

基于 NLRP3 介导的细胞焦亡探讨痹通方含药血清对 类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞损伤的保护作用及机制

齐庆^{1,2}, 孙蓬远^{1,2}, 许诺¹, 关蕊¹, 郑建南², 赵夜雨², 于静², 高明利²

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110847; 2. 辽宁中医药大学附属医院, 辽宁 沈阳 110032)

摘要:目的 探讨痹通方含药血清对脂多糖(LPS)诱导的类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞(MH7A)的细胞焦亡的保护作用机制及对 NLRP3 通路的影响。方法 SD 大鼠随机分成 3 组:空白对照组,痹通方低、高剂量组分别给予 4.2 g/(kg·d)、16.8 g/(kg·d)灌胃;空白对照组给予等量蒸馏水灌胃。连续灌胃 10 d 后制备含药血清。将细胞分为 5 组:空白对照组, LPS 处理组, 痹通方含药血清低、高剂量组, MCC950 组。收集上述各组细胞, CCK8 检测细胞活力, RT-qPCR 检测各组细胞肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-18、IL-1 β 、单核细胞趋化蛋白(MCP)-1、MIP-1 α 基因表达水平及 Western blotting 检测 AIM2、ASC、Caspase-1、IL-18、IL-1 β 、cleaved-GSDMD、GSDMD、NLRP3 蛋白表达。免疫荧光染色法检测 NLRP3 表达情况。结果 与空白组比较, LPS 处理组细胞活力下降($P < 0.01$), TNF- α 、IL-18、IL-1 β 、MCP-1、MIP-1 α mRNA 表达升高($P < 0.01$), AIM2、ASC、Caspase-1、IL-18、IL-1 β 、cleaved-GSDMD、GSDMD、NLRP3 蛋白表达升高($P < 0.01$);免疫荧光结果显示,与空白对照比较,模型组 NLRP3 荧光强度显著升高($P < 0.01$)。与 LPS 处理组相比,给予 NLRP3 抑制剂 MCC950 组和痹通方含药血清组均可改善上述指标变化。结论 痹通方能有效抑制 NLRP3 炎症小体表达,减少 MH7A 细胞焦亡及改善炎症损伤,其机制可能与调控 NLRP3 通路相关。

关键词: 类风湿关节炎; MH7A 细胞; 细胞焦亡; 痹通方; NLRP3

中图分类号: R289.5

文献标志码: A

文章编号: 1673-7717(2024)10-0044-09

Protective Effect and Mechanism of Serum Containing Bitong Decoction(痹通方) on Fibroblast - Like Synovial Cell Injury in Rheumatoid Arthritis Based on NLRP3 Mediated Pyroptosis

QI Qing^{1,2}, SUN Pengyuan^{1,2}, XU Nuo¹, GUAN Rui¹, ZHENG Jiannan², ZHAO Yeyu², YU Jing², GAO Mingli²

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, Liaoning, China;

2. Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, Liaoning, China)

Abstract: *Objective* To investigate the protective mechanism of Bitong Decoction(痹通方) containing serum on pyroptosis of fibroblast-like synoviocytes (MH7A) induced by lipopolysaccharide (LPS) and its effect on NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3 (NLRP3) pathway in rheumatoid arthritis. *Methods* SD rats were randomly divided into 3 groups: control group, Bitong Decoction low and high dose groups [4.2 g/(kg·d) and 16.8 g/(kg·d) by gavage, respectively]. The control group was given the same volume of distilled water by gavage. The drug-containing serum was prepared after 10 days of continuous intragastric administration. The cells were divided into 5 groups: control group, LPS treatment group, low and high dose serum containing Bitong Decoction group, MCC950 group. The cells in the above groups were collected, and the cell viability was detected by CCK8. The expression levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-18 (IL-18), interleukin-1 β (IL-1 β), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) and macrophage inflammatory protein 1 α (MIP-1 α) were detected by RT-qPCR. The protein expressions of AIM2, ASC, Caspase-1, IL-18, IL-1 β , cleaved-GSDMD, GSDMD and NLRP3 were detected by Western blotting. The expression of NLRP3 was detected by immunofluorescence staining. *Results* Compared with that of the control group, the viability of cells in LPS treatment group was decreased ($P < 0.01$), and the mRNA expressions of TNF- α , IL-18, IL-1 β , MCP-1 and MIP-1A were increased ($P < 0.01$). The protein expressions of AIM2, ASC, Caspase-1, IL-18, IL-1 β , cleaved-GSDMD, GSDMD and NLRP3 were significantly increased ($P < 0.01$). The results of immunofluorescence showed that the fluorescence intensity of NLRP3 in the model group was significantly higher than that in the blank con-

基金项目: 国家重点研发计划“中医药现代化研究”重点专项(2018YFC1705202); 辽宁省教育厅项目(L201916)

作者简介: 齐庆(1984-), 女, 辽宁营口人, 副主任医师, 硕士, 研究方向: 中西医结合临床治疗风湿免疫性疾病。

通讯作者: 高明利(1960-), 男, 辽宁沈阳人, 主任医师, 博士研究生导师, 硕士, 研究方向: 中西医结合临床治疗风湿免疫性疾病。E-mail: gmllyzy@

139.com。

trol group ($P < 0.01$). Compared with LPS treatment group, NLRP3 inhibitor MCC950 group and serum containing Bitong Decoction groups could improve the changes of above indexes. **Conclusion** Bitong Decoction can effectively inhibit the expression of NLRP3 inflammasome, reduce pyroptosis of MH7A cells and improve inflammatory injury. Its mechanism may be related to the regulation of NLRP3 pathway.

Keywords: rheumatoid arthritis; MH7A cells; pyroptosis of cells; Bitong Decoction(痹通方); NLRP3

类风湿性关节炎(RA)作为自身免疫性疾病中最常见的一类疾病,主要表现为多发性关节炎,也可能发生关节外器官表现^[1]。尽管关于RA的生物分子学相关机制已有很多研究,但RA的病因仍旧尚未完全阐明,目前有研究认为是失调的瓜氨酸化导致抗瓜氨酸化蛋白抗体^[2-3]的产生。RA的病程演变随发作性加重而波动,在没有得到相应合适治疗方案的情况下,症状会逐渐恶化,直到关节受到不可逆转的损伤,对患者身体和心理功能都会产生不良的影响^[4]。此外,RA并发症和合并症会使患者的预期寿命缩短几年^[5]。NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)是NOD样受体家族中重要的一员,其炎性小体复合物由NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白和半胱天冬酶-1前体组成,是一种感知外源病原体和内源性危险信号的细胞内受体^[6]。在其炎症小体中,NLRP3炎症小体可以诱导促炎细胞因子白细胞介素(IL)-1 β 和IL-18的释放,同时也能促进Gasdermin D(GSDMD)介导的细胞焦亡进程。已研究确定了NLRP3炎症小体在先天和适应性免疫系统中至关重要的作用,以及它对一些自身免疫性疾病的贡献,其中就包括RA^[6]。

现如今在临床试验或应用中已经有多种治疗RA的西医药物被证实具有较好的疗效,但随着服药疗程的增加等,会产生诸多不良反应,包括严重感染、癌症及一系列的心脑血管疾病^[7]。而早在《内经》时期,中医对RA已有论述,从祖国中医药宝库中挖掘治疗RA的方法及药物是传承创新中医思维的有效方式。痹通方以养血活血即和血法为主要治则,课题组前期体内研究已证实了其疗效及部分机制。本研究从痹通方切入,通过治疗脂多糖(LPS)刺激后的MH7A体外细胞模型,基于NLRP3炎性小体介导的细胞焦亡进一步探讨痹通方治疗RA的作用机制。

1 材料与方法

- 1.1 材料
- 1.1.1 实验动物及细胞 SPF级雄性SD大鼠30只,体质量180~200 g,购买于辽宁长生生物科技有限公司,许可证号:SCXK(辽)2020-0002,饲养于辽宁中医药大学动物实验中心,普通饲料喂养1周后进行实验。人类风湿关节炎滑膜成纤维细胞(MH7A细胞),购自深圳市豪地华拓生物科技有限公司,货号:HTX1833。
- 1.1.2 实验药品 痹通方组方药材购买于辽宁中医药大学附属医院中药局,由桃仁15 g,红花15 g,防风15 g,川芎15 g,牛膝20 g,鸡血藤25 g,白芍15 g,熟地黄20 g,当归20 g等9味药材组成;LPS购买于索莱宝(货号:L8880-10mg);NLRP3抑制剂MCC950购买于美国Sigma公司。
- 1.1.3 主要试剂及设备 BCA蛋白浓度测定试剂盒购于碧云天生物技术有限公司(货号:P0012)。CCK8细胞增殖-毒性检测试剂盒购于biosharp公司。肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、IL-18、IL-1 β 、单核细胞趋化蛋白(MCP)-1、MIP-1 α 购于武汉三鹰生物技术有限公司,AIM2、ASC、Caspase-1、IL-18、IL-1 β 、cleaved-GSDMD、GSDMD、NLRP3抗体购于北京博奥森生物技术有限公司。Fast King RT反转录试剂盒购于北京天根生化科技有限公司(批号:R6620);SYBR Select Master Mix购于美国Life Technology公司(批号:1710054)。
- 电泳仪(美国,BIO-RAD),转膜仪(美国,BIO-RAD),正置显微镜(OLYMPUS, BX53),化学发光成像系统(上海,天能),荧光显微镜(日本, Nikon),CFX96Touch荧光定量qPCR检测系统(美国,BIO-RAD)。
- 1.2 方法
- 1.2.1 含药血清制备 SD大鼠随机分成3组:空白对照组、痹通方低、高剂量组分别给予4.2、16.8 g/(kg·d)灌胃;空白对照组给予等量蒸馏水灌胃。每组10只,各组大鼠连续灌胃10 d,每天1次。在末次给药8 h后,腹主动脉取血,4℃3000 r/min,离心10 min取血清。将3组血清56℃水浴30 min,无菌滤器过滤除菌、分装保存备用。
- 1.2.2 细胞分组和模型制备 使用含100 U/mL青霉素链霉素双抗和10%胎牛血清的DMEM高糖培养基于5%二氧化碳、37℃恒温培养箱内常规培养MH7A细胞。将NLRP3抑制剂MCC950溶解于DMSO中,终浓度为0.1 μ mol/L。将细胞分为5组:空白对照组,LPS处理组(MH7A细胞用5 μ g/mL LPS稀释液处理6 h以诱导炎症损伤用于后续实验),痹通方含药血清低、高剂量组,MCC950组。
- 1.2.3 CCK-8检测细胞活性 引入CCK-8检测细胞活力。在96孔板中以 5×10^3 细胞/孔的浓度制备细胞,并在诱导前于37℃进行常规培养24 h。在刺激后使用CCK-8稀释液与细胞共孵育1 h。之后使用酶标仪在450 nm下进行吸光度测量,计算细胞活力。
- 1.2.4 RT-qPCR检测各组MH7A细胞TNF- α 、IL-18、IL-1 β 、MCP-1、MIP-1 α mRNA水平 按照Trizol试剂盒说明提取总RNA,核酸蛋白分析仪测定RNA纯度。逆转录获取扩增前cDNA。以2 μ L cDNA为模板进行扩增,依次按照95℃3 min,1个循环;95℃15 s,62℃20 s,72℃5 s,32个循环;72℃7 min,1个循环。按 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行定量分析,实验所需引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司提供。
- 1.2.5 Western blot法检测各组MH7A细胞AIM2、ASC、Caspase-1、IL-18、IL-1 β 、cleaved-GSDMD、GSDMD、NLRP3的蛋白表达 收集上述各组处理的MH7A细胞,并用BCA法测定蛋白浓度。加入适量的稀释液和上样缓冲液,变性后配胶待用,取样品20 μ g上样,电泳、转膜、封闭,TBST洗膜,加入一抗稀释液稀释 AIM2、ASC、Caspase-1、IL-18、IL-1 β 、cleaved-GSDMD、GSDMD、NLRP3、GADPH(1:1000)4℃孵育过夜,TBST洗膜,加入二抗孵育,TBST洗膜,加ECL工作液,

全自动成像分析仪下进行曝光成像。使用 Image J 软件进行统计分析。

表1 引物列表

基因	上游引物	下游引物
TNF- α	F-GATCGGTCCCAACAAGGAGG	R-GCTTGCTGGTTTGCTACGAC
IL-18	F-TGCCTGATATCGACGAACAGCCAAC	R-ACAGATAGGGTCACGCCAGTCTCT
IL-1 β	F-GGCTTCCTTGTCGAAGTGTCT	R-TCTGCACAGCCCAAGTCAAG
MCP-1	F-ATAGCAGCCACCTTCATTC	R-GCTTCTTTGGGACACTTGCT
MIP-1 α	F-CTGCCCTTGCTGCTCCTCTCTG	R-CTGCCGGCTTGCTTGCTTGA
GAPDH	F-AGTGCCAGCCTGCTCTCATA	R-GGCGGAGATGATACCCCTTT

1.2.6 免疫荧光染色法检测 NLRP3 表达情况 MH7A 细胞在培养基生长至 80% 左右,弃旧培养基,给药处理 4 h,空白对照组和 LPS 处理组加入相同体积的新鲜培养基,给药组预处理 4 h 后,更换含不同浓度的各组药物及 LPS 的培养基,模型组更换为只含有 LPS 的培养基共培养 24 h。24 h 后弃上清, PBS 清洗细胞,4% 多聚甲醛固定 1 h,清洗后加血清室温封闭 30 min,加入一抗,4℃ 孵育过夜,隔天清洗细胞后滴加荧光二抗 37℃ 孵育 1 h 后,PBST 清洗细胞,DAPI 复染核 5 min 后,使用荧光显微镜采集荧光信号。

1.3 统计学方法

实验数据均为计量资料数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 GraphPad Prism 8.0 软件统计分析。两组比较采用 *t* 检验,多组间比较首先进行单因素方差齐性分析。若方差齐,组间比较采用 LSD 法检验,若方差不齐,组间比较采用 Tamhane 法检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 痹通方含药血清对 LPS 诱导 MH7A 细胞活力的影响

如插页 VI 图 1 所示,通过 CCK-8 法检测各组 MH7A 细胞活力。与空白对照组相比,LPS 处理组 MH7A 细胞活力明显降低($P < 0.01$),与 LPS 处理组相比,给予 MCC950 和痹通方含药血清各组对 MH7A 细胞活力显著增加($P < 0.01$)。

2.2 痹通方含药血清对 LPS 诱导 MH7A 细胞相关 mRNA 的影响

与空白对照组细胞相比,LPS 处理组 TNF- α 、IL-18、IL-1 β 、MCP-1、MIP-1 α mRNA 表达均明显升高($P < 0.01$);与 LPS 处理组相比,MCC950 和痹通方含药血清各组的 TNF- α 、IL-18、IL-1 β 、MCP-1、MIP-1 α mRNA 表达均显著降低($P < 0.01$)。见插页 VII 图 2。

2.3 痹通方含药血清对 LPS 诱导 MH7A 细胞相关蛋白的影响

2.3.1 炎症相关 与空白对照组细胞相比,LPS 处理组 IL-18、IL-1 β 的蛋白表达均明显升高($P < 0.01$);与 LPS 处理组相比,MCC950 和痹通方含药血清各组的 IL-18、IL-1 β 的蛋白表达均显著降低($P < 0.01$)。见插页 VII 图 3。

2.3.2 焦亡相关 与空白对照组细胞相比,LPS 处理组 AIM2、ASC、Caspase-1、cleaved-GSDMD、GSDMD、NLRP3 的蛋白表达均明显升高($P < 0.01$);与 LPS 处理组相比,MCC950 和痹通方含药血清各组的 AIM2、ASC、Caspase-1、cleaved-GSDMD、GSDMD、NLRP3 的蛋白表达均显著降低($P < 0.01$)。见插页 VIII 图 4。

2.4 痹通方含药血清对 LPS 诱导 MH7A 细胞免疫荧光下 NLRP3 表达情况

与空白对照比较,LPS 处理组 NLRP3 荧光强度显著升高($P < 0.01$)。与 LPS 处理组比较,各给药组 NLRP3 荧光强度显著降低($P < 0.01$)。见插页 IX-X 图 5。

3 讨论

RA 症状发作通常较为隐匿,但随着时间的推移,疾病会进展并逐渐恶化。RA 症状的触发因素尚不清楚,但已经有研究证明是发生在滑膜和滑液中的免疫^[8]。滑膜巨噬细胞释放细胞因子,如 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 等,这些细胞因子与炎症过程,成纤维细胞样滑膜细胞的刺激和刺激破骨细胞活性密切相关^[9]。MH7A 关节炎成纤维样滑膜细胞系是一种新型永生代类风湿成纤维样滑膜细胞(FLS)系,因为其保留了 RA-FLS 细胞的炎症及增殖特性,通常在研究 RA 相关的分子生物学及药理学机制中起到至关重要的作用^[10]。因此 MH7A 细胞系更适用于本实验的研究材料。

RA 的发病机制与细胞焦亡和炎症反应有着密切的关系。其中,RA 可以破坏多个关节的功能,其中炎症细胞被激活,从而释放出许多炎症因子^[11]。其中,TNF- α 是一种由活化的单核细胞和巨噬细胞产生的生理炎症介质,已被确定在 RA 的发病机制中发挥重要作用^[12]。有研究发现 TNF- α 可刺激类风湿关节炎滑膜成纤维细胞增殖和 IL-6、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、基质金属蛋白酶、前列腺素和其他效应分子的分泌^[13-15]。RA 发病机制伴有各种促炎和抗炎因子的分泌变化,如 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10 和 IL-17^[16]。最近一项研究显示,在 RA 的病理过程中,miR-206 促进了骨代谢和促炎细胞因子的分泌^[17]。miR-451 通过下调 p38 MAPK 蛋白的表达水平来抑制滑膜成纤维细胞中促炎细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的分泌^[18]。也有研究显示,TNF- α 可以明显促进 MH7A 细胞的炎症反应^[19]。NLRP3 炎症小体的激活先后需要经过启动和激活两个关键的环节^[20]。在启动过程中,如 toll 样受体(TLRs)等识别细胞因子,激活 NF- κ B 信号通路,其中 NLRP3、IL-1 β 前体和 IL-18 前体上调^[21-22]。在激活过程中,NLRP3 通过 NACHT 结构域发生寡聚,然后募集 ASC,从而导致 Caspase-1 前体募集和激活^[23]。这三种蛋白质组装成一个多聚蛋白,称为 NLRP3 炎症小体。活化的 Caspase-1 将前 IL-18 前体和 IL-1 β 前体裂解成它们的生物活性形式,从而诱导炎症^[24]。活化的 Caspase-1 裂解 GSDMD 时触发细胞焦亡,即为 NLRP3 起始介导的焦亡途径^[25]。由于 NLRP3 炎症小体是引发炎症和免疫反应的关键因素。如果其激活失调,也会引起炎症反应和自身免疫反应相应的紊乱,RA 就是其所导致的严重疾病的一种。因此,NLRP3 炎症小体的精确调控对维持免疫系统的稳态,改善 RA 的病理状态有着重要意义。本次研究在对数据处理、分析后发现,与 LPS 处理组相比,给予 NLRP3 抑制剂的 MCC950 组和痹通方含药血清组均能降低 MH7A 细胞 TNF- α 、IL-1 β 、NLRP3、Caspase-1、GSDMD 等细胞焦亡与炎症相关的基因和蛋白的表达,这说明痹通方抗细胞焦亡的作用在一定程度上可能与 NLRP3 炎症小体的活化及其抗炎作用的抑制息息相关,进而

达到抑制成纤维样滑膜细胞焦亡和损伤的发生的结果。

RA 作为难治性自身免疫性疾病,在中医学中常归属于“痹证”。本病因较多,发病机制各有不同,最终致气血痹阻,运行不畅,发为本病。在临床中,许多疾病由于现有发病机制不够明确,治疗方案不够优化,治疗效果不尽如人意,常选用中医疗法进行治疗,患者依从性更高。而中药治疗 RA 疗效显著,已成为治疗自身免疫疾病的新的热门研究方向^[26]。痹通方中包含祛风除湿、活血化瘀、通络止痛的经典药对,如“桃仁-红花”“防风-川芎”等,其中又包含四物汤的组成,全方活血化瘀,通络止痛。现已证明,痹通方可抑制 LPS 诱导的 MH7A 细胞焦亡,其作用机制可能与调控 NLRP3 炎症小体介导的细胞焦亡途径相关。综上所述,NLRP3 炎症小体可能是痹通方抑制细胞焦亡的靶点,这也为今后治疗 RA,减轻炎症损伤,改善患者状态,提高患者生活质量提供了新的临床治疗思路与方案。

参考文献

[1] OSIPOVA D, JANSSEN R, MARTENS HA. Reumatoïde arthritis: meer dan een gewrichtsziekte [Rheumatoid arthritis: more than a joint disease] [J]. Ned Tijdschr Geneesk, 2020,164:D4166.

[2] TAR ILDIKÓ, CSÓSZ ÉVA, VÉGH EDIT, et al. Salivary citrullinated proteins in rheumatoid arthritis and associated periodontal disease [J]. Scientific Reports, 2021, 11(1):13525-13525.

[3] BOYD T A, HUYNH D H, TEMPLE J, et al. Anti-citrullinated protein antibodies in patients with psoriatic arthritis [J]. Rheumatology (Oxford), 2021, 61(1):462-464.

[4] CHAURASIA N, SINGH A, SINGH I L, et al. Cognitive dysfunction in patients of rheumatoid arthritis [J]. J Family Med Prim Care, 2020, 9(5):2219-2225.

[5] JAIN K, LAILA D, NANDAGUDI A, et al. Long-term outcomes in rheumatoid arthritis: review of data from the basildon inflammatory arthritis cohort [J]. Rheumatol Adv Pract, 2022, 6(3):75.

[6] LI Z, GUO J L, BI L Q. Role of the nlrp3 inflammasome in autoimmune diseases [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 130:110542-110542.

[7] BROWN P M, PRATT A G, ISAACS J D. Mechanism of action of methotrexate in rheumatoid arthritis, and the search for biomarkers [J]. Nat Rev Rheumatol, 2016, 12(12):731-742.

[8] CRISTINA C, ROBERTO B, DONATELLA S, et al. One year in review 2019: pathogenesis of rheumatoid arthritis [J]. Clin Exp Rheumatol, 2019, 37(3):347-357.

[9] NICOLE H, FLORENCE A, GABRIEL C. Synovial macrophages: from ordinary eaters to extraordinary multitaskers [J]. Trends Immunol, 2021, 42(5):368-371.

[10] 何志明,程建军,钱子刚,等.基于 MH7A 细胞迁移、凋亡及 NLRP3 炎症小体探讨金铁锁总皂苷治疗类风湿关节炎的作用机制 [J]. 中药材, 2021, 44(9):2173-2178.

[11] ATINUKE A, RANGANATHAN P. Pharmacogenetics of drug therapies in rheumatoid arthritis [J]. Methods Mol Biol, 2022, 2547:527-567.

[12] YAMANAKA H. TNF as a target of inflammation in rheumatoid arthritis [J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2015, 15

(2):129-134.

[13] SAKTHISWARY R, VESHAALINI R, YONG C K, et al. Pathomechanisms of bone loss in rheumatoid arthritis [J]. Front Med (Lausanne), 2022, 9:962969.

[14] GUO X, WANG S L, GODWOOD A, et al. Pharmacodynamic biomarkers and differential effects of tnfr- and gm-csf-targeting biologics in rheumatoid arthritis [J]. Int J Rheum Dis, 2019, 22(4):646-653.

[15] LIU J, ZHANG Q, CHEN Y Y, et al. Integrated experimental approach, phytochemistry, and network pharmacology to explore the potential mechanisms of cinnamomi ramulus for rheumatoid arthritis [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022:6060677.

[16] LIU W W, ZHANG Y J, ZHU W N, et al. Sinomenine inhibits the progression of rheumatoid arthritis by regulating the secretion of inflammatory cytokines and monocyte/macrophage subsets [J]. Frontiers in Immunology, 2018, 9:2228.

[17] ELATTA AMIRA A, YASSER A, BASSYOUNI I, et al. Correlation of myomir-206 and proinflammatory cytokines (IL-16 and IL-17) in patients with rheumatoid arthritis [J]. Reumatologia, 2019, 57(2):72-77.

[18] ZHAO Z P, ZHANG Y T, WANG C Y, et al. Angiotensin ii upregulates rankl/nfatc1 expression in synovial cells from patients with rheumatoid arthritis through the erk1/2 and jnk pathways [J]. J Orthop Surg Res, 2021, 16(1):297.

[19] BAO X, MA L, HE C. MicroRNA-23a-5p regulates cell proliferation, migration and inflammation of TNF-α-stimulated human fibroblast-like MH7A synoviocytes by targeting TLR4 in rheumatoid arthritis [J]. Exp Ther Med, 2021, 21(5):479.

[20] LANG T L, JACINTA P W, ELGASS K, et al. Macrophage migration inhibitory factor is required for nlrp3 inflammasome activation [J]. Nat Commun, 2018, 9(1):1-15.

[21] LI W J, WANG K X, LIU Y D, et al. A novel drug combination of mangiferin and cinnamic acid alleviates rheumatoid arthritis by inhibiting tlr4/nfkb/nlrp3 activation-induced pyroptosis [J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13:912933.

[22] NIU X F, SONG H X, XIAO X, et al. Tectoridin ameliorates proliferation and inflammation in tnfr-α-induced hfls-ra cells via suppressing the tlr4/nlrp3/nf-κb signaling pathway [J]. Tissue Cell, 2022, 77:101826.

[23] PRATHER E R, GAVRILIN M A, WEWERS M D. The central inflammasome adaptor protein asc activates the inflammasome after transition from a soluble to an insoluble state [J]. J Biol Chem, 2022, 298(6):102024.

[24] BOUCHER D, MONTELEONE M, REBECCA C C, et al. Caspase-1 self-cleavage is an intrinsic mechanism to terminate inflammasome activity [J]. J Exp Med, 2018, 215(3):827-840.

[25] LING Y, XIAO M, HUANG Z W, et al. Jinwujiangu capsule treats fibroblast-like synoviocytes of rheumatoid arthritis by inhibiting pyroptosis via the nlrp3/caspases/gsdmd pathway [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2021, 2021:4836992.

[26] 蒙雪雁, 江露娟, 丘琴, 等. 中药抗类风湿性关节炎质量标志物的研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(4):48-53.