

• 实验研究 •

基于转录组探讨蠲痹颗粒治疗寒证类风湿关节炎的作用机制

夏桃¹, 王忠丽², 倪媛², 杨帆², 杨晨², 孟媛², 朱珊珊², 普勇斌^{1*}

(1. 云南中医药大学第一附属医院, 云南 昆明 650021; 2. 云南中医药大学第一临床医学院, 云南 昆明 650500)

摘要: **目的** 通过对蠲痹颗粒治疗前后的寒证类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)患者和健康人的外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞进行转录组测序及差异基因表达分析, 探讨蠲痹颗粒治疗 RA 的作用机制。 **方法** 2021 年 7 月至 2022 年 6 月期间, 在云南中医药大学第一附属医院风湿科住院部选取 20 例类风湿关节炎患者(RA 组)作为研究对象, 其中女性 13 例(65.0%), 男性 7 例(35.0%), 平均年龄(45.7±10.8)岁。随机分为 2 组, 对照组予甲氨蝶呤口服, 观察组在对照组治疗基础上加服蠲痹颗粒。同时选取云南中医药大学第一附属医院体检中心健康供者 10 例作为健康对照组(HC 组)。分别抽取 2 组 RA 患者治疗前后以及健康对照组的静脉血样, 分离出外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)中的 CD4⁺ T 淋巴细胞, 进行转录组测序。通过差异基因表达分析挖掘蠲痹颗粒治疗 RA 的潜在机制。 **结果** RNA-seq 测序结果显示, 与健康对照组相比, RA 患者共筛得 2 053 个差异表达基因。这些差异基因 GO 分析与已知 GO 数据库中 RA 疾病显著相关的 12 个生物学过程显著重合。仅经甲氨蝶呤治疗的 RA 患者, 主要影响炎症反应和肽段酪氨酸的磷酸化; 同时使用甲氨蝶呤加蠲痹颗粒治疗 1 个月后的 RA 患者, 在 RA 疾病显著相关生物学过程的富集明显减少, 仅有 2 个富集, 治疗 3 个月后不再有相关生物学过程富集。 **结论** 蠲痹颗粒可能通过干预 CD4⁺ T 淋巴细胞中与 RA 疾病高度相关的生物学过程达到高效治疗 RA 的目的。

关键词: 类风湿关节炎; 蠲痹颗粒; 转录组学; CD4⁺ T 淋巴细胞

中图分类号: R259

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2024)03-0013-08

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2024.03.003

Mechanism of Juanbi Granule in the Treatment of Cold Syndrome Rheumatoid Arthritis Based on Transcriptomics

XIA Tao¹, WANG Zhongli², NI Yuan², YANG Fan², YANG Chen²,
MENG Yuan², ZHU Shanshan², PU Yongbin¹

(1. The First Affiliated Hospital of Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650021, China;

2. The First Clinical Medical College of Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effective mechanism of Juanbi Granule in treating cold syndrome RA, we performed the transcriptome sequencing and differential expression genes analysis of peripheral blood CD4⁺ T lymphocytes of patients with cold syndrome Rheumatoid arthritis (RA) before and after being treated with Juanbi Granule and healthy people. **Methods** Between July 2021 and June 2022, a total of 20 rheumatoid arthritis patients (RA group) were selected from the inpatient rheumatology department of the First Affiliated Hospital of Yunnan University of Chinese medicine as the study subjects, of which 13 (65.0%) were female and 7 (35.0%) were male, with a mean age of (45.7±10.8) years old. They were allocated into two groups randomly. The comparison group was treated with methotrexate by mouth, and the intervention group received Juanbi granules on the basis of the comparison group's treatment. At the same time, 10 healthy donors from the physical examination Center of the First Affiliated Hospital of Yunnan University of Chinese Medicine were selected as the healthy control group (HC group). CD4⁺ T lymphocytes of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated by venous blood samples of the two groups of RA patients before and after treatment and of the healthy control group, and transcriptome sequencing was performed. Differential gene expression analysis explored the potential mechanism of Juanbi

基金项目: 云南省科技厅-中医联合专项(202101AZ070001-074)

作者简介: 夏桃(1997-), 女, 硕士研究生, 住院医师, E-mail: 925218847@qq.com

* 通信作者: 普勇斌(1977-), 男, 硕士生导师, 副主任医师, 研究方向: 风湿病的中医防治, E-mail: 75173427@qq.com

Granule's prescription in treating RA. **Results** RNA-seq sequencing results showed that 2 053 differentially expressed genes were detected in RA patients compared with healthy controls. These differential gene GO analysis coincide significantly with 12 biological process associated with RA disease in the known GO database. The inflammatory response and the peptidyl-tyrosine phosphorylation were mainly affected in RA patients treated only with methotrexate. However, in RA patients treated with the drug methotrexate and Juanbi Granule for one month, enrichment in these related biological process was significantly reduced, and only two related biological process were enriched. After three months of treatment, there was no enrichment in related biological process. **Conclusion** Juanbi Granule can achieve effective treatment of RA by blocking the biological process highly related to RA disease in CD4⁺ T lymphocytes.

KEY WORDS: rheumatoid arthritis; Juanbi granule; transcriptome sequencing; CD4⁺ T lymphocytes

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是风湿免疫科常见的疾病之一,其主要特征是关节组织的慢性炎症性病变^[1-2]。本病病因、发病机制复杂,其中,免疫系统的功能失调在 RA 发病中扮演着关键角色。免疫系统错误的攻击人体正常组织,特别是关节组织,这种失调可能导致免疫细胞,如 T、B 细胞的异常激活、T 细胞功能紊乱,尤其是抗原提呈细胞和 CD4⁺ T 细胞相互作用导致 Th1、Th17 细胞的活化和 Tregs 功能的抑制,产生炎症性介质和抗体,引起 RA 患者关节滑膜组织慢性炎症,长期的炎症环境不仅导致关节软骨的破坏,还可能引起骨质的侵蚀,从而导致关节功能丧失和残疾^[3]。

RA 属于中医学“痹证”“尪痹”范畴。吴生元教授认为“阳虚邪凑”是尪痹的关键病机,正气不足为发病之内因,而阳虚是关键,阳虚卫外不固,易感风寒湿邪,气血周流湮塞,久之痰瘀酿生,“不荣”与“不通”并存而发为尪痹,并立温阳通络为尪痹治疗大法,广泛应用于临床诊治中。吴生元教授在充分汲取云南吴氏扶阳流派学术思想的精髓,并融合其自身多年临床治疗尪痹的实践经验后,以桂枝附子汤和麻黄附子细辛汤为基础,进行创新性地调整和配方,最终研制出了蠲痹颗粒。该药方包含附子、桂枝、黄芪、细辛等 12 种中药材,具有温阳散寒、祛风除湿、消肿止痛之功,为云南中医药大学第一附属医院院内制剂,临床使用多年,收到了良好的社会效益,并曾荣获云南省优秀制剂品牌称号。经过大量临床实践研究及动物实验研究,蠲痹颗粒被证实在 RA 治疗中临床疗效及安全性良好^[4-9],但目前对其疗效机制尚缺乏全面系统的研究。转录组分析在预测 RA 发病机制和治疗效果的应用中具有广泛性和重要性^[10],RA 的转录组分析一般集中在全外周血单个核细胞(PBMC)^[11],然而在全血样本中,细胞类型特异性会被忽略。CD4⁺ T 细胞在 RA 等

自身免疫性疾病的发生和发展中起着关键作用^[12]。因此本文基于临床 RA 患者 CD4⁺ T 细胞的转录组分析,探讨了蠲痹颗粒治疗 RA 的免疫机制,为其更加深入预测 RA 治疗效果奠定基础。

1 资料方法

1.1 临床资料 选取云南中医药大学第一附属医院风湿科 2021 年 7 月至 2022 年 6 月住院的 20 例类风湿关节炎患者纳入 RA 组,所有患者均满足以下标准:

(1)纳入标准:①符合 1987 年美国风湿病学会修订的类风湿关节炎(RA)分类标准或 2010 年 ACR/EULAR RA 分类标准和评分系统;②符合尪痹-寒湿痹阻证中医证型诊断标准;③年龄在 18~70 岁之间,性别不限;④关节 X 线分期属 I、II 期,关节功能分级属 I、II、III 级;⑤2.6 分≤DAS28 评分≤5.1 分;⑥使用激素、激素疑似物或生物制剂者需停药 3 个月以上;⑦入组至少前 1 周未使用非甾体抗炎药或其他镇痛药;⑧自愿受试,签署知情同意书。

(2)排除标准:①合并其他风湿免疫系统疾病患者,如 SLE、SS 等;②合并心血管、肺部等重要器官、造血系统或肿瘤等严重疾病,或合并各种急慢性感染或其他传染性疾病(肝炎、结核等);③对甲氨蝶呤治疗无反应者;④对试验药物有禁忌症(肺间质纤维化)、可疑或明确过敏者;⑤有酗酒、吸毒史或神经精神异常病史(癫痫、抑郁症等);⑥妊娠或哺乳期妇女,近期有生育计划者;⑦近 2 个月内参加过其他研究或正在参加其他研究者;⑧患者或其家属拒绝签署同意书者。

1.2 标本收集 分别收集符合上述标准的 20 例 RA 住院患者治疗前,以及治疗 1 月、3 月后的外周静脉血 10 mL (EDTA 抗凝)——其中观察组 10 例采用甲氨蝶呤加蠲痹颗粒治疗 and 对照组 10 例仅用甲氨蝶呤治疗,同时收集 10 例正常人的外周静脉血 10 mL

(EDTA 抗凝)。采用淋巴细胞分离液分离 PBMCs, 随后通过 CD4-FITC 磁珠标记分离出 CD4⁺ T 细胞。将分离所得 CD4⁺ T 细胞进行总 RNA 提取, 检测 RNA 质量后, 由菲沙基因科技有限公司进行建库并测序。

1.3 RNA-seq 测序数据分析及差异基因表达分析

1.3.1 测序滤过原始数据质控对比 首先对 20 例 RA 组患者治疗前后的样本与 10 例健康人 (HC 组) 样本进行原始数据过滤, 去除接头后去除低质量的测序 reads。最终过滤得到的测序数据均是高质量且碱基分布均匀的 reads。HISAT2 用于测序数据比对, 使用 hg19 人类参考基因组版本。HTSeq-count 用于基因中的 reads 计数。

1.3.2 差异基因表达分析 采用 DESeq2 对 2 组间基因进行差异表达分析。使用 Benjamini 方法进行错误发现率的校正, 调整计算所得的 *P* 值。具有 $|\log_2FC| >$

1 且调整后 *P* 值小于 0.05 的基因被定义为差异表达基因。

1.3.3 基因富集 (gene ontology, GO) 分析 利用 GO 数据库找到了与 RA 疾病显著相关通路, 使用 Fisher 精确检验进行显著性分析, 对比差异基因进行 GO 显著性富集分析。

1.4 统计学分析 所得数据用 SPSS 27.0 统计软件及做出处理。统计分析软件 R 进行数据分析, 使用 ggplot2, clusterProfiler 包进行可视化分析。

2 结果

2.1 治疗前受试者一般资料比较

2.1.1 2 组 RA 患者一般资料比较 RA 组患者共 20 例, 将其随机分为观察组、对照组各 10 例。2 组患者性别、年龄、血沉、C-反应蛋白、DAS-28 评分等一般资料比较无统计学差异 ($P > 0.05$), 具有可比性。见表 1。

表 1 2 组 RA 患者一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	男	女	年龄 (岁)	血沉 (mm/h)	CRP (mg/L)	DAS-28
观察组	10	4	6	45.2±10.16	27.7±16.17	25.27±23.48	4.19±0.71
对照组	10	3	7	46.3±11.93	30.7±19.36	18.1±13.96	4.21±0.72

2.1.2 RA 患者与 HC 组一般资料比较 同时选取云南中医药大学附属第一医院体检中心健康供者 10 例作为健康对照组 (HC 组)。2 组受试者性别、年龄等一般资料比较无统计学差异 ($P > 0.05$), 具有可比性, 见表 2。

表 2 RA 患者与 HC 组一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	男	女	年龄 (岁)
RA 组	20	7	13	45.7±10.80
HC 组	10	3	7	43.1±15.53

2.2 RNA 测序结果分析及差异表达基因注释 本研究共完成 30 例 (RA 组 20 例, HC 组 10 例) CD4⁺ T 细胞样本的转录组测序分析。经质量控制和标准化处理, 所有样本满足质量要求, 测序无偏向性, 所得序列在基因上均匀分布。使用 DESeq2 对 RA 组和 HC 组的样本进行差异表达分析, 并利用火山图对这些差异表达基因进行可视化展示 (图 1)。依据调整后 *P* 值小于 0.05, 以及 $|\log_2FC| > 1$ 的筛选标准, 在 RA 组和 HC 组中筛选出 2 053 个差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs), 其中上调的有 230 个, 下调的

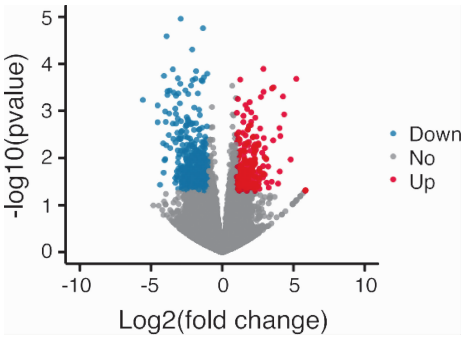


图 1 HC 和 RA 患者 CD4⁺ T 细胞差异表达基因火山图

有 1 823 个。我们对 RA 组和健康组的差异基因进行了热图分析, 发现不同样本之间的差异表达基因有相同的表达模式 (图 2)。把这些 DEGs 归类到生物过程 (BP)、细胞成分 (CC) 和分子功能 (MF) 3 个类别上, 采用 GO 注释气泡图 (图 3) 展示。为了进一步简化注释, 我们将涉及到的生物学过程根据相似度进行合并, 功能集的关联网络图 (图 4) 展示 DEGs 主要富集在生殖系统发育、生殖结构发育、神经元发育调控、节律过程和细胞碳水代谢过程等五大主要生物学过程。为进一步探索 RA 中这些 DEGs 的潜在生物学功能, 我们对 DEGs 中上调和下调基因分别进行 GO 富集

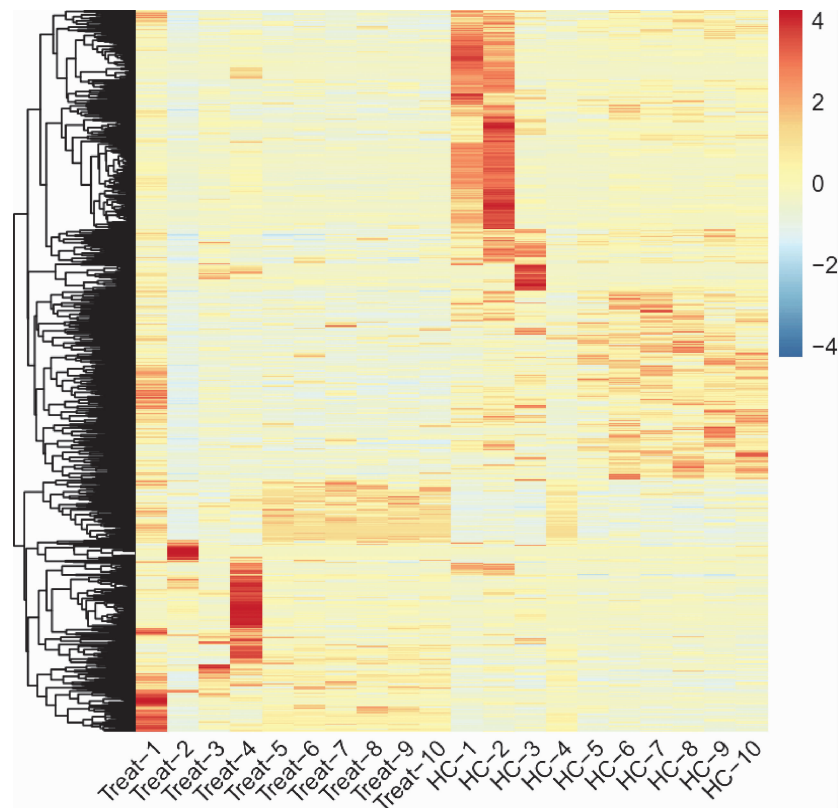


图 2 HC 和 RA 患者 CD4⁺ T 细胞差异表达基因热图

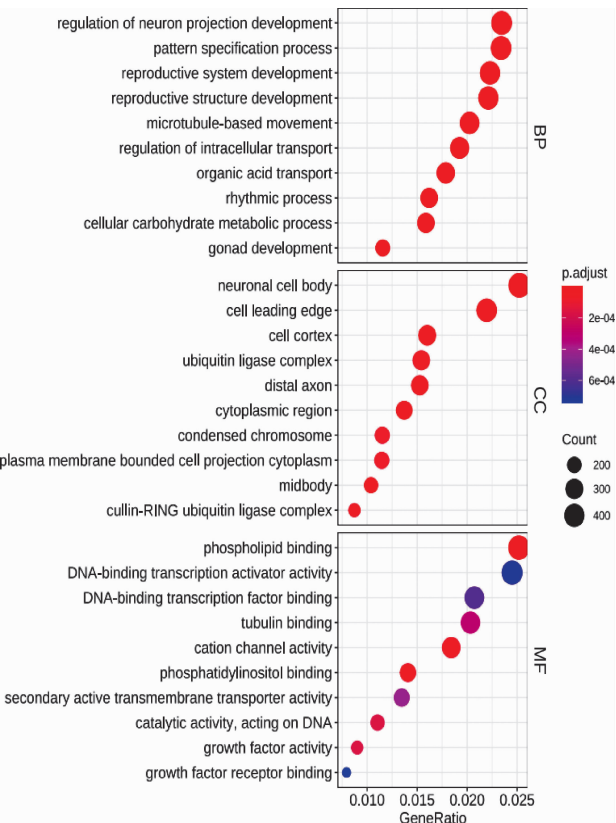


图 3 HC 组和 RA 组 DEGs 在生物过程(BP)、细胞成分(CC)和分子功能(MF)3 个类别的 GO 注释气泡图

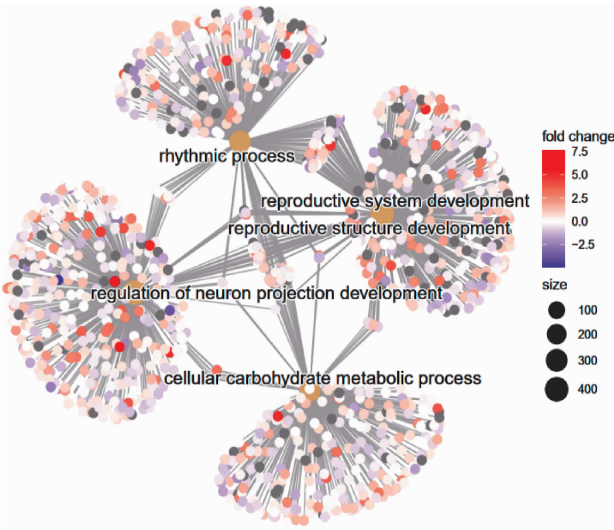


图 4 RA 组 DEGs 与所在的功能集的关联网图

分析,结果显示上调的 DEGs 主要与对细菌源分子的反应(response to molecule of bacterial origin)、对脂多糖的反应(response to lipopolysaccharide)、肽段苏氨酸去磷酸化(peptidyl-threonine dephosphorylation)等蛋白激酶调控生物学过程有关(图 5),而下调的 DEGs 则主要与 Notch 信号负调控(negative regulation of Notch pathway)有关(图 6)。

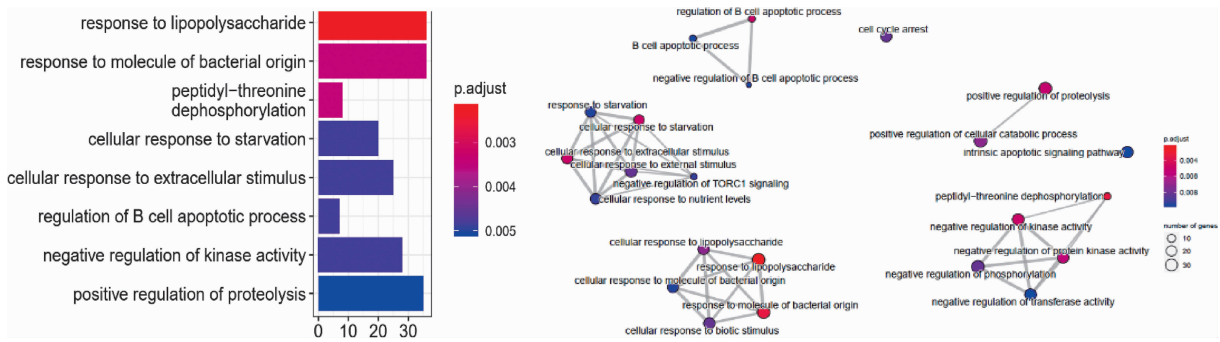


图 5 DEGs 上调基因生物学过程

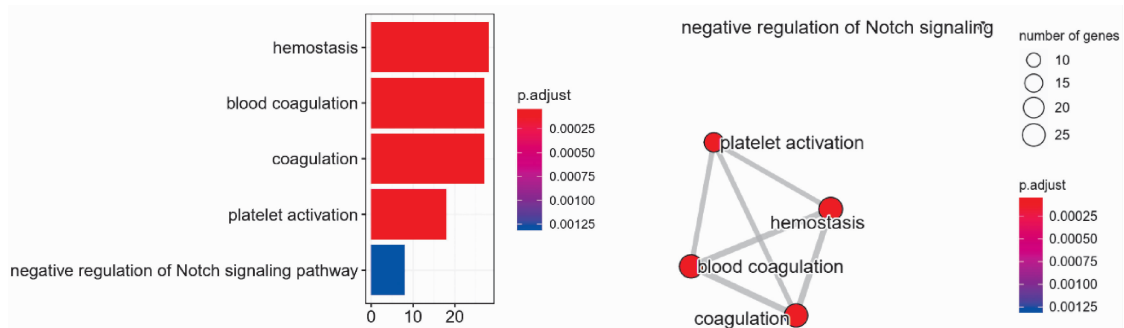


图 6 DEGs 下调基因生物学过程

2.3 相关基因注释 我们首先在 genecard 数据库找到了与类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)相关的 5 081 个基因,使用 clusterProfiler 软件包进行基因本体(gene ontology, GO)富集分析,结果显示与 RA 相关的基因显著富集于对细菌来源分子的响应(response to molecule of bacterial origin)、对脂多糖的反应(response to lipopolysaccharide)、T 细胞激活的调控(regulation of T cell activation)、白细胞细胞间黏附的调控(regulation of leukocyte cell-cell adhesion)、炎症反应的调控(regulation of inflammatory response)、肽基络氨酸磷酸化(peptidyl-tyrosine phosphorylation)、肽基络氨酸修饰(peptidyl-tyrosine modification)、单核细胞分化(mononuclear cell differentiation)、淋巴细胞分化(lymphocyte differentiation)、白细胞增殖(leukocyte proliferation)、白细胞细胞间黏附(leukocyte cell-cell adhesion)、细胞趋化性(cell chemotaxis)等 12 个生物学过程。随后我们将其所包含的基因列表全部下载,与本研究 2 组 RA 患者 CD4⁺ T 细胞差异表达基因进行 Fisher 精确检验,查看彼此之间是否具有显著富集,结果显示我们筛选得到的差异表达基因与这 12 个基因列表显著重合(图 7)。

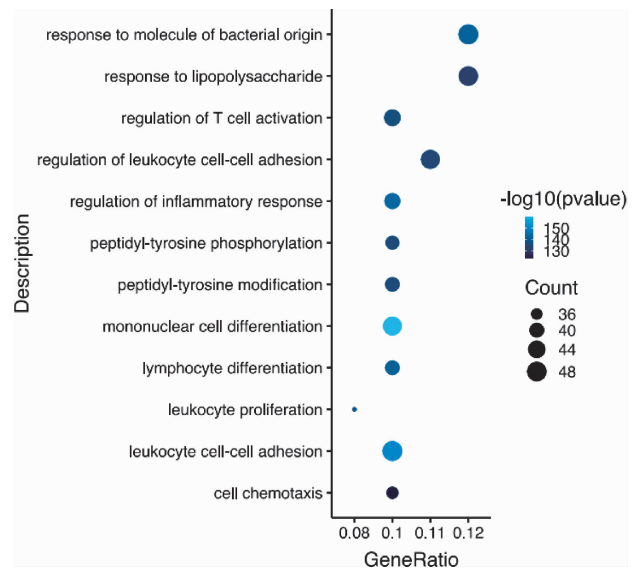


图 7 本研究 RA 患者治疗前的 DEGs 与 GO 数据库 RA 疾病显著重合的生物学过程

为进一步探究薏苡颗粒治疗 RA 的作用机制,我们分别对观察组和健康对照组的 DEGs 与该疾病显著相关的 12 个生物学过程基因列表进行 Fisher 检验,以及对对照组和健康对照组的 DEGs 与该疾病显著相关的 12 个生物学过程基因列表进行 Fisher 检验。结果显示,对照组与健康对照组的 DEGs 主要是影响了炎症反应的调控(图 8),治疗 3 个月后,还影响了

淋巴细胞分化(图9)。而观察组与健康对照组的 DEGs, 1 个月后只剩下 2 个相关显著重合生物学过程依然有富集(图10), 治疗 3 个月后 RA 组样本不再有相关显著重合生物学过程富集, 故没有可视化结果。综上所述, 蠲痹颗粒治疗 RA 的作用机制可能是其抑制了与 RA 疾病高度相关的生物学过程。

3 讨论

RA 是一种影响关节滑膜的自身免疫性疾病, 其发病机制与机体免疫功能紊乱相关^[13]。大量研究表明, CD4⁺ T 细胞在 RA 发病过程中扮演了重要角色^[14-15], 但不同亚群和功能的 CD4⁺ T 细胞对 RA 活性影响仍有争议。本研究团队在前期研究中发现蠲痹颗粒对寒湿痹阻型 RA 的治疗有显著疗效^[5-6], 在 RA 患者接受蠲痹颗粒治疗 1 个月后病情有所改善, 在治疗 3 个月后则有显著改善。为进一步探究蠲痹颗粒治疗 RA 的作用机制, 本研究采集了 RA 患者和健康人的外周血并对其 CD4⁺ T 细胞进行转录组测序。结果显示 RA 患者与健康人相比, 存在大量的显著差异表达基因。脂多糖(LPS)、脂磷壁酸(LTA)和细菌 DNA 等病原相关分子模式(PAMPs)能被模式识别受体(PRRs)识别, 在固有免疫中发挥重要作用, 然而, 当 PRRs 被过度激活或错误地识别自身抗原时, 可能导致自身免疫性疾病的发生^[16]。Herbert B. Allen^[17]等通过病理染色实验证实 RA 患者皮肤结节中存在生物膜, 提示微生物, 尤其是革兰氏阴性菌可能参与了 RA 的发病。LPS 是革兰氏阴性菌细胞壁外壁的组成成分, 作为典型的内源性危险信号分子之一, 可通过激活单核细胞和巨噬细胞、Toll 样受体 4(TLR4)信号通路等途径, 释放炎症因子和趋化因子, 从而诱导和促进关节炎, 导致 RA 的发病^[18]。蛋白质的磷酸化与去磷酸化是关键信号调控机制, 当这两种修饰失衡可能会导致炎症信号的持续激活, 苏氨酸和酪氨酸磷酸化酶的活性异常可激活 MAPK、JNK 等信号通路^[19], 而这些信号通路的持续激活可促进炎症反应和关节损伤。Notch 信号通路是一条高度保守的细胞间信号转导通路, 参与了细胞分化、发育、组织形成和稳态等多种生物过程。Notch 信号通路的转导失调可通过加速促炎细胞因子的产生、使关节滑膜缺氧、调节 T 细胞的分化等机制在 RA 的发病中发挥作用^[20]。通过 RA 患者与健康

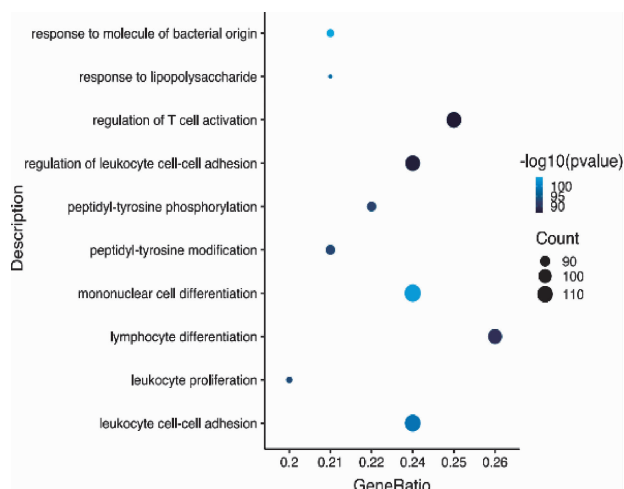


图 8 治疗 1 个月后对照组和健康对照组的 DEGs 与 RA 显著相关生物学过程 Fisher 检验

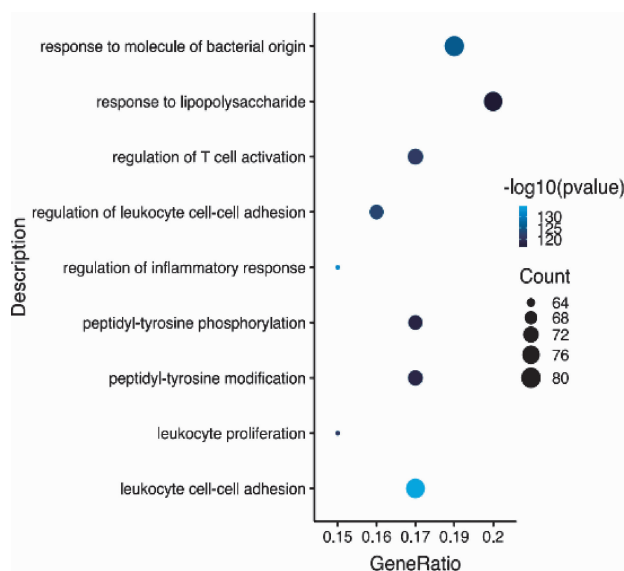


图 9 治疗 3 个月后对照组和健康对照组的 DEGs 与 RA 显著相关生物学过程 Fisher 检验

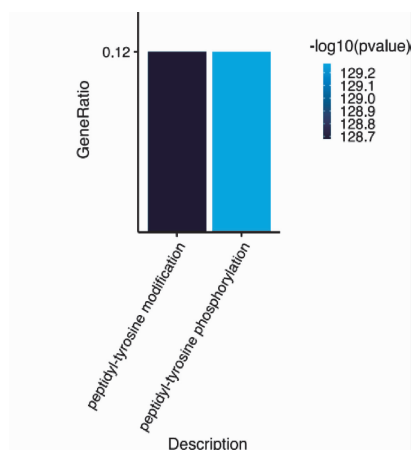


图 10 治疗 1 个月后观察组和健康对照组的 DEGs 与 RA 显著相关生物学过程 Fisher 检验

对照组 DEGs 中上调和下调基因分别进行 GO 富集分析可见,RA 的发病可能与免疫细胞被激活、炎症反应的加剧以及细胞信号转导途径的异常有关。

RA 患者与健康人的差异表达基因 GO 分析结果与已知数据库中 RA 疾病显著富集的 12 个相关生物学过程一致。我们进一步分别将治疗 1 个月和 3 个月后的血样 CD4⁺ T 细胞进行转录组分析,结果发现,与已知数据库中 RA 疾病显著富集的 12 个相关生物学过程相比,仅经甲氨蝶呤治疗的 RA 患者,主要影响了炎症反应和淋巴细胞分化通路。而同时使用甲氨蝶呤加薏苡仁颗粒治疗 1 个月后的 RA 患者在这些相关生物学过程的富集明显减少,仅有 2 个相关生物学过程富集,治疗 3 个月后则不再有相关生物学过程富集。除了上述提到的对脂多糖的反应、对细菌源分子的反应及蛋白质修饰等生物学过程外,还包括对 T 细胞激活、炎症反应的调控、细胞趋化、单核、淋巴细胞分化以及白细胞增殖及其细胞间黏附等重要的生物学过程。许多白细胞,如单核细胞、B 细胞、T 细胞是免疫细胞的核心成员,他们在 RA 的发病中起到至关重要的作用。人体口腔、肠道等部位的蛋白质在环境因素的可能作用下进行瓜氨酸化修饰,抗原提呈细胞(APC)尤其是树突状细胞识别这个新抗原后将其加工处理提呈给 T 细胞或刺激 B 细胞分化为浆细胞产生抗瓜氨酸肽抗体(ACPA)这一自身特异性抗体,并引起一系列免疫反应,免疫耐受被破坏继而攻击机体自身组织或器官^[21]。T 细胞尤其是 CD4⁺T 细胞在 RA 的发病中具有重要地位,T 细胞的功能失调可能导致免疫调节失衡^[22],从而促进自身免疫反应,活化的 T 细胞能够产生多种炎症介质,如细胞因子和趋化因子,吸引其他免疫细胞到达炎症部位,进一步加剧炎症反应。同时,T 细胞还可以与抗原呈递细胞(如巨噬细胞和滑膜细胞)相互作用,激活这些细胞并介导炎症反应、刺激 B 细胞产生自身抗体,进一步推动 RA 的病程。

综上所述,薏苡仁颗粒能够通过阻断诱发 RA 疾病高度相关的生物学过程来达到治疗 RA 的目的。但本研究未对 RA 其他相关生物学过程及信号通路进行对比分析,薏苡仁颗粒是否还对 RA 其他通路有影响有待进一步研究。同时,薏苡仁颗粒治疗 RA 后影响淋巴

细胞分化,而自身免疫疾病通常与 CD4⁺ T 细胞不同亚群分化不平衡引起^[23],包括 naïve, Th1, Th17, Tfh, Treg 细胞等。因此,未来研究可进一步将薏苡仁颗粒治疗后的 RA 患者 CD4⁺ T 细胞的不同亚群分别进行 RNA-seq 测序分析,更加深入分析薏苡仁颗粒对 RA 患者 CD4⁺ T 细胞不同亚群功能的影响。

参考文献:

- [1] HU H, LUAN L, YANG K, et al. Burden of rheumatoid arthritis from a societal perspective: a prevalence-based study on cost of this illness for patients in China[J]. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 2018, 21 (8): 1572-1580.
- [2] MCINNES I B, SCHETT G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. *New England Journal of Medicine*, 2011, 365 (23): 2205-2219.
- [3] REYNOLDS G, GIBBON J R, PRATT A G, et al. Synovial CD4⁺ T-cell-derived GM-CSF supports the differentiation of an inflammatory dendritic cell population in rheumatoid arthritis [J]. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2016, 75 (5): 899-907.
- [4] 李兆福, 刘维超, 彭江云, 等. 薏苡仁颗粒联合甲氨蝶呤片治疗活动性类风湿关节炎 140 例临床观察[J]. *中医杂志*, 2014, 55 (18): 1566-1570.
- [5] 李兆福, 彭江云, 杨会军, 等. 薏苡仁颗粒治疗寒湿痹阻型类风湿关节炎 60 例临床观察[J]. *中国中医药科技*, 2014 (3): 291-292.
- [6] 彭江云, 李兆福, 刘维超, 等. 薏苡仁颗粒治疗类风湿关节炎 40 例临床疗效观察[J]. *云南中医中药杂志*, 2009, 30 (12): 12-14.
- [7] 万春平, 彭江云, 李玲玉, 等. 薏苡仁颗粒抗炎作用及机制的研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20 (10): 117-121.
- [8] 吴晶金, 彭江云, 万春平, 等. 薏苡仁颗粒对胶原诱导性关节炎模型大鼠滑膜炎症的影响[J]. *风湿病与关节炎*, 2014, 3 (5): 16-19.
- [9] 万春平, 彭江云, 李兆福, 等. 薏苡仁颗粒对胶原诱导性小鼠关节炎的抑制作用及机制研究[J]. *中药材*, 2013 (9): 1505-1507.
- [10] SUMITOMOS, NAGAFUCHI Y, TSUCHIDA Y, et al. Transcriptome analysis of peripheral blood from patients with rheumatoid arthritis: a systematic review[J]. *Inflammation*

- and Regeneration, 2018, 38:1-5.
- [11] SELLAM J, MARION-THORE S, DUMONT F, et al. Use of whole-blood transcriptomic profiling to highlight several pathophysiologic pathways associated with response to rituximab in patients with rheumatoid arthritis: data from a randomized, controlled, open-label trial[J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2014, 66(8):2015-2025.
- [12] YANG P, QIAN F Y, ZHANG M F, et al. Th17 cell pathogenicity and plasticity in rheumatoid arthritis[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2019, 106(6):1233-1240.
- [13] SMOLEN J S, ALETAHA D, MCINNES I B. Rheumatoid arthritis[J]. *Lancet*, 2016, 388(10055):2023-2038.
- [14] FLOUDAS A, NETO N, ORR C, et al. Loss of balance between protective and pro-inflammatory synovial tissue T-cell polyfunctionality predates clinical onset of rheumatoid arthritis[J]. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2022, 81(2):193-205.
- [15] ARGYRIOU A, WADSWORTH M H, LENDVAI A, et al. Single cell sequencing identifies clonally expanded synovial CD4⁺ T_H17 cells expressing GPR56 in rheumatoid arthritis[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1):4046.
- [16] TAKEUCHI O, AKIRA S. Pattern recognition receptors and inflammation[J]. *Cell*, 2010, 140(6):805-820.
- [17] ALLEN H B, YI Z, ROBERTS A A, et al. Biofilms in rheumatoid arthritis nodules: a novel clue relating to microbial origin[J]. *Microbiol Infect Dis*, 2019, 3(4):1-2.
- [18] SAMARPITA S, KIM J Y, RASOOL M K, et al. Investigation of toll-like receptor(TLR)4 inhibitor TAK-242 as a new potential anti-rheumatoid arthritis drug[J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2020, 22(1):16.
- [19] HA J, KANG E, SEO J, et al. Phosphorylation dynamics of JNK signaling: effects of dual-specificity phosphatases (DUSPs) on the JNK pathway[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(24):6157.
- [20] ZHUANG Y, LU W, CHEN W, et al. A narrative review of the role of the Notch signaling pathway in rheumatoid arthritis[J]. *Annals of Translational Medicine*, 2022, 10(6):371.
- [21] DONG X, ZHENG Z, ZHAI Y, et al. ACPA mediates the interplay between innate and adaptive immunity in rheumatoid arthritis[J]. *Autoimmunity Reviews*, 2018, 17(9):845-853.
- [22] 徐燕, 樊志丹, 俞海国. CD4⁺ T 细胞分化在类风湿关节炎中的研究进展[J]. *国际儿科学杂志*, 2021, 48(2):132-136.
- [23] KOMATSU N, OKAMOTO K, SAWA S, et al. Pathogenic conversion of Foxp3⁺ T cells into TH17 cells in autoimmune arthritis[J]. *Nat Med*, 2014, 20(1):62-68.
- (收稿日期:2024-03-26)