穿山龙复方调节 m^6A 甲基化修饰蛋白 METTL3、IGF2BP2 防治痛风性关节炎的作用机制*

刘晓禹，范姝媛，白奉轩，徐晓敏，于栋华，柳长凤，王宇✉

黑龙江中医药大学中医药研究院，黑龙江 哈尔滨 150040

摘要：目的：探讨穿山龙复方调控 N^6 - 甲基腺苷（N^6 - methyladenosine modification，m^6A）甲基化修饰蛋白甲基转移酶样蛋白 3（methyltransferase - like 3，METTL3）及胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 2（insulin - like growth factor 2 mRNA - binding protein 2，IGF2BP2）防治痛风性关节炎（gouty arthritis，GA）的作用机制。方法：采用氧嗪酸钾溶液与尿酸钠溶液联合用药方式建立 GA 模型，将 48 只 SPF 级 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、穿山龙复方高剂量组、穿山龙复方中剂量组、穿山龙复方低剂量组及秋水仙碱组，每组 8 只。灌胃 7 d 后，采用生化法检测大鼠血清尿酸（serum uric acid，SUA）、肌酐（serum creatinine，SCr）、尿素氮（blood urea nitrogen，BUN）水平；HE 染色观察踝关节病理学变化；ELISA 法检测血清肿瘤坏死因子 - α（tumor necrosis factor - α，TNF - α）、白细胞介素 - 1β（interleukin - 1β，IL - 1β）、白细胞介素 - 18（interleukin - 18，IL - 18）、白细胞介素 - 17A（interleukin - 17A，IL - 17A）、白细胞介素 - 17F（interleukin - 17F，IL - 17F）、单核细胞趋化蛋白 - 1（monocyte chemoattractant protein - 1，MCP - 1）水平；RT - qPCR 与 Western blot 法检测大鼠踝关节滑膜组织 *METTL3*、*IGF2BP2* mRNA 及蛋白表达水平。结果：与空白组比较，模型组大鼠血清 SUA、SCr、BUN、TNF - α、IL - 1β、IL - 18、IL - 17A、IL - 17F、MCP - 1 水平显著升高（$P<0.01$），踝关节滑膜组织出现明显增生、水肿及大量炎症细胞浸润，踝关节滑膜组织 *METTL3*、*IGF2BP2* mRNA 和蛋白表达水平明显升高（$P<0.01$）。与模型组比较，穿山龙复方高、中、低剂量组及秋水仙碱组大鼠上述生化与病理指标均显著逆转（$P<0.05$）；同时穿山龙复方各剂量组及秋水仙碱组大鼠踝关节滑膜组织 *METTL3*、*IGF2BP2* mRNA 及蛋白表达水平显著降低（$P<0.05$）。结论：穿山龙复方可能通过调节 m^6A 甲基化修饰酶 METTL3 及识别酶 *IGF2BP2* mRNA 与蛋白表达水平，降低尿酸水平并缓解关节炎症反应，从而防治 GA。

关键词：穿山龙复方；痛风性关节炎；m^6A 甲基化；METTL3；IGF2BP2；大鼠

DOI：10.16368/j.issn.1674 - 8999.2026.10.346

中图分类号：R285.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674 - 8999(2026)10 - 2240 - 07

Mechanism of Chuanshanlong Compound Formula in Regulating m^6A Methylation Proteins METTL3 and IGF2BP2 to Prevent and Treat Gouty Arthritis

LIU Xiaoyu，FAN Shuyuan，BAI Fengxuan，XU Xiaomin，YU Donghua，LIU Changfeng，WANG Yu

Institute of Traditional Chinese Medicine，Heilongjiang University of Chinese Medicine，Harbin Heilongjiang China 150040

Abstract：Objective：This study aims to explore how Chuanshanlong compound formula regulates the m^6A methylation modification proteins METTL3 and IGF2BP2 to prevent and treat gouty arthritis（GA）. Methods：A GA model was established by using a combined administration of potassium oxonate solution and sodium urate solution. 48 SPF - grade SD rats were randomly divided into six groups：blank control，model，high - dose Chuanshanlong compound formula，medium - dose Chuanshanlong compound formula，low - dose

* **基金项目**：黑龙江省自然科学基金项目（LH2022H069）；黑龙江省卫生健康委员会科研课题项目（20220101041128）

作者简介：刘晓禹（2000 - ），女，辽宁朝阳人，硕士研究生，主要从事中药药性理论及药效物质基础相关研究。

✉**通信作者**：王宇，医学博士，副研究员，主要从事中药药性理论及药效物质基础相关研究。E - mail：hljucm. wangyu@ hotmail. com

Chuanshanlong compound formula, and colchicine group, with 8 rats in each group. After 7 days of gavage, serum uric acid (SUA), serum creatinine (SCr), and blood urea nitrogen (BUN) levels were measured using biochemical methods; ankle joint pathology was observed via HE staining; ELISA was used to detect serum tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β), interleukin-18 (IL-18), interleukin-17A (IL-17A), interleukin-17F (IL-17F), and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) levels; and RT-qPCR and Western blot were used to assess METTL3 and IGF2BP2 mRNA and protein expression in the rat ankle joint synovial tissue. Results: Compared with the blank group, the rats in the model group showed significantly increased levels of serum SUA, SCr, BUN, TNF-α, IL-1β, IL-18, IL-17A, IL-17F, and MCP-1 ($P<0.01$). The ankle joint synovial tissue displayed obvious hyperplasia, edema, and extensive infiltration of inflammatory cells. The mRNA and protein expression levels of *METTL3* and *IGF2BP2* in the ankle joint synovial tissue were significantly elevated ($P<0.01$). Compared with the model group, the high, medium, and low doses of Chuanshanlong compound formula and the colchicine group showed significant reversal of these biochemical and pathological indicators ($P<0.05$); meanwhile, the mRNA and protein expression levels of *METTL3* and *IGF2BP2* in the ankle joint synovial tissue of rats in all Chuanshanlong compound formula doses and the colchicine group were significantly reduced ($P<0.05$). Conclusion: Chuanshanlong compound formula may reduce uric acid levels and alleviate joint inflammation by regulating the m^6A methylation enzyme *METTL3* and the reader enzyme *IGF2BP2* mRNA and protein expression, thereby helping to prevent and treat gouty arthritis.

Key words: Chuanshanlong compound formula; gouty arthritis; m^6A methylation; METTL3; IGF2BP2; rat

痛风性关节炎(gouty arthritis, GA)是一种临床常见的炎症性代谢性疾病,其发生发展与炎症反应密切相关。当机体内尿酸过量生成或排泄不足时,可导致高尿酸血症(hyperuricemia, HUA),并促进单钠尿酸盐(monosodium urate, MSU)晶体的形成[1]。这些晶体可被单核细胞吞噬,并通过多种信号转导途径诱导细胞分泌白细胞介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)等炎症因子,从而导致 GA 急性发作[2]。因此,HUA 被认为是引发 GA 的重要危险因素。近年来,GA 发病率逐年攀升,发病人群亦逐渐趋于年轻化,并与性别、饮食习惯、生活方式等因素密切相关[3]。其症状表现为患处红肿发热、剧烈疼痛、行动不便等,具有间歇性、反复发作等特点[4],给患者的身心健康造成极大困扰。目前,临床常用的治疗药物包括别嘌呤醇、非布司他及非甾体抗炎药等,但长期服用可引起肾损伤、高血压及心血管疾病等不良反应[5]。因此,寻找高效安全的 GA 治疗药物具有重要的临床意义。

GA 归属于中医“痹证”范畴,多因外受风寒湿邪侵袭,加之患者多喜静恶动、偏嗜肥甘厚腻之品而发病[6]。穿山龙复方是临床治疗 GA 的常用方剂,由穿山龙、车前子、山慈菇组成,具有通络降浊、清热解毒、抗炎镇痛等功效[7]。本课题组前期研究发现,穿山龙复方可通过抑制 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)/髓样分化因子 88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)/核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)信号通路缓解 HUA 合并 GA 模型大鼠的急性炎症反应[8]。穿山龙的活性成分薯蓣皂苷亦可通过调节基质细胞衍生因子 1(stromal cell-derived factor 1, SDF-1)/CXC 趋化因子受体 4(CXC chemokine receptor type 4, CXCR4)和 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)通路对 MSU 晶体诱导的 GA 大鼠发挥治疗作用[9]。

N^6-甲基腺苷(N^6-methyladenosine modification, m^6A)修饰是真核生物中最普遍的表观遗传标记,其调节机制受到甲基化酶[如甲基转移酶样(methyltransferase-like, METTL)蛋白 3/14、肾母细胞瘤 1-相关蛋白(Wilms tumor 1 associated protein, WTAP)等]、去甲基化酶[如脂肪和肥胖相关蛋白(fat-mass and obesity-associated protein, FTO)、烷基化修复同源物 5(alkylation repair homolog protein, ALKBH)等]及甲基化识别酶[如 YTH 结构域 N^6-甲基腺嘌呤 RNA 结合蛋白(YTH domain-containing family protein, YTHDF)F1/2/3、胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白(insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein, IGF2BP)1/2/3 等]的共同调控[10],参与自身免疫[11]、炎症[12]及肿瘤[13]等多种生理病理过程。研究发现,METTL3 与 IGF2BP2 在关节炎症中具有重要作用。Shi 等[14]发现,METTL3 可能通过 NF-κB 信号通路影响佐剂诱导性关节炎大鼠滑膜组织的炎症反应及成纤维细胞样滑膜细胞的迁移与侵袭。METTL3/IGF2BP2 轴可通过上调含血小板反应蛋白基序的去整合素金属蛋白酶 12(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 12, ADAMTS12)表达,增强信号转导与转录激活因子 1(signal transducer and activator of transcription 1, STAT1)的稳定性与表达,从而加剧

关节炎症进展[15]。另有研究表明，METTL3 可通过增强 TGF－β 激活激酶 1 结合蛋白 3（TGF－β－activated kinase 1 binding protein 3，TAB3）m^6A 甲基化促进肾脏炎症及损伤，并通过 IGF2BP2 依赖的机制增加其 RNA 稳定性，二者共同参与调节炎症反应[16]。然而，目前关于 m^6A 修饰在 GA 发病机制中的研究仍较少。因此，本研究以 m^6A 甲基化修饰为切入点，探讨穿山龙复方治疗 HUA 介导的 GA 的作用机制，以期为临床治疗提供新思路。

1　材料

1.1　动物　SPF 级雄性 SD 大鼠 48 只，体质量 180～220 g，购自辽宁长生生物技术有限公司，动物生产许可证号：SCXK（黑）2018－0007。大鼠饲养于黑龙江中医药大学中医药研究院动物室，环境温度 20～25 ℃、相对湿度（55±5）%，12 h/12 h 光暗周期交替，适应性饲养 1 周后开始实验。本研究经黑龙江中医药大学伦理委员会审核批准，伦理审批号：2024053116。

1.2　药物与试剂　穿山龙、车前子、山慈菇饮片（河北全泰药业有限公司，批号均为冀 20190009）；氧嗪酸钾、尿酸钠（上海阿拉丁生化科技股份有限公司，批号：H2017152、H2026116）；聚山梨酯 80（天津市博迪化工有限公司，批号：津 Q/HG. 3020－99）；秋水仙碱（西双版纳版纳药业有限责任公司，批号：220703）；HE 染色剂（北京索莱宝科技有限公司，批号：G1120）；肿瘤坏死因子－α（tumor necrosis factor－α，TNF－α）、IL－1β、白细胞介素－18（interleukin－18，IL－18）、白细胞介素－17A（interleukin－17A，IL－17A）、白细胞介素－17F（interleukin－17F，IL－17F）、单核细胞趋化蛋白－1（monocyte chemoattractant protein－1，MCP－1）ELISA 试剂盒（南京建成生物工程研究所，批号：H052－1－2、H002－1－2、H015－1－2、H014－2、H014－3、H115－1－2）；逆转录试剂盒、实时荧光定量 PCR 测定试剂盒［宝日医生物技术（北京）有限公司，批号：RR092A、CN830A］；兔抗鼠 METTL3 抗体、兔抗鼠 IGF2BP2 抗体（武汉三鹰生物技术有限公司，批号：15073－1－AP、11601－1－AP）；兔抗鼠 GAPDH 抗体、山羊抗兔二抗（武汉塞维尔生物技术有限公司，批号：GB15002－100、G1213）。

1.3　仪器　电子天平（中国天马股份有限责任公司）；离心机、M2000Pro 型酶标仪（美国 ThermoFisher Scientific 公司）；冻干机（德国 Marin Christ 公司）；－80 ℃冰箱（青岛海尔生物医疗股份有限公司）；G240 型全自动生化分析仪（深圳雷杜生命科学股份有限公司）；Eclipse Ci－L 型正置光学显微镜（日本 Nikon 公司）；QuantStudio 3 实时荧光定量 PCR 仪（沃特世科技有限公司）；Mini－PROTEAN 型电泳仪、DYC－ZY2 型转膜仪（美国 Bio－Rad 公司）；Chemi Scope 6200 型化学发光成像系统（上海勤翔科学仪器有限公司）；EG1160 型石蜡包埋机、HS－2205 型病理组织切片机（德国 Leica 公司）。

2　方法

2.1　穿山龙复方冻干粉制备　将穿山龙、车前子、山慈菇饮片按 3∶2∶2 的比例混合后，加入 10 倍量蒸馏水加热回流提取 2 h，重复 3 次，合并滤液。滤液经旋转蒸发仪于 55 ℃减压浓缩至质量浓度 0.5 g·mL^{-1}，冷冻干燥，即得穿山龙复方冻干粉[17]。

2.2　主要试剂制备　将秋水仙碱片研磨成粉末，加入生理盐水配制成质量浓度 0.03 g·L^{-1}的秋水仙碱溶液。称取氧嗪酸钾粉末，加入生理盐水配制成体积分数 3% 的氧嗪酸钾溶液。称取尿酸钠粉末 1.25 g，加入 5 mL 聚山梨酯 80 及 45 mL 生理盐水，配制成质量浓度 0.025 g·mL^{-1}的尿酸钠溶液。

2.3　动物分组、造模与给药　将 48 只 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、穿山龙复方高剂量组（0.8 g·kg^{-1}）、穿山龙复方中剂量组（0.4 g·kg^{-1}）、穿山龙复方低剂量组（0.2 g·kg^{-1}）及秋水仙碱组（0.3 mg·kg^{-1}），每组 8 只。各药物组以相应剂量灌胃，空白组与模型组灌胃生理盐水 10 mL·kg^{-1}，每日 1 次，连续 7 d。

除空白组外，其余大鼠根据文献［18］建立 HUA 合并 GA 模型，具体方法为：腹腔注射 3% 氧嗪酸钾溶液，每日 2 次，连续 1 周；随后向大鼠右后肢踝关节后侧关节腔中一次性注入 0.2 mL 尿酸钠溶液，关节囊对侧鼓起视为造模成功。造模过程中大鼠给予 10% 酵母饲料喂养，灌胃与造模同时进行。

2.4　样本制备　末次灌胃后，采用 3% 异戊巴比妥钠溶液腹腔注射麻醉大鼠，腹主动脉采血，室温静置 1 h，3 500 r·min^{-1}离心 10 min，取上层血清，－80 ℃冰箱保存备用。采血完毕后于冰上迅速摘取大鼠双侧踝关节，一部分固定于 4% 多聚甲醛溶液中用于病理学检测，另一部分置于冻存管中，－80 ℃冰箱保存用于分子生物学检测。

2.5　大鼠肾功能与炎症因子水平检测　采用全自动生化分析仪检测大鼠血清尿酸（serum uric acid，

SUA)、肌酐(serum creatinine,SCr)、尿素氮(blood urea nitrogen,BUN)水平,严格按照各试剂盒说明书操作。采用 ELISA 试剂盒检测大鼠血清 TNF－α、IL－1β、IL－18、IL－17A、IL－17F、MCP－1 水平,严格按照各试剂盒说明书操作。

2.6　HE 染色观察大鼠踝关节软骨及滑膜组织病理学变化　取固定于 4% 多聚甲醛溶液中的大鼠踝关节组织,清水冲洗后进行脱钙、修剪、脱水处理,石蜡包埋,制备厚度为 4 μm 的切片,进行 HE 染色、封片,最后在显微镜下观察踝关节组织病理情况。

2.7　RT－qPCR 检测大鼠踝关节滑膜组织 *METTL3*、*IGF2BP2* mRNA 表达水平　取大鼠踝关节滑膜组织,采用 Trizol 法提取总 RNA,反转录合成 cDNA。RT－qPCR 扩增条件为:95 ℃预热 30 s,95 ℃变性 5 s、60 ℃退火 31 s,40 个循环,95 ℃扩增 15 s。以 *GAPDH* 为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因 *METTL3*、*IGF2BP2* 表达水平,每个待测样本重复 3 次。引物由黑龙江箭速基因科技有限公司合成,引物序列见表 1。

表 1　引物序列

基因	序列(5′－3′)	长度/bp
METTL3	F:AAGAAACAACTGGACTCGCT	120
	R:TGGGCTATCACTACGGAAGG	
IGF2BP2	F:AACGCCAGATGAGAACGAGG	126
	R:TGAGGGTATTTCTGCGCCTG	
GAPDH	F:GGAGAGTGTTTCCTCGTCCC	120
	R:ATGAAGGGGTCGTTGATGGC	

2.8　Western blot 检测大鼠踝关节滑膜组织 METTL3、IGF2BP2 蛋白表达水平　取大鼠踝关节滑膜组织,加入蛋白裂解液和蛋白酶抑制剂,低温研磨提取总蛋白,离心后取上清,采用 BCA 法测定蛋白浓度,煮沸变性。制备凝胶,电泳后转至 PVDF 膜上,封闭后分别加入 METTL3(1∶500)、IGF2BP2(1∶2 000)抗体,4 ℃孵育过夜。次日弃去一抗,TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,加入二抗(1∶5 000)孵育 1 h,洗膜后采用化学发光法显影。以 GAPDH 为内参蛋白,采用 Image J 软件测量条带灰度值,计算目的蛋白的相对表达水平。

2.9　统计学方法　采用 SPSS 23.0 统计软件分析数据,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。对于符合正态分布的数据,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较若方差齐采用 *LSD* 检验,方差不齐采用 *Tamhane's T3* 检验;不符合正态分布的数据,采用非参数秩和检验。$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3　结果

3.1　穿山龙复方对 GA 大鼠血清 SUA、SCr、BUN 水平的影响　与空白组比较,模型组大鼠血清 SUA、SCr、BUN 水平显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,穿山龙复方各剂量组与秋水仙碱组大鼠血清 SUA、SCr、BUN 水平显著降低($P<0.01$),并呈剂量依赖性,以穿山龙复方高剂量组效果最佳,见表 2。

表 2　各组大鼠血清 SUA、SCr、BUN 水平比较　($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SUA(c/mmol·L^{-1})	SCr(c/μmol·L^{-1})	BUN(c/mmol·L^{-1})
空白组	8	0.022 ± 0.004	37.451 ± 2.947	8.430 ± 0.856
模型组	8	0.112 ± 0.016$^{\#\#}$	52.120 ± 3.968$^{\#\#}$	14.297 ± 1.203$^{\#\#}$
秋水仙碱组	8	0.038 ± 0.005**	40.481 ± 2.363**	9.450 ± 0.704**
穿山龙复方低剂量组	8	0.043 ± 0.007**	43.609 ± 4.396**	11.123 ± 1.139**
穿山龙复方中剂量组	8	0.041 ± 0.006**	41.734 ± 2.944**	10.142 ± 1.018**
穿山龙复方高剂量组	8	0.040 ± 0.006**	40.095 ± 4.696**	9.468 ± 0.729**

注:与空白组比较,##$P<0.01$;与模型组比较,$^{**}P<0.01$。

3.2　穿山龙复方对 GA 大鼠血清 TNF－α、IL－1β、IL－18、IL－17A、IL－17F、MCP－1 水平的影响　与空白组比较,模型组大鼠血清 TNF－α、IL－1β、IL－18、IL－17A、IL－17F、MCP－1 水平显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,穿山龙复方各剂量组与秋水仙碱组大鼠血清 TNF－α(穿山龙复方低剂量组除外)、IL－1β、IL－18、IL－17A、IL－17F、MCP－1 水平显著降低($P<0.05$),并呈剂量依赖性,以穿山龙复方高剂量组效果最佳,见表 3、表 4。

3.3　穿山龙复方对 GA 大鼠踝关节软骨及滑膜组织病理形态的影响　HE 染色显示,空白组大鼠踝关节滑膜组织结构清晰,关节软骨表面光滑,软骨细胞形态结构正常,未见明显骨侵蚀,两侧滑膜无增生及炎症细胞浸润。模型组大鼠踝关节两侧软骨及滑膜组织轻度增生伴重度水肿,结缔组织排列疏松,可见大量中性粒细胞呈弥漫性浸润,多见不规则针状

空隙，提示 GA 模型复制成功。与模型组比较，穿山龙复方低剂量组大鼠踝关节滑膜组织炎症细胞浸润现象有所减轻；穿山龙复方中、高剂量组及秋水仙碱组大鼠踝关节滑膜组织中炎症细胞浸润程度显著降低，针状空隙明显减少，组织结构趋于正常，滑膜组织未见明显增生，见图 1。

表 3　各组大鼠血清 TNF－α、IL－1β、IL－18 水平比较　（$\bar{x} \pm s$，ng·L^{-1}）

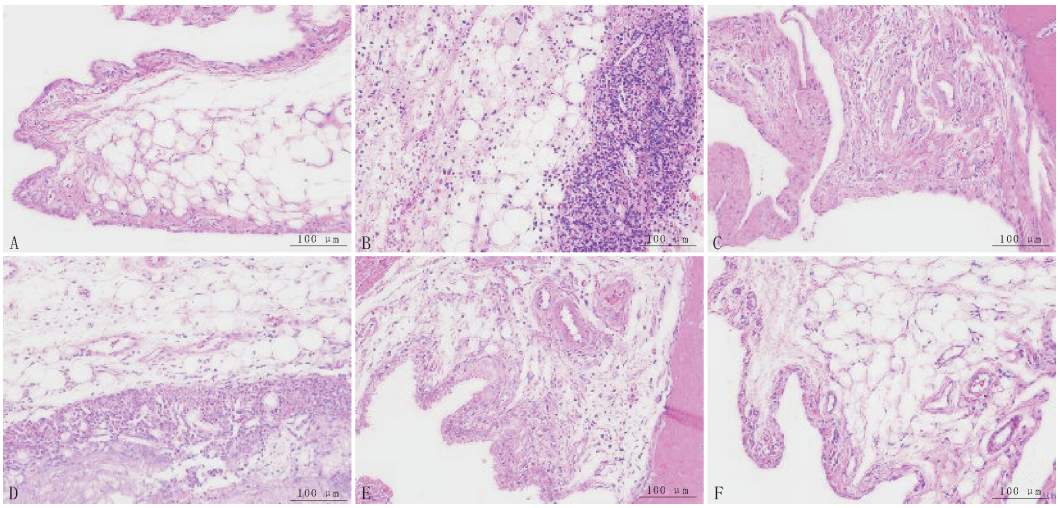
组别	n	TNF－α	IL－1β	IL－18
空白组	8	439.60 ± 53.47	99.53 ± 11.88	67.66 ± 4.55
模型组	8	567.42 ± 59.27$^{\#\#}$	146.33 ± 8.80$^{\#\#}$	93.98 ± 3.01$^{\#\#}$
秋水仙碱组	8	474.21 ± 68.62*	122.04 ± 10.48**	75.02 ± 5.46**
穿山龙复方低剂量	8	516.58 ± 44.27	130.66 ± 5.72**	85.04 ± 2.52**
穿山龙复方中剂量	8	486.26 ± 62.23*	124.09 ± 5.06**	78.35 ± 3.17**
穿山龙复方高剂量	8	455.64 ± 56.25**	111.90 ± 5.92**	71.75 ± 4.96**

注：与空白组比较，##P < 0.01；与模型组比较，* P < 0.05，** P < 0.01。

表 4　各组大鼠血清 IL－17A、IL－17F、MCP－1 水平比较　（$\bar{x} \pm s$，ng·L^{-1}）

组别	n	IL－17A	IL－17F	MCP－1
空白组	8	292.63 ± 27.31	7.47 ± 0.42	108.36 ± 16.55
模型组	8	461.81 ± 40.59$^{\#\#}$	10.13 ± 1.05$^{\#\#}$	169.35 ± 23.41$^{\#\#}$
秋水仙碱组	8	352.01 ± 49.83**	8.28 ± 0.58**	121.44 ± 15.30**
穿山龙复方低剂量组	8	390.10 ± 31.10**	9.26 ± 0.87**	144.93 ± 14.88**
穿山龙复方中剂量组	8	349.27 ± 36.47**	8.65 ± 0.51**	128.58 ± 10.46**
穿山龙复方高剂量组	8	323.54 ± 50.61**	7.97 ± 0.55**	114.38 ± 15.13**

注：与空白组比较，##P < 0.01；与模型组比较，** P < 0.01。



注：A：空白组；B：模型组；C：秋水仙碱组；D：穿山龙复方低剂量组；E：穿山龙复方中剂量组；F：穿山龙复方高剂量组。

图 1　各组大鼠踝关节滑膜组织 HE 染色图（200 ×）

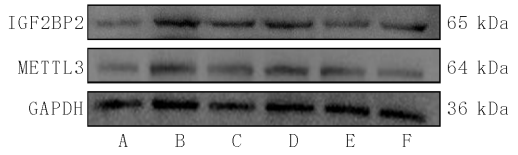
3.4　穿山龙复方对 GA 大鼠踝关节滑膜组织 *METTL3*、*IGF2BP2* mRNA 表达的影响　RT－qPCR 结果显示，与空白组比较，模型组大鼠踝关节滑膜组织 *METTL3*、*IGF2BP2* mRNA 表达水平显著升高（P < 0.01）。与模型组比较，秋水仙碱组及穿山龙复方各剂量组大鼠踝关节滑膜组织 *METTL3*、*IGF2BP2* mRNA 表达水平显著降低（P < 0.05）；其中，穿山龙复方高剂量组对 *METTL3* mRNA 表达的下调作用最为显著，穿山龙复方中剂量组对 *IGF2BP2* mRNA 表达的下调作用最为显著，见表 5。

表 5　各组大鼠踝关节滑膜组织 *METTL3*、*IGF2BP2* mRNA 表达水平比较　（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	*METTL3* mRNA	*IGF2BP2* mRNA
空白组	3	1.02 ± 0.18	1.06 ± 0.39
模型组	3	1.70 ± 0.15$^{\#\#}$	4.56 ± 0.98$^{\#\#}$
秋水仙碱组	3	1.19 ± 0.08**	3.22 ± 0.07*
穿山龙复方低剂量组	3	1.39 ± 0.06*	3.38 ± 0.07*
穿山龙复方中剂量组	3	1.33 ± 0.15*	2.26 ± 0.25**
穿山龙复方高剂量组	3	1.11 ± 0.17**	3.04 ± 0.10*

注：与空白组比较，##P < 0.01；与模型组比较，* P < 0.05，** P < 0.01。

3.5　穿山龙复方对 GA 大鼠踝关节滑膜组织 METTL3、IGF2BP2 蛋白表达的影响　Western blot 结果显示，与空白组比较，模型组大鼠踝关节滑膜组织 METTL3、IGF2BP2 蛋白表达水平显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，秋水仙碱组及穿山龙复方各剂量组大鼠踝关节滑膜组织 METTL3、IGF2BP2 蛋白表达水平显著降低（$P<0.05$）；其中，穿山龙复方高剂量组对 METTL3 蛋白表达的下调作用最佳，穿山龙复方中剂量组对 IGF2BP2 蛋白表达的下调作用最佳，见图 2、表 6。



注：A：空白组；B：模型组；C：秋水仙碱组；D：穿山龙复方低剂量组；E：穿山龙复方中剂量组；F：穿山龙复方高剂量组。

图 2　各组大鼠踝关节滑膜组织 METTL3、IGF2BP2 蛋白条带图

表 6　各组大鼠踝关节滑膜组织 METTL3、IGF2BP2 蛋白表达水平比较　（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	METTL3	IGF2BP2
空白组	3	0.47 ± 0.04	0.24 ± 0.02
模型组	3	1.07 ± 0.03##	1.06 ± 0.06##
秋水仙碱组	3	0.79 ± 0.05**	0.78 ± 0.08**
穿山龙复方低剂量组	3	0.88 ± 0.03*	0.82 ± 0.08*
穿山龙复方中剂量组	3	0.76 ± 0.04**	0.58 ± 0.06**
穿山龙复方高剂量组	3	0.58 ± 0.05**	0.81 ± 0.07*

注：与空白组比较，##$P<0.01$；与模型组比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$。

4　讨论

GA 通常由于 HUA 未得到及时治疗、MSU 晶体在关节处过量沉积所致。本研究采用氧嗪酸钾与尿酸钠溶液联合用药方式成功复制 HUA 介导的 GA 大鼠模型，并选用临床常用方剂穿山龙复方进行干预。结果显示，与空白组比较，模型组大鼠血清 SUA、SCr、BUN 水平及 TNF－α、IL－1β、IL－18、IL－17A、IL－17F、MCP－1 水平显著升高，关节滑膜组织出现明显结缔组织疏松及大量炎症细胞浸润；经穿山龙复方干预后，大鼠血清尿酸水平显著降低，炎症反应得到明显缓解。病理结果亦显示，穿山龙复方中、高剂量组大鼠关节滑膜组织炎症细胞浸润现象明显减轻，滑膜组织结构趋于正常，提示穿山龙复方对 GA 具有较好的治疗作用。

m^6A 修饰是人类 mRNA 中最为常见的修饰类型，可通过调节糖、脂质代谢及胰岛素抵抗相关的慢性炎症反应，在代谢性疾病的发生发展中发挥关键作用[19]。METTL3 是首个被发现的 m^6A 甲基转移酶，也是甲基转移酶复合物的核心组分[20]。IGF2BP 家族（含 IGF2BP1/2/3）是最常见的 m^6A 阅读器之一，能够特异性识别 mRNA 转录本中的 m^6A 修饰，并促进这些 mRNA 的稳定和翻译，从而影响正常和应激条件下的基因表达[21]。研究表明，沉默 m^6A 甲基转移酶 METTL3 可抑制关节细胞内炎症细胞因子水平及 NF－κB 信号传导，减少巨噬细胞增殖及 IL－6、TNF－α 等炎症因子的释放，从而降低机体炎症水平[22]。此外，在炎症性肠病中发现，GA 发病的关键分子 NLRP3 的表达亦受 METTL3 介导的生物途径调控[23]。研究表明，IGF2BP2 可通过对 IL－17 和 TNF 介导的 CCAAT/增强子结合蛋白（CCAAT/enhancer binding protein，C/EBP）转录因子轴的调控而参与自身免疫性炎症的发生[24]。在胶原诱导性关节炎大鼠的滑膜组织中，过表达 IGF2BP2 可缓解关节炎大鼠的滑膜增生和软骨破坏，并抑制类风湿关节炎成纤维细胞样滑膜细胞的迁移和侵袭[25]。吕攀[26]通过比较健康者、痛风急性期及间歇期患者外周血单核细胞中 METTL3、IGF2BP2 的表达发现，痛风患者上述指标表达水平显著高于健康者，并证实 METTL3 在痛风发病中具有促进炎症反应的作用。本研究结果显示，GA 大鼠踝关节中 m^6A 甲基化酶 METTL3 及识别酶 *IGF2BP2* mRNA 与蛋白表达水平均显著升高，与既往研究结果一致；经穿山龙复方干预后，METTL3、IGF2BP2 表达水平均显著回调，提示 m^6A 甲基化修饰参与了 GA 的发病过程，而穿山龙复方可能通过调控 m^6A 甲基化修饰发挥治疗 GA 的作用。

综上所述，穿山龙复方可能通过调节 m^6A 甲基化修饰酶 METTL3 及识别酶 *IGF2BP2* mRNA 与蛋白表达水平，降低尿酸水平并缓解关节炎症反应，从而防治 GA。

参考文献：

[1] Dalbeth N, Gosling A L, Gaffo A, et al. Gout[J]. Lancet, 2021, 397(10287): 1843－1855.

[2] 贾昱晗，高天舒，裴乃琪，等. 痛风性关节炎发病机制的研究进展[J]. 药学研究，2024，43(7)：684－688.

[3] Song J, Jin C Y, Shan Z Y, et al. Prevalence and risk factors of hyperuricemia and gout: a cross－sectional survey from 31

provinces in mainland China[J]. J Transl Int Med,2022,10(2):134 – 145.
[4]刘小波,于小雅,戴惠咛,等. 痛风关节炎大鼠模型建立及乌鸡白凤软胶囊对痛风性关节炎干预研究[J]. 中国实验诊断学,2024,28(5):589 – 594.
[5]Liu F F,Bai Y M,Wan Y,et al. Mechanism of flavonoids in the treatment of gouty arthritis (Review)[J]. Mol Med Rep,2024,30(2):132.
[6]王明智,叶政锋,魏合伟. 魏合伟临证辨治痛风性关节炎经验介绍[J]. 新中医,2024,56(16):229 – 234.
[7]徐晓敏,李姗姗,卢芳. 穿山龙复方水煎液对痛风性关节炎合并高尿酸血症诱导痛风性肾病大鼠肾脏的保护作用[J]. 药物评价研究,2022,45(4):663 – 672.
[8]卢芳,蒋鑫,徐晓敏,等. 分子对接与体内验证联合探讨穿山龙复方对痛风模型大鼠 TLR4/MyD88/NF – kB 信号通路的影响[J]. 中药药理与临床,2023,39(8):25 – 31.
[9]Lu F,Liu L,Yu D H,et al. Therapeutic effect of Rhizoma Dioscoreae Nipponicae on gouty arthritis based on the SDF – 1/CXCR 4 and p38 MAPK pathway:an in vivo and in vitro study[J]. Phytother Res,2014,28(2):280 – 288.
[10]Chen X X,Xu M,Xu X N,et al. METTL14 – mediated N6 – methyladenosine modification of SOX4 mRNA inhibits tumor metastasis in colorectal cancer[J]. Mol Cancer,2020,19(1):106.
[11]Li N,Hui H,Bray B,et al. METTL3 regulates viral m6A RNA modification and host cell innate immune responses during SARS – CoV – 2 infection[J]. Cell Rep,2021,35(6):109091.
[12]Li Q,Yu L W,Gao A,et al. METTL3 (methyltransferase like 3) – dependent N6 – methyladenosine modification on Braf mRNA promotes macrophage inflammatory response and atherosclerosis in mice[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2023,43(5):755 – 773.
[13]An Y Y,Duan H. The role of m6A RNA methylation in cancer metabolism[J]. Mol Cancer,2022,21(1):14.
[14]Shi W,Zheng Y,Luo S,et al. METTL3 promotes activation and inflammation of FLSs through the NF – κB signaling pathway in rheumatoid arthritis[J]. Front Med,2021,8:607585.
[15]Yang S,Zhou X P,Jia Z,et al. Epigenetic regulatory mechanism of ADAMTS12 expression in osteoarthritis[J]. Mol Med,2023,29(1):86.
[16]Wang J N,Wang F,Ke J,et al. Inhibition of METTL3 attenuates renal injury and inflammation by alleviating TAB3 m6A modifications via IGF2BP2 – dependent mechanisms[J]. Sci Transl Med,2022,14(640):eabk2709.
[17]曹惠甯,徐晓敏,卢芳,等. 基于 NLRP3/GSDMD 信号轴探究穿山龙复方调控痛风性关节炎细胞焦亡的作用机制[J]. 中国中药杂志,2026,51(13):3784 – 3791.
[18]刘亚飞,陈哲,涂胜豪. 加味四妙方对高尿酸血症合并急性痛风性关节炎模型大鼠踝关节组织 NLRP3mRNA 及 IL – 1β、TNF – α 表达的影响[J]. 中医杂志,2020,61(14):1268 – 1272.
[19]钟慧,卿即娜,尹凯. m^6A 甲基化与代谢性疾病的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志,2020,28(11):1002 – 1008.
[20]Song B M,Zeng Y,Cao Y Q,et al. Emerging role of METTL3 in inflammatory diseases:mechanisms and therapeutic applications[J]. Front Immunol,2023,14:1221609.
[21]Huang H L,Weng H Y,Sun W J,et al. Recognition of RNA N6 – methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation[J]. Nat Cell Biol,2018,20(3):285 – 295.
[22]Wang J H,Yan S S,Lu H Y,et al. METTL3 attenuates LPS – induced inflammatory response in macrophages via NF – κB signaling pathway[J]. Mediators Inflamm,2019,2019:3120391.
[23]Zhao J,Zhao Z B,Ying P,et al. METTL3 – mediated m6 A modification of circPRKAR1B promotes Crohn's colitis by inducing pyroptosis via autophagy inhibition[J]. Clin Transl Med,2023,13(9):e1405.
[24]Bechara R,Amatya N,Bailey R D,et al. The m6A reader IMP2 directs autoimmune inflammation through an IL – 17 – and TNFα – dependent C/EBP transcription factor axis[J]. Sci Immunol,2021,6(61):eabd1287.
[25]Nan Y Y,Chen M H,Wu W J,et al. IGF2BP2 regulates the inflammation of fibroblast – like synoviocytes via GSTM5 in rheumatoid arthritis[J]. Cell Death Discov,2024,10(1):215.
[26]吕攀. m6A 修饰相关基因 METTL3、IGF2BP2 在痛风炎症中的作用研究[D]. 南充:川北医学院,2023.

收稿日期:2026 – 05 – 23
编辑:刘凯歌