

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2026.05.013

黄芩清热除痹胶囊对类风湿关节炎患者感受和免疫炎症影响的临床及基础研究

王帆帆, 刘健[✉], 周琴, 文建庭, 孙玥, 贺明玉

安徽中医药大学第一附属医院/安徽省中医风湿病应用基础与临床转化研究重点实验室, 安徽省合肥市蜀山区梅山路117号, 230031

[摘要] **目的** 评价黄芩清热除痹胶囊对类风湿关节炎(RA)患者感受及免疫炎症的综合干预效果,并探究其潜在作用机制。**方法** 回顾性收集452例RA患者的临床资料,分为对照组274例(采用常规西医治疗),观察组178例患者(在常规西医治疗基础上服用黄芩清热除痹胶囊且连续服用至少2周),疗程均为2周。采用倾向性评分匹配法(PSM)按1:1比例将两组患者进行匹配,收集治疗前后患者感受指标[包括中文版简明健康调查量表(SF-36)、焦虑自评量表(SAS)、抑郁自评量表(SDS)、视觉模拟量表(VAS)评分及中国类风湿关节炎患者报告疾病活动指数(CPRI-RA)]和免疫炎症指标[包括红细胞沉降率(ESR)、超敏C反应蛋白(hs-CRP)、类风湿因子(RF)、抗环瓜氨酸肽抗体(anti-CCP)、白细胞介素-6(IL-6)、免疫球蛋白A(IgA)、免疫球蛋白G(IgG)、免疫球蛋白M(IgM)、补体C3、补体C4]。通过Spearman相关性分析评估患者感受指标与免疫炎症指标之间的关系,采用Logistic回归、关联规则及中介分析评估黄芩清热除痹胶囊对RA患者感受和免疫炎症指标的影响及作用路径。通过网络药理学研究方法筛选黄芩清热除痹胶囊治疗RA的药物活性成分及核心靶点,并进行分子对接验证。细胞实验中,分为正常组、模型组、20%含药血清组、80 nmol/L对照组,正常组予完全培养基常规培养人滑膜成纤维细胞(FLS),模型组予完全培养基常规培养人RA成纤维样滑膜细胞(RA-FLS),20%含药血清组予含有20%黄芩清热除痹胶囊含药血清的培养基培养RA-FLS,80 nmol/L对照组予含有80 nmol/L甲氨蝶呤混悬液的完全培养基培养RA-FLS。各组细胞培养48 h后,CCK-8法检测细胞存活率,ELISA法检测细胞上清液白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-10(IL-10)水平,Western Blot法检测细胞上清液基质金属蛋白酶9(MMP9)、转录因子AP-1亚基(JUN)、血管内皮生长因子A(VEGFA)、C-X-C基序趋化因子配体8(CXCL8)蛋白水平,Transwell实验检测细胞迁移能力。**结果** PSM匹配后得到两组患者各178例,两组患者治疗后SF-36评分较治疗前升高,SAS评分、SDS评分、VAS评分、CPRI-RA、ESR、hs-CRP、IL-6、补体C3、补体C4均降低,观察组IgG、IgM亦降低($P<0.05$)。SF-36中生理功能(相关系数-0.19, $P<0.05$)、社会功能(相关系数-0.18, $P<0.05$)评分与hs-CRP呈负相关,VAS评分与hs-CRP呈正相关(相关系数0.19, $P<0.05$)。黄芩清热除痹胶囊是多个患者感受指标改善的保护因素($P<0.05$),其与多个患者感受指标及免疫炎症指标的改善具有较高关联度,且hs-CRP和ESR在黄芩清热除痹胶囊改善患者感受中发挥了部分中介作用。网络药理学研究筛选出黄芩清热除痹胶囊治疗RA的核心药物活性成分为汉黄芩素、槲皮素、 α 1-谷甾醇、 β -谷甾醇、豆甾醇、黄芩素、藏红花酸,核心靶点包括JUN、IL-6、VEGFA、MMP9、IL-1 β 、CXCL8等。分子对接结果显示,槲皮素与VEGFA、JUN、MMP9、IL-6、IL-1 β ,黄芩素与VEGFA、MMP9,汉黄芩素与CXCL8结

基金项目:安徽省重点研究与开发计划(2022e07020028);国家中医药传承创新项目基金资助(发改办社会[2022]366号);高水平中医药重点学科建设项目—中医痹病学(国中医药人教函[2023]85号);中医治疗优势病种(临床循证能力提升)项目(皖财社[2024]1359号);安徽中医药大学临床科研项目(2024YFYLCZX36)

[✉] 通讯作者:liujianahzy@126.com

合能力较强。细胞实验结果显示,黄芩清热除痹胶囊和甲氨蝶呤均能抑制 RA-FLS 细胞存活率与细胞迁移能力,降低 IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平以及 MMP9、JUN、VEGFA、CXCL8 蛋白水平,升高 IL-10 水平 ($P<0.05$)。结论 黄芩清热除痹胶囊能通过调控免疫炎症反应来改善 RA 患者感受,其作用机制可能与该药多通路、多靶点抑制滑膜细胞炎症及细胞迁移有关。

【关键词】 类风湿关节炎; 患者感受; 免疫反应; 炎症反应; 黄芩清热除痹胶囊

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是以慢性对称性多关节滑膜炎为主要特征的自身免疫性疾病,以关节疼痛、肿胀和功能受限为典型临床表现,其病理机制涉及免疫炎症反应异常激活、滑膜增生及软骨破坏等多个环节^[1]。RA 患者常伴随躯体功能下降以及焦虑、抑郁等心理问题,这些心理问题严重影响生活质量,降低患者对治疗的反应性和依从性,还可能增加死亡和残疾风险^[2-4]。国际健康结果测量联盟提出了一套针对炎症性关节炎 (包括 RA) 的患者报告结果标准,重点关注疼痛、活动受限、疲劳、情绪与身体健康的整体影响^[5]。据此框架,本团队以患者感受 (self-perception of patients, SPP)^[6-7] 作为综合评估体系, SPP 体现了患者疾病状态与生活质量,且影响着 RA 进展。

黄芩清热除痹胶囊 (专利号: ZL201110095718. x) 是安徽中医药大学第一附属医院研制的中药复方制剂,针对 RA 活动期湿热痹阻病机而设,具有健脾清热、通络除痹的功效。前期研究^[8-10] 表明,黄芩清热除痹胶囊能够有效控制 RA 急性发作症状,改善 SPP 并降低免疫炎症相关指标,是临床治疗 RA 较理想的中药制剂。基于前期研究结果,本团队推测黄芩清热除痹胶囊可能通过调控免疫炎症反应来改善 RA 患者 SPP。因此,本研究采用回顾性研究分析黄芩清热除痹胶囊对 RA 患者 SPP 和免疫炎症的相关性影响,并结合网络药理学、分子对接及细胞实验进一步探讨该中药制剂发挥治疗 RA 的可能作用机制,为其临床应用提供依据。本研究已通过安徽中医药大学第一附属医院伦理委员会审批 (批件号: 2024AH-92)。

1 临床资料与方法

1.1 诊断标准

参照美国风湿病学会 (ACR) 和欧洲抗风湿病联盟 (EULAR) 联合制定的 RA 诊断标准^[11]。

1.2 纳入标准

1) 符合上述诊断标准; 2) 临床资料完整, 包含人口学信息 (如性别、年龄、身高、体重)、病程以及需要观察的免疫炎症、SPP 相关指标。

1.3 排除标准

1) 关节屈曲畸形和功能活动丧失; 2) 合并精神疾病; 3) 合并严重的心、脑、肺、肾等重要器官疾病以及造血系统、神经系统疾病。

1.4 一般资料

回顾性检索电子病历系统, 收集 2024 年 1 月 1 日至 2025 年 9 月 1 日就诊于安徽中医药大学第一附属医院风湿免疫科的 452 例 RA 患者的临床资料。根据患者是否服用黄芩清热除痹胶囊将其分为观察组和对照组。对照组采用常规西医治疗, 包括使用改善病情的抗风湿药、非甾体抗炎药、糖皮质激素等^[12], 共 274 例患者。观察组在常规西医治疗基础上服用黄芩清热除痹胶囊且连续服用至少 2 周, 共 178 例患者。黄芩清热除痹胶囊 (安徽中医药大学第一附属医院制剂中心, 皖药制字: Z20200001) 由黄芩、栀子、威灵仙、薏苡仁、桃仁组成, 给药方案为每次 3 粒 (0.4 g/粒)、每日 3 次。

为评估黄芩清热除痹胶囊的疗效, 采用倾向性评分匹配法 (PSM) 按 1:1 比例将两组患者进行匹配, 以平衡两组间基线特征 (如性别、年龄、病程、免疫炎症指标水平等), 确保组间可比性。

1.5 主要观察指标

收集治疗前、治疗 2 周后 SPP 和免疫炎症指标。SPP 指标采用中文版简明健康调查量表 (SF-36, 包括生理功能、生理职能、躯体疼痛、总体健康、活力、社会功能、情感职能、精神健康 8 个方面)^[13]、焦虑自评量表 (SAS)^[14]、抑郁自评量表 (SDS)^[15]、视觉模拟量表 (VAS)^[16] 及中国类风湿关节炎患者报告疾病活动指数 (CPRI-RA)^[16] 进行综合评估。免疫炎症指标包括红细胞沉降率 (ESR)、超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP)、类风湿因子 (RF)、抗环瓜氨酸肽抗体 (anti-CCP)、白细胞介素-6 (IL-6)、免疫球蛋白 A (IgA)、免疫球蛋白 G (IgG)、免疫球蛋白 M (IgM)、补体 C3、补体 C4。

1.6 统计学方法

使用 SPSS 26.0 软件进行统计分析, 计量资料均为非正态分布, 以中位数 (四分位数) [$M(P_{25}, P_{75})$] 表示, 采用 Mann-Whitney U 检验; 计数资料以例

数、百分比表示, 采用 χ^2 检验。

采用 Spearman 相关性分析方法分析 SPP 与免疫炎症之间的相关性。对 PSM 匹配后的观察组进行关联规则分析, 采用 IBM SPSS Modeler 18.0 软件中的 Aprior 模块分析黄芩清热除痹胶囊与 SPP、免疫炎症指标改善的关联度, 设置支持度=50%、置信度>50%、提升度>1%。采用 Logistic 回归分析评估黄芩清热除痹胶囊对 SPP 指标的影响, 计算优势比 (OR) 及 95% 置信区间 (CI), OR>1 表明黄芩清热除痹胶囊为危险因素, OR<1 则表明其为保护因素, 并运用 GraphPad Prism 8.2 软件绘制统计分析图。为评估炎症指标是否在黄芩清热除痹胶囊与 SPP 指标改善之间起中介作用, 采用 VanderWeele 提出的因果中介分析框架进行 Bootstrap 检验, 设置黄芩清热除痹胶囊为自变量、炎症指标为中介变量、SPP 指标为因变量, 以验证黄芩清热除痹胶囊是否通过调节 RA 患者的炎症反应进而影响 SPP。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 网络药理学、分子对接及细胞实验研究方法

2.1 网络药理学研究方法

2.1.1 黄芩清热除痹胶囊药物活性成分和靶点筛选 通过 TCMSP 数据库 (<https://www.tcmsp-e.com/tcmsp.php>) 检索黄芩清热除痹胶囊中黄芩、桃仁、栀子、薏苡仁、威灵仙 5 种药物的活性成分及相应靶点, 筛选标准为口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 且类药性 (DL) ≥ 0.18 。通过 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 对靶点基因名称进行标准化校正。

2.1.2 RA 相关靶点筛选 以“Rheumatoid Arthritis”为关键词, 在 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、OMIM (<https://www.omim.org/>)、DrugBank (<https://go.drugbank.com/>) 数据库中进行基因检索, 将检索的基因数据取交集, 筛除重复值, 获得 RA 相关靶点。

2.1.3 药物-活性成分-共同靶点网络构建 将筛选出的药物活性成分靶点与 RA 靶点基因取交集, 获得药物与疾病共同靶点, 即黄芩清热除痹胶囊治疗 RA 的潜在靶点。将黄芩清热除痹胶囊的药物、活性成分及共同靶点导入 Cytoscape 3.7.1 软件, 构建药物-活性成分-共同靶点网络。

2.1.4 基因本体 (GO) 富集与京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析 将药物与疾病共同靶点导入 Metascape (<https://metascape.org/gp/>)

平台, 进行 GO 与 KEGG 通路富集分析, 设定 $P<0.01$ 为显著性阈值, 对 GO 富集分析的生物过程、细胞组分、分子功能条目及 KEGG 通路进行筛选, 并进行可视化, 预测黄芩清热除痹胶囊治疗 RA 的潜在生物过程和信号通路。

2.1.5 蛋白相互作用 (PPI) 网络构建与核心靶点筛选 将药物与疾病共同靶点导入 String 数据库 (<https://string-db.org/>) 构建 PPI 网络图, 利用 Cytoscape 3.7.1 软件的 NetworkAnalyzer 插件计算节点的度值、介数中心性等拓扑参数, 筛选核心靶点。

2.2 分子对接方法

从 TCMSP 数据库下载黄芩清热除痹胶囊药物活性成分的 3D 结构分子文件, 从 RCSB PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载核心靶点蛋白的晶体结构, 使用 AutoDock Tools 1.5.6 软件对药物活性成分和靶点蛋白去除水分子、加氢、计算电荷并进行能量最小化处理, 使用 AutoDock Vina 1.2.0 软件进行分子对接, 计算结合能。结合能 ≤ -7 kcal/mol 表明配体与受体之间存在较强的结合活性^[17]。

2.3 细胞实验研究方法

2.3.1 细胞、药物与试剂 人滑膜成纤维细胞 (FLS)、人 RA 成纤维样滑膜细胞 (RA-FLS) 购自赛百康 (上海) 生物技术股份有限公司, 保存于 DMEM 培养基 (货号: SH30022.01B, Hyclone 公司), 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 培养, 细胞密度达 80% 时用于试验。通过给 SD 大鼠连续 7 天灌胃黄芩清热除痹胶囊悬浮液 $2.592 \text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 的方法制备含药血清, 具体制备方法详见前期研究^[18]。甲氨蝶呤片 (国药准字: H31020644, 上海信谊药业有限公司) 为阳性对照药。

CCK-8 试剂 (货号: BA00208), 安徽中抗生物技术有限公司; IL-6 (货号: JYM0140Hu)、白细胞介素-1 β (IL-1 β , 货号: JYM0083Hu)、白细胞介素-8 (IL-8, 货号: JYM0139Hu)、白细胞介素-10 (IL-10, 货号: JYM0155Hu) ELISA 试剂盒, 武汉基因美科技有限公司; 基质金属蛋白酶 9 (MMP9, 货号: ab76003) 抗体、转录因子 AP-1 亚基 (JUN, 货号: ab31419) 抗体, abcam 公司; 血管内皮生长因子 A (VEGFA, 货号: SC-7269) 抗体, Santa Cruz 公司; C-X-C 基序趋化因子配体 8 (CXCL8, 货号: 27095-1-AP) 抗体, Proteintech 公司; 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH, 货号: TA-08), 北京中杉金桥生物技术有限公司。

2.3.2 分组及干预方法 取对数生长期的细胞,

调整密度至 5×10^4 个/ml, 按每孔 100 μ l 接种于 96 孔板中, 分为正常组、模型组、含药血清组、对照组, 每组设 3 个复孔。正常组予完全培养基常规培养 FLS; 模型组予完全培养基常规培养 RA-FLS; 含药血清组分别更换含有不同浓度 (5%、10%、20%、30%) 黄芩清热除痹胶囊含药血清的培养基培养 RA-FLS; 对照组分别更换含有不同终浓度 (20、40、80、100、120 nmol/L) 甲氨蝶呤混悬液的完全培养基培养 RA-FLS。各组细胞在 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 条件下分别培养 24 h、48 h、72 h 后进行细胞活力检测。

2.3.3 CCK-8 法检测细胞活力 将各组细胞培养 24 h、48 h 和 72 h 后, 每孔加入 CCK-8 试剂 100 μ l, 轻轻混匀后放回培养箱继续孵育 4 h, 孵育后于 450 nm 波长下测定吸光度 (OD 值), 计算细胞存活率。通过比较不同浓度黄芩清热除痹胶囊含药血清不同时间对 RA-FLS 细胞存活率, 以及不同浓度甲氨蝶呤不同时间对 RA-FLS 细胞抑制率的影响, 筛选黄芩清热除痹胶囊和甲氨蝶呤对 RA-FLS 的最佳干预浓度和时间。

2.3.4 ELISA 法检测细胞上清液炎症因子水平 采用 ELISA 试剂盒检测各组 6 个样本细胞上清液中 IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-10 水平, 操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。

2.3.5 Western Blot 法检测细胞上清液 MMP9、JUN、VEGFA、CXCL8 蛋白水平 收集各组 6 个样本细胞上清液, 提取细胞总蛋白, 使用 SDS-PAGE 分离 1 h, 加入封闭液室温封闭 2 h。加入一抗 MMP9、JUN、VEGFA、CXCL8 (稀释比例分别为 1:2000、1:1000、1:500、1:1000) 进行孵育, 4 $^{\circ}$ C 过夜。加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的二抗 (稀释比例 1:20 000), 室温孵育 1.2 h。PBST 洗涤 3 次, ECL 化学发光显影。采用 ImageJ 1.8.0 软件分析蛋白条带灰度值, 以 GAPDH 为内参, 以目的蛋白与内参灰度值的比值表示目的蛋白水平。

2.3.6 Transwell 实验检测细胞迁移能力 将细胞以 2×10^5 /ml 的浓度重悬无血清培养基中, 取 100 μ l 接种于 Transwell 小室上室, 下室加入含 FBS 培养液。给药 24 h 后, 用湿棉签轻轻擦去上室细胞, 4% 多聚甲醛固定下室迁移细胞 30 min, 0.5% 结晶紫染色 15~30 min, PBS 轻柔漂洗后于显微镜下随机选取多个视野 ($\times 100$) 拍照, 计数穿过膜的细胞数, 以评价细胞迁移能力。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析, 计量资料符合正态分布以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 t 检验; 非正态分布者以中位数 (四分位数) [$M(P_{25}, P_{75})$] 表示, 采用 Mann-Whitney U 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 RA 患者 SPP 指标基线结果

纳入 452 例 RA 患者中, SF-36、SAS 及 SDS 评分均显示不同程度的异常。SF-36 各维度平均评分显示, 生理功能 34 (25, 40) 分 (361 例, 79.87%)、生理职能 25 (0, 25) 分 (387 例, 85.62%)、躯体疼痛 31 (31, 41) 分 (407 例, 90.04%)、总体健康 30 (25, 35) 分 (443 例, 98.01%)、活力 40 (35, 50) 分 (333 例, 73.67%)、社会功能 50 (38, 63) 分 (148 例, 32.74%)、情感职能 33 (0, 33) 分 (344 例, 76.11%)、精神健康 44 (36, 52) 分 (330 例, 73.01%)。SAS 平均评分 54 (51, 56) 分 (369 例, 81.64%), SDS 平均评分 60 (56, 64) 分 (428 例, 94.69%), VAS 平均评分 5.63 (5.10, 6.17) 分, CPRI-RA 平均值 9.52 (8.09, 10.80)。上述括号中例数、百分比是针对评分异常患者, SF-36 各维度评分正常范围为 > 50 分, SAS、SDS 评分正常范围为 < 50 分。

3.2 两组患者 PSM 匹配前后基线资料比较

对干预前可能影响 RA 疾病活动度和治疗反应的核心混杂因素进行 PSM 匹配, 控制基础混杂以比较干预对 SPP 指标的影响。表 1 示, PSM 匹配前, 两组患者性别、身高、体重、病程、ESR、hs-CRP、IgA、补体 C3 比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明两组基线不均衡; PSM 匹配后, 得到两组患者各 178 例, 各项基线资料比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

3.3 PSM 匹配后两组患者治疗前后 SPP、免疫炎症指标比较

表 2 示, 治疗后, 两组患者 SF-36 各维度评分均较治疗前升高, SAS 评分、SDS 评分、VAS 评分、CPRI-RA、ESR、hs-CRP、IL-6、补体 C3、补体 C4 均降低, 观察组 IgG、IgM 亦降低 ($P < 0.05$)。两组治疗前后差值比较, 观察组患者生理功能、躯体疼痛、总体健康、活力、社会功能、情感职能、精神健康、SAS、SDS、VAS 各项评分以及 CPRI-RA、hs-CRP 改善幅度大于对照组 ($P < 0.01$)。

表1 两组类风湿关节炎患者PSM匹配前后基线资料比较

Table 1 Baseline characteristics of two groups of patients with rheumatoid arthritis before and after propensity score matching

指标	匹配前			匹配后		
	对照组 (274 例)	观察组 (178 例)	P 值	对照组 (178 例)	观察组 (178 例)	P 值
性别/例(%)			0.003			0.310
女	236 (86.13)	134 (75.28)		142 (79.78)	134 (75.28)	
男	38 (13.87)	44 (24.72)		36 (20.22)	44 (24.72)	
年龄/岁, $M(P_{25}, P_{75})$	59 (52, 68)	59 (52, 69)	0.596	59 (53, 68)	59 (52, 69)	0.596
身高/cm, $M(P_{25}, P_{75})$	160 (156, 163)	162 (158, 166)	<0.001	160 (157, 165)	162 (158, 166)	0.088
体重/kg, $M(P_{25}, P_{75})$	58 (50, 63)	60 (52, 67)	0.035	58 (50, 65)	60 (52, 67)	0.307
病程/年, $M(P_{25}, P_{75})$	10 (4, 18)	7 (2, 18)	0.022	9 (3, 15)	7 (2, 18)	0.335
RF/KIU·L ⁻¹ , $M(P_{25}, P_{75})$	109 (40, 249)	147 (50, 302)	0.085	151 (56, 301)	147 (50, 302)	0.998
anti-CCP/U·ml ⁻¹ , $M(P_{25}, P_{75})$	100 (16, 287)	122 (17, 372)	0.337	119 (26, 315)	122 (17, 372)	0.920
ESR/mm·h ⁻¹ , $M(P_{25}, P_{75})$	28 (11, 47)	38 (18, 60)	<0.001	38 (17, 54)	38 (18, 60)	0.404
hs-CRP/mg·L ⁻¹ , $M(P_{25}, P_{75})$	12 (2, 29)	20 (6, 45)	<0.001	15 (3, 37)	20 (6, 45)	0.053
IL-6/pg·ml ⁻¹ , $M(P_{25}, P_{75})$	17 (5, 42)	23 (8, 49)	0.107	20 (7, 47)	23 (8, 49)	0.590
IgA/g·L ⁻¹ , $M(P_{25}, P_{75})$	2.73 (2.15, 3.74)	3.14 (2.21, 4.03)	0.030	2.93 (2.22, 3.89)	3.14 (2.21, 4.03)	0.386
IgG/g·L ⁻¹ , $M(P_{25}, P_{75})$	12.10 (10.10, 14.50)	12.50 (10.20, 14.70)	0.257	12.50 (10.40, 14.70)	12.50 (10.20, 14.70)	0.990
IgM/g·L ⁻¹ , $M(P_{25}, P_{75})$	1.31 (0.96, 1.71)	1.27 (0.87, 1.74)	0.412	1.23 (0.88, 1.57)	1.27 (0.87, 1.74)	0.624
补体C3/g·L ⁻¹ , $M(P_{25}, P_{75})$	1.23 (1.10, 1.40)	1.28 (1.17, 1.45)	0.002	1.27 (1.17, 1.44)	1.28 (1.17, 1.45)	0.590
补体C4/g·L ⁻¹ , $M(P_{25}, P_{75})$	0.30 (0.24, 0.37)	0.31 (0.26, 0.38)	0.223	0.30 (0.23, 0.38)	0.31 (0.26, 0.38)	0.151

注: PSM, 倾向性评分匹配法; RF, 类风湿因子; anti-CCP, 抗环瓜氨酸肽抗体; ESR, 红细胞沉降率; hs-CRP, 超敏C反应蛋白; IL-6, 白细胞介素-6; IgA, 免疫球蛋白A; IgG, 免疫球蛋白G; IgM, 免疫球蛋白M。

表2 PSM匹配后两组类风湿关节炎患者治疗前后SPP、免疫炎症指标比较

Table 2 Comparison of SPP and immune inflammatory indicators before and after treatment between two groups of patients

with rheumatoid arthritis after propensity score matching

[$M(P_{25}, P_{75})$]

指标	观察组 (178 例)			对照组 (178 例)		
	治疗前	治疗后	P 值	治疗前	治疗后	P 值
生理功能评分/分	30 (25, 35)	60 (50, 65) ^{a)}	<0.001	34 (25, 45)	40 (30, 55)	<0.001
生理职能评分/分	25 (0, 25)	43 (25, 50)	<0.001	25 (0, 25)	25 (25, 50)	<0.001
躯体疼痛评分/分	31 (22, 41)	62 (61, 74) ^{a)}	<0.001	32 (31, 41)	52 (41, 62)	<0.001
总体健康评分/分	30 (25, 35)	40 (30, 45) ^{a)}	<0.001	25 (20, 35)	30 (25, 40)	<0.001
活力评分/分	40 (35, 50)	65 (55, 70) ^{a)}	<0.001	43 (35, 50)	50 (40, 60)	<0.001
社会功能评分/分	50 (38, 50)	75 (63, 75) ^{a)}	<0.001	50 (50, 63)	69 (50, 75)	<0.001
情感职能评分/分	33 (33, 33)	67 (67, 67) ^{a)}	<0.001	33 (0, 67)	67 (33, 67)	<0.001
精神健康评分/分	36 (36, 48)	68 (60, 68) ^{a)}	<0.001	44 (36, 56)	56 (48, 64)	<0.001
SAS 评分/分	54 (51, 56)	44 (40, 45) ^{a)}	<0.001	53 (50, 56)	49 (44, 53)	<0.001
SDS 评分/分	60 (56, 64)	50 (48, 53) ^{a)}	<0.001	59 (55, 64)	55 (49, 60)	<0.001
RF/KIU·L ⁻¹	147 (50, 302)	118 (51, 249)	0.555	151 (56, 301)	144 (66, 256)	0.918
anti-CCP/U·ml ⁻¹	122 (17, 372)	136 (53, 270)	0.849	119 (26, 315)	152 (63, 248)	0.296
ESR/mm·h ⁻¹	38 (18, 60)	20 (11, 37)	<0.001	38 (17, 54)	19 (12, 38)	<0.001
hs-CRP/mg·L ⁻¹	20 (6, 45)	3 (1, 8) ^{a)}	<0.001	15 (3, 37)	4 (1, 11)	<0.001
IL-6/pg·ml ⁻¹	23 (8, 49)	8 (5, 12)	<0.001	20 (7, 47)	9 (6, 18)	<0.001
VAS 评分/分	5.92 (5.20, 6.37)	1.53 (1.30, 2.00) ^{a)}	<0.001	5.50 (4.93, 5.93)	2.00 (1.50, 2.53)	<0.001
CPRI-RA/分	9.58 (8.60, 10.99)	2.85 (2.39, 3.74) ^{a)}	<0.001	9.55 (7.82, 10.79)	4.38 (3.18, 5.80)	<0.001
IgA/g·L ⁻¹	3.14 (2.21, 4.03)	3.01 (2.56, 3.27)	0.161	2.93 (2.22, 3.89)	2.89 (2.56, 3.21)	0.792
IgG/g·L ⁻¹	12.50 (10.20, 14.70)	11.40 (9.50, 13.00)	<0.001	12.50 (10.40, 14.70)	12.40 (10.00, 13.60)	0.139
IgM/g·L ⁻¹	1.30 (1.19, 1.59)	1.27 (0.87, 1.74)	0.044	1.23 (0.88, 1.57)	1.31 (1.15, 1.56)	0.060
补体C3/g·L ⁻¹	1.28 (1.17, 1.45)	1.14 (1.07, 1.20)	<0.001	1.27 (1.17, 1.44)	1.12 (1.07, 1.20)	<0.001
补体C4/g·L ⁻¹	0.31 (0.26, 0.38)	0.24 (0.21, 0.28)	<0.001	0.30 (0.23, 0.38)	0.24 (0.21, 0.28)	<0.001

注: PSM, 倾向性评分匹配法; SPP, 患者感受; SAS, 焦虑自评量表; SDS, 抑郁自评量表; RF, 类风湿因子; anti-CCP, 抗环瓜氨酸肽抗体; ESR, 红细胞沉降率; hs-CRP, 超敏C反应蛋白; IL-6, 白细胞介素-6; VAS, 视觉模拟量表; CPRI-RA, 中国类风湿关节炎患者报告疾病活动指数; IgA, 免疫球蛋白A; IgG, 免疫球蛋白G; IgM, 免疫球蛋白M。

a) 与对照组治疗前后差值比较, $P<0.01$ 。

3.4 RA 患者 SPP 与免疫炎症指标相关性分析结果

图 1 示, SF-36 中生理功能 (相关系数-0.19, $P<0.05$)、社会功能 (相关系数-0.18, $P<0.05$) 评分与 hs-CRP 呈负相关, VAS 评分与 hs-CRP 呈正相关 (相关系数 0.19, $P<0.05$)。

3.5 黄芩清热除痹胶囊与患者 SPP、免疫炎症指标改善的关联规则分析结果

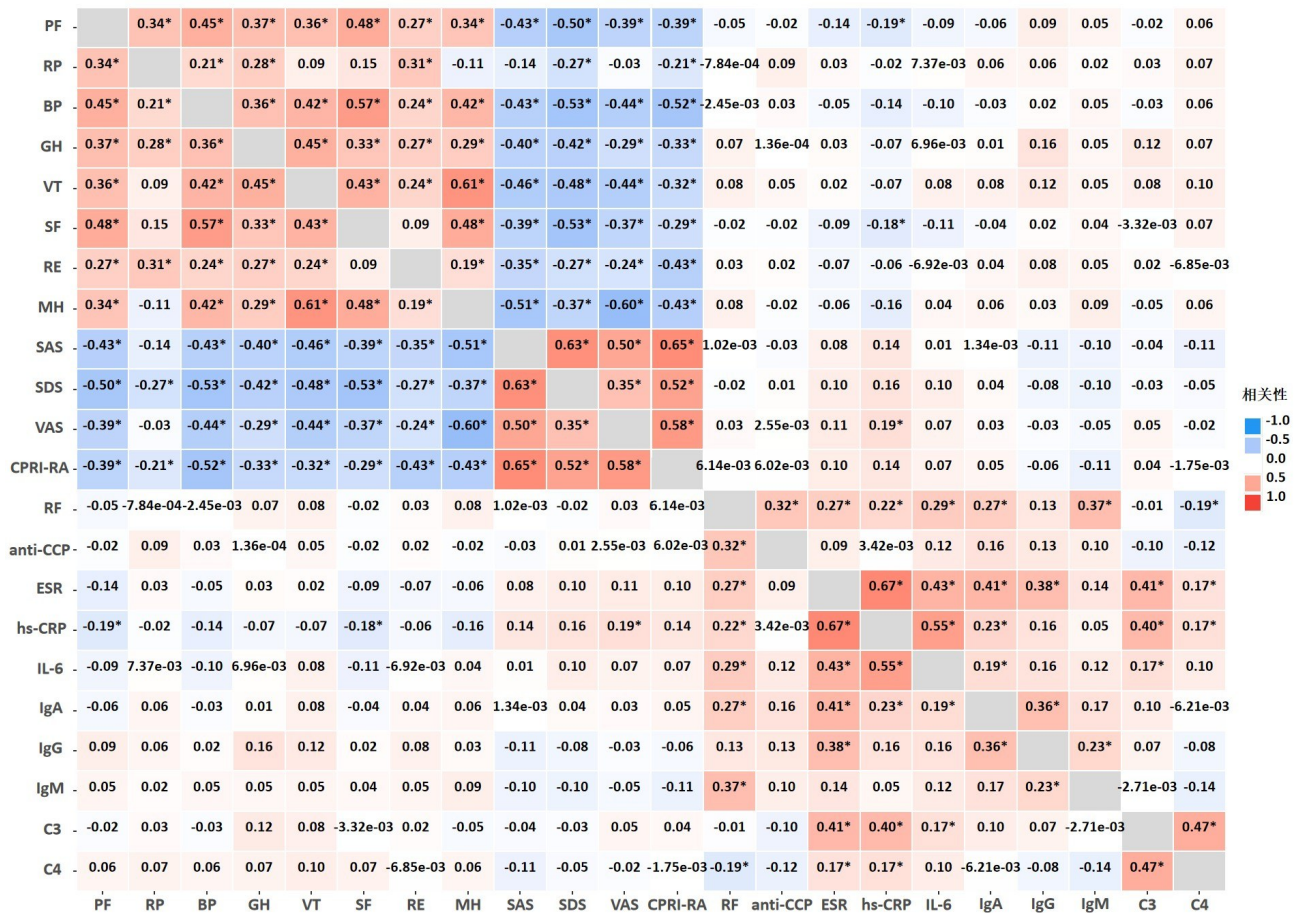
表 3 示, 黄芩清热除痹胶囊与患者 SPP 指标中 SDS、SAS、VAS、生理功能、躯体疼痛、总体健康、活力、社会功能、情感职能、精神健康各项评分和 CPRI-RA, 以及免疫炎症指标中 hs-CRP、ESR、补体 C4、IL-6、IgG、RF、IgA、anti-CCP 的改善具有较高关联度 (支持度=50%, 置信度>50%, 提升度>1%)。

3.6 基于炎症指标的黄芩清热除痹胶囊改善患者 SPP 的中介分析结果

表 4 示, hs-CRP 中介了黄芩清热除痹胶囊与生理功能、总体健康、活力、社会功能、情感职能、精神健康、SAS、SDS 评分之间的关系, 中介比例分别为 8.30%、5.00%、6.70%、7.70%、5.50%、8.60%、19.30%、16.00%。ESR 中介了黄芩清热除痹胶囊与躯体疼痛、总体健康、活力、社会功能、情感职能、精神健康、SAS、SDS 评分之间的关系, 中介比例分别为 12.90%、6.00%、3.70%、5.40%、7.30%、7.70%、17.50%、16.40%。

3.7 黄芩清热除痹胶囊对患者 SPP 指标影响的 Logistic 回归分析结果

图 2 示, 黄芩清热除痹胶囊可降低生理功能、



注: SPP, 患者感受; PF, 生理功能; RP, 生理职能; BP, 躯体疼痛; GH, 总体健康; VT, 活力; SF, 社会功能; RE, 情感职能; MH, 精神健康; SAS, 焦虑自评量表; SDS, 抑郁自评量表; VAS, 视觉模拟量表; CPRI-RA, 中国类风湿关节炎患者报告疾病活动指数; RF, 类风湿因子; anti-CCP, 抗环瓜氨酸肽抗体; ESR, 红细胞沉降率; hs-CRP, 超敏C反应蛋白; IL-6, 白细胞介素-6; IgA, 免疫球蛋白A; IgG, 免疫球蛋白G; IgM, 免疫球蛋白M; C3, 补体C3; C4, 补体C4; *代表 $P<0.05$ 。

图1 452例类风湿关节炎患者SPP指标与免疫炎症指标的Spearman相关性分析热图

Figure 1 Spearman correlation heatmap of SPP and immune inflammatory indicators in 452 patients with rheumatoid arthritis

表 3 黄芩清热除痹胶囊与类风湿关节炎患者 SPP、免疫炎症指标改善的关联规则分析结果

Table 3 Association rules between *Huangqin Qingre Chubi Capsule* and improvements in SPP and immune inflammatory indicators in patients with rheumatoid arthritis

前项	后项	支持度/%	置信度/%	提升度	前项	后项	支持度/%	置信度/%	提升度
黄芩清热除痹胶囊	SDS 评分 ↓	50	93.258	1.103	黄芩清热除痹胶囊	ESR ↓	50	73.596	1.078
黄芩清热除痹胶囊	SAS 评分 ↓	50	93.258	1.092	黄芩清热除痹胶囊	补体 C4 ↓	50	72.472	1.032
黄芩清热除痹胶囊	VAS 评分 ↓	50	93.258	1.028	黄芩清热除痹胶囊	补体 C3 ↓	50	71.910	0.988
黄芩清热除痹胶囊	CPRI-RA ↓	50	93.258	1.022	黄芩清热除痹胶囊	IL-6 ↓	50	66.854	1.035
黄芩清热除痹胶囊	躯体疼痛评分 ↑	50	92.135	1.068	黄芩清热除痹胶囊	总体健康评分 ↑	50	64.045	1.267
黄芩清热除痹胶囊	活力评分 ↑	50	91.011	1.200	黄芩清热除痹胶囊	IgG ↓	50	62.360	1.037
黄芩清热除痹胶囊	精神健康评分 ↑	50	90.449	1.211	黄芩清热除痹胶囊	RF ↓	50	58.427	1.020
黄芩清热除痹胶囊	生理功能评分 ↑	50	88.764	1.158	黄芩清热除痹胶囊	IgA ↓	50	53.933	1.043
黄芩清热除痹胶囊	社会功能评分 ↑	50	88.202	1.194	黄芩清热除痹胶囊	anti-CCP ↓	50	52.247	1.039
黄芩清热除痹胶囊	hs-CRP ↓	50	83.708	1.068	黄芩清热除痹胶囊	生理职能评分 ↑	50	52.247	0.944
黄芩清热除痹胶囊	情感职能评分 ↑	50	77.528	1.260	黄芩清热除痹胶囊	IgM ↓	50	43.258	1.020

注：SPP，患者感受；SDS，抑郁自评量表；SAS，焦虑自评量表；VAS，视觉模拟量表；CPRI-RA，中国类风湿关节炎患者报告疾病活动指数；hs-CRP，超敏 C 反应蛋白；ESR，红细胞沉降率；IL-6，白细胞介素-6；IgG，免疫球蛋白 G；RF，类风湿因子；IgA，免疫球蛋白 A；anti-CCP，抗环瓜氨酸肽抗体；IgM，免疫球蛋白 M；↓代表降低，↑代表升高。

表 4 基于炎症指标的黄芩清热除痹胶囊改善类风湿关节炎患者 SSP 的中介分析结果（以黄芩清热除痹胶囊为自变量）

Table 4 Mediation analysis of *Huangqin Qingre Chubi Capsule*-induced improvement in SSP based on inflammatory indicators in patients with rheumatoid arthritis (with *Huangqin Qingre Chubi Capsule* as the independent variable)

中介变量	因变量	总效应 系数 (95%CI)	P 值	间接效应 系数 (95%CI)	P 值	直接效应 系数 (95%CI)	P 值	中介比例 % (95%CI)
hs-CRP	生理功能评分	0.23 (0.15, 0.31)	<0.001	0.02 (0.01, 0.07)	<0.001	0.21 (0.12, 0.28)	<0.001	8.30 (5.30, 27.90)
ESR	躯体疼痛评分	0.11 (0.04, 0.18)	<0.001	0.01 (0.01, 0.04)	<0.001	0.1 (0.02, 0.16)	<0.001	12.90 (4.70, 48.80)
ESR	总体健康评分	0.26 (0.15, 0.36)	<0.001	0.02 (0.01, 0.05)	<0.001	0.25 (0.13, 0.35)	<0.001	6.00 (2.20, 21.60)
hs-CRP		0.26 (0.16, 0.36)	<0.001	0.01 (0.001, 0.05)	0.040	0.25 (0.13, 0.34)	<0.001	5.00 (0.60, 21.70)
ESR	活力评分	0.30 (0.24, 0.38)	<0.001	0.01 (0.003, 0.03)	0.020	0.29 (0.22, 0.37)	<0.001	3.70 (0.80, 12.50)
hs-CRP		0.29 (0.23, 0.38)	<0.001	0.02 (0.01, 0.07)	<0.001	0.27 (0.19, 0.35)	<0.001	6.70 (3.10, 22.30)
ESR	社会功能评分	0.28 (0.19, 0.36)	<0.001	0.02 (0.01, 0.05)	<0.001	0.26 (0.16, 0.34)	<0.001	5.40 (2.20, 16.50)
hs-CRP		0.27 (0.19, 0.36)	<0.001	0.02 (0.01, 0.07)	<0.001	0.25 (0.15, 0.33)	<0.001	7.70 (4.10, 24.40)
ESR	情感职能评分	0.31 (0.23, 0.40)	<0.001	0.02 (0.01, 0.06)	<0.001	0.29 (0.20, 0.37)	<0.001	7.30 (3.20, 19.30)
hs-CRP		0.31 (0.22, 0.39)	<0.001	0.02 (0.009, 0.06)	<0.001	0.29 (0.19, 0.38)	<0.001	5.50 (2.80, 18.30)
ESR	精神健康评分	0.30 (0.22, 0.38)	<0.001	0.02 (0.01, 0.06)	<0.001	0.28 (0.19, 0.35)	<0.001	7.70 (3.80, 22.90)
hs-CRP		0.29 (0.21, 0.38)	<0.001	0.03 (0.02, 0.08)	<0.001	0.27 (0.18, 0.34)	<0.001	8.60 (4.70, 28.50)
ESR	SAS 评分	0.14 (0.09, 0.23)	<0.001	0.03 (0.01, 0.08)	<0.001	0.12 (0.05, 0.20)	<0.001	17.50 (9.10, 50.30)
hs-CRP		0.14 (0.09, 0.23)	<0.001	0.03 (0.02, 0.09)	<0.001	0.11 (0.05, 0.20)	<0.001	19.30 (10.60, 59.80)
ESR	SDS 评分	0.16 (0.11, 0.25)	<0.001	0.03 (0.01, 0.07)	<0.001	0.13 (0.07, 0.20)	<0.001	16.40 (8.40, 43.00)
hs-CRP		0.15 (0.11, 0.25)	<0.001	0.02 (0.02, 0.08)	<0.001	0.13 (0.07, 0.21)	<0.001	16.00 (8.20, 47.40)

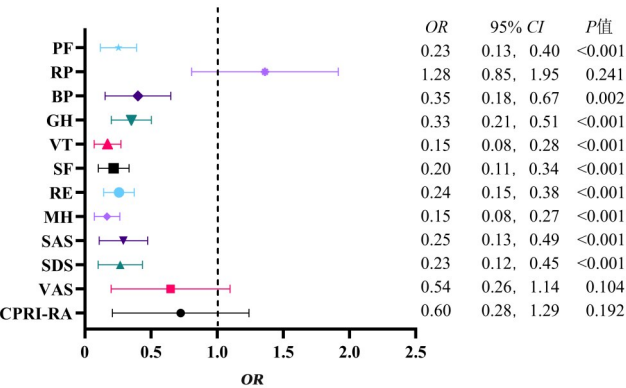
注：SPP，患者感受；hs-CRP，超敏 C 反应蛋白；ESR，红细胞沉降率；SAS，焦虑自评量表；SDS，抑郁自评量表。

躯体疼痛、总体健康、活力、社会功能、情感职能、精神健康、SAS、SDS 各项评分恶化的风险 ($P<0.05$)，是上述指标的保护因素。

3.8 黄芩清热除痹胶囊治疗 RA 的药物-活性成分-共同靶点网络构建结果

从 TCMSPP 数据库筛选并校正后得到黄芩清热除痹胶囊 183 个潜在药物活性成分靶点，从 Gene-

Cards、OMIM、DrugBank 数据库获得 1413 个 RA 相关靶点，将二者靶点基因取交集，共获得 101 个药物与疾病共同靶点，这些靶点可能参与了黄芩清热除痹胶囊治疗 RA 的作用机制。利用 101 个共同靶点构建黄芩清热除痹胶囊治疗 RA 的药物-活性成分-共同靶点网络图，见附图 1（请扫描本文二维码获取）。



注：SPP，患者感受；PF，生理功能；RP，生理职能；BP，躯体疼痛；GH，总体健康；VT，活力；SF，社会功能；RE，情感职能；MH，精神健康；SAS，焦虑自评量表；SDS，抑郁自评量表；VAS，视觉模拟量表；CPRI-RA，中国类风湿关节炎患者报告疾病活动指数。

图2 黄芩清热除痹胶囊对类风湿关节炎患者SPP指标影响的Logistic回归分析结果

Figure 2 Logistic regression analysis of *Huangqin Qingre Chubi Capsule* on SPP indicators in patients with rheumatoid arthritis

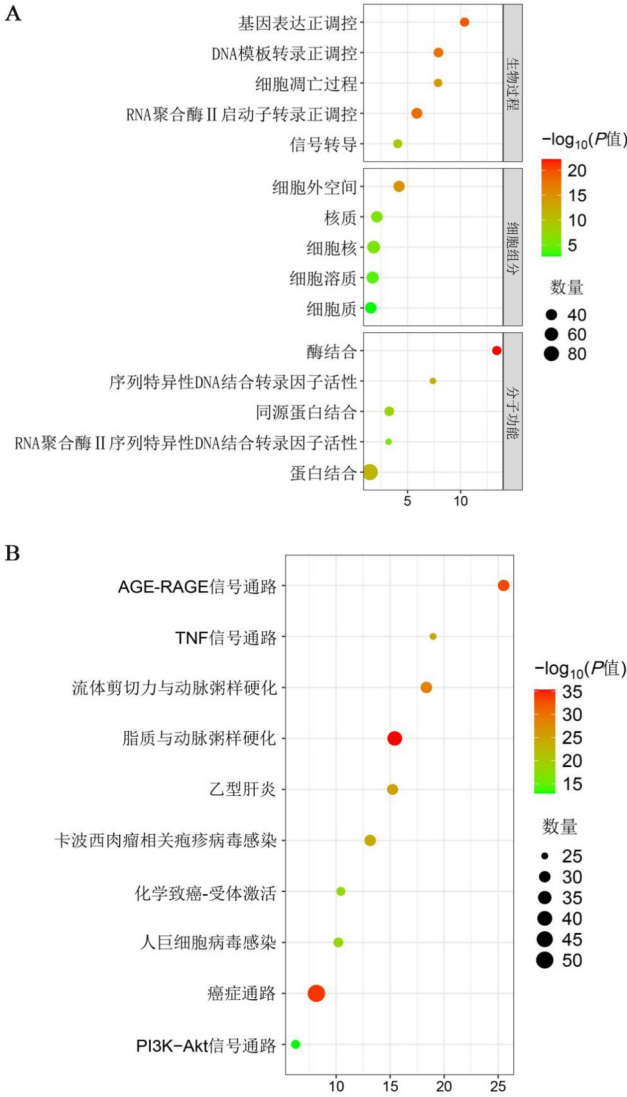
3.9 GO和KEGG通路富集分析结果

对101个药物与疾病共同靶点进行GO和KEGG通路富集分析。GO富集分析取P值排名前5位的生物过程、细胞组分、分子功能进行可视化展示。图3A示，这些靶点主要参与基因表达正调控、DNA模板转录正调控、细胞凋亡过程、RNA聚合酶II启动子转录调控、信号转导等生物过程，涉及细胞外空间、核质、细胞核、细胞溶质、细胞质等细胞组分，以及酶结合、序列特异性DNA结合转录因子活性、同源蛋白结合、RNA聚合酶II序列特异性DNA结合转录因子活性、蛋白结合等分子功能。

KEGG通路富集分析取基因数量排名前10位的通路（ $P<0.01$ ，重叠数 ≥ 3 ，富集因子 ≥ 1.5 ）进行可视化展示。图3B示，包括晚期糖基化终末产物及其受体（AGE-RAGE）信号通路、肿瘤坏死因子（TNF）信号通路、流体剪切力与动脉粥样硬化、脂质与动脉粥样硬化、乙型肝炎、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、化学致癌-受体激活、人巨细胞病毒感染、癌症通路、磷脂酰肌醇3-激酶-蛋白激酶B（PI3K-Akt）信号通路。

3.10 PPI网络分析结果

将101个药物与疾病共同靶点数据导入String数据库中PPI分析，使用网络拓扑分析的网络分析仪插件计算每个网络节点的中心性值（DC），筛选出超过DC中位数2倍的节点。设置中间中心



注：A，基因本体富集分析；B，京都基因与基因组百科全书通路富集分析；AGE-RAGE，晚期糖基化终末产物及其受体；TNF，肿瘤坏死因子；PI3K，磷脂酰肌醇3-激酶；Akt，蛋白激酶B；GO，基因本体；KEGG，京都基因与基因组百科全书。

图3 黄芩清热除痹胶囊治疗类风湿关节炎药物与疾病共同靶点的GO和KEGG通路富集分析

Figure 3 GO and KEGG pathway enrichment analysis of common targets of *Huangqin Qingre Chubi Capsule* and rheumatoid arthritis

性（BC）和近中心性（CC）大于中值的节点，获取度值排名前10位的靶点作为黄芩清热除痹胶囊治疗RA的核心靶点，具体为JUN、IL-6、VEGFA、MMP9、IL-1 β 、CXCL8、肿瘤蛋白p53（TP53）、蛋白激酶B（AKT1）、前列腺素内过氧化物合酶2（PTGS2）、胱天蛋白酶3（CASP3）。黄芩清热除痹胶囊治疗RA核心靶点PPI网络图见附图2（请扫描本文二维码获取）。

3.11 分子对接验证结果

在TCMSP数据库中筛选出能共同作用于上述

10个核心靶点的黄芩清热除痹胶囊的7个药物活性成分(汉黄芩素、槲皮素、 α 1-谷甾醇、 β -谷甾醇、豆甾醇、黄芩素、藏红花酸),并与上述10个核心靶点进行分子对接。结合能低于-7 kcal/mol的8组组合分别为:槲皮素与VEGFA (-8.3 kcal/mol)、槲皮素与JUN (-8.0 kcal/mol)、黄芩素与VEGFA (-8.0 kcal/mol)、槲皮素与MMP9 (-7.6 kcal/mol)、汉黄芩素与CXCL8 (-7.4 kcal/mol)、黄芩素与MMP9 (-7.3 kcal/mol)、槲皮素与IL-6 (-7.1 kcal/mol)、槲皮素与IL-1 β (-7.1 kcal/mol),表明各组合显示出较强结合能力。黄芩清热除痹胶囊治疗RA的药物活性成分与核心靶点分子对接结合模式图见附图3(请扫描本文二维码获取)。

3.12 细胞实验研究结果

基于网络药理学研究结果,本研究选择与炎症相关的MMP9、JUN、VEGFA、CXCL8、IL-6、IL-1 β 共6个靶点进行实验验证。

3.12.1 药物对RA-FLS干预浓度和时间筛选结果

以CCK-8法检测细胞活力,结果显示,与0 nmol/L浓度同时间比较,20、40、80、100、120 nmol/L浓度的甲氨蝶呤干预24 h、48 h、72 h后细胞抑制率均升高且呈剂量依赖性,随着甲氨蝶呤浓度的增加抑制作用越来越显著($P<0.05$)。利用SPSS 22.0软件计算出甲氨蝶呤对细胞的半抑制浓度为73.556 nmol/L,故选择接近半抑制浓度的80 nmol/L甲氨蝶呤进行后续实验,且该浓度甲氨蝶呤在干预48 h后对RA-FLS细胞抑制作用最显著。与0%浓度同时间比较,除5%浓度干预24 h外,5%、10%、20%、30%浓度的黄芩清热除痹胶囊含药血清干预24 h、48 h、72 h后细胞存活率均降低且呈剂量依赖性($P<0.05$),而20%与30%浓度的黄芩清热除痹胶囊含药血清在干预各时间点比较差异均无统计学意义($P>0.05$),故选择20%浓度进行后续实验。同时20%浓度黄芩清热除痹胶囊含药血清在干预48 h后细胞存活率最低。药物对RA-FLS干

预浓度和时间的筛选比较见附表1、附表2(请扫描本文二维码获取)。

综上,ELISA法检测、Western Blot法检测及Transwell实验检测均选择80 nmol/L甲氨蝶呤、20%浓度黄芩清热除痹胶囊含药血清培养的RA-FLS作为80 nmol/L对照组、20%含药血清组,与正常组、模型组进行比较,干预时间选择48 h。

3.12.2 各组细胞培养48 h后细胞存活率比较 表5示,与正常组比较,模型组细胞存活率升高($P<0.05$);与模型组比较,20%含药血清组、80 nmol/L对照组细胞存活率降低($P<0.05$)。

表5 各组细胞培养48 h后细胞存活率比较

Table 5 Comparison of cell viability among groups

after 48 h of culture (%, $\bar{x}\pm s$)		
组别	样本数	细胞存活率
正常组	3	1
模型组	3	2.185 $\pm$ 0.007 ^{a)}
20%含药血清组	3	1.402 $\pm$ 0.001 ^{a) b)}
80 nmol/L对照组	3	1.297 $\pm$ 0.005 ^{a) b)}

注: a) 与正常组比较, $P<0.05$; b) 与模型组比较, $P<0.05$ 。

3.12.3 各组细胞上清液IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-10水平比较 表6示,与正常组比较,模型组IL-1 β 、IL-6、IL-8水平升高,IL-10水平降低($P<0.05$);与模型组比较,20%含药血清组、80 nmol/L对照组IL-1 β 、IL-6、IL-8水平降低,IL-10水平升高($P<0.05$)。

3.12.4 各组细胞上清液MMP9、JUN、VEGFA、CXCL8蛋白水平比较 表7示,与正常组比较,模型组MMP9、JUN、VEGFA、CXCL8蛋白水平升高($P<0.05$);与模型组比较,20%含药血清组、80 nmol/L对照组MMP9、JUN、VEGFA、CXCL8蛋白水平降低($P<0.05$)。

3.12.5 各组细胞细胞迁移能力比较 图4示,模型组较正常组穿膜细胞数量明显增加,20%含药血清组、80 nmol/L对照组较模型组穿膜细胞数量明显减少,提示二者均能抑制RA-FLS细胞迁移能力。

表6 各组细胞上清液IL-1 β 、IL-6、IL-10、IL-8水平比较

Table 6 Comparison of IL-1 β , IL-6, IL-10 and IL-8 levels in cell supernatants among different groups (pg $\cdot$ ml⁻¹, $\bar{x}\pm s$)

组别	样本数	IL-1 β	IL-6	IL-10	IL-8
正常组	6	64.93 $\pm$ 7.58	51.61 $\pm$ 2.73	166.45 $\pm$ 9.11	202.29 $\pm$ 13.76
模型组	6	248.61 $\pm$ 11.23 ^{a)}	130.86 $\pm$ 4.23 ^{a)}	45.06 $\pm$ 4.96 ^{a)}	490.92 $\pm$ 19.12 ^{a)}
20%含药血清组	6	122.79 $\pm$ 10.20 ^{a) b)}	69.92 $\pm$ 2.98 ^{a) b)}	93.76 $\pm$ 3.81 ^{a) b)}	285.11 $\pm$ 5.59 ^{a) b)}
80 nmol/L对照组	6	126.73 $\pm$ 14.62 ^{a) b)}	70.78 $\pm$ 4.57 ^{a) b)}	91.73 $\pm$ 5.99 ^{a) b)}	288.17 $\pm$ 12.36 ^{a) b)}

注: IL-1 β , 白细胞介素-1 β ; IL-6, 白细胞介素-6; IL-10, 白细胞介素-10; IL-8, 白细胞介素-8。

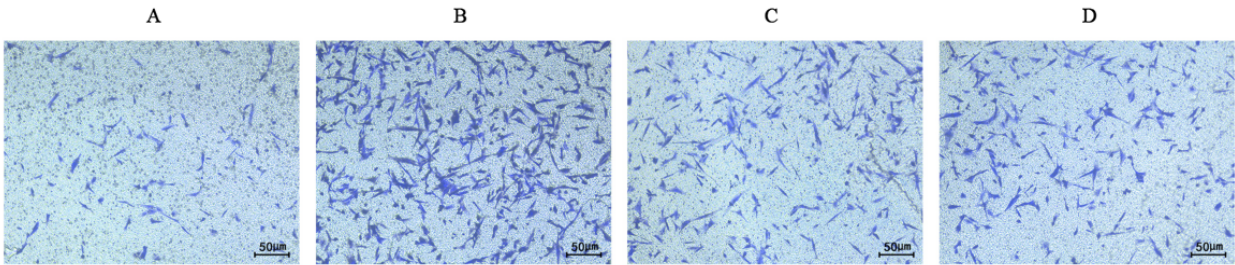
a) 与正常组比较, $P<0.05$; b) 与模型组比较, $P<0.05$ 。

表 7 各组细胞上清液 MMP9、JUN、VEGF、CXCL8 蛋白水平比较

Table 7 Comparison of MMP9, JUN, VEGF, and CXCL8 protein levels in cell supernatants among different groups (/GAPDH, $\bar{x}\pm s$)

组别	样本数	MMP9	JUN	VEGFA	CXCL8
正常组	6	0.51±0.03	0.51±0.03	0.17±0.01	0.50±0.04
模型组	6	1.02±0.07 ^{a)}	1.04±0.10 ^{a)}	1.23±0.08 ^{a)}	1.52±0.08 ^{a)}
20% 含药血清组	6	0.66±0.06 ^{a) b)}	0.80±0.07 ^{a) b)}	0.57±0.11 ^{a) b)}	0.80±0.06 ^{a) b)}
80 nmol/L 对照组	6	0.80±0.07 ^{a) b)}	0.80±0.01 ^{a) b)}	0.63±0.05 ^{a) b)}	0.88±0.01 ^{a) b)}

注：MMP9，基质金属蛋白酶9；JUN，转录因子AP-1亚基；VEGFA，血管内皮生长因子A；CXCL8，C-X-C基序趋化因子配体8。
a) 与正常组比较， $P<0.05$ ；b) 与模型组比较， $P<0.05$ 。



注：A，正常组；B，模型组；C，20% 含药血清组；D，80 nmol/L 对照组。

图 4 Transwell 实验检测各组细胞细胞迁移能力比较结果 (×100)

Figure 4 Comparison of cell migration ability among different groups detected by Transwell assay (×100)

4 讨论

RA 属于中医学“痹证”范畴，活动期 RA 多以湿热痹阻为核心病机，治疗当以健脾清热、通络除痹为基本原则^[19-20]。黄芩清热除痹胶囊正是基于上述病机认识而组方，全方以黄芩、栀子为君药，清热燥湿，泻火除烦，直折病势；威灵仙为臣药，祛风除湿，通络止痛，以利关节；薏苡仁健脾渗湿、舒筋除痹，桃仁活血化瘀、通络止痛，二者共为佐使药，健脾以绝生湿之源，化瘀以通痹阻之络。本课题组前期已对黄芩清热除痹胶囊的制备工艺、质量标准、指纹图谱等进行全面研究，充分验证了其具备出色的生产技术、科学的化学成分和严格的质量标准^[21-23]。

免疫炎症反应贯穿 RA 发生与发展全过程，可导致关节结构破坏和功能丧失^[24]。RA 患者 SPP 可能与免疫炎症反应密切相关，如研究表明，RA 患者 SF-36 中多项维度（包括生理功能、生理职能、躯体疼痛、活力、社会功能和情感职能）评分显著降低，且伴随炎症指标升高，提示 SPP 可作为评估 RA 病情和病理变化的敏感指标^[25-26]；SF-36 评分与 RF、anti-CCP、D-二聚体等指标呈负相关，VAS 评分则与炎症指标呈正相关，提示 SPP 能够一定程度上反映 RA 患者的炎症状态和疾病活动度^[25]。本研究显示，RA 患者普遍存在生活质量和心理状态问题，SF-36 中生理功能、生理职能、躯体疼痛、总

体健康、活力、情感职能、精神健康等多数维度评分的异常比例超过 70%，SAS 及 SDS 评分异常比例也高于 80%，提示 RA 不仅是关节疾病，更是涉及身心健康的系统性疾病。Spearman 相关性分析表明，SF-36 中生理功能、社会功能评分与 hs-CRP 呈负相关，VAS 评分与 hs-CRP 呈正相关，与前期研究^[25]结果相近。本研究进一步证实，黄芩清热除痹胶囊可改善 SF-36、SAS、SDS、VAS 评分及 CPRI-RA 等 SPP 指标及 ESR、hs-CRP、IL-6、IgG、IgM、补体 C3、补体 C4 等多项免疫炎症指标，而 RF、anti-CCP 和 IgA 改善效果不明显，这可能与样本量小、治疗时间较短等因素有关。关联规则和 Logistic 回归分析结果表明，黄芩清热除痹胶囊治疗是 RA 患者 SPP 指标改善的保护因素，并且中介分析表明 hs-CRP 和 ESR 等关键炎症指标在黄芩清热除痹胶囊改善 RA 患者 SPP 过程中扮演了重要的中介角色。可见，调节免疫炎症反应可能是黄芩清热除痹胶囊发挥临床疗效的核心途径之一。

为深入阐释黄芩清热除痹胶囊的作用机制，本研究采用网络药理学、分子对接及细胞实验验证的方法进行研究。网络药理学研究表明，黄芩清热除痹胶囊治疗 RA 的核心药物活性成分包括汉黄芩素、槲皮素、α1-谷甾醇、β-谷甾醇、豆甾醇、黄芩素、藏红花酸，核心靶点包括 TP53、JUN、IL-6、VEGFA、MMP9、IL-1β、AKT1、PTGS2、CASP3、

CXCL8。进一步通过分子对接证实了药物活性成分(如槲皮素、黄芩素、汉黄芩素)与核心靶点(如 IL-6、IL-1 β 、VEGFA、JUN、MMP9、CXCL8)之间结合能力较强,提示这些成分可能是黄芩清热除痹胶囊治疗 RA 的物质基础。IL-1 β 、IL-6、IL-8 是 RA 滑膜炎症中关键促炎细胞因子,其过度表达会直接驱动炎症反应、免疫细胞募集及关节破坏^[27-28];而 IL-10 是具有抗炎活性的细胞因子,其表达上调有助于抑制过度炎症反应^[29]。MMP9 在 RA 患者血清及关节滑液中水平升高,与疾病严重程度和进展呈正相关^[30]。转录因子 JUN 可激活炎症通路并调控相关基因表达,被视为 RA 特异性诊断的潜在生物标志物^[31]。VEGFA 是病理性血管生成的关键诱导因子,与 RA 滑膜血管翳的形成密切相关^[32]。CXCL8(即 IL-8)可作为确诊 RA 的有效生物标志物,在 RA 进展中起到重要作用^[33]。这些指标分别从炎症启动、放大、组织破坏、血管新生及免疫调节等多个环节较为全面地覆盖了 RA 核心病理过程。因此,本研究选择上述指标进行细胞实验验证。结果表明,黄芩清热除痹胶囊含药血清能够有效抑制 RA-FLS 细胞的异常活化和迁移能力,下调 IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平以及 MMP9、JUN、VEGFA、CXCL8 蛋白水平,上调 IL-10 水平,且其作用效果可能与甲氨蝶呤类同。上述结果从细胞功能层面证实了网络药理学研究的结果预测,提示黄芩清热除痹胶囊可能通过同时干预炎症因子通路、抑制滑膜细胞侵袭性以及调节免疫平衡,从而多环节、多通路、多靶点地缓解 RA 病情进展。

综上,黄芩清热除痹胶囊可通过多靶点、多通路调控 RA 免疫炎症反应,进而改善患者 SPP。本研究仍存在局限性:首先,临床部分虽已采用 PSM 控制混杂因素,但仍为观察性研究,未来需开展多中心随机对照试验进一步验证黄芩清热除痹胶囊的疗效;其次,网络药理学研究预测所得通路和靶点虽经初步实验验证,但尚未在动物模型或更接近体内的实验体系中全面检验;最后,黄芩清热除痹胶囊复杂成分中具体哪些化合物起主导作用、其药代动力学特性如何,仍有待深入探讨。未来研究可着眼于以下三个方面:一是利用基因敲减或转基因动物模型验证黄芩清热除痹胶囊的核心靶点;二是开展黄芩清热除痹胶囊主要活性成分的单独与联合用药研究,明确其配伍机制;三是结合代谢组学与蛋白质组学方法,系统解析黄芩清热除痹胶囊调控的分子网络。

参考文献

- [1]PIANTONI S, OHRNDORF S. Editorial: rheumatoid arthritis: pathogenesis and target-treatments [J]. Front Med (Lausanne), 2023, 10: 1145163. doi: 10. 3389/fmed. 2023. 1145163.
- [2]许成,童晶晶,刘娜,等. 类风湿关节炎焦虑抑郁发病情况及影响因素分析[J]. 中华风湿病学杂志, 2017, 21(5):342-347.
- [3]VAN DEN HOEK J, BOSHUIZEN HC, ROORDA LD, et al. Association of somatic comorbidities and comorbid depression with mortality in patients with rheumatoid arthritis: a 14-year prospective cohort study [J]. Arthrit Care Res, 2016, 68(8):1055-1060.
- [4]MATCHAM F, NORTON S, SCOTT DL, et al. Symptoms of depression and anxiety predict treatment response and long-term physical health outcomes in rheumatoid arthritis: secondary analysis of a randomized controlled trial [J]. Rheumatology (Oxford), 2016, 55(2):268-278.
- [5]OUDE VOSHAAR MAH, GUPTA ZDAS, BIJLSMA JWJ, et al. International consortium for health outcome measurement set of outcomes that matter to people living with inflammatory arthritis: consensus from an international working group [J]. Arthrit Care Res, 2019, 71(12):1556-1565.
- [6]LI Y, LIU J, SUN Y, et al. Joint association between pan-immune inflammation value and physical pain with self-perception of patients in rheumatoid arthritis: a retrospective cohort study employing traditional statistics and interpretable machine learning [J]. Front Immunol, 2025, 16: 1711081. doi:10. 3389/fimmu. 2025. 1711081.
- [7]WEN J, LIU J, WANG B, et al. Prediction of self-perception of patient in rheumatoid arthritis with the key RNAs expression profiles [J]. Front Med (Lausanne), 2020, 7:567. doi:10. 3389/fmed. 2020. 00567.
- [8]李舒,万磊,赵磊,等. 黄芩清热除痹胶囊治疗类风湿关节炎临床观察及对血清 M1、M2 型炎症因子影响 [J]. 中药药理与临床, 2022, 38(2):190-194.
- [9]徐昌萍,曹云祥,黄传兵. 黄芩清热除痹胶囊联合甲氨蝶呤治疗活动期类风湿关节炎的平行对比研究 [J]. 光明中医, 2022, 37(19):3569-3572.
- [10]王杰,刘健,文建庭,等. 新风胶囊联合黄芩清热除痹胶囊改善类风湿关节炎湿热痹阻证患者感受的关联规则分析 [J]. 中国临床保健杂志, 2021, 24(5):639-645.
- [11]ALETAHA D, NEOGI T, SILMAN AJ, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative [J]. Ann Rheum Dis, 2010,

- 69(9):1580–1588.
- [12]国家皮肤与免疫疾病临床医学研究中心(北京协和医院),中国医师协会风湿免疫专科医师分会,中国康复医学会风湿免疫病康复专业委员会,等. 2024 中国类风湿关节炎诊疗指南[J]. 中华内科杂志, 2024, 63(11):1059–1077.
- [13]MATCHAM F, SCOTT IC, RAYNER L, et al. The impact of rheumatoid arthritis on quality-of-life assessed using the SF-36: a systematic review and meta-analysis [J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2014, 44(2):123–130.
- [14]DUNSTAN DA, SCOTT N. Norms for Zung's self-rating anxiety scale[J]. *BMC Psychiatry*, 2020, 20(1):90.
- [15]DUNSTAN DA, SCOTT N. Clarification of the cut-off score for Zung's self-rating depression scale [J]. *BMC Psychiatry*, 2019, 19(1):177.
- [16]中华中医药学会风湿病分会. 中国类风湿关节炎患者报告的临床结局量表专家共识[J]. 中医杂志, 2018, 59(10):897–900.
- [17]蔡嘉洛,李晓屏,朱贻霖,等. 基于网络药理学和分子对接技术探讨黄芩实汤治疗糖尿病前期的作用机制[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(4):1039–1050.
- [18]HU Y, LIU J, QI Y, et al. Integrating clinical data mining, network analysis and experimental validation reveal the anti-inflammatory mechanism of Huangqin Qingre Chubi Capsule in rheumatoid arthritis treatment [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 329: 118077. doi: 10.1016/j.jep. 2024. 118077.
- [19]中华中医药学会风湿病分会. 类风湿关节炎病证结合诊疗指南[J]. 中医杂志, 2018, 59(20):1794–1800.
- [20]刘蔚翔,姜泉. 类风湿关节炎“湿、热、瘀”病机理论探析[J]. 中医杂志, 2020, 61(24):2148–2153.
- [21]刘剑桥,刘晓闯,刘健,等. 黄芩清热除痹胶囊 HPLC 指纹图谱初步研究及 3 个成分含量测定[J]. 中国医药生物技术, 2022, 17(1):56–58.
- [22]董心同,甘珮荣,柯江涛,等. UHPLC-MS/MS 同时测定黄芩清热除痹胶囊中 6 种活性成分[J]. 安徽中医药大学学报, 2021, 40(6):97–102.
- [23]姜娟娟,刘晓闯,张艳艳,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的黄芩清热除痹胶囊化学成分分析[J]. 分析测试学报, 2024, 43(6):814–825.
- [24]WEYAND CM, GORONZY JJ. The immunology of rheumatoid arthritis[J]. *Nat immunol*, 2021, 22(1):10–18.
- [25]WANG F, LIU J. Regulating the lncRNA DSCR9/RPLP2/PI3K/AKT axis: an important mechanism of Xinfeng capsules in improving rheumatoid arthritis [J]. *Front Immunol*, 2024, 15:1465442. doi:10.3389/fimmu. 2024. 1465442.
- [26]刘健,万磊,刘磊,等. 440 例风湿病患者生活质量 SF-36 积分变化及影响因素分析[J]. 风湿病与关节炎, 2012, 1(3):19–23.
- [27]JAZAYERI JA, CARROLL GJ, VERNALLIS AB. Interleukin-6 subfamily cytokines and rheumatoid arthritis: role of antagonists [J]. *Int Immunopharmacol*, 2010, 10(1):1–8.
- [28]GREMESE E, TOLUSSO B, BRUNO D, et al. The forgotten key players in rheumatoid arthritis: IL-8 and IL-17-unmet needs and therapeutic perspectives [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2023, 10:956127. doi:10.3389/fmed. 2023. 956127.
- [29]VAN ROON JA, LAFEVER FP, BIJLSMA JW. Synergistic activity of interleukin-4 and interleukin-10 in suppression of inflammation and joint destruction in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2001, 44(1):3–12.
- [30]SHARIF M, RASOOL K, JOHN P, et al. Decoding pathogenic MMP9 variants in rheumatoid arthritis using computational and molecular dynamics approaches [J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1):33743.
- [31]DENG Y, WANG J, HUANG M, et al. Inhibition of miR-148a-3p resists hepatocellular carcinoma progress of hepatitis C virus infection through suppressing c-Jun and MAPK pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(2):1415–1426.
- [32]ELSHABRAWY HA, CHEN Z, VOLIN MV, et al. The pathogenic role of angiogenesis in rheumatoid arthritis [J]. *Angiogenesis*, 2015, 18(4):433–448.
- [33]KRISHNAMURTHY A, JOSHUA V, HENSVOLD AHAI, et al. Identification of a novel chemokine-dependent molecular mechanism underlying rheumatoid arthritis-associated autoantibody-mediated bone loss [J]. *Ann Rheum Dis*, 2016, 75(4):721–729.

Clinical Research and Basic Study on Effect of *Huangqin Qingre Chubi Capsule* (黄芩清热除痹胶囊) on Self-Perception of Patients and Immune Inflammation in Rheumatoid Arthritis

WANG Fanfan, LIU Jian, ZHOU Qin, WEN Jianting, SUN Yue, HE Mingyu

The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine/Anhui Provincial Key Laboratory for Applied Basic and Clinical Translational Research of Traditional Chinese Medicine Rheumatology, Hefei, 230031

ABSTRACT Objective To evaluate the comprehensive intervention effects of *Huangqin Qingre Chubi Capsule* (黄芩清热除痹胶囊, HQC) on self-perception of patients (SPP) and immune inflammation in patients with rheumatoid

arthritis (RA), and to explore its potential mechanisms. **Methods** Clinical data of 452 RA patients were retrospectively collected. Patients were divided into a control group (274 cases), treated with conventional western medicine, and an observation group (178 cases), treated with HQC for at least 2 weeks in addition to conventional western medicine. The treatment duration was 2 weeks for both groups. Propensity score matching (PSM) was performed at a ratio of 1:1 to match patients between groups. SPP including the Chinese version of the short form-36 health survey (SF-36), self-rating anxiety scale (SAS), self-rating depression scale (SDS), visual analog scale (VAS), and Chinese patient-reported index for rheumatoid arthritis (CPRI-RA), as well as immune inflammatory indicators, including erythrocyte sedimentation rate (ESR), high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), rheumatoid factor (RF), anti-cyclic citrullinated peptide antibody (anti-CCP), interleukin-6 (IL-6), immunoglobulin A (IgA), immunoglobulin G (IgG), immunoglobulin M (IgM), complement C3, and complement C4, were collected before and after treatment. Spearman correlation analysis was used to assess the relationships between SPP and immune inflammatory indicators. Logistic regression, association rule analysis, and mediation analysis were performed to evaluate the effects and potential pathways of HQC on SPP and immune inflammatory indicators. Network pharmacology was applied to identify the active components and core targets of HQC in the treatment of RA, followed by molecular docking verification. In cell experiments, cells were divided into normal group, model group, 20% medicated serum group, and 80 nmol/L control group. Human synovial fibroblasts (FLS) were cultured with complete medium in the normal group, while human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes (RA-FLS) were cultured in the model group. In the 20% medicated serum group, RA-FLS were cultured with medium containing 20% HQC-medicated serum, and in the 80 nmol/L control group, RA-FLS were cultured with complete medium containing 80 nmol/L methotrexate suspension. After 48 h of culture, cell viability was detected by cell counting kit-8 (CCK-8) assay. Levels of interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), and interleukin-10 (IL-10) in the cell supernatant were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Protein levels of matrix metalloproteinase 9 (MMP9), transcription factor AP-1 subunit (JUN), vascular endothelial growth factor A (VEGFA), and C-X-C motif chemokine ligand 8 (CXCL8) were detected by Western Blot, and cell migration ability was evaluated using Transwell assay. **Results**

After PSM, 178 cases were included in each group. After treatment, SF-36 scores increased, while scores of SAS, SDS, VAS and CPRI-RA, levels of ESR, hs-CRP, IL-6, complement C3, and complement C4 levels decreased in both groups; IgG and IgM levels were also reduced in the observation group ($P < 0.05$). Physical functioning (correlation coefficient -0.19 , $P < 0.05$) and social functioning (correlation coefficient -0.18 , $P < 0.05$) of SF-36 were negatively correlated with hs-CRP, while VAS score was positively correlated with hs-CRP (correlation coefficient 0.19 , $P < 0.05$). HQC showed high associations with improvements in multiple indicators of SPP and immune inflammatory, and acted as a protective factor for the improvement of several SPP; hs-CRP and ESR played partial mediating roles in the improvement of SPP induced by HQC ($P < 0.05$). Network pharmacology analysis identified baicalein, quercetin, α 1-sitosterol, β -sitosterol, stigmasterol, baicalin, and crocetin as the core active components, and JUN, IL-6, VEGFA, MMP9, IL-1 β , and CXCL8 as the core targets. Molecular docking results showed strong binding affinities of quercetin with VEGFA, JUN, MMP9, IL-6, and IL-1 β , of baicalin with VEGFA and MMP9, and of wogonin with CXCL8. Cell experiments demonstrated that HQC and methotrexate inhibited RA-FLS viability and migration, reduced levels of IL-1 β , IL-6, and IL-8, decreased protein levels of MMP9, JUN, VEGFA, and CXCL8, and increased IL-10 levels ($P < 0.05$). **Conclusion** HQC can improve SPP in RA by regulating immune inflammatory responses. Its mechanism may be related to multi-pathway and multi-target inhibition of synovial cell inflammation and migration.

Keywords rheumatoid arthritis; self-perception of patients; immune response; inflammatory response; *Huangqin Qingre Chubi Capsule* (黄芩清热除痹胶囊)

(收稿日期: 2025-09-30; 修回日期: 2025-12-25)

[编辑: 姜 冰]