

- apoptosis in aplastic anemia bone marrow progenitor cells: possible pathophysiologic significance [J]. *Exp Hematol*, 1995, 23(14): 1642-1648.
- [9] KAKAGIANNI T, GIANNAKOULAS N C, THANOPOULOU E, et al. A probable role for trail- induced apoptosis in the pathogenesis of marrow failure. Implications from an in vitro model and from marrow of aplastic anemia patients [J]. *Leuk Res*, 2006, 30(6): 713-721.
- [10] MIZUTANI T, TSUJI K, EBIHARA Y, et al. Homeostatic erythropoiesis by the transcription factor IRF2 through attenuation of type I interferon signaling [J]. *Exp Hematol*, 2008, 36(3): 255-264.
- [11] 任翠爱, 张茂宏, 徐从高, 等. 环孢菌素A治疗对再生障碍性贫血患者骨髓细胞凋亡的影响[J]. *中华血液学杂志*, 2001, 22(4): 189-192.
- [12] LIU F T, GOFF L K, HAO J H, et al. Increase in the ratio of mitochondrial Bax/Bcl-XL induces Bax activation in human leukemic K562 cell line[J]. *Apoptosis*, 2004, 9(3): 377-384.
- [13] LOSSI L, COCITO C, ALASIA S, et al. *Ex vivo* imaging of active caspase 3 by a FRET-based molecular probe demonstrates the cellular dynamics and localization of the protease in cerebellar granule cells and its regulation by the apoptosis-inhibiting protein survivin [J]. *Mol Neurodegener*, 2016, 11(1): 34-54.
- [14] OLIVER L, LECABELLEC M T, PRADAL G, et al. Constitutive presence of cytochrome c in the cytosol of a chemoresistant leukemic cell line[J]. *Apoptosis*, 2005, 10(2): 277-287.
- [15] JAKUBOWSKA K, GUZIŃSKA-USTYMOWICZ K, FAMULSKI W, et al. Reduced expression of caspase-8 and cleaved caspase-3 in pancreatic ductal adenocarcinoma cells [J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(3): 1879-1884.

【责任编辑：侯丽颖】

## 双氢青蒿素对Ⅱ型胶原诱导的类风湿关节炎大鼠的 抗炎和软骨修复作用

张俊<sup>1</sup>, 袁映红<sup>1</sup>, 冯志蔚<sup>1</sup>, 肖涛<sup>1</sup>, 孔亮<sup>1</sup>, 蒋科<sup>2</sup>

(1.南充市中心医院嘉陵分院骨科, 四川南充 637500; 2.川北医学院附属医院骨科, 四川南充 637000)

**摘要:**【目的】探讨双氢青蒿素对Ⅱ型胶原诱导的类风湿关节炎(RA)大鼠的抗炎作用和软骨修复作用。【方法】将75只健康6周龄雄性SD大鼠随机分为假手术组, 模型组, 双氢青蒿素低、中、高剂量组, 每组15只。除假手术组外, 其他各组大鼠均给予Ⅱ型胶原诱导构建RA模型。成功造模后, 双氢青蒿素低、中、高剂量组大鼠分别对应给予双氢青蒿素6.25、12.5、25 mg/kg灌胃处理, 1次/d, 连续给药2周。给药结束后, 检测骨指标(骨体积分数、骨表面积/骨体积、骨小梁厚度、骨小梁数量); 采用苏木素-伊红(HE)染色法观察踝关节组织病理学表现、阿利新蓝染色法观察踝关节软骨组织蛋白多糖的表达, 采用抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)染色法观察踝关节骨组织破骨细胞情况; 采用酶联免疫吸附分析(ELISA)检测外周血中肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(IL)-10、IL-17、IL-23的含量; 采用蛋白免疫印迹法检测踝关节组织成骨标记

收稿日期: 2020-06-24

作者简介: 张俊(1979-), 男, 硕士, 主治医师; E-mail: Zhangjunsophia114@163.com

通讯作者: 蒋科, 硕士, 副主任医师; E-mail: jiangke2010@ymail.com

基金项目: 四川省南充市科技项目(编号: 18SXHZ0536)

物成骨细胞特异性转录因子 Osterix(Osx), I型胶原蛋白 $\alpha 1$ 链(COL1A1)和骨钙素(OC)的表达;采用实时定量聚合酶链反应(RT-PCR)检测踝关节组织骨吸收功能相关基因破骨细胞相关受体(OSCAR)和TRAP的表达情况。【结果】与假手术组比较,模型组大鼠骨体积分数,骨小梁厚度、骨小梁数量显著降低,骨表面积/骨体积显著升高(均 $P < 0.05$ ),踝关节组织病理学表现可见滑膜增生,炎性细胞浸润,软骨损伤严重,软骨组织基本无蛋白多糖表达,外周血中炎症相关因子TNF- $\alpha$ 、IL-17、IL-23和IL-10含量均显著升高( $P < 0.05$ ),踝关节组织O<sub>sx</sub>、COL1A1、OC的相对表达水平均显著降低( $P < 0.05$ ),OSCAR、TRAP的mRNA表达水平均显著升高( $P < 0.05$ )。给予双氢青蒿素干预后,RA大鼠上述指标均得到明显改善。【结论】双氢青蒿素可以通过抑制炎症反应、促进软骨修复治疗Ⅱ型胶原诱导的大鼠RA。

**关键词:** 双氢青蒿素; 类风湿关节炎; Ⅱ型胶原; 炎症反应; 软骨修复; 大鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)05-1002-07

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.05.026

## Anti-inflammatory Effects and Cartilage Repair of Dihydroartemisinin for Rats with Rheumatoid Arthritis Induced by Type II Collagen

ZHANG Jun<sup>1</sup>, YUAN Ying-Hong<sup>1</sup>, FENG Zhi-Wei<sup>1</sup>,  
XIAO Tao<sup>1</sup>, KONG Liang<sup>1</sup>, JIANG Ke<sup>2</sup>

(1. Dept. of Orthopaedics, Jialing Branch Hospital of Nanchong Central Hospital, Nanchong 637500 Sichuan, China; 2. Dept. of Orthopaedics, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000 Sichuan, China)

**Abstract: Objective** To explore the anti-inflammatory effects and cartilage repair of dihydroartemisinin (DHA) for rats with rheumatoid arthritis (RA) induced by type II collagen. **Methods** Seventy-five healthy 6-week-old male SD rats were randomly divided into sham-operation group, model group, low-, middle- and high-DHA groups, 15 rats in each group. Apart from the sham-operation group, RA model was established in the other groups by type II collagen induction. After successful modeling, the low-, middle- and high-DHA groups were given intragastric administration of DHA at the dosage of 6.25, 12.5, 25 mg/kg, respectively, once every day, the treatment lasting 2 weeks. After medication, the bone indexes [bone volume/total volume, bone surface/bone volume, trabecular bone thickness, trabecular bone number] were measured, the changes of histologic features of ankle tissue was observed by hematoxylin-eosin (HE) staining, the proteoglycan expression in cartilage tissue was observed by Alcian blue staining, the production of osteoclasts in ankle tissue was observed by tartrate resistant acid phosphatase (TRAP) staining, the levels of tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin (IL)-17, IL-23 and IL-10 in peripheral blood were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the expression levels of osteogenic markers [osterix (O<sub>sx</sub>), collagen type I alpha1 (COL1A1) and osteocalcin (OC)] in ankle tissue were detected by Western blotting assay, and the mRNA expression levels of osteoclast associated receptor (OSCAR) and TRAP in ankle tissue were detected by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** Compared with the sham-operation group, bone volume/total volume, trabecular bone thickness and trabecular bone number were decreased, and bone surface/bone volume was increased in the model group, the pathological features of ankle tissue showed synovial hyperplasia, inflammatory cell infiltration, serious cartilage injury, no proteoglycan expression in cartilage tissue, the contents of inflammation-related factor TNF- $\alpha$ , IL-17, IL-23, IL-10 in peripheral blood were enhanced ( $P < 0.05$ ), the relative expression levels of O<sub>sx</sub>, COL1A1, OC in ankle tissue were lowed ( $P < 0.05$ ), and the mRNA expression levels of OSCAR, TRAP in ankle tissue were raised ( $P < 0.05$ ). After intervention of DHA, the above indexes in RA rats were improved. **Conclusion** DHA is effective for treatment of type II collagen-induced RA in rats by inhibiting inflammation reactions and promoting cartilage repair.

**Keywords:** dihydroartemisinin; rheumatoid arthritis; type II collagen; inflammatory reaction; cartilage repair; rats

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性全身性自身免疫性疾病,其主要表现为滑膜炎伴关节软骨及骨质破坏等<sup>[1]</sup>。调节免疫异常、消除炎症反应是治疗RA的关键<sup>[2]</sup>。目前对RA的西药治疗主要包括非甾体抗炎药/糖皮质激素等<sup>[3-4]</sup>,但这些药物均有较大的副作用;单纯中药治疗RA毒副作用小,但效果并不非常显著<sup>[5]</sup>。青蒿素是从菊科植物黄花蒿(*Artemisia annua* L.全草)中提取的含有过氧基团的倍半萜内酯(药用植物的生物活性组分)的药物。青蒿素及其已上市衍生物是临床常用的抗疟药物。现有研究还发现青蒿素及青蒿素衍生物对体液免疫和细胞免疫均有明显的抑制作用,同时具有较好的抑制炎症效果,且安全性高<sup>[6-7]</sup>,其作为抗炎免疫调节药物越来越受到重视。双氢青蒿素(dihydroartemisinin)是青蒿素的衍生物之一,是青蒿素经四氢硼钠还原而成,分子式为 $C_{15}H_{24}O_5$ ,相对分子质量为284.35,是青蒿素类药物在体内的主要的活性形式之一。已经有研究表明,双氢青蒿素具有抗RA作用<sup>[8]</sup>。本研究建立Ⅱ型胶原诱导RA动物模型模拟RA发病<sup>[8]</sup>,进一步探讨双氢青蒿素对RA大鼠抗炎反应和软骨修复的影响,以期为RA患者临床治疗提供参考依据,现将研究结果报道如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 动物** SPF级6周龄SD雄性大鼠75只,购自广东医学院实验动物中心,粤监证字2018A029号,动物许可证号:SYXK2018-0056。于川北医学院实验动物中心SPF级动物房中进行常规饲养,自由饮水、进食,温度25℃,光照/黑暗各12h。本实验已经过动物伦理委员会批准同意且本动物实验严格遵循动物实验减少(reduction)、优化(refinement)和替代(replacement)-3R原则。

**1.2 药物与试剂** 双氢青蒿素(CAS号:71939-50-9;商品号:EBD2184717)(上海源叶生物科技有限公司)。肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素10(IL-10)、白细胞介素17(IL-17)、白细胞介素23(IL-23)酶联免疫吸附分析(ELISA)试剂盒(上海恒远生物科技有限公司);成骨细胞特异性转录因子Osterix(Osx)、I型胶原蛋白 $\alpha$ 1链(COL1A1)和骨钙素(OC)等抗体(上海艾博抗有限公司);苏木素、伊红(武汉博士得生物有限公司);中性福尔马林、酒精、二甲苯(天津科密欧

有限公司);辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔IgG、HRP羊抗鼠IgG等二抗(美国Thermo公司)。

**1.3 仪器** YLS-7C足趾容积测量仪(江苏赛昂斯生物科技有限公司);BS-124s型电子天平(北京赛多斯仪器系统有限公司);415D离心机(德国Eppendorf公司);Dexa Pro-I X线骨密度仪(徐州品源电子科技有限公司);LD-66切片机(长沙益广制药机械公司);SG-51正显微镜(上海光学仪器厂);蛋白电泳及转膜仪(美国Bio-Rad公司);凝胶成像系统(以色列DNR公司)。

**1.4 分组与模型建立** 将75只大鼠适应性喂养1周后,采用随机分组法将大鼠分为假手术组,模型组,双氢青蒿素低、中、高剂量组,每组各15只。除假手术组外,其余各组大鼠均给予胶原诱导法构建RA模型,造模方法和判断造模是否成功标准参考Fujii等<sup>[9-10]</sup>研究。具体操作方法:用乙酸溶液溶解Ⅱ型胶原制成胶原溶液2g/L,将等体积的胶原溶液和不完全弗氏佐剂充分乳化混匀至滴1滴乳剂于蒸馏水水面凝而不散时,示乳化剂配制成功。取400 $\mu$ g胶原乳化剂注射大鼠右足跖部皮下致炎,并于造模第14天同法给予100 $\mu$ g胶原乳化剂加强免疫。于造模第20天,应用相机拍照和X射线拍摄观察大鼠足跖部,以出现严重红肿、连续低密度影及溶骨现象表明造模成功。

**1.5 药物干预** 于初次免疫21d,参考文献[11]中的双氢青蒿素给药剂量进行干预,双氢青蒿素低、中、高剂量组大鼠分别对应给予双氢青蒿素6.25、12.5、25mg/kg(分别相当于成人用药剂量39.06、78.13、156.25mg)灌胃处理,假手术组和模型组给予等体积的生理盐水灌胃,每日1次,连续给药2周。

## 1.6 观察指标与方法

**1.6.1 大鼠骨指标检测** 末次给药后24h脱颈处死大鼠,分离出胫骨,置于40g/L多聚甲醛溶液中固定,依次进行脱钙、脱水处理,石蜡包埋、切片,应用双能X线骨密度仪测量大鼠骨体积分数(bone volume/total volume, BV/TV)、骨表面积/骨体积(bone surface/bone volume, BS/BV)、骨小梁厚度(trabecular bone thickness, Tb.Th)、骨小梁数量(trabecular bone number, Tb.N)值。

**1.6.2 踝关节组织病理学观察** 按“1.6.1”项方法制备踝关节组织切片,采用苏木素-伊红(HE)染色法观察踝关节组织病理学表现,阿利新蓝染色

法观察踝关节软骨组织蛋白多糖的表达,采用抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)染色法观察踝关节骨组织破骨细胞情况<sup>[12]</sup>。

1.6.3 ELISA法检测外周血中炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-17、IL-23和IL-10的含量 处死大鼠后,前颈动脉采血0.5 mL,以1 200 r/min 4℃离心10 min,收集上清液。具体操作方法严格按照TNF- $\alpha$ 、IL-17、IL-23、IL-10等ELISA试剂盒说明书进行。

1.6.4 蛋白免疫印迹法检测踝关节组织Osx、COL1A1、OC的表达 末次给药后24 h脱颈处死大鼠,取踝关节置于液氮快速冷冻,制成踝关节匀浆,提取总蛋白并调节各组蛋白浓度相同,依次进行十二烷基硫酸钠(SDS)-聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)分离蛋白、转移蛋白至PVDF膜、以50 g/L脱脂奶粉室温封闭2 h、Osx(1:500)4℃孵育过夜、二抗孵育2 h、显影曝光等步骤。最后应用ImageJ软件分析目标蛋白条带灰度值。COL1A1、OC等指标的检测方法同上。

1.6.5 实时定量聚合酶链反应(RT-PCR)法检测踝关节组织骨吸收功能相关基因OSCA、TRAP的表达情况 取大鼠踝关节标本,切片机切碎后使用胰蛋白酶消化,使用TRIzol试剂提取总RNA,测定RNA浓度和纯度后,用反转录试剂盒合成cDNA,用PCR仪进行扩增。PCR反应条件:95℃ 5 min, 95℃ 10 s, 65℃ 30 s, 72℃ 1 min进行40个循环。具体步骤按照试剂盒方法操作。采用2<sup>- $\Delta\Delta C_t$</sup> 法计算目的基因的相对表达量,以GADPH为内参。OSCAR上游引物序列为5'-TGTTGGCTGCCGCTCACTTTG-3',下游引物序列为5'-GACGCTGCTCGCTCCATTAC-3'; TRAP上游引物序列为5'-CTGTGCTCTGCGGTCTCA-3',下游引物序列为5'-TTCGTCTCCATCAGTC-3'; GADPH上游

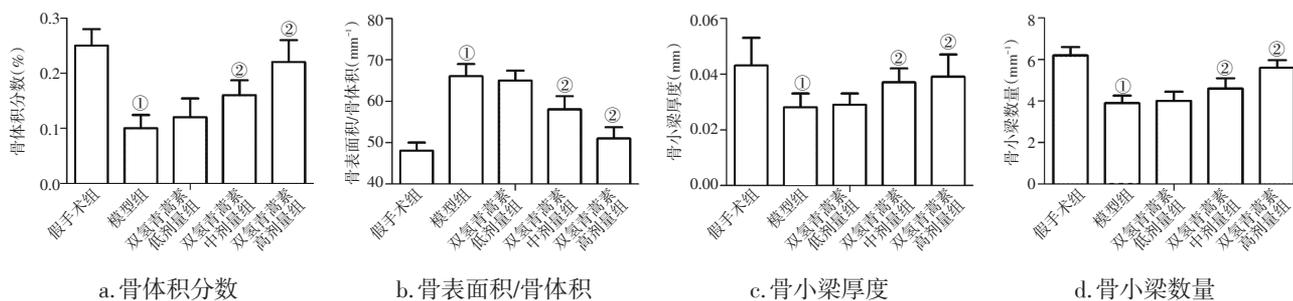
引物序列为5'-CTCAGACACCATGGGGAGGTGA-3',下游引物序列为5'-ATGATCTTGAGGCTGTTGTCATA-3'。

1.7 统计方法 采用SPSS 22.0统计软件进行数据分析,采用GraphPad Prism 5软件作图。计量数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步组间两两比较采用LSD法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠骨指标水平比较 图1结果显示:与假手术组比较,模型组大鼠骨体积分数、骨小梁厚度、骨小梁数量显著降低,骨表面积/骨体积显著升高(均 $P < 0.05$ );与模型组比较,双氢青蒿素低、中、高剂量组大鼠骨体积分数、骨小梁厚度、骨小梁数量升高,骨表面积/骨体积降低,且呈剂量依赖性,其中双氢青蒿素中、高剂量组差异有统计学意义(均 $P < 0.05$ )。

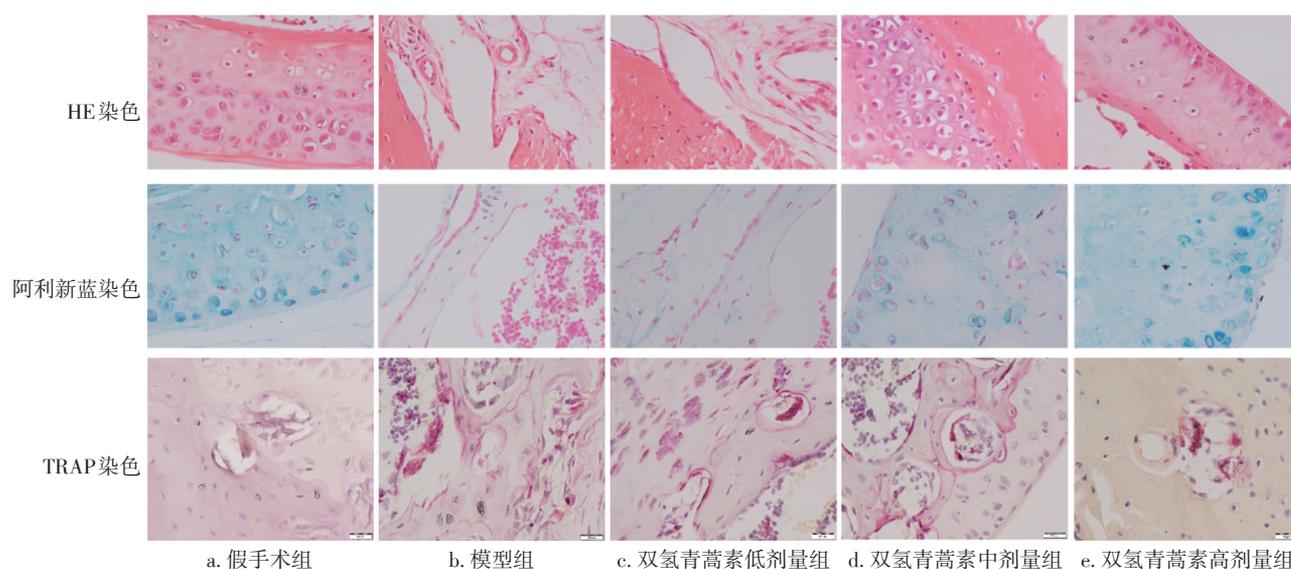
2.2 各组大鼠踝关节病理学表现比较 图2结果显示:从HE染色结果可见,假手术组大鼠踝关节无炎症和软骨损伤,模型组大鼠踝关节滑膜增生,炎性细胞浸润,软骨损伤严重,使用低、中、高剂量的双氢青蒿素处理后大鼠踝关节炎性浸润显著改善,滑膜增生得到了显著的改善。从阿利新蓝染色结果可见,假手术组大鼠踝关节软骨组织蛋白多糖有较强表达,模型组大鼠软骨组织基本无蛋白多糖表达,使用低、中、高剂量的双氢青蒿素处理后大鼠软骨组织中蛋白多糖表达显著增加。从TRAP染色结果可见,与假手术组比较,模型组大鼠踝关节骨组织破骨细胞明显增多,使用低、中、高剂量的双氢青蒿素处理后大鼠踝关节骨组织破骨细胞数量较模型组明显减少。



① $P < 0.05$ , 与假手术组比较; ② $P < 0.05$ , 与模型组比较

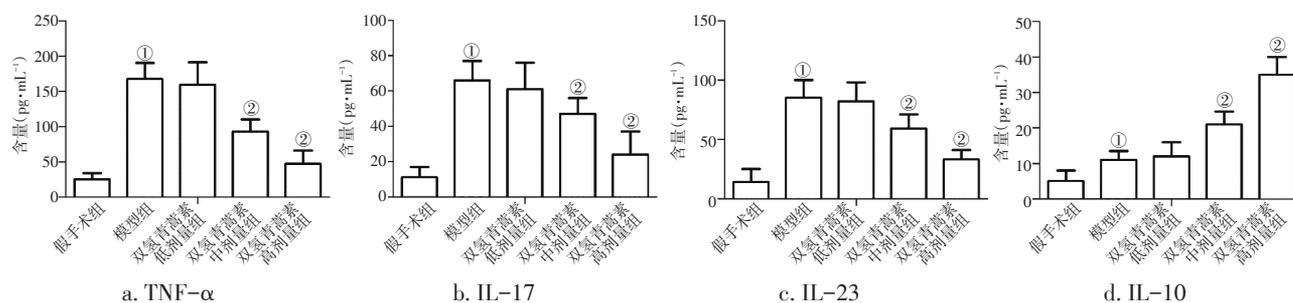
图1 各组大鼠骨指标水平比较

Figure 1 Comparison of the levels of bone indexes in rats of various groups

图2 各组大鼠踝关节病理学表现比较( $\times 400$ )Figure 2 Comparison of the pathological features of rat ankle tissue in various groups ( $\times 400$ )

2.3 各组大鼠外周血中炎症相关因子TNF- $\alpha$ 、IL-17、IL-23和IL-10含量比较 图3结果显示:与假手术组比较,模型组大鼠外周血中炎症相关因子TNF- $\alpha$ 、IL-17、IL-23和IL-10含量均显著升高( $P < 0.05$ );与模型组比较,双氢青蒿素低、

中、高剂量组大鼠外周血中炎症相关因子TNF- $\alpha$ 、IL-17、IL-23含量降低,IL-10含量升高,且呈剂量依赖性,其中双氢青蒿素中、高剂量组差异有统计学意义(均 $P < 0.05$ )。

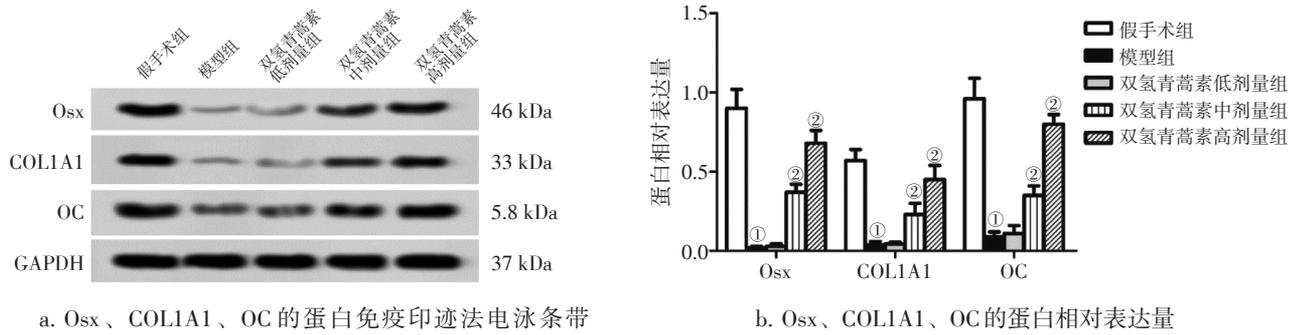


① $P < 0.05$ , 与假手术组比较; ② $P < 0.05$ , 与模型组比较

图3 各组大鼠外周血中炎症相关因子TNF- $\alpha$ 、IL-17、IL-23和IL-10表达水平比较Figure 3 Comparison of the levels of inflammation-related factor TNF- $\alpha$ , IL-17, IL-23, IL-10 in rat peripheral blood of various groups

2.4 各组大鼠踝关节组织成骨标记物O<sub>sx</sub>、COL1A1、OC表达情况比较 图4结果显示:与假手术组比较,模型组大鼠踝关节组织O<sub>sx</sub>、COL1A1、OC的相对表达水平显著降低( $P < 0.05$ );与模型组比较,双氢青蒿素低、中、高剂量组大鼠踝关节组织O<sub>sx</sub>、COL1A1、OC的相对表达水平升高,且呈剂量依赖性,其中双氢青蒿素中、高剂量组差异有统计学意义(均 $P < 0.05$ )。

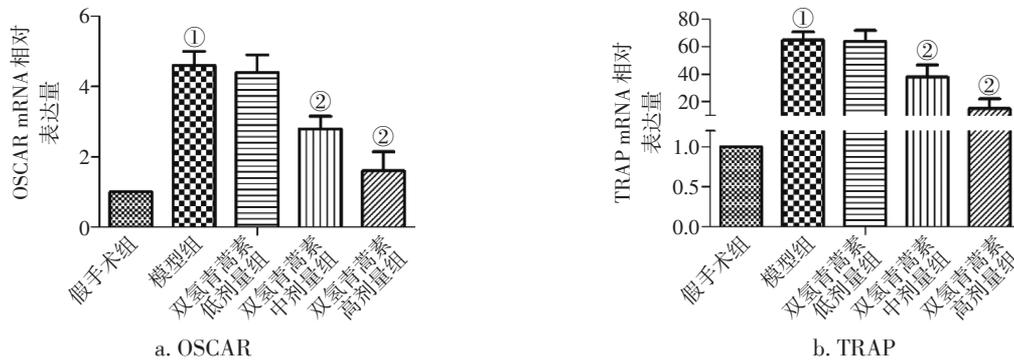
2.5 各组大鼠踝关节组织骨吸收功能相关基因OSCAR、TRAP表达情况比较 图5结果显示:与假手术组比较,模型组大鼠踝关节组织OSCAR、TRAP mRNA表达水平均显著升高( $P < 0.05$ );与模型组比较,双氢青蒿素低、中、高剂量组大鼠踝关节组织OSCAR、TRAP mRNA表达水平均降低,且呈剂量依赖性,其中双氢青蒿素中、高剂量组差异有统计学意义(均 $P < 0.05$ )。



① $P < 0.05$ , 与假手术组比较; ② $P < 0.05$ , 与模型组比较

图4 各组大鼠踝关节组织成骨标记物Osx、COL1A1、OC表达情况比较

Figure 4 Comparison of the expression levels of osteogenic marker Osx, COL1A1, OC in rat ankle tissue of various groups



① $P < 0.05$ , 与假手术组比较; ② $P < 0.05$ , 与模型组比较

图5 各组大鼠踝关节组织骨吸收功能相关基因OSCAR、TRAP表达情况比较

Figure 5 Comparison of the expression levels of bone resorption function-related gene OSCAR, TRAP in rat ankle tissue of various groups

### 3 讨论

类风湿关节炎(RA)发病机制复杂,受多种因素的影响,这些因素导致机体免疫调节失衡和过度的炎症反应,从而引起关节结构的破坏。骨体积分数(骨体积/总量)、骨小梁厚度、骨小梁数量主要反映骨组织的密度<sup>[13-15]</sup>。本研究结果显示:与假手术组比较,模型组大鼠骨体积分数、骨小梁厚度、骨小梁数量均显著降低,骨表面积/骨体积显著升高(均 $P < 0.05$ );从HE染色结果可见,滑膜增生,炎性细胞浸润,软骨损伤严重;从阿利新蓝染色结果可见,软组织基本无蛋白多糖表达,而经双氢青蒿素干预后上述情况均得到改善。表明双氢青蒿素可显著改善RA软骨损伤情况并提高骨密度。

RA滑膜组织中炎症因子可通过刺激胶原酶和前列腺素E诱导损伤软骨和骨骼<sup>[16]</sup>。目前,研究较多的炎症因子主要包括促炎症因子和抑炎症因

子,其中,促炎症因子主要由辅助性T淋巴(TH)1细胞分泌,主要包括TNF- $\alpha$ 、IL-17、IL-23等。抑炎症因子主要由TH2细胞分泌,主要包括IL-10、IL-4、IL-13等。本研究结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠外周血中炎症相关因子TNF- $\alpha$ 、IL-17、IL-23和IL-10含量均显著升高( $P < 0.05$ ),而经双氢青蒿素干预可以调节上述趋势,有效抑制促炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-17、IL-23的升高,促进抑炎症因子IL-10的分泌,表明双氢青蒿素可以改善大鼠滑膜组织炎症反应。

RA发病伴随软骨、骨质损伤。Osx为锌指DNA结合蛋白,在骨组织发育中呈高表达,Osx缺失阻碍骨组织形成,是成骨细胞分化和骨形成过程中的重要转录因子<sup>[17]</sup>。COL1A1是主要由成骨细胞合成的1型胶原蛋白,为骨基质组成成分,COL1A1可促进胶原成熟、成骨细胞分化、促进矿物质沉积,加速骨组织形成<sup>[18]</sup>。OC是由成骨细胞

合成并分泌的骨钙素,是成熟骨细胞的主要标志物,在成骨细胞分化、骨基质矿化时水平升高<sup>[19]</sup>。本研究结果显示,RA大鼠骨组织O<sub>sx</sub>、COL1A1和OC水平显著降低,而双氢青蒿素干预可下调升高的O<sub>sx</sub>、COL1A1和OC水平,表明双氢青蒿素可以促进RA大鼠软骨组织修复。

发生RA时,常伴随着骨质疏松和骨质重塑等过程,此过程涉及破骨细胞、成骨细胞,两者分别吸收受损旧骨、形成新骨<sup>[20]</sup>。当破骨细胞增多、成骨细胞减少,则会出现骨密度减少、关节炎的现象<sup>[21]</sup>。OSCAR是破骨细胞相关受体,其水平与破骨细胞数量呈正相关,当OSCAR水平升高时破骨细胞数量增加,反之则是破骨细胞数量减少。TRAP是抗酒石酸酸性磷酸酶,是破骨细胞的标志酶,为破骨细胞所特有,当TRAP表达缺乏或者过度时会出现骨硬化和骨质疏松<sup>[22]</sup>。本研究结果显示,与假手术组比较,RA大鼠骨组织OSCAR mRNA、TRAP mRNA相对表达水平显著升高,且破骨细胞增多,而双氢青蒿素干预后,OSCAR mRNA、TRAP mRNA相对表达水平显著降低,且破骨细胞呈降低趋势,表明双氢青蒿素可以促进RA大鼠软骨生长。

综上所述,双氢青蒿素可以通过抑制Ⅱ型胶原诱导RA大鼠炎症反应,促进软骨修复,改善RA。

#### 参考文献:

- [1] ABREU L, KUCHER F, ECKSTEIN V, et al. P001 Differential expression of key metabolic genes in antigen-specific B cell subsets in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus [J]. *Ann Rheum Dis*, 2019, 78(1): A1.1-A1.
- [2] 孙莉, 王晓非. IGFBP-6与类风湿关节炎关系的研究进展[J]. *医学综述*, 2019, 7(11): 58-62.
- [3] ABBASI M, MOUSAVI M J, JAMALZEHI S, et al. Strategies toward rheumatoid arthritis therapy; the old and the new [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(7): 10018-10031.
- [4] ROWAN H, COOPER M S. Unravelling how glucocorticoids work in rheumatoid arthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2018, 7(21): 387-391.
- [5] 贾文瑞, 赵永星. 类风湿关节炎的中医药研究进展[J]. *中医药信息*, 2019, 36(1): 121-124.
- [6] 蒋为薇, 钱妍. 青蒿素类药物的抗炎免疫作用机制及其安全性研究进展 [J]. *免疫学杂志*, 2019, 35(7): 630-636.
- [7] 王光辉, 钟鸣, 郑公朴, 等. 青蒿素对老年小鼠学习记忆及炎性细胞因子和单胺类神经递质的影响[J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2018, 7(7): 593-597.
- [8] 杜成成, 谭余庆, 沈建英, 等. 双氢青蒿素对两种类风湿关节炎模型的影响及机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(10): 48-56.
- [9] FUJII Y, INOUE H, ARAI Y, et al. Treadmill running in established phase arthritis inhibits joint destruction in rat rheumatoid arthritis models [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(20): 5100.
- [10] 陈哲, 郭艳幸. 类风湿关节炎实验动物模型研究综述[J]. *风湿病与关节炎*, 2015, 4(12): 67-70.
- [11] LI Y N, FAN M L, LIU H Q, et al. Dihydroartemisinin derivative DC32 inhibits inflammatory response in osteoarthritic synovium through regulating Nrf2/NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 74: 105701.
- [12] 肖壮, 唐涛, 朱成华, 等. 破骨细胞在骨关节炎中的增殖变化及意义[J]. *重庆医学*, 2017, 46(30): 4181-4184.
- [13] COHEN D J, SCOTT K M, KULKARNI A N, et al. Acellular mineralized allogenic block bone graft does not remodel during the 10 weeks following concurrent implant placement in a rabbit femoral model [J]. *Clin Oral Imp Res*, 2020, 31(5): 23-27.
- [14] BAJWA N M, SANCHEZ C P, LINDSEY R C, et al. Cortical and trabecular bone are equally affected in rats with renal failure and secondary hyperparathyroidism [J]. *BMC Nephrol*, 2018, 19(1): 24-27.
- [15] WATSON P J, FITTON L C, MELORO C, et al. Mechanical adaptation of trabecular bone morphology in the mammalian mandible [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 7277-7281.
- [16] 锁星星, 娄方明, 裘影影, 等. 治疗前后RA患者血清炎症因子水平及单个核细胞、滑膜成纤维细胞炎症因子基因表达观察[J]. *山东医药*, 2020, 60(3): 50-53.
- [17] 訾慧, 范颖, 蒋宁, 等. 淫羊藿次苷 I 及淫羊藿次苷 II 通过 BMP/Runx2/Osx 信号通路促进大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化的实验研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2019, 25(5): 690-695.
- [18] 谢玉, 周诺. I 型胶原诱导骨髓间充质干细胞及成骨细胞的成骨分化机制 [J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(21): 3417-3423.
- [19] 邢晓林, 刘昊凌. 骨钙素对动脉粥样硬化作用的研究进展[J]. *现代医学*, 2018, 46(6): 732-735.
- [20] 张健豪. 靶向调控破骨细胞活性治疗骨质疏松的研究进展[J]. *医学理论与实践*, 2019, 32(11): 1653-1655.
- [21] 邢洪波, 许桓溪, 朱雪梅. CC趋化因子受体2缺失降低正畸牙齿运动中破骨细胞和成骨细胞活性的研究[J]. *海军医学杂志*, 2019, 40(4): 314-317.
- [22] 刘立丽, 骆雄飞, 刘斯文, 等. 力学刺激与淫羊藿苷耦合作用抑制疲劳损伤诱导破骨细胞分化的分子机制研究[J]. *国际生物医学工程杂志*, 2018, 41(5): 386.

【责任编辑: 侯丽颖】