

# 基于血清蛋白组学探讨黄芩清热除痹胶囊改善急性痛风性关节炎急性炎症的作用研究

孙广瀚<sup>1</sup>, 刘健<sup>1\*</sup>, 万磊<sup>1</sup>, 刘维<sup>2</sup>, 龙琰<sup>1</sup>, 鲍丙溪<sup>1</sup>, 张颖<sup>1</sup>

1. 安徽中医药大学第一附属医院 风湿免疫科, 安徽 合肥 230031

2. 天津中医药大学第一附属医院 风湿免疫科, 天津 300000

**摘要:** 目的 基于血清蛋白组学初步探讨黄芩清热除痹胶囊 (Huangqin Qingre Chubi Capsule, HQC) 改善急性痛风性关节炎 (acute gouty arthritis, AGA) 急性炎症的作用研究。方法 运用 Raybiotech 细胞因子抗体芯片筛选治疗前 10 名 AGA 患者和 10 名健康志愿者的血清标本 AGA 特异性蛋白质。选取 3 例 AGA 患者及健康志愿者, 采用 Western blotting 法检测 HQC 干预前后特异性蛋白质的表达量; 选取 60 例 AGA 患者及健康志愿者, 运用 ELISA 法检测 HQC 干预后炎症因子白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )、超敏 C-反应蛋白 (hypersensitive C-reactive protein, hs-CRP) 水平。结果 基于蛋白质组学确定了 4 种 AGA 特异性蛋白质, 包括人肿瘤坏死因子受体超家族成员 II (tumor necrosis factor receptor II, TNF-RII)、人巨噬细胞炎性蛋白 1 $\beta$  (macrophage inflammatory protein 1 $\beta$ , MIP-1 $\beta$ )、人白细胞介素-8 (IL-8)、人粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)。Western blotting 检测结果显示对照组与 AGA 患者治疗前比较, TNF-RII、MIP-1 $\beta$ 、IL-8、GM-CSF 蛋白水平差异显著, AGA 患者治疗前 TNF-RII、MIP-1 $\beta$ 、IL-8 蛋白呈现高表达, GM-CSF 蛋白呈现低表达。与治疗前比较, 经 HQC 治疗后 AGA 患者血清 TNF-RII、MIP-1 $\beta$ 、IL-8 水平显著降低, GM-CSF 水平显著升高。ELISA 检测结果显示, HQC 治疗前后 AGA 患者血清 TNF-RII、MIP-1 $\beta$ 、IL-8、GM-CSF 水平差异明显, 与治疗前比较, 治疗后 AGA 患者血清 TNF-RII、MIP-1 $\beta$ 、IL-8 水平显著降低 ( $P < 0.01$ ), GM-CSF 水平显著升高 ( $P < 0.01$ )。结论 HQC 可能是通过调控 GM-CSF、IL-8、MIP-1 $\beta$  和 TNF-RII 等特异性蛋白质的表达, 从而改善 AGA 患者炎症状态, 提高机体抗炎能力。

**关键词:** 血清蛋白组学; 急性痛风性关节炎; 黄芩清热除痹胶囊; 肿瘤坏死因子受体超家族成员 II; 巨噬细胞炎性蛋白 1 $\beta$ ; 白细胞介素-8; 粒细胞巨噬细胞集落刺激因子

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2021)10-3061-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.10.023

## A preliminary study on effect of Huangqin Qingre Chubi Capsule in improving acute inflammation of acute gouty arthritis based on serum proteomics

SUN Guang-han<sup>1</sup>, LIU Jian<sup>1</sup>, WAN Lei<sup>1</sup>, LIU Wei<sup>2</sup>, LONG Yan<sup>1</sup>, BAO Bing-xi<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>1</sup>

1. Department of Rheumatology and Immunology, The First Affiliated Hospital of Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031, China

2. Department of Rheumatology and Immunology, The First Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300000, China

**Abstract: Objective** To study the effect of Huangqin Qingre Chubi Capsule (黄芩清热除痹胶囊, HQC) in improving acute inflammation of acute gouty arthritis based on serum proteomics. **Methods** The Raybiotech cytokine antibody chip was used to

收稿日期: 2021-01-14

**基金项目:** 安徽省重点科研开发计划外科学技术合作项目 (201904b11020011); 国家重点研究开发计划中药现代化研究重点项目 (2018YFC1705204); 国家自然科学基金项目 (81973655); 安徽省质量工程教学研究项目 (2018jyxm1068); 安徽省著名中医药刘健工作室建设项目 (中医药发展秘[2018] 11 号); 国家中医药创新重点人才培养计划 (国教函[2019] 128); 重点研究安徽省发展与计划项目 (201904a07020004); 现代中医药内科学应用基础与发展实验室 (2016080503B041); 安徽省第十二批“115”创新团队 (安徽省人才厅[2019] 1 号)

**作者简介:** 孙广瀚 (1995—), 男, 硕士研究生在读, 研究方向为中医药防治风湿病。E-mail: 751728613@qq.com

**\*通信作者:** 刘健 (1964—), 教授, 主任医师, 博士生导师, 研究方向为中医药防治风湿病。E-mail: liujianahzy@126.com

screen the AGA-specific proteins in the serum samples of the top 10 AGA patients and 10 normal healthy people. In the study of selecting three clinical patients and normal people, Western blot was used to detect specific proteins. In the study of selecting 60 clinical patients and normal people, the ELISA method was used to analyze the inflammatory parameters after HQC intervention, including interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), and high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) for detection. **Results** Four AGA-specific proteins were identified based on proteomics, including human tumor necrosis factor receptor superfamily member II (TNF-R II), human macrophage inflammatory protein 1 $\beta$  (MIP-1 $\beta$ ), human interleukin-8 (IL-8), and human granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF). Western blotting results showed that compared with the control group and the AGA patients before treatment, the protein levels of TNF-RII, MIP-1 $\beta$ , IL-8 and GM-CSF were significantly different; The protein levels of TNF-RII, MIP-1 $\beta$ , IL-8 A were high and GM-CSF protein level was low in AGA patients before treatment. Compared with those before treatment, serum TNF-RII, MIP-1 $\beta$ , IL-8 levels in AGA patients were significantly decreased after treatment, and GM-CSF levels were increased significantly. ELISA test showed that serum TNF-RII, MIP-1 $\beta$ , IL-8 and GM-CSF levels of AGA patients before and after HQC treatment were significantly different. Compared with before treatment, the levels of serum TNF-RII, MIP-1 $\beta$  and IL-8 of AGA patients after treatment were significantly reduced ( $P < 0.01$ ), and the level of GM-CSF was significantly increased ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** The mechanism of HQC improving the inflammatory state of AGA patients may be related to the improvement of specific proteins such as GM-CSF, IL-8, MIP-1 $\beta$  and TNF-RII, thereby improving the inflammatory state of AGA patients and enhancing the anti-inflammatory ability of body.

**Key words:** serum proteomics; acute gouty arthritis; Huangqin Qingre Chubi Capsule; tumor necrosis factor receptor II; macrophage inflammatory protein 1 $\beta$ ; interleukin-8; granulocyte macrophage colony stimulating factor

急性痛风性关节炎 (acute gouty arthritis, AGA) 是一种关节疾病, 其特征是尿酸单钠 (monosodium urate, MSU) 晶体在关节及其周围组织中积聚, 属于代谢性的风湿病<sup>[1]</sup>。有研究表明 MSU 晶体主要通过激活 Toll 样受体和含 NACHT-LRR-PYD 结构域蛋白 3 炎性小体信号传导导致 AGA 的发作<sup>[2]</sup>。通过筛选和鉴定疾病中差异表达的蛋白质, 可以用于疾病发生发展的预测和诊断<sup>[3]</sup>。其中 Raybiotech 的抗体阵列有固定的抗体, 可以鉴定培养基或体液中的分子生物, 并用于蛋白质表达谱分析, 这些蛋白质可以成为疾病的生物标志物, 如朱佳宁等<sup>[4]</sup>利用 AAH-BLG-507 芯片试剂盒检测息肉状脉络膜血管病变血清特异性蛋白。

黄芩清热除痹胶囊 (Huangqin Qingre Chubi Capsules, HQC) 具有清热利湿、通络止痛之功, 是健脾化湿清热法具体体现的代表方剂, 前期研究表明 HQC 内服配合芙蓉膏外敷治疗 AGA 疗效显著<sup>[5-6]</sup>, 而且能够通过腺苷酸活化蛋白激酶 (adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK) - 叉头框蛋白 O3a (forkhead box O3a, FOXO3a) - 锰超氧化物歧化酶 (manganese superoxide dismutase, superoxide dismutase 2, MnSOD) 信号通路改善氧化应激状态<sup>[7]</sup>。本研究基于血清蛋白质组学来识别可能引发 AGA 的特异性蛋白质, 然后观察 HQC 改善 AGA 患者炎症反应的

情况, 探究其可能的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 药品与试剂

HQC 来自安徽中医药大学第一附属医院制剂中心, 批号 Z20120503; 兔抗白细胞介素-8 (interleukin-8, IL-8) 抗体 (批号 AA01151) 由 Bioworld 公司提供; 兔抗肿瘤坏死因子受体超家族成员 II (tumor necrosis factor receptor II, TNF-RII) 抗体 (批号 00055382) 由 Proteintech 公司提供; 兔抗巨噬细胞炎性蛋白 1 $\beta$  (macrophage inflammatory protein 1 $\beta$ , MIP-1 $\beta$ ) 抗体 (批号 GR2351556) 由 Abcam 公司提供; 兔抗粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte macrophage colony stimulating factor, GM-CSF) 抗体 (批号 25) 由 CST 公司提供; GM-CSF 检测试剂盒 (批号 GR2020-05)、IL-8 检测试剂盒 (批号 GR2020-05)、MIP-1 $\beta$  检测试剂盒 (批号 GR2020-05)、TNF-RII 检测试剂盒 (批号 GR2020-05)、超敏 C-反应蛋白 (hypersensitive C-reactive protein, hs-CRP) 检测试剂盒 (批号 GR2020-05)、白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 检测试剂盒 (批号 GR2020-05)、IL-6 检测试剂盒 (批号 GR2020-05)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 检测试剂盒 (批号 GR2020-05)、转化生长因子- $\beta$  (transforming

growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 检测试剂盒(批号 GR2020-05), 以上检测试剂盒都来自于武汉基因美科技有限公司。

## 1.2 受试者来源

**1.2.1 差异蛋白筛选受试者** 选取 2019 年 6 月至 2019 年 12 月在安徽中医药大学第一附属医院风湿免疫科进行治疗的 AGA 患者为研究对象。应用 PEMS3.1 统计软件包生成随机数字表, 随机抽取 10 名 AGA 患者 (AGA 组), 其中男 9 例、女 1 例, 年龄 17~78 岁; 通过体检招募了 10 名健康志愿者作为对照组, 其中男 9 例、女 1 例, 年龄 18~72 岁, 作为差异蛋白筛选受试对象。

**1.2.2 ELISA 及 Western blotting 检测受试者** 应用 PEMS3.1 统计软件包生成随机数字表, 随机抽取从 2019 年 12 月至 2020 年 6 月在安徽中医药大学第一附属医院风湿免疫科进行治疗的 AGA 患者 60 名 (治疗组), 其中男 45 例, 女 15 例, 年龄 17~78 岁, 并通过体检招募了 60 名健康志愿者作为对照组, 其中男 45 例, 女 15 例, 年龄 18~72 岁, 作为 ELISA 检测的试验对象; 其中随机抽取 2 例男性患者, 1 名女性患者, 年龄 (57.67 $\pm$ 10.21) 岁及 3 例健康志愿者, 其中 2 例男性, 1 名女性, 年龄 (50.67 $\pm$ 12.37) 岁, 作为 Western blotting 检测的试验对象。

本研究通过天津中医药大学第一附属医院医学伦理委员会批准 (伦理批件号 TYLL2018[K]字 023), 所有参与者均提供书面知情同意书。

**1.2.3 诊断标准及纳入标准** 诊断标准: 根据 2015 年美国风湿病学会/欧洲抗风湿联盟 (ACR/EULAR) 痛风诊断标准<sup>[8]</sup>进行诊断。纳入标准: (1) 符合 AGA 诊断标准; (2) 患者同意本治疗方案, 能配合随访治疗, 并取得患者签署的知情同意书。

## 1.3 治疗方法

符合纳入标准的 60 名 AGA 患者 (AGA 组) 口服 HQC, 3 次/d, 3 粒/次, 连续治疗 3 周为 1 疗程, 以 3 疗程为限。

## 1.4 血清样本采集

取 AGA 患者和健康志愿者全血 5 mL, 室温血液自然凝固 10~20 min, 2000~3000 r/min 离心 20 min, 收集上清并于 -80 °C 保存备用。

## 1.5 特异性蛋白质的筛选

将来自 10 位 AGA 患者和 10 位健康志愿者的 20 份血清样品进行 Raybiotech 抗体阵列检测<sup>[9]</sup>。应用 QAH-ICM<sup>1</sup> 试剂盒并进行数据分析, 将数据可视

化展示, 使用 R 包 “ggfortify” 对特异性蛋白质进行散点图及火山图处理, 使用 R 包 “gplots” 对特异性蛋白质进行分层聚类分析, 将特异性蛋白质及组别进行分类, 使用 R 包 “ggbiplot” 进行主成分分析 (principal component analysis, PCA), 选取前 2 个主成分, 直观地对样本进行分类处理。

## 1.6 Western blotting 检测特异性蛋白质表达

首先从 HQC 治疗前后 AGA 患者和健康志愿者外周血中提取单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMCs), 进行细胞收集及蛋白的提取, 室温孵育 2 h 后加入 PBST, 每次洗涤 10 min, 共洗涤 3 次。离心细胞后加 RIPA 细胞裂解液, 收集总蛋白, 进行蛋白定量、加样、电泳、转膜, 漂洗去转膜液后加入 5% 脱脂奶粉, 封闭 2 h; 加入 TNF-RII、MIP-1 $\beta$ 、IL-8、GM-CSF 一抗, 缓慢摇动孵育过夜; 洗涤 10 min, 3 次; 参考二抗说明书, 按照 1:20 000 用稀释辣根过氧化物酶标记的二抗。室温孵育 1.5 h。再次洗涤后用 ECL 检测蛋白, 用 Image J 软件测定膜上各条带的积分吸光度值。

## 1.7 ELISA 检测特异性蛋白和炎症因子水平

参考 ELISA 试剂盒说明书检测 HQC 治疗前后患者血清特异性蛋白水平; 按照 ELISA 试剂盒说明书进行操作, 检测对照组健康志愿者和治疗组患者治疗前后血清中炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 、hs-CRP 的水平。

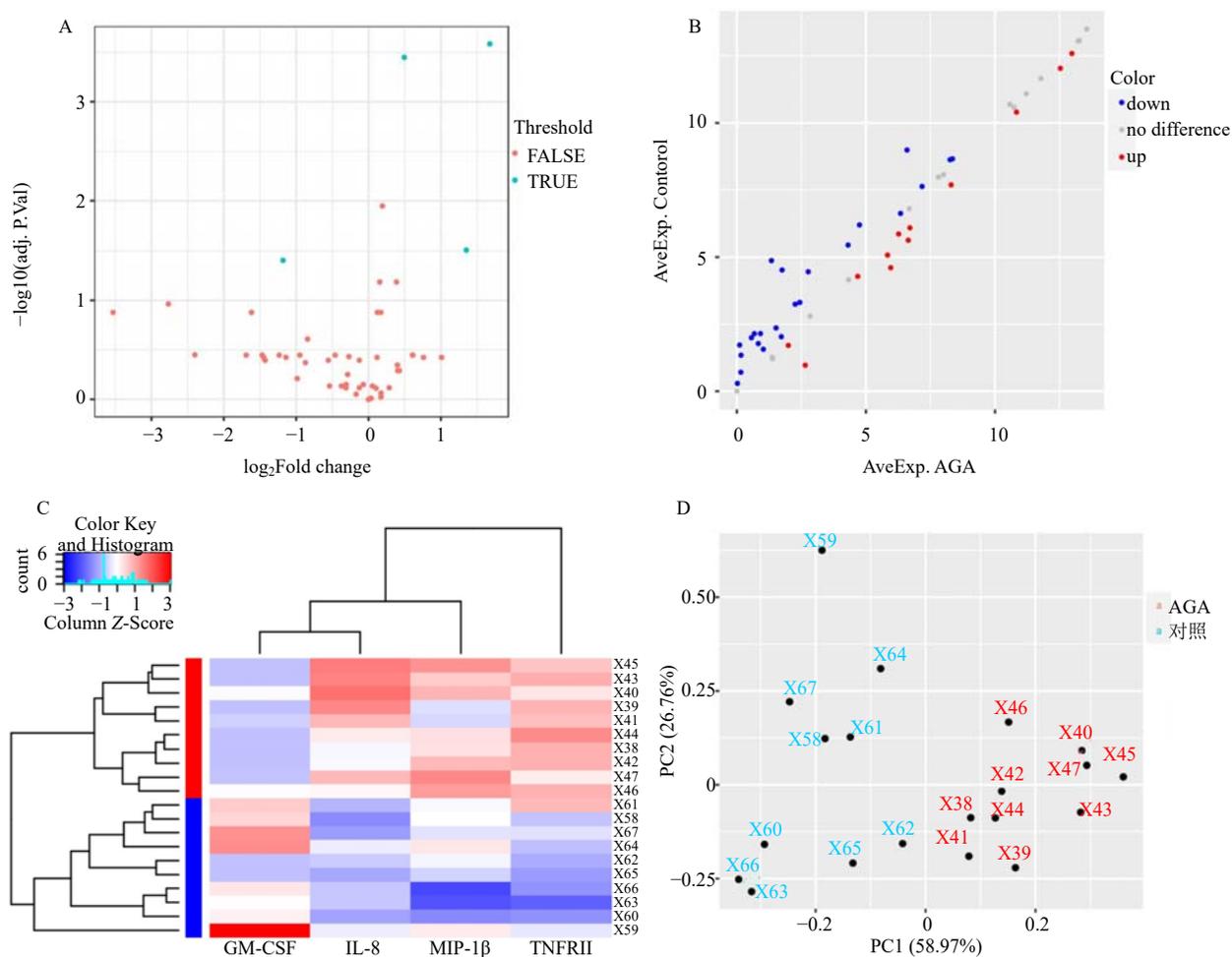
## 1.8 统计学分析

采用 SPSS21.0 软件进行统计。计量资料数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较及治疗前后比较, 符合正态分布采用 *t* 检验, 不符合正态分布采用非参数检验, 3 组间比较采用方差分析,  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 AGA 特异性蛋白质的筛选

利用 Raybiotech 细胞因子抗体芯片测定 10 位 AGA 患者和 10 位健康志愿者血清中 50 种蛋白质水平, 其中 22 个蛋白质表达上调, 28 个蛋白质表达下调, 根据 log<sub>2</sub>FC (fold change) 的绝对值 > 0.263 筛选出 4 种最显著差异表达蛋白 TNF-RII、MIP-1 $\beta$ 、IL-8、GM-CSF, 进行火山图及散点图可视化, 其中在 AGA 患者体内 IL-8、MIP-1 $\beta$  和 TNF-RII 表达上调, GM-CSF 表达下调 (图 1-A、B)。分层聚类分析, 样本分为 3 个主要类别, 其中 GM-CSF 和 IL-8 聚为一类, MIP-1 $\beta$  和 TNF-RII 各自聚为一类 (图 1-C)。



A-火山图 B-散点图 C-聚类热图 D-主成分分析, 其中 Xn 为实验随机编码

A-volcano map B-scatter plot C-clustering heat map D-principal component analysis, where Xn is an experimental random code

图 1 通过芯片检测 AGA 组和对照组中的蛋白质表达谱

Fig. 1 Detection of protein expression profiles in AGA group and control group by chip

PCA 确定了在 2 组中差异表达的 2 个主成分蛋白质。每个样品的前 2 个主要成分 (PC1 和 PC2) 分别显示出 58.97% 和 26.76% 的总变异性, 这表明远离大多数样本点的离群点, 即对照组与 AGA 组无相关性 (图 1-D)。

### 2.2 HQC 治疗前后特异性蛋白质表达变化

选择 AGA 患者和健康志愿者最显著差异表达的 4 种蛋白 TNF-R2、MIP-1β、IL-8、GM-CSF 进行 Western blotting 检测, 结果显示对照组与 AGA 患者治疗前比较, TNF-R2、MIP-1β、IL-8、GM-CSF 蛋白水平差异显著, AGA 患者治疗前 TNF-R2、MIP-1β、IL-8 蛋白呈现高表达, GM-CSF 蛋白呈现低表达。与治疗前比较, AGA 患者经 HQC 治疗后血清 TNF-R2、MIP-1β、IL-8 水平显著降低, GM-CSF 水平显著升高。

ELISA 检测显示, HQC 治疗前后 AGA 患者血清 TNF-R2、MIP-1β、IL-8、GM-CSF 水平差异明显, 与治疗前比较, 经 HQC 治疗后 AGA 患者血清 TNF-R2、MIP-1β、IL-8 水平显著降低 ( $P < 0.01$ ), GM-CSF 水平显著升高 ( $P < 0.01$ ) (图 2、3)。

### 2.3 HQC 治疗前后炎症指标变化

ELISA 结果显示, 与对照组相比, HQC 治疗前后 AGA 患者血清 IL-1β、IL-6、TNF-α、TGF-β、hs-CRP 差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); HQC 治疗后炎症指标水平均显著低于治疗前 ( $P < 0.01$ )。结果见图 4。

## 3 讨论

AGA 既包括嘌呤代谢紊乱和关节炎症, 又包括遗传和蛋白质组学因素<sup>[10]</sup>。蛋白质组学在 AGA

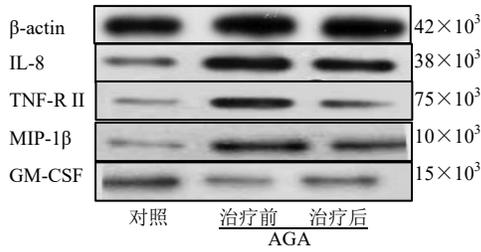


图2 Western blotting 检测特异性蛋白质表达

Fig. 2 Western blotting detection of specific protein expression

中的运用有利于确定疾病发展的机制,并且可以筛选出诊断的生物标志物,提供了新的治疗靶标。细胞因子抗体芯片是蛋白质芯片的一种,通过捕获待测样品中的抗原,从而获得特异性的蛋白质<sup>[11]</sup>。在 AGA 治疗前,利用 Raybiotech 抗体阵列筛选出 TNF-RII、MIP-1β、IL-8、GM-CSF 4 种表达差异显著的蛋白质,大量研究显示这 4 种蛋白都可以刺激中性粒细胞从而导致 AGA 的发生。

黄芩清热除痹胶囊由黄芩、薏苡仁、桃仁、栀

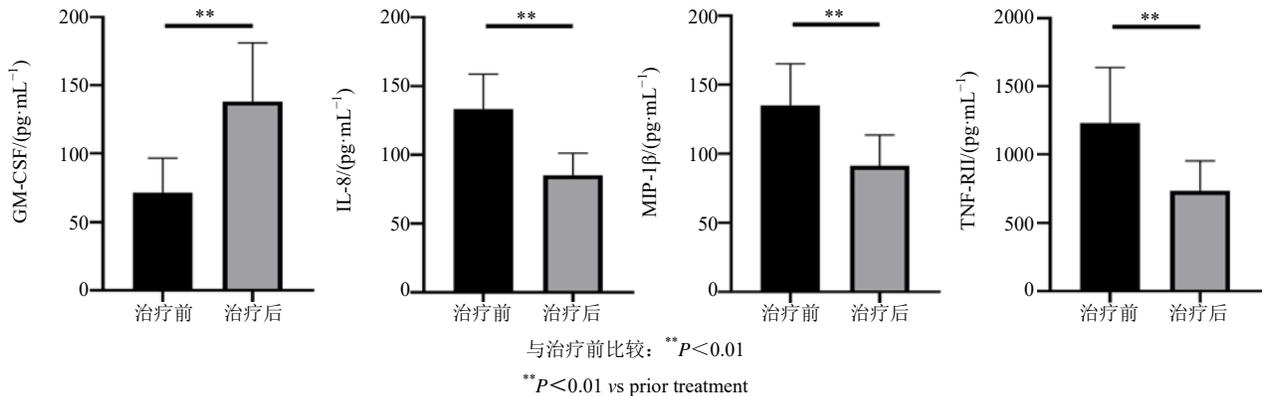


图3 HQC 治疗前后特异性蛋白质水平变化

Fig. 3 Changes in specific protein before and after treatment

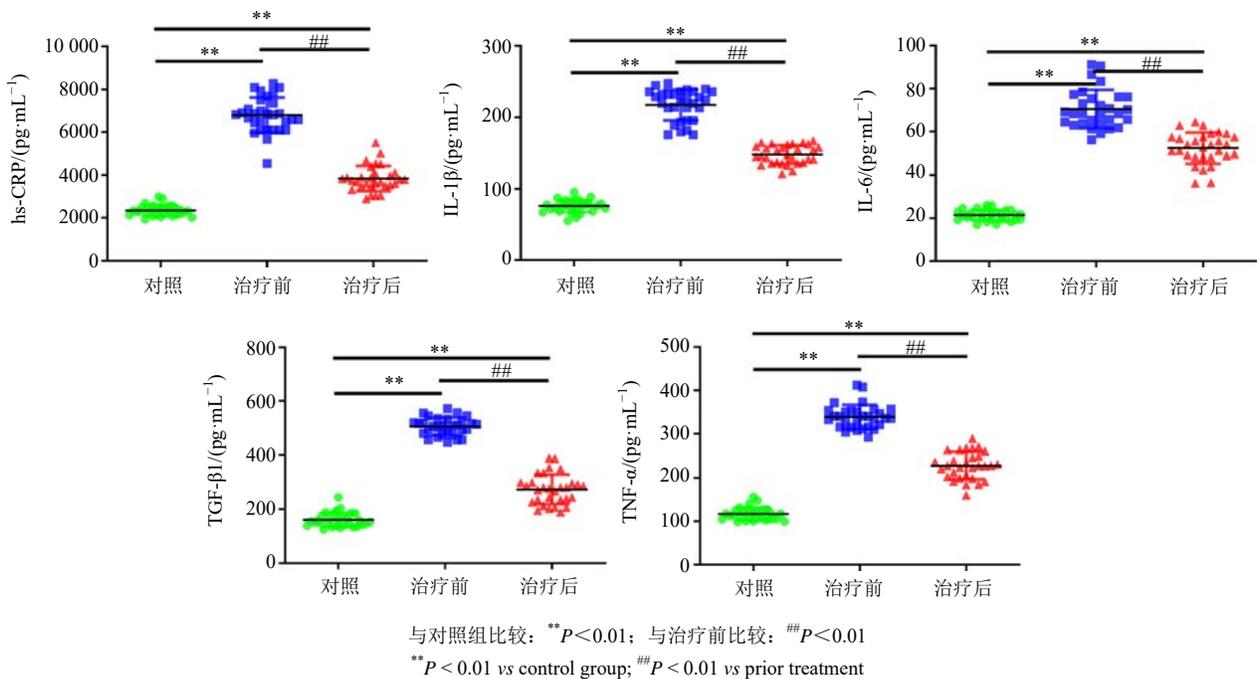


图4 HQC 治疗前后炎症指标变化

Fig. 4 Changes in inflammation indicators before and after treatment

子、威灵仙 5 味中药组成,其中黄芩、栀子为君药,威灵仙为臣药,薏苡仁、桃仁为使药,具有健脾化湿、清热除痹之功<sup>[12]</sup>。现代药理表明黄芩具有抗病

毒、抗炎、抗氧化以及免疫调节等作用<sup>[13]</sup>。栀子能抑制体外的黄嘌呤氧化酶活性和降低体内的尿酸血症<sup>[14]</sup>,还能抗氧化,调节细胞凋亡和抗炎<sup>[15]</sup>。威

灵仙已被广泛用于治疗关节痛,有学者提出威灵仙能够缓解痛风的急性发作,降低血尿酸<sup>[16]</sup>。薏苡仁是药食同源品,具有预防骨质疏松症、缓解消化道症状、增加尿量和改善炎症状态的作用<sup>[17-18]</sup>,故有学者提出治疗痛风以薏苡仁为主<sup>[19]</sup>。桃仁对不同血瘀证皆可以使用<sup>[20]</sup>,能够降低血黏度、抑制微血栓形成<sup>[21]</sup>。本团队通过前期大量试验发现,高水平的尿酸可以诱导外周血 PBMCs 中的炎症途径激活,这可能导致有浸润能力的白细胞大量存在<sup>[22]</sup>,故本试验考察在 PBMCs 中特异性表达的蛋白质。通过 HQC 的治疗,特异性表达的蛋白质 GM-CSF、IL-8、MIP-1 $\beta$  和 TNF-RII 水平与治疗前比较,差异具有统计学意义。GM-CSF 主要参与炎症,激活促炎髓系细胞。IL-8 是一种与趋化性相关的炎性细胞因子,可通过激活相关的信号转导途径促进炎症的发生,从而对 AGA 的发生和发展产生较大的影响<sup>[23]</sup>。而 MIP-1 $\beta$  和 TNF-RII 现阶段在 AGA 的发病机制研究较少, MIP-1 $\beta$  是根据 MIP-1 分子结构的差异分离出来的新兴细胞因子,大量研究表明 IL-1 $\beta$  可以介导 MIP-1 $\beta$  产生,最终导致炎症细胞在关节周围的聚集和炎症持续<sup>[24]</sup>。TNF-RII 是 2 型肿瘤坏死因子受体,通过结合 TNF 从而激活 TNF 受体,进而激活 TNF 的生物学活性,众所周知 TNF- $\alpha$  是一种典型的促炎细胞因子,在痛风急性发作中具有关键作用。推测 HQC 可能通过调控这 4 个特异性蛋白质的表达从而缓解 AGA 的炎症状态。在 AGA 发展过程中公认的炎症因子包括 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 、hs-CRP,这些炎症因子可以伴随 AGA 的发展,结果发现 HQC 治疗后这些炎症因子水平明显低于治疗前。说明 HQC 的治疗不仅可以明显地改善 TNF-RII、MIP-1 $\beta$ 、IL-8、GM-CSF 4 种特异性蛋白质的表达,而且能改善在 AGA 发展过程中公认的炎症因子水平,达到改善 AGA 炎症状态的目的。本团队前期研究发现 HQC 降低佐剂性关节炎大鼠血清中 IL-8、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平,升高 IL-10 水平,从而发挥其抗炎消肿的作用<sup>[25-26]</sup>。而且对强直性脊柱炎、类风湿关节炎属中医湿热证候患者均有效,且具有激活过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxi-some proliferator-activated receptor  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ )介导 AMPK/FOXO3a 信号通路,改善患者氧化应激状态的作用<sup>[7,14]</sup>。

本研究尚存在样本量小,代表性不足等缺陷。但本研究首次运用 Raybiotech 细胞因子抗体芯片筛

选蛋白质组学的差异表达,观察到 HQC 可以改善 AGA 患者炎症状态,其机制可能是通过改善 GM-CSF、IL-8、MIP-1 $\beta$  和 TNF-RII 等特异性蛋白质的表达,从而改善 AGA 患者炎症状态,提高机体抗炎能力。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Zhang Y J, Zhang N, Song H, *et al.* Design, characterization and comparison of transdermal delivery of colchicine via borneol-chemically-modified and borneol-physically-modified ethosome [J]. *Drug Deliv*, 2019, 26(1): 70-77.
- [2] Tao J H, Zhang Y, Li X P. P2X7R: A potential key regulator of acute gouty arthritis [J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2013, 43(3): 376-380.
- [3] Liu Y, Yin H J, Chen K J. Platelet proteomics and its advanced application for research of blood stasis syndrome and activated blood circulation herbs of Chinese medicine [J]. *Sci China Life Sci*, 2013, 56(11): 1000-1006.
- [4] 朱佳宁,李青春,张亚芳,等. 息肉状脉络膜血管病变血清特异性蛋白的初步筛选 [J]. 武汉大学学报:医学版, 2018, 39(6): 945-947.
- [5] 纵瑞凯,刘健,黄传兵,等. 黄芩清热除痹胶囊配合外敷治疗急性痛风性关节炎的临床观察 [J]. 陕西中医, 2016, 37(9): 1187-1189.
- [6] 汪元,刘健,黄传兵,等. 中药内服外敷治疗湿热瘀阻型痛风性关节炎急性发作 30 例临床观察 [J]. 中医杂志, 2014, 55(15): 1299-1302.
- [7] 郭锦晨,刘健,王键,等. 基于 AMPK-FoxO3a-MnSOD 信号通路探讨类风湿关节炎患者氧化应激的机制及黄芩清热除痹胶囊对其影响 [J]. 免疫学杂志, 2019, 35(8): 681-690.
- [8] Neogi T, Jansen T L, Dalbeth N, *et al.* 2015 Gout classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism Collaborative Initiative [J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74(10): 1789-1798.
- [9] 孙广瀚,刘健,万磊,等. 急性痛风性关节炎致炎蛋白的蛋白质组学研究 [J]. 浙江大学学报:医学版, 2020, 49(6): 743-749.
- [10] Nabieva D A, Aripov A N. The detection of proteomic markers and immunologic profile and their relationship with metabolic parameters in patients with gout. [J]. *Klin Lab Diagn*, 2017, 62(8): 485-489.
- [11] 赵可心,吕雪飞,李晓琼,等. 基于微阵列的高通量蛋

- 白质检测技术研究进展 [J]. 生命科学仪器, 2020, 18(4): 27-40.
- [12] 郭锦晨, 刘健, 张晓军, 等. 黄芩清热除痹胶囊含药血清对类风湿关节炎患者氧化应激及 AMPK, FoxO3a 蛋白表达的影响 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(13): 3228-3232.
- [13] 单慧, 杜胤骁, 白鹤群, 等. 黄芩素的研发进展及其临床药理学 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2020, 25(6): 701-708.
- [14] Liu L M, Cheng S F, Shieh P C, *et al.* The methanol extract of *Euonymus laxiflorus*, *Rubia lanceolata* and *Gardenia jasminoides* inhibits xanthine oxidase and reduce serum uric acid level in rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 70: 179-184.
- [15] Lv S, Ding Y, Zhao H, *et al.* Therapeutic potential and effective components of the Chinese herb *Gardeniae Fructus* in the treatment of senile disease [J]. *Aging Dis*, 2018, 9(6): 1153-1164.
- [16] 傅平. 威灵仙药用心得 [J]. 中医杂志, 2009, 50(S1): 71-72.
- [17] Yang R S, Lu Y H, Chiang W C, *et al.* Osteoporosis prevention by Adlay (薏苡 YiYi: The seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* stapf) in a mouse model [J]. *J Tradit Complementary Med*, 2013, 3(2): 134-138.
- [18] Wu Y, Li Y, Tong X, *et al.* The effect of coix seed on the nutritional status of peritoneal dialysis patients: A pilot study [J]. *Complement Ther Med*, 2014, 22(1): 40-48.
- [19] 刘宇富. 薏苡仁为主治疗痛风 [J]. 中医杂志, 2010, 51(12): 1109.
- [20] 陈瑾, 冯旭, 宋舸, 等. 平性药桃仁在寒、热不同血瘀证下入血成分差异研究 [J]. 时珍国医国药, 2019, 30(9): 2096-2098.
- [21] 以敏, 徐君毅, 郝二伟, 等. 桃仁提取物抗血瘀证大鼠血栓形成的机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(1): 125-128.
- [22] 宋倩. 健脾利湿清热通络法改善急性痛风性关节炎氧化应激的数据挖掘研究及其对 AMPK 信号通路的影响 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2018.
- [23] Hao G, Duan W, Sun J, *et al.* Effects of febuxostat on serum cytokines IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  and COX-2 [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(1): 812-816.
- [24] Zhang T, Guo C J, Li Y, *et al.* Interleukin-1beta induces macrophage inflammatory protein-1beta expression in human hepatocytes [J]. *Cell Immunol*, 2003, 226(1): 45-53.
- [25] 江莹, 张静, 孟楣, 等. 黄芩清热除痹组方对佐剂性关节炎大鼠细胞因子 IL-8、IL-10、TNF- $\alpha$  表达及脏器指数的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(8): 548-550.
- [26] 葛平, 张贺, 孙肖琛, 等. 黄芩清热除痹胶囊对佐剂性关节炎大鼠血清 IL-1 $\beta$  和 IL-6 的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(1): 8-10.

[责任编辑 潘明佳]