

基于主成分分析和聚类分析的秦艽不同配伍药对对风湿热痹类风湿关节炎大鼠的作用研究

马腾茂, 刘 飞, 王 蓉, 高慧琴*

甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000

摘要: **目的** 运用主成分分析(PCA)法和聚类分析法, 研究秦艽不同配伍药对对风湿热痹类风湿关节炎(RA)大鼠的影响, 探讨病证-药性-疗效之间的关系。**方法** 80只SD大鼠随机分为对照组、模型(CII)组、病证模型组、雷公藤多苷组、单味秦艽组、秦艽+威灵仙(秦-威)组、秦艽+桑寄生(秦-桑)组和秦艽+防己(秦-防)组, 采用天然牛Ⅱ型胶原(CII)诱导加风湿热环境因素刺激制备风湿热痹RA大鼠模型, 造模结束后各给药组分别ig给予制备的对应药液(25 mg/kg)。实验中测量大鼠体质量、足跖肿胀度、关节炎指数评分、痛阈值、冷痛耐受值及压力耐痛值, 酶联免疫法测定各组大鼠血清中类风湿因子(RF)、C-反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、前列腺素E₂ (PGE₂)水平。运用SPSS 21.0软件对数据进行PCA和聚类分析, 设定主成分特征值大于1, 聚类分析采用系统聚类法。**结果** PCA筛选出2个主成分, 二者携带原变量信息的89.6%, 第1主成分反映除体质量之外其他变量的信息, 第2主成分主要反映体质量这一变量的信息; 以主成分因子得分与其权重(方差贡献)乘积之和相加, 得出各组的总因子得分(F 值, F 值越大, 病情越严重), 病证模型组 F 值最大, 对照组 F 值最小, 给药组中秦-防组 F 值明显小于秦-威组、秦-桑组。聚类分析将8个组按对照组、模型组、给药组聚为3类, 与理论实际相符合; 给药组中秦-防组单独聚为一类, 其余给药组聚为一类。**结论** 对于风湿热痹型RA, 平寒相配疗效优于平温、平平相配, 实验结果符合中医临床“疗热以寒药”的治疗原则; PCA法和聚类分析法操作简单、结果可靠, 可以用于评价动物模型及药物疗效。

关键词: 主成分分析; 聚类分析; 秦艽; 配伍; 寒热药性; 类风湿关节炎; 风湿热痹

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)11-2255-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.11.017

Based on principal component analysis and cluster analysis to study effects of *Gentianae Macrophyllae Radix* in cold and heat compatibility in rheumatic fever arthralgia rheumatoid arthritis model rats

MA Teng-mao, LIU Fei, WANG Rong, GAO Hui-qin

Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

Abstract: **Objective** To study the effects of *Gentianae Macrophyllae Radix* in cold and heat compatibility in rheumatic fever arthralgia rheumatoid arthritis (RA) model rats by principal component analysis and cluster analysis. **Methods** Eighty SD rats were randomly divided into blank group, collagen II model group, rheumatic fever arthralgia model group, tripterygium group, single *Qinjiao* group, *Qinjiao-Weilingxian* (*Clematidis Radix et Rhizoma*) group, *Qinjiao-Sangjisheng* (*Taxilli Herba*) group, and *Qinjiao-Fangji* (*Stephaniae Tetrandrae Radix*) group; rheumatic fever arthralgia model were induced by collagen II and being exposed in rheumatic fever environment, each administration group was gavaged with 15 mL/kg corresponding drug solution after modeling. The weight, paw thickness, arthritis index, pain threshold, cold pain tolerance time and pressure pain tolerance value were measured. The serum contents of RF, CRP, TNF- α , IL-1 β , and PGE₂ were detected by ELISA. **Results** Principal component analysis selected two principal components, which carried 89.6% of the original information, the first principal component reflected all information in expect weight, the second principal component mainly reflected the weight. The total factor score F (the greater the F value, the more severe the disease) was obtained by the sum of the principal component factor score and its weight (variance contribution) product. The F value of rheumatic fever arthralgia model group was the highest and the score of the blank group was the lowest, the F value of Qin-Fang

收稿日期: 2016-10-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81360648)

作者简介: 马腾茂(1992—), 男, 在读硕士研究生, 研究方向为中药及复方应用的研究。Tel: 17789640494 E-mail: 834082021@qq.com

*通信作者 高慧琴(1962—), 女, 教授, 硕士生导师, 医学学士, 主要从事中药基础理论及临床应用研究。E-mail: ghq@gszy.edu.cn

group was significantly lower than those of Qin-Wei group and Qin-Sang group. Cluster analysis divided eight groups into three categories according to the blank, model and administration, which was consistent with the theory; In the control group, Qin-Fang group was clustered into one group, and the other groups were clustered into one group. **Conclusion** For the rheumatic fever arthralgia RA, the combined effect of mild and cold traditional Chinese medicine (TCM) is better than the combined effect of mild and warm TCM and the combined effect of mild TCMs. Experimental results are consistent with the principles of TCM clinical treatment of “treating the hot diseases should use the cold medicine”; Principal component analysis and cluster analysis are simple and reliable, and can be used to evaluate the animal model and drug efficacy.

Key words: principal component analysis; cluster analysis; *Gentianae Macrophyllae Radix*; cold and heat compatibility; rheumatoid arthritis; rheumatic fever arthralgia

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是以关节滑膜慢性炎症为主的全身性自身免疫性疾病, 以慢性、对称性、多滑膜关节炎和关节外病变为主要临床表现。本病具有较高的发病率和致残率, 严重影响患者的生活质量。由于 RA 病因尚不明确, 目前尚无根治的药物, 且临床常用的治疗药物不良反应较多, 因而中药在 RA 治疗中的作用日趋受到重视。

秦艽为龙胆科植物秦艽 *Gentiana macrophylla* Pall.、麻花秦艽 *G. straminea* Maxim.、粗茎秦艽 *G. crassicaulis* Duthie ex Burk. 或小秦艽 *G. dahurica* Fisch. 的干燥根, 味辛苦, 性平, 能够祛风湿、通络止痛、退虚热、清湿热, 临床主要用于治疗风湿痹证、筋脉拘挛、关节屈伸不利等, 疗效较好。本实验以秦艽为基本药, 分别配伍均能祛风湿但寒热药性不同的中药, 通过前期秦艽药对的有关研究^[1-3]以及查阅相关文献报道^[4-5], 筛选出秦艽配伍威灵仙 *Clematidis Radix et Rhizoma*、桑寄生 *Taxilli Herba*、防己 *Stephanlae Tetrandrae Radix* 3 组作用明显、具有代表性的药对, 组成平温相配 (秦艽+威灵仙)、平平相配 (秦艽+桑寄生)、平寒相配 (秦艽+防己), 观察秦艽不同配伍药对风湿热痹 RA 模型大鼠的作用, 运用 SPSS 21.0 软件对体质量、足跖肿胀度、关节炎评分等 11 项指标进行主成分分析 (PCA) 和聚类分析, 寻找指标之间的关联, 探讨病证-药性-疗效之间的关系。

PCA 和聚类分析是常用的统计学方法, 具有简化指标、降低变量维数、减小工作量、结果直观、辨识度高等特点, 被广泛应用于很多领域^[6], 但是在评价动物模型及药物疗效方面应用较少。大多动物实验均采用方差分析, 虽然结果较为可靠, 但存在计算复杂、指标重叠、辨识困难等问题。本研究在数据已经用方差分析处理的基础上, 运用 PCA 和聚类分析, 一方面减少相关指标对实验信息的重叠反映, 使结果更为客观、直接、清晰; 另一方面

从不同的角度对实验数据进行挖掘, 对实验进行更为全面的分析和总结。此外, 还可以比较 2 种统计模式的结论是否一致, 探索 PCA 和方差分析在药理药效、动物实验方面的科学性和可行性, 为其进一步应用提供参考。

1 材料

1.1 实验动物

SD 大鼠 80 只, 雌雄皆用, 体质量 (200±20) g, 由甘肃中医药大学动物实验中心提供, 合格证号 SCXK (甘) 2015-0002。

1.2 药物与试剂

秦艽、威灵仙、桑寄生、防己 4 味中药饮片均购自兰州惠仁堂大药房, 由甘肃中医药大学中药鉴定教研室李成义教授鉴定均为正品。阳性药物为雷公藤多苷片, 远大医药黄石飞云制药有限公司, 批号 20150501; 天然牛 II 型胶原 (CII), 北京 Solarbio 公司, 批号 1122D056; 完全弗氏佐剂 (CFA), 美国 Sigma 公司, 批号 SLBK1731V; 冰醋酸, 北京 Solarbio 公司, 质量分数 98.5%; 大鼠类风湿因子 (RF)、C-反应蛋白 (CRP)、前列腺素 E₂ (PGE₂) 试剂盒, 上海酶联生物科技有限公司; 大鼠白细胞介素 (IL-1β) 试剂盒, 欣博盛生物科技有限公司, 批号 R160425-007a; 大鼠肿瘤坏死因子-α (TNF-α) 试剂盒, 欣博盛生物科技有限公司, 批号 R160425-102a。

1.3 主要仪器设备

RXZ 智能型人工气候箱 (在全自动人工气候箱内加装 3 个风扇, 使其风速达 5 m/s, 用于模拟自然环境中风的刺激), 宁波江南仪器厂; HH-W600S 型恒温水浴锅, 金坛市大地自动化仪器厂; 0~150 mm 数显游标卡尺, 上海申韩量具有限公司; Biofuge Stratos 高速冷冻离心机, 德国 Heraeus 公司; BP211 电子天平, 德国 Sartorius 公司; 冷热痛觉测试仪, 美国 Stoelting 公司; 数字爪压测量仪, 美国 IITC 公司; INFINITE 200 PRO 酶标仪, 帝肯奥地利有限

责任公司。

2 方法

2.1 供试药液的制备

各配伍药对水煎液由甘肃中医药大学中药药剂实验室协助制备。秦艽水煎液：取秦艽 300 g，第 1 次加 10 倍量水煎煮 1 h，第 2 次加 8 倍量水煎煮 30 min，药液滤过，合并 2 次水煎液，浓缩为每毫升药液含生药 1.67 g 的单味秦艽水煎液。其余各配伍药对按饮片 1:1 的比例分别称取秦艽与威灵仙、秦艽与桑寄生、秦艽与防己各 150 g，按上述操作进行，制成秦艽-威灵仙（秦-威）、秦艽-桑寄生（秦-桑）、秦艽-防己（秦-防）配伍药对药液，4℃ 储存备用。雷公藤多苷溶液制备：将雷公藤多苷片充分碾碎，然后加入适量生理盐水，配成质量浓度为 0.4 mg/mL 的混悬液，备用。

2.2 动物分组

大鼠适应性饲养 3 d 后称体质量，随机数字表法分为对照组、模型组（CII）、病证模型组（CII+风湿热）、阳性药组（雷公藤多苷）、秦艽组、秦艽+威灵仙（秦-威）组、秦艽+桑寄生（秦-桑）组、秦艽+防己（秦-防）组，共 8 组，每组 10 只。

2.3 CII 乳剂的制备

精密吸取 0.3 mL 98.5% 的冰醋酸于 50 mL 量瓶中，加注射用水定容，摇匀，得到 0.1 mol/L 的醋酸溶液。将 5 mg CII 置于 25 mL 量瓶中，用 0.1 mol/L 醋酸溶液溶解，在冰水中定容，摇匀，置于 4℃ 冰箱中过夜。注射当天将 25 mL CII 溶液与 CFA 等体积混合，在冰浴中充分搅拌乳化，最终配成质量浓度为 0.1 mg/mL 的 CII 乳剂。

2.4 造模

实验第 1 天，除对照组外，其余各组大鼠取背部 2 点（背部脊柱两侧）、尾根部 1 点，剃毛，皮内注射 0.1 mL CII 乳剂，共 0.3 mL。实验第 12 天，于大鼠左后足跖皮内注射 0.1 mL CII 乳剂进行第 2 次免疫，对照组在相同部位注射等量生理盐水。从首次注射 CII 乳剂的第 2 天起，除对照组和 CII 组外，其余各组均使用改造后的人工气候箱进行风湿热痹病证模型造模。所用风湿热环境条件为温度 36~38℃，风速 5 m/s，相对湿度≥95%，实验中以 37℃ 蒸汽熏蒸，每 10 分钟换气 1 次。每天 1 次，每次 30 min，连续 18 d。

2.5 给药

造模结束后，各中药组按 25 g/kg（相当于成人

临床日常用量）ig 给予对应的药液，雷公藤多苷组按 6 mg/kg ig 给予雷公藤多苷溶液，对照组、CII 组及病证模型组 ig 给予等量生理盐水。每天 1 次，连续给药 21 d。

2.6 观察指标及测定方法

2.6.1 大鼠体质量测量 实验第 0 天起每 3 天测 1 次体质量，并记录。

2.6.2 大鼠足跖肿胀度测定 采用游标卡尺法测定大鼠左后足跖厚度，于实验第 0 天起每 3 天测 1 次，并计算足跖肿胀度。

肿胀度 = (致炎后足跖厚度 - 致炎前足跖厚度) / 致炎前足跖厚度

2.6.3 大鼠关节炎指数评分 给药第 20 天，各组大鼠进行关节炎指数评分，评分标准参考文献报道^[7]并改进。0 分：正常（无关节炎）；1 分：足趾关节出现轻度发红或肿胀；2 分：足趾或踝关节出现中度肿胀；3 分：踝关节严重肿胀或踝关节以下全部肿胀；4 分：整个足爪全部肿胀或关节严重变形，不能负重。每只大鼠 4 只足爪评分之和作为最终关节炎评分，每只大鼠关节炎得分最高不超过 16 分。

2.6.4 大鼠痛阈值测量 实验第 38 天将大鼠放入冷热痛觉测试仪（金属板温度 55℃，室温 19℃），以大鼠首次舔后足的时间为痛阈值，参考文献报道^[8]并结合实际，排除时间小于 3 s 或大于 15 s 者。每只大鼠测 2 次取平均值，2 次间隔 5 min 以上。

2.6.5 大鼠冷痛耐受值测量 实验第 38 天将大鼠左后足跖固定于 0℃ 的冰袋，以大鼠剧烈收腿或者剧烈挣扎的时间为冷痛耐受值，排除时间小于 5 s 者，大于 60 s 以 60 s 计。每只大鼠测 2 次取平均值，2 次时间间隔 5 min 以上。

2.6.6 大鼠压力耐痛值测量 实验第 38 天用数字爪压测量仪尖端轻轻按压大鼠左后足跖，缓慢增加力度，以大鼠剧烈收腿或者剧烈挣扎时的读数为大鼠压力耐痛值。每只大鼠测 2 次取平均值，2 次间隔 5 min 以上。

2.6.7 大鼠血清指标检测 末次给药后 1 h，大鼠股动脉取血 5 mL，静置 2 h，3 000 r/min 离心 20 min，分离血清，用 ELISA 试剂盒测定大鼠血清中 RF、CRP、TNF-α、IL-1β、PGE₂ 水平，具体操作严格按说明书步骤进行。

2.7 统计学处理方法

用 SPSS 21.0 软件对各组大鼠的体质量、足跖肿胀度、关节炎指数评分、痛阈值、冷痛耐受值、

压力耐痛值及血清 RF、CRP、TNF- α 、IL-1 β 、PGE₂ 水平进行 PCA 和聚类分析, 采用 Z 得分进行标准化, 主成分特征值设定为大于 1, 旋转采用最大方差法; 聚类分析采用系统聚类法。

3 结果

3.1 PCA 结果

首先对原始指标进行标准化处理, 然后进行

PCA。表 1 给出了 PCA 结果, 前 2 个主成分因子特征值均大于 1, 第 1 个主成分的方差贡献率为 79.3%, 前 2 个主成分的方差占有主成分方差的 89.6%; 碎石图 (图 1) 亦表明前 2 个主成分, 尤其是第 1 个主成分具有较强的解释能力, 前 2 个主成分已足够替代原来的变量, 所以选取前 2 个因子作为主成分。

表 1 解释的总方差

Table 1 Total variance explained

成分	初始特征值			旋转后的特征值		
	特征值	方差贡献/%	累积方差贡献/%	特征值	方差贡献/%	累积方差贡献/%
1	8.722	79.291	79.291	6.895	62.685	62.685
2	1.131	10.283	89.574	2.958	26.889	89.574
3	0.583	5.304	94.879			
4	0.260	2.363	97.242			
5	0.150	1.361	98.602			
6	0.089	0.810	99.412			
7	0.065	0.588	100.000			

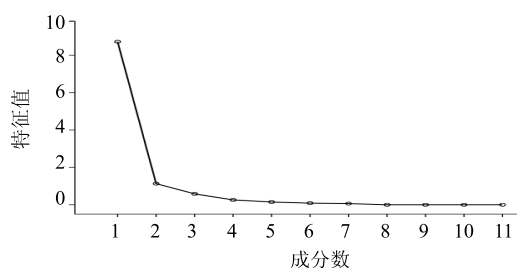


图 1 PCA 碎石图

Fig. 1 Scree plot

主成分的载荷矩阵旋转之后载荷系数更接近 1 或者 0, 这样得到的主成分能够更好地解释和命名变量^[9]。表 2 给出了旋转后各因子的载荷值, 第 1 个因子在 RF、CRP、TNF- α 、IL-1 β 、冷痛耐受值等方面具有较大的载荷值, 反映了除体质量之外的其他变量的信息, 第 2 个因子在体质量变量上有较大的载荷, 反映体质量这一变量的信息。

表 3 给出了成分得分矩阵, 矩阵中给出了因子得分的计算公式中各个变量的权重, 并由此公式得到表 4 中的因子得分数据 FAC1_1 和 FAC2_1。各主成分因子得分与其权重 (方差贡献) 乘积之和相加, 得出各组的总因子得分 (F) 值, 得分越高, 表明病情越严重; 得分越低, 说明病情越轻, 疗效越好。由表 4 可见, 病证模型组得分 F 值最高 (1.167), 病情最为严重, 其次是模型组 (F 值为 0.639 2); 对照组 F 值最小 (-1.034); 用药组中秦-防组 F 值最低 (-0.621 5), 疗效突出, 其次是秦-威组

表 2 旋转成分矩阵

Table 2 Rotation component matrix

标准化指标	主成分	
	1	2
Zscore (RF)	0.926	0.195
Zscore (CRP)	0.941	-0.056
Zscore (TNF- α)	0.851	0.407
Zscore (IL-1 β)	0.805	0.459
Zscore (PGE ₂)	0.737	0.636
Zscore (足跖肿胀度)	0.790	0.450
Zscore (关节炎指数评分)	0.759	0.423
Zscore (冷痛耐受值)	0.915	0.316
Zscore (痛阈)	-0.708	-0.642
Zscore (压力耐痛值)	-0.832	-0.052
Zscore (体质量)	-0.079	-0.984

表 3 成分得分系数矩阵

Table 3 Component score coefficient matrix

标准化指标	主成分	
	1	2
Zscore (RF)	0.214	-0.168
Zscore (CRP)	0.301	-0.349
Zscore (TNF- α)	0.121	0.004
Zscore (IL-1 β)	0.090	0.056
Zscore (PGE ₂)	0.012	0.202
Zscore (足跖肿胀度)	0.089	0.055
Zscore (关节炎指数评分)	0.088	0.046
Zscore (冷痛耐受值)	0.170	-0.080
Zscore (痛阈)	-0.001	-0.216
Zscore (压力耐痛值)	-0.078	-0.091
Zscore (体质量)	0.300	-0.662

表 4 各组因子得分及总因子得分

Table 4 Each factor score and total factor score

组别	FAC1_1	FAC2_1	F 值
对照	-1.032	-1.440	-1.034 0
CII	0.437	1.358	0.639 2
病证模型	1.835	0.060	1.167 0
雷公藤多苷	0.070	0.104	0.072 2
秦艽	-0.384	0.593	-0.081 6
秦-威	0.240	-1.081	-0.140 0
秦-桑	0.278	-0.653	-0.000 9
秦-防	-1.445	1.058	-0.621 5

(F 值为-0.140 0), 秦-桑组效果不明显 (F 值为-0.000 865 8)。

3.2 聚类分析结果

由图 2 可知, 各组按指标属性聚为 2 大类, 对照组、秦-防组、秦-威组、秦-桑组、秦艽组及雷公藤多苷组聚为第 1 类, CII 组和病证模型组聚为第 2 类; 聚为 3 类时, CII 组和病证模型组聚为一类, 对照组单独一类, 给药组聚为一类; 聚为 4 类时, CII 组和病证模型组聚为一类, 对照组单独一类, 秦-防组单独聚为一类, 其余给药组聚为一类。

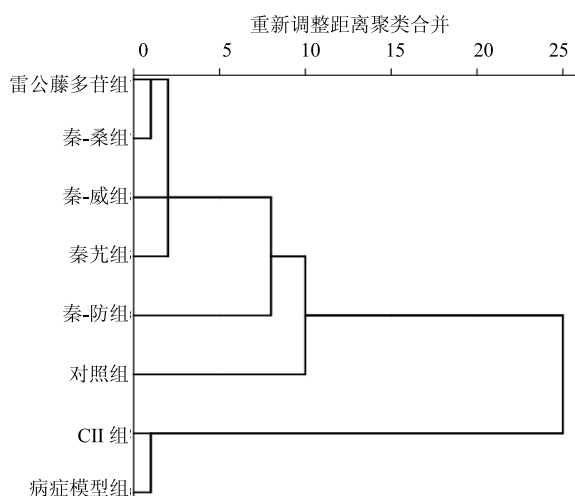


图 2 聚类分析树状图

Fig. 2 Dendrogram of cluster analysis

4 讨论

风湿热痹为临床常见病, 可因久居炎热潮湿之地, 感受风湿热邪或素体阳盛, 复感风寒湿邪, 从阳化热等引起^[10]。本实验模拟人类痹证成因, 在使用 CII 造模的基础上, 辅以风湿热环境因素刺激, 建立病证结合的风湿热痹 RA 大鼠模型, 并通过分析秦艽寒热不同配伍药对对风湿热痹 RA 大鼠 RF、CRP、足跖肿胀度等 11 项指标的影响, 探讨病证-

药性-疗效之间的关系。本实验中测量了体质量、足跖肿胀度、关节炎指数评分、痛阈值、冷痛耐受值、压力耐痛值及血清 RF、CRP、TNF- α 、IL-1 β 、PGE₂ 水平 11 项指标, 虽然指标的增多有助于全面认识实验, 但是数据繁杂增加了统计难度, 而且部分指标之间存在相关性, 如足跖肿胀度和关节炎指数评分均是反映 RA 外部症状的指标, 痛阈值、冷痛耐受值、压力耐痛值均是用于评价痛觉的指标, 血清学所检测的 RF、CRP、TNF- α 、IL-1 β 、PGE₂ 之间也存在着密切的关系^[11-12], 这些关系紧密的指标反映本课题的信息时有一定的重叠, 影响实验的客观性。PCA 能够从原有的所有变量中将重复的变量(关系紧密的变量)删去多余, 建立尽可能少的新变量, 使得这些新变量是两两不相关的, 而且这些新变量在反映课题的信息方面尽可能保持原有的信息^[13-14]。聚类分析则能够根据变量数据的诸多特征, 按照其性质上的亲疏程度在没有先验知识的情况下进行自行分类, 产生多个分类结果^[15]。同一类的个体在特征上具有相似性, 不同类间个体特征的差异性较大。本研究根据所测指标的数据, 将 8 个实验组按照亲疏程度进行分类, 以树状图形式直观展示各组的“接近程度”。最后将二者结果相结合, 共同评价风湿热痹 RA 模型及秦艽不同配伍对风湿热痹 RA 的疗效。

PCA 结果表明, 从 RF、CRP、TNF- α 等 11 个指标中筛选出 2 个主成分, 第 1 主成分反映除体质量之外其他变量的信息, 第 2 主成分主要反映体质量这一变量的信息。通过计算总因子得分 F 值, 从主成分角度对各组病情(疗效)进行评价, 发现病证结合模型的病情比单纯的 RA 模型严重, 配伍组中秦-防组疗效较好, 秦-威组次之, 秦-桑组疗效一般, 配伍组疗效优于单味秦艽组。聚类分析结果显示, CII 组与病证模型组聚为一类, 说明二者在疾病程度方面较为相似; 给药组中秦-防组单独一类, 其余给药组聚为一类, 且从距离上看, 秦-防组较为接近对照组, 表明秦-防组疗效较好, 且优于其他给药组。综合以上分析来看, CII 组和病证模型组与其他各组有明显差异, 且病证模型组病情比 CII 组严重, 提示造模成功; 给药组中秦-防组疗效较好, 优于秦-威组、秦-桑组及单味秦艽组, 说明在风湿热痹中, 平寒相配疗效优于平温相配、平平相配, 实验结果基本符合中医“疗热以寒药”的治疗原则, 一定程度上说明病证-药性-疗效之间存在相关性。本研究结

果与前期以方差分析处理的结果一致^[16-17], PCA 和聚类分析法操作简单、结果可靠,可以用于评价动物模型及药物疗效。

参考文献

- [1] 高慧琴, 吴国泰, 孙少伯, 等. 秦艽不同配伍对风湿痹证模型大鼠血清炎症因子水平的影响 [J]. 中医杂志, 2013, 54(9): 785-788.
- [2] 高慧琴, 吴国泰. 秦艽不同配伍的抗炎镇痛作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9): 182-183.
- [3] 张志红, 高慧琴, 吴国泰. 秦艽不同配伍对小鼠耳肿胀及毛细血管通透性的影响 [J]. 甘肃中医学院学报, 2011, 28(5): 4-6.
- [4] 郭 齐, 李献平, 王 蕊, 等. 中医治疗类风湿性关节炎的药物探讨 [J]. 世界中医药, 2010, 5(2): 136-137.
- [5] 吕毅斌, 李 立, 王志飞, 等. 中药治疗类风湿性关节炎、痛风及骨性关节炎用药规律研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2010, 12(5): 833-836.
- [6] 薛 薇. SPSS 统计分析方法及应用 [M]. 第 3 版. 北京: 电子工业出版社, 2013.
- [7] 张钧田. 现代药理实验方法 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998.
- [8] 徐叔云. 药理实验方法学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [9] 公丽艳, 孟宪军, 刘乃侨, 等. 基于主成分与聚类分析的苹果加工品质评价 [J]. 农业工程学报, 2014, 30(13): 276-285.
- [10] 周仲瑛. 中医内科学 [M]. 第 2 版. 北京: 中国中医药出版社, 2007.
- [11] 高 薇, 鲁 静, 赵丽娟. 炎性细胞因子与类风湿关节炎 [J]. 中国现代医学杂志, 2007, 17(4): 450-453.
- [12] 张 磊, 魏 伟. 前列腺素 E₂ 与肿瘤坏死因子- α 在类风湿性关节炎中的关系及药物的调控作用 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2011, 16(8): 951-955.
- [13] 黄文中. SPSS 统计分析与应用 [M]. 第 3 版. 北京: 电子工业出版社, 2016.
- [14] 孔 浩, 郭庆梅, 王慧慧, 等. 主成分分析法在中药质量评价中的应用 [J]. 辽宁中医杂志, 2014(5): 890-892.
- [15] 李永健, 方肇勤. 聚类分析在中医药研究中的应用与思考 [J]. 中国中医药信息杂志, 2001, 17(6): 8-9.
- [16] 马腾茂, 刘 飞, 王 蓉, 等. 秦艽不同配伍对风湿热痹模型大鼠足跖及血清类风湿因子 C-反应蛋白的影响 [J]. 解放军药学报, 2017(1): 17-20.
- [17] 马腾茂, 刘 飞, 王 蓉, 等. 秦艽寒热不同配伍药对对风湿热痹类风湿关节炎大鼠 MMP-3、TIMP-1 表达及踝关节病理学改变的影响 [J]. 中草药, 2017, 48(9): 1812-1819.