



Clinical Observation of Magui Wenbi Granules in the Treatment of Rheumatoid Arthritis and Its Effect on IL-23 / IL-17 Axis

Yu jia^{1*}, Wang Yue², Wachiraporn Padungkiattiwong³, Cao Xiangdong¹

¹Changshu No.1 People's Hospital, Suzhou Province 215500, CHINA

²Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu Province 210023, CHINA

³School of Integrative Medicine, Mae Fah Luang University, Chiangrai 57100, THAILAND

Received June 30th, 2022

Accepted July 13th, 2022

Published July 21st, 2022

***Conference presenter and
corresponding author:**

Yu Jia, Changshu No.1 People's
Hospital, Suzhou Province 215500,
CHINA

E-mail:

yujiajxc@163.com

(Yu Jia)

wangyue@njucm.edu.cn

(Wang Yue)

wachiraporn.pad@mfu.ac.th

(Wachiraporn Padungkiattiwong)

1059238765@qq.com

(Cao Xiangdong)

© 2022, Yu, J., et al.

This is an Open Access article
published under a Creative
Commons (CC BY-NC-ND 0.4)
license.



ABSTRACT

Introduction: Maguiwenbi granules are modified from Professor Wang Lvqiu's Xinbitongling granules used to treat cold-damp arthralgia syndrome in active RA and achieved an excellent curative effect. Previous studies have found that Xinbitongling can inhibit the expression of RANKL and IL-17 in the serum of CIA rats and alleviate the bone destruction of RA.

Objective: To observe the clinical efficacy of Magui Wenbi Granules in treating active rheumatoid arthritis (cold-dampness syndrome).

Methods: 60 patients were collected according to the NAPA standard and randomly divided into a control group and a treatment group with 30 cases each. The control group received conventional treatment, and the treatment group was added with Maguiwenbi granules. The joint treatment period was 12 weeks. Record the number of joint tenderness, joint swelling, DAS28, ESR, CRP, RF, TCM syndrome score before and after treatment, serum IL-23 and IL-17A levels, and use TCM syndrome efficacy evaluation standard and ACR20/50/70 standard to evaluate Perform overall clinical efficacy.

Results: 59 patients, 1 excluded, 29 in the treatment group, and 30 in the control group. (1) The treatment group was significantly better than the control group in reducing the number of joint tenderness, swollen joints, DAS28, ESR, and TCM syndrome scores ($P < 0.01$), and better than the control group in reducing IL-17A ($P < 0.05$). However, there was no statistical difference between the two groups after treatment; (2) The total effective rate of TCM syndromes in the treatment group was 96.6%, and in the control group was 70.0%; the ACR20 and ACR50 of the treatment group were 96.6% and 24.1%, respectively, the ACR20 and ACR50 of the control group were 73.3% and 20.0%.

Conclusion: Maguiwenbi Granules combined with conventional regimens have a definite clinical effect in the treatment of RA. It can significantly relieve the patient's clinical symptoms, reduce disease activity, increase clinical remission rate, and reduce IL-23 and IL-17A levels. It may inhibit IL-23/IL-17 inflammation axis.

Keywords: rheumatoid arthritis; cold dampness and stasis syndrome; Magui Wenbi granule; clinical observation; IL-23/IL-17 axis

Introduction

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种慢性、进行性、系统性的自身免疫性疾病 [1]。近年来类风湿关节炎发病机制的热点集中在调节性T细胞 (Treg) 和辅助性T细胞 (Th, 主要是Th17细胞) 之间免疫平衡打破后的免疫调节异常。Treg 细胞与 Th17 细胞在分化与发育中, 存在着一种相互约束的作用。当疾病发生时, 细胞分化与增殖倾向 Th17 细胞, 其数

量增多, 反之-Treg细胞的数目减少, 最终引发Th17与Treg之间的平衡失调。IL-23在Th17细胞的分化和发育中起了重要作用。Th17需在IL-23诱导下游靶基因后方能增殖并激活其对IL-17的分泌, 维持和放大IL-17的功能, 进一步激活通路, 诱导产生下游炎症细胞因子, 以上形成 IL-23/IL-17 炎症轴。当免疫平衡的天平倾向Th17 后, 会诱导大量炎症细胞因子分泌, 相关因子介

导的多种细胞及酶类的释放，造成滑膜炎、关节破坏、骨侵蚀等，加速RA的进展 [2-4]。

麻桂温痹颗粒一脉相承汪履秋教授的新痹痛灵颗粒，汪悦教授将其长期运用于RA活动期寒湿痹阻证的治疗，并取得较好的疗效。前期研究发现本方能够抑制CIA大鼠血清中RANKL和IL-17表达，缓解RA骨破坏 [5]。本文通过观察麻桂温痹颗粒治疗 RA 活动期寒湿痹阻证的疗效，及本方对 IL-23/IL-17 炎症轴的调节作用，为后期进一步研究其作用机制提供基础。

Methodology

1. 资料

1.1 病例来源

2018.12-2020.03 南京中医药大学附属医院风湿免疫科门诊及住院患者 60 例，采用随机分组原则，经过样本量估算及临床收集病例数实际情况，将纳入患者分为治疗组 30 例和对照组 30 例，最终完成治疗组 29 例，男 5 例，女 24 例，平均年龄 51.41 ± 12.53 岁，病程 $59.0 (27.5, 101.0)$ 月，对照组 30 例，男 5 例，女 25 例，平均年龄 56.67 ± 11.70 岁，病程 $74.5 (30.5, 135.0)$ 月。两组资料比较差异无统计学意义，具有可比性。

1.2 纳入与诊断标准

(1) 符合 2010 年 ACR/EULAR 类风湿关节炎诊断标准 [6] (2) 中医寒湿痹阻证辨证标准 [7]。符合活动期 RA 标准。(3) 年龄在 18~80 岁之间，性别不限。

1.3 排除标准

(1) 不符合纳入标准者。(2) 重叠其他风湿病。(3) 长期服用其他治疗类风湿关节炎的中西药物，且难以减停者。(4) 妊娠期或哺乳期妇女。

(5) 过敏体质，如对中药过敏者。(6) 合并有严重的心脑血管病变、内分泌系统病变、消化系统病变、血液系统病变、神经系统病变等。(7) 合并严重畸形疾病或者丧失劳动力者。(8) 可能存在或确实有酒精、药物滥用史。(9) 根据研究者判断，易造成失访者。

1.4 病例剔除及脱落标准

(1) 受试者依从性差，或中途自行换药或加用其他药物。(2) 随访期间不能完成观察指标检测或无检测记录可评价者。(3) 因药物副作用不能继续原治疗方案者。(4) 观察中自然脱落、失访者。

2. 方法

2.1 治疗组

麻桂温痹颗粒（每日一剂，早晚两次，颗粒冲服 300mL）+甲氨蝶呤片 10mg 口服 qw+塞来昔布 200mg 口服 qd 治疗。中药药物组成：麻黄，桂枝，青风藤，防风等 6 味中药颗粒（江阴天江药业有限公司生产）对照组：甲氨蝶呤片 10mg 口服 qw + 塞来昔布 200mg 口服 qd 治疗。治疗疗程：二组均连续服药 12 周。临时给药：6 周后 VAS 评分 > 8 分，酌情临时加量塞来昔布至 200mg 口服 bid。不使用与本病治疗相关的其他药物。

2.2 观察指标

采集的血样先在 4℃ 静置 2h，2500r/min 离心 10min，取上清液 -80℃ 保存，ELISA 法测定血清 IL-23、IL-17A 的水平；压痛关节数、肿胀关节数、DAS28、血沉 (ESR)、类风湿因子 (RF)、C-反应蛋白 (CRP)。中医证候积分、中医疗效评定标准、ACR20/50/70 标准，记录一般生命体征、血、尿常规、肝肾功能、心电图等。记录不良反应的症状、发生时间、发生频次等，首先采取对症治疗，如症状严重不得缓解是应当立即停止本次试验。

3. 观察指标与方法

3.1 临床观测指标

(1) 相关症状体征：压痛关节数、肿胀关节数、VAS 评分、DAS28、患者生活能力自我评价量表 (HAQ) (2) 临床指标：血沉 (ESR)、类风湿因子 (RF)、C-反应蛋白 (CRP)。

3.2 中医证候积分

参照《中药新药临床研究指导原则》[7]2002 年“中药新药治疗类风湿关节炎的临床研究指导原则”的症状分级量化拟定

3.3 总体疗效评定

3.3.1 中医疗效评定标准

参照《中药新药临床研究指导原则》[7]“中药新药治疗类风湿关节炎的临床研究指导原则”。综合疗效指数 = (治疗前积分 - 治疗后积分) ÷ 治疗前积分 × 100%。A 临床痊愈：临床症状、体征消失或基本消失，证候积分减少大于或等于 95%；B 显效：中医临床症状、体征明显改善，证候积分减少大于或等于 70%；C 有效：中医临床症状、体征均有好转，证候积分减少大于或等于 30%；D 无效：中医临床症状、体征均无明显改善，证候积分减少小于 30%。

3.3.2 ACR20/50/70 标准

参照 ACR 反应标准：1. 关节压痛数；2. 关节肿胀数；3. 患者对疼痛的评价；4. 患者对疾病活动性的综合评价；5. 医生对疾病活动性的综合评价；6. 患者对生活能力的自我评价 (HAQ)；7. 急性炎症反应物 (ESR)。

ACR20 标准：满足 1 和 2 均 ≥ 20%，同时 3~7 中至少满足三项指标改善 ≥ 20%。

ACR50 标准：满足 1 和 2 均 ≥ 50%，同时 3~7 中至少满足三项指标改善 ≥ 50%。

ACR70 标准：满足 1 和 2 均 ≥ 70%，同时 3~7 中至少满足三项指标改善 ≥ 70%。

指标改善百分率 = [(治疗前值 - 治疗后值) ÷ (治疗前值)] × 100%

3.4 IL-23、IL-17A 水平

两组患者治疗前后使用 ELISA 法测定血清 IL-23、IL-17A 的水平，对实验数据进行统计学分析。

3.5 试剂及仪器

3.5.1 ELISA 试剂盒 (MULTI SCIENCES)；Infinite M200 Pro 多功能酶标仪 (CHETECAN)；孵箱 (USA Thermoprecision)；-80℃ 超低温冰箱 (JP SANYO)；Centrifuge 5427R 24 孔台式高速冷冻离心机 (GER Eppendorf)。

3.5.2 标本的采集、保存

采集外周静脉血 3ml，离心后，吸出上层血清，置于-80℃冰箱保存。

3.5.3操作步骤

(1) 试剂、样品平衡至室温。(2) 准备试剂及标准品。(3) 浸泡酶标板：加入 300μl 洗液静置浸泡半分钟。(4) 加标准品：加入100μl 2倍比稀释的标准品。(5) 加样：加入50μl样本和50μl检测缓冲液。(6) 加抗体：每孔加入 50μl 稀释的检测抗体（1:100稀释）。(7) 孵育：封板膜封板。300转/分钟振荡，室温孵育2小时。(8) 洗涤：每孔加洗涤液洗涤6次，拍干。(9) 加酶：每孔加入 100 μl 稀释的辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素（1:100 稀释）。(10) 孵育：重复步骤（7），孵育45分钟。(11) 洗涤：重复步骤（8）。(12) 显色：每孔加入 100μl 显色底，避光孵育5-30分钟。(13) 终止：每孔加入 100μl 终止液。(14) 读数：使用酶标仪进行双波长检测，测定 450nm 和 630nm 参考波长下的 OD 值 (15)：计算标准品和样本的平均 OD 值，然后减去零浓度标准品的 OD

值。通过对浓度值和OD值取对数拟合，可以对标准曲线进行线性化。

4.统计学方法：

采用 SPSS 25.0 对数据进行统计学分析。计量资料若符合正态分布，采用 t 检验，用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示；若不符合正态分布，采用非参数检验，用中位数（四分位数间距）(Md(IQR))表示。P<0.05 为差异有统计学意义，P<0.01 为差异具有显著统计学意义。

Results

1.压痛及肿胀关节数

治疗后两组压痛关节数较前明显减少，差异具有显著统计学意义 (P<0.01)。治疗后两组肿胀关节数较前明显减少，差异具有显著统计学意义 (P<0.01)。治疗后治疗组压痛、肿胀关节数较对照组减少，差异具有统计学意义 (P<0.05)。表明经两组均能明显降低关节压痛数和关节肿胀数，且治疗组优于对照组。见表1

表1两组治疗前后压痛关节数及肿胀关节数比较(Md(IQR))

组别	压痛关节数		肿胀关节数	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
治疗组 (N=29)	8(6,10)	3(3,5) ^{△△▲}	6(3.5,7)	1(1,2) ^{△△▲}
对照组 (N=30)	6.5(4,10)	5(2,7.25) ^{△△}	3.5(2,8)	2(1,5.25) ^{△△}
P	0.271	0.045	0.247	0.046

*注：与本组内比较，[△]P<0.05，^{△△}P<0.01；两组间比较，[▲]P<0.05，^{▲▲}P<0.001

2. DAS28 评分

两组治疗后 DAS28 评分较前明显降低，差异均具有显著的意义 (P<0.01)。治疗后治疗组较对照组降低，差异具有显著的意义 (P<0.01)。表明两组均能明显降低患者的 DAS28 评分，且治疗组明显优于对照组。见表2

表2 两组治疗前后DAS28比较($\bar{x} \pm s$)

组别	DAS28	
	治疗前	治疗后
治疗组	5.22±0.58	3.18±0.57 ^{△△▲▲}
对照组	4.92±0.95	4.01±0.91 ^{△△}
P	0.15	0

*注：与本组内比较，[△]P<0.05，^{△△}P<0.01；两组间比较，[▲]P<0.05，^{▲▲}P<0.01

3. ESR、CRP、RF

两组治疗后 CRP 较前降低，差异具有统计学意义 (P<0.05)。表明两组均能降低患者CRP。见表3

表3两组治疗前后CRP比较(Md(IQR))

组别	CRP(mg/L)	
	治疗前	治疗后
治疗组 (N=29)	10.30(3.69,18.00)	5.60(1.88,7.82) [△]
对照组 (N=30)	10.30(6.89,17.53)	6.30(3.21,10.30) [△]
P	0.564	0.192

*注：与本组内比较，[△]P<0.05，^{△△}P<0.01；两组间比较，[▲]P<0.05，^{▲▲}P<0.01

两组治疗后 ESR 较前均明显降低，差异具有显著统计学意义 (P<0.01)。表明两组均能降低患者 ESR，且治疗组明显优于对照组。见表4

表4两组治疗前后ESR比较(Md(IQR))

组别	ESR(mm/h)	
	治疗前	治疗后
治疗组(N=29)	41.41±21.24	14.52±7.38 ^{△△▲▲}
对照组(N=30)	38.77±29.14	28.87±18.11 ^{△△}
P	0.625	0

*注：与本组内比较，[△]P<0.05，^{△△}P<0.01；两组间比较，[▲]P<0.05，^{▲▲}P<0.01 治疗后治疗组较前均明显降低，差异具有显著统计学意义（P<0.01），对照组较前降低，差异具有统计学意义（P<0.05）。表明两组均能降低RF，差异不具有统计学意义。见表5

表5两组治疗前后RF比较($\bar{x}\pm s$)

组别	RF(U/L)	
	治疗前	治疗后
治疗组(N=29)	86.59±46.52	51.05±33.73 [△]
对照组(N=30)	84.97±47.83	66.38±60.93 ^{△△}
P	0.895	0.33

*注：与本组内比较，[△]P<0.05，^{△△}P<0.01；两组间比较，[▲]P<0.05，^{▲▲}P<0.01

4. IL-23、IL-17A水平

治疗后治疗组 IL-23 水平较前降低，差异具有统计学意义（P<0.05），IL-17A 水平较前明显降低，差异具有显著统计学意义（P<0.01）；治疗后对照组 IL-23 水平较前差异无统计学意义（P>0.05），IL-17A 水平较前明显降低，差异具有统计学意义（P<0.01）；治疗后治疗组较对照组 IL-17A 水平降低，差异具有统计学意义（P<0.05）。表明治疗组能降低 IL-23 水平，优于对照组。两组均能明显降低 IL-17A 水平，且治疗组优于对照组。见表6

表6两组治疗前后IL-23、IL-17A比较($\bar{x}\pm s$)

组别	IL-23(pg/ml)		IL-17A(pg/ml)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
治疗组(N=29)	26.62±7.32	22.49±4.72 [△]	14.26±4.42	8.87±4.15 ^{△△▲}
对照组(N=30)	25.59±5.00	24.86±5.44	14.85±4.99	11.31±4.84 ^{△△}
P	0.532	0.052	0.634	0.044

*注：与本组内比较，[△]P<0.05，^{△△}P<0.01；两组间比较，[▲]P<0.05，^{▲▲}P<0.01

5. 中医证候积分

两组患者治疗前后中医证候积分经正态性检验，不符合正态分布，采用秩和检验。治疗后两组中医证候积分较前均明显减少，差异具有显著统计学意义（P<0.01）。治疗后治疗组对照组明显降低，差异具有显著统计学意义（P<0.01）。表明两组均能明显降低中医证候积分，治疗组明显优于对照组。见表7

表7两组治疗前后中医证候积分的比较(Md(IQR))

组别	中医证候积分	
	治疗前	治疗后
治疗组(N=29)	16.0 (13.5,18.0)	6.0 (4.0,10.0) ^{△△▲▲}
对照组(N=30)	17.0 (13.5,18.0)	11.0 (8.0,13.0) ^{△△}
P	0.848	0

*注：与本组内比较，[△]P<0.05，^{△△}P<0.01；与对照组比较，[▲]P<0.05，^{▲▲}P<0.01

6. 中医证候疗效评定标准

治疗后治疗组1例临床缓解，16例显效，11例有效，1例无效，总有效率为93.1%；对照组无临床缓解病例，5例显效，16例有效，9例无效，总有效率为86.7%，总有效率两者差异具有显著统计学意义（P<0.01）。表明治疗组中医证候临床疗效明显优于对照组。见表8

表8两组患者中医证候疗效比较

组别	临床缓解	显效	有效	无效	总有效率
治疗组 (N=29例)	1(3.4%)	16 (55.2%)	11 (37.9%)	1 (63.4%)	28 (96.6%)
对照组 (N=30例)	0 (0%)	5 (16.7%)	16 (53.3%)	9 (30.0%)	21 (70.0%)
χ^2	7.680				
P	0.006				

7. ACR20/50/70 标准

治疗后治疗组符合 ACR20 标准 28 例，ACR50 标准 7 例，未有符合 ACR70 病例；对照组符合 ACR20 标准 22 例，ACR50 标准 6 例，未有符合 ACR70 标准的患者；治疗组符合 ACR20 标准高于对照组，差别具有统计学差异 ($P<0.05$)，ACR50、ACR70 两组之间的差异不具有统计学意义 ($P>0.05$)。表明治疗组在 ACR20 标准上优于对照组，达到 ACR50/70 标准上差异尚不具有统计学意义。见表 9

表9两组患者ACR20/50/70疗效的比较

组别	ACR20	ACR50
治疗组 (N=29)	28 (96.6%)	7 (24.1%)
对照组 (N=30)	22 (73.3%)	6 (20.0%)
χ^2	6.149	0.147
P	0.026	0.701

Discussion

麻桂温痹颗粒方中寓有上中下痛风方之意，以分清实邪，除痹止痛为意，方中麻黄为君发散风寒，桂枝为臣，温通经脉，祛在上之风，青风藤既能祛风邪于上，又能胜湿邪余下，又可散寒通络止痛，防风解表发汗，祛内外之风，又能胜湿止痛，与方中另外二味药共奏祛风散寒，除湿止痛之功。

通过 12 周的临床观察，显示联合麻桂温痹颗粒治疗 RA 较西药常规治疗能够更好地缓解关节疼痛，减轻关节肿胀，降低疾病活动度，降低 ESR 炎症指标水平，改善中医证候积分。总体疗效评价不仅获得了更显著的中医证候疗效，ACR 缓解率也优于对照组。分析患者 IL-23、IL-17A 细胞因子治疗前后的变化，发现联合本方能够更好地抑制促炎因子的分泌，可能是

因为本方能够对 IL-23/IL17 炎症轴发挥调节作用，从而调节细胞免疫平衡。

Conclusion

麻桂温痹颗粒的临床疗效通过中西医不同方面，临床症状体征、指标、炎症因子不同层面，进行较为全面客观的比较。期为临床治疗类风湿关节炎提供更优化的治疗方案，并为本方进一步研究其作用机制提供良好的基础。

References

- [1] 魏蕾, 姜林娣. 类风湿关节炎病因和发病机制研究进展 [J]. 医学综述, 2015, 21(09): 1548-1551.
- [2] 李平顺, 周孟茹, 王钢 et al. 中医药干预类风湿关节炎 Th17/Treg 平衡的研究进展 [J]. 中国医药导刊, 2019, 21(07): 421-425.
- [3] 刘肃, 张鑫, 王春生. 类风湿性关节炎患者血清炎症细胞因子水平及其临床意义分析 [J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(09): 4100-4105.
- [4] 安丽欣. 血清 IL-18、IL-22、IL-23 表达在类风湿性关节炎中的意义 [J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(07): 801-804.
- [5] 朱丰林. 基于“温经通络法”立方的新痹痛灵方对 CIA 模型大鼠骨破坏的影响及机制研究 南京中医药大学, 2015
- [6] D A, T N, AJ Set al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative [J]. Arthritis and rheumatism, 2010, 62(9): 2569-2581.
- [7] 郑筱萸主编. 中药新药临床研究指导原则 [J]. 2002: 392 页.