

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2023.12.010

顽痹清丸对类风湿关节炎湿热痹阻证患者血清细胞焦亡相关因子表达的影响

王秋苑^{1,2}, 岳辰², 刘又文², 郭珈宜², 侯宏理², 张雪²✉

1. 河南中医药大学, 河南省郑州市郑东新区金水东路156号, 450046; 2. 河南省洛阳正骨医院(河南省骨科医院)

[摘要] **目的** 观察顽痹清丸对类风湿关节炎(RA)湿热痹阻证患者的临床疗效, 并从细胞焦亡的角度探讨其可能作用机制。**方法** 84例RA湿热痹阻证患者随机分为治疗组和对照组, 每组42例。对照组患者口服甲氨蝶呤片每次10 mg, 每周1次; 塞来昔布胶囊每次0.2 g, 每日1次。治疗组在对照组药物的基础上口服顽痹清丸, 每次6 g, 每日2次。两组均连续治疗4周。于治疗前及治疗2、4周后进行类风湿关节炎疾病活动度(DAS28)评分、疼痛视觉模拟(VAS)评分、中医症状积分评分, 检测红细胞沉降率(ESR)及C反应蛋白(CRP)水平、血清中细胞焦亡相关因子[包括NOD样受体蛋白3(NLRP3)炎性小体、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶1(Caspase-1)、白细胞介素1 β (IL-1 β)和白细胞介素18(IL-18)]表达水平。治疗4周后比较两组患者的临床疗效及不良反应发生率。**结果** 最终完成研究81例, 治疗组41例, 对照组40例。治疗组总有效率为63.41%(26/41), 对照组总有效率为47.50%(19/40), 两组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗2周后, 对照组患者的中医症状积分和VAS评分较治疗前降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 治疗组患者的中医症状积分、VAS评分、DAS28评分较治疗前降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 且均低于对照组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。治疗4周后, 对照组患者的中医症状积分和VAS评分较治疗前降低($P<0.01$), 治疗组患者的中医症状积分、VAS评分、DAS28评分、CRP和ESR水平均较治疗前降低($P<0.01$), 且均低于对照组同期($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。治疗2周及4周后, 两组患者血清NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 和IL-18水平均较治疗前降低($P<0.01$)。治疗组患者治疗2周及4周后血清NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 和IL-18水平低于对照组同期($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。治疗组不良反应发生率为12.20%(5/41), 对照组为30.00%(12/40), 治疗组低于对照组($P<0.05$)。**结论** 顽痹清丸可能通过参与调节血清细胞焦亡相关因子, 降低炎症水平, 从而改善RA湿热痹阻证患者临床症状。

[关键词] 类风湿关节炎; 湿热痹阻证; 细胞焦亡; 炎症因子; 顽痹清丸

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性自身免疫性炎症性疾病, 病理表现主要为关节滑膜的炎症反应, 最终导致软骨退化、关节畸形、功能障碍和全身多系统受累^[1]。据统计, 我国RA的患病率约为0.88%^[2], 而且RA患者在发病1年后的残疾率高达20%^[3], 严重影响患者的生活质量。RA的病因尚不明确, 治疗以控制疾病进展为主, 常多种药物联合使用, 包括非甾体抗炎药、传统合成改善病情抗风湿药、糖皮质激素类药物和

生物制剂等, 可以减轻滑膜炎及全身炎症并且改善关节的功能^[4]。然而, 仍有部分患者疗效不佳, 且药物治疗亦常有不良反应^[5]。中药治疗RA的有效性已经临床反复证实, 具有副作用较小、多靶向性、价格便宜等特点^[6]。中医学将RA归为“痹证”范畴, 以湿热痹阻型最多, 占总数的41.7%^[7], 常治以清热除湿、通络止痛。河南省洛阳正骨医院(河南省骨科医院)自制中成药顽痹清丸在长期临床应用中疗效确切^[8-9]。

细胞焦亡是一种细胞程序性死亡方式, 能激活强烈的炎症反应^[10]。我们前期研究^[11]发现, 细胞

基金项目: 国家自然科学基金(82004396)

✉ 通讯作者: 835068143@qq.com

焦亡相关因子 NOD 样受体蛋白 3 (NLRP3) 炎性小体、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 1 (Caspase-1)、白细胞介素 18 (IL-18) 和白细胞介素 1 β (IL-1 β) 在 RA 患者中明显升高, 且与疾病活动度相关, 提示细胞焦亡可能在 RA 发病中发挥作用。本研究拟从细胞焦亡角度探讨顽痹清丸治疗 RA 湿热痹阻证患者的作用机制, 为中医或中西医结合治疗 RA 提供理论依据和临床参考。本研究经河南省洛阳正骨医院 (河南省骨科医院) 伦理委员会批准 (批件号: KY2022-001-02)。

1 临床资料

1.1 诊断标准

西医诊断标准参照 2010 年美国风湿病学会 (ACR) 和欧洲抗风湿病联盟 (EULAR) RA 诊断标准^[12]。活动期判断标准参照 EULAR 标准 28 个关节疾病活动度评分 (DAS28)^[13]。DAS28 评分由人体 28 个关节压痛数和肿胀数、红细胞沉降率 (ESR) 或 C 反应蛋白 (CRP) 水平综合评估组成。本研究选用 ESR 指标, DAS28 评分 > 2.6 分判定为疾病活动期^[12]。

中医辨证标准参照《中药新药临床研究指导原则 (试行)》^[14] 中 RA 湿热痹阻证辨证标准, 主症: 关节红肿疼痛如火燎、晨僵、肿胀、屈伸不利; 次症: 发热, 口渴心烦, 便干尿赤; 舌象: 舌红, 苔黄或燥; 脉象: 脉滑数。具备主症+次症 1 项, 结合舌象、脉象即可诊断。

1.2 纳入标准

1) 符合上述西医诊断标准及中医辨证标准; 2) 处于疾病活动期; 3) 年龄 18~80 岁, 性别不限; 4) 签署知情同意书。

1.3 排除标准

1) 合并急慢性传染病者; 2) 合并心、脑、肝、肾和血液等系统严重内科疾病者; 3) 合并恶性肿瘤或精神类疾病者; 4) 有本次研究药物过敏史者; 5) 近期有生育要求或正处于妊娠期或哺乳期的女性; 6) 入组前 4 周内使用过糖皮质激素或

接受过免疫抑制剂治疗者。

1.4 脱落标准

患者主动提出撤回知情同意书, 不参与后续研究者; 因各种原因不能进行数据收集及失访者。

1.5 一般资料

纳入 2020 年 12 月 3 日至 2022 年 3 月 30 日河南省洛阳正骨医院 (河南省骨科医院) 风湿病一科收治的湿热痹阻型 RA 患者 84 例, 随机分为对照组与治疗组各 42 例。治疗组年龄 28~77 岁, 病程 3 个月~20 年, 体质量指数 (BMI) 19.1~28.2 kg/m²。对照组年龄 48~79 岁, 病程 6 个月~16 年, BMI 18.9~27.3 kg/m²。两组患者一般情况比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 1。

2 方法

2.1 样本量估算

本团队在 2020 年 6—10 月期间进行了研究的预试验。对照组采用甲氨蝶呤和塞来昔布胶囊治疗, 符合阳性药物对照标准^[15]; 治疗组采用顽痹清丸联合甲氨蝶呤和塞来昔布胶囊治疗。研究的主要结局指标为治疗 4 周后 DAS28 评分的改善率。结果显示, 治疗组与对照组 RA 患者 DAS28 评分的改善率分别为 90%、64%, 取检验水平 $\alpha=0.05$, 检验效能 $1-\beta=0.8$, 根据样本量计算公式^[16], 计算得每组 37 例, 脱落率按 15% 计算, 采用 1:1 的比例, 应纳入治疗组与对照组各 42 例, 共 84 例患者。

2.2 随机分组

采用 SPSS 21.0 软件 (种子数为 10 000) 生成随机数, 规定前 42 个数字分配为治疗组, 其余数字分配为对照组。生成的随机数字分别封存于不透光信封中, 根据入组顺序依次抽取信封以确定其所属的研究组。

2.3 治疗方法

对照组: 口服甲氨蝶呤片 (每片 2.5 mg, 上海信谊药厂有限公司, 国药准字 H31020644), 每次 10 mg, 每周 1 次; 塞来昔布胶囊 (每粒 0.2 g, 辉瑞制药有限公司, 国药准字 J20140072), 每次

表 1 两组类风湿关节炎湿热痹阻证患者基线资料比较
Table 1 Baseline characteristics of rheumatoid arthritis patients with damp-heat obstruction syndrome in two groups

组别	例数	性别/例, 男/女	年龄/岁, $\bar{x}\pm s$	病程/年, $\bar{x}\pm s$	体质量指数/kg·m ⁻² , $\bar{x}\pm s$
治疗组	42	4/38	62.00 $\pm$ 8.81	4.93 $\pm$ 5.25	23.52 $\pm$ 2.61
对照组	42	6/36	65.00 $\pm$ 7.80	6.39 $\pm$ 3.76	23.00 $\pm$ 2.33
χ^2 值		0.454	1.337	-1.466	0.972
P 值		0.500	0.185	0.146	0.334

0.2 g, 每日 1 次。

治疗组: 在对照组药物的基础上加用顽痹清丸 (河南省洛阳正骨医院院内制剂, 豫药制字 Z04030010, 药物组成: 生地黄 30 g, 土茯苓 30 g, 紫草 20 g, 黄芩 20 g, 益母草 30 g, 薏苡仁 40 g, 知母 15 g, 牡丹皮 15 g, 乳香 10 g, 吴茱萸 6 g, 川牛膝 20 g, 忍冬藤 30 g, 络石藤 20 g, 桑枝 30 g, 甘草 10 g) 口服。药物剂型为水丸, 每次 6 g, 每日 2 次。

两组均连续治疗 4 周, 患者分别于治疗 2 周及 4 周后复诊。

2.4 观察指标及方法

2.4.1 DAS28 评分^[13] 治疗前及治疗 2、4 周分别记录两组患者的肿胀关节数、晨僵持续时间, 计算 DAS28 评分。

2.4.2 中医症状积分 治疗前及治疗 2、4 周参照《中药新药临床研究指导原则 (试行)》^[14], 主症按照无、轻、中、重 4 个等级, 依次计 0、1、2、3 分; 次症按照无、轻、重 3 个等级, 依次计 0、1、2 分; 舌象及脉象: 无计为 0 分, 有计为 1 分。两者相加即为中医症状积分, 分值越高表示症状越严重。

2.4.3 疼痛视觉模拟 (VAS) 评分^[17] 治疗前及治疗 2、4 周由患者依据自身疼痛程度在 0~10 分的刻度标尺上自评, 分值越高表示疼痛程度越强。

2.4.4 ESR 和 CRP 治疗前及治疗 2、4 周采用魏氏法检测两组患者 ESR, 采用免疫透射比浊法检测 CRP。指标检测均由河南省洛阳正骨医院 (河南省骨科医院) 检验科完成。

2.4.5 血清细胞焦亡相关因子表达 分别收集两组患者治疗前、治疗 2 周和 4 周后的清晨空腹静脉血 2~3 ml, 使用 DH-16F 台式高速冷冻离心机 (长沙市百诺克离心机仪器有限公司), 设置转速为 3600 r/min, 温度为 4℃, 离心半径为 7 cm, 离心 10 min, 离心后吸取上层血清, 于 -80℃ 冰箱储存待测。NLRP3、Caspase-1、IL-18 及 IL-1 β 均采用酶联免疫吸附 (ELISA) 法测定。NLRP3 酶联免疫试剂盒 (上海江莱生物科技有限公司, 批号: JL18318); Caspase-1 酶联免疫试剂盒 (上海江莱生物科技有限公司, 批号: JL13683); IL-18 酶联免疫试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司, 批号: EK0864); IL-1 β 酶联免疫试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司, 批号: EK0392-96T)。操作步骤均严格遵照试剂盒说明书。

2.4.6 安全性评价 RA 患者治疗前后分别进行心电图、肝功能、肾功能检查, 并记录患者用药期间出现的不适情况或不良反应。

2.5 临床疗效标准

参照《中医病证诊断疗效标准》^[18] 制定。治愈: 患者的临床症状及体征均消失, 关节疼痛、肿胀基本消失, 受累关节的功能基本恢复正常, 中医症状积分下降率 $\geq 75\%$; 显效: 患者的临床症状及体征较明显改善, 关节疼痛、肿胀明显缓解, 关节功能基本恢复, 中医症状积分下降率 $\geq 50\%$ 且 $< 75\%$; 有效: 患者的临床症状及体征有所改善, 关节疼痛、肿胀有所缓解但仍存在, 部分关节功能出现好转, 中医症状积分下降率为 $\geq 24\%$ 且 $< 50\%$; 无效: 患者的临床症状及体征基本无改善, 关节疼痛、肿胀未明显降低或加重, 存在关节活动障碍, 中医症状积分下降率 $< 24\%$ 。

中医症状积分下降率 = (治疗前中医症状积分 - 治疗后中医症状积分) / 治疗前中医症状积分 $\times 100\%$ 。总有效率 = (治愈例数 + 显效例数) / 总例数 $\times 100\%$ 。

2.6 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。符合正态分布且方差齐的计量资料用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验, 组内比较采用配对 t 检验。不符合正态分布和方差不齐的计量资料用中位数 (四分位数) [$M(P_{25}, P_{75})$] 表示, 两组间比较采用 Mann-whitney U 秩和检验, 组内比较采用 Wilcoxon 符号秩检验。计数资料用例 (%) 表示, 采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

治疗组和对照组各有 1 例患者因未按时来院复诊导致数据收集不全而脱落, 对照组另有 1 例患者要求暂停试验, 最终完成研究 81 例, 治疗组 41 例, 对照组 40 例。

3.1 两组患者临床疗效比较

表 2 示, 治疗组总有效率 63.41%, 对照组总有效率 47.50%, 两组比较差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.077, P = 0.150$)。

3.2 两组患者治疗前后不同时间中医症状积分、DAS28 评分、VAS 评分比较

表 3 示, 治疗前两组患者的中医症状积分、DAS28 评分、VAS 评分比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗 2 周后, 治疗组患者的中医症状积分、

表2 两组类风湿关节炎湿热痹阻证患者临床疗效比较

Table 2 Comparison of clinical effect between two groups of rheumatoid arthritis patients with damp-heat obstruction syndrome [例(%)]

组别	例数	治愈	显效	有效	无效	总有效
治疗组	41	5 (12. 19)	21 (51. 22)	11 (26. 83)	4 (9. 76)	26 (63. 41)
对照组	40	3 (7. 50)	16 (40. 00)	10 (25. 00)	11 (27. 50)	19 (47. 50)

DAS28 评分、VAS 评分水平均较治疗前降低 ($t=10.699, P<0.001$; $t=2.387, P=0.019$; $t=3.365, P=0.001$); 对照组患者中医症状积分和 VAS 评分水平较治疗前明显降低 ($t=9.360, P<0.001$; $t=2.246, P=0.028$), DAS28 评分与治疗前比较差异无统计学意义 ($t=0.191, P=0.849$)。治疗 4 周后, 治疗组患者的中医症状积分、DAS28 评分、VAS 评分水平均较治疗前显著降低 ($t=21.601, P<0.001$; $t=4.123, P<0.001$; $t=6.028, P<0.001$); 对照组患者中医症状积分和 VAS 评分水平较治疗前显著降低 ($t=17.951, P<0.001$; $t=4.501, P<0.001$), DAS28 评分与治疗前比较差异无统计学意义 ($t=1.797, P=0.076$)。两组治疗后中医症状积分、DAS28 评分、VAS 评分比较, 治疗 2 周 ($t=-2.161, P=0.034$; $t=-1.999, P=0.049$; $t=-2.916, P=0.005$) 和 4 周 ($t=-2.381, P=0.020$; $t=-2.022, P=0.047$; $t=-3.486, P=0.001$) 时治疗组评分均较对照组更低。

表3 两组类风湿关节炎湿热痹阻证患者治疗前后不同时间中医症状积分、DAS28 评分、VAS 评分比较

Table 3 Comparison of TCM symptom scores, DAS28 scores and VAS scores at different times between two groups of rheumatoid arthritis patients with damp-heat obstruction syndrome (分, $\bar{x}\pm s$)

组别	时间	例数	中医症状积分	DAS28 评分	VAS 评分
治疗组	治疗前	41	8.41±1.07	5.37±1.56	5.93±1.31
	治疗 2 周	41	5.83±1.12 ^{a) c)}	4.63±1.20 ^{b) c)}	5.04±1.07 ^{a) d)}
	治疗 4 周	41	3.90±0.80 ^{a) c)}	4.09±1.21 ^{a) c)}	4.38±1.13 ^{a) d)}
对照组	治疗前	40	8.65±1.14	5.30±1.65	6.38±1.28
	治疗 2 周	40	6.35±1.05 ^{a)}	5.24±1.51	5.77±1.17 ^{b)}
	治疗 4 周	40	4.38±0.97 ^{a)}	4.68±1.42	5.19±1.17 ^{a)}

注: DAS28, 28 个关节疾病活动度评分; VAS, 疼痛视觉模拟评分。

a) 与本组治疗前比较, $P<0.01$; b) 与本组治疗前比较, $P<0.05$; c) 与对照组治疗后同时比较, $P<0.05$; d) 与对照组治疗后同时时间比较, $P<0.01$ 。

3.3 两组患者治疗前后不同时间 CRP、ESR 水平比较

表 4 示, 治疗前两组患者 CRP 和 ESR 水平比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。治疗 2 周后, 治疗组和对照组 CRP 和 ESR 水平与治疗前比较差异

均无统计学意义 ($P>0.05$)。治疗 4 周后, 治疗组患者 CRP 和 ESR 水平均较治疗前明显降低 ($t=2.702, P=0.008$; $t=3.101, P=0.003$); 对照组的 CRP 和 ESR 水平与治疗前比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。治疗组与对照组治疗 2 周后 CRP 和 ESR 水平比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$); 治疗 4 周后, 治疗组 CRP 和 ESR 水平显著低于对照组 ($t=-1.998, P=0.049$; $t=-1.997, P=0.049$)。

表4 两组类风湿关节炎湿热痹阻证患者治疗前后不同时间 CRP、ESR 水平比较

Table 4 Comparison of CRP and ESR levels at different times between two groups of rheumatoid arthritis patients with damp-heat obstruction syndrome ($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	例数	CRP/mg·L ⁻¹	ESR/mm·h ⁻¹
治疗组	治疗前	41	35.68±31.11	60.05±38.47
	治疗 2 周	41	31.38±27.60	53.10±35.13
	治疗 4 周	41	20.54±17.84 ^{a) b)}	37.76±25.25 ^{a) b)}
对照组	治疗前	40	38.72±29.79	61.80±36.52
	治疗 2 周	40	35.61±25.61	58.38±34.08
	治疗 4 周	40	29.73±23.25	49.95±29.56

注: CRP, C 反应蛋白; ESR, 红细胞沉降率。
a) 与本组治疗前比较, $P<0.01$; b) 与对照组治疗后同时段比较, $P<0.05$ 。

3.4 两组患者治疗前后不同时间血清细胞焦亡相关因子表达水平比较

表 5 示, 治疗前两组患者血清中的 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 和 IL-18 水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。治疗 2 周后, 治疗组患者血清 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 和 IL-18 水平 ($t=14.805, P<0.001$; $t=15.782, P<0.001$; $t=26.240, P<0.001$; $t=9.084, P<0.001$) 及对照组 ($t=9.586, P<0.001$; $t=4.706, P<0.001$; $t=21.903, P<0.001$; $t=3.133, P=0.002$) 均较治疗前显著降低。治疗 4 周后, 治疗组患者血清中 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 和 IL-18 水平 ($t=31.782, P<0.001$; $t=29.997, P<0.001$; $t=44.960, P<0.001$; $t=44.226, P<0.001$) 和对照组 ($t=20.074, P<0.001$; $t=17.262, P<0.001$; $t=41.841, P<0.001$; $t=30.074, P<0.001$) 均较治疗前显著降低。

治疗组血清 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 和 IL-18

表 5 两组类风湿关节炎湿热痹阻证患者治疗前后不同时间血清细胞焦亡相关因子表达水平比较

Table 5 Comparison of expression levels of serum pyroptosis-related factors at different times between two groups

of rheumatoid arthritis patients with damp-heat obstruction syndrome

($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	NLRP3/ng·ml ⁻¹	Caspase-1/ng·ml ⁻¹	IL-1β/ng·L ⁻¹	IL-18/ng·L ⁻¹
治疗组	治疗前	41	81.34±4.08	43.34±3.27	118.96±5.35	144.90±7.61
	治疗 2 周	41	69.49±3.09 ^{a)} b)	33.13±2.53 ^{a)} b)	92.04±3.80 ^{a)} c)	133.21±3.14 ^{a)} b)
	治疗 4 周	41	54.94±3.40 ^{a)} b)	23.82±2.57 ^{a)} b)	67.87±4.93 ^{a)} b)	85.84±3.88 ^{a)} b)
对照组	治疗前	40	82.83±6.31	42.28±4.56	119.96±6.61	142.09±7.55
	治疗 2 周	40	71.75±3.68 ^{a)}	38.53±2.13 ^{a)}	94.09±3.46 ^{a)}	137.67±4.73 ^{a)}
	治疗 4 周	40	58.89±4.12 ^{a)}	27.10±3.18 ^{a)}	71.93±2.98 ^{a)}	96.47±5.91 ^{a)}

注: NLRP3, OD 样受体蛋白 3 炎性小体; Caspase-1, 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 1; IL-1β, 白细胞介素 1β; IL-18, 白细胞介素 18。

a) 与本组治疗前比较, $P < 0.01$; b) 与对照组同时段比较, $P < 0.01$; c) 与对照组同时段比较, $P < 0.05$ 。

治疗 2 周后 ($t = -2.994$, $P = 0.004$; $t = -10.351$, $P < 0.001$; $t = -2.524$, $P = 0.014$; $t = -5.004$, $P < 0.001$) 及治疗 4 周后 ($t = -4.704$, $P < 0.001$; $t = -5.105$, $P < 0.001$; $t = -4.477$, $P < 0.001$; $t = -9.792$, $P < 0.001$) 均显著低于对照组。

3.5 两组患者不良反应比较

治疗组 5 例患者出现不良反应, 发生率为 12.20%, 分别为胃肠道不适 2 例、氨基转移酶升高 1 例、白细胞减少 1 例、皮疹 1 例; 对照组有 12 例患者出现不良反应, 发生率为 30.00%, 分别为胃肠道不适 4 例、氨基转移酶升高 2 例、白细胞减少 2 例、皮疹 2 例、血小板减少 2 例; 治疗组不良反应发生率低于对照组 ($\chi^2 = 3.871$, $P = 0.049$)。两组患者出现的不良反应症状均较轻, 患者可耐受, 未予治疗, 均循原定的治疗计划, 且未发现明显的肝功能、肾功能损伤。

4 讨论

RA 活动期的临床表现多为关节肿胀、疼痛和晨僵等, 还会出现关节灼热, 关节局部皮肤温度升高, 甚至伴有发热、口渴、大便干、小便黄等症状, 中医辨证多属于湿热痹阻证。《儒门事亲》曰: “痹痛以湿热为源, 风寒为兼, 三气合而为痹”, 即机体感受外邪导致痹证。现代医家多认为其病因为患者素体阳气偏盛, 湿气较重, 同时感受外邪, 邪气入里化热, 湿热相合, 流注筋脉关节^[19], 可见湿热之邪为 RA 活动期的关键, 治疗当施清热利湿、疏风通络、舒筋止痛之法。顽痹清丸^[9]源于传承两百余年的郭氏平乐正骨治疗痹症的经典方剂“蠲痹除湿方”, 方中忍冬藤、络石藤祛风通络, 消肿止痛; 桑枝、土茯苓通利关节; 黄芩清热燥湿, 泻火解毒; 上药相合为君药, 以清热利湿, 通络宣痹。益母草、薏苡仁利水消肿; 乳香、紫草活血止

痛; 川牛膝通利关节; 以上药物共为臣药, 助君药凉血活血利湿, 通络止痛。吴茱萸助阳、散寒止痛, 以防上述药物清热太过, 与知母、生地黄、牡丹皮共为佐药, 以养阴生津、养血缓急。再以甘草为使, 调和诸药。诸药相合共奏清热除湿、通络止痛之效。

本研究结果显示, 治疗组总有效率为 63.41%, 对照组为 47.50%, 两组临床疗效总有效率比较差异无统计学意义, 可能与治疗时间短有关。治疗组患者治疗 2 周后临床症状即有改善, 治疗 4 周后中医症状积分、DAS28 评分、VAS 评分水平均较治疗前降低, 且治疗 2、4 周时治疗组均低于治疗后同期的对照组。此外, 治疗 4 周后治疗组患者 CRP、ESR 水平亦显著低于对照组, 提示顽痹清丸治疗 RA 能够迅速地缓解症状, 有利于降低患者的疾病活动度、缓解炎症水平和恢复关节功能。此外, 两组患者均未出现严重的不良反应, 且治疗组患者不良反应发生率明显低于对照组, 提示加用顽痹清丸可能会降低不良反应的发生率。甲氨蝶呤的常见不良反应包括胃肠道不适、氨基转移酶升高、白细胞减少、血小板减少和皮疹等^[20]。顽痹清丸方中甘草缓急止痛、调和诸药, 土茯苓解毒、除湿, 薏苡仁具有健脾止泻的功效, 吴茱萸降逆止呕, 甘草补脾益气, 均可能降低患者服用甲氨蝶呤所致胃肠道不良反应的发生率。生地黄凉血养阴, 紫草解毒透疹消斑, 也可能会减少服用甲氨蝶呤所致皮疹的发生。

目前 RA 的发病机制尚不明确。RA 的病理特征为关节滑膜的慢性炎症反应, 细胞焦亡作为一种促炎性质的细胞程序性死亡方式在 RA 疾病的发生发展中扮演重要角色^[21]。细胞焦亡重要途径之一为 NLRP3 炎性小体活化 Caspase-1, 进而导致消皮素 D (gasdermin D, GSDMD) 蛋白裂解后与细胞

膜结合,形成孔洞,引起细胞逐渐胀大至破裂死亡,细胞内 IL-1 β 和 IL-18 等炎性物质释放至细胞外,导致一系列炎性反应^[10]。目前,相关研究提示细胞焦亡可能在 RA 发病中发挥作用^[22-23]。与健康对照者比较,RA 患者体内的细胞焦亡相关因子 NLRP3 炎性小体、IL-1 β 和 IL-18 的表达水平均升高^[24-25]。研究^[26]发现 Caspase-1 在 RA 患者淋巴 T 细胞中激活,引起细胞焦亡。另有研究^[27]发现,RA 大鼠的 NLRP3、IL-1 β 和 Caspase-1 表达上调而且与软骨细胞的焦亡联系紧密。IL-1 β 和 IL-18 是 Caspase-1 激活产生的细胞焦亡下游效应因子。研究^[28]发现,RA 患者尤其是疾病活动期,血清和关节滑液中的 IL-1 β 表达水平均升高,并且与关节滑液中较高的 IL-18 水平相关。上述研究提示细胞焦亡相关因子 NLRP3 炎性小体、Caspase-1、IL-1 β 和 IL-18 参与了 RA。此外,研究^[29]发现使用 NLRP3 抑制剂治疗胶原诱导型关节炎小鼠后,小鼠的 IL-1 β 表达水平、滑膜炎症水平、软骨侵蚀程度和病情严重程度均有所减轻。基因预测发现 IL-1 β 和 IL-18 水平与 RA 的风险有潜在关联,若长期抑制 IL-1 β 和 IL-18 可以降低 RA 的风险^[30]。IL-1 β 是 RA 滑膜炎及软骨和骨破坏的炎性因子之一,可以通过核因子 κ B 受体活化因子配体的表达促进破骨细胞的生成^[31]; IL-18 可以诱导 T 细胞和巨噬细胞介导的 I 型炎症因子的释放,刺激滑膜成纤维细胞、软骨细胞或巨噬细胞介导的炎症介质的产生^[32];因此,减少 IL-1 β 和 IL-18 的表达会控制其引起的炎性级联反应,有效减轻 RA 软骨的破坏^[33]。本研究结果显示,治疗 2 周及 4 周后,治疗组细胞焦亡相关因子 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 和 IL-18 水平比对照组降低更为明显,推测顽痹清丸可能通过参与调节细胞焦亡,降低 RA 患者的炎症水平,从而减轻患者症状。本研究也存在不足之处。首先,本研究两组患者未采用盲法;其次,本研究检测的是患者血清中细胞焦亡相关指标的情况,未对患者关节滑膜病理进行分析。将在今后的研究中完善研究设计,对相关机理进行探讨。

综上所述,顽痹清丸联合甲氨蝶呤片和塞来昔布胶囊治疗 RA 湿热痹阻证患者,在缓解疼痛、降低的疾病活动度、减轻炎症反应方面优于仅应用甲氨蝶呤片和塞来昔布胶囊治疗,其机制可能通过参与调节细胞焦亡、降低炎症水平,从而减轻患者症状。

利益冲突声明

所有作者声明无利益冲突。

参考文献

- [1] MCINNES IB, SCHETT G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis [J]. *New Engl J Med*, 2011, 365(23):2205-2219.
- [2] WU D, WONG P, GUO C, et al. Pattern and trend of five major musculoskeletal disorders in China from 1990 to 2017: findings from the Global Burden of Disease Study 2017[J]. *BMC Med*, 2021, 19(1):34.
- [3] PISETSKY DS. Advances in the treatment of rheumatoid arthritis: costs and challenges [J]. *N C Med J*, 2017, 78(5):337-340.
- [4] ALETAHA D. Precision medicine and management of rheumatoid arthritis [J]. *J Autoimmun*, 2020, 110: 102405. doi: 10.1016/j.jaut.2020.102405.
- [5] SMOLEN JS. Insights into the treatment of rheumatoid arthritis: a paradigm in medicine [J]. *J Autoimmun*, 2020, 110:102425. doi: 10.1016/j.jaut.2020.102425.
- [6] 郭苏健,姚博,赵延龙,等. 类风湿关节炎的中医药治疗优势[J]. *中华中医药学刊*, 2017, 35(7):1769-1771.
- [7] 姜泉,蒋红,曹炜,等. 475 例类风湿关节炎患者中医临床证候分析[J]. *中医杂志*, 2007, 48(3):253-255.
- [8] 邢伟鹏,李无阴,侯宏理. 顽痹清丸治疗早期类风湿关节炎 42 例临床观察[J]. *湖南中医杂志*, 2017, 33(5): 66-67.
- [9] 王笑青,张永红,侯宏理,等. 顽痹清丸联合非甾体抗炎药及改善病情的抗风湿药治疗湿热痹阻型类风湿关节炎[J]. *中医正骨*, 2013, 25(3):41-43, 46.
- [10] LIU X, ZHANG Z, RUAN J, et al. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores [J]. *Nature*, 2016, 535(7610):153-158.
- [11] 王秋苑,刘义文,岳辰,等. 细胞焦亡相关因子在类风湿关节炎患者中的表达及意义[J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(32):5209-5213.
- [12] ALETAHA D, NEOGIT, 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.
- [13] FRANSEN J, VAN RIEL PL. The disease activity score and the EULAR response criteria [J]. *Rheum Dis Clin North Am*, 2009, 35(4):745-757.
- [14] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2002:115-119.
- [15] 郑青山,孙瑞元,陈志扬. 新药临床非劣性及等效性试验中的例数估计和等效标准[J]. *中国新药杂志*, 2003, 12(5):368-371.

- [16]黄悦勤. 医学科研中随机误差控制和样本量确定[J]. 中国心理卫生杂志, 2015, 29(11):874-880.
- [17]徐城, 杨晓秋, 刘丹彦. 常用的疼痛评估方法在临床疼痛评估中的作用[J]. 中国疼痛医学杂志, 2015, 21(3):210-212.
- [18]国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准[M]. 南京:南京大学出版社, 1994:29-30.
- [19]赵宝利, 黄可儿, 赵敏. 类风湿关节炎中医辨证分型的判别分析[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(1):240-242.
- [20]SOLOMON DH, GLYNN RJ, KARLSON EW, et al. Adverse effects of low-dose methotrexate: a randomized trial [J]. Ann Intern Med, 2020, 172(6):369-380.
- [21]王秋苑, 刘又文, 岳辰, 等. 中药对自身免疫性疾病细胞焦亡影响的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(2):260-269.
- [22]ZHAO J, JIANG P, GUO S, et al. Apoptosis, autophagy, netosis, necroptosis, and pyroptosis mediated programmed cell death as targets for innovative therapy in rheumatoid arthritis [J]. Front Immunol, 2021, 12: 809806. doi: 10.3389/fimmu.2021.809806.
- [23]YOU R, HE X, ZENG Z, et al. Pyroptosis and its role in autoimmune disease: a potential therapeutic target [J]. Front Immunol, 2022, 13: 841732. doi: 10.3389/fimmu.2022.841732.
- [24]RUSCITTI P, CIPRIANI P, BENEDETTO P. Monocytes from patients with rheumatoid arthritis and type 2 diabetes mellitus display an increased production of interleukin (IL)-1 β via the nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat containing family pyrin 3 (NLRP3)-inflammasome activation: a possible implication for therapeutic decision in these patients [J]. Clin Exp Immunol, 2015, 182(1):35-44.
- [25]KOLLY L, BUSSO N, PALMER G, et al. Expression and function of the NALP3 inflammasome in rheumatoid synovium [J]. Immunology, 2010, 129(2):178-185.
- [26]LI Y, SHEN Y, JIN K, et al. The DNA repair nuclease MRE11A functions as a mitochondrial protector and prevents T cell pyroptosis and tissue inflammation [J]. Cell Metab, 2019, 30(3):477-492.
- [27]ZU SQ, FENG YB, ZHU CJ, et al. Acid-sensing ion channel 1a mediates acid-induced pyroptosis through calpain-2/calcineurin pathway in rat articular chondrocytes [J]. Cell Biol Int, 2020, 44(10):2140-2152.
- [28]BURSKA A, BOISSINOT M, PONCHEL F. Cytokines as biomarkers in rheumatoid arthritis [J]. Mediators Inflamm, 2014, 2014:545493. doi: 10.1155/2014/545493.
- [29]GUO C, FU R, WANG S, et al. NLRP3 inflammasome activation contributes to the pathogenesis of rheumatoid arthritis [J]. Clin Exp Immunol, 2018, 194(2): 231-243.
- [30]YUAN S, LI X, LIN A, et al. Interleukins and rheumatoid arthritis: bi-directional Mendelian randomization investigation [J]. Semin Arthritis Rheum, 2022, 53: 151958. doi: 10.1016/j.semarthrit.2022.151958.
- [31]JUNG SM, KIM KW, YANG CW, et al. Cytokine-mediated bone destruction in rheumatoid arthritis [J]. J Immunol Res, 2014, 2014:263625. doi: 10.1155/2014/263625.
- [32]WAWROCKI S, DRUSZCZYNSKA M, KOWALEWICZ-KULBAT M, et al. Interleukin 18 (IL-18) as a target for immune intervention [J]. Acta Biochim Pol, 2016, 63(1):59-63.
- [33]赵紫琴, 徐瑾, 王瑞琳, 等. 类风湿性关节炎滑膜组织中 NLRP3 炎性小体及下游因子 IL-1 β /IL-18 的表达及意义 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2019, 35(5): 534-538.

Effect of Wanbiqing Pills (顽痹清丸) on the Expression of Serum Pyroptosis-related Factors in Rheumatoid Arthritis Patients with Damp-heat Obstruction Syndrome

WANG Qiuyuan^{1,2}, YUE Chen², LIU Youwen², GUO Jiayi², HOU Hongli², ZHANG Xue²

1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou, 450046; 2. Luoyang Orthopedic-Traumatological Hospital of Henan Province (Henan Provincial Orthopedic Hospital)

ABSTRACT Objective To observe the clinical effect of *Wanbiqing Pills* (顽痹清丸) on rheumatoid arthritis (RA) patients with damp-heat obstruction syndrome, and to explore its possible mechanism from the perspective of pyroptosis. **Methods** Eighty-four cases of RA patients with damp-heat obstruction syndrome were randomly divided into treatment group and control group, with 42 cases in each group. The control group was orally administered with methotrexate tablets, 10 mg each time, once a week, and celecoxib capsules, 0.2 g each time, once a day. The treatment group was additionally given *Wanbiqing Pills* orally, 6 g each time, twice a day. Both groups were treated continuously for four weeks. Before treatment and after 2- and 4-week treatment, the disease activity score in 28 joints (DAS28) and pain visual analog scale (VAS) score were assessed, and erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP) level, and expression levels of pyroptosis-related factors in serum including NOD-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome, cysteine aspartic acid protease 1 (Caspase-1), leukocyte Interleukin 1 β (IL-1 β) and interleukin 18 (IL-18) were detected. The clinical effect and the incidence of adverse reactions were evaluated and

compared between the two groups after 4-week treatment. **Results** Finally, 81 cases completed the study, including 41 cases in the treatment group and 40 cases in the control group. The total effective rate of the treatment group was 63.41% (26/41), while that of the control group was 47.50% (19/40), with no significant difference between the groups ($P>0.05$). After 2-week treatment, the traditional Chinese medicine (TCM) symptom scores and VAS scores in the control group significantly decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$), as well as the TCM symptom scores, DAS28 scores and VAS scores in the treatment group ($P<0.05$ or $P<0.01$); and the scores were lower in the treatment group than those in the control group ($P<0.05$ or $P<0.01$). After 4-week treatment, the TCM symptom scores and VAS scores in the control group significantly decreased compared to those before treatment ($P<0.01$), while the TCM symptom scores, DAS28 scores, VAS scores, CRP and ESR levels in the treatment group decreased ($P<0.01$), and lower level was found in the treatment group than in the control group ($P<0.05$ or $P<0.01$). After 2- and 4-week treatment, the serum levels of NLRP3, Caspase-1, IL-1 β and IL-18 in both groups were lower than those before treatment ($P<0.01$), and lower levels were found in the treatment group ($P<0.05$ or $P<0.01$). The incidence of adverse reactions in the treatment group was 12.20% (5/41), significantly lower than 30.00% (12/40) in the control group ($P<0.05$). **Conclusion** Wanbiqing Pills may improve the clinical symptoms of RA patients with damp-heat obstruction syndrome by reducing serum pyroptosis-related factors and lowering the inflammation level.

Keywords rheumatoid arthritis; damp-heat obstruction syndrome; pyroptosis; inflammatory factors; Wanbiqing Pills (顽痹清丸)

(收稿日期: 2022-12-22; 修回日期: 2023-04-10)

[编辑: 叶晨]

· 信息窗 ·

《中医杂志》22 篇论文入选 2022 年度“领跑者 5000 ——中国精品科技期刊顶尖学术论文”

“领跑者 5000 (F5000) ——中国精品科技期刊顶尖学术论文”是由中国科学技术信息研究所开发的中国精品科技期刊顶尖学术论文平台。该平台集中展示我国精品科技期刊上发表的最高端的学术研究成果,进一步引领我国高水平科技期刊事业的发展和成长,促进学术交流和知识传播。《中医杂志》2022 年度 22 篇入选论文名单如下(按发表时间排序)。

1. 戴娜,何兰,胡晶,等. “脾主肌肉”的理论探讨及其临床意义. 中医杂志, 2018, 59(2): 95-99.
2. 李建香,过伟峰,傅淑平,等. 基于脑肠互动探讨通腑泻热法治疗中风的机制. 中医杂志, 2018, 59(4): 292-294, 298.
3. 魏玮,荣培晶,陈建德,等. “调枢通胃”理论的探讨与构建. 中医杂志, 2018, 59(6): 474-477, 502.
4. 王建,巩勋,唐晓颇,等. 1602 例类风湿关节炎患者中医证候分布特点的多中心横断面调查. 中医杂志, 2018, 59(11): 963-967.
5. 程海波,王俊壹,李柳. 癌毒病机分类及其在肿瘤临床治疗中的应用. 中医杂志, 2019, 60(2): 119-122.
6. 惠建荣,张楠,李慢,等. 针刺联合三阶梯药物止痛法治疗癌性疼痛 40 例临床观察. 中医杂志, 2019, 60(2): 146-149.
7. 符宇,邵明义,燕树勋,等. 真实世界研究与中医临床疗效评价. 中医杂志, 2019, 60(7): 546-550.
8. 郑晓红. 《黄帝内经》五运六气气化理论与天人合一. 中医杂志, 2019, 60(12): 1008-1014.
9. 方旖旎,王琦,张国辉,等. 中医体质学在“治未病”中的应用研究. 中医杂志, 2020, 61(7): 581-585.
10. 陈瑞,罗亚萍,徐勋华,等. 武汉地区 52 例新型冠状病毒肺炎中医证治初探及典型病案分析. 中医杂志, 2020, 61(9): 741-744.
11. 何清湖,刘应科,孙相如,等. 国家卫生健康委员会、国家中医药管理局推荐使用“清肺排毒汤”的意义与作用. 中医杂志, 2020, 61(10): 829-832.
12. 孙宏源,毕颖斐,朱振刚,等. 天津地区 88 例新型冠状病毒肺炎患者中医证候特征初探. 中医杂志, 2020, 61(10): 837-841.
13. 范逸品,张华敏,王燕平,等. 新型冠状病毒肺炎中医疾病属性归类简析. 中医杂志, 2020, 61(11): 921-927.
14. 郑文科,张俊华,杨丰文,等. 从湿毒疫论治新型冠状病毒肺炎. 中医杂志, 2020, 61(12): 1024-1028.
15. 张岩,唐德志,舒冰,等. 基于文献探讨中药干预新型冠状病毒肺炎的作用机制. 中医杂志, 2020, 61(13): 1110-1117.
16. 过建春,万海同. 新型冠状病毒肺炎的中医病因病机与治则治法探讨. 中医杂志, 2020, 61(13): 1118-1123.
17. 李春波,苏福,刘永琦,等. 清肺排毒汤治疗新型冠状病毒肺炎的中医理论及现代药理学机制. 中医杂志, 2020, 61(15): 1299-1302.
18. 李建生,李素云,谢洋,等. 河南省 524 例新型冠状病毒肺炎患者临床特征及中医证候分布. 中医杂志, 2020, 61(16): 1391-1396.
19. 段璨,夏文广,郑娟娟,等. 金花清感颗粒联合西医常规治疗方案治疗轻型新型冠状病毒肺炎的临床观察. 中医杂志, 2020, 61(17): 1473-1477.
20. 孙易娜,吕文亮,李昊,等. 清肺排毒汤治疗轻型/普通型新型冠状病毒肺炎 295 例多中心临床研究. 中医杂志, 2021, 62(7): 599-603.
21. 梅珊珊,俞超芹,丁杰,等. 1918 例子宫内膜异位症患者中医证候学特征分析的多中心研究. 中医杂志, 2022, 63(2): 149-156.
22. 刘珍珠,刘修超,佟常青,等. 元气、原气、真气、正气的内涵及相互关系探析. 中医杂志, 2022, 63(5): 401-406.