

基于信息熵理论比较不同剂量雪上一枝蒿总生物碱对CIA模型大鼠的改善作用及其机制[△]

杨晓梅*,陈晓兰#,张永萍,杨芳芳,谢浪,杨敬鸿,罗成月,查华(贵州中医药大学药学院,贵阳 550025)

中图分类号 R283.6;R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)16-2206-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.16.09

摘要 目的:考察不同剂量雪上一枝蒿总生物碱(简称“雪总碱”)对胶原诱发关节炎(CIA)模型大鼠血清炎症因子及关节滑膜组织中FOS蛋白表达的影响,并探讨其抗类风湿关节炎(RA)的可能机制。方法:将雄性SD大鼠随机分为空白组、模型组、阳性组(复方醋酸地塞米松软膏,0.2 g/kg)以及雪总碱低、中、高剂量组(56.26、112.50、225.00 mg/kg,以提取物中雪总碱的质量计),每组10只。除空白组外,其余各组大鼠均于左足皮下注射经不完全弗氏佐剂乳化的牛Ⅱ型胶原蛋白以复制CIA模型,并自造模当日起于其左足涂抹相应药物,空白组和模型组大鼠涂抹等容65%乙醇,每日3次,连续28 d。于给药第7、14、21、28天用游标卡尺测量各组大鼠左右足趾厚度,并计算足肿胀度;于末次给药后采用酶联免疫吸附测定法检测各组大鼠血清白细胞介素1 β (IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)含量,采用免疫组化法检测其关节滑膜组织中FOS蛋白的表达水平[以免疫组化评分(HIS)表示];借助熵权法计算综合评分,并以此评价不同给药剂量对CIA模型大鼠上述指标的影响。结果:与空白组比较,模型组大鼠各时间点的足肿胀度、血清炎症因子含量以及HIS值均显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,各给药组大鼠各时间点足肿胀度,阳性组和雪总碱高剂量组血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量以及HIS值,雪总碱中剂量组血清IL-6、TNF- α 含量以及雪总碱低剂量组血清TNF- α 含量均显著降低($P<0.05$)。各给药组上述指标的综合评分分别为0.37(阳性组)、0.31(雪总碱高剂量组)、0.23(雪总碱中剂量组)、0.09(雪总碱低剂量组)。结论:雪总碱对CIA模型大鼠具有一定的改善作用,且有随剂量升高而作用增强的趋势。这种作用可能与降低大鼠血清中炎症因子的含量以及抑制关节滑膜组织中FOS蛋白的表达有关。

关键词 雪上一枝蒿;总生物碱;类风湿关节炎;胶原诱发关节炎模型;大鼠;炎症因子;FOS蛋白;信息熵理论

Comparison of Improvement Effects and Its Mechanism of Different Doses of Total Alkaloids from *Aconitum racemosum* on CIA Model Rats Based on Information Entropy Theory

YANG Xiaomei, CHEN Xiaolan, ZHANG Yongping, YANG Fangfang, XIE Lang, YANG Jinghong, LUO Chengyue, ZHA Hua (School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the effects of different doses of total alkaloids from *Aconitum racemosum* (ARTA) on serum inflammation factors and FOS protein expression in synovial tissue of joint in collagen-induced arthritis (CIA) model rats, and to investigate its potential mechanism of anti-rheumatoid arthritis (RA). METHODS: Male SD rats were randomly divided into blank group, model group, positive group (Compound dexamethasone acetate ointment, 0.2 g/kg), ARTA low-dose, medium-dose and high-dose groups (56.26, 112.50, 225.00 mg/kg, by the weight of ARTA in the extract), with 10 rats in each group. Except for blank group, other groups were given subcutaneous injection of Bovine collagen II emulsified with incomplete Freund's adjuvant into the left foot to establish CIA model; the left foot were smeared with relevant medicine from the day of modeling. Blank group and model group were smeared with constant volume of 65% ethanol, 3 times a day, for consecutive 28 days. On the 7th, 14th, 21st and 28th day of administration, the thickness of left hind toe was measured with vernier caliper, and the degree of foot swelling was calculated. The serum contents of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in rats were measured by ELISA after last administration. The expression of FOS protein in synovial tissue was determined by immunohistochemical method [expressed by HIS]. The comprehensive score was conculated by entropy weight method. Effects of each dosage on above indexes of CIA model rats were evaluated with the comprehensive score. RESULTS: Compared with blank group, the degree of foot swelling, serum content of inflammatory factors and HIS value were increased significantly in model group ($P<0.05$). Compared with model group, the degree of foot swelling in each administration group, serum contents of IL-1 β , IL-6 and TNF- α , HIS in positive group and ARTA high-dose group, serum contents of IL-6 and TNF- α in ARTA medium-dose group as well as serum content of TNF- α in ARTA low-dose group were decreased significantly ($P<0.05$). Comprehensive score of above indicators were 0.37(positive group), 0.31 (ARTA high-dose group), 0.23 (ARTA medium-dose group) and 0.09 (ARTA low-dose group). CONCLUSIONS: ARTA can

[△] 基金项目:国家工程技术研究中心组建项目(No.2014FU125Q09);贵州省国内一流建设学科项目(中药学)(No.GNYL[2017]008号)

* 硕士研究生。研究方向:中药、民族药的新剂型与新技术。E-mail:1192218470@qq.com

通信作者:教授,硕士生导师,博士。研究方向:中药、民族药的新剂型与新技术。E-mail:chenxiaolan76@126.com

improve CIA model rats, and the effect tends to increase with the increase of dose. Above effect may be associated with reducing serum content of inflammatory factors and inhibiting the expression of FOS protein in synovial tissue.

KEYWORDS *Aconitum racemosum*; Total alkaloids; Rheumatoid arthritis; Collagen-induced arthritis model; Rat; Inflammatory factors; FOS protein; Information entropy theory

雪上一枝蒿为毛茛科植物短柄乌头(*Aconitum brachypodum* Diels)、铁棒锤(*A. pendulum* Busch)和宣威乌头(*A. subrosullatum* H.M.)的干燥块根,具祛风除湿、通利关节之功效,是贵州、云南等地的民间用药,收载于《贵州省中药材、民族药材质量标准》^[1]。生物碱类成分是该药材的有效组分,也是其毒性成分,故其治疗量与中毒量十分相近^[2]。经皮给药为含有毒性成分药材的常用给药方式,具有无肝脏首关效应、生物利用度高、给药方便等优势。本课题组前期药理研究表明,雪总碱具有显著的镇痛、抗炎作用^[3],但尚未见其对类风湿关节炎(RA)治疗作用的相关报道。为此,本研究以胶原诱发关节炎(CIA)模型大鼠为对象,通过检测其足肿胀度以及血液中相关炎症因子的含量和关节滑膜组织中*c-fos*基因表达产物FOS蛋白的表达水平,从炎症因子和分子蛋白水平等方面探讨雪总碱对CIA模型大鼠的改善作用及可能机制,并借助信息熵理论综合评价不同剂量雪总碱对上述指标的影响,以期为其外用新剂型的研发和临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

Multiskan Mk3型酶标仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司];BX51T-PHD-J11型显微镜(日本Olympus公司);CMIA98A型图像分析仪(美国Media Cybernetics公司);HC-2062型高速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);AUY220型分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

1.2 药品与试剂

雪总碱提取物(本实验室自制;每100 g药材共提取雪总碱1.32 g,提取率为1.32%);复方醋酸地塞米松软膏(阳性对照,华润三九医药股份有限公司,批号:1718004H,规格:复方);不完全弗氏佐剂、牛Ⅱ型胶原蛋白(北京博蕾德生物科技有限公司,批号分别为150514、150374);鼠源C-FOS抗体(圣克鲁斯生物技术有限公司,批号:00058736);大鼠白细胞介素1 β (IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号:1218E18)和苏木精染色剂均购自南京赛博生物科技有限公司;DAB显色剂(北京索莱宝科技有限公司);其余试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

1.3 动物

SPF级SD大鼠60只,雄性,体质量(200 \pm 20)g,购自长沙市天勤生物技术有限公司,动物生产许可证号:SCXK(湘)2014-0011。所有大鼠均分笼饲养,自由摄食、饮水。

2 方法

2.1 大鼠造模

将牛Ⅱ型胶原蛋白溶于醋酸溶液中,4 $^{\circ}$ C搅拌过夜,待其充分溶解后,加入等体积的不完全弗氏佐剂,充分

混匀、乳化,制成质量浓度为2.5 mg/mL的牛Ⅱ型胶原蛋白乳剂。于大鼠左足皮下注射上述乳剂0.1 mL进行免疫,14 d后避开上次免疫部位再以相同剂量注射1次以加强免疫。

2.2 大鼠分组与给药

所有大鼠均适应性饲养1周后,随机分为空白组、模型组、阳性组(复方醋酸地塞米松软膏,0.2 g/kg)和雪总碱低、中、高剂量组(56.26、112.50、225.00 mg/kg,以提取物中雪总碱的质量计),每组10只。各给药组给药剂量经查阅相关文献^[4]并参照本课题组前期急性毒性试验^[5]确定。除空白组外,其余各组大鼠均按“2.1”项下方法复制CIA大鼠模型。自造模当日(即第1次注射后,下同)起,各给药组大鼠均于左足涂抹相应药物(阳性组药物为直接涂抹,雪总碱各剂量组药物以65%乙醇稀释后涂抹),空白组和模型组大鼠均于左足涂抹等容65%乙醇,每日3次,连续28 d。

2.3 大鼠足肿胀度检测

分别于造模前和给药第7、14、21、28天用游标卡尺测量各组大鼠左后足趾厚度并计算足肿胀度,足肿胀度=(给药后足趾厚度-造模前足趾厚度)/给药后足趾厚度。

2.4 大鼠血清炎症因子含量检测

末次给药1 h后,于大鼠腹主动脉取血适量,以5 000 r/min离心10 min,分离血清。使用ELISA法以酶标仪检测各组大鼠血清中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的含量。严格按照相应试剂盒说明书操作。

2.5 大鼠滑膜组织中FOS蛋白表达水平检测

取血后,将大鼠固定,用75%乙醇擦拭膝关节后,沿膝关节正中切开皮肤,暴露并打开关节腔,用眼科镊将滑膜组织轻轻夹住,用刀片将其完整切下,置于4%多聚甲醛溶液中固定72 h后,包埋、切片(3~5 μ m)、脱蜡。切片滴加鼠源C-FOS抗体适量,经DAB显色、苏木精复染后,封片,于显微镜下观察。在滑膜组织切片中分别选取左上、左下、右上、右下、中央等5个视野,采用图像分析仪进行FOS阳性颗粒计数(阳性颗粒呈浅棕色或深棕色),并以免疫组化评分(HIS)表示FOS蛋白的表达水平(HIS=阳性颗粒评分 \times 阳性细胞染色程度,式中,阳性颗粒评分标准——0分为阴性,1分为弱阳性,2分为阳性,3分为强阳性;染色程度量化标准(以染色面积百分比计)——0分为染色面积百分比0~1%,1分为>1%~10%,2分为>10%~50%,3分为>50%~80%,4分为>80%~100%^[6])。

2.6 统计学方法

2.6.1 方差分析 采用SPSS 19.00软件对数据进行统计分析。计量资料均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方法分析,两组间比较采用LSD分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2.6.2 熵权法分析 采用Excel 2003对数据进行熵权法分析。将各试验组数据的均值(V)进行标准化处理后,进一步计算各考察指标的信息熵(H),并赋予相应权重(W),最终计算综合评分(M),根据 M 值评价不同剂量雪总碱对各指标的影响(M 值越大,表示其对相应指标的影响越大)^[7]。

3 结果

3.1 各组大鼠足肿胀度检测结果

与空白组比较,模型组大鼠各时间点的足肿胀度均显著增加,差异均有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,各给药组大鼠各时间点的足肿胀度均显著减小,差异均有统计学意义($P<0.05$)。其中,模型组和各给药组大鼠足肿胀度均于给药第14天达到峰值,并于给药第21天开始下降,详见表1。

表1 各组大鼠足肿胀度的检测结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 1 Determination results of rat foot swelling degree in each group($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	给药第7天	给药第14天	给药第21天	给药第28天
空白组	0.05±0.02	0.08±0.06	0.10±0.08	0.16±0.11
模型组	2.42±0.43*	2.66±0.38*	2.39±0.97*	2.17±0.93*
阳性组	0.89±0.11 [#]	1.13±0.42 [#]	0.56±0.49 [#]	0.42±0.37 [#]
雪总碱高剂量组	0.89±0.04 [#]	1.14±0.41 [#]	0.71±0.38 [#]	0.49±0.27 [#]
雪总碱中剂量组	1.20±0.11 [#]	1.52±0.55 [#]	1.12±0.40 [#]	0.78±0.42 [#]
雪总碱低剂量组	1.56±0.06 [#]	1.91±0.07 [#]	1.50±0.15 [#]	0.92±0.33 [#]

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$

Note:vs. blank group,* $P<0.05$;vs. model group,[#] $P<0.05$

3.2 各组大鼠血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量检测结果

与空白组比较,模型组大鼠血清中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量均显著升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,阳性组和雪总碱高剂量组大鼠血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量,雪总碱中剂量组大鼠血清IL-6、TNF- α 含量以及雪总碱低剂量组大鼠血清TNF- α 含量均显著降低,差异均有统计学意义($P<0.05$),详见表2。

表2 各组大鼠血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量以及HIS值的检测结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 2 Determination results of serum contents of IL-1 β , IL-6 and TNF- α and HIS values of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	IL-1 β , pg/mL	IL-6, pg/mL	TNF- α , pg/mL	HIS值
空白组	20.76±3.69	91.05±10.92	119.05±34.04	0.19±0.14
模型组	31.88±2.72*	115.17±14.72*	261.47±47.12*	0.77±0.30*
阳性组	21.92±3.04 [#]	95.73±13.96 [#]	155.40±21.02 [#]	0.46±0.20 [#]
雪总碱高剂量组	25.36±3.70 [#]	97.85±13.28 [#]	154.52±41.85 [#]	0.48±0.06 [#]
雪总碱中剂量组	28.93±2.99	90.93±12.56 [#]	178.01±45.44 [#]	0.59±0.20
雪总碱低剂量组	28.27±2.28	109.22±9.99	206.04±45.30 [#]	0.74±0.29

注:与空白组比较,* $P<0.05$,与模型组比较,[#] $P<0.05$

Note:vs. blank group,* $P<0.05$;vs. model group,[#] $P<0.05$

3.3 各组大鼠关节滑膜组织中FOS蛋白表达水平检测结果

与空白组比较,模型组大鼠HIS值显著升高,差异

有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,阳性组、雪总碱高剂量组大鼠HIS值均显著降低,差异均有统计学意义($P<0.05$),详见表2。

3.4 基于熵权法的雪总碱抗RA效应评价

取模型组和各给药组实验数据的 V 值进行标准化处理,空白组不作分析。其中,当指标较模型组升高时,按 $V_{\text{标准化值}}=V_{\text{给药组}}-V_{\text{模型组}}$ 计算;当指标较模型组降低时,按 $V_{\text{标准化值}}=V_{\text{模型组}}-V_{\text{给药组}}$ 计算^[8-10],足肿胀度以给药第28天的数据进行分析,结果见表3。

表3 各给药组大鼠考察指标数据的标准化处理结果

Tab 3 Standardized processing results of survey indicator data in administration groups

组别	IL-1 β , pg/mL	IL-6, pg/mL	TNF- α , pg/mL	足肿胀度	HIS值
阳性组	9.96	19.44	106.07	1.75	0.31
雪总碱高剂量组	6.52	17.32	106.95	1.68	0.29
雪总碱中剂量组	2.95	24.24	83.46	1.39	0.18
雪总碱低剂量组	3.61	5.95	55.43	1.25	0.03

用标准化处理后数据建立原始药效指标矩阵(X),再将其转换为概率矩阵(P),具体如下:

$$X = \begin{bmatrix} 9.96 & 6.52 & 2.95 & 3.61 \\ 19.44 & 17.32 & 24.24 & 5.95 \\ 106.07 & 106.95 & 83.46 & 55.43 \\ 1.75 & 1.68 & 1.39 & 1.25 \\ 0.31 & 0.29 & 0.18 & 0.03 \end{bmatrix}$$

$$P = \begin{bmatrix} 0.43 & 0.28 & 0.13 & 0.16 \\ 0.29 & 0.26 & 0.36 & 0.09 \\ 0.30 & 0.30 & 0.24 & 0.16 \\ 0.29 & 0.28 & 0.23 & 0.21 \\ 0.38 & 0.36 & 0.22 & 0.04 \end{bmatrix}$$

根据上述概率矩阵计算第 i 个指标的熵值(H_i),得 $H_i=[0.92 \ 0.93 \ 0.98 \ 0.99 \ 0.86]$ 。参考文献方法^[8-9]计算 W_i ,得 $W_i=[0.256 \ 0.214 \ 0.069 \ 0.021 \ 0.441]$ 。按公式计算 m 组 n 个指标的 $M_m=P_{1m}W_1+P_{2m}W_2+\dots+P_{nm}W_n$ 计算,得各组的 M 值分别为0.37(阳性组)、0.31(雪总碱高剂量组)、0.23(雪总碱中剂量组)、0.09(雪总碱低剂量组)。

4 讨论

雪上一枝蒿是云南、贵州等地民间用于治疗风湿疼痛、关节炎、跌打损伤的要药之一^[11]。现有研究表明,雪总碱有显著的镇痛、抗炎作用^[3],但其对RA的治疗作用尚未见相关报道。CIA诱导关节炎动物模型的病理特征为关节滑膜慢性炎症增生、关节软骨及骨侵蚀破坏,与RA发病过程类似^[12]。为此,本研究考察了雪总碱对CIA模型大鼠的改善作用及可能机制。复方醋酸地塞米松软膏是临床治疗RA的常用外用制剂,疗效显著^[13],故本研究以其作为阳性对照药物。

本研究在考察大鼠足肿胀度基础上,对其血清炎症因子的含量和关节滑膜组织中FOS蛋白的表达情况进

行了检测。其中,IL-1 β 、IL-6、TNF- α 作为免疫调节物质,在RA的发展过程中具有重要作用。研究表明,IL-1 β 可在RA早期诱导中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞趋化,同时诱导IL-6的产生^[14];IL-6可使滑膜炎症加剧,并诱导B淋巴细胞转化为浆细胞,其在RA患者血清中的含量显著高于健康者^[15]。TNF- α 的含量与RA患者血清中类风湿因子滴度、红细胞沉降率和C反应蛋白等指标呈正相关,是反映病情严重程度的重要指标之一^[16-17]。此外,RA的病理表现以滑膜组织异常增生为主,是一种自身免疫功能下降的慢性疼痛性疾病,疼痛可诱发c-fos基因在中枢神经内的异常表达,使得FOS蛋白的表达明显上升^[13,18]。本研究结果显示,模型组大鼠足肿胀度(给药第7、14、21、28天)、血清炎症因子含量、HIS值均较空白组显著升高,提示大鼠血清炎症因子及关节滑膜组织中FOS蛋白的表达均明显升高,表明模型复制成功。与模型组比较,各给药组大鼠各时间点足肿胀度,阳性组和雪总碱高剂量组大鼠血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量以及HIS值,雪总碱中剂量组大鼠血清IL-6、TNF- α 含量以及雪总碱低剂量组大鼠血清TNF- α 含量均显著降低,提示雪总碱可明显缓解大鼠的足肿胀情况,其机制可能与降低其血清炎症因子的含量以及抑制关节滑膜组织中FOS蛋白的表达有关。

信息熵是系统不确定和无序性的度量,信息熵理论可将每个因素作为一个随机变量,计算其对应的H值,并赋予相应权重,以评价各受试因素的综合影响^[19]。熵权法以信息熵理论为依据,客观地对各因素进行赋权,并进行综合评分,可为多指标研究数据分析提供依据^[20]。本研究尝试借助信息熵理论建立综合评价度量指标,探讨不同剂量雪总碱对大鼠足肿胀度、血清中炎症因子及关节滑膜组织中FOS蛋白表达水平的影响。结果显示,高剂量雪总碱对CIA模型大鼠各考察指标的综合影响最大、中剂量次之、低剂量最弱,提示雪总碱改善RA的作用有随剂量升高而增强的趋势,但整体均弱于阳性对照药物。

综上所述,雪总碱对RA具有一定的改善作用,其作用机制可能与降低血清中炎症因子的含量以及抑制关节滑膜组织中FOS蛋白的表达有关。但本研究并未对与抑制RA炎症反应的相关信号通路进行研究,有待后续实验予以完善。

参考文献

[1] 贵州省药品监督管理局.贵州省中药材、民族药材质量标准:2003年版[M].贵阳:贵州科技出版社,2003:326.
 [2] 丛紫东,郑玲玲,杜武勋,等.雪上一枝蒿中毒1例报告[J].时珍国医国药,2013,24(8):2027-2028.
 [3] 王璐,高菊珍,张红宇,等.雪上一枝蒿速效止痛搽剂的抗炎镇痛作用研究[J].中药药理与临床,2005,21(4):52-54.
 [4] 瞿敏明,陈志鹏,刘丹,等.镰形棘豆提取物经皮给药的抗

炎镇痛活性[J].中草药,2011,42(9):1788-1791.

[5] 魏文珍,吴玉梅,唐红艳,等.雪上一枝蒿药材及其制剂发挥镇痛作用的治疗窗研究[J].贵阳中医学院学报,2016,38(3):23-28.
 [6] SOSLOW RA, DANNENBERG AJ, RUSH D, et al. Cox-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors[J]. *Cancer*, 2000, 89(12):2637-2645.
 [7] 王继龙,魏舒畅,刘永琦,等.基于G1-熵权法和正交设计优选黄芪百合颗粒的提取纯化工艺[J].中草药,2018,49(3):596-603.
 [8] 权亮,赵永峰,陈志敏,等.基于信息熵赋值法的正交联用Box-Behnken设计-响应面法优化黄丝郁金醋炙工艺研究[J].中草药,2018,49(8):1823-1828.
 [9] 王仁杰,李森,闫明,等.信息熵理论在热毒宁口服制剂中金银花与栀子提取工艺优选中的应用[J].中草药,2015,46(5):683-687.
 [10] 庞汉青,唐于平,史旭芹,等.基于主成分分析和多指标综合指数法丹参不同有效部位的活血化瘀作用比较[J].中草药,2016,47(18):3239-3247.
 [11] 吴玉梅,陈晓兰,魏文珍,等.雪上一枝蒿的研究进展[J].黔南民族医专学报,2015,28(2):98-100.
 [12] 吴晶金.类风湿关节炎模型研究进展[J].风湿病与关节炎,2016,5(12):70-73.
 [13] 贾娜,崔佳,文爱东.藏药麻花秦苜醇提物对胶原诱导型关节炎模型小鼠滑膜组织中NF- κ B p65表达的影响[J].中国药房,2018,29(15):2083-2085.
 [14] 龙朝阳,李凤珍,梁江洪,等.清毒伸筋汤对胶原诱导性关节炎大鼠血清TNF- α 、IL-1 β 水平的影响[J].中医学报,2017,32(1):93-95.
 [15] 刘德芳,郭明阳,呼永河,等.类风湿关节炎湿热痹阻型患者血清和关节液IL-1、IL-6、TNF- α 的表达研究[J].免疫学杂志,2014,30(5):447-451.
 [16] GLOSSOP JR, DAWES PT, NIXON NB, et al. Polymorphism in the tumour necrosis factor receptor II gene is associated with circulating levels of soluble tumour necrosis factor receptors in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2005, 7(6):1227-1234.
 [17] 肖金鱼,王炳胜,王书杰. IL-1及TNF- α 在关节炎大鼠模型血清中表达的实验研究[J].中国中医急症,2011,20(4):607-608.
 [18] 王学勇,张元,许建阳,等.金铁锁总皂苷镇痛作用及其对佐剂性关节炎大鼠c-fos基因的表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(3):94-96.
 [19] 李四海,高建德,陈建国,等.熵权法优选湖北海棠叶中总黄酮提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(23):56-58.
 [20] 王星星,李森,康小东,等.基于信息熵赋权法优化哮喘方醇提工艺[J].中成药,2017,39(7):1391-1394.

(收稿日期:2019-01-06 修回日期:2019-06-10)

(编辑:张元媛)