

基于 Toll-MyD88 信号通路研究桂枝芍药 知母汤治疗痛风性关节炎的作用机制

王永辉¹, 房树标^{1,2}, 李艳彦¹, 周然^{1*}

(1. 山西中医学院, 太原 030024; 2. 湖北中医药大学基础医学院, 武汉 430065)

[摘要] **目的:** 观察桂枝芍药知母汤(GD)对尿酸钠致痛风性关节炎(GA)模型大鼠关节滑膜组织中 Toll-髓性分化因子 88(MyD88)信号通路炎症信号表达的影响,探讨其相关的作用机制。**方法:** 180 只雄性 SD 大鼠随机分配到 3 个实验,分别为关节滑膜免疫组织化学技术(IHC)实验、酶联免疫吸附测定(ELISA)实验、蛋白质免疫印迹(Western blot)实验。各实验取大鼠 60 只,按体重随机分为 6 组,每组 10 只,分别为模型组,正常组,GD 高、中、低剂量组(4, 8, 16 g·kg⁻¹),秋水仙碱阳性药组(3 × 10⁻⁴ g·kg⁻¹)。实验组均 ig 给药,正常组、模型组给予等容积的蒸馏水,每天 1 次,连续给药 7 d。第 5 天 ig 前,大鼠足踝关节注射尿酸钠悬液诱导 GA。取大鼠关节滑膜组织,IHC 检测受体 Toll 样受体-2(Toll-like receptor 2, TLR-2), TLR-4 的表达, Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统测定平均积分吸光度 IA, ELISA 测定环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2), 转化生长因子-β₁(transforming growth factor-β₁, TGF-β₁)表达, Western blot 检测 MyD88, 核因子 κB 酶抑制剂-β(inhibitor κB kinase β, IκK-β), 核因子 κB 抑制蛋白 α(NF-κB inhibitor α, IκB-α), 过氧化物酶体增殖物激活受体-γ(peroxisome proliferator-activated receptor-γ, PPAR-γ)表达水平。**结果:** 造模 72 h 后,与正常组比较,GA 模型大鼠关节滑膜组织中 TLR-2, TLR-4 平均 IA, MyD88, IκK-β 蛋白及 COX-2 表达水平明显增高(P < 0.05);与模型组比较,GD 中、高剂量组 TLR-2, TLR-4 平均 IA, MyD88, IκK-β 蛋白及 COX-2 含量表达均明显低于模型组(P < 0.05);而 TGF-β₁ 含量及 IκB-α, PPAR-γ 蛋白表达水平明显增高(P < 0.05);GD 各剂量组 IκK-β 蛋白无明显变化。**结论:** GD 治疗 GA 的作用机制可能与降低 TLR-2, TLR-4 受体及 MyD88 蛋白表达,增加 PPAR-γ, IκB-α 表达,抑制 NF-κB 活化,降低 Toll-MyD88 信号通路炎症因子表达有关。

[关键词] 桂枝芍药知母汤; 痛风性关节炎; Toll-髓性分化因子 88; 关节滑膜组织

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)21-0121-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2016210121

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160906.0923.044.html>

[网络出版时间] 2016-09-06 9:23

Research on Mechanism of Guizhi Shaoyao Zhimu Tang in Treatment of Gouty Arthritis Based on Toll-MyD88 Signaling Pathway

WANG Yong-hui¹, FANG Shu-biao^{1,2}, LI Yan-yan¹, ZHOU Ran^{1*}

(1. Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China;

2. Basic Medicine College, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Guizhi Shaoyao Zhimu Tang (GT) on inflammatory signal expression of Toll-MyD88 in synovial tissues of joint of rats with monosodium urate crystal-induced gouty arthritis (GA). **Method:** Totally 180 male SD rats were randomly divided into 3 experiments, namely IHC, ELISA and Western blot experiments, with 60 rats in each experiment. In each experiment, 60 rats were included and divided into 6 groups, namely model group, normal group, high, medium and low-dose GD group (4, 8, 16 mg·kg⁻¹) and colchicine group (3 × 10⁻⁴ g·kg⁻¹), with 10 rats in each group according to weight. All of

[收稿日期] 20151120(022)

[基金项目] 山西省科技创新团队建设项目(2012081018)

[第一作者] 王永辉, 博士, 副教授, 从事新药物物质基础研究, Tel: 18636117158, E-mail: wyh766188@sina.com

[通讯作者] * 周然, 博士, 教授, 从事中药药理及实验方剂学研究, Tel: 13068048517, E-mail: wyh766188@sina.com

experimental groups were treated with medicine through gastric administration, normal and model groups were given equal volume of distilled water. Medicine or distilled water was given once daily for consecutively seven days throughout the experiments. On the fifth day, GA model was induced through injection with monosodium urate in the ankle joint cavity of rats. The synovial tissues of the rats were taken, expressions of Toll like receptor-2, 4 in synovial tissues of the joint of rats were detected with immunohistochemistry, IA was measured with Image-Pro Plus 6.0 analysis system. ELISA was used to determine expressions of cyclooxygenase-2 (COX-2) and transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1). The expression levels of Myeloid differentiation factor-88 (MyD88), nuclear factor enzyme inhibitor ($\text{I}\kappa\text{K}-\beta$), nuclear factor κB inhibitory protein ($\text{I}\kappa\text{B}-\alpha$) and peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- γ) were detected by Western blot. **Result:** Compared with normal group after 72 hours, average IA of TLR-2, TLR-4 and the expression level of MyD88, $\text{I}\kappa\text{K}-\beta$, COX-2 in synovial tissues of the GA rats significantly increased; compared with normal group, average IA of TLR-2, TLR-4 and the expression level of MyD88, $\text{I}\kappa\text{K}-\beta$, COX-2 significantly decreased in medium and high-dose GT groups ($P < 0.05$), whereas TGF- β_1 , $\text{I}\kappa\text{B}-\alpha$ and PPAR- γ protein expressions significantly increased ($P < 0.05$), with no significant change in $\text{I}\kappa\text{K}-\beta$ in all GT groups. **Conclusion:** The action mechanism of GT on gouty arthritis in rats may be related to decreases in the expression levels of TLR-2, TLR-4 and MyD88 protein expressions, and increases in the expression of PPAR- γ and $\text{I}\kappa\text{B}-\alpha$, and inhibition of the activation of NF- κB , and reduction of the expression of inflammatory factors in Toll-MyD88 signaling pathway.

[**Key words**] Guizhi Shaoyao Zhimu Tang; gouty arthritis; Toll-MyD88; synovial tissues of joint

近年来,痛风性关节炎(GA)在我国的发病率明显升高,严重影响着人们的工作及身心健康。治疗GA常规用药非甾类抗炎药、秋水仙碱、糖皮质激素有着严格的禁忌症和明显的毒副作用。因此,从传统医学中发掘疗效确切,副作用少的GA治疗方药具有重要医学价值和社会意义。桂枝芍药知母汤出自《金匱要略·中风历节病脉证并治篇》,具有祛风除湿、温经散寒、滋阴清热之功效。主治风寒湿痹日久,渐次化热伤阴之风湿历节,非常切合GA的病因病机,在临床治疗GA上取得很好的疗效。研究发现桂枝芍药知母汤具有较好抗炎、消肿、镇痛等作用,能有效控制GA的症状,但其具体作用机制尚不明确^[1-2]。课题组在前期实验完成模型大鼠关节滑膜组织NLRP3炎性体信号通路中相关受体、信号蛋白及炎性因子白细胞介素-1 β (IL-1 β),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等表达检测基础上^[3],观察桂枝芍药知母汤对模型大鼠关节滑膜中Toll样受体-2(TLR-2),TLR-4受体,Toll-髓性分化因子88(MyD88)信号衔接蛋白及环氧化酶-2(COX-2),转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)等炎性因子表达的影响,其中从Toll-MyD88信号通路探讨桂枝芍药知母汤抗炎作用机制,为桂枝芍药知母汤治疗GA的临床应用及新药开发提供理论和实验依据。

1 材料

1.1 动物 健康雄性SD大鼠180只,体重180~

200g,购于湖北省实验动物研究中心;SPF级,合格证号SCXK(鄂)2008-0005,实验前适应性饲养7d。

1.2 药物及试剂 桂枝芍药知母汤煎剂,其药物组成为桂枝12g,白芍9g,甘草6g,麻黄6g,生姜15g,白术15g,知母12g,防风12g,炮附子12g,药材购自湖北金药堂大药房有限公司,经湖北中医药大学药学院陈科力教授鉴定均符合2010年版《中国药典》要求。原方参照传统水煮工艺,加工成煎剂,浓缩成浸膏,约40mL,相当于含生药 $2\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,给药前可根据需要适当稀释。秋水仙碱(西版纳药业有限责任公司,批号140706)。尿酸钠(MSU,上海谷研生物科技有限公司,批号6519R416,取MSU 2.0g,研成细粉,加生理盐水适量研磨,并稀释至100.0mL,配制成质量浓度为 $20\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的尿酸钠注射悬液)。多聚甲醛(国药集团化学试剂有限公司,批号20131127);二抗试剂盒Rabbit/MouseCode K5007,TLR2,TLR4,MyD88兔抗鼠抗体、羊抗兔IgG-AP抗体及TGF酶联免疫吸附测定(ELISA)检测试剂盒(武汉博士德生物技术有限公司,批号分别为AR1009,BA1716,BA1717,BA2321,BA1011,2281131511);核因子 κB 酶抑制剂- β ($\text{I}\kappa\text{K}-\beta$),核因子 κB 抑制蛋白 α ($\text{I}\kappa\text{B}-\alpha$),过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR- γ)兔抗鼠抗体(英国Abcam公司,批号分别为ab59195,ab32518,ab209350);大鼠 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(天津三

箭公司,批号 KM9001),化学发光试剂 ECL(碧云天生物有限公司,批号 P0018),BCA 蛋白定量试剂盒(德国艾德卡公司,批号 PP0102),硝酸纤维素膜(PVDF 膜,美国 Millipore 公司,批号 IPVH00010),显影定影液(Kodak,批号 6610190),COX-2 ELISA 检测试剂盒(美国 MyBioSource 公司,批号 MBS266603);TBS,柠檬酸,盐酸等常规试剂(湖北百奥斯生物科技有限公司配制)。

1.3 仪器 RM2255 型轮转式切片机(德国 Leica 公司),CKX41-F32FL 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司),ME204E 型电子天平(瑞士梅特勒托利多公司),APV2000 型高速均质机(德国 APV 公司),RT6100 型酶标仪(美国雷杜公司),200 型匀浆器(美国 PRO 公司),Microfuge22R 型低温高速离心机(美国 Beckman Coulter 公司),DYZC-24DN 型迷你电泳槽(北京六一仪器厂)。

2 方法

2.1 分组与给药 180 只大鼠随机分配到 3 个实验,即关节滑膜免疫组化(IHC)实验、酶联免疫吸附测定(ELISA)实验、蛋白质免疫印迹(Western blot)实验。各实验取健康雄性 SD 大鼠 60 只,按体重随机分为 6 组,每组 10 只,即模型组、正常组、桂枝芍药知母汤高、中、低剂量组、秋水仙碱阳性药组。正常组、模型组给予等容积的蒸馏水 *ig*。其余实验组均 *ig* 给药,每天 1 次,连续给药 7 d。桂枝芍药知母汤低、中、高剂量组用药剂量(相当生药)分别为 4, 8, 16 $g \cdot kg^{-1}$,秋水仙碱组用药剂量为 $3 \times 10^{-4} g \cdot kg^{-1}$ 。

2.2 GA 大鼠模型制备 第 5 天 *ig* 前,大鼠 *ip* 戊巴比妥钠($35 mg \cdot kg^{-1}$)麻醉,除正常组注入等体积的生理盐水外,其余各组以 4.5 号针头向右踝关节腔注入 MSU 混悬液 0.2 mL,以对侧鼓起为注入标准,诱导急性 GA 模型。

2.3 关节滑膜组织中 TLR-2, TLR-4 受体蛋白的表达 关节滑膜 IHC 实验于造模 72 h 后,将所有实验动物过量麻醉处死,取右侧踝关节(关节近端及远端各保留约 0.5 cm),去皮,置于 4% 多聚甲醛溶液中固定 24 h,用 4% 的盐酸水溶液脱钙,至用细针可以顺利穿过为准后使用梯度乙醇脱水(100% → 100% → 95% → 95% → 90% → 80%),每次 2 min,二甲苯透明,常规石蜡包埋切片,采用免疫组织化学二步法染色。脱水,修复,阻断,加抗体孵育(兔抗鼠 TLR2 浓度 1:50,兔抗鼠 TLR4 浓度 1:100),DAB 染色,封片,镜检;每张切片取 5 个高倍视野($10 \times$

40),用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件测定各组光密度值,计算平均积分吸光度 *IA*。

2.4 关节滑膜组织 COX-2, TGF- β_1 表达 关节滑膜 ELISA 实验于造模 72 h 后,将所有实验动物过量麻醉处死,剪取右侧踝关节加入适量液氮,研钵研磨至粉碎,加入适量生理盐水用匀浆器研匀, $3\ 000 r \cdot min^{-1}$,离心 10 min 后,取上清液,按 ELISA 法检测试剂盒操作说明书,绘制标准曲线,测定。

2.5 关节滑膜组织中 MyD88 蛋白表达 关节滑膜 Western blot 实验于造模 72 h 后脱颈法处死大鼠,参照文献方法取大鼠关节滑膜组织^[4],分组装入冷冻管后移入 $-70\ ^\circ C$ 低温冰箱中保存,用于免疫印迹 Western blot 检测。显色条带以 Quantity One 4.62 版凝胶吸光度分析软件进行分析,测定各组 *IA*。

2.6 统计学分析 采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学分析,所有数据资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 LSD 单因素方差分析,多组间比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般状况观察 造模前正常组、模型组、桂枝芍药知母汤组大鼠皮毛光泽色白,活动正常,关节无红肿,饮食正常;造模 2 h 后,模型大鼠均出现关节红肿,活动减少,舔足等现象,炎症因子 IL-1 β , IL-6, TNF- α 检测结果明显高于正常组($P < 0.05$),表明痛风性关节炎模型大鼠造模成功。

3.2 对大鼠关节滑膜组织中 TLR-2, TLR-4 蛋白表达的影响 从 IHC 染色图片可以看出,与模型组比较,正常组及给药各组显色较浅。与正常组比较,模型组大鼠关节滑膜组织中 TLR-2, TLR-4 平均 *IA* 表达水平明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,秋水仙碱组、桂枝芍药知母汤中、高剂量组大鼠关节滑膜组织中 TLR-2, TLR-4 平均 *IA* 值表达水平显著降低($P < 0.05$),桂枝芍药知母汤低剂量组大鼠关节滑膜组织中 TLR-2, TLR-4 平均 *IA* 表达水平仅呈降低趋势,但无统计学差异。见图 1, 2 及表 1。

3.3 对大鼠关节及滑膜组织炎症因子 COX-2, TGF- β_1 含量的影响 与正常组比较,模型组大鼠关节滑膜组织 COX-2 含量明显升高($P < 0.05$),TGF- β_1 含量明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,秋水仙碱组、桂枝芍药知母汤高、中、低剂量组均明显降低大鼠关节滑膜组织 COX-2 含量($P < 0.05$),秋水仙碱组、桂枝芍药知母汤高、中剂量组均明显升高大鼠关节滑膜组织 TGF- β_1 含量($P < 0.05$)。见表 2。

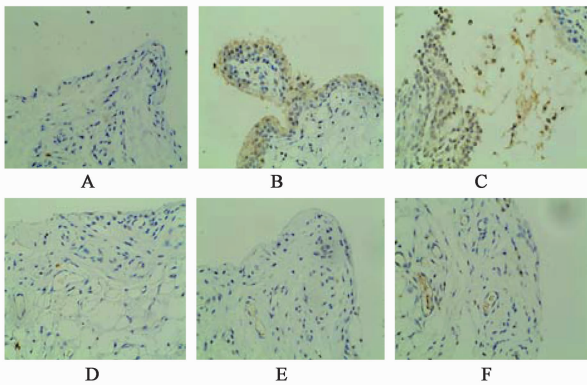


图 1 各组大鼠关节滑膜组织中 TLR-2 蛋白的表达(免疫组化, × 400)

Fig. 1 Expression of TLR-2 protein in joint synovial tissue of each rats(IHC, × 400)

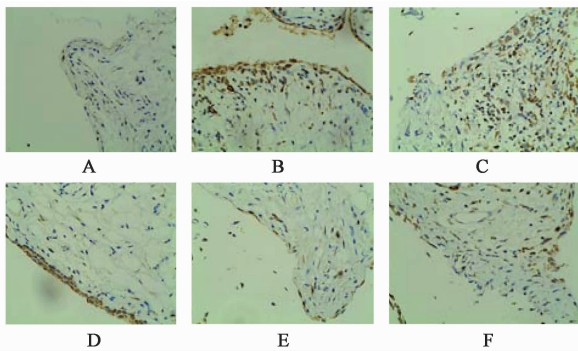


图 2 各组大鼠关节滑膜组织中 TLR-4 蛋白的表达(免疫组化, × 400)

Fig. 2 Expression of TLR-4 protein in joint synovial tissue of each rats(IHC, × 400)

表 1 桂枝芍药知母汤对大鼠关节滑膜组织中 TLR-2, TLR-4 蛋白 IA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of Guizhi Shaoyao Zhimu Tang on protein IA expression of TLR-2, TLR-4 in joint synovial tissue of rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | TLR-2 | TLR-4 |
|---------|-----------------------|---------------------------|---------------------------|
| 正常 | - | 0.32 ± 0.01 | 0.26 ± 0.01 |
| 模型 | - | 0.64 ± 0.02 ¹⁾ | 0.54 ± 0.02 ¹⁾ |
| 桂枝芍药知母汤 | 4 | 0.58 ± 0.08 | 0.51 ± 0.02 |
| | 8 | 0.43 ± 0.02 ²⁾ | 0.37 ± 0.02 ²⁾ |
| | 16 | 0.45 ± 0.01 ²⁾ | 0.36 ± 0.01 ²⁾ |
| 秋水仙碱 | 3 × 10 ⁻⁴ | 0.39 ± 0.01 ²⁾ | 0.33 ± 0.01 ²⁾ |

注:与正常组比较¹⁾ P < 0.05;与模型组比较²⁾ P < 0.05(表 2, 3 同)。

3.4 对大鼠关节滑膜组织中 MyD88, IκK-β, IκB-α, PPAR-γ 蛋白表达的影响

与正常组比较,模型组

表 2 桂枝芍药知母汤对大鼠关节滑膜组织炎症因子 COX-2, TGF-β₁ 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of Guizhi Shaoyao Zhimu Tang on expression of inflammatory cytokines COX-2 and TGF-β₁ in joint synovial tissues of rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | COX-2 | TGF-β ₁ |
|---------|-----------------------|---------------------------|---------------------------|
| 正常 | - | 0.16 ± 0.01 | 1.22 ± 0.05 |
| 模型 | - | 0.28 ± 0.01 ¹⁾ | 0.93 ± 0.10 ¹⁾ |
| 桂枝芍药知母汤 | 4 | 0.20 ± 0.01 ²⁾ | 0.98 ± 0.07 |
| | 8 | 0.18 ± 0.01 ²⁾ | 2.34 ± 0.17 ²⁾ |
| | 16 | 0.15 ± 0.01 ²⁾ | 1.99 ± 0.06 ²⁾ |
| 秋水仙碱 | 3 × 10 ⁻⁴ | 0.14 ± 0.01 ²⁾ | 1.43 ± 0.05 ²⁾ |

大鼠关节滑膜组织 MyD88, IκK-β 蛋白表达明显升高(P < 0.05), IκB-α, PPAR-γ 蛋白表达明显降低(P < 0.05);与模型组比较,秋水仙碱组、桂枝芍药知母汤高、中、低剂量组均明显降低大鼠关节滑膜组织 MyD88 (P < 0.05),桂枝芍药知母汤高、中剂量组明显升高 IκB-α, PPAR-γ 蛋白表达(P < 0.05),桂枝芍药知母汤高、中、低剂量组 IκK-β 无明显变化。见图 3 及表 3。

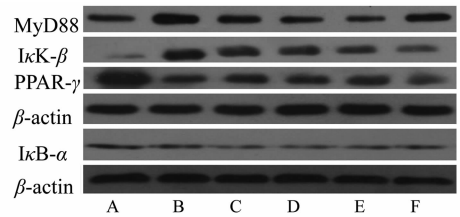


图 3 关节滑膜组织中 MyD88, IκK-β, IκB-α, PPAR-γ 蛋白 Western blot 电泳条带

Fig. 3 Protein electrophoresis bands of MyD88, IκK-β, IκB-α and PPAR-γ in joint synovial tissue of rats by Western blot

4 讨论

“TLR-MyD88”信号通路中的 TLR-2, TLR-4 及其重要的衔接蛋白 MyD88 参与了 MSU 晶体的识别及由 MSU 晶体介导的 GA 炎症的发生、发展、消退过程^[5-6],与 GA 的炎症反应有着密切的联系。

组织血液中的 MSU 晶体作为内源性危险信号可被 TLRs 感知,识别。活化的 TLRs 通过其 TIR 与胞质内衔接蛋白 MyD88 的 C-端 TIR 结合形成复合物,经过信号传导,激活 κβ 激酶(IκKs),导致 κβ 的泛素化而从 κβ/NF-κβ 复合物释放;NF-κβ 由此活化转位进核,导致一系列特定基因的表达,从而产生原发性致炎因子如 IL-1β, TNF-α 等,完成炎症的信号转导过程^[7]。释放至胞外的 IL-1β 通过与 IL-1 受体结合激活 IL-1 信号通路和髓样分化因子(MyD88)依

表 3 桂枝芍药知母汤对大鼠关节滑膜组织中 MyD88, IκK-β, IκB-α, PPAR-γ 蛋白表达影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 3 Effect of Guizhi Shaoyao Zhimu Tang on protein expression of MyD88, IκK-β, IκB-α and PPAR-γ in joint synovial tissues of rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | MyD88/β-actin | IκK-β/β-actin | IκB-α/β-actin | PPAR-γ/β-actin |
|---------|-----------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 正常 | - | 0.69 ± 0.04 | 0.37 ± 0.02 | 0.35 ± 0.03 | 0.83 ± 0.01 |
| 模型 | - | 1.06 ± 0.03 ¹⁾ | 0.57 ± 0.01 ¹⁾ | 0.20 ± 0.01 ¹⁾ | 0.58 ± 0.01 ¹⁾ |
| 桂枝芍药知母汤 | 4 | 0.76 ± 0.06 ²⁾ | 0.61 ± 0.02 | 0.35 ± 0.03 ²⁾ | 0.68 ± 0.05 |
| | 8 | 0.59 ± 0.05 ²⁾ | 0.59 ± 0.04 | 0.38 ± 0.01 ²⁾ | 0.71 ± 0.03 ²⁾ |
| | 16 | 0.44 ± 0.01 ²⁾ | 0.61 ± 0.01 | 0.45 ± 0.03 ²⁾ | 0.71 ± 0.01 ²⁾ |
| 秋水仙碱 | 3 × 10 ⁻⁴ | 0.87 ± 0.02 ²⁾ | 0.38 ± 0.01 ²⁾ | 0.51 ± 0.02 ²⁾ | 0.83 ± 0.02 ²⁾ |

赖的核因子 NF-κB 通路,引起大量的 IL-1,肿瘤坏死因子 TNF-α,IL-8 等促炎因子转录,产生炎症级联放大效应^[8],使关节滑膜通透性增加,关节红肿和关节炎急性发作。

NF-κB 位于“TLR-MyD88”信号通路下游的枢纽位置,作为一个重要的核转录因子,其活化对该信号通路激活后的效应调控有重要意义。NF-κB 激活过程的环节多,IκK-β 和 IκB-α 是 NF-κB 活化过程中的 2 个关键影响因子。IκK-β 可促使胞浆中与 NF-κB 结合成非活化状态三聚体复合物的 IκB-αSer32/36 磷酸化及泛素化,使得后者易被 26 S 蛋白酶小体降解从而暴露 NF-κB,引起 NF-κB 的激活^[9-10];而 IκB-α 可以抑制“TLR-ILR/NF-κB”信号通路 NF-κB 的活化^[11]。

PPAR 是调节目标基因表达的核内受体转录因子超家族成员,根据结构的不同,PPAR 可分为 α,β (或 δ)和 γ 3 种类型,其中 PPARγ 通过与 NF-κB 间蛋白-蛋白相互作用,阻止 NF-κB 与炎症因子基因启动子区的同源顺式元件结合^[12],可介导抑制炎症因子 TNF-α,IL-1,IL-2 和 IL-6 的生成,产生抗炎作用。

TGF-β 通过抑制炎症介质如 TNF-α 和 MMP12 以及趋化因子如 MIP1-α 和 MIP2 的表达从而抑制巨噬细胞活化^[13-15]。同时通过抑制巨噬细胞内 IFN-γ 诱导的 MHC-II 类分子、协同刺激分子 CD40 和炎症细胞因子 IL-12p40 的表达从而抑制其抗原呈递功能^[16-17]。因此 TGF-β 具有消炎及阻止免疫病理损伤的功能。

现代药理学研究表明,桂枝芍药知母汤对大鼠急性 GA 细胞因子 IL-1,IL-4,IL-6,TNF-α 等表达具有一定的影响,初步证明了其减轻炎症作用^[1-2]。实验结果表明,桂枝芍药知母汤能够显著降低模型大鼠关节滑膜组织中 TLR-2,TLR-4,MyD88 表达及

炎症细胞因子 IL-1β,TNF-α,IL-6,COX-2 的产生,增加 IκB-α,PPAR-γ 及抗炎因子 TGF-β₁ 的表达,从一定程度揭示了桂枝芍药知母汤抗炎机制可能与降低 Toll 受体及 MyD88 表达,同时增加 PPAR-γ,IκB-α 表达,抑制 NF-κB 活化,降低 Toll-MyD88 信号通路炎症因子表达有关。

分析发现,与秋水仙碱不同的是,桂枝芍药知母汤不能降低模型大鼠关节滑膜组织中 IκK-β 的表达,但也能增加 PPAR-γ,IκB-α 及 TGF-β 表达,负反馈抑制“TLR-MyD88”信号通路炎症因子转录表达,从而减轻炎症反应。

[参考文献]

[1] 肖碧跃,赵国荣,曾序求,等. 桂枝芍药知母汤对大鼠急性痛性关节炎炎细胞因子 IL-1、IL-4 的影响[J]. 中医药导报,2011,17(12):16-18.

[2] 李雅,肖碧跃,赵国荣,等. 桂枝芍药知母汤对急性痛风性关节炎大鼠 IL-6、TNF-α 表达的影响[J]. 新中医,2013,45(11):131-132.

[3] 房树标,王永辉,李艳彦,等. 基于 NLRP3 炎症体信号通路研究桂枝芍药知母汤治疗痛风性关节炎的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(5):91-95.

[4] 胡雨峰. 桂枝芍药知母汤对 CIA 模型大鼠 Toll 样受体信号转导通路的作用和机制研究[D]. 南京:南京中医药大学,2012.

[5] Liu-Bryan R, Scott P, Sydlaske A, et al. Innate immunity conferred by Toll-like receptors 2 and 4 and myeloid differentiation factor 88 expression is pivotal to monosodium urate monohydrate crystal-induced inflammation [J]. Arthritis Rheum, 2005, 52 (9): 2936-2946.

[6] Chen C J, Shi Y, Hearn A, et al. My D88-dependent IL-1 receptor signaling is essential for gouty inflammation stimulated by monosodium urate crystals [J]. J Clin Invest, 2006,116(8):2262-2271.

[7] Janssens S, Beyaert R. A universal role for MyD88 in

TLR/ IL-1R-mediated signaling [J]. Trends Biochem Sci, 2002, 27(9) : 474-482.

[8] Torres R, Macdonald L, Croll S D, et al. Hyperalgesia synovitis and multiple biomarkers of inflammation are suppressed by interleukin 1 inhibition in a novel animal model of gouty arthritis [J]. Ann Rheum Dis, 2009, 68 : 1602-1608.

[9] Caamano J, Hunter C. NF- κ B family of transcription factors; central regulators of innate and adaptive immune functions [J]. Clin Microbiol Rev, 2002, 15 (3) : 414-429.

[10] Morris K R, Lutz R D, Choi H S, et al. Role of the NF-kappaB signaling pathway and kappaB cis-regulatory elements on the IRF-1 and iNOS promoter regions in mycobacterial lipoarabinomannan induction of nitric oxide [J]. Infect Immun, 2003, 71(3) : 1442-1452.

[11] Chen Y, Vallee S, Wu J, et al. Inhibition of NF-kappaB activity by IkappaBbeta in association with kappaB-Ras [J]. Mol Cell Biol, 2004, 24(7) : 3048-3056.

[12] Nencioni A, Wesselborg S, Brossart P, et al. Role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma and its ligands in the control of immune responses [J]. Crit Rev

Immunol, 2003, 23(122) : 1213-1219.

[13] Bogdan C, Paik J, Vodovotz Y, et al. Contrasting mechanisms for suppression of macrophage cytokine release by transforming growth factor-beta and interleukin-10 [J]. J Biol Chem, 1992, 267 (32) : 23301-23308.

[14] Werner F, Jain M K, Feinberg M W. Transforming growth factor-beta 1 inhibition of macrophage activation is mediated via Smad3 [J]. J Biol Chem, 2000, 275 (47) : 36653-36658.

[15] Tsunawaki S, Sporn M, Ding A, et al. Deactivation of macrophages by transforming growth factor-beta [J]. Nature, 1988, 334(6179) : 260-262.

[16] Takeuchi M, Alard P, Streilein J W. TGF-beta promotes immune deviation by altering accessory signals of antigen-presenting cells [J]. J Immunol, 1998, 160 (4) : 1589-1597.

[17] Du C, Sriram S. Mechanism of inhibition of LPS-induced IL-12p40 production by IL-10 and TGF-beta in ANA-1 cells [J]. J Leukoc Biol, 1998, 64(1) : 92-97.

[责任编辑 周冰冰]

《中国实验方剂学杂志》知网新用采编系统启动说明

本刊为了便于审稿专家、作者、读者更加通畅、便捷、有效的登录并使用该采编系统,拥有更加强大的数据平台共享、实时发布最新稿件处理信息,杜绝网络上假冒网站的猖獗,《中国实验方剂学杂志》社决定于 2016 年 9 月 14 日启用知网新采编系统(www.zgsyfxzz.com)。

新的采编系统前台功能模块区分清晰,一目了然,界面友好,页面操作都十分简易方便。在文前给出辅助审稿工具检测报告,包括学术不端检测、创新性检测、作者学术情况统计等信息,更便于各位审稿专家及编辑有效、快速处理各位作者的稿件。此网站目前已正式启用,开始接受投稿及稿件的正常处理。可以通过知网链接或 www.zgsyfxzz.com 两种方式登录网站。

原采编系统(www.syfxzz.com)目前还在使用中,除投稿功能外,其他的运作功能均能正常运行,如果您还有未处理完的稿件,请您通过在线查询模块登入原系统进行后续处理工作。

在此过程中给各位审稿专家、作者、读者带来的不便和不适应处,我们深感抱歉,还望谅解! 希望各位能尽快了解、使用、喜爱新的采编系统! 如有需要请与我们联系。

| 编辑 | 电话 | 手机 | E-mail | QQ |
|---------|---------------|-------------|-------------------|------------|
| 张丰丰 | (010)84076882 | 13611306192 | 511135923@qq.com | 511135923 |
| 刘德文 | (010)64553854 | 15210025459 | dqliu@icmm.ac.cn | 3095569501 |
| 周冰冰 | (010)64553764 | 18811528020 | zhouh89@163.com | 875140439 |
| 邹晓翠 | (010)64553784 | 18610670128 | zou-ak48@163.com | 65029229 |
| 顾雪竹 | (010)64553814 | 13601383260 | 14182115@qq.com | 14182115 |
| 郑镁香(编务) | (010)84076882 | - | syfx_2010@188.com | 810566472 |