

文章编号 1006-8147(2022)03-0272-06

论著

基于网络药理学探讨托法替布联合甲氨蝶呤治疗类风湿关节炎的作用机制

赵妍¹, 赵晶晶², 刘爱芬³, 郭雪梅⁴, 康莉², 陈兵⁵

(1.天津医科大学第二医院内分泌科, 天津 300211; 2.天津医科大学第二医院肾内科, 天津 300211; 3.天津医科大学第二医院麻醉科, 天津 300211; 4.天津医科大学图书馆, 天津 300070; 5.天津医科大学第二医院重症医学科, 天津 300211)

摘要 目的:探讨托法替布联合甲氨蝶呤治疗类风湿关节炎(RA)的分子靶点和作用机制。方法:通过 PharmMapper 平台获取托法替布和甲氨蝶呤的预测药效团及其主要元素,基于 STRING 平台分析靶蛋白之间的相互作用关系(PPI),采用 Cytoscape 3.7.2 软件进行药物的预测靶点可视化分析,并通过 GO 富集分析和 KEGG 通路分析探究其治疗 RA 的可能分子机制。结果:通过 PharmMapper 平台共获得 137 个托法替布和甲氨蝶呤的预测靶蛋白/基因, PPI 结果证实 Janus 激酶(JAK)2、JAK3、信号转导与转录激活因子(STAT)1、蛋白激酶 B(AKT)1、白细胞介素(IL)-2、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)1、MAPK8、表皮生长因子受体(EGFR)等为主要预测靶蛋白/基因, GO 分析表明上述靶蛋白/基因在受损 DNA 结合($P=0.002$)、ATP 酶结合($P=0.002$)、核受体活性($P=0.002$)、转录因子活性($P=0.002$)、直接配体调控序列特异性 DNA 结合($P=0.002$)、类固醇激素受体活性($P=0.004$)、生长因子受体结合($P=0.022$)和内肽酶活性($P=0.029$)等功能处显著富集,结合 KEGG 通路分析证实托法替布联合甲氨蝶呤与 JAK-STAT、转化生长因子(TGF)- β 、磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)-AKT、p53、Ras、MAPK、血管内皮生长因子(VEGF)、核因子(NF)- κ B、Notch 等信号通路密切相关。结论:托法替布联合甲氨蝶呤治疗 RA 的分子机制具有多基因、多靶点的特点,并通过抑制炎症因子、血管生成、细胞自噬等方式调节免疫性疾病。

关键词 托法替布;甲氨蝶呤;类风湿关节炎;网络药理学;分子机制

中图分类号 R593.22

文献标志码 A

Systematic elaboration of the mechanism of tofacitinib combined with methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis via network pharmacology

ZHAO Yan¹, ZHAO Jing-jing², LIU Ai-fen³, GUO Xue-mei⁴, KANG Li², CHEN Bing⁵

(1.Department of Endocrinology, The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China; 2.Department of Nephrology, The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China; 3.Department of Anesthesiology, The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China; 4.Library of Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 5.Department of Critical Care Medicine, The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China)

Abstract Objective: To explore the molecular target proteins/genes and mechanism of tofacitinib combined with methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis (RA). **Methods:** The predicted pharmacophore and characteristics of tofacitinib and methotrexate were obtained through PharmMapper platform. The protein-protein interaction (PPI) network of target proteins/genes was analyzed based on STRING platform. The network visualization of target proteins/genes of drugs was performed by Cytoscape 3.7.2 software, and the molecular mechanisms of two drugs to treat RA were further explored through GO enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis. **Results:** A total of 137 tofacitinib and methotrexate target proteins/genes were obtained via PharmMapper platform. PPI results confirmed that Janus kinase (JAK)2, JAK3, signal transduction and transcriptional activators (STAT)1, protein kinase B (AKT)1, interleukin (IL)-2, mitogen activated protein kinase (MAPK)1, MAPK8 and epidermal growth factor receptor (EGFR) were the main predicted target proteins/genes. GO analysis showed that these target proteins/genes were significantly enriched in impaired DNA binding ($P=0.002$), ATPase binding ($P=0.002$), nuclear receptor activity ($P=0.002$), transcription factor activity ($P=0.002$), direct ligand regulatory sequence specific DNA binding ($P=0.002$), steroid hormone receptor activity ($P=0.004$), growth factor receptor binding ($P=0.022$) and endopeptidase activity ($P=0.029$). Combined with KEGG pathway analysis, tofacitinib combined with methotrexate, JAK-STAT signaling pathway, transforming growth factor (TGF)- β signaling pathway, phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K)-AKT signaling pathway, p53 signaling pathway, Ras signaling pathway, MAPK signaling pathway, vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling pathway,

基金资助 天津市自然科学基金(20JCQNJC00210);天津市教委资助项目(2019KJ164);天津医科大学第二医院青年基金(2019ydey07);天津医科大学第二医院临床医学研究项目(2020LC14);天津市卫健委资助项目(2021077)

作者简介 赵妍(1986-),女,副主任医师,博士,研究方向:医学材料在炎症性疾病中的基础及转化应用研究;E-mail: zhaoyan@tmu.edu.cn。

nuclear factor(NF)- κ B signaling pathway, Notch signaling pathway and other signaling pathways were closely related. **Conclusion:** The molecular mechanism of tofacitinib combined with methotrexate in the treatment of RA has the multi-gene and multi-target characteristics, and regulates immune diseases by inhibiting inflammatory factors, angiogenesis, autophagy and other functions.

Key words tofacitinib; methotrexate; rheumatoid arthritis; network pharmacology; molecular mechanism

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性自身免疫疾病。它的病理生理机制主要为关节滑膜内的炎症因子刺激免疫细胞释放大炎症和细胞因子,导致关节破坏和关节外血管炎等损害^[1]。RA 病程长,病死率高,严重影响患者身心健康和生活质量^[2-3]。目前,甲氨蝶呤已成为治疗 RA 的基础用药,其化学结构与叶酸相似。其通过抑制二氢叶酸还原酶和酰基转移酶的活性,抑制嘌呤和嘧啶核苷酸的合成,抑制淋巴细胞活化,减轻炎症和关节疼痛。但长时间大剂量的应用会增加药物不良反应,限制了其临床的广泛应用^[4]。

托法替布是一种小分子 Janus 激酶(JAK)抑制剂,实验证实其通过抑制 JAK-信号转导与转录激活因子(STAT)信号通路,降低 STAT 的磷酸化水平,从而降低下游炎症细胞因子的合成,达到调控炎症的目的^[5-7],从而引起了人们的广泛关注。研究报道,托法替布不但可以明显缓解 RA 患者的症状,而且联用甲氨蝶呤可达到更优的治疗效果^[8-9]。

目前,托法替布联用甲氨蝶呤治疗 RA 的分子机制尚未完全阐明。本文采用网络药理学方法,针对托法替布和甲氨蝶呤的预测药效团、靶蛋白/基因和分子药理机制进行深入探讨,从而确定两者的适应证和不良反应,更好的指导临床实践。

1 材料和方法

1.1 相关数据库和平台 化学模组 pubchem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)、药效团匹配与潜在识别靶标 PharmMapper 在线平台(<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>)、STRING 平台(<https://string-db.org>)及网络图像化软件 Cytoscape(v 3.7.2)。

1.2 化合物结构的筛选和药效团模型靶点的预测 以“Tofacitinib”和“Methotrexate”为关键词,通过 pubchem 数据库获取化合物的活性成分,并下载它们的 2D 和 3D 结构。PharmMapper 平台上导入化合物的 3D 结构文件,得到预测药效团模型的元素(蛋白结构、特征数目、分值、校正分值、靶点基因等)和可能靶蛋白/基因。

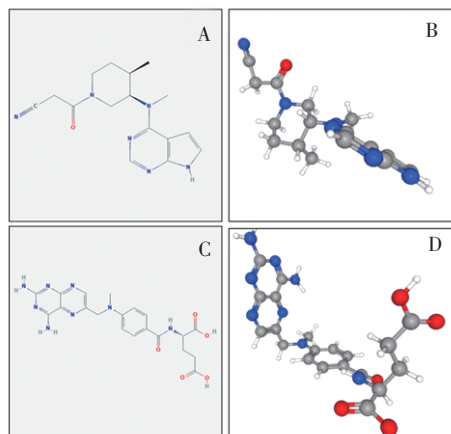
1.3 蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络构建和可视化分析 利用 STRING 平台获得靶蛋白/基因之间的关系,构建蛋白质相互作用网络。将托法替布和甲氨蝶呤的靶蛋白/基因导入网络图

像化软件 Cytoscape(v 3.7.2),其中“节点(node)”代表靶蛋白/基因,“线(edge)”代表靶点之间的关系,对其网络特征进行可视化分析。

1.4 富集通路分析 通过统计 R 软件(R x64 3.5.2)对上述靶点进行功能富集分析和信号通路分析。同一种颜色的节点代表同一类型的信号通路,节点的大小代表信号通路的显著程度。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 托法替布和甲氨蝶呤的化合物结构筛选和药效团模型靶点预测 通过 pubchem 平台分析得到托法替布和甲氨蝶呤化合物的活性成分和其 2D 和 3D 结构(图 1)。利用 PharmMapper 数据库得到托法替布预测药效团模型的特征元素:如表 1A 所示,托法替布预测药效团模型的主要蛋白结构分别为 2ecd_A_cavity_2、2qq5_A_cavity_2、2cfv_A_cavity_2 等,其支持靶点蛋白的特征数目均大于 3,校正分值均大于 0.8,靶点基因分别为 ABL2、DHRS1、PTPRJ 等;如表 1B 所示,甲氨蝶呤药效团模型的主要蛋白结构分别为 3cki_B_cavity_3、1hi5_A_cavity_1、1n46_B_cavity_1 等,其支持靶点蛋白的特征数目均大于 4,校正分值均大于 0.6,靶点基因分别为 ADAM17、RNASE2、THRB 等。最终鉴定出托法替布 71 个和甲氨蝶呤 66 个潜在的靶蛋白/基因,且两种药物的所有蛋白/基因均用于进一步研究。



注:A:托法替布的 2D 结构; B:托法替布的 3D 结构; C:甲氨蝶呤的 2D 结构; D:甲氨蝶呤的 3D 结构

图 1 托法替布和甲氨蝶呤活性化合物的结构

Fig 1 The structures of active compounds of tofacitinib and methotrexate

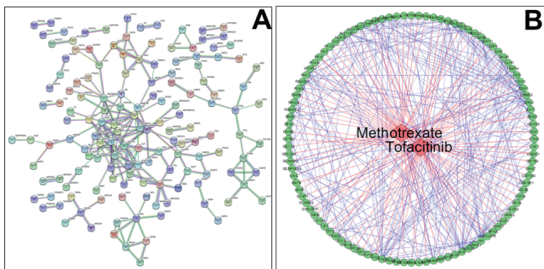
Pharma Model	Num Feature	Fit	Norm Fit	Symbol
2ecd_A_cavity_2	4	3.485	0.8713	ABL2
2qq5_A_cavity_2	4	3.457	0.8642	DHRS1
2cfv_A_cavity_2	3	2.579	0.8595	PTPRJ
1qz2_B_cavity_4	4	3.357	0.8392	FKBP4
3cww_A_cavity_8	4	3.332	0.8329	IDE
1snl_A_cavity_2	4	3.277	0.8194	NUCB1
2i7k_A_cavity_1	4	3.21	0.8025	BRD7
Pharma Model	Num Feature	Fit	Norm Fit	Symbol
3cki_B_cavity_3	4	3.941	0.9854	ADAM17
1hi5_A_cavity_1	12	10.7	0.892	RNASE2
1n46_B_cavity_1	6	3.995	0.6659	THRB
2da0_A_cavity_1	9	5.973	0.6637	ASAP1
2j9l_B_cavity_4	6	3.687	0.6145	ADSL

注:A:托法替布的预测药效团模型的主要特征元素;B:甲氨蝶呤的预测药效团模型的主要特征元素

表 1 托法替布和甲氨蝶呤的预测药效团模型的主要特征因素

Tab1 The main characteristic factors of predictivepharmacophore models of tofacitinib and methotrexate

2.2 PPI 网络构建和可视化网络分析 将托法替布和甲氨蝶呤的所有预测靶蛋白/基因导入 STRING 数据库,构建共同靶点之间的相互作用关系图。如图 2A 所示,在过滤值为 0.96 条件下,得到托法替布和甲氨蝶呤共有 206 对预测靶蛋白/基因。两者的主要预测靶蛋白/基因为 JAK2、JAK3、STAT1、蛋白激酶 B (AKT)1、白细胞介素(IL)-2、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)1、MAPK8、表皮生长因子受体(EGFR)等,靶蛋白/基因之间多通过融合(红色连线)、邻接(绿色连线)、同现(蓝色连线)等进行相互作用。进而采用 Cytoscape(v 3.7.2)软件,将两种药物之间的相互调控关系进行网络可视化。如图 2B 所示,此网络共有 105 个预测靶蛋白/基因和 349 条连线,其交互关系与图 2A 一致。



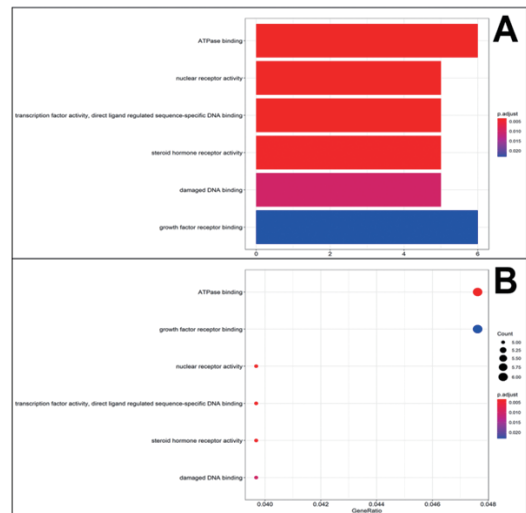
注:A:托法替布和甲氨蝶呤的预测靶蛋白/基因之间相互作用的关系图;B:托法替布和甲氨蝶呤的预测靶蛋白/基因之间相互调控的网络图

图 2 托法替布和甲氨蝶呤的预测靶点 PPI 网络及网络可视化

Fig 2 PPI network and network visualization for the predictive targets of tofacitinib and methotrexate

2.3 GO 功能富集分析 为进一步研究托法替布和甲氨蝶呤的可能作用机制,采用 R x64 3.5.2 软件进行了 GO 功能富集分析,并将结果绘制成气泡图。如图 3A 所示,托法替布和甲氨蝶呤的预测靶蛋白/基因在影响受损 DNA 结合、ATP 酶结合、核受体活性、转录因子活性、直接配体调控序列特异性 DNA 结合、类固醇激素受体活性、生长因子受体结合和肉肽酶活性等功能处显著富集(均 $P<0.05$)。且据图 3B 所示,托法替布和甲氨蝶呤的预测靶蛋白/基因在影响 ATP 酶结合($P=0.002$)、受损 DNA 结合($P=0.002$)、核受体活性($P=0.002$)、转录因子活性、直接配体调控序列特异性 DNA 结合($P=0.002$)功能上富集最显著,而在影响类固醇激素受体活性($P=0.004$)、生长因子受体结合($P=0.022$)、肉肽酶活性($P=0.029$)方面次之。提示托法替布和甲氨蝶呤可能通过调控以上多种生物功能治疗 RA。

2.4 KEGG 通路富集分析 对托法替布和甲氨蝶呤的可能循环通路进行 KEGG 分析,如图 4A~C 所示,HER2/neu、E2F、Rac、JNK、Ral、血管内皮生长因子(VEGF)、基质金属蛋白酶(MMP)s、HBEGF、ERBB2、HER2、Notch、雌激素受体(ER)等可能是托法替布和甲氨蝶呤的预测靶蛋白/基因,JAK-STAT 信号通路、转化生长因子(TGF)- β 信号通路、磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/AKT 信号通路、p53 信号通路、Ras 信号通路、MAPK 信号通路、血管内皮生长因子信号通路、核因子(NF)- κ B 信号通路、Notch 信号通路和癌症通路等信号通路主要参与了托法替布和甲氨蝶呤共同作用的通路循环。

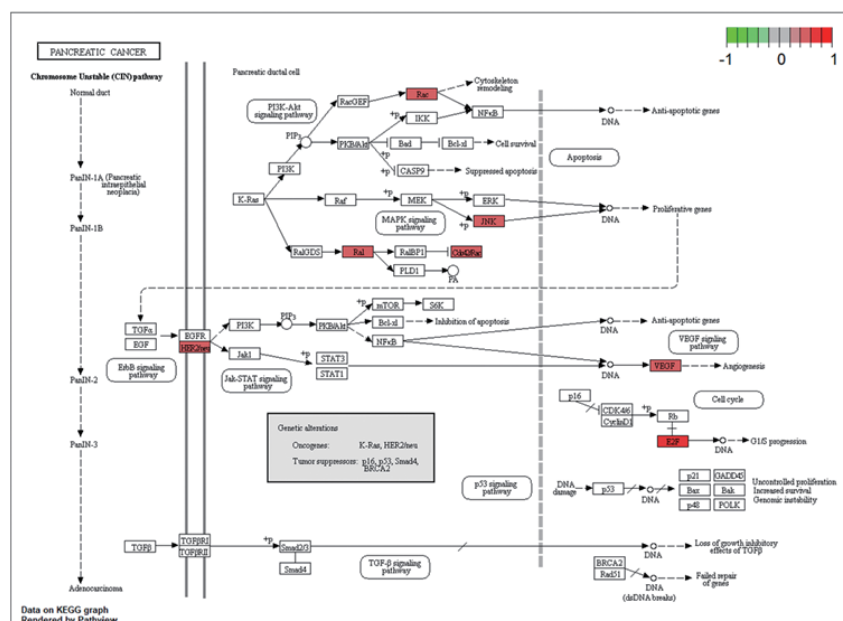


注:A:托法替布和甲氨蝶呤的预测靶点的 GO 功能富集分析柱状图;B:托法替布和甲氨蝶呤的预测靶点的 GO 功能富集分析气泡图

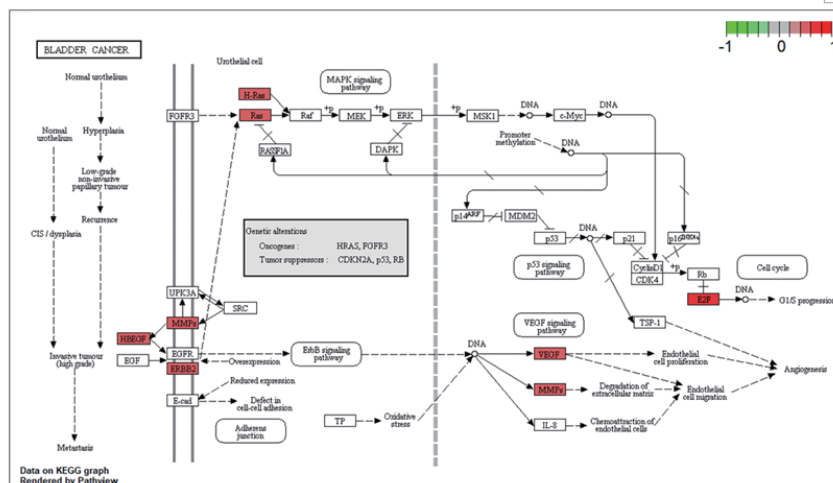
图 3 托法替布和甲氨蝶呤的预测靶点的 GO 功能富集分析

Fig 3 GO enrichment analysis of the predictive targets of tofacitinib and methotrexate

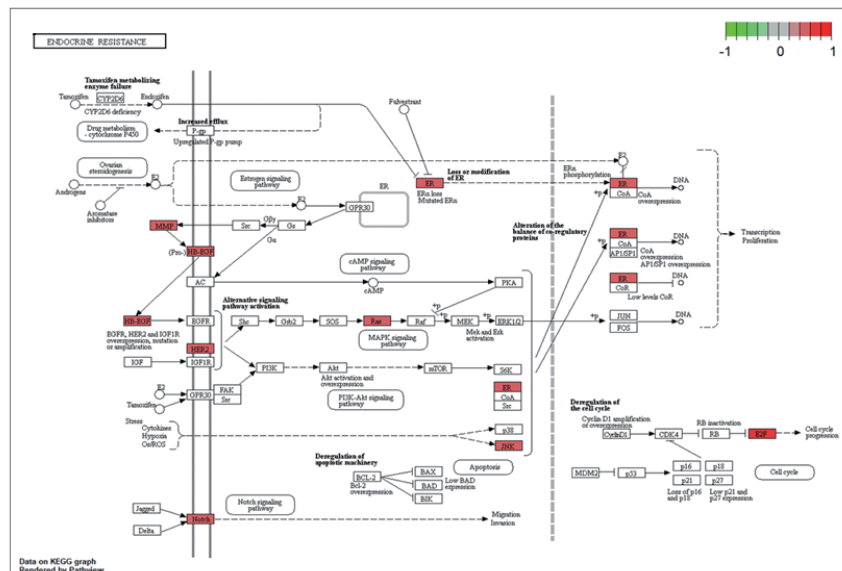
A



B



C



注:A:托法替布和甲氨蝶呤在治疗胰腺癌中的 KEGG 通路循环图;B:托法替布和甲氨蝶呤在治疗膀胱癌中的 KEGG 通路循环图;C:托法替布和甲氨蝶呤在治疗内分泌耐药中的 KEGG 通路循环图

图4 托法替布和甲氨蝶呤治疗多种疾病的 KEGG 通路循环图

Fig 4 KEGG pathway circulation diagram of tofacitinib and methotrexate in the treatment of various diseases

3 讨论

RA 是一种由大量的炎症细胞浸润、形成血管翳和滑膜炎、并侵犯邻近关节软骨导致骨破坏的自身免疫性疾病^[10-11]。甲氨蝶呤一直是临床治疗 RA 的常规用药,但对重症和甲氨蝶呤耐药的 RA 患者疗效欠佳。近临床研究发现,新研制的药物托法替布优于甲氨蝶呤或安慰剂,且托法替布联合甲氨蝶呤对 RA 患者表现出更好的治疗效果^[8,12]。托法替布作为一种处于Ⅲ期临床试验的新药,通过采用网络药理学的方法对其进行系统和详尽的研究,探讨其靶基因及相互作用,有助于更好地确定药物适应证和不良反应。本研究打破单一药理研究的局限性,全面地研究并阐述了托法替布联用甲氨蝶呤的作用机制。

本研究通过 pubchem 和 PharmMapper 数据库分别获取了托法替布和甲氨蝶呤相关化合物的有效成分,并最终鉴定出 137 个潜在靶蛋白/基因。其中包括 JAK2、JAK3、STAT1、AKT1、IL2、MAPK1、MAPK8、EGFR 等。最后通过 GO 功能富集和 KEGG 通路分析证实托法替布联合甲氨蝶呤治疗 RA 的机制主要与 JAK-STAT、TGF- β 、PI3K-AKT、p53、Ras、MAPK、VEGF、NF- κ B 及 Notch 等信号通路密切相关。托法替布作为 JAK 特异性抑制剂^[13],是由 4 个非受体酪氨酸激酶(JAK1、JAK2、JAK3 和酪氨酸激酶 2)组成,对应不同的细胞因子受体。非受体酪氨酸激酶与细胞因子受体结合后可抑制受体相关的 JAK,阻碍下游的 STATs 被 JAK 磷酸化,导致受体无法解离并转移到细胞核调节基因转录,从而影响 JAK-STAT 信号通路^[14]。托法替布不仅减少了致 RA 发病的关键基因(基质金属蛋白酶 1 等)的表达,而且减少滑膜 STAT1 和 STAT3 的磷酸化水平,对 RA 具有较好的治疗效果^[15]。而且 STAT 靶基因与 NF- κ B 信号通路靶基因高度相关,后者则是另一个促炎的关键信号通路。肿瘤癌变过程中,特别是微环境中肿瘤细胞和免疫细胞的相互作用时,STAT 信号往往是上调的,其上调涉及的生物过程包括分化、增殖、血管生成和细胞凋亡等。托法替布则通过干扰 DNA 转录,从而对自身免疫性疾病 RA 和肿瘤的相关炎性细胞的活性起到负性调控作用^[16-17]。本研究结果亦证实,JAK2、JAK3、STAT1 等是托法替布和甲氨蝶呤共同作用的靶蛋白/基因,其参与的 JAK-STAT 信号通路与治疗 RA 的过程密切相关。此外,托法替布可以通过抑制 JAK-STAT 信号通路,影响 DNA 的表达,从而治疗 RA^[18-19],与本研究结果一致。目前 JAK-STAT 是 RA 致病的最重要的信号

通路,是本研究网络中最重要的节点,其上下游因子亦是未来需要重点研究的目标。

炎症因子是 RA 发病和进展的关键功能分子^[20]。既往研究发现,IL-2 是参与 RA 发生、发展的重要炎症因子,主要与 MAPK 蛋白家族具有一定的关联性。IL-2 与活化 T 细胞上的 IL-2R 特异性结合后,进而激活具有 GTP 酶活性的小蛋白 Ras,Ras 进一步激活丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性的 Raf 蛋白,最终启动 p42/p44MAPK,其通过以上过程促进 T 细胞增殖,并引发炎症因子大量释放,造成免疫功能紊乱^[21-22]。本研究亦证实 IL-2、MAPK 是托法替布和甲氨蝶呤的主要靶蛋白/基因,且 MAPK 信号通路在其间发挥着重要的作用。此外,胡志平等^[23]研究证实通过抑制 PI3K-AKT 通路可以减轻 RA 大鼠的炎症。Harris 等^[24]和 Smith 等^[25]发现 PI3K-AKT 信号通路广泛存在于 RA 的滑膜细胞中,且处于异常激活状态,是造成滑膜细胞失衡凋亡的原因之一。当应用 PI3K 抑制剂 ZSTK474 后,能明显改善胶原诱导的小鼠关节炎症状,证实其具有较好的抗 RA 作用^[26]。洪宏海等^[27]还发现 p53 具有抗 RA 的免疫炎症作用。这些通路多与炎性免疫反应过程有关,本研究中亦体现了以上通路。

VEGF 是 RA 病理性血管生成的重要参与者,促使血管翳形成,引起骨破坏^[28]。雌激素可调控基质金属蛋白酶 3(matrix metalloproteinase 3,MMP3),促使成骨细胞膜表面的凋亡基因 FasL 断裂成为可溶性 FasL,诱导破骨细胞凋亡,减少骨破坏^[29]。与本研究结果相符。本研究亦发现 AKT1 与自噬性死亡相关^[5],EGFR 抑制剂能够诱导自噬^[30],重组人颗粒体蛋白前体通过 MAPK 通路调控自噬^[31],STAT3 影响自噬相关基因的转录^[32],由此提示托法替布联合甲氨蝶呤可能通过抑制血管形成和细胞自噬而起到治疗 RA 的作用。

综上所述,托法替布联合甲氨蝶呤在临床试验中取得了较好的疗效,但是缺乏系统科学的分子机制研究。本研究采用网络药理学的方法,对两者的活性成分、靶蛋白/基因和作用通路进行了深入探讨,证实托法替布联合甲氨蝶呤具有多靶点、多通路的作用特点,为后续研究提供理论依据,并未临床应用实践提供数据参考。由于现有数据的局限性,后期需要更多、更深入的研究为临床应用提供科学根据。

参考文献:

- [1] 孟德钊,潘文友,李鞠,等.甲氨蝶呤联合艾拉莫德治疗难治性类风湿关节炎的效果[J].中国医药导报,2016,13(3):137-141.

- [2] 吕新亮,刘禹全.甲氨蝶呤联合艾拉莫德治疗中医不同证型类风湿关节炎疗效比较研究[J].风湿病与关节炎,2018,7(8):15-19.
- [3] 黎声飞.艾拉莫德与双醋瑞因对难治性类风湿关节炎患者的疗效及其对炎症因子和超氧化歧化酶等指标水平的影响[J].抗感染药学,2018,15(1):153-155.
- [4] FLEISCHMANN R, SCHIFF M. Baricitinib methotrexate or combination in patients with rheumatoid arthritis and no or limited prior disease-modifying antirheumatic drug treatment[J]. Arthritis Rheumatol, 2017, 69(3):506-517.
- [5] O'SHEA J J, PLENGF R. JAK and STAT signaling molecules in immunoregulation and immune-mediated disease[J]. Immunity, 2012, 36(4):542-550.
- [6] BANNWARTH B, KOSTINF M, POURSAAC N. A pharmacokinetic and clinical assessment of tofacitinib for the treatment of rheumatoid arthritis [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2013, 9(6):753-761.
- [7] MALEMUD C J. The role of the JAK/STAT signal pathway in rheumatoid arthritis[J]. Ther Adv Muscul Dis, 2018, 10(5-6):117-127.
- [8] SMOLEN J S, LANDEWE R, BIJLSMA J, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs:2016 update [J]. Ann Rheum Dis, 2017, 76(6):960-977.
- [9] DOWTY M E, LIN J, RYDER T F, et al. The pharmacokinetics, metabolism, and clearance mechanisms of tofacitinib, a janus kinase inhibitor, in humans[J]. Drug Metab Dispos, 2014, 42(4):759-773.
- [10] NGIAN G S. Rheumatoid arthritis[J]. Aust Fam Physician, 2010, 39(9):626-628.
- [11] ELSHABRAWY H A, CHEN Z L, VOLIN M V, et al. The pathogenic role of angiogenesis in rheumatoid arthritis[J]. Angiogenesis, 2015, 18(4):433-448.
- [12] FLEISCHMANN R, MYSLER E, HALL S, et al. Efficacy and safety of tofacitinib monotherapy, tofacitinib with methotrexate, and adalimumab with methotrexate in patients with rheumatoid arthritis (ORAL Strategy): a phase 3b/4, double-blind, head-to-head, randomized controlled trial[J]. Lancet, 2017, 390(10093):457-68.
- [13] CHANGELIAN P S, FLANAGAN M E, BALL D J, et al. Prevention of organ allograft rejection by a specific Janus kinase 3 inhibitor[J]. Science, 2003, 302(5646):875-878.
- [14] HODGE J A, KAWABATA T T, KRISHNASWAMI S, et al. The mechanism of action of tofacitinib—an oral Janus kinase inhibitor for the treatment of rheumatoid arthritis[J]. Clin Exp Rheumatol, 2016, 34(2):318-328.
- [15] BOYLE D L, SOMA K, HODGE J, et al. The JAK inhibitor tofacitinib suppresses synovial JAK1-STAT signaling in rheumatoid arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2015, 74(6):1311-1316.
- [16] SCOTT L J. Tofacitinib: a review of its use in adult patients with rheumatoid arthritis[J]. Drugs, 2013, 73(8):857-874.
- [17] 杨智,张先龙. JAK3 抑制剂托法替布治疗类风湿关节炎研究进展[J]. 国际骨科学杂志, 2013, 34(5):326-328.
- [18] 王士伟,谭初兵,徐为人. 新型类风湿关节炎治疗药物托法替尼[J]. 中国新药杂志, 2013, 22(14):1607-1609.
- [19] MEYER D M, JESSON M I, LI X, et al. Anti-inflammatory activity and neutrophil reductions mediated by the JAK1/JAK3 inhibitor, CP-690,550, in rat adjuvant-induced arthritis[J]. J Inflamm, 2010, 7:41.
- [20] 刘海. 骨龙胶囊联合甲氨蝶呤、柳氮磺吡啶治疗类风湿性关节炎的疗效及安全性研究[J]. 河北医药, 2015, 37(18):2742-2744.
- [21] 黄冠文,包继文,李子扬,等. 可溶性白介素 2 受体和肿瘤坏死因子 α 对狼疮性肾炎活动度的预测价值[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2021, 41(1):55-61.
- [22] 任云丽,张小丽. 血清炎症因子在类风湿关节炎进展中的价值[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(19):4302-4305.
- [23] 胡志平,何绍前,王传明,等. 甘草酸抑制 PI3K/AKT/NF- κ B 减轻胶原诱导型类风湿关节炎大鼠炎症反应[J]. 中国老年学杂志, 2020, 13:2852-2856.
- [24] HARRIS S J, FOSTER J G, WARD S G. PI3K isoforms as drug targets in inflammatory diseases: lessons from pharmacological and genetic strategies[J]. Curr Opin Investig Drugs, 2009, 10(11):1151-1162.
- [25] SMITH M D, WEEDON H, PAPANGELIS V, et al. Apoptosis in the rheumatoid arthritis synovial membrane: modulation by disease-modifying anti-rheumatic drug treatment [J]. Rheumatology (Oxford), 2010, 49(5):862-875.
- [26] TAMURA N. Recent findings on phosphoinositide-3 kinase in rheumatic diseases[J]. Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi, 2012, 35(1):8-13.
- [27] 洪宏海,王征,夏勇. 长非编码 RNA MT1P 调控 p53 抑制类风湿关节炎炎症反应作用及机制[J]. 风湿病与关节炎, 2017, 6(10):5-9.
- [28] HARRE U, SCHETT G. Cellular and molecular pathways of structural damage in rheumatoid arthritis[J]. Sem Immunopathol, 2017, 39(4):355-363.
- [29] TAKASHI N, YUUKI I, TAKAHIRO M. Estrogen prevents bone loss via estrogen receptor α and induction of fas ligand in osteoclasts[J]. Cell, 2007, 130(5):811-823.
- [30] LIN H, WANG Z, SHEN J, et al. Intravenous anesthetic ketamine attenuates complete Freund's adjuvant-induced arthritis in rats via modulation of MAPKs/ NF- κ B[J]. Inflamm Res, 2019, 68(2):147-155.
- [31] PATRICK F, CLAIRE V, AGNIESZKA D, et al. The protein tyrosine phosphatase PTPRJ/DEP-1 contributes to the regulation of the Notch-signaling pathway and sprouting angiogenesis[J]. Angiogenesis, 2020, 23(2):145-157.
- [32] THOMAS O, THOMAS Z, KATARZYNA A, et al. Immune sensing of synthetic, bacterial, and protozoan RNA by toll-like receptor 8 requires coordinated processing by RNase T2 and RNase 2[J]. Immunity, 2020, 52(4):591-605.

(2021-10-03 收稿)