青风藤配伍制附子对RA模型大鼠骨破坏的干预作用及机制Δ

韩远山[1*]，易刚强[2#]，李　鑫[2]，欧阳琳[1]，蔡嘉洛[1]，邹蔓姝[2]（1.湖南中医药大学第一附属医院科研部，长沙 410007；2.湖南中医药大学药学院，长沙　410208）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2022）16-1974-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2022.16.10

摘　要　目的 评价青风藤配伍制附子对类风湿性关节炎（RA）模型大鼠骨破坏的干预作用，并探讨其作用机制。**方法** 将40只SD大鼠按体质量随机分成空白组、模型组、阳性对照组（吲哚美辛0.013 5 g/kg）、青风藤配伍制附子组（青风藤1.08 g/kg+制附子1.35 g/kg），每组10只。除空白组外，其余各组大鼠均通过注射牛Ⅱ型胶原复制RA模型。各组大鼠连续灌胃相应药物或蒸馏水，记录一般情况、体质量、足肿胀度及关节炎症指数（AI）评分。第30天给药结束后，采用小动物CT机检测大鼠踝关节骨质变化；采用酶联免疫吸附测定法检测血清中炎症因子[白细胞介素31（IL-31）、IL-25、IL-3]与趋化因子[核因子κB受体激活蛋白配体（RANKL）、核因子κB受体激活蛋白（RANK）、护骨因子（OPG）]的水平；采用HE染色法观察大鼠踝关节病理学情况；采用免疫组织化学法检测大鼠踝关节滑膜组织中RANKL、RANK、OPG的表达情况。**结果** 与空白组比较，第12～30天模型组大鼠精神状态虚弱，活动力下降明显，毛发失去光泽，体质量显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）；第12～30天模型组大鼠足肿胀度显著增加、AI评分显著升高（$P<0.01$）；踝关节表面粗糙，组织破坏明显、骨侵蚀严重；血清中IL-31、IL-25、IL-3、RANKL、RANK水平显著升高，OPG水平显著下降（$P<0.01$）；踝关节滑膜组织中RANKL、RANK的光密度显著升高，OPG的光密度显著下降（$P<0.01$）。与模型组比较，各给药组上述指标均有不同程度改善，大部分差异具有统计学意义（$P<0.05$或$P<0.01$）。**结论** 青风藤配伍制附子能通过抑制RANKL/RANK/OPG通路，从而抑制破骨细胞过度增殖，恢复骨代谢平衡，进而起到保护骨关节、治疗RA的作用。

关键词　类风湿性关节炎；青风藤；制附子；配伍

Intervention effect and mechanism of *Caulis sinomenii* compatible with prepared Aconiti Lateralis on bone destruction in RA model rats

HAN Yuanshan[1], YI Gangqiang[2], LI Xin[2], OUYANG Lin[1], CAI Jialuo[1], ZOU Manshu[2] (1. Dept. of Scientific Research, the First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China; 2. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To evaluate the intervention effect of *Caulis sinomenii* compatible with prepared Aconiti Lateralis on bone destruction in rheumatoid arthritis (RA) model rats, and to investigate its mechanism. **METHODS** Totally 40 SD rats were randomly divided into blank group, model group, positive control group (indomethacin 0.013 5 g/kg) and *C. sinomenii* compatible with prepared Aconiti Lateralis group (*C. sinomenii* 1.08 g/kg+prepared Aconiti Lateralis 1.35 g/kg) according to body mass, with 10 rats in each group. Except for the blank group, all the other groups made RA rat models by injecting type Ⅱ bovine collagen. Rats in each group were given corresponding drugs or distilled water intragastrically. The general information, body weight, foot swelling and arthritis index (AI) scores of rats in each group were recorded. After the 30th day of administration, the changes of ankle bone in rats were detected by small animal CT machine. The levels of inflammatory factors [interleukin-31 (IL-31), IL-25 and IL-3] and chemokines [receptor activator of nuclear factor κB ligand (RANKL), receptor activator of nuclear factor κB (RANK) and osteoprotegerin (OPG)] in serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. Pathological indexes of rat ankle joint were observed by HE staining. Immunohistochemical method was used to detect the expression of RANKL, RANK and OPG in synovial tissue of rat ankle joint. **RESULTS** Compared with blank group, the mental state of the model group was weak, the activity decreased significantly, the hair lost luster, and the body weight decreased significantly on the 12th to 30th days ($P<0.05$ or $P<0.01$); the swelling degree of the foot was significantly increased and the AI score was significantly increased on the 12th to 30th days ($P<0.01$); the ankle joint in model group had rough surface, obvious tissue damage and serious bone erosion; serum levels of IL-31, IL-25, IL-3, RANKL and RANK were increased significantly, while the level of OPG was decreased significantly ($P<0.01$); the expression of RANKL and RANK in synovium of ankle joint increased significantly, while the expression of OPG decreased significantly ($P<0.01$). Compared with model group, the above indexes of administration groups were improved to varying degrees, and most of the differences were statistically significant ($P<0.05$

Δ **基金项目** 湖南省中医药科研计划项目（No.201602）；长沙市自然科学基金资助项目（No.kq2007040）

＊**第一作者** 助理研究员，硕士。研究方向：中医药防治重大疾病。E-mail：1217983755@qq.com

＃**通信作者** 高级政工师，硕士。研究方向：中药神经药理学。E-mail：Ygq8228@163.com

or $P<0.01$). **CONCLUSIONS** By inhibiting the RANKL/RANK/OPG signaling pathway, *C. sinomenii* compatible with prepared Aconiti Lateralis can inhibit the excessive proliferation of osteoclasts and restore the balance of bone metabolism so as to play a role in protecting bone joints and treating RA.

KEYWORDS rheumatoid arthritis; *Caulis sinomenii*; prepared Aconiti Lateralis; compatibility

类风湿性关节炎（rheumatoid arthritis，RA）是一种以慢性、对称性关节炎和骨破坏为临床表现的人体自身免疫性疾病[1]。目前，RA的治疗药物主要包括糖皮质激素、肿瘤坏死因子抑制剂和非甾体抗炎药等[2]。这些药物虽能迅速消除关节红肿热痛症状，缓解关节炎症，但存在副作用多、成本高、骨破坏病情难以改善等问题；近年来兴起的生物制剂虽有一定疗效，但也存在靶器官特异性较低、长期疗效缺乏足够的循证证据等不足[3]。基于化学药品和生物制剂治疗RA的上述毒副作用以及局限性，寻找有效的RA治疗中药近年来也越来越受到人们的重视。

RA属于中医“痹症”范畴，一般按照“顽痹”“尪痹”进行辨证施治[4]。古今中医皆认为痹症病机为本虚者脏气内虚，引起寒凝气滞、血瘀，最终导致痰浊瘀血、痹阻经络[5]。痹症的治则治法可以简要概括为6个字：祛风、除湿、散寒[6]。临床常用中药青风藤和制附子治疗RA，其主要作用机制包括下调炎症因子表达水平、抑制核因子κB配位体受体活化剂分泌以及抑制骨破坏等[7-8]。

本研究以牛Ⅱ型胶原复制RA大鼠模型，通过检测RA模型大鼠的一般情况、体质量、足肿胀度、关节炎症指数（arthritis index，AI）评分、踝关节骨质变化情况、血清中炎症因子及趋化因子水平、踝关节病理学情况和踝关节滑膜组织中核因子的表达情况，探讨青风藤配伍制附子抗RA骨破坏的作用及机制。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有Quantum GX2型小动物CT机[珀金埃尔默仪器（上海）有限公司]，T10 basic型匀浆机（德国IKA公司），KH-Q330/350型切片机、KL型组织脱水机、KH-BL1型组织包埋机（湖北孝感阔海医疗科技有限公司），VIB50型制冰机（广州科勒尔制冷设备有限公司）等。

1.2 主要药物与试剂

青风藤（批号1512150652）、制附子（批号170650411）均购于康美药业股份有限公司；吲哚美辛肠溶片（国药准字H14020771，批号F171003，规格25 mg/片）购于云鹏医药集团有限公司；牛Ⅱ型胶原（批号180382）、不完全弗氏佐剂（批号SLBW2506）均购于西格玛奥德里奇（上海）贸易有限公司；白细胞介素3（interleukin-3，IL-3）、IL-25、IL-31、核因子κB受体激活蛋白（receptor activator of nuclear factor-κB，RANK）、核因子κB受体激活蛋白配体（receptor activator of nuclear factor-κB ligand，RANKL）、护骨因子（osteoprotegerin，OPG）酶联免疫吸附测定（enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒（批号分别为E-EL-H0100c、E-EL-R2394c、E-EL-H5469c、SN368、SEKM-0138、20190121）均购于上海晶天生物科技有限公司；兔抗鼠RANK、RANKL、OPG多克隆抗体（批号分别为ab182158、ab9957、ab73400）均购于英国Abcam公司；辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G（IgG）二抗（批号BA1032）购于武汉博士德生物工程有限公司；二甲苯等试剂均购于国药集团化学试剂有限公司。

1.3 实验动物

40只SPF级雌性SD大鼠（体质量150～170 g）由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供，动物合格证号为11400700346315，动物生产许可证号为SCXK（湘）2019-0004。大鼠适应性喂养5 d后进行分组实验。

2 方法

2.1 药物的制备

2.1.1 造模药物 将2.0 mg/mL的牛Ⅱ型胶原与等量不完全弗氏佐剂混合，于4 ℃条件下，采用匀浆机搅拌均匀至完全乳化（完全乳化标志为乳化剂滴至水中不扩散），即得牛Ⅱ型胶原质量浓度为1.0 mg/mL的混合乳剂。

2.1.2 青风藤配伍制附子水提液 将青风藤和制附子以4∶5的质量比投料（质量比依据前期研究结果设置），总量为180 g，加水回流提取2次，第1次加10倍量水，提取2 h，滤过；第2次加8倍量水，提取1.5 h，滤过；合并2次滤液，减压浓缩至相应质量浓度（青风藤质量浓度为5.4 g/mL，制附子质量浓度为6.75 g/mL），备用。

2.1.3 吲哚美辛水溶液 将吲哚美辛肠溶片用研钵碾碎后，加蒸馏水配制成质量浓度为1.35 mg/mL的吲哚美辛水溶液。

2.2 动物的分组、造模与给药

根据体质量将大鼠随机分为4组，空白组、模型组、阳性对照组、青风藤配伍制附子组，每组10只。根据预实验的结果确定造模方式、给药剂量及给药方式。除空白组外，其余各组大鼠于尾根部正面皮下注射“2.1.1”项下混合乳剂200 μL进行初次免疫（第0天，以下均从实

验开始计时间）；7 d后，于尾根部背面皮下再次注射混合乳剂200 μL，加强免疫（第7天）。空白组大鼠在相同时间点，于同部位注射等体积生理盐水。各组大鼠于加强免疫当天（第7天）开始灌胃给药（给药体积为10 mL/kg）。阳性对照组给予吲哚美辛水溶液（剂量为0.013 5 g/kg），青风藤配伍制附子组给予青风藤配伍制附子水提液（青风藤剂量为1.08 g/kg，制附子剂量为1.35 g/kg），每天给药1次，第30天给药结束；空白组和模型组则在相同时间给予等体积蒸馏水。

2.3 RA模型评价相关指标检测

2.3.1 一般情况观察与体质量测量 每天观察大鼠的一般情况变化，包括精神状态、皮毛色泽和活动状态等。于关节开始出现炎症肿胀后每3天用电子天平称定体质量，记录各组大鼠体质量变化情况，至第30天。

2.3.2 足肿胀度测量 在大鼠右后足踝关节部位用苦味酸进行永久性标记。于关节开始出现炎症肿胀后每3天使用游标卡尺在标记部位测量其足跖肿胀厚度，每只重复测量3次，取平均值，至第30天。

2.3.3 AI评分 由3名以上研究者于第12天开始每3天根据关节肿胀度、关节颜色及关节活动情况评价大鼠全身关节病变程度。采用4分制对足爪炎症进行评分，AI评分标准：0分，无红肿；1分，踝关节或跗骨关节出现红斑或轻微肿胀；2分，踝关节到跗骨关节出现红斑和轻微肿胀；3分，踝关节到跖骨关节出现红斑和中度肿胀；4分，踝关节到趾骨关节全部足爪肿胀[9]。累计四肢关节的得分为每只大鼠的AI评分，最高为16分。

2.4 踝关节骨质检测

采用小动物CT机进行检测。第30天，每组随机挑选3只大鼠，将大鼠处死后取右后足踝关节，将标本平行固定于小动物CT机的样本杯中。设置扫描角度为360°，分辨率为10 μm，电压为80 kV，电流为500 μA，扫描时间为4 min。通过专用CT分析软件对所得图像进行三维图片重建，分析骨侵蚀程度、滑膜增生情况和组织破坏情况。

2.5 血清中炎症因子及趋化因子水平检测

采用ELISA法进行检测。第30天，将大鼠麻醉后，取腹主动脉血，经抗凝处理后，以4 000 r/min离心10 min，分离血清，使用相应ELISA试剂盒测定大鼠血清中炎症因子（IL-31、IL-25、IL-3）和趋化因子（RANKL、RANK、OPG）水平。具体操作严格按说明书步骤进行。

2.6 踝关节病理学观察

采用HE染色法进行检测。处死大鼠后，取后足踝关节，用4%多聚甲醛固定，脱钙，常规石蜡包埋，切片，经HE染色后，于显微镜下观察后足踝关节滑膜的形态结构、滑膜增生、炎性浸润等情况。

2.7 踝关节滑膜组织中趋化因子表达情况检测

采用免疫组织化学法进行检测。取“2.6”项下已制好的踝关节切片，依次放入二甲苯和无水乙醇中进行脱蜡；用一抗（RANKL、RANK、OPG）、二抗稀释液孵育后显色；切片置入苏木素染液中3～5 min，用自来水洗，分化液分化，再用自来水洗，返蓝液返蓝，流水冲洗，脱水，中性树胶封片。显微镜下拍片，观察RANKL、RANK、OPG的表达情况（以光密度值衡量）。

2.8 统计学分析

采用SPSS 21.0软件进行数据统计分析，实验结果以$\bar{x}\pm s$表示，组间差异比较采用单因素方差分析，方差齐时采用LSD-t检验，方差不齐时采用Dunnett's $T3$检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 各组大鼠一般情况和体质量变化

除空白组外，各组大鼠均于第9～12天关节出现炎症肿胀。第12～30天，与空白组比较，模型组大鼠精神状态虚弱，活动力下降明显，毛发失去光泽，体质量显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）；与模型组比较，阳性对照组和青风藤配伍制附子组大鼠一般情况均有所改善，体质量显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）。体质量结果见表1。

3.2 青风藤配伍制附子对RA模型大鼠足肿胀度的影响

第12～30天，与空白组相比，模型组大鼠足肿胀度显著增加（$P<0.01$）；与模型组比较，阳性对照组和青风藤配伍制附子组大鼠足肿胀度显著降低（$P<0.01$）。结果见表2。

3.3 青风藤配伍制附子对RA模型大鼠AI评分的影响

第12～30天，与空白组比较，模型组大鼠AI评分显著升高（$P<0.01$）；与模型组比较，阳性对照组和青风藤配伍制附子组大鼠AI评分显著降低（$P<0.01$）。结果见表3。

表1 各组大鼠体质量的测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$，g）

组别	第9天	第12天	第15天	第18天	第21天	第24天	第27天	第30天
空白组	61.47±6.50	87.34±1.97	109.39±6.28	132.28±6.73	156.25±8.38	177.51±7.24	199.70±6.47	221.48±7.09
模型组	54.73±1.85	59.74±3.40[a]	51.55±3.88[a]	52.91±3.02[b]	54.95±3.04[b]	60.17±2.80[b]	70.58±3.04[b]	86.63±3.46[b]
阳性对照组	58.63±2.75	80.98±3.48[c]	96.49±3.06[c]	115.50±4.17[d]	139.27±7.05[d]	159.39±7.66[d]	183.27±7.74[d]	208.71±8.61[d]
青风藤配伍制附子组	57.33±1.74	74.41±1.24[c]	90.35±4.31[c]	105.03±5.09[d]	121.19±3.49[d]	139.98±4.40[d]	161.21±2.62[d]	183.31±2.81[d]

a：与空白组比较，$P<0.05$；b：与空白组比较，$P<0.01$；c：与模型组比较，$P<0.05$；d：与模型组比较，$P<0.01$

表2　各组大鼠足肿胀度的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$，mm）

组别	第9天	第12天	第15天	第18天	第21天	第24天	第27天	第30天
空白组	0.24±0.03	0.31±0.03	0.35±0.03	0.38±0.03	0.41±0.03	0.44±0.03	0.46±0.03	0.49±0.03
模型组	0.28±0.03	3.35±0.15[a]	3.89±0.12[a]	4.55±0.17[a]	4.70±0.16[a]	4.45±0.17[a]	4.25±0.14[a]	4.03±0.11[a]
阳性对照组	0.26±0.02	0.96±0.04[b]	1.04±0.04[b]	1.10±0.04[b]	1.15±0.04[b]	1.18±0.03[b]	1.23±0.04[b]	1.26±0.04[b]
青风藤配伍制附子组	0.24±0.03	1.10±0.06[b]	1.24±0.06[b]	1.36±0.07[b]	1.45±0.07[b]	1.53±0.09[b]	1.58±0.09[b]	1.63±0.09[b]

a：与空白组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$

表3　各组大鼠AI评分的结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$，分）

组别	第12天	第15天	第18天	第21天	第24天	第27天	第30天
空白组	0	0	0	0	0	0	0
模型组	3.50±0.53[a]	6.38±0.74[a]	8.12±0.64[a]	10.25±0.70[a]	9.38±0.74[a]	8.00±0.93[a]	6.88±0.84[a]
阳性对照组	0.75±0.46[b]	1.13±0.64[b]	1.25±0.46[b]	1.00±0.54[b]	0.88±0.35[b]	0.88±0.35[b]	0.88±0.34[b]
青风藤配伍制附子组	1.50±0.54[b]	1.75±0.71[b]	2.25±0.46[b]	2.38±0.52[b]	2.25±0.46[b]	1.38±0.52[b]	1.13±0.35[b]

a：与空白组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$

3.4　青风藤配伍制附子对RA模型大鼠踝关节骨质的影响

空白组大鼠后足踝关节表面光滑、结构清晰，无任何完整性破坏和不规则隆起。模型组大鼠后足踝关节表面粗糙，组织破坏明显，滑膜增生和骨侵蚀严重；阳性对照组和青风藤配伍制附子组大鼠后足踝关节组织破坏程度和滑膜增生较模型组明显减轻，骨侵蚀与骨破坏程度明显下降。结果见图1。



A：空白组；B：模型组；C：阳性对照组；D：青风藤配伍制附子组；→：关节粗糙、骨侵蚀严重

图1　各组大鼠后足踝关节CT三维重建图

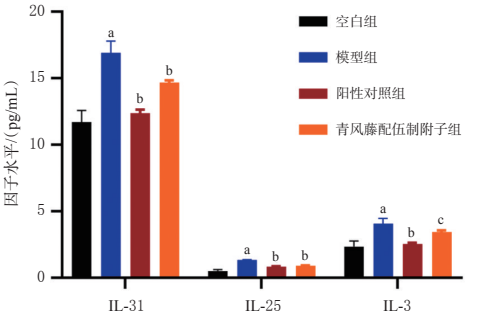
3.5　青风藤配伍制附子对RA模型大鼠血清中炎症因子及趋化因子的影响

与空白组比较，模型组大鼠血清中IL-31、IL-25、IL-3水平均显著升高（$P<0.01$）；与模型组比较，阳性对照组和青风藤配伍制附子组的IL-31、IL-25、IL-3水平均显著下降（$P<0.05$或$P<0.01$）。结果见图2。

与空白组比较，模型组大鼠血清中RANKL、RANK水平均显著升高，OPG水平显著下降（$P<0.01$）；与模型组比较，阳性对照组和青风藤配伍制附子组大鼠血清中的RANKL、RANK水平均显著下降，OPG水平均显著升高（$P<0.01$或$P<0.05$）。结果见图3。

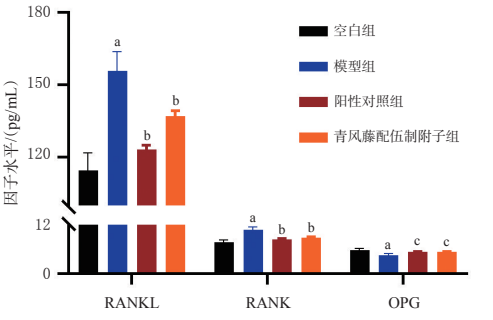
3.6　青风藤配伍制附子对RA模型大鼠踝关节病理学的影响

显微镜下可见，空白组大鼠踝关节结构清晰，排列平整，关节腔中未见炎症细胞，软骨关节呈粉红色，骨质正常；模型组大鼠踝关节有大面积炎症细胞浸润，关节间隙狭窄，结缔组织、滑膜细胞增生，关节软骨结构破坏严重；阳性对照组大鼠踝关节组织可见少量炎症细胞，但关节结构正常；青风藤配伍制附子组大鼠踝关节腔中有少量炎症细胞零散分布，轻度增生，关节结构正常。显微图见图4。



a：与空白组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$；c：与模型组比较，$P<0.05$

图2　各组大鼠血清中炎症因子水平的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

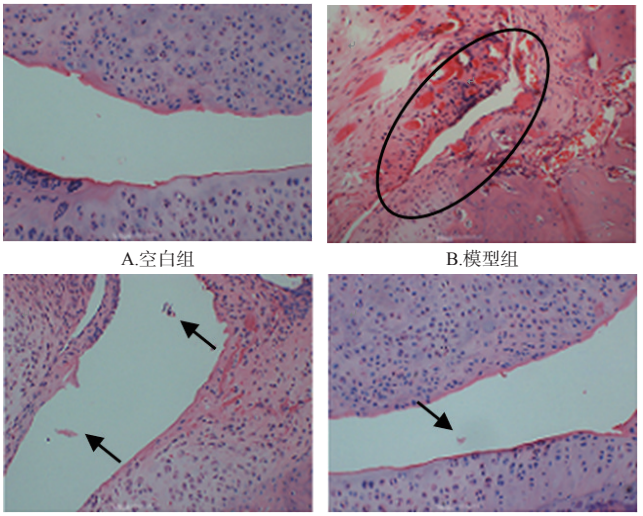


a：与空白组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$；c：与模型组比较，$P<0.05$

图3　各组大鼠血清中趋化因子水平的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

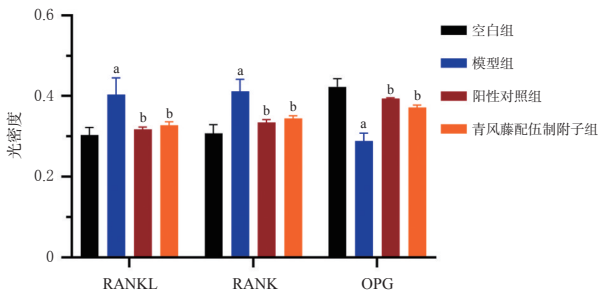
3.7　青风藤配伍制附子对RA模型大鼠踝关节滑膜组织中趋化因子表达的影响

与空白组比较，模型组大鼠后足踝关节滑膜组织中RANKL、RANK的光密度显著升高，OPG的光密度显著下降（$P<0.01$）；与模型组比较，阳性对照组与青风藤配伍制附子中RANKL、RANK的光密度显著下降，OPG的光密度显著升高（$P<0.01$）。结果见图5、图6。



○:大面积炎症细胞浸润;→:少量炎症细胞零散分布

图4　各组大鼠踝关节病理学显微图(×200)



a:与空白组比较,$P<0.01$;b:与模型组比较,$P<0.01$

图5　各组大鼠踝关节滑膜组织中趋化因子表达的光密度检测结果($\bar{x}\pm s$,$n=10$)

4　讨论

青风藤与制附子是中医药临床治疗RA的常用药对。青风藤味苦、辛,性平,苦以燥湿,辛以祛风,使风湿去、经络通、气血畅而痹痛止;制附子味辛、甘,性大热,辛以散邪,大热逐寒,温燥祛湿,使寒湿去、经络通、通则痛止。青风藤无制附子相配则逐寒无力,制附子无青风藤相伍则功专入肾回阳。青风藤配伍制附子"相须"为用,使祛风散寒、除湿止痛之力大大增强。现代天然药物化学和药理学研究表明,青风藤抗RA的主要药效组分是青藤碱,制附子抗RA的主要药效组分是制附子总生物碱[10-11]。有研究表明,青风藤与制附子、青藤碱与制附子总生物碱均具有抗RA和免疫调节作用[12]。

RA作为一种自身免疫性疾病,体内炎症因子失衡是其关键病理指征。在众多炎症因子中,TNF-α、IL-1β、IL-6等指标已被广泛证实在RA模型大鼠血液中显著升高[13]。本研究以非典型炎性因子(如IL-3、IL-25、IL-31)为研究对象,探讨其在RA模型大鼠体内的变化特点与规律。IL-3由机体T细胞刺激活化产生,降低IL-3的表达可阻止关节炎的发生发展[14]。IL-25主要由活化的2型辅助性T细胞(type 2 helper T cells,Th2)产生,可刺激IL-6、IL-8、粒细胞集落刺激因子等参与免疫炎症反应[15],还可直接促进IL-4、IL-9、IL-13等分泌,加重关节损伤[16]。IL-31由Th2、单核巨噬细胞等活化产生,可诱导Th17活化,间接促进IL-8、基质金属蛋白酶表达,使滑膜炎症状态持续、骨破坏加速[17]。IL-31还可直接促进

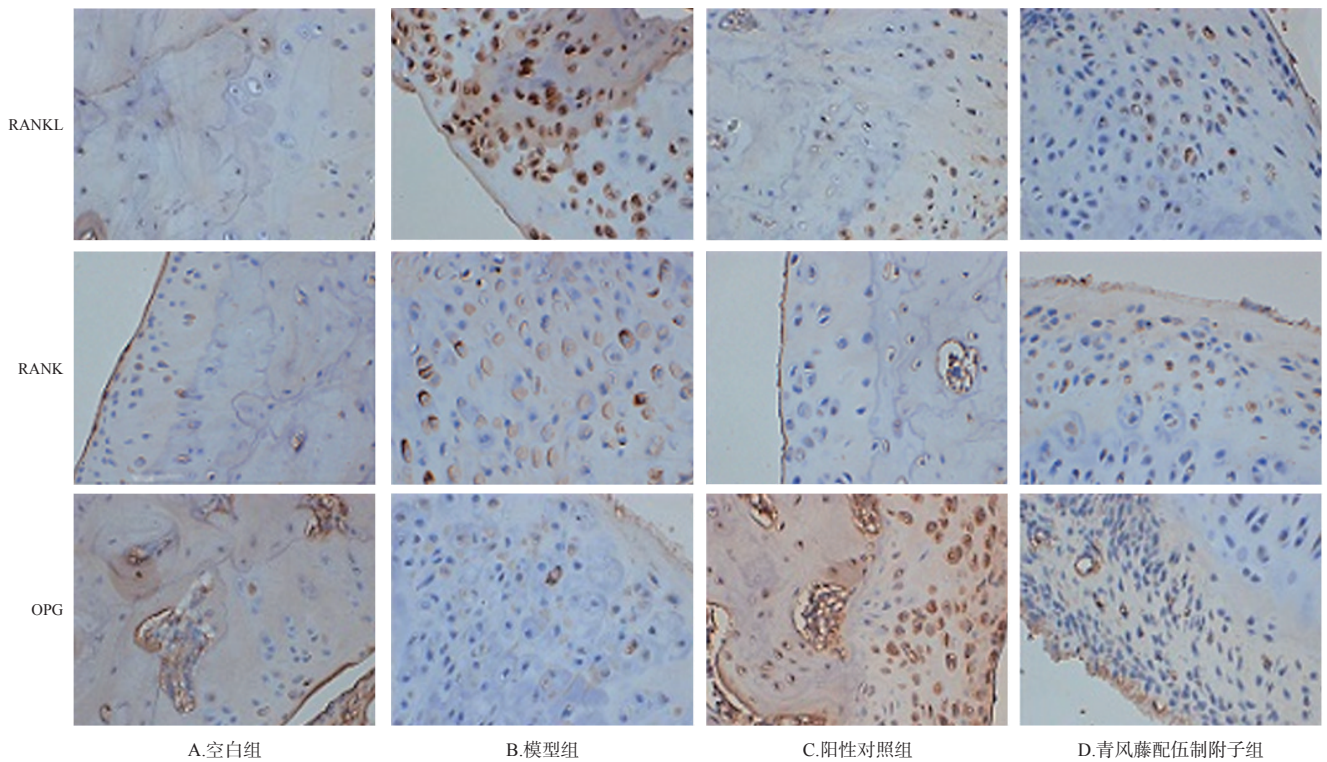


图6　各组大鼠踝关节滑膜组织中趋化因子表达的显微图(×200)

TNF-α、IL-6的分泌，诱导关节炎发病[18]。以上研究证明，IL-3、IL-25、IL-31通过直接或间接途径参与了RA的进程。有研究表明，炎症因子失衡介导的RA是依赖于RANKL/RANK/OPG信号通路完成的[19]。RANKL/RANK/OPG是成骨细胞与破骨细胞之间的重要信号通路：生理条件下，破骨细胞的骨吸收与成骨细胞的骨形成通过RANKL/RANK/OPG达成动态平衡，维持正常的骨代谢；病理状态下，炎症因子的大量表达能激活RANKL/RANK/OPG通路，使破骨细胞前体细胞过度分化为破骨细胞，从而引起骨与关节软骨破坏[20]。

本研究发现，RA模型大鼠RANK与RANKL的表达较空白组显著增加，而OPG表达显著下降，RANKL与OPG间的平衡被打破，促使破骨细胞增加，造成骨损伤，这可能是RA形成的关键原因。结合模型组大鼠血清炎症因子异常增加的特点推测，造模后，与空白组相比，模型组大鼠体内炎症因子异常增加，炎症轴失衡，导致RANKL/RANK/OPG通路激活，骨代谢平衡被打破，破骨细胞增殖，最终诱导了RA的发生。青风藤配伍制附子组与模型组比较发现，青风藤配伍制附子可有效改善RA模型大鼠的精神状态、体质量及足肿胀度，明显减少滑膜关节内炎性细胞的浸润，保持关节内部结构的完整，维持破骨细胞与成骨细胞骨代谢平衡。

综上所述，青风藤配伍制附子能通过抑制炎症反应、减少炎症因子的释放，抑制RANKL/RANK/OPG通路，从而抑制破骨细胞过度增殖，恢复骨代谢平衡，进而起到保护骨关节、治疗RA的作用。

参考文献

[1] 李露，许霞，赵黎，等.中医药治疗类风湿关节炎的研究进展[J].风湿病与关节炎，2022，11(4)：77-80.

[2] 赵磊，万磊，刘健，等.类风湿关节炎骨破坏作用机制及中医药治疗研究进展[J].中国骨质疏松杂志，2021，27(9)：1379-1383，1394.

[3] 陈金堂，王波，季卫平.类风湿关节炎常用药物治疗方案及进展[J].中国现代医生，2022，60(3)：193-196.

[4] 蔺晓源，刘检，王宇红，等.类风湿关节炎伴发抑郁症“虚、瘀、郁”的中医病机探讨与应用[J].中医药临床杂志，2022，34(1)：15-18.

[5] 申安平，王炳森，李桓，等.类风湿关节炎中医古籍研究及网络药理分析[J].河北中医，2021，43(5)：847-851，859.

[6] 聂泽群，张树冰.中医外治法治疗类风湿关节炎的研究进展[J].湖南中医杂志，2021，37(2)：169-172.

[7] 姚瑶，葛卫红.青风藤醇提物与青藤碱治疗胶原诱导关节炎大鼠药效的比较研究[J].药学与临床研究，2014，22(1)：25-28.

[8] 刘建磊，李宝丽.制附子对类风湿关节炎抗炎作用的实验研究[J].中国实验方剂学杂志，2011，17(17)：184-187.

[9] HU Y P，CHENG W X，CAI W H，et al. Advances in research on animal models of rheumatoid arthritis[J]. Clin Rheumatol，2013，32(2)：161-165.

[10] 凌益，徐晖，黄颖，等.基于网络药理学探讨青风藤治疗类风湿关节炎的作用机制[J].中药材，2021，44(1)：175-181.

[11] 姚兰，王春雷.黑顺片关节腔注射干预大鼠骨性关节炎的药效作用[J].浙江中医杂志，2019，54(11)：792-794.

[12] 曹知勇，张青槐，庞宇舟.壮药青风藤总生物碱对类风湿关节炎模型大鼠PDGF、PAF表达的影响[J].中国民族民间医药，2020，29(20)：16-18.

[13] 蒋志明，赵丽娜，吴立斌，等.不同直径艾条悬灸改善类风湿性关节炎大鼠TNF-α、IL-6和IL-2表达的比较[J].上海针灸杂志，2021，40(7)：866-872.

[14] 何志明，黄之镨，韦迎春，等.基于NLRP3炎性小体探讨金铁锁提取物对类风湿性关节炎治疗机制的研究[J].中国中药杂志，2021，46(17)：4504-4510.

[15] 孟静楠，赵韵琦，张伦军，等.类风湿关节炎患者外周血25羟基维生素D、白介素-6的表达[J].中国临床研究，2022，35(2)：190-193.

[16] 林雨虹，吕合作，吴俊英. GM-CSF/IL-3/IL-5的免疫调节作用[J].中国免疫学杂志，2019，35(4)：500-504.

[17] GARCÍA-ARELLANO S，HERNÁNDEZ-PALMAL A，CERPA-CRUZ S，et al. The novel role of MIF in the secretion of IL-25，IL-31，and IL-33 from PBMC of patients with rheumatoid arthritis[J]. Molecules，2021，26(16)：4968.

[18] CHANG L，FENG X，GAO W. Proliferation of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes is enhanced by IL-17-mediated autophagy through STAT3 activation[J]. Connect Tissue Res，2019，60(4)：358-366.

[19] 郭占非，齐路霞，张超，等.基于RANKL-RANK-OPG信号通路探讨雷公藤甲素对类风湿关节炎骨破坏的作用机制[J].湖北民族大学学报(医学版)，2021，38(4)：45-48，52.

[20] 陈瀚宇，徐颖鹏，李鼎鹏，等. RANK/RANKL/OPG系统在骨性关节炎与骨质疏松相关性中的作用机制[J].中国中医骨伤科杂志，2019，27(1)：86-88.

（收稿日期：2022-03-07　修回日期：2022-07-06）

（编辑：曾海蓉）