

## 盐酸青藤碱治疗性给药对胶原诱导性关节炎小鼠的保护作用

胡明月<sup>1,2</sup>, 朱俊秀<sup>1,3</sup>, 徐艳明<sup>1,3</sup>, 何碧瑶<sup>1</sup>, 熊江杰<sup>1</sup>, 游慧玲<sup>1</sup>, 刘建新<sup>1</sup>(1. 湖南医药学院药学院, 湖南 怀化 418000; 2. 中南大学湘雅二医院风湿免疫科, 湖南 长沙 410011; 3. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:** **目的** 探讨盐酸青藤碱治疗性给药对胶原诱导性关节炎(CIA)小鼠的保护作用。**方法** 采用尾根部注射鸡 II 型胶原建立 C57BL/6 小鼠关节炎模型。于第 2 次免疫注射后第 7 天, 将造模成功小鼠随机分为模型组、盐酸青藤碱组(100 mg·kg<sup>-1</sup>)、地塞米松组(2 mg·kg<sup>-1</sup>), 同时设置正常组。给药组小鼠分别腹腔注射相应治疗药物, 每天 1 次, 连续治疗 33 d, 正常组和模型组小鼠腹腔注射等体积无菌生理盐水。给药周期内, 每 3 d 进行 1 次小鼠足趾关节炎指数评分; 采用 ELISA 法检测外周血中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 炎症因子水平; 采用 HE 染色法观察关节滑膜炎性细胞浸润情况; 采用 Micro-CT 扫描分析骨质破坏情况。**结果** 与正常组相比, 模型组小鼠足趾关节炎指数评分显著升高, 血清中 TNF- $\alpha$  和 IL-6 炎症因子水平显著升高( $P < 0.001$ ); 关节滑膜部位炎性细胞浸润明显增多、骨质破坏明显, 膝、踝关节病理总评分均显著升高( $P < 0.001$ )。与模型组相比, 盐酸青藤碱干预治疗后, 能显著降低足趾关节炎指数评分及血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 炎症因子水平( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 并能阻止关节滑膜部位炎性细胞浸润, 减轻骨质破坏, 降低膝、踝关节病理总评分( $P < 0.01$ )。**结论** 盐酸青藤碱治疗性给药可阻止 CIA 小鼠的关节骨质破坏, 其作用机制与减轻关节滑膜炎有关。

**关键词:** 盐酸青藤碱; 类风湿关节炎; 胶原诱导性关节炎; 关节滑膜炎; 骨质破坏; 炎症细胞因子; 治疗性给药; 小鼠

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2022)01-0033-06

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2022.01.006

### Study on the Protective Effect of Therapeutic Administration of Sinomenine Hydrochloride on Experimental CIA Mice

HU Mingyue<sup>1,2</sup>, ZHU Junxiu<sup>1,3</sup>, XU Yanming<sup>1,3</sup>, HE Biyao<sup>1</sup>, XIONG Jiangjie<sup>1</sup>, YOU Huiling<sup>1</sup>, LIU Jianxin<sup>1</sup>(1. School of Pharmaceutical Sciences, Hunan University of Medicine, Huaihua 418000 Hunan, China; 2. Department of Rheumatology and Immunology, The Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011 Hunan, China; 3. Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040 Heilongjiang, China)

**Abstract: Objective** To investigate the protective effect of sinomenine hydrochloride on collagen induced arthritis in mice. **Methods** C57BL/6 mouse model of arthritis was established by injecting chicken type II collagen into the base of tail. On the seventh day after the second immune injection, the successful modeled RA mice were randomly divided into model group, sinomenine hydrochloride group(100 mg·kg<sup>-1</sup>), and dexamethasone group(2 mg·kg<sup>-1</sup>). At the same time, the mice without any treatment were taken as normal control group. Mice in the sinomenine hydrochloride group and dexamethasone group were intraperitoneally injected with sinomenine hydrochloride and dexamethasone, respectively. Mice in normal group and model group were intraperitoneally injected with equal volume of sterile normal saline. The treatment was carried out once a day consecutively for 33 days. During the treatment period, the arthritis indexes of mice were scored every 3 days, the levels of TNF- $\alpha$  and IL-6 in

收稿日期: 2021-05-07

作者简介: 胡明月, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中医药防治自身免疫性疾病。Email: 1498710673@qq.com。通信作者: 刘建新, 男, 副教授, 研究方向: 中医药防治自身免疫性疾病。Email: liujianxin3385@126.com。

基金项目: 湖南省自然科学基金项目(2019JJ50421); 怀化市科技计划项目(2018N2203)。

peripheral blood were detected by ELISA, HE staining was used to observe the synovial inflammatory cell infiltration, and Micro-CT scanning was used to analyze the bone destruction. **Results** Compared with the normal group, toe arthritis index score of the model group mice significantly increased, serum levels of inflammatory factors, TNF- $\alpha$  and IL-6, were significantly increased ( $P < 0.001$ ); the inflammatory cell infiltration at joint synovial site was obvious increased, with obvious bone destruction, and the total score of knee and ankle joint pathology was significantly increased ( $P < 0.001$ ). Compared with the model group, sinomenine hydrochloride intervention treatment significantly reduced toe arthritis index score ( $P < 0.05$ ) and serum TNF- $\alpha$  and IL-6 inflammatory factor expression levels ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), prevented inflammatory cells infiltrating the synovium of the joints, alleviated bone destruction, and reduced the total pathological score of the knee and ankle joint ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Sinomenine hydrochloride can prevent the destruction of joint bones of CIA mice, and its mechanism may be related to the reduction of synovial inflammation.

**Keywords:** Sinomenine hydrochloride; rheumatoid arthritis; collagen induced arthritis; synovial inflammation of the joint; bone destruction; inflammatory cytokines; therapeutic administration; mice

类风湿关节炎(Rheumatoid arthritis, RA)是一种累及关节的慢性自身免疫性疾病,其主要病理特征为受累关节的渐进对称性炎症、软骨破坏和骨侵蚀<sup>[1]</sup>。青藤碱(Sinomenine, SIN)是从传统中药防己科植物青风藤的干燥根或茎中提取分离得到的一种生物碱单体,具有镇痛、抗炎、抗肿瘤、免疫抑制等多种药理作用<sup>[2-3]</sup>。临床上其盐酸盐形式——盐酸青藤碱(Sinomenine hydrochloride, SH)被广泛应用于自身免疫性疾病的治疗,如RA的常用药正清风痛宁缓释片的主要成分正是盐酸青藤碱。本研究拟建立胶原诱导性关节炎(Collagen induced arthritis, CIA)小鼠模型,采用治疗性给予盐酸青藤碱模拟临床治疗规律,从关节滑膜炎和骨质破坏角度探讨其对RA的治疗作用,以期为其临床应用提供实验依据。

## 1 材料与方法

**1.1 动物** 7周龄雄性C57BL/6小鼠,SPF级,体重量( $30 \pm 10$ )g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物生产许可证号:SCXK(湘)2009-0004。

**1.2 药物及试剂** 盐酸青藤碱,由湖南正清制药集团股份有限公司提供,纯度 $> 98\%$ ;地塞米松(批号:D1756)、大肠杆菌内毒素(LPS,批号:L2880),美国Sigma公司;鸡II型胶原(CII,批号:20012)、不完全弗氏佐剂(IFA,批号:7002)和完全弗氏佐剂(CFA,批号:7001),美国Chondrex公司;肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ,批号:227846-010)、白细胞介素6(IL-6,批号:234277-007)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒,美国Invitrogen公司。

**1.3 主要仪器** Hiscan XM Micro-CT小动物CT成像系统,苏州海斯菲德信息科技有限公司;CTAUY120型分析天平,日本岛津公司;RM2235型病理切片机,德国徕卡公司;Axio Scope A1型显微镜,德国蔡司公司;Histostar包埋机,美国赛默飞世尔科技有限公司。

**1.4 模型复制** 在CFA中加入等体积的CII( $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ),在冰上充分研磨混匀,制成终浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的CII乳剂,于小鼠尾根部每侧注射 $50 \mu\text{L}$ ;间隔21d后,在IFA中加入等体积的CII( $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ),采用相同方法配制CII乳剂,于小鼠尾根部每侧注射 $50 \mu\text{L}$ 加强免疫。

**1.5 分组及给药** 第2次免疫后第7天,将造模成功的15只C57BL/6小鼠随机分为模型组、盐酸青藤碱( $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组、地塞米松组( $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),每组5只。同时将同一批未造模的5只小鼠作为正常组,分组当天记为第0天(d 0)。给药组小鼠分别腹腔注射相应治疗药物,每天1次,连续治疗33d,正常组和模型组小鼠腹腔注射等体积无菌生理盐水。实验结束后处死小鼠,取材用于后续实验检测。

**1.6 关节炎评分** 给药治疗周期内,每3d进行1次小鼠足趾关节炎指数评分,评分标准见表1。每只小鼠的关节炎评分为四肢评分之和,最高为16分。

**1.7 脏器指数分析**<sup>[4]</sup> 小鼠处死后,完整取出心脏、肝脏、脾脏、肾脏、胸腺以及肾上腺,剥除脏器表面结缔组织后,准确称量各脏器质量。计算:小鼠脏器指数(%)=各脏器质量(g)/小鼠体质量(g) $\times 100\%$ 。

**1.8 ELISA法检测血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6水平** 采集

表 1 关节炎指数评分表

Table 1 Arthritis index score scale

严重程度评分/分	炎症程度表现
0	无红肿迹象
1	跗骨关节或踝关节处有轻微的红肿
2	踝关节至跗骨关节有轻微红肿
3	踝关节至跗骨关节有中度红肿
4	脚踝、足和足趾有严重的红肿或关节强直

小鼠外周血，室温下静置 1 h 后，以 3 000 r·min<sup>-1</sup> (离心半径=16 cm)离心 15 min 获取血清，采用 ELISA 法检测血清中 TNF-α、IL-6 的水平。

**1.9 膝、踝关节组织病理形态学观察** 截取小鼠膝关节及踝关节，剥除皮肤和肌肉组织后，置于 4%多聚甲醛中固定 24 h；再用乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na)于室温下脱钙；待关节骨质软化后，乙醇梯度脱水，石蜡包埋，切片；采用苏木精-伊红(HE)染色后，在显微镜下观察膝、踝关节组织病理改变情况，并进行组织病理评分<sup>[6]</sup>；计算：病理总评分=炎症评分+骨破坏评分。

**1.10 骨质破坏检测分析** 将小鼠左后肢取下，置于 4%多聚甲醛中固定，以踝关节及趾跖关节为感兴趣区(Region of interest, ROI)。对上述标本进行 Micro-CT 扫描，扫描完成后，采用 CT-vox 软件三维重建足爪骨组织形态，观察骨质破坏情况。

**1.11 统计学处理方法** 采用 GraphPad Prism 8.0.1 统计软件进行数据分析；计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )

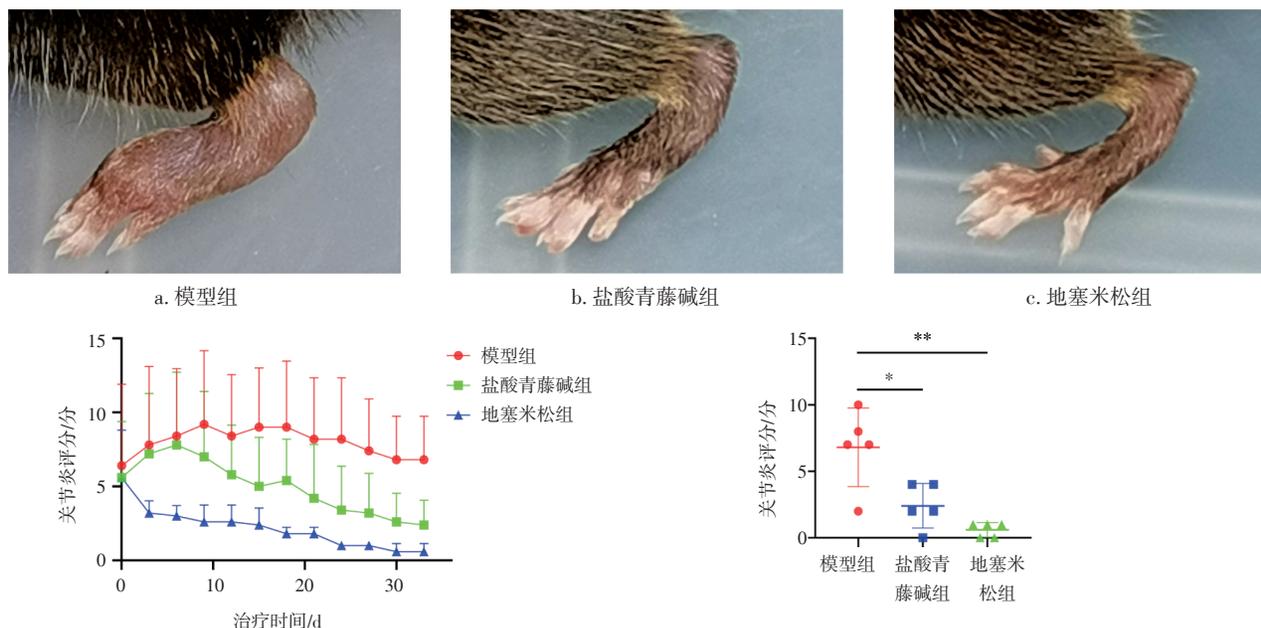
表示；多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)，两组间比较采用 *t* 检验；以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 盐酸青藤碱对 CIA 小鼠关节炎评分的影响** 经过动态观察，评估盐酸青藤碱对 CIA 小鼠关节炎评分的影响，结果见图 1。与模型组比较，第 33 天盐酸青藤碱组及地塞米松组小鼠关节炎评分均明显降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。结果表明，盐酸青藤碱治疗性给药能够抑制 CIA 小鼠的足肿胀，降低关节炎评分。而与地塞米松组相比，盐酸青藤碱在降低小鼠关节炎评分方面起效相对较慢，作用相对更弱。

**2.2 盐酸青藤碱对 CIA 小鼠各脏器指数的影响** 结果见图 2。与正常组比较，除了地塞米松组小鼠的脾脏、胸腺指数明显降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )外，其他组间的脏器指数变化并不明显 ( $P > 0.05$ )。结果表明，盐酸青藤碱连续治疗 33 d，未观察到对各主要组织器官有明显的毒性反应；地塞米松具有很强的抗炎活性，但长期使用对脾脏、胸腺具有一定毒副作用。

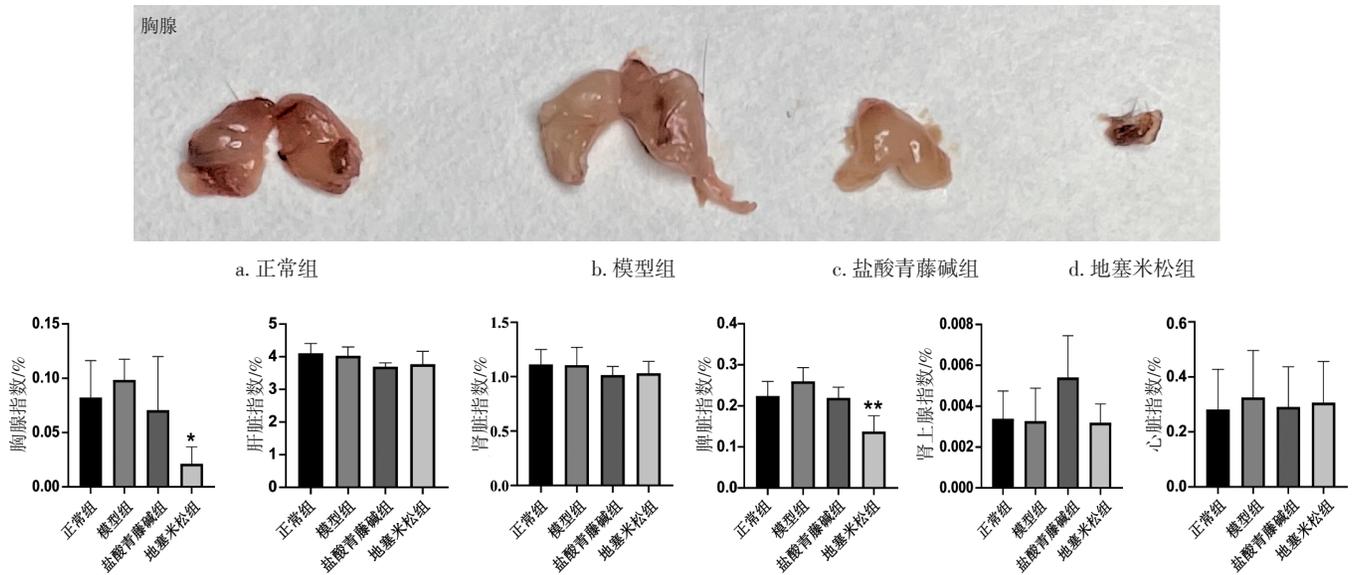
**2.3 盐酸青藤碱对 CIA 小鼠血清 TNF-α、IL-6 水平的影响** 结果见图 3。与正常组比较，模型组小鼠的血清 TNF-α、IL-6 水平均明显升高 ( $P < 0.001$ )。与模型组比较，盐酸青藤碱组及地塞米松组小鼠的血清 TNF-α、IL-6 水平均明显降低 ( $P < 0.05$ ,  $P <$



注：与模型组比较，\* $P < 0.05$ ，\*\* $P < 0.01$

图 1 盐酸青藤碱治疗性给药对胶原诱导性关节炎小鼠关节炎评分的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

Figure 1 Effect of therapeutic administration of sinomenine hydrochloride on arthritis score of CIA mice( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

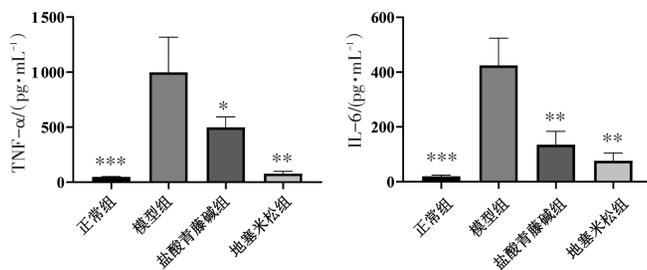


注：与正常组比较，\* $P < 0.05$ ，\*\* $P < 0.01$

图2 盐酸青藤碱治疗性给药对胶原诱导性关节炎小鼠各脏器指数的影响( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Figure 2 Effects of therapeutic administration of sinomenine hydrochloride on various organ indexes of CIA mice( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

0.01)。结果表明，盐酸青藤碱可明显降低 CIA 小鼠血清中炎症性细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的表达水平。



注：与模型组比较，\* $P < 0.05$ ，\*\* $P < 0.01$ ，\*\*\* $P < 0.001$

图3 盐酸青藤碱治疗性给药对胶原诱导性关节炎小鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平的影响( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Figure 3 Effects of therapeutic administration of sinomenine hydrochloride on serum levels of TNF- $\alpha$  and IL-6 in CIA mice( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

**2.4 盐酸青藤碱对 CIA 小鼠膝、踝关节及滑膜组织病理变化的影响** 结果见图 4、表 2。HE 染色病理结果显示，正常组小鼠膝、踝关节结构清晰且完整，关节软骨表面光滑，滑膜组织中无明显炎性细胞的浸润；与正常组比较，模型组小鼠的膝、踝关节软骨及骨组织破坏明显，滑膜组织中出现大量炎性细胞浸润，膝、踝关节病理总评分均显著升高 ( $P < 0.001$ )；与模型组比较，盐酸青藤碱和地塞米松干预治疗后，CIA 小鼠膝、踝关节滑膜组织中的炎性细胞浸润显著减少，软骨和骨质破坏明显减轻，膝、踝关节病理总评分显著降低 ( $P < 0.01, P < 0.001$ )。

**2.5 盐酸青藤碱对 CIA 小鼠关节骨质破坏的影响** 结果见图 5。Micro-CT 三维重建结果显示，与正常组小鼠相比，CIA 模型组小鼠足趾关节和踝关节处出现较明显的骨质破坏，关节完整性受损严重；盐酸青藤碱和地塞米松治疗性给药能够阻止 CIA 小鼠骨质的破坏，使关节的完整性得以维持。

### 3 讨论

肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 和白细胞介素 6 (IL-6) 是参与类风湿关节炎 (RA) 病理变化和骨质破坏的 2 个重要炎性细胞因子。TNF- $\alpha$  主要由活化的巨噬细胞合成和释放，也可由成纤维滑膜细胞和肥大细胞产生<sup>[6-7]</sup>。研究<sup>[8]</sup>发现，在 RA 患者血清中 TNF- $\alpha$  的水平显著升高，且与 RA 患者的炎症及关节骨质破坏呈正相关。IL-6 也是一种主要由活化巨噬细胞所释放的促炎性细胞因子，与 TNF- $\alpha$  一样在 RA 中为高表达水平，且与 RA 滑膜组织炎症和骨质破坏密切相关<sup>[7]</sup>。当前临床上针对 TNF- $\alpha$  的抑制剂和 IL-6 受体单克隆抗体如依那西普、阿达木单抗和托珠单抗等，被广泛应用于 RA、强直性脊柱炎和银屑病关节炎等自身免疫性疾病的治疗<sup>[9-10]</sup>。

胶原诱导的实验性关节炎模型被广泛应用于潜在抗 RA 药物的活性评价和作用机制研究。当前用于建立 RA 模型的实验动物品种较多，包括 SD 大鼠、Wistar 大鼠、C57BL/6 小鼠和 DBA-1 小鼠等。从 RA 建模时长方面比较，目前牛 II 型胶原诱导的 SD 大鼠

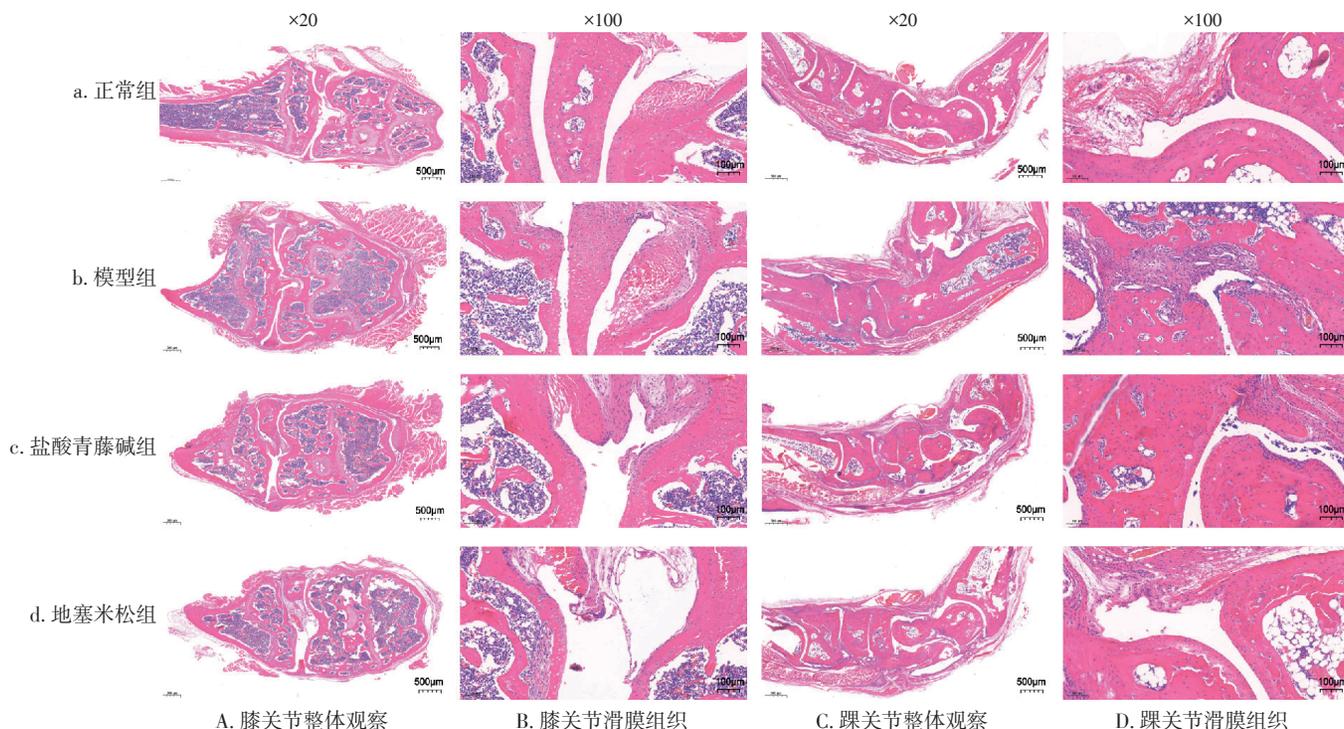


图 4 盐酸青藤碱治疗性给药对胶原诱导性关节炎小鼠膝、踝关节及滑膜组织病理变化的影响(HE 染色)

Figure 4 Effect of therapeutic administration of sinomenine hydrochloride on pathological changes of knees, ankle joints and synovial tissue in CIA mice(HE staining)

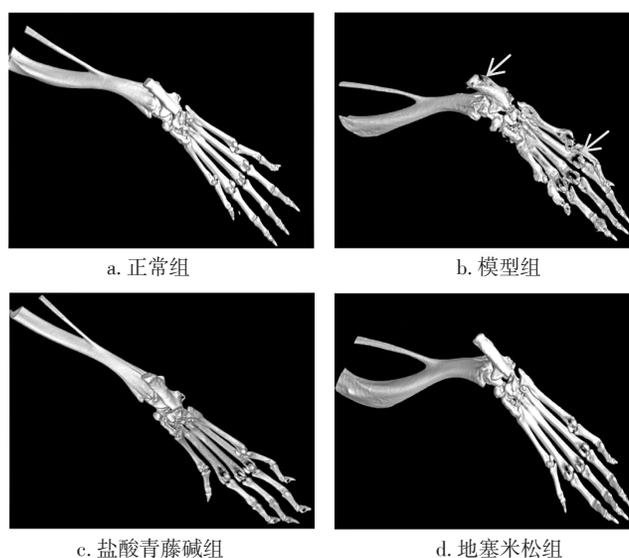
表 2 盐酸青藤碱对胶原诱导性关节炎小鼠膝、踝关节病理评分的影响( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Table 2 Effects of sinomenine hydrochloride on pathological scores of knees and ankle joints in CIA mice( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	膝关节病理总评分/分	踝关节病理总评分/分
正常组	-	0.40 ± 0.49	0.20 ± 0.4
模型组	-	4.80 ± 1.17 <sup>***</sup>	5.2 ± 0.75 <sup>***</sup>
盐酸青藤碱组	100	2.40 ± 0.89 <sup>##</sup>	2.4 ± 1.02 <sup>##</sup>
地塞米松组	2	1.6 ± 0.49 <sup>###</sup>	1.8 ± 0.75 <sup>###</sup>

注：与正常组比较，<sup>\*\*\*</sup> $P < 0.001$ ；与模型组比较，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ，<sup>###</sup> $P < 0.001$

关节炎模型建模时间最短，本课题组前期研究发现只需 7~10 d；而从 RA 发生率方面比较，鸡 II 型胶原诱导的 DBA-1 小鼠 RA 发生率最高，有研究<sup>[11]</sup>报道可达 90%，但目前 DBA-1 小鼠的购买途径有限且价格昂贵。除 DBA-1 小鼠建模成功率较高以外，其余品系动物的 RA 发生率均不高<sup>[12-13]</sup>。本研究课题组采用鸡 II 型胶原诱导 35 只 C57BL/6 小鼠建立 RA 模型，第 2 次免疫注射后第 7 天总共有 15 只小鼠建模成功，发生率约为 42.86%。当前在筛选和评估潜在的抗 RA 药物作用和机制研究时，大多采用的是预处理给药，但因实验性动物 RA 模型发生率较低而易得出假阳性实验结果。因此，选择治疗性给药的实验方法对于正确评估抗 RA 药物作用显得尤为重要。



注：白色箭头指向处为典型骨质破坏

图 5 盐酸青藤碱治疗性给药对胶原诱导性关节炎小鼠关节骨质破坏的影响

Figure 5 Effects of therapeutic administration of sinomenine hydrochloride on joint bone destruction in CIA mice

盐酸青藤碱是从中药青风藤中分离得到的一种生物碱单体，其成方制剂正清风痛宁系列产品被广泛用于 RA 等自身免疫性疾病的治疗<sup>[14-15]</sup>。本研究模拟 RA 临床治疗特点，采取治疗性给药策略探讨了盐酸青藤碱对 RA 的治疗作用。研究发现，盐酸青藤碱治

疗性给药可显著降低鸡Ⅱ型胶原诱导 C57BL/6 小鼠关节炎评分, 表明盐酸青藤碱对 RA 具有较好的治疗作用。研究还发现, 盐酸青藤碱治疗性给药在降低 CIA 小鼠关节炎评分的起效速度和强度方面均弱于地塞米松, 但其对各组织器官尤其是脾脏、胸腺的安全性要高于地塞米松。

骨质破坏是 RA 后期主要的病理特征, 有研究<sup>[16]</sup>报道盐酸青藤碱制剂可通过调节 RANKL 信号通路来抑制破骨细胞的形成, 进而阻止关节软骨的侵蚀和骨质破坏。本研究结果显示, 盐酸青藤碱能减轻 CIA 小鼠软骨和骨质破坏, 减少关节滑膜组织中炎性细胞的浸润, 降低血清中炎性细胞因子 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的表达水平, 表明抑制炎症反应可能是盐酸青藤碱发挥抗 RA 和骨保护作用的主要药理基础。

综上所述, 本研究模拟临床给药特点, 通过治疗性给药证明了盐酸青藤碱对实验性 RA 小鼠具有保护作用, 能够降低关节炎评分, 减轻软骨和骨质破坏, 其作用机制与减轻关节滑膜炎有关。

#### 参考文献:

- [1] LIN Y J, ANZAGHE M, SCHÜLKE S. Update on the pathomechanism, diagnosis, and treatment options for rheumatoid arthritis[J]. *Cells*, 2020, 9(4): 880-892.
- [2] 王玺, 张智勇, 仇萍, 等. 青风藤、青藤碱及其相关制剂的研究进展[J]. *中国药理学杂志*, 2021, 56(2): 85-93.
- [3] 李修政, 董家潇, 许晓东. 青藤碱抗炎镇痛作用及机制的研究新进展[J]. *河北医药*, 2020, 42(20): 3148-3153.
- [4] 孙薇, 普珍, 白玛多吉, 等. 高原环境对移居大鼠子代主要脏器指数及心脏形态学的影响[J]. *中国实验诊断学*, 2020, 24(3): 492-495.
- [5] 魏振权, 黄文广, 韩隆胤, 等. 断藤益母汤对胶原诱导性关节炎模型小鼠的防治作用[J]. *中药新药与临床药理*, 2020, 31(1): 48-53.
- [6] ITALIANI P, BORASCHI D. From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation[J]. *Front Immunol*, 2014, 5: e00514.
- [7] MATEEN S, ZAFAR A, MOIN S, et al. Understanding the role of cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. *Clin Chim Acta*, 2016, 455: 161-171.
- [8] EDREES A F, MISRA S N, ABDOU N I. Anti-tumor necrosis factor (TNF) therapy in rheumatoid arthritis: correlation of TNF- $\alpha$  serum level with clinical response and benefit from changing dose or frequency of infliximab infusions[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2005, 23(4): 469-474.
- [9] YAMANAKA H. TNF as a target of inflammation in rheumatoid arthritis[J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2015, 15(2): 129-134.
- [10] OGATA A, KATO Y, HIGA S, et al. IL-6 inhibitor for the treatment of rheumatoid arthritis: a comprehensive review[J]. *Mod Rheumatol*, 2019, 29(2): 258-267.
- [11] WANG Q, ZHOU X, YANG L, et al. The natural compound notopteron binds and targets JAK2/3 to ameliorate inflammation and arthritis[J]. *Cell Reports*, 2020, 32(11): e108158.
- [12] WATSON W C, BROWN P S, PITCOCK J A, et al. Passive transfer studies with type II collagen antibody in B10.D2/old and new line and C57Bl/6 normal and beige (Chediak-Higashi) strains: evidence of important roles for C5 and multiple inflammatory cell types in the development of erosive arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 1987, 30(4): 460-465.
- [13] KATO H, NISHIDA K, YOSHIDA A, et al. Effect of NOS2 gene deficiency on the development of autoantibody mediated arthritis and subsequent articular cartilage degeneration[J]. *J Rheumatol*, 2003, 30(2): 247-255.
- [14] ZHOU H, LIU J X, LUO J F, et al. Suppressing mPGES-1 expression by sinomenine ameliorates inflammation and arthritis[J]. *Biochem Pharmacol*, 2017, 142: 133-144.
- [15] FENG Z T, YANG T, HOU X Q, et al. Sinomenine mitigates collagen-induced arthritis mice by inhibiting angiogenesis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 113: e108759.
- [16] LI X, HE L, HU Y, et al. Sinomenine suppresses osteoclast formation and Mycobacterium tuberculosis H37Ra- induced bone loss by modulating RANKL signaling pathways[J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e74274.

(编辑: 邹元平)