次分别注射0.2 ml、0.1 ml生理盐水,免疫16 d时,根据关节炎指数评分(arthritis index, AI),进行模型成功评判,具体判定标准参照文献^[7],AI评分 ≥ 4 分视为造模成功。本次实验成模率为83.33%。

采用随机数字表法选取成模大鼠24只参与后续实验研究,中药给药组每组6只分为TMD高剂量组(High dose of TMD group, HTMD)、TMD低剂量组(Low dose of TMD group, L TMD),以TMD生药量31.8、15.9 g/(kg·d⁻¹)灌胃;模型组(Model group, MG)、阳性对照组(Positive drug group, PDG)每组6只分别予去离子水10 mL/(kg·d⁻¹)、来氟米特1.87 mg/(kg⁻¹·d⁻¹)灌胃;另设正常对照组(Normal group, NG),6只,予去离子水10 mL/(kg·d⁻¹),各组连续干预12周。阳性对照药组及TMD高、低剂量组药量相当于临床常人用药剂量5.6、11.2、5.6倍。

1.5 检测指标及方法

干预结束后,10%水合氯醛麻醉后,腹主动脉取血、离心、提血清,用于ELISA检测;大鼠死亡后,将其置于冰面,取右踝关节,置于4%固定液中,以备病理学观察。取双膝关节滑膜,迅速放入冻存管中,置于液氮中保存以备Real-time PCR、Western Blot技术检测。

1.5.1 大鼠关节滑膜组织mt-P53、APRIL、IL-2基因转录水平检测

检测取大鼠膝关节滑膜组织标本,使用TR Izol试剂提取RNA后,进行一步法Real-time PCR反应。反应体积为25 μL ,反应体系含样本RNA 2 μL ,POWER SYBR GREEN 17.2 μL ,10 pmol引物各0.8 μL 。反应条件为:42 $^{\circ}\text{C}$ 灭活5 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性10 s,95 $^{\circ}\text{C}$ 退火5 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 延伸34 s,共40个循环。结束后终止循环,计算三个重复均值并记录。使用Sequence Detection System软件分析PCR过程各检测样本的Ct值。引物设计及合成情况见表1。以 β -actin作为内参基因,采用相对定量方法,根据以下公式计算各基因的起始模板浓度。起始模板相对表达量 = $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$

$$\Delta\Delta Ct = (Ct_{目的基因} - Ct_{内参基因})_{实验组} - (Ct_{目的基因} - Ct_{内参基因})_{对照组}$$

表1 引物设计及合成情况

Name		Sequence	Length (bp)
APRIL	upstream	5'-CTGCACCTGGTTCCCATTAAC-3'	155
	dowmstream	5'-AAGAGCTGGTTGCCACATCA-3'	
mt-P53	upstream	5'-TGAAACGCCGACCTATCCTTA-3'	620
	dowmstream	5'-GGCACAACACGAACCTCAAA-3'	
IL-2	upstream	5'-ACACGGGAGGGTTGAAGAGG-3'	148
	dowmstream	5'-AGAATCTGCTGGAAGAGCCG-3'	
GAPDH	upstream	5'-CCCATCTATGAGGGTTACGC-3'	150
	dowmstream	5'-TTTAATGTCACGCACGATTTC-3'	

1.5.2 大鼠关节滑膜组织中 mt-P53 蛋白表达水平检测

取大鼠膝关节滑膜组织 30 mg, 预冷 RIPA 蛋白抽提试剂, 取 1 ml RIPA 加入样品中, 混合添加蛋白抑制剂, 混匀后充分震荡以助于裂解, 待混合液体, 清透为止。置于冰块上孵育 20 min, 孵育后, 离心 4℃, 13 000 rpm 离心 20 min, 吸取上清, 测定蛋白浓度, 煮沸变性 5 min, -20℃ 保存。配制 12% 分离胶, 5% 浓缩胶, 加定量后蛋白样本, 跑电泳。湿法电转移至 PVDF 膜。将 PVDF 膜放入封闭袋中, 加入含 5% 脱脂奶粉封闭液 TBST, 摇床摇动 2 h。按照 1:1000 孵育一抗, 4℃ 过夜。次日, 用封闭液稀释孵育二抗 (1:5000), 稀释过后将其与膜共同孵育 2 h。孵育结束, 将 ECL 小心滴加到膜的蛋白上, 反应 180 s; 将胶片曝光时长控制在 10 s-5 min 范围(注: 曝光时间随不同光强度而调整), 先显影 2 min, 之后再定影, 详细流程参照^[5]。

采用凝胶图像分析系统对 Western Blot 蛋白杂交条带进行扫描, 并用 gel-pro 软件对图像进行灰度分析。相对含量的变化 = 目的蛋白灰度/actin 灰度。

1.5.3 大鼠血清中 IL-2 蛋白表达水平检测

大鼠经腹主动脉取血后, 放入 15 ml 离心管中, 常温静置 2 h, 离心 (4℃, 3000 rpm, 15 min), 采用 ELISA 技术检测大鼠血清中 IL-2 细胞因子的表达水平, 严格按照 ELISA 试剂盒说明书进行具体实验操作。

1.6 统计学方法

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, 方差齐时, 各组间两两比较采用 LSD 检验, 方差不齐时, 则采用 Tamhance's T2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表2 各组大鼠关节滑膜组织中 APRIL mRNA 转录水平 $\bar{x} \pm s$, cpm

组别	N	APRIL mRNA
正常对照组	6	91.25 ± 12.42
模型组	6	303.37 ± 12.98 ##
阳性对照组	6	122.74 ± 9.92 **
藤莓汤高剂量组	6	143.14 ± 9.32 **
藤莓汤低剂量组	6	185.90 ± 8.40 **

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.05$ 。

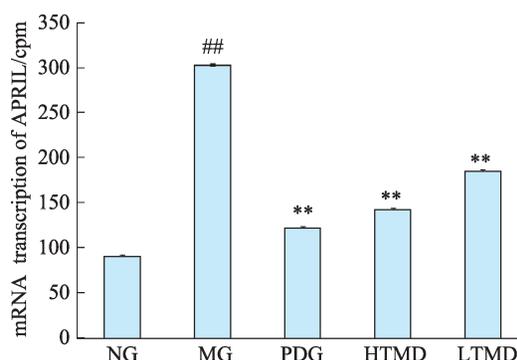


图1 各组大鼠滑膜组织中 APRIL mRNA 转录水平

NG(正常对照组)、MG(模型组)、PDG(阳性对照组)、HTMD(藤莓汤高剂量组)、LTMD(藤莓汤低剂量)下图均同。

与正常组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2 结果

2.1 各实验组大鼠关节滑膜组织中 APRIL mRNA 转录水平比较

与正常组比较, 模型组大鼠关节滑膜组织中 APRIL mRNA 转录水平上调 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 各治疗组关节滑膜组织中 APRIL mRNA 转录水平下调 ($P < 0.01$) (见表 2, 图 1)。

2.2 各组大鼠关节滑膜组织中 mt-P53 mRNA 转录及蛋白表达水平比较

与正常组比较, 模型组关节滑膜组织中 mt-P53 mRNA 及蛋白表达水平上调 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 各治疗组关节滑膜组织中 mt-P53 mRNA 及蛋白表达水平下调 ($P < 0.01$) (见表 3, 图 2-图 4)。

2.3 各组大鼠关节滑膜、血清中 IL-2 mRNA 转录水平及蛋白表达水平比较

与正常组比较, 模型组滑膜组织、血清中 IL-2 mRNA 及蛋白表达水平均上调 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与模型组比较, 各治疗组 IL-2 mRNA 及蛋白表达水平均下调 ($P < 0.01$, $P < 0.05$) (见表 4, 图 5、图 6)。

表3 各组大鼠关节滑膜组织中mt-P53mRNA转录及蛋白表达水平 $\bar{x} \pm s$

组别	N	mt-P53	
		mRNA	蛋白
正常对照组	6	91.74 ± 9.92	12.13 ± 1.09
模型组	6	326.98 ± 12.37 ^{##}	21.70 ± 2.05 ^{##}
阳性对照组	6	151.03 ± 11.02 ^{**}	14.76 ± 0.93 ^{**}
藤莓汤高剂量组	6	193.25 ± 11.62 ^{**}	16.43 ± 0.66 ^{**}
藤莓汤低剂量组	6	262.91 ± 11.88 ^{**}	18.04 ± 0.91 ^{**}

注:与正常组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.05$ 。

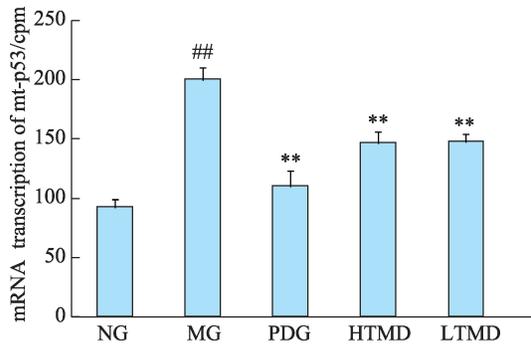


图2 各组大鼠滑膜组织中mt-p53 mRNA转录水平

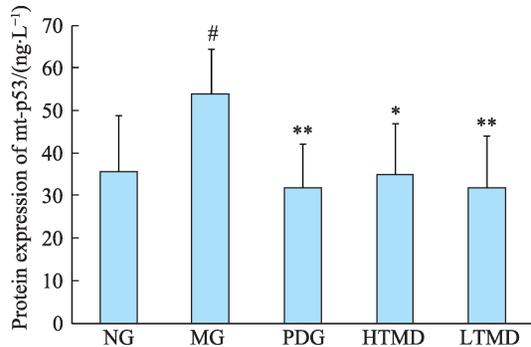


图3 各组大鼠血清中mt-p53蛋白表达水平

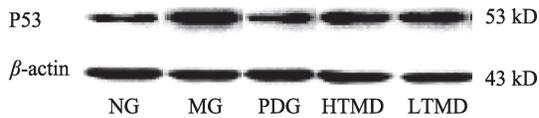


图4 各组大鼠血清中mt-p53蛋白表达水平

3 讨论

RA在中医属“痹病”范畴,传统中医认为,本病的发生发展是由于人体正气不足、卫外不固,风寒湿热等外邪乘虚而入,留置经脉关节,引起关节、筋骨疼痛、肿胀。古代医家对本病病因的认识包括内因、外因两个方面。内因主要是正气不足,正气不足是导致

表4 各组大鼠关节滑膜、血清中IL-2mRNA转录水平及蛋白表达水平 $\bar{x} \pm s$

组别	N	IL-2	
		mRNA	蛋白
正常对照组	6	92.01 ± 6.73	35.78 ± 13.24
模型组	6	199.78 ± 10.81 ^{##}	54 ± 10.63 ^{##}
阳性对照组	6	110.04 ± 12.95 ^{**}	32 ± 10.11 ^{**}
藤莓汤高剂量组	6	145.86 ± 10.20 ^{**}	44.86 ± 12.63 [*]
藤莓汤低剂量组	6	147.56 ± 6.86 ^{**}	59.8 ± 18.67 ^{**}

注:与正常组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.05$ 。

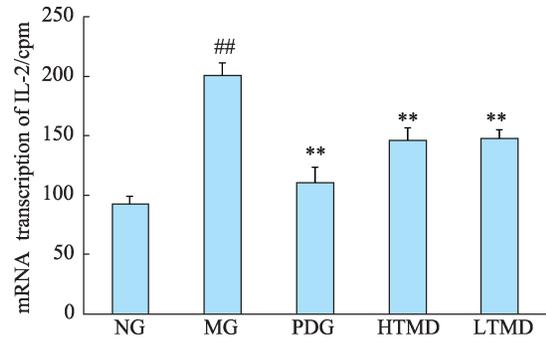


图5 各组大鼠滑膜组织中IL-2 mRNA转录水平

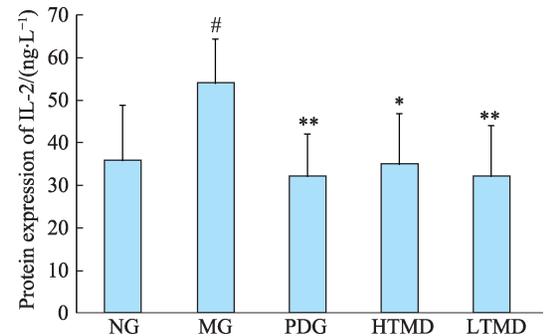


图6 各组大鼠血清中IL-2蛋白表达水平

RA发病的决定性内在作用,机体正气不足,则外来风寒湿热之邪乘虚侵袭经络、关节、肌肉、四肢等。《黄帝内经》云:“正气存内,邪不可干”“邪之所凑,其气必虚”,因此“正虚”才是本病发展的核心环节。外因包括饮酒当风,冒雨涉水,或久居湿地等,则寒湿、湿热等外邪乘虚入侵,壅滞经络、关节,导致疾病发生。故感受外邪是类风湿关节炎发生的重要环节。邪盛正虚,内外因合,发为此病。

近代医家对痰浊、瘀血互结致病颇为重视。宋代医家陈无择在《叙痹论》中提到:“荣卫不清,气血败浊,凝结而成”。清代喻昌《医门法律》曰:“风寒湿三

痹之邪,每借人胸中之痰为相援”。故痰浊留窜骨节经络,闭阻气血,凝而为痹。清代王清任在《医林改错》中也有“瘀血致痹”说。痰浊和瘀血既是机体在病邪作用下的病理产物,又是机体进一步病变的因素。本病日久,痰浊和瘀血互结,以致病情缠绵难愈,出现关节肿大变形僵硬,皮下结节,肢体麻木,病处固定而拒按,日轻夜重,局部肿胀或有硬结,口干不欲饮,舌质紫黯或有瘀斑,舌下静脉迂曲延长,脉细涩等证。

RA显著地病理变化为滑膜增生:滑膜层增多,由正常的3~5层增厚到10~20层且以衬里层细胞异常增生最为明显^[2],成纤维样滑膜细胞是其主要的增殖细胞,同时也是滑膜组织中促炎性细胞因子及基质降解酶的主要来源,其具有自主增生、无锚定生长、缺乏接触抑制和表达原癌基因等肿瘤细胞的生长特点。经研究发现,RA关节滑膜中成纤维细胞过度增殖与p53基因突变有关^[12]。p53是一种肿瘤抑制基因,在人体存在两种表达形式:野生型(wild type p53, wt-p53)与mt-p53。wt-p53可以急速机体受损的DNA或异常增殖的癌基因细胞凋亡。mt-p53蛋白是wt-p53基因发生突变后表达的蛋白,因分子构象发生变化而半衰期延长,mt-p53不仅失去了促细胞凋亡等能力,还可干扰wt-p53基因的功能^[13]。而在RA患者关节滑膜中发现wt-p53功能丧失。在AA大鼠模型中,mt-P53通过调控细胞周期,影响FLS的凋亡^[14]。mt-P53通过NF-KB途径,介导MMP-9表达,参与细胞外基质降解及关节软骨破坏^[15]。APRIL是肿瘤坏死因子配体家族成员,主要由单核细胞、巨噬细胞、B细胞、T细胞产生。APRIL通过与相应受体结合,促进肿瘤的形成、增殖及存活,同时参与机体的炎症反应及免疫调节等^[16]。在RA患者的血清中出现高表达的APRIL。APRIL刺激RA患者通过FLS产生白细胞介素-1 β (Lnterleukin1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor, TNF-

α)、以及IL-6,加速局部炎症反应。同时异常增殖的FLS能够分泌APRIL,进一步通过刺激信号加速T细胞活化,形成正反馈^[17]。此外,RA患者滑膜中的FLS产生APRIL,并与其受体结合,通过自分泌和旁分泌的形式,促进FLS增殖,通过细胞网络的相互作用,加速T细胞活化,形成正反馈^[18]。IL-2是一种活化并维持T细胞分化和增殖的生长因子,参与炎症和自身免疫性反应^[19]。研究发现,RA患者血清中IL-2、TNF- α 及白细胞介素-13(Lnterleukin13, IL-13)均明显升高,且与RA疾病活动度密切相关^[20]。中药能够降低CIA模型大鼠血清中IL-2、TNF- α 及IL-1表达水平,改善大鼠关节肿胀度^[21]。

本课题组前期研究发现,TMD能够改善通过激活PPAR γ /NF-KB途径,抑制IL-6、TNF- α 等炎症因子表达^[5],还能够激活TRAF3,抑制NF-KB入核,改善CIA大鼠免疫炎性损伤^[6]。因此,TMD改善CIA模型大鼠关节炎反应是明确的,结合当前研究热点,我们设计了本次实验,目的是探究TMD是否能够抑制关节滑膜过度增殖,减少关节局部滑膜免疫炎性细胞过度聚集,进而改善关节炎大鼠关节局部免疫炎性反应?本研究发现,CIA模型大鼠滑膜组织中mt-P53、APRIL、IL-2mRNA转录水平及mt-P53、IL-2mRNA蛋白表达水平明显高于正常组,提示mt-P53、APRIL参与关节滑膜免疫炎性损伤,与相关文献报道一致。经TMD干预后,各剂量组APRIL mRNA转录水平,IL-2、mt-P53mRNA转录水平及蛋白表达水平显著下调,表明TMD能够抑制mt-P53、IL-2、APRIL表达水平。因此,我们认为TMD能够降低大鼠关节滑膜、血清中mt-P53、IL-2、APRIL表达水平,改善关节炎模型大鼠关节滑膜免疫炎性损伤,可能与TMD抑制关节滑膜过度增殖,降低炎症因子的表达有关。相关研究将进一步进行。

参考文献

- 李凡,张升校,李媛,等. CD4⁺T细胞亚群在类风湿关节炎发病机制中的研究进展. 中国药物与临床, 2018, 18(10): 1721-1723.
- 刘湘源. 图表式临床风湿病学. 北京: 中国医药科技出版社, 2013. 7.
- 殷健. 中国汉族人群类风湿关节炎与强直性脊柱炎的分子流行病学研究. 上海: 第二军医大学, 2014.
- 卜祥伟,张红红,张建萍,等. 藤莓汤联合传统改善病情抗风湿药治疗中/高活动度类风湿关节炎患者的疗效观察. 中国中西医结合杂志, 2017, 37(11): 1320-1324.
- 王洁,王亚南,陆妍,等. 藤莓汤对胶原诱导性关节炎大鼠滑膜PPAR γ /NF- κ B信号途径的影响. 中国中西医结合杂志, 2017, 37(4): 458-463.
- 卜祥伟,张红红,张建萍,等. 藤莓汤对胶原诱导性关节炎大鼠滑膜TRAF3/NF- κ B信号途径的影响. 中国中西医结合杂志, 2018, 38(12): 1467-1473.
- 陆妍,王亚南,刘慧,等. 中药藤莓汤对II型胶原诱导性大鼠关节炎性病理损伤的影响. 中国比较医学杂志, 2015, 25(4): 48-57.
- Lou L X, Zhou J W, Liu Y J, et al. Chlorogenic acid induces apoptosis

- to inhibit inflammatory proliferation of IL-6-induced fibroblast-like synoviocytes through modulating the activation of JAK/STAT and NF- κ B signaling pathways. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2016, 11(5): 2054-2060.
- 9 李明, 赫军, 马秉智, 等. 中药蛇莓化学成分和抗肿瘤药理作用的研究进展. *中国医院用药评价与分析*, 2017, 17(5): 595-596, 600.
 - 10 方芳, 顾媛媛, 郭玉岩, 等. 穿山龙药理及临床研究. *长春中医药大学学报*, 2018, 34(3): 450-452.
 - 11 胡丹优. 乳香—没药通过抑制TRPV1缓解小鼠神经病理性疼痛的研究. 南京:南京中医药大学, 2017.
 - 12 尤欣, 王迁, 张婷, 等. p53治疗白介素-1 β 诱导兔膝关节炎的实验研究. *中日友好医院学报*, 2012, 26(3): 164-167.
 - 13 张思雨. 类风湿关节炎滑膜成纤维细胞粘着斑激酶与p53对细胞增殖的研究. 太原:山西医科大学, 2016.
 - 14 庞琳娜, 徐连那, 董红宇, 等. P53基因在类风湿关节炎骨代谢中的作用. *中国骨质疏松杂志*, 2014, 20(3): 327-330, 337.
 - 15 李牧原. P53在滑膜炎症中的作用. 长沙:中南大学, 2014.
 - 16 孙天水. B细胞活化因子/增殖诱导配体系统与系统性红斑狼疮的研究进展. *中国全科医学*, 2017, 20(14): 1769-1773.
 - 17 常艳, 魏伟. BLyS和APRIL调节T细胞反应在类风湿关节炎中的研究进展. *药科学报*, 2013, 48(7): 979-985.
 - 18 秦琼. BLyS/APRIL及其受体介导佐剂性关节炎大鼠肠系膜淋巴结的病理机制及TACI-Ig治疗作用的研究. 合肥:安徽医科大学, 2012.
 - 19 张升校. 小剂量IL-2选择性促进Treg细胞生长诱导难治性类风湿关节炎患者自身免疫耐受. 太原:山西医科大学, 2018.
 - 20 孟岩, 李鸣远, 张新玉, 等. 类风湿关节炎患者血清TNF- α 、IL-2及IL-13变化的价值研究. *海南医学院学报*, 2018, 24(2): 188-190, 194.
 - 21 吴丹, 李洁芳, 肖玉坤, 等. 补肾祛寒治尪汤对类风湿关节炎模型大鼠血清IL-1、IL-2及TNF- α 水平的影响. *中国老年学杂志*, 2018, 38(7): 1725-1727.

Mechanisms of Fujiberry Decoction in Improving Synovial Immune Inflammatory Injury in CIA Model Rats

Yang Lei¹, Zhang Zhengju¹, Xiang Ruiyang¹, Gu Wen², Zhang Honghong³, He Yuxi¹,
Wang Dali¹, Liu Hui¹, Ma Weiguo¹, Meng Fengxian¹

(1. Department of Rheumatology, Oriental Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China; 2. Department of Rheumatology, Beijing 100010, China; 3. Department of Rheumatology, Shunyi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Beijing 101300, China)

Abstract: Objective To observe the effects of Tengmei Decoction (TMD) on mutant P53 (mt-p53), proliferation-inducing ligand (APRIL) and interleukin-2 (IL-2) expression in synovium of collagen-induced arthritis (CIA) rats, and to explore its inhibitory effect on rheumatoid arthritis (RA) synovitis immunity. Molecular mechanism of sexual injury. Methods CIA rat model was established. The rats were randomly divided into model group, positive control group, high dose TMD group and low dose TMD group. Normal control group was set up with 6 rats in each group. The normal control group and model group were given deionized water 10 mL/(kg-1 d-1) by gastric lavage, the positive drug group was given leflunomide 1.87 mg/(kg-1 d-1) by gastric lavage, and the TMD high and low dose groups were given TMD 31.8 and 15.9 g/(kg-1 d-1) by gastric lavage respectively for 12 weeks. After the intervention, the expression of mt-P53, APRIL, IL-2 protein and mRNA were detected. Results Compared with the normal group, the transcriptional levels of APRIL, mt-P53 and IL-2 were up-regulated in the model group ($P < 0.01$), and the expressions of mt-P53 and IL-2 were up-regulated ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Compared with model group, APRIL transcription level, mt-P53, IL-2 transcription level and protein expression level in each treatment group were down-regulated ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Conclusion TMD can reduce the expression of mt-P53, IL-2 and APRIL in synovium and serum of rats, and improve the immune inflammatory injury of synovium in arthritis model rats, which may be related to TMD inhibiting synovium proliferation and reducing the expression of inflammatory factors.

Keywords: TMD, collagen induced arthritis, mt-P53, proliferation induced ligand, interleukin 2, immunoinflammatory pathological injury

(责任编辑: 闫 群, 责任译审: 钱灵姝)