植物乳杆菌 HG20 对大鼠类风湿关节炎的改善作用

刘春红[1]，林丽[2]，肖茹雪[2]，崔伟东[2]，赵子健[3]，李盛钰[3]

（1.长春大学特殊教育学院，吉林长春 130022）（2.吉林省命之元生物科技有限公司，吉林长春 130022）

（3.吉林省农业科学院农产品加工研究所，吉林长春 130033）

摘要：为了获得一株对类风湿性关节炎具有辅助治疗作用的乳酸菌新菌株，本研究采用形态学观察、API50 CHL 糖发酵实验、16S rDNA 和 *pheS* 基因序列比对，对一株分离自黄瓜表面的乳杆菌新菌株 HG20 进行鉴定。通过踝关节肿胀程度、血清炎症因子水平和类风湿相关指标，评价菌株 HG20 对Ⅱ-型胶原诱导的类风湿性关节炎模型大鼠的治疗作用。结果表明：HG20 菌株被鉴定为植物乳杆菌（*Lactobacillus plantarum*）。动物实验结果显示，给药 21 d 后，HG20 组大鼠踝关节肿胀周长由 3.98 cm 降低至 1.31 cm（65.52%）；足趾容积由 6.61 mL 降低至 2.35 mL（61.28%）。与模型组比较，植物乳杆菌 HG20 可显著降低血清炎症因子 IL-1β（38.26%）、TNF-α（52.58%）水平，提高抗炎因子 IL-10 表达（55.38%），减少 C 反应蛋白（CRP 12.89%）、免疫球蛋白 IgG（46.07%）和 IgM（34.29%）水平。综上所述，植物乳杆菌 HG20 通过降低炎症反应和调节自身免疫，对类风湿性关节炎具有辅助治疗作用，是一株有潜在应用前景的益生菌新菌株。

关键词：乳酸菌；植物乳杆菌；炎症；类风湿关节炎

文章篇号：1673-9078(2021)03-1-6 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.3.0711

Improvement of Rheumatoid Arthritis with *Lactobacillus plantarum* HG20 in Rats

LIU Chun-hong[1], LIN Li[2], XIAO Ru-xue[2], CUI Wei-dong[2], ZHAO Zi-jian[3], LI Sheng-yu[3]

(1.Special Education College, Changchun University, Changchun 130022, China)

(2.Jilin Mingzhiyuan Biotechnology Co. Ltd., Changchun 130022, China)

(3.Institute of Agro-Food Technology, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: In order to obtain a new strain of lactic acid bacteria with adjuvant therapy of rheumatoid arthritis, morphological observation, API50 CHL sugar fermentation experiment, 16S rDNA and *pheS* gene sequence comparison were performed to isolate a strain HG20 from the surface of cucumber for further identification. The therapeutic effect of the HG20 strain on rheumatoid arthritis model rats induced by type II collagen was evaluated according to the indices including the degree of ankle swelling, levels of serum inflammatory factor, and rheumatoid-related indicators. The results showed that HG20 was identified as a *Lactobacillus plantarum* strain. Animal experiment results showed that after 21 days of administration, the ankle circumference of rats in the HG20 group decreased from 3.98 cm to 1.31 cm (by 65.52%), and the toe volume decreased from 6.61 mL to 2.35 mL (by 61.28%).Compared with the model group, *L. plantarum* HG20 could significantly reduce the levels of serum inflammatory cytokines (IL-1β by 38.26%; TNF-α by 52.58%), increase the expression of anti-inflammatory factor (IL-10 by 55.38%),reduce C-response protein (CRP by 12.89%) and immunoglobulin (IgG by 46.07%; IgM by 34.29%). In summary, *L. plantarum* HG20 has adjuvant therapeutic effects on rheumatoid arthritis through reducing inflammatory response and regulating autoimmunity. It is a new probiotic strain with potential application prospects.

引文格式：

刘春红,林丽,肖茹雪,等.植物乳杆菌 HG20 对大鼠类风湿关节炎的改善作用[J].现代食品科技,2021,37(3):1-6

LIU Chun-hong, LIN Li, XIAO Ru-xue, et al. Improvement of rheumatoid arthritis with *Lactobacillus plantarum* HG20 in rats [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(3): 1-6

收稿日期：2020-07-27

基金项目：吉林省农业科技创新工程重大项目（CXGC2017ZD011）；现代农业产业技术体系专项资金（CARS-36）；吉林省农业科技创新工程人才基金项目（C92070310）

作者简介：刘春红（1976-），女，副教授，研究方向：中医基础理论研究和教学

通讯作者：李盛钰（1977-），男，博士，研究员，研究方向：功能性益生菌和发酵食品

Key words: lactic acid bacteria; *Lactobacillus plantarum*; inflammation; rheumatoid arthritis

类风湿性关节炎（Rheumatoid arthritis，RA）是一种以关节疼痛、关节囊肿胀、病变等为主要症状的慢性自身免疫性疾病，其发生发展与大量炎症细胞因子和炎症介质的释放有关，主要病理变化为慢性滑膜炎，并逐渐表现为软骨以及骨破坏，最终导致患者发生关节畸形甚至关节功能丧失，是我国造成劳动力丧失和致残的主要病因之一[1]。临床上应用非甾体类抗炎药、糖皮质激素、甲氨蝶呤等药物治疗，主要以减轻疼痛、控制关节炎的发展速度和防止关节软骨损害为主。尽管这些药物可在一定程度上改善类风湿性关节炎的症状，但长期使用会造成抑制机体免疫功能、诱发类风湿性关节炎患者感染等严重的不良反应[2]。

最新的研究证据表明，类风湿关节炎的发展与肠道微生物群的改变关系十分密切[3,4]。乳杆菌是人类肠道中最重要的共生微生物之一，在调解肠道菌群平衡、改善肠道功能中发挥着重要作用[5]，其在调节自身免疫功能，特别是改善类风湿关节炎的作用研究越来越多的被关注。在一些类风湿性关节炎实验动物模型研究中，益生菌的使用改善了临床表现，减少了促炎细胞因子，增加了调节细胞因子。例如，鼠李糖乳杆菌 GG 活菌和死菌对 T 细胞依赖性实验性关节炎具有明显的预防和治疗作用[6]。在小鼠模型中，瑞士乳杆菌 SBT2171 的体内感染阻止了类风湿关节炎的发展[7]。另外，针对益生菌在治疗炎症和免疫缺陷疾病方面的疗效，随机对照临床试验证明，补充特定益生菌具有抗炎作用，有助于增加类风湿性关节炎患者的日常活动和缓解症状[8,9]。

目前，益生菌作为类风湿关节炎预防或治疗的一种潜在方法，尚未得到系统的研究，但其作用和机制正不断被揭示。利用益生菌作为辅助治疗被认为是治疗类风湿关节炎的一个有前途的方向。因此，本研究对自主分离的一株乳杆菌进行了鉴定，以Ⅱ-型胶原诱导大鼠类风湿性关节炎模型，通过踝关节肿胀程度、血清炎症细胞因子表达和类风湿相关指标的检测，初步评价了菌株对类风湿性关节炎的辅助治疗作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

API50 CHL 试剂盒，法国梅里埃公司；完全弗氏佐剂，美国 Sigma 公司；牛 II 型胶原，美国 Chondrex 公司；大鼠肿瘤坏死因子（TNF-α）、白介素 1β（IL-1β）、白介素 10（IL-10）、C 反应蛋白（CRP）、免疫球蛋白 G、免疫球蛋白 MELISA 试剂盒，江苏酶标生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

SQ810C 型高压灭菌器，日本 YAMATO 公司；ELx800 型全自动酶标仪，美国 BioTek 公司；SorvallEvolotion RC 型高速冷冻离心机，美国 Thermo 公司；BX51 显微镜，日本 Olympus 公司；Cary300 紫外可见分光光度计，美国 Varian 公司。

1.3 方法

1.3.1 菌株的分离与鉴定

菌株 HG20 是从市售新鲜黄瓜表面中分离得到的。经平板菌落形态观察，单菌落显微镜检、革兰氏染色、过氧化氢酶活性检测，初步判定为乳杆菌。

API50 CHL 碳水化合物发酵鉴定。根据生物梅里埃公司的 API50 CHL 鉴定试纸条对乳杆菌的碳水化合物发酵实验进行分析。具体操作过程参照试剂盒说明书和曲菲[10]的实验方法进行。

16S rDNA[11]和 *pheS* 基因[12]序列扩增和比对。采用 CTAB 法提取基因组 DNA，根据基因序列的保守区域分别设计 16S rDNA（27F：5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'、1492R：5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'）和 *pheS*（p-F：5'-CCGTGAAGAACTGGAACA-3'，p-R：5'-CCTAACCCAAAGGCAAAA-3'）引物，进行 PCR 扩增和产物测序后，通过 BLAST 将获得菌株 16S rDNA 和 *pheS* 序列与 GenBank 库中已知菌株的序列信息进行同源性比对分析，鉴定待测菌株；以 16S rDNA 和 *pheS* 序列同源性大于 99%为标准进行属种归类。利用 MEGA 5.0 软件中的 Neighbor-Joining 法构建待测菌株与模式菌株 16S rDNA 和 *pheS* 序列的系统发育树。

1.3.2 菌株活化及菌悬液的制备

将冻存菌株在 MRS 液体培养基中连续传代活化后，按 3%（*V/V*）接种于 MRS 液体培养基中，37 ℃静置培养 16 h，离心（4000 r/min，4 ℃，10 min），弃上清，灭菌生理盐水清洗菌体沉淀两次后，调整菌液浓度至 1.0×10^9 CFU/mL，4 ℃保存、备用。

1.3.3 动物分组及模型建立

清洁级 ICR 6~8 周龄雄性健康 SD 大鼠 30 只，体质量 180~200 g，购于长春市亿斯实验动物技术有限公司。适应性饲养 1 周后，随机分成 3 组：对照组、模型组和 HG20 组，每组 10 只。参照造模方法[13]并

稍加改动。配制造模剂：小牛软骨Ⅱ型胶原溶于 0.1 mol/L 乙酸中配制浓度为 2 mg/mL Ⅱ型胶原液，并按 1:1（*V*/*V*）比例与完全弗氏佐剂充分混合、乳化，于 4 ℃中保存备用。模型组和 HG20 组大鼠后足左、右侧足跖部酒精擦拭后，均皮内注射造模剂 50 μL。7 d 后，同样方法加强注射 1 次，加强注射后大鼠四肢足爪均严重肿胀，踝关节直径增长幅度≥2 mm 为造模成功。造模成功后，HG20 组灌胃 2 mL/d 浓度为 1.0×10^9 CFU/mL 的植物乳杆菌菌液，连续 21 d，对照组和模型组灌胃等量生理盐水。对照组、模型组和 HG20 组大鼠均正常饮食饮水。实验结束后，采用卷尺测量大鼠踝关节周长、采用排水法测量其足趾容积。各组大鼠心脏取血，离心（3000 r/min，4 ℃，15 min），收集血清分装、冻存备用。

1.3.4 血清生化指标测定

血清中 IL-10、IL-1*β*、TNF-*α*、IgG、IgM、CRP 水平测定按照试剂盒说明书操作进行。

1.4 数据统计分析

应用 SPSS 21.0 软件，数据用均值±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，组间比较采用 *t* 检验。*表示与模型组比较差异显著（$p<0.05$），**表示与模型组比较差异极显著（$p<0.01$）。

2 结果与分析

2.1 植物乳杆菌 HG20 的鉴定

2.1.1 菌株的形态学鉴定

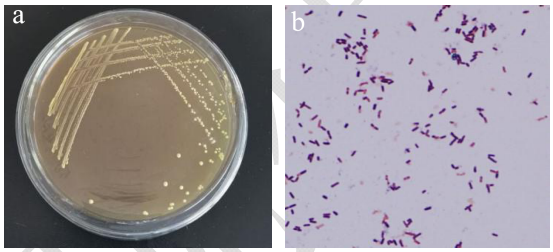

图 1 菌株 HG20 形态学鉴定

Fig.1 Morphological identification of strain HG20

注：a 为菌株 HG20 菌落形态照片，b 为菌株 HG20 革兰氏染色后显微镜检照片。

将活化 3 代的 HG20 菌株于固体 MRS 培养基上划线培养（37 ℃，72 h），观察菌落形态如图 1a，HG20 菌落呈乳白色、边缘整齐、表面光滑、圆形、凸起。挑取单菌落进行革兰氏染色，光学显微镜镜检结果见图 1b，菌株圆端呈直杆状，单个、成对或短链状。革兰氏染色结果为阳性。过氧化氢酶试验结果为阴性。综合分析上述结果，菌株 HG20 初步鉴定为乳杆菌。

2.1.2 API50 CHL 鉴定结果

利用 API50 CHL 碳水化合物发酵对 HG20 菌株进行鉴定。结果如表 1 所示，将 49 种碳水化合物发酵结果输入 API 数据库进行比对分析，该菌株鉴定为植物乳杆菌（*Lactobacillus plantarum*）。

表 1 植物乳杆菌 HG20 API50 CHL 鉴定结果

Table 1 Identification of *L. plantarum* HG20 by API50 CHL

碳水化合物	HG20	碳水化合物	HG20
S-甘露醇	-	ARBULIN	-
赤藻糖醇	-	七叶灵柠檬酸铁铵	-
D-阿拉伯糖	-	2-酮基-葡萄糖酸盐	-
L-阿拉伯糖	-	5-酮基-葡萄糖酸盐	-
D-核糖	+	甲基-*β*D–吡喃木糖苷	-
D-木糖	-	D-麦芽糖	-
L-木糖	-	D-乳糖	+
D-侧金盏花醇Ⅰ	-	D -蜜二糖	+
葡萄糖酸钾	+	D-蔗糖	+
D-半乳糖	+	D-海藻糖	+
D-葡萄糖	+	菊糖	-
D-果糖	+	D-松三糖	-
D-甘露醇	+	D-棉子糖	+
L-山梨糖	-	淀粉	-
L-鼠李糖	-	糖原	-
卫茅醇	-	木糖醇	-
肌醇	-	D-龙胆二糖	+
甘露醇	+	D-土伦糖	-
D-纤维二糖	+	D-来苏糖	-
水杨苷	+	D-塔格糖	-
山梨醇	-	D-岩藻糖	-
甲基-D-吡喃甘露糖苷	-	L-岩藻糖	-
甲基-D-吡喃葡萄糖苷	-	D-阿拉伯糖	+
N-乙酰-葡糖胺	+	L-阿拉伯糖	-
苦杏仁甙	+		

2.1.3 系统发育树的建立

将测序得到的乳杆菌 16S rDNA 序列与 NCBI 已提交的模式菌株的 16S rDNA 序列进行 BLAST 同源性比对，并构建其系统发育树如图 2 所示，其结果与植物乳杆菌和戊糖乳杆菌同源性较高，达到 99%以上。由于 16S rDNA 系统发育树中，戊糖乳杆菌与植物乳杆菌亲缘关系较近，无法通过 16S rDNA 序列比对进行区分，因此本研究对菌株 HG20 的 *pheS* 基因进行了测序和序列比对，并构建系统发育树（图 3），菌株 HG20 与植物乳杆菌模式菌株 *L. plantarum* DSM20174 基因序列相似性为 100%，可以确定为植物乳杆菌。

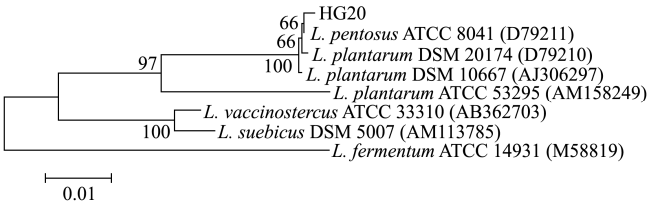

图 2 基于 16S rDNA 序列的植物乳杆菌 HG20 系统进化树

Fig.2 Phylogenetic tree of *L. plantarum* HG20 based on 16S rDNA sequence

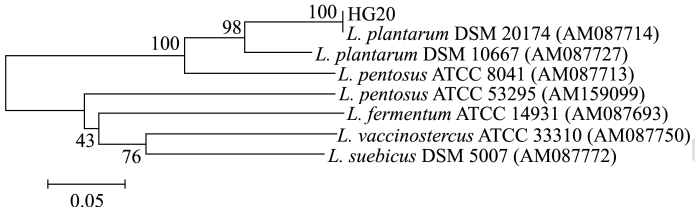

图 3 基于 *pheS* 序列的植物乳杆菌 HG20 系统进化树

Fig.3 Phylogenetic tree of *L. plantarum* HG20 based on *pheS* sequence

综合上述生理生化、API50 CHL 碳水化合物发酵和特定基因序列比对的结果，菌株 HG20 鉴定为植物乳杆菌（*L. plantarum*）。菌株由吉林省命之元生物科技有限公司于 2019 年 11 月 21 日保藏于中国典型培养物保藏中心（武汉），保藏编号为：CCTCC NO：M2019964。

2.2 大鼠踝关节肿胀程度

表 2 植物乳杆菌 HG20 株对胶原性关节炎大鼠踝关节肿胀程度影响

Table 2 The effect of *L. plantarum* HG20 on ankle swelling of collagenous arthritis rats

组别	踝关节周长/cm		足趾容积/mL	
	给药第 1 d	给药第 21 d	给药第 1 d	给药第 21 d
对照	0.87±0.08**	0.90±0.19**	1.72±0.05**	1.77±0.31**
模型	4.09±0.16	3.80±0.48	6.89±0.23	6.07±0.33
HG20	3.98±0.22	1.31±0.30**	6.61±0.32	2.35±0.25**

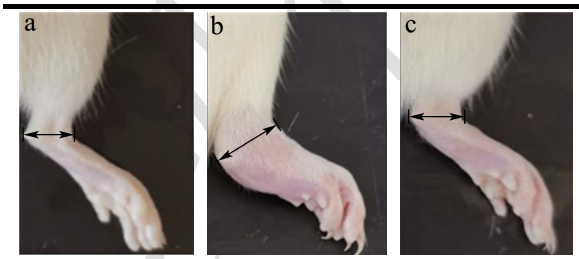

图 4 对照组（a）、模型组（b）和 HG20 组（c）动物代表性后肢的形态学变化

Fig.4 Morphological changes of representative hind paws of animals from the Control (a), model (b), and HG20 (c)

大鼠踝关节肿胀程度结果如表 2 所示，与模型组比较，植物乳杆菌 HG20 灌胃 21 d 后，大鼠踝关节周长降低 65.52%，足趾容积降低 61.28%，说明植物乳杆菌 HG20 具有缓解胶原诱导的类风湿性关节炎模型大鼠关节肿胀、具有明显的抗炎效果（图 4）。另据文献报道，与本研究的结果一致，瑞士乳杆菌 SBT2171[14] 和发酵乳杆菌[15]同样对缓解类风湿关节炎模型大鼠踝关节肿胀程度具有积极意义。

2.3 血清炎症因子检测结果

表 3 植物乳杆菌 HG20 株对胶原型关节炎大鼠血清中炎症因子影响

Table 3 The effect of *L. plantarum* HG20 on serum inflammatory factors of collagenous arthritis rats

组别	TNF-α /(pg/mL)	IL-lβ /(pg/mL)	IL-10 /(pg/mL)
对照	41.81±7.44**	43.49±10.15**	70.32±3.95**
模型	122.58±16.09	120.20±13.33	36.98±3.44
HG20	58.13±2.29**	74.21±9.79**	57.46±7.04**

炎性细胞因子被认为是导致关节炎关节损伤和疾病进展的破坏分子[16]。在类风湿性关节炎发病期间，促进炎症反应的细胞因子如 IL-1β、TNF-α 浓度会有所上升，而抗炎细胞因子水平有所下降，这些变化会加重炎症反应，对滑膜和关节软骨造成伤害[17]。本研究检测了 TNF-α、IL-1β、IL-10 等三种与类风湿性关节炎发病中起关键作用的细胞因子，植物乳杆菌 HG20 具有显著的抗炎作用，可降低胶原型关节炎大鼠 TNF-α、IL-1β 水平至 58.13 pg/mL、74.21 pg/mL（p<0.01），同时使病理性降低的 IL-10 水平升高 55.38%，有效缓解病情，降低炎症程度。

IL-10 等抗炎细胞因子可预防关节炎相关的炎症损伤[18]。本研究中，植物乳杆菌 HG20 抑制促炎症细胞因子如 IL-1β 和 TNF-α 的水平，同时增加血清 IL-10 的产生，是治疗胶原佐剂性关节炎的两个主要机制。在先前的研究中，细胞因子分析的结果清楚地表明，嗜酸乳杆菌显著增加了 IL-10，还降低了 IL-6 和

TNF-α[19]。干酪乳杆菌在胶原诱导的关节炎动物模型中也显示了相同的结果[20]。在本研究中我们发现，类风湿性关节炎大鼠饲喂植物乳杆菌 HG20 可能是通过降低促炎分子水平和增加 IL-10 产生，抑制类风湿关节炎的发展。我们的研究结果与 Amdeka[21]等的结论一致。

2.4 血清类风湿相关指标检测

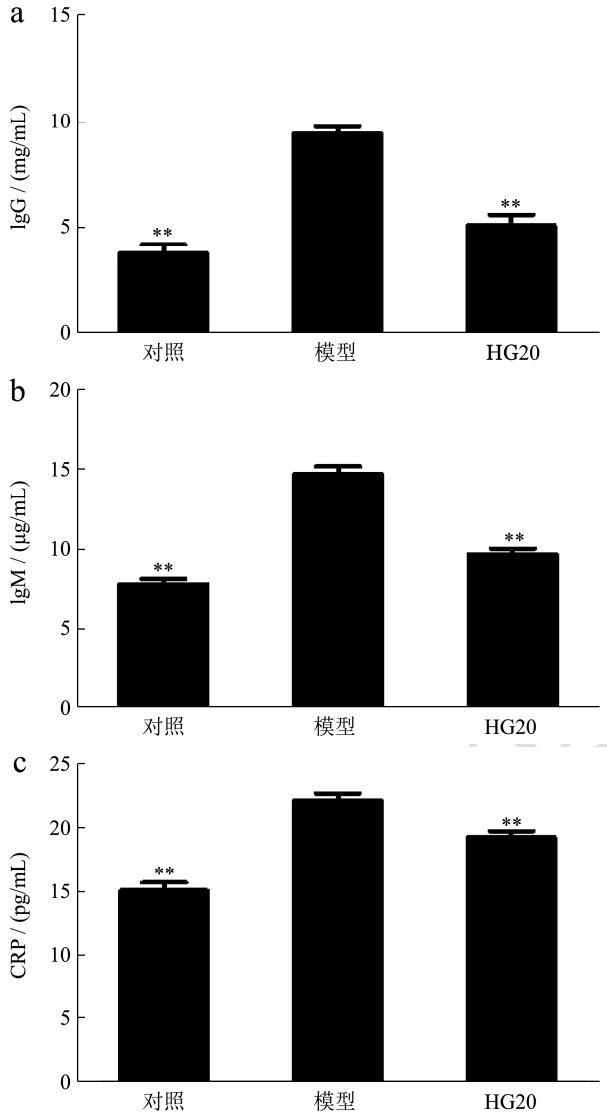

图 5 植物乳杆菌 HG20 株对胶原型关节炎大鼠血清中免疫球蛋白和 C-反应蛋白水平的影响

Fig.5 The effect of *L. plantarum* HG20 on serum immunoglobulin and CRP of collagenous arthritis rats

由图 5 所示，模型组大鼠的免疫指标 IgG、IgM 和 CRP 明显升高（p<0.01），分别达到 9.42 mg/mL、14.70 μg/mL、22.11 pg/mL，灌胃植物乳杆菌 HG20 后，血清中 IgG、IgM 和 CRP 指标均显著降低（p<0.01），分别为 5.08 mg/mL、9.66 μg/mL 和 19.26 pg/mL。说明植物乳杆菌 HG20 对胶原型类风湿性关节炎模型大鼠血清中与激发类风湿因子的形成和参与机体急性免疫应答的 IgG 和 IgM 的表达具有显著的抑制作用，是机体防御系统的重要的组成部分。降低 CRP 水平有助于改善急性期性类风湿性关节炎的炎症反应。

CRP 作为一种免疫调节因子，属于一种急性期反应物，在类风湿性关节炎患者体内呈现出高表达的状态[22]。有研究证明干酪乳杆菌可通过降低 CRP 水平，改善胶原型大鼠关节炎症状[23]。植物乳杆菌细胞壁中也含有对弗氏佐剂性关节炎大鼠炎症标志物 CRP 抑制的抗炎活性成分[24]。这可能是植物乳杆菌改善类风湿性关节炎的一种效应物质。本研究的结果也进一步证实植物乳杆菌 HG20 可通过降低血清 CRP 水平，降低类风湿性关节炎急性期的炎症反应。

IgG、IgM 也是表明类风湿性关节炎严重程度的代表性分子。在类风湿性关节炎的发生发展过程中，诱发类风湿性关节炎的始动因子可使机体产生 IgG 抗体，IgG 抗体可通过自聚合引发一系列炎症级联反应，从而激发类风湿因子的形成；而由 Th1 细胞分泌的促炎细胞因子可介导 IgM 亚型向 IgG2a 和 IgG2b 亚型的转变[25]。Kim[26]等发现瑞士乳杆菌可通过降低小鼠 IgG 水平和炎症免疫反应，预防胶原诱导的实验性关节炎。干酪乳杆菌可以通过降低大鼠血清中胶原特异性 IgG 和 IgG2a 水平来改善类风湿性关节炎的症状[27]。明串珠菌也被证明可以通过降低小鼠血清中胶原特异性 IgG 和 IgG2a 水平来改善类风湿性关节炎的症状[28]。研究发现干酪乳杆菌和嗜酸乳杆菌可降低关节炎模型大鼠血清中 IgM 的水平[29]。植物乳杆菌 HG20 通过显著降低血清中 IgG 和 IgM，改善类风湿性关节炎急性期症状（图 4 和图 5），这与上述文献报道的结果一致。

3 结论

本研究通过形态学观察、API50 CHL 糖发酵实验、16S rDNA 和 *pheS* 基因序列比对，鉴定一株分离自黄瓜表面的菌株 HG20 为植物乳杆菌。植物乳杆菌 HG20 可抑制类风湿关节炎大鼠关节肿胀，降低血清中的促炎症细胞因子和关节炎相关免疫球蛋白水平，对胶原型类风湿性关节炎具有辅助治疗作用。然而，植物乳杆菌 HG20 影响类风湿关节炎的确切机制尚不清楚，还需要动物实验和临床研究进一步验证，使其成为一种有前途的治疗策略。

参考文献

[1] Gulati M, Farah Z, Mouyis M. Clinical features of rheumatoid arthritis [J]. Medicine, 2018, 4(46): 211-215

[2] Anna F S. Drug-free remission: the goal of the future in management of patients with rheumatoid arthritis [J]. Reumatologia, 2017, 55(6): 284-289

[3] Scher J U, Abramson S B. The microbiome and rheumatoid arthritis [J]. Nature Reviews Rheumatology, 2011, 7(10): 569-578

[4] Kamada N, Seo S U, Chen G Y, et al. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease [J]. Nature Reviews Immunology, 2013, 13(5): 321-335

[5] Heeney D D, Gareau G M, Marco M L. Intestinal *Lactobacillus* in health and disease, a driver or just along for the ride [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2018, 49(2): 140-147

[6] Baharav E, Mor F, Halpern M, et al. *Lactobacillus* GG bacteria ameliorate arthritis in Lewis rats [J]. Journal of Nutrition, 2004, 134(8): 1964-1969

[7] Hosoya T, Sakai F, Yamashita M, et al. *Lactobacillus helveticus* SBT2171 inhibits lymphocyte proliferation by regulation of the JNK signaling pathway [J]. PLoS One, 2014, 9(9): e108360

[8] Mohammed A T, Khattab M, Ahmed A M, et al. The therapeutic effect of probiotics on rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis of randomized control trials [J]. Clinical Rheumatology, 2017, 36(12): 2697-2707

[9] Zamani B, Golkar H R, Farshbaf S, et al. Clinical and metabolic response to probiotic supplementation in patients with rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. International Journal of Rheumatic Diseases, 2016, 19(9): 869-879

[10] 曲菲.长白山地区发酵食品来源益生菌的分离、筛选及应用研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2014:24-25
QU Fei. Study on the isolation, screening and application of probiotics from fermented food in Changbai Mountain [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2014: 24-25

[11] 拉提帕·艾尔肯,唐雪,新华·那比.新疆传统发酵驼乳中分离出的一株乳酸菌的分子生物学鉴定[J].新疆医科大学学报,2014,37(2):155-159
LATIPA Aierken, TANG Xue, XINHUA Nabi. Molecular biological identification of Lactobacillus isolated from traditional fermented camel's milk in Xinjiang [J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2014, 37(2): 155-159

[12] 冯淑贞.自然发酵食品中植物乳杆菌的多位点序列分型研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2016:15-19
FENG Shuzhen. Study on multi-site sequence typing of Lactobacillus plantosus in naturally fermented food [D]. Huhehot: Inner Mongolia Agricultural University, 2016: 15-19

[13] 熊国林,黄海潇,谢玲,等.类风湿性关节炎大鼠模型的制备[J].解放军医学杂志,2007,32(2):121-123
XIONG Guo-lin, HUANG Hai-xiao, XIE Ling, et al. Preparation of rat model of rheumatoid arthritis [J]. Chinese Medical Journal of Chinese People's Liberation Army, 2007, 32(2): 121-123

[14] Maya Y, Kurumi M, Tsutomu E, et al. Preventive effect of *Lactobacillus helveticus* SBT2171 on collagen-induced arthritis in mice [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8(1): 1159-1169

[15] Rodriguez-Cabezas M E, Fisac F, Bailon E, et al. *Lactobacillus fermentum* exerts a beneficial effect in an experimental model of rheumatoid arthritis in mice [J]. Proceedings of the Nutrition Society, 2008, 67(1): E66

[16] 姚仁敏,张杰.桂芍知母汤对胶原诱导类风湿性关节炎模型大鼠血清中 TNF-α、MMP-2 及 MMP-9 的影响[J].辽宁中医药大学学报,2013,15(4):52-54
YAO Ren-min, ZHANG Jie. Effects of Guishao Zhimu decoction on serum TNF-α, MMP-2 and MMP-9 in collagen-induced rheumatoid arthritis model rats [J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2013, 15(4): 52-54

[17] Lee S Y, Jeong J J, Kim K A, et al. *Lactobacillus sakei* OK67 ameliorates collagen-induced arthritis in mice by inhibiting NF-κB activation and restoring Th17/Treg cell balance [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 18(10): 501-511

[18] Jiang G D, Wan B J, Huang W, et al. Influence of acupotomy loosing on IL-6, IL-10 and TNF-α in synovial fluid of rheumatoid arthritis patients with elbow joint stiffness [J]. World Journal of Acupuncture-Moxibustion, 2018, 2(28): 91-96

[19] 黄金刚,童海骏,刘宏强,等.IL-1β 和 TNF-α 对软骨细胞基质降解的影响及相关机制研究[J].上海交通大学学报,2010,30(9):70-75
HUANG Jin-gang, TONG Hai-jun, LIU Hong-qiang, et al. Effects of IL-1β and TNF-α on the degradation of chondrocyte matrix and related mechanisms [J]. Journal of Shanghai Jiaotong University, 2010, 30(9): 70-75

[20] Amdekar S, Singh V, Kumar A, et al. *Lactobacillus acidophilus* protected organs in experimental arthritis by regulating the pro-inflammatory cytokines [J]. Indian Journal of Clinical Biochemistry, 2014, 29(4): 471-478

（下转第 52 页）