

苦参素对实验性自身免疫性脑脊髓炎大鼠 CCL2, CCR2 mRNA 表达的影响

潘清霞¹, 吕莹², 张晓坚¹, 赵晓玉¹, 吕鹏¹, 张光先³, 朱琳^{1*}
(1. 郑州大学第一附属医院, 郑州 450000; 2. 郑州大学, 郑州 450000;
3. 托马斯杰弗逊大学, 美国 费城)

[摘要] **目的:**观察目前国际上公认的人类多发性硬化(MS)的理想动物模型-实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)大鼠模型脊髓中单核细胞趋化蛋白2(CCL2),单核细胞趋化蛋白受体2(CCR2)mRNA表达,探讨苦参素对EAE大鼠的保护作用,为临床应用提供依据。**方法:**将50只雌性Wistar大鼠随机分5组,分别为正常组,模型组,苦参素低、高剂量组(150, 250 mg·kg⁻¹),地塞米松组(1 mg·kg⁻¹),每组10只,自免疫当天起连续给药16 d,同期正常组、模型组*ip*等量生理盐水,观察记录大鼠的临床症状,并检查组织病理学变化,采用RT-PCR法检测脊髓中CCL2,CCR2 mRNA的表达。**结果:**与模型组比较,苦参素有效延迟EAE大鼠的发病时间,明显降低临床神经功能学评分($P < 0.01$),改善EAE大鼠中枢神经系统炎症浸润($P < 0.01$)和髓鞘脱失($P < 0.01$)程度,下调脊髓中CCL2,CCR2 mRNA的表达($P < 0.01, P < 0.01$)。**结论:**苦参素对EAE大鼠有防治作用,其作用机制可能与下调大鼠脊髓中CCL2,CCR2 mRNA的表达有关。

[关键词] 苦参素; 多发性硬化; 实验性自身免疫性脑脊髓炎; 单核细胞趋化蛋白2; 单核细胞趋化蛋白受体2

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)05-0131-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016050131

Effect of Matrine on Expression of CCL2, CCR2 mRNA in Experimental Autoimmune Encephalomyelitic Rats

PAN Qing-xia¹, LYU Ying², ZHANG Xiao-jian¹, ZHAO Xiao-yu¹,
LYU Peng¹, ZHANG Guang-xian³, ZHU Lin^{1*}

(1. The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China;

2. Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China; 3. Thomas Jefferson University, Philadelphia)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of matrine (MAT) on the expression of chemokine ligand-2 (CCL2) and its receptor CCR2 mRNA in experimental autoimmune encephalomyelitic (EAE) rats in the internationally accepted models of multiple sclerosis (MS), investigate the possible mechanism of MAT preventive treatment for EAE rats and provide clinical evidence. **Method:** The 50 Wistar female rats were divided into five groups randomly ($n = 10$ each group): normal group, model group, MAT low-dose group (150 mg·kg⁻¹), MAT high-dose group (250 mg·kg⁻¹), and dexamethasone group (1 mg·kg⁻¹). The MAT and dexamethasone were respectively injected intraperitoneally (*ip*) daily from day 0 post-immunization till to 17. At the same time, The model and normal group received the same amount of normal saline. The clinical symptoms were observed and recorded and the histopathological changes were detected. The expression levels of CCL2, CCR2 mRNA were detected using RT-PCR techniques. **Result:** Compared with model group, MAT obviously delayed the disease onset and ameliorated clinical symptoms of EAE ($P < 0.01$), improved inflammatory infiltration ($P < 0.01$) and

[收稿日期] 20150513(011)

[基金项目] 河南省郑州市科技局项目(112PPTSF317-11)

[第一作者] 潘清霞, 硕士, 从事苦参素对EAE大鼠防治作用的研究, Tel: 15226075925, E-mail: panqingxia2008@163.com

[通讯作者] *朱琳, 教授, 主任药师, 从事中药单体对EAE大鼠防治作用的研究, Tel: 0371-66969642, E-mail: zhulin66zhulin@126.com

demyelination ($P < 0.01$) in central nervous system of EAE rats, and reduced the expression levels of CCL2/CCR2 mRNA in spinal cord ($P < 0.01$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Matrine could prevent and treat EAE rats and the mechanism may be associated with reducing the expression of CCL2/CCR2 mRNA in spinal cord of EAE rats.

[Key words] matrine; multiple sclerosis; experimental autoimmune encephalomyelitis; chemokine ligand-2; chemokine ligand receptor-2

多发性硬化(multiple sclerosis, MS)是一种多发于青年人中枢神经系统(central nervous system, CNS)的炎性脱髓鞘性自身免疫性疾病,其具体病因及发病机制目前尚不完全清楚,而中枢神经系统炎性细胞的浸润是 MS 及其典型的动物模型实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)的一个重要特征,炎症性级联反应也是导致脱髓鞘和轴索变性的主要原因^[1-2]。单核细胞趋化蛋白(CCL2)可以通过与其受体(CCR2)相互作用,诱导单核/巨噬细胞、活性 T-cell 等炎症细胞的聚集,扩大炎症反应^[3-4]。苦参素(matrine, MAT),又名氧化苦参碱,是从苦豆子、苦参、广豆根等豆科槐属植物中提取的天然化合物,据《本草纲目》记载:苦参,苦、寒、无毒、具有清热解毒、祛风燥湿、补中明目、养肝胆气等功效,近年来苦参素大量的药理和临床研究表明,其具有抗炎、抗肿瘤、抗病毒、免疫调节等临床药理作用,且不良反应较少,在临床上极具应用价值^[5-6]。前期研究表明苦参素能明显改善 EAE 的临床症状^[7],但其具体机制还不完全清楚,本研究通过测定 EAE 大鼠脊髓中 CCL2, CCR2 mRNA 的表达水平,进一步探讨苦参素在 EAE 防治作用中的机制,为临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 豚鼠 12 只,体重 300 ~ 350 g,北京金牧阳实验动物养殖有限责任公司提供,动物合格证号 SCXK(京)2010-0001; SPF 级雌性 Wistar 大鼠,6 ~ 8 周龄,体重 180 ~ 200 g,中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供,动物合格证号 SCXK(军)2012-0004。

1.2 药物及试剂 苦参素注射液($0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,江苏正大天晴药业有限公司,批号 130902204),地塞米松磷酸钠注射液($5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,郑州卓峰制药有限公司,批号 1403191B),卡介苗($60 \text{ mg}/\text{支}$,北京生物制品研究所,批号 20130926DG),完全弗氏佐剂(美国 Sigma 公司,批号 SLBH1431V),Trizol 和 RT-PCR 逆转录试剂盒(均购自法国 Transgene 公司),CCL2, CCR2 引物由北京博大泰克公司合成。

1.3 仪器 732 型紫外分光光度仪(上海谱元仪器有限公司),S100 型 PCR 扩增仪(德国 Eppendorf 公司),Imagemaster VDS 型凝胶成像分析仪(大连竞迈生物),DYY-8C 型电泳仪(北京市六一仪器厂)。

2 方法

2.1 建立 EAE 动物模型 根据参考文献[8]中的实验操作方法,豚鼠用 10% 水合氯醛 *ip* 麻醉,生理盐水充分心脏灌流,在无菌条件下取出脊髓,冰浴条件下与等量生理盐水制成豚鼠全脊髓匀浆,而后与含有 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 卡介苗的完全弗氏佐剂等体积混合,充分乳化制成油包水的抗原乳剂。雌性 Wistar 大鼠称重,按照 $3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉后,每只 0.5 mL 分别于四肢足垫皮内注射抗原乳剂,诱导建立 EAE 模型。

2.2 分组与给药 将 50 只 Wistar 大鼠随机分为 5 组,分别为正常组、模型组、苦参素低、高剂量组、地塞米松组。自造模当天起,正常组、模型组每日给与 $6.70 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 生理盐水 *ip*;苦参素低、高剂量组分别每日 *ip* $6.70 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($150, 250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)苦参素注射液;DEX 组每日 *ip* $6.70 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)地塞米松注射液,连续给药 16 d。

2.3 组织取材与标本制备 在抗原免疫后第 17 天,大鼠应用 10% 水合氯醛($3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) *ip* 麻醉,仰位固定大鼠,快速完全打开胸腔暴露心脏,灌注针自心尖插入、经左心室穿入主动脉,用预冷生理盐水充分心脏灌流,待流出液无色后,在无菌条件下取出脊髓腰膨大处于 4% 福尔马林中固定 24 h,将标本进行脱水,透明,石蜡包埋制备成 $5 \mu\text{m}$ 的切片, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用,颈髓剪成约 100 mg 的小块,置于对应标记的冻存管中,快速投入液氮保存备用。

2.4 记录体重及临床功能学评分 自免疫当日起,每日称量并记录大鼠体重,观察临床症状并记录神经功能学评分。EAE 模型临床功能学评分采用 5 分评分法^[8]:0 分,无临床症状;1 分,动物尾部无力或轻度步态笨拙;2 分,后肢无力;3 分,后肢瘫痪;4 分,前、后肢体均瘫痪;5 分,濒死状态或死亡。以大鼠达到或超过 1 分为临床 EAE 发病。

2.5 病理组织学检查 为考察炎性浸润和髓鞘脱

失情况,每只大鼠各取 3 张切片分别进行苏木精-伊红(HE)染色和变色酸-2R-亮绿(C-2R-BG)髓鞘染色,切片干燥后于光学显微镜下随即选取 5 个高倍视野($\times 400$)观察染色结果并参照评分标准进行评分。HE 染色评分标准^[9]为 0,无炎症细胞;1,少量分散的炎症细胞;2,血管周围炎症细胞浸润,呈袖套样;3,大量血管袖套样病变。C-2R-BG 髓鞘染色评分标准^[9]:0,无髓鞘脱失;1,罕见髓鞘脱失;2,少量部位脱髓鞘;3,大面积脱髓鞘。

2.6 RT-PCR 检测脊髓中 CCL2, CCR2 mRNA 的表达 RNA 提取应用 Trizol 提取试剂盒,依照试剂盒说明书提取总 RNA,进行逆转录反应。而后取 2 μ L 进行后续扩增,其余 -80 $^{\circ}$ C 保存备用。RT-PCR 扩增:CCL2 的引物序列上游引物 5'-CAATGAGTCGGCTGGAGAA-3',下游引物 5'-CTTCAGATTTATGGGTCAA-3',片段大小 243 bp;CCR2 的引物序列上游引物 5'-TTCACAGGGCTTTATCACAT-3',下游引物 5'-TTCCTACAGCGAAACAGGGT-3',片段大小 356 bp;以 GAPDH 为内参照,上游引物 5'-GTTCAACGGCACAGTCAAGG-3',下游引物 5'-TGTCAGATCCACAACGGATACA-3',片段大小 574 bp。采用 50 μ L 反应体系:cDNA 2 μ L,上、下游引物各 1 μ L,10 \times buffer 5 μ L, dNTPs 4 μ L, DNA polymerase 1 μ L, DEPC 36 μ L。扩增条件如下:94 $^{\circ}$ C 预变性 2 min,1 个循环;94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,55 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min,共 35 个循环;72 $^{\circ}$ C 总延伸 6 min。取扩增产物 5 μ L 与缓冲液混合后加入琼脂糖凝胶的加样孔中,进行电泳,用 D-140 图像记录分析系统进行分析,目的基因 mRNA 的表达量以 DNA 条带和 GAPDH 的 DNA 条带吸光度比值计算。

2.7 统计学分析 采用 SPSS 16.0 统计软件进行统计学分析,实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组计量资料均数的比较应用单因素完全随机方差分析,方差分析有差异时进一步应用 LSD-*t* 检验作两两比较,统计学检验水准为 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 EAE 大鼠平均临床功能评分、体重及开始发病时间的影响 模型组在免疫后第 10 天 EAE 临床症状开始显现,具体表现为皮毛松乱晦暗,精神不振,尾部无力,步态笨拙,而后症状逐渐加重,出现后肢瘫痪,体重急剧下降,易激怒,继而全身瘫痪,个别处于濒死状态,在免疫后第 17 天达到峰值,其神经功能学评分与正常组比较明显增加($P < 0.01$)。苦

参素低、高剂量组、地塞米松组分别在免疫后的第 12,13,13 天出现临床症状,其神经功能学评分均明显低于模型组($P < 0.01$),但苦参素低、高剂量组、地塞米松组间无统计学差异。在免疫后第 17 天,模型组大鼠体重明显下降,与正常组比较存在明显性差异($P < 0.01$),苦参素治疗组的体重明显高于模型组($P < 0.01$),且呈现剂量依赖性($P < 0.05$),但地塞米松组平均体重明显低于模型组($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 苦参素对 EAE 大鼠平均临床功能评分、体重及开始发病时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of MAT on weight, disease onset day, mean clinical score of EAE rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	发病日期 /d	体重/g	临床评分 /分
正常	-	-	234.91 \pm 7.07	0.00 \pm 0.00
模型	-	10	162.91 \pm 4.79 ¹⁾	3.25 \pm 0.55 ¹⁾
地塞米松	1	13	154.16 \pm 7.29 ²⁾	1.15 \pm 0.58 ²⁾
苦参素	150	12	181.10 \pm 8.70 ^{2,4)}	1.75 \pm 0.58 ²⁾
	250	13	190.01 \pm 9.34 ^{2,4)}	1.375 \pm 0.44 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$;与地塞米松组比较³⁾ $P < 0.01$;与苦参素高、低剂量组比较⁴⁾ $P < 0.05$ (表 2, 3 同)。

3.2 对 EAE 大鼠脊髓炎症浸润和髓鞘脱失的影响

正常组视野中脊髓小静脉血管周围淋巴细胞数目极少,未观察到炎症细胞聚集,炎症浸润评分为 0;模型组可见炎症细胞遍布视野,并在小血管周围大量聚集,呈典型的套袖病理改变,炎症评分较正常组明显增加($P < 0.01$);苦参素治疗组视野中炎症细胞数量与模型组比较明显减少,差异具有统计学意义($P < 0.01$),且苦参素低、高剂量组之间差异具有统计学意义($P < 0.05$),地塞米松作用明显,炎症细胞数量较苦参素治疗组明显减少,平均炎症浸润评分明显低于苦参素治疗组($P < 0.01$)。正常组视野中髓鞘排列整齐,结构紧密,纹理清晰,平均髓鞘脱失评分为 0;模型组视野中可见髓鞘结构松散,髓鞘脱失严重,呈渔网状改变,平均髓鞘脱失评分较正常组明显升高($P < 0.01$);苦参素治疗组髓鞘脱失情况较模型组明显改善($P < 0.01$),且苦参素低、高剂量组之间差异具有统计学意义($P < 0.05$),地塞米松组平均髓鞘脱失评分也明显低于苦参素治疗组($P < 0.01$)。见图 1,2 和表 2。

3.3 对 EAE 大鼠脊髓中 CCL2, CCR2 mRNA 表达的影响 与正常组比较,模型组大鼠脊髓中 CCL2,

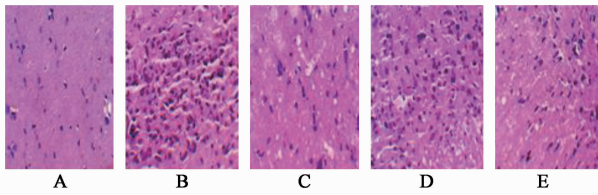


图 1 苦参素对 EAE 大鼠脊髓炎症浸润的影响 (HE, $\times 400$)
A. 正常组; B. 模型组; C. 地塞米松组; D. 苦参素 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; E. 苦参素 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组 (图 2 同)

Fig. 1 Effects of MAT on inflammatory infiltration of medulla spinalis in EAE rats (HE, $\times 400$)

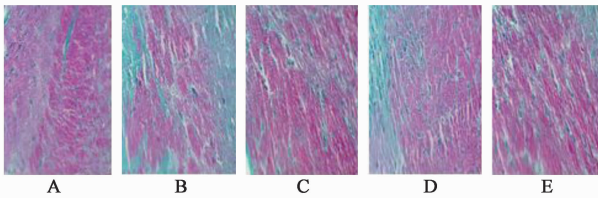


图 2 苦参素对 EAE 大鼠脊髓脱髓鞘的影响 (C-2R-BG, $\times 400$)

Fig. 2 Effects of MAT on demyelination of medulla spinalis in EAE rats (C-2R-BG, $\times 400$)

表 2 苦参素对 EAE 大鼠脊髓组织病理学检查评分的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Effects of MAT on mean histopathological scores in lumbar spinal cords of EAE rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	炎症浸润	脱髓鞘
正常	-	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
模型	-	$2.51 \pm 0.23^{1)}$	$2.71 \pm 0.07^{1)}$
地塞米松	1	$0.69 \pm 0.19^{2)}$	$1.04 \pm 0.08^{2)}$
苦参素	150	$1.79 \pm 0.08^{2,3,4)}$	$1.60 \pm 0.11^{2,3,4)}$
	250	$1.17 \pm 0.17^{2,3,4)}$	$1.22 \pm 0.23^{2,3,4)}$

CCR2 mRNA 的含量明显升高 ($P < 0.01$); 地塞米松组及苦参素治疗组脊髓中 CCL2, CCR2 mRNA 的含量明显低于模型组 ($P < 0.01$); 且苦参素高、低剂量组间的差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见图 3, 表 3。

4 讨论

MS 多发于青年, 其中有 2/3 的 MS 患者发病年龄为 20 ~ 40 岁, 高峰年龄在 35 岁左右, 且女性明显多于男性^[10], 以进行性神经功能缺损和病变在时间和空间上的多发性为临床特征^[11]。到目前为止, MS 的病因及发病机制还未完全清楚。虽然研究表明北美及欧洲的发病率高于非洲和亚洲人, 亚洲长期以来被认为是 MS 的低发区, 但是近年来国内研究显示其发病率呈明显上升趋势^[10], 因此引起了医学工作者的广泛重视, 成为近来的研究热点。

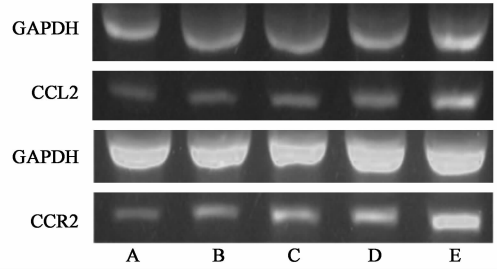


图 3 苦参素对 EAE 大鼠脊髓中 CCL2, CCR2 mRNA 表达的影响
A. 正常组; B. 地塞米松组; C. 苦参素 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; D. 苦参素 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; E. 模型组

Fig. 3 Effects of MAT on expression of CCL2, CCR2 mRNA in spinal cords of EAE rats

表 3 苦参素对 EAE 大鼠脊髓中 CCL2, CCR2 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 3 Effects of MAT on expression of CCL2, CCR2 mRNA in spinal cords of EAE rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	CCL2 mRNA	CCR2 mRNA
正常	-	0.08 ± 0.01	0.13 ± 0.01
模型	-	$0.75 \pm 0.05^{1)}$	$0.82 \pm 0.10^{1)}$
地塞米松	1	$0.15 \pm 0.01^{2)}$	$0.21 \pm 0.01^{2)}$
苦参素	150	$0.46 \pm 0.03^{2,3,4)}$	$0.61 \pm 0.40^{2,3,4)}$
	250	$0.22 \pm 0.01^{2,3,4)}$	$0.40 \pm 0.03^{2,3,4)}$

MS 是一种中枢神经系统炎症脱髓鞘疾病, 其特征表现为炎性细胞浸润、髓鞘脱失、轴突损害和神经功能丧失, EAE 具有与人类 MS 相似的炎症性脱髓鞘病变及临床表现, 已成为 MS 实验研究的有力工具^[12]。趋化因子是一类通过与受体相互作用诱导炎性细胞向 CNS 浸润和聚集的超家族趋化性细胞因子^[10]。根据半胱氨酸残基数目和位置的不同可以分为 4 类: CXC, CC, C 及 CX3C, CCL2 是最早发现并广泛被研究的 CC 类趋化因子家族的成员, 也是参与到中枢神经系统炎症过程的重要炎症趋化因子之一, CCL2 的主要受体 CCR2 在星形细胞、单核/巨噬细胞及 T 细胞上均有表达, CCL2 通过与 CCR2 相互作用诱导单核/巨噬细胞、活性 T-cell 等炎症细胞向 CNS 浸润, 扩大炎症反应^[4]。目前, 越来越多的数据表明 CCL2, CCR2 与 EAE 发病机制有关, CCL2 在 EAE 模型中枢神经系统免疫细胞的表达水平升高, 且其动态变化与 EAE 临床表现相一致, 抑制 CCL2 表达, 可减少中枢神经系统内炎性细胞浸润, 使 EAE 严重程度明显减轻^[2,13-14], 在 CCL2 敲除的 EAE 模型中, 巨噬细胞的聚集减少, 临床症状也明显减轻, 而 CCR2 敲除的小鼠无法成功诱导 EAE 模型^[15], 而且 CCR2 缺失的小鼠在炎症反应时

没有 γ 干扰素 (IFN- γ) 等细胞因子的产生^[3]。此外, CCL2/CCR2 也可明显增加血脑屏障的通透性, 进一步促进炎症反应^[4]。累积的研究表明 CCL2, CCR2 在 MS/EAE 发病过程中发挥重要作用。

类固醇激素被广泛用于临床 MS 治疗, 但是长期应用会全面抑制机体免疫功能, 引起感染、水钠潴留、代谢异常等副作用。在本实验中激素治疗组 (地塞米松) 虽然能够明显减弱 EAE 大鼠的临床症状, 但引起大鼠体重急剧下降, 在免疫后第 17 天, 地塞米松组大鼠平均体重明显低于模型组。提示地塞米松治疗 EAE 存在严重不良反应。对照表明, 在均有效改善神经功能损伤的情况下, 苦参素治疗能有效缓解激素治疗引起的进食少、体重剧烈下降和皮毛不光滑等副作用。

本实验结果表明, 苦参素能有效缓解 EAE 大鼠的临床症状, 延迟发病时间, 降低中枢神经系统炎症浸润及髓鞘脱失程度, 也能明显抑制模型大鼠颈髓中 CCL2 和 CCR2 mRNA 的表达, 且高、低剂量组间有统计学差异, 同时趋化因子 CCL2 mRNA 的表达同趋化因子受体 CCR2 mRNA 及临床功能学评分相一致, 由此推论, 苦参素通过干预和调控趋化分子 CCL2 和 CCR2 mRNA 的表达和活性, 对 MS 防治具有一定的作用, 有望成为治疗 MS 的有效中药, 为其临床应用提供理论依据。

[参考文献]

[1] 高颖, 关东升, 娄丽霞, 等. 益肾达络饮对实验性自身免疫性脑脊髓炎 p38MAPK 信号转导通路的影[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(2): 267-270.

[2] 周文斌, 刘晓英, 肖波, 等. 趋化因子 MCP-1 mRNA 在实验性自身免疫性脑脊髓炎中的表达及 IFN- β_1 b 的影响[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2003, 10(3): 166-170.

[3] Charo I F, Peters W. Chemokine receptor 2(CCR2) in atherosclerosis, infectious diseases, and regulation of T-cell polarization [J]. Microcirculation, 2003, 10(3/4): 259-264.

[4] Mahad D J, Ransohoff R M. The role of MCP-1(CCL2) and CCR2 in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) [J]. Semin

Immunol, 2003, 15(1): 23-32.

[5] 黄赞松, 周喜汉. 苦参素药理和抗肿瘤作用[J]. 医学综述, 2009, 15(11): 1701-1704.

[6] 张知贵, 杨华. 苦参素对免疫性肝纤维化大鼠肝脏组织 MMP-1, TIMP-1 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(11): 236-237.

[7] Kan Q C, Zhang S, Xu Y M, et al. Matrine regulates glutamate-related excitotoxic factors in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. Neurosci Lett, 2014, 560: 92-97.

[8] Ozugurlu F, Sahin S, Idiz N, et al. The effect of Nigella sativa oil against experimental allergic encephalomyelitis via nitric oxide and other oxidative stress parameters [J]. Cell Mol Biol, 2005, 51(3): 337-342.

[9] Zhang G X, Gran B, Yu S, et al. Induction of experimental autoimmune encephalomyelitis in IL-12 receptor-beta 2-deficient mice: IL-12 responsiveness is not required in the pathogenesis of inflammatory demyelination in the central nervous system [J]. J Immunol, 2003, 170(4): 2153-2160.

[10] 毛悦时, 吕传真. 多发性硬化的流行病学[J]. 国外医学神经病学神经外科学分册, 2014, 31(4): 328-330.

[11] 崔传举, 姜季宇, 杨霄鹏. 105 例多发性硬化临床特点及治疗分析[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2011, 14(8): 10-12.

[12] 王维治. 神经系统脱髓鞘疾病[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 68-75.

[13] 张哲, 王艳红. 单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1/CCL2) 与肿瘤关系的研究进展[J]. 中国临床医学, 2008, 15(5): 735-737.

[14] Brini E, Ruffini F, Bergami A, et al. Administration of a monomeric CCL2 variant to EAE mice inhibits inflammatory cell recruitment and protects from demyelination and axonal loss [J]. J Neuroimmunol, 2009, 209(1/2): 33-39.

[15] Huang D R, Wang J, Kivisakk P, et al. Absence of monocyte chemoattractant protein 1 in mice leads to decreased local macrophage recruitment and antigen-specific T helper cell type 1 immune response in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. J Exp Med, 2011, 193(6): 713-726.

[责任编辑 周冰冰]