

- 2021, 57(8): 33-37.
- [6] 姜凤丽, 王晓滨, 宗 婧, 等. PI3K-Akt/mTOR 信号通路
对卵巢早衰相关性研究进展[J]. 黑龙江科学, 2019, 10
(2): 50-51.
- [7] 谈 勇. 中医妇科学[M]. 4 版. 北京: 中国中医药出版
社, 2018: 282.
- [8] 曾 倩, 黄晨曦, 李宛静, 等. 多囊卵巢综合征患者中医
证型分布特征及与内分泌情况的相关性分析[J]. 辽宁中医
杂志, 2021, 48(2): 126-130.
- [9] 徐云霞, 徐经凤, 李伟莉, 等. 徐志华运用孕育丹糖浆治
疗不孕症经验[J]. 中医药临床杂志, 2017, 29(11):
1829-1830.
- [10] 胡颜霞, 张 展, 贾莉婷. 来曲唑诱导多囊卵巢综合征大
鼠模型的研究[J]. 中国妇幼保健, 2006, 21(7):
957-959.
- [11] 谢 幸. 妇产科学[M]. 9 版. 北京: 人民卫生出版社,
2018: 348.
- [12] García-Escudero R, Segrelles C, Dueñas M, et al.
Overexpression of PIK3CA in head and neck squamous cell
carcinoma is associated with poor outcome and activation of the
YAP pathway[J]. *Oral Oncol*, 2018, 79: 55-63.
- [13] Shen M, Jiang Y, Guan Z Q, et al. Protective mechanism of
FSH against oxidative damage in mouse ovarian granulosa cells
by repressing autophagy [J]. *Autophagy*, 2017, 13(8):
1364-1385.
- [14] Andrade G M, da Silveira J C, Perrini C, et al. The role of the
PI3K-Akt signaling pathway in the developmental competence of
bovine oocytes[J]. *PLoS One*, 2017, 12(9): e0185045.
- [15] 高二梦, 千日成. 人卵丘细胞与壁颗粒细胞的差异性研究
进展[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2021, 40(5):
386-390; 441.
- [16] 苗明三, 彭孟凡, 闫晓丽. 菟丝子总黄酮对多囊卵巢综合
征大鼠模型的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25
(5): 143-150.
- [17] 赵 帅, 陈冬梅, 虎 娜, 等. β -谷甾醇通过 PI3K/Akt 通
路影响颗粒细胞增殖及凋亡[J]. 宁夏医科大学学报,
2021, 43(4): 339-344.
- [18] 徐丽珍, 张松英. 来曲唑的药理学及其在妇产科中的应用
[J]. 国外医学(计划生育/生殖健康分册), 2006, 25
(5): 266-269.
- [19] Yu Q, Hu S F, Wang Y T, et al. Letrozole versus laparoscopic
ovarian drilling in clomiphene citrate-resistant women with
polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis
of randomized controlled trials [J]. *Reprod Biol Endocrinol*,
2019, 17(1): 17.
- [20] 郭敏敏, 徐云霞. 孕育丹糖浆治疗肾阳虚型多囊卵巢综合
征不孕症临床观察[J]. 中医临床杂志, 2022, 34(1):
176-179.

双氢青蒿素与火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠的保护作用

何沛霖, 涂如霞, 梅小利, 张 莉, 黄崇刚, 占敏霞, 陈 慧*
(重庆市中药研究院药理毒理研究所, 重庆 400065)

摘要: **目的** 研究双氢青蒿素与火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠的保护作用及其机制。**方法** 大鼠随机分为正
常组、模型组、双氢青蒿素+火把花根配伍组(0.05 g/kg+3.75 g/kg)、双氢青蒿素组(0.1 g/kg)、火把花根组
(7.5 g/kg), 采用完全弗氏佐剂诱导大鼠关节炎模型。观察双氢青蒿素与火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠足肿
胀、踝关节组织病理变化, 酶联免疫吸附(ELISA)检测大鼠血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、 γ 干扰素(IFN- γ)、白细
胞介素(IL-1 β 、IL-6)、血管内皮生长因子(VEGF)及基质金属蛋白酶1(MMP-1)水平, 蛋白质免疫印迹
(Western blot)检测足跖关节滑膜组织 VEGFA、MMP-1 及巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)蛋白表达情况, RT-qPCR 检
测足跖关节滑膜组织 VEGF、MMP-1、MIF mRNA 表达。**结果** 与正常组比较, 模型组大鼠左后足、右后足关节肿胀
率和关节指数, 血清炎症细胞因子水平, 关节滑膜组织 VEGF、MMP-1、MIF mRNA 及蛋白表达升高($P<0.01$);与模型
组比较, 配伍组大鼠给药第 21 天左后足、右后足关节肿胀率和关节指数, 血清 IFN- γ 、VEGF、MMP-1 水平, 关节滑膜组织
VEGF、MMP-1、MIF mRNA 及蛋白表达降低($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 双氢青蒿素与火把花根配伍对佐剂性关节炎模
型大鼠具有治疗作用, 其机制可能是通过抑制 VEGF、MMP-1、MIF 表达, 降低炎症因子水平而发挥作用。

关键词: 双氢青蒿素; 火把花根; 配伍; 佐剂性关节炎; 炎症因子

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)07-2290-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.07.040

收稿日期: 2021-12-06

基金项目: 科技部“重大新药创制”科技重大专项(2017ZX09101002-002-004); 重庆市基本科研业务费项目(cstc2019jxjl-jbky10011)

作者简介: 何沛霖, 助理研究员。Tel: (023) 89029135, E-mail: 291790630@qq.com

*通信作者: 陈 慧, 副主任药师。Tel: (023) 89029135, E-mail: chenhuai-520@126.com

青蒿素及其衍生物是目前抗疟药物中作用最快和疗效最高的一线抗疟药物^[1-2]。虽然目前对青蒿素药理作用的研究有了重要进展,但其确切的机制仍有待阐明^[3-6]。青蒿素除了具有抗寄生虫的作用外,还具有抗炎、抗氧化、抗病毒等药理作用。双氢青蒿素是水溶性好、吸收快、毒性较小及抗疟作用明显的具有良好开发前景的药物^[7-9]。火把花根片是由昆明山海棠去皮和根芯后而研制成的中成药,具有抗炎、镇痛及抑制病理性免疫反应作用,已被广泛用于自身免疫性疾病的治疗^[10-12]。

类风湿性关节炎是一种病因不明以炎性滑膜炎为主的慢性全身性疾病,以慢性、对称性、多滑膜关节炎和关节外病变为主要临床表现^[13],但其具体机制仍不明确。前期研究显示双氢青蒿素与火把花根配伍的免疫抑制作用强于单独用药,且毒性更低,但其作用机制尚不明确^[14-15],本文拟研究双氢青蒿素与火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠的保护作用及其可能的作用机制,以期为两者联合用药在临床治疗中的应用提供理论和实验依据。

1 材料

1.1 药物 双氢青蒿素(片),昆药集团重庆武陵山制药有限公司,批号 C00120181113,含量 100.4%,配制时滴加 2~3 滴吐温-80 碾磨后再用 0.5% CMC-Na 混匀稀释至实验所需质量浓度;火把花根浸膏,重庆市中药研究院中药化学研究所,批号 GST190501,每 1 g 浸膏含生药量 15.67 g,使用时加入 0.5% CMC-Na 碾磨混匀至实验所需质量浓度。

1.2 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠,由辽宁长生生物技术股份有限公司提供,实验动物生产许可证号 SCXK(辽)2015-0001,动物质量合格证号 211002300046310、211002300048140。检疫及适应性饲养合格后用于实验,大鼠饲养环境为温度(22±2)℃,相对湿度 50%~70%,自由饮食和饮水,所有实验动物的使用和喂养均严格遵照动物保护协会所规定的有关条款,该动物实验经重庆市中药研究院实验动物福利伦理审查委员会审查通过。

1.3 试剂 弗氏完全佐剂(FCA)、戊巴比妥钠,美国 Sigma 公司,批号 SLBK7817V、P1302716;TNF-α、IFN-γ、IL-1β、IL-6、VEGF 试剂盒,深圳欣博盛生物科技有限公司,批号 R190929-102a、R190929-101a、R190929-007a、R190929-003a、R190929-103a;MMP-1 试剂盒,武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,批号 3W33F4DAXU;VEGFA、MMP-1、MIF 抗体,英国 Abcam 公司,批号 GR3200812-2、GR242901-33、GR270048-26;兔 SP 试剂盒、

DAB 显色试剂盒,北京中杉金桥生物技术有限公司,批号 K216713D、K217721A;RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒、实时定量 PCR 试剂盒,日本 TaKaRa 公司,批号 AI12244A、AJ12464A、AHF1910A。

1.4 仪器 R2000-3 型电子计重计数天平,奥豪斯仪器(常州)有限公司;BS224S 型电子天平,北京赛多利斯仪器系统有限公司;PV-200 型足跖容积测量仪,成都泰盟科技有限公司;ST-360 型酶标仪,上海科华试验系统有限公司;电泳仪,美国 Bio-Rad 公司;Tanon-5200 型凝胶成像系统,上海天能科技有限公司;图像分析系统,美国 Labworks 公司;实时荧光定量 PCR 仪,美国 ABI 公司;高级智能脱水机、石蜡包埋机、轮转切片机,德国徕卡公司;光学显微镜,日本奥林巴斯公司;Mias-2000 型病理图像处理系统,四川大学图像图形研究所。

2 方法

2.1 模型建立及给药 取 10 只雄性 SD 大鼠设为正常组,不作处理;其余大鼠于右后足跖皮内注射 FCA 0.1 mL/只^[16-17],注射后第 14 天,将造模成功的大鼠随机分为 4 组,即模型组、双氢青蒿素+火把花根配伍组(0.05 g/kg+3.75 g/kg)、双氢青蒿素(0.1 g/kg)组、火把花根(7.5 g/kg)组,每组 10 只。给药组分别灌胃给予相应药物,正常组和模型组灌胃给予等体积 0.5% CMC-Na 溶液,容量 1 mL/100 g,每天 1 次,连续给药 21 d。

2.2 关节肿胀度检测

2.2.1 测量足跖容积 造模前、给药前和给药第 7、14、21 天分别测量大鼠左后足(继发病变侧)及右后足的容积 1 次,测量范围为踝关节及以下,计算关节肿胀率。

2.2.2 关节指数 给药前和给药第 7、14、21 天根据大鼠前后肢踝关节、趾关节红肿程度及受影响关节指数进行评分。0 分,正常,无红肿;1 分,1 个关节红肿;2 分,2 个及 2 个以上关节红肿;3 分,踝关节以下足掌严重红肿;4 分,包括踝关节在内的全部足爪红肿且不能负重。四肢分别进行评分,累计总和即为关节指数。

2.3 ELISA 法检测炎症细胞因子水平 末次给药后 1 h,大鼠麻醉后腹主动脉采血,离心得血清,用酶联免疫吸附法检测 TNF-α、IFN-γ、IL-1β、IL-6、VEGF、MMP-1 水平。

2.4 HE 染色观察关节滑膜组织病理学改变 将大鼠的右足跖关节固定在 10% 甲醛中 16 h 以上,10% EDTA 脱钙,脱水,浸蜡,包埋,切片,HE 染色。镜下观察关节滑膜增生及炎症程度,并进行半定量评分,评分标准见表 1。

表 1 组织半定量评分标准

项目	评分/分
关节组织结构正常	0
组织小灶性水肿伴少量炎细胞浸润	1
组织灶性区域坏死、水肿伴少量炎细胞浸润和纤维组织增生	2
组织局部区域坏死、水肿伴较多炎细胞浸润和纤维组织增生	3
组织大片区域坏死、水肿伴多量炎细胞浸润和纤维组织增生	4

2.5 Western blot 检测足跖关节滑膜组织 VEGF、MMP-1 及 MIF 蛋白表达 收集各组大鼠右足跖关节滑膜组织, 提取蛋白, BCA 检测总蛋白浓度, SDS-PAGE 电泳, 转膜, 封闭, 一抗 (VEGF 及 MMP-1, 1:1 000) 4 ℃ 孵育过夜, 二抗 (1:1 000) 室温孵育 2 h, TBST 清洗, 曝光显影, 采用 Tanon-5200 成像系统检测条带灰度值, 计算目的蛋白与内参蛋白的灰度比值。

2.6 RT-qPCR 检测 VEGF、MMP-1、MIF mRNA 表达 提取各组大鼠右足跖关节滑膜组织 RNA, 并逆转录为 cDNA。按照 SYBR Green 荧光染料法进行定量 PCR 检测, 引物由苏州金唯智生物科技有限公司合成, 引物序列见表 2。PCR 反应条件为 95 ℃ 30 s; 95 ℃ 5 s, 60 ℃ 31 s, 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行半定量分析。

2.7 统计学分析 通过 SPSS 13.0 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

表 3 双氢青蒿素-火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠左后足关节肿胀率的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	造模前足跖 容积/mL	肿胀率/%			
			给药前	给药第 7 天	给药第 14 天	给药第 21 天
正常组	—	2.43±0.35	11.0±6.2	9.7±7.7	11.7±7.3	10.8±6.1
模型组	—	2.43±0.40	20.1±13.5	27.4±22.2**	31.4±24.2**	32.0±20.5**
配伍组	0.05+3.75	2.53±0.40	19.2±11.8	18.5±13.8	19.2±13.4 [#]	20.2±9.7 [#]
双氢青蒿素组	0.1	2.50±0.32	17.2±12.9	23.7±14.3	25.7±17.4	23.6±12.0
火把花根组	7.5	2.38±0.25	21.0±14.9	18.6±10.6	25.3±14.2	26.3±15.6

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

表 4 双氢青蒿素-火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠右后足关节肿胀率的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	造模前足跖 容积/mL	肿胀率/%			
			给药前	给药第 7 天	给药第 14 天	给药第 21 天
正常组	—	2.57±0.70	6.98±8.51	9.13±8.71	12.53±6.82	12.10±7.20
模型组	—	2.43±0.73	57.00±16.95**	56.29±26.72**	59.23±26.85**	60.54±23.71**
配伍组	0.05+3.75	2.45±0.92	55.71±11.51	42.87±11.27	41.66±13.27 [#]	44.35±11.14 [#]
双氢青蒿素组	0.1	2.55±0.86	57.52±18.31	52.41±19.38	43.59±15.39	45.90±10.39
火把花根组	7.5	2.55±0.96	59.22±16.84	52.14±15.29	55.97±11.13	59.77±23.03

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

3.2 双氢青蒿素-火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠关节指数的影响 与正常组比较, 模型组大鼠关节指数升

表 2 引物序列	
基因	序列(5'→3')
GAPDH 正向	GGCAAGTTCAACGGCAG
GAPDH 反向	CGCCAGTAGACTCCACGACAT
VEGF 正向	TATCTTCAAGCCGCTCTGTGTG
VEGF 反向	GGAAGCTCATCTCTCTATGTGC
MMP-1 正向	TATGCCATTACTCACAACAATCCTC
MMP-1 反向	CACAATATCACCTTCTCTCTCAAA
MIF 正向	CCCAGAACCAGCACTACAGCA
MIF 反向	GTTGGCTGCGTTCATGTCTGA

3 结果

3.1 双氢青蒿素-火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠足跖容积的影响 与正常组比较, 模型组大鼠左后足、右后足关节肿胀率均升高 ($P<0.01$), 说明造模成功; 与模型组比较, 给药第 14、21 天, 配伍组大鼠左后足、右后足关节肿胀率降低 ($P<0.05$), 提示双氢青蒿素与火把花根配伍对弗氏完全佐剂所致的关节炎模型有明显抑制作用, 见表 3~4。

表 5 双氢青蒿素-火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠关节指数的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	关节指数/分			
		给药前	给药第 7 天	给药第 14 天	给药第 21 天
正常组	—	0	0	0	0
模型组	—	5.14±1.44**	5.17±0.92**	5.04±0.95**	5.09±0.75**
配伍组	0.05+3.75	5.13±1.33	5.03±1.38	4.33±0.50	4.21±0.56 [#]
双氢青蒿素组	0.1	5.26±0.50	5.21±0.79	4.72±0.69	4.44±0.68
火把花根组	7.5	5.34±1.30	4.90±1.48	4.43±0.65	4.51±0.58

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

3.3 双氢青蒿素-火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠血清中炎症细胞因子水平的影响 与正常组比较, 模型组大鼠血清中炎症细胞因子水平升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 配伍组大鼠血清 IFN- γ 、VEGF 及 MMP-1 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 双氢青蒿素组和火把花根组 VEGF 及 MMP-1 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 见表 6。

3.4 双氢青蒿素-火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠

关节滑膜组织病理改变的影响 如图 1 所示, 模型组大鼠关节囊结缔组织坏死、水肿伴炎细胞浸润和纤维组织增生; 与模型组比较, 配伍组大鼠踝关节囊结缔组织坏死、炎细胞浸润程度明显减轻, 纤维组织增生降低。组织半定量评分结果如表 7 所示, 与模型组比较, 配伍组大鼠组织评分结果降低 ($P<0.05$)。提示, 双氢青蒿素-火把花根配伍对模型大鼠造模处软组织损伤有明显改善和修复作用。

表6 双氢青蒿素-火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠炎症细胞因子的影响 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	TNF- α	IL-1 β	IL-6	IFN- γ	VEGF	MMP-1
正常组	—	60.4 $\pm$ 15.1	44.7 $\pm$ 21.4	57.7 $\pm$ 17.7	83.8 $\pm$ 15.4	32.7 $\pm$ 10.1	4.88 $\pm$ 1.10
模型组	—	243 $\pm$ 49**	264 $\pm$ 107**	142 $\pm$ 17**	151 $\pm$ 14**	85.1 $\pm$ 8.8**	9.41 $\pm$ 2.32**
配伍组	0.05 $\pm$ 3.75	211 $\pm$ 44	182 $\pm$ 63	134 $\pm$ 10	138 $\pm$ 14 [#]	71.3 $\pm$ 11.2 [#]	6.42 $\pm$ 1.21 ^{##}
双氢青蒿素组	0.1	220 $\pm$ 47	251 $\pm$ 90	130 $\pm$ 16	140 $\pm$ 19	71.9 $\pm$ 14.0 [#]	6.08 $\pm$ 1.19 ^{##}
火把花根组	7.5	277 $\pm$ 55	291 $\pm$ 97	138 $\pm$ 20	153 $\pm$ 8	71.5 $\pm$ 11.0 [#]	6.17 $\pm$ 1.66 ^{##}

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

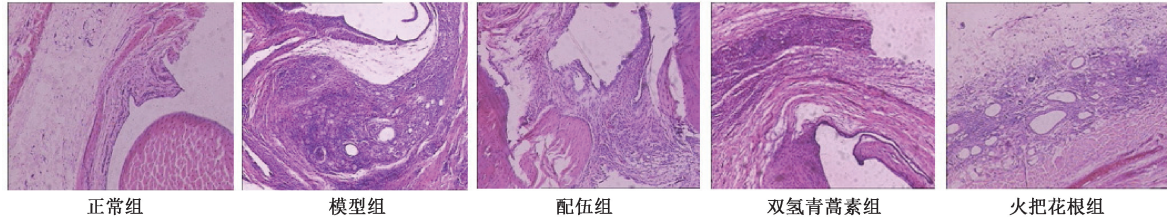
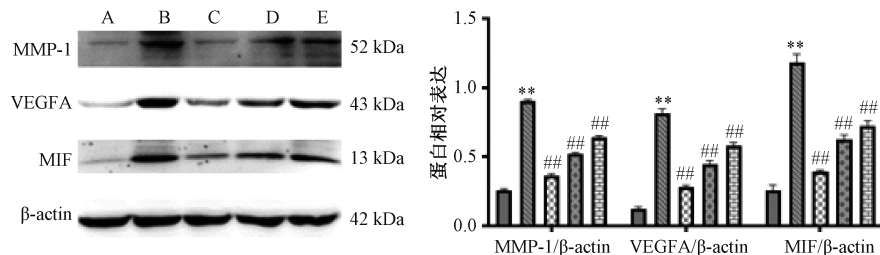


图1 双氢青蒿素-火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠关节滑膜组织病理学改变的影响 (HE, $\times 40$)

表7 双氢青蒿素-火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠组织半定量评分的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	半定量评分/分
正常组	—	0
模型组	—	3.91 $\pm$ 0.75**
配伍组	0.05 $\pm$ 3.75	3.04 $\pm$ 1.14 [#]
双氢青蒿素组	0.1	3.11 $\pm$ 0.76 [#]
火把花根组	7.5	3.57 $\pm$ 0.83

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



注:A~E分别为正常组、模型组、配伍组、双氢青蒿素组、火把花根组。与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.01$ 。

图2 双氢青蒿素-火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠关节滑膜组织 VEGFA、MMP-1 及 MIF 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

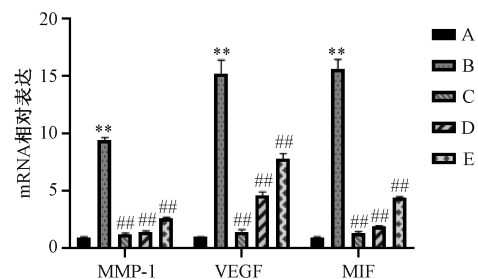
VEGF、MMP-1 及 MIF mRNA 表达升高 ($P<0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠关节滑膜组织 VEGF、MMP-1 及 MIF mRNA 表达降低 ($P<0.01$),见图3。

4 讨论

类风湿性关节炎是一种以炎症细胞浸润和滑膜组织增生、肥厚以及骨损伤为特征的慢性全身性自身免疫疾病。佐剂性关节炎模型是一种与人类类风湿性关节炎病理极为相似的一种免疫炎症模型,作为研究人类风湿关节炎常用的实验模型。本研究显示,模型组大鼠足关节肿胀率、关节指数升高,造模处踝关节有明显的病理变化,且血清中炎症因子水平升高,表明佐剂性关节炎模型制备成功;双氢青蒿素-火把花根配伍降低佐剂性关节炎模型大鼠关节肿胀率、关节指数,明显改善和修复造模处软组织损伤,且配伍组修复效应强于单独用药组,提示配伍用药具有增效的作用。

3.5 双氢青蒿素-火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠关节滑膜组织 VEGFA、MMP-1 及 MIF 蛋白表达的影响 如图2所示,与正常组比较,模型组大鼠关节滑膜组织 VEGFA、MMP-1 及 MIF 蛋白表达升高 ($P<0.01$);与模型组比较,各给药组 VEGFA、MMP-1 及 MIF 蛋白表达降低 ($P<0.01$)。

3.6 双氢青蒿素-火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠关节滑膜组织 VEGF、MMP-1 及 MIF mRNA 表达的影响 如图3所示,与正常组比较,模型组大鼠关节滑膜组织



注:A~E分别为正常组、模型组、配伍组、双氢青蒿素组、火把花根组。与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.01$ 。

图3 双氢青蒿素-火把花根配伍对佐剂性关节炎模型大鼠关节滑膜组织 VEGF、MMP-1 及 MIF mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

在类风湿性关节炎的发病过程中,促炎性与抑炎性细胞因子失去平衡会导致滑膜炎。IFN- γ 通过活化巨噬细胞从而介导局部炎症的免疫应答,在炎症反应中起到重要调节作用^[18]。TNF- α 通过诱导内皮细胞表达黏附分子,以促进血管内皮和白细胞黏附渗透,导致局部炎症引起组织损伤,并同时促进成纤维细胞和滑膜巨噬细胞增殖,从而直接导致软骨和骨损伤^[19]。IL-1 β 与机体炎症程度呈正相关,能诱导 IL-6 的产生,IL-6 参与机体的免疫反应,诱导抗体的合成,从而引起免疫功能紊乱^[20-21]。本研究结果显示,佐剂性关节炎模型大鼠炎症因子水平升高,经配伍组治疗,大鼠血清炎症因子水平降低,表明双氢青蒿素-火把花根配伍能抑制佐剂性关节炎模型的炎症反应。

血管生成在类风湿性关节炎的发病过程中会加剧软骨和骨的破坏,VEGF 是促进类风湿性关节炎新血管生成和分化的主要因子^[22]。MMPs 是细胞外基质 (ECM) 成分降解过程中必不可少的酶,可促进血管新生^[23]。MIF 通过活化巨噬细胞并抑制其移动,增强巨噬细胞在炎症局部的聚集和浸润,从而极大地促进炎症和免疫反应^[24]。本研究结果显示,双氢青蒿素-火把花根配伍抑制大鼠关节滑膜组织 VEGF、MMP-1 及 MIF 表达,降低血清中炎症因子水平,提示双氢青蒿素-火把花根配伍改善大鼠类风湿性关节炎炎症反应与抑制 VEGF、MMP-1 及 MIF 表达有关。

综上所述,双氢青蒿素-火把花根配伍对大鼠佐剂性关节炎具有治疗作用,其机制可能是通过抑制 VEGF、MMP-1 及 MIF 的表达,调节相关炎症因子产生和分泌,进而抑制炎症细胞的浸润、滑膜组织的增生及新血管的生成,减轻软骨和骨破坏,从而发挥治疗类风湿性关节炎的作用,本研究将为双氢青蒿素-火把花根治疗类风湿性关节炎提供实验基础,为临床应用中两者联合用药提供理论依据,具有潜在的应用前景。

参考文献:

- [1] Miller L H, Su X. Artemisinin: discovery from the Chinese herbal garden[J]. *Cell*, 2011, 146(6): 855-858.
- [2] Navaratnam V, Mansor S M, Sit N W, et al. Pharmacokinetics of artemisinin-type compounds[J]. *Clin Pharmacokinet*, 2000, 39(4): 255-270.
- [3] Ding X C, Beck H P, Raso G. *Plasmodium* sensitivity to artemisinins: magic bullets hit elusive targets [J]. *Trends Parasitol*, 2011, 27(2): 73-81.
- [4] Robert A, Benoit-Vical F C, Claparols C, et al. The antimalarial drug artemisinin alkylates heme in infected mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102 (38): 13676-13680.
- [5] Vennerstrom J L, Arbe-Barnes S, Brun R, et al. Identification of an antimalarial synthetic trioxolane drug development candidate[J]. *Nature*, 2004, 430(7002): 900-904.
- [6] Wang J G, Zhang C J, Chia W N. et al. Haem-activated promiscuous targeting of artemisinin in *Plasmodium falciparum* [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 10111.
- [7] Shi C C, Li H P, Yang Y F, et al. Anti-inflammatory and immunoregulatory functions of artemisinin and its derivatives[J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015: 435713.
- [8] Ho W E, Peh H Y, Chan T K, et al. Artemisinins: pharmacological actions beyond anti-malarial [J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 142(1): 126-139.
- [9] Efferth T, Kaina B. Toxicity of the antimalarial artemisinin and its dervatives[J]. *Crit Rev Toxicol*, 2010, 40(5): 405-421.
- [10] 韩进庭. 昆明山海棠药理作用及临床应用研究进展[J]. 现代医药卫生, 2009, 25(16): 2459-2460.
- [11] 邓文龙, 刘家玉, 聂仁吉. 昆明山海棠的药理作用研究—II、对免疫功能的影响[J]. 中草药, 1981, 12(10): 26-30.
- [12] 吴 瑕, 刘亚欧, 王 强, 等. 祛风除湿类中药质量的药理学评价初步研究[J]. 中药药理与临床, 2011, 27(6): 86-88.
- [13] Firestein G S. Evolving concepts of rheumatoid arthritis [J]. *Nature*, 2003, 423(6937): 356-361.
- [14] 占敏霞, 黄崇刚, 杜 伟, 等. 双氢双氢青蒿素与火把花配伍的免疫抑制作用及机制研究[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(6): 92-96.
- [15] 占敏霞, 杜 伟, 李恒华, 等. 双氢青蒿素与火把花配伍对迟发型超敏反应模型小鼠 p-p38 MAPK 及 ICAM-1 表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(22): 5561-5566.
- [16] 陈东辉, 徐嘉红, 邓文龙. 风湿平胶囊对佐剂性关节炎的药效研究[J]. 中药药理与临床, 2010, 26(2): 60-62.
- [17] 魏 伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010, 7(1): 749-750; 755.
- [18] Wen J T, Liu J, Wang X, et al. Expression and clinical significance of circular RNAs related to immunity and inflammation in patients with rheumatoid arthritis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 92: 107366.
- [19] 李海群, 张志仕, 李 博, 等. 医用臭氧水对兔膝关节骨性关节炎软骨 IL-1 β 、TNF- α 与 VEGF 表达的影响[J]. 解剖科学进展, 2018, 24(1): 12-14; 18.
- [20] Tekeoğlu İ, Harman H, Sağ S, et al. Levels of serum pentraxin3, IL-6, fetuin A and insulin in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Cytokine*, 2016, 83: 171-175.
- [21] Gottenberg J E, Dayer J M, Lukas C, et al. Serum IL-6 and IL-21 are associated with markers of B cell activation and structural progression in early rheumatoid arthritis: results from the ESPOIR cohort [J]. *Ann Rheum Dis*, 2012, 71 (7): 1243-1248.
- [22] Lee Y H, Bae S C. Correlation between circulating VEGF levels and disease activity in rheumatoid arthritis: a meta-analysis[J]. *Z Rheumatol*, 2018, 77(3): 240-248.
- [23] Hu W, Xia L J, Chen F H, et al. Recombinant human endostatin inhibits adjuvant arthritis by down-regulating VEGF expression and suppression of TNF- α , IL-1 β production[J]. *Inflamm Res*, 2012, 61(8): 827-835.
- [24] Asare Y, Schmitt M, Bernhagen J. The vascular biology of macrophage migration inhibitory factor (MIF). Expression and effects in inflammation, atherogenesis and angiogenesis [J]. *Thromb Haemost*, 2013, 109(3): 391-398.