

· 基础研究 ·

风湿清方对 CIA 大鼠骨保护作用机制研究

姜 泉¹ 李德平² 曹 炜¹ 吴广均³ 唐晓颇¹ 雷 云² 李家琇⁴
康浩宸⁵ 高 波⁴ 雷 光⁴ 翟春红⁴ 翟华强² 吴振宇³

摘要 **目的** 探讨风湿清方对胶原诱导的关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)大鼠骨保护作用机制。**方法** 试验分为空白组、模型组、西药组(MTX, 1 mg/kg)和中药组(风湿清方, 24 g 生药/kg), 除空白组外, 其余各组大鼠 CIA 造模, 西药组与中药组免疫后第 14 天开始给药, 给药直至第 56 天。观察各组大鼠足趾体积(每周二、周五测量), 检测干预 3、6 周时血清 IL-17、RANKL、MIP-1 α 的表达水平及骨密度、核素骨显像, 观察病理切片, 评价清热活血方药对 CIA 大鼠骨破坏的干预情况。**结果** 造模各组第 10 天起, 双足体积开始增加, 21 天左右达到高峰, 30 天左右明显下降, 其中两个给药组比模型组肿胀程度轻。与模型组同期比较, 西药组干预 3 周后 IL-17、RANKL 降低($P < 0.01$, $P < 0.05$), 中药组干预 3 周后 IL-17 降低($P < 0.05$); 两个给药组干预 6 周后 RANKL 均降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与模型组及西药组同期比较, 中药组干预 6 周后整体 BMD 及踝关节 BMD 均升高($P < 0.01$, $P < 0.05$), 中药组干预 3 周踝 ROI/下颌骨升高、足趾 ROI/下颌骨升高($P < 0.05$)。病理切片发现模型组关节腔隙明显增宽, 滑膜组织增生严重, 骨组织破坏, 与模型组比较, 两个给药组改善显著, 软骨结构轮廓完整。**结论** 风湿清方可以抑制骨密度下降, 防止骨破坏, 其机制可能通过骨免疫 Th/RANKL 系统, 下调 IL-17、RANKL、MIP-1 α 的表达水平, 抑制破骨细胞的成熟和分化, 促进成骨细胞活跃, 从而抑制骨破坏。

关键词 类风湿关节炎; 风湿清方; 骨免疫学; 核素骨显像; 骨密度

The Protective Mechanism Study of Fengshiqing Recipe against Bone Destruction in CIA Rats
JIANG Quan¹, LI De-ping², CAO Wei¹, WU Guang-jun³, TANT Xiao-po¹, LEI Yun², LI Jia-xiu⁴,
KANG Hao-chen⁵, GAO Bo⁴, LEI Guang⁴, ZHAI Chun-hong⁴, ZHAI Hua-qiang², and WU Zhen-yu³
1 Department of Rheumatology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100053), China; 2 Pharmacy College, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100102), China; 3 Department of Immunology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100053), China; 4 Department of Nuclear Medicine, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100053), China; 5 Department of Endocrinology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100053), China

ABSTRACT **Objective** To explore the protective mechanism of Fengshiqing Recipe (FR) against bone destruction in collagen-induced arthritis (CIA) rats. **Methods** Rats were divided into four groups in the experiment, i.e., the blank control group, the model group, the MTX group (MTX, 1 mg/1 000 g), and the FR group (24 g crude FR/kg). The CIA model was prepared except the blank control group. Medication was started in the MTX group and the FR group from the 14th day after modeling to the 56th day. The toe volume was measured on every Tuesday and Friday. Expression levels of serum IL-17, RANKL, MIP-1 α were detected after 3- and 6-week intervention. The bone scintigraphy with nuclide (SPECT), bone mineral density (BMD), and the pathological section were observed to assess the intervention of drugs of heat

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 30873250)

作者单位: 1. 中国中医科学院广安门医院风湿科 (北京 100053); 2. 北京中医药大学中药学院 (北京 100102); 3. 中国中医科学院广安门医院免疫研究室 (北京 100053); 4. 中国中医科学院广安门医院核医学室 (北京 100053); 5. 中国中医科学院广安门医院内分泌科 (北京 100053)

通讯作者: 吴振宇, Tel: 010-88001436, E-mail: zhenyuwww@126.com

DOI: 10.7661/CJIM.2013.12.1648

clearing blood activating actions in the bone destruction of CIA rats. Results From the 10th day of modeling, the volume of both toes started to swell and reached the peak at about 21 days. It was obviously shrunk at about 30 days. Of them, the swelling degree was milder in the MTX group and the FR group than in the model group. Compared with the model group at the same phase, the levels of IL-17 and RANKL decreased in the MTX group after 3 weeks of intervention ($P < 0.01$, $P < 0.05$). The IL-17 level decreased in the FR group after three weeks of intervention ($P < 0.05$). The RANKL level decreased in the MTX group and the FR group after 6 weeks of intervention ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Compared with the model group and the MTX group, the overall BMD and ankle BMD increased in the FR group after 6 weeks of intervention ($P < 0.01$, $P < 0.05$). The ankle ROI/mandible and the toe ROI/mandible were elevated in the FR group after 3 weeks of intervention ($P < 0.05$). Pathological results suggested that the joint lacune was significantly widened, the hyperplasia of the synovial tissue was so severe, and the bone tissue was destroyed in the model group. Compared with the model group, the aforesaid conditions were significantly improved in the MTX group and the FR group. The cartilage structure was complete. Conclusion QR could inhibit decreased BMD, prevent bone destruction, which might be achieved by down-regulating expression levels of IL-17, RANKL, and MIP-1 α through the osteoimmunological Th/RANKL system, inhibiting maturation and differentiation of osteoclasts, thereby, inhibiting bone destruction.

KEYWORDS rheumatoid arthritis; Fengshiqing Recipe; osteoimmunology; bone scintigraphy with nuclide (SPECT); bone density

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种以滑膜慢性炎症为主要表现的自身免疫性疾病,最终可产生软骨及骨侵蚀,导致骨质疏松。而新兴的“骨免疫学”研究免疫系统与骨的相互作用^[1-3],一方面,RA 中免疫系统与骨的相互影响属于骨免疫学范畴,另一方面,骨免疫学在 RA 的研究中得到发展。前期研究结果表明,风湿清方可抑制 RA 骨破坏,即具有“骨保护”作用^[4-11],风湿清方是路志正教授治疗 RA 经验方,本实验采用胶原诱导关节炎 (collagen-induced arthritis, CIA) 大鼠模型,基于骨免疫学,探讨风湿清方骨保护机制。

材料与方法

1 动物 清洁级 SD 雌性大鼠 40 只,7 周龄,体重 (220 $\pm$ 10) g。购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物合格证号: SCXK (京) 2012-0001。于中国中医科学院广安门医院 II 级动物实验室适应性饲养 1 周,由专业人员饲养,温度为室温。

2 药物、试剂及仪器 风湿清方: 土茯苓、金银花、苍术、黄柏、草薢、丹参、莪术共 13 味,常规煎煮,浓缩,3 000 r/min 离心 10 min,弃掉渣滓沉淀,再浓缩药液,制成 2 g/mL 的药液 (广安门医院药剂科煎药室制备)。甲氨蝶呤片 (MTX), 2.5 mg/片,上海医药有限公司信谊制药总厂,批号: 20100302。免疫原系牛 II 型胶原,浓度为 2 mg/mL, Chondrex 公司生产,批号: 110374; 完全弗氏佐剂,批号: 110322, Chon-

drex 公司生产; 放射性核素骨显像剂: ^{99m}Tc -MDP (亚甲基二磷酸), 由北京森科核医药中心标记、提供, 放化纯度 > 95%。手提式均质仪, 型号: IKA-T10 asic Ultra-turrax, 上海攸茜实业有限公司; Discovery W 型双能 X 线骨密度仪 (DXA), 美国 LOLOGIC 公司生产; 单光子发射计算机断层显像仪 (SPECT), 德国西门子公司; 酶标仪: MULTISKAN MK3, Thermo, 美国。

3 CIA 大鼠模型制备及分组 根据大鼠体重随机分为空白组、模型组、西药组、中药组, 每组各 10 只。在净化操作台上, 冰浴环境下将牛 II 型胶原缓慢加入完全弗氏佐剂中, 利用均质仪充分乳化至油包水状, 滴入水中不散开, 乳剂中牛 II 型胶原的终浓度为 1 mg/mL, 乳剂现配现用。模型组、西药组、中药组进行第 1 次免疫, 于尾根部左侧皮内注射免疫原乳剂 (含牛 II 型胶原 200 μg /0.2 mL)。初次免疫后第 7 天加强免疫 1 次, 于尾根部右侧皮内注射免疫原乳剂 (含牛 II 型胶原 100 μg /0.1 mL)。肉眼观察肿胀即为造模成功, 本实验造模成功率 90%, 每组失败 1 只。

4 干预方法 各组均于二次免疫 1 周后进行干预。西药组西药组灌胃 MTX (1 mg/1 000 g, 相当于临床人用药剂量 6 倍), 每周 1 次, 未用药的实验日灌服等体积生理盐水, 每日 1 次。中药组灌胃风湿清方 (24 g 生药/kg, 相当于人临床用药剂量 6 倍), 每日 1 次。其余两组大鼠每天灌胃等体积生理盐水。各组均干预 6 周。

5 检测指标及方法

5.1 足趾体积测量 膝关节处标记,采用排水法测记号以下部位的体积,从造模开始每周测 2 次(周二、周五),直至实验结束。

5.2 细胞因子检测 干预 3 周、5 周后采大鼠眼眶后静脉丛血 0.5 mL 左右,干预 8 周后采大鼠麻醉后腹主动脉血 5 mL。血标本静置 2 h,3 000 r/min 离心 10 min 取上清,置于 -80 ℃ 冰箱保存。采用 ELISA 法检测各组大鼠血清 IL-17、巨噬细胞炎症因子(macrophage inflammatory protein, MIP)-1 α 、核因子 κ B 受体活化因子配体(receptor activator for nuclear factor- κ B ligand, RANKL) 表达水平。操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。

5.3 骨密度(BMD)检测 干预 5 周、8 周后,麻醉后俯卧位固定,置于骨密度仪上全身扫描检测。对全身和足局部进行 BMD 分析。

5.4 核素骨显影 干预 5、8 周后,采用单光子发射计算机断层显像仪,配低能通用型准直器。尾静脉注射^{99m}Tc-MDP (0.75 mCi/mL)0.6 mL,自由饮水,2 h 后 10%水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠,仰位固定于探头上。采集条件:能峰 140 KeV,窗宽 20%,矩阵 128 $\times$ 128,采集 5 min,放大倍数 1.78。采用感兴趣区域(region of interest, ROI)法计算大鼠等面积踝关节、足趾关节 ROI 与其下颌骨 ROI 放射性比值。

5.5 病理结果观察 处死后取大鼠双腿浸泡在 10%福尔马林固定液中 24 h。自来水冲洗 24 h,5%硝酸浸泡脱钙 2 周,每周换液 2 次。至刀片能轻松切断骨质后,重新浸泡至 10%福尔马林固定液,石蜡包埋,切片 2 mm,HE 染色,观察病理结果。

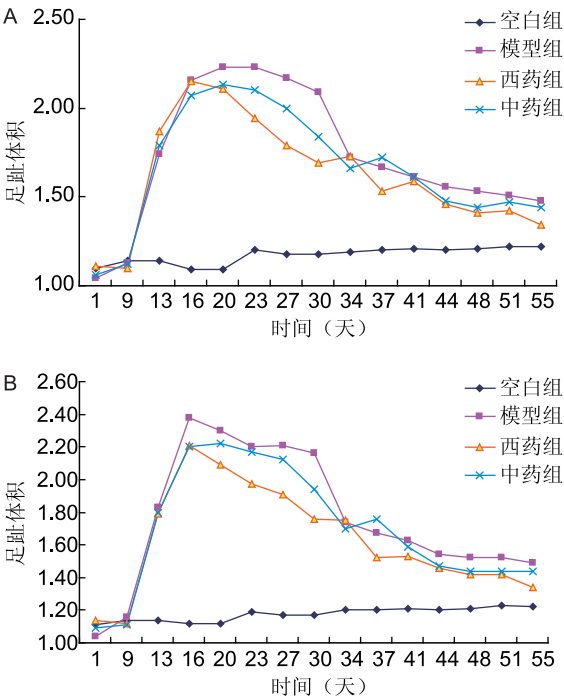
6 统计学方法 采用 SPSS 16.0 软件,数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠一般状态比较 造模各组第 10 天,部分大鼠足趾开始肿胀,足趾皮温明显增高,红肿热痛明显,活动受限,精神萎靡,毛发松乱、欠光泽。造模后第 25 天起小部分大鼠足趾红肿热痛有所减轻,发现关节畸形。31 天后急性红肿热痛基本减轻,关节畸形加重。药物干预后上述病理状态有所缓解,但不甚明显。干预期间空白组死亡 3 只,模型组死亡 1 只,西药组死亡 4 只,中药组死亡 2 只,死亡原因为麻醉死亡以及因疾病引起的大鼠相互打斗死亡。

2 各组各时间点大鼠足趾体积比较(图 1) 造

模各组第 10 天起,双足体积开始增加,21 天左右达到高峰,30 天左右明显下降,其中两个给药组比模型组肿胀程度轻。



注:A 为左足趾;B 为右足趾
图 1 各组大鼠足趾体积随时间变化情况

2 各组干预 3、6 周后血清 IL-17、MIP-1 α 、RANKL 比较(表 1) 与空白组同期比较,模型组干预 3 周后 IL-17、MIP-1 α 、RANKL 均升高($P < 0.01$, $P < 0.05$),模型组干预 6 周后 MIP-1 α 、RANKL 均升高($P < 0.05$)。与模型组同期比较,西药组干预 3 周后 IL-17、RANKL 降低($P < 0.01$, $P < 0.05$),中药组干预 3 周后 IL-17 降低($P < 0.05$);两个给药组干预 6 周后 RANKL 均降低($P < 0.01$, $P < 0.05$),中药组干预 6 周后 MIP-1 α 降低($P < 0.01$)。

表 1 各组干预 3、6 周后血清 IL-17、MIP-1 α 、RANKL 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	n	IL-17 (ng/L)	MIP-1 α (pg/mL)	RANKL (pmol/L)
空白	干预 3 周	10	10.5 $\pm$ 0.8 **	276.5 $\pm$ 16.1 *	28.8 $\pm$ 1.7 **
	干预 6 周	7	10.2 $\pm$ 1.1	261.4 $\pm$ 8.4 *	28.2 $\pm$ 0.8 *
模型	干预 3 周	9	14.5 $\pm$ 2.1	304.7 $\pm$ 22.8	32.9 $\pm$ 2.1
	干预 6 周	9	10.8 $\pm$ 0.7	295.7 $\pm$ 29.0	31.4 $\pm$ 1.8
西药	干预 3 周	9	13.4 $\pm$ 2.2 **	299.3 $\pm$ 36.5	30.7 $\pm$ 0.7 *
	干预 6 周	6	10.4 $\pm$ 1.7	276.2 $\pm$ 24.2	29.6 $\pm$ 1.3 **
中药	干预 3 周	9	12.6 $\pm$ 1.6 *	293.2 $\pm$ 18.3	31.5 $\pm$ 3.0
	干预 6 周	7	10.4 $\pm$ 0.3	271.2 $\pm$ 25.7 **	29.5 $\pm$ 1.7 *

注:与模型组同期比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3 各组干预 3、6 周后大鼠整体 BMD 及踝关节 BMD 比较(表 2) 与空白组同期比较,模型组干预 3 周后整体 BMD 降低($P < 0.05$)。与模型组及西药组同期比较,中药组干预 6 周后整体 BMD 及踝关节 BMD 均升高($P < 0.01, P < 0.05$)。

表 2 各组干预 3、6 周后大鼠整体 BMD 及踝关节 BMD 比较 (g/cm², $\bar{x} \pm s$)

组别	时间	n	整体 BMD	踝关节 BMD
空白	干预 3 周	4	0.174 ± 0.007 *	0.157 ± 0.017
	干预 6 周	8	0.178 ± 0.007	0.145 ± 0.020
模型	干预 3 周	4	0.170 ± 0.004	0.170 ± 0.017
	干预 6 周	8	0.169 ± 0.004	0.153 ± 0.019
西药	干预 3 周	4	0.172 ± 0.005	0.162 ± 0.013
	干预 6 周	8	0.170 ± 0.0074	0.160 ± 0.020
中药	干预 3 周	4	0.160 ± 0.014	0.184 ± 0.038
	干预 6 周	8	0.178 ± 0.005 **△	0.200 ± 0.024 **△△

注:与模型组同期比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与西药组同期比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$

4 各组干预 3、6 周后大鼠踝 ROI/下颌骨、足趾 ROI/下颌骨比较(表 3) 与空白组同期比较,模型组干预 3、6 周踝 ROI/下颌骨 ROI 升高($P < 0.01, P < 0.05$),模型组干预 6 周足趾 ROI/下颌骨 ROI 升高($P < 0.05$)。与模型组及西药组同期比较,中药组干预 3 周踝 ROI/下颌骨 ROI 升高、足趾 ROI/下颌骨 ROI 升高($P < 0.05$)。

表 3 各组干预 3、6 周后大鼠踝 ROI/下颌骨、足趾 ROI/下颌骨 ROI 比较 (g/cm², $\bar{x} \pm s$)

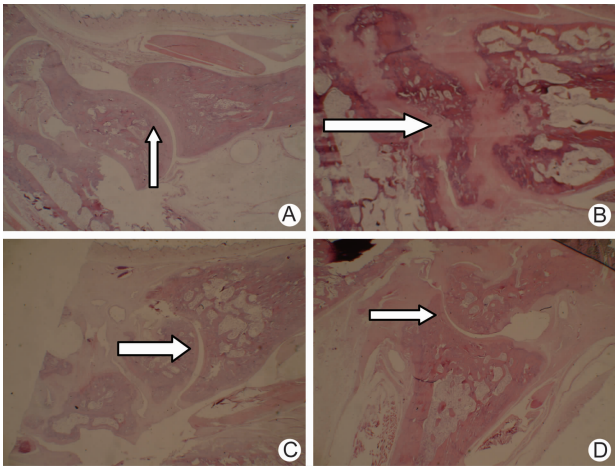
组别	时间	n	踝 ROI/下颌骨 ROI	足趾 ROI/下颌骨 ROI
空白	干预 3 周	6	0.35 ± 0.13 *	0.57 ± 0.37
	干预 6 周	6	0.39 ± 0.13 **	0.41 ± 0.20 *
模型	干预 3 周	10	2.60 ± 0.88	1.10 ± 0.31
	干预 6 周	6	1.80 ± 0.82	1.07 ± 0.38
西药	干预 3 周	8	4.03 ± 1.84	1.58 ± 0.83
	干预 6 周	6	1.53 ± 0.84	0.82 ± 0.48
中药	干预 3 周	8	4.81 ± 3.32 *△	2.41 ± 1.47 *△△
	干预 6 周	8	1.82 ± 0.94	1.07 ± 0.37

注:与模型组同期比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与西药组同期比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$

5 各组大鼠踝关节病理结果比较(图 2) 空白组踝关节腔滑膜软骨结构光滑完整;模型组踝关节腔隙明显增宽,滑膜组织增生严重,填充整个关节腔,大部分软骨和骨组织破坏;与模型组比较,两个给药组改善显著,滑膜、软骨结构轮廓完整。

讨 论

采用 CIA 造模,可使模型机体产生体液和细胞免疫反应、肢体远端关节红肿、滑膜增生、血管翳形成、软



注:A 为空白组;B 为模型组;C 为西药组;D 为中药组;箭头所指为关节轮廓病理改变

图 2 各组大鼠踝关节病理结果 (HE, ×1.5)

骨及骨破坏等病理表现,这些病理表现与临床 RA 患者病理表现极为相似,该方法是目前公认的 RA 最佳模型^[12],本实验造模后足肿胀、病理切片、炎性因子的表达等多方面验证,表明该方法与临床具有高度相似性,可为探讨清热活血方药“护骨”机制提供模型基础。

本研究发现模型组整体 BMD 较空白组显著下降,而炎症反应剧烈的踝关节 BMD 却有上升趋势,尤其是中药干预 6 周后踝关节 BMD 显著上升($P < 0.01$)。原因可能是灌服中药后成骨代谢增强,成骨细胞活跃,破骨细胞分化和成熟减弱,尤其是在骨破坏严重的足局部成骨细胞更为活跃,在关节局部堆积以抵抗骨破坏,从而导致局部骨密度升高。

为证实上述推测,本研究进行了核素骨显像实验,因^{99m}Tc-MDP 与骨有特殊亲和性,能导向吸附于骨的羟基磷灰石表面,当某部位骨代谢增强或成骨增加时,核素就在该处沉积增加,表现为放射性增强,且与局部的血流量成正比,早期 RA 局部血流增加以及关节骨断端骨组织磷酸盐代谢增强,晚期关节面软骨组织和骨质破坏所致反应性成骨代谢增强,是造成局部放射性异常浓聚的主要原因^[13-15],因此可以根据局部核素放射性浓聚的强弱来判断成骨的活跃程度。本研究中,干预 3、6 周后,模型组踝关节可见到放射性核素浓集显著增高,随着时间的推移(56 天),有向远端关节发展的趋势,且中药组放射性核素浓集增加最多。干预 3 周后,由于足局部还有红肿热痛的炎症反应,放射性核素浓集增高可能是因为踝关节局部血流增加及骨断端骨代谢旺盛(成骨活跃);干预 6 周后,由于足局部红肿热痛的炎症反应基本消除,放射性核素浓集增高应该是以反应性成骨代谢增强为主,这也验证了上

述 BMD 增高是反应性成骨代谢增强所致。即清热活血方药能增加成骨细胞的活跃程度,以抵抗骨破坏。

分子机制方面,由于 RA 发病机制复杂,本研究仅基于骨免疫学角度进行探讨。因免疫细胞和骨细胞共同起源于骨髓,从起始、成熟到分化,存在着共同的细胞因子、转录因子和受体,它们相互影响。研究免疫系统和骨的交叉作用产生了“骨免疫学”,该学科在 RA、骨质疏松、Paget 骨病、骨溶解等诸多有关骨的疾病中得到发展^[16]。基于骨免疫学,RA 骨破坏机制如下,Th 细胞在 MIP-1 α 的作用下选择性地进入并积聚在 RA 患者的关节中,Th 等免疫细胞可分泌 RANKL,促进破骨细胞的成熟与分化,从而使骨损伤,造成骨丢失。此外,Th 细胞 17 细胞还特异性表达 IL-17,IL-17 具有诱导 RANKL 的表达,破坏 RANKL/骨保护素(OPG)平衡等生物学功能,造成骨损伤^[17,18]。故本实验基于骨免疫学的骨破坏机制,以 MIP-1 α 、RANKL、IL-17 为指标,探讨风湿清方骨保护机制。结果发现干预 3 周后,模型组 MIP-1 α 、RANKL、IL-17 与空白组比较均显著升高,给药各组有下降趋势。其中,干预 6 周后,与模型组比较,中药组 MIP-1 α 降低($P < 0.01$);模型组 RANKL 与空白组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),西药组、中药组 RANKL 的表达水平与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$)。由上结果可见,清热活血方药抑制骨破坏的分子机制可能为下调 MIP-1 α 、RANKL、IL-17 的表达水平。

综上,风湿清方治疗 RA 的机制可能为通过骨免疫 Th/RANKL 系统,下调 MIP-1 α 、RANKL、IL-17 的表达水平,从而增加成骨细胞的活跃程度,降低破骨细胞的成熟与分化,抑制骨破坏。若实验能加大样本量,延长观察时间,缩短检测间隔时间,风湿清方对骨的影响可能会有新的发现。

参 考 文 献

- [1] Arron JR, Choi Y. Bone versus immune system [J]. *Nature*, 2000, 468(6812): 535–536.
- [2] Murthy MB. Osteoimmunology-unleashing the concepts[J]. *Ind Soc Periodontol*, 2011, 15(3): 190–198.
- [3] 张立智,蒋垚.骨免疫学研究进展[J]. *国际骨科学杂志*, 2009, 30(4): 218–235.
- [4] Jiang Q, Zhou XY, Wang L, et al. A one-year evaluation of radiographic progression in patients

with rheumatoid arthritis treated by Qingre Huoxue Decoction [J]. *Chin J Integr Med*, 2012, 18(4): 256–261.

- [5] 姜泉,殷海波,罗成贵,等.清热活血方药治疗类风湿关节炎骨破坏 2 年期放射学研究[J]. *世界中西医结合杂志*, 2012, 7(4): 343–347.
- [6] 姜泉,李纪川,焦娟,等.清热活血方药对活动期类风湿关节炎患者生活质量的影响[J]. *中国康复*, 2012, 27(2): 119–120.
- [7] 周新尧,王雷,余卫,等.清热活血方药治疗类风湿关节炎 1 年后双手 X 线变化临床观察[J]. *中国骨伤*, 2011, 24(12): 992–996.
- [8] 姜泉,曹炜,唐晓颇,等.清热活血方药治疗活动期类风湿关节炎的临床疗效观察[J]. *世界中西医结合杂志*, 2010, 5(7): 588–592.
- [9] 曹炜,姜泉,吴振宇,等.风湿清对 II 型胶原诱发类风湿关节炎大鼠 IL-4、 γ -IFN 及趋化因子的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2009, 29(12): 1114–1116.
- [10] 蔡品均,姜泉,曹炜,等.清热活血方药治疗活动期类风湿关节炎[J]. *浙江中医药大学学报*, 2007, 31(3): 270–271.
- [11] 姜泉,冯兴华,王承德,等.清热活血方药治疗类风湿关节炎患者 71 例临床观察[J]. *中医杂志*, 2012, 53(6): 488–491.
- [12] 石磊,李小峰,张莉芸,等.类风湿关节炎动物模型研究进展[J]. *中国药物与临床*, 2009, 9(3): 215–217.
- [13] Solá M, Pérez R, Cuadras P, et al. Value of bone SPECT-CT to predict chronic pain relief after percutaneous vertebroplasty in vertebral fractures [J]. *Spine J*, 2011, 11(12): 1102–1107.
- [14] 乔穗宪,徐卫平,唐安戌,等.⁹⁹Tc^m-MDP 骨关节显像诊断早期和活动期类风湿关节炎的临床应用[J]. *中华核医学杂志*, 1999, 19(3): 164–166.
- [15] 刘爱京,潘凌,刘曦,等.⁹⁹Tc^m-MDP 显像对胶原诱导型关节炎大鼠的早期诊断作用[J]. *解放军医学杂志*, 2006, 31(11): 1040–1042.
- [16] Schett G. Osteoimmunology in rheumatic disease [J]. *Arthritis Res Ther*, 2009, 11(1): 210.
- [17] Nakashima T, Takayanagi H. RANKL signal and osteoimmunology [J]. *Clin Calcium*, 2011, 21(8): 1131–1140.
- [18] Won HY, Lee JA, Park ZS, et al. Prominent bone loss mediated by RANKL and IL-17 produced by CD4⁺ T cells in TallyHo/JngJ mice [J]. *PLoS One*, 2011, 6(3): e18168.

(收稿:2013-01-26 修回:2013-09-21)