

羟基积雪草苷对佐剂关节炎大鼠滑膜成纤维细胞活化的影响

张利, 孙胜禄, 范海波, 杨媛媛, 宁青*
(江苏省中西医结合医院, 南京 210028)

[摘要] **目的:** 研究羟基积雪草苷对佐剂关节炎大鼠滑膜成纤维细胞活化的影响。**方法:** 将完全弗氏佐剂于大鼠右后足趾皮内注射 0.1 mL 致炎, 建立佐剂关节炎大鼠模型, 造模 30 d 后脱臼处死, 取出关节处的滑膜, 培养原代大鼠滑膜成纤维细胞 (FLS), 第 3~6 代细胞用于体外细胞实验。将对数生长期 FLS 以 10^5 个/mL 接种于 96 孔板, 利用白介素 1β (IL- 1β) 诱导白介素-6 (IL-6) 的表达, 羟基积雪草苷 (终浓度 1, 5, 10, 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 IL- 1β (终浓度 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 作用 24 h 后收集上清。酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测上清中炎症因子 IL-6 的水平; 实时定量 PCR (Real time PCR) 检测 IL-6 mRNA 的表达; 蛋白印记法检测细胞丝裂原激活的蛋白激酶 (MAPK)、蛋白激酶 C (PKC)、反应元件结合蛋白 (CREB) 的表达。**结果:** 与正常组比较, 模型组 (IL- 1β 组) IL-6 水平和 IL-6 mRNA 的表达明显升高。羟基积雪草苷预孵 24 h 后, 浓度依赖性抑制 IL-6 的分泌并下调 IL-6 mRNA 的表达。模型组中细胞外信号调节激酶 (ERK)、p38 及 PKC 的磷酸化水平显著提高, 羟基积雪草苷逆转了 IL- 1β 诱导的 ERK、p38 及 PKC 的磷酸化; 同时抑制 IL- 1β 引起的 CREB 磷酸化。**结论:** 羟基积雪草苷抑制佐剂关节炎大鼠滑膜成纤维细胞活化, 其机制可能与抑制 MAPK 和 PKC 通路活化, 降低 CREB 的磷酸化有关。

[关键词] 羟基积雪草苷; 佐剂关节炎; 滑膜成纤维细胞; 白介素-6; 白介素- 1β

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)08-0173-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfix.2014080173

Effect of Madecassoside on Activation of Synovial Fibroblasts from Rats with Adjuvant Arthritis

ZHANG Li, SUN Sheng-lu, FAN Hai-bo, YANG Yuan-yuan, NING Qing*

(Jiangsu Province Hospital on Intergration of Chinese and Western Medicine, Nanjing 210028, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of madecassoside on interleukin-6 (IL-6) production from synovial fibroblasts (FLS). **Method:** The rat adjuvant arthritis model was established by cultivating the original generation of FLS in rats. Interleukin-1 beta (IL- 1β) was used to induce the expression of Interleukin-6 (IL-6) in FLS. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method was used to detect FLS inflammatory factor levels of IL-6. Real time PCR method was used for detection of IL-6 and IL-1 mRNA expression. Western blotting method was used for mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathways, protein kinase C (PKC) protein, and cAMP response element binding protein (CREB) protein expression. **Result:** Our results showed that IL- 1β (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) significantly increased the production of IL-6, and mRNA of IL-6, the activation of MAPK, PKC, and CREB which was relative to the synthesis of IL-6. Madecassoside (1, 5, 10, 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) concentration-dependently decreased the production of IL-6 from FLS due to IL- 1β . **Conclusion:** The mechanisms probably involve the inhibition of MAPK activation, PKC phosphorylation.

[Key words] madecassoside; adjuvant arthritis; synovial fibroblasts; IL-6; IL- 1β

[收稿日期] 20130907(003)

[第一作者] 张利, 主管技师, 从事药物检验研究, Tel: 025-85637817, E-mail: 285151759@qq.com

[通讯作者] * 宁青, 中药师, 从事中药制剂研究, Tel: 025-85637817, E-mail: momo198420@hotmail.com

在风湿性关节炎 (rheumatic arthritis, RA) 患者关节处, 自身抗体激活了补体系统, 引起滑膜炎, 进而使得滑膜基质暴露, 且导致滑膜成纤维细胞 (FLS) 活化, 活化的 FLS 释放大量的炎症介质, 如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素 1β (IL- 1β)、白介

素-6(IL-6)等。IL-1 β 是引发RA关节破坏最重要的一种前炎症因子,在RA患者血液及炎性滑液中均可检测出高水平的IL-1 β 。RA患者关节滑膜中FLS被IL-1 β 等前炎症因子活化,产生IL-6等细胞因子,诱发关节炎,而局部免疫复合物和游离的胶原等分解产物刺激IL-1 β 的合成,诱导炎症反复发作。降低IL-6表达对RA具有良好的改善作用。目前,人源化的抗IL-6受体单克隆抗体(如Tocilizumab)已进入临床试验阶段^[1],并取得阶段性成果。但由于蛋白类药物在体内易引起免疫反应,小分子药物的研发成为当务之急。

积雪草为伞形科植物积雪草*Centella asiatica*(L.) Urb.的干燥全草,外用及内服应用已有两千多年历史,为《中国药典》记载的常用中药。三萜皂苷类成分羟基积雪草苷(madecassoside)是积雪草中重要的活性成分之一,具有明显的抗炎活性。据文献报道,在小鼠胶原诱导性关节炎模型中羟基积雪草苷可以减轻滑膜增生,改善关节损害,降低血清中炎症因子IL-6的水平^[2,3],提示羟基积雪草苷可能具有下调炎症性细胞因子释放的作用。因此,本文研究羟基积雪草苷对IL-1 β 介导的佐剂关节炎大鼠FLS分泌IL-6的影响,在分子水平探讨其可能的作用机制。

1 材料

1.1 药品与试剂 羟基积雪草苷(南京泽朗医药科技有限公司,批号88566),纯度98%,溶解于DMSO中,给药浓度分别为1,5,10,20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。大鼠IL-1 β 重组蛋白(美国PeproTech公司,批号W3458),IL-6 ELISA试剂盒(美国Biosource公司,批号S063104E),IL-1R、IL-6引物(上海赛百盛生物技术有限公司,批号37594F);Anti-ERK1/2 Rabbit Polyclonal Antibody(批号4256),Anti-Phospho ERK1/2 Rabbit Polyclonal Antibody(批号4176),Anti-p38 Rabbit Polyclonal Antibody(批号4175),Anti-Phospho p38 Rabbit Polyclonal Antibody(批号4159),Anti-Phospho PKC Rabbit Monoclonal Antibody(批号1254),Anti-Phospho CREB Rabbit Monoclonal Antibody(批号4093,Bioworld公司)。

1.2 仪器 1500型Multiskan spectrum酶标仪(美国Thermo Electron公司),SW-CJ-IF型超净台(苏州安泰空气技术有限公司),3111型细胞培养箱(美国Thermo Electron公司),XSZ-Dz型倒置显微镜(重庆光学仪器厂),电泳仪(美国BIO-RAD公司),7500荧光定量PCR扩增仪(美国ABI公司),半干式转移电泳槽(南京科宝仪器研究所),TY-80R型

脱色摇床(江苏省金坛市医疗仪器厂),127 mm \times 128 mm (5" \times 7")型X射线胶片暗匣(上海跃进医用光学器械厂)。

1.3 动物 SD大鼠,体重180~220 g,雄性,购自中国药科大学实验动物中心,许可证号SCXX(沪)2007-0005。饲养于清洁卫生的环境中,室内温度控制在(23 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$,自由饮食和饮水。

2 方法

2.1 关节炎大鼠模型的制备 将卡介苗(购自DIFCO公司)于80 $^{\circ}\text{C}$ 灭活1 h,用高压灭菌的液体石蜡与羊毛脂(2:1)配成10 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,充分研磨混匀制成完全弗氏佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA)。于大鼠右后足跖皮内注射0.1 mL致炎。

2.2 大鼠FLS的培养 关节炎大鼠造模30 d后脱臼处死,置于75%乙醇浸泡2 min,膝关节正中纵行切开皮肤,分离结缔组织,继续向下可见平滑光亮的滑膜组织,用手术刀分离取出滑膜层组织。用PBS清洗2次,将组织剪成1.5 mm \times 1.5 mm小块,转移入培养瓶,加入1 mL DMEM培养基(含10% NCS及双抗),于37 $^{\circ}\text{C}$ 5% CO_2 培养箱中培养。隔日换液,细胞长满瓶底时,倒掉培养液,用PBS清洗2次,加入0.25%胰酶2 mL消化5~8 min,加入10% NCS-DMEM培养基终止消化,吹打混匀细胞,转入离心管,1 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心5 min,弃上清,加入DMEM培养基吹打混匀细胞,分装于2个培养瓶中继续培养,将第3~6代细胞用于实验。

2.3 测定IL-6的含量^[4] 将对数生长期FLS以 10^5 个/mL接种于96孔板,加入2% NCS-DMEM培养基,分成空白组,模型组(IL-1 β ,终质量浓度10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),给药组(IL-1 β 和羟基积雪草苷共同孵育,羟基积雪草苷终浓度1,5,10,20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),每组5个复孔,每孔加入含药培养基200 μL 于37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 条件下培养24 h。试验结束后收集上清,采用ELISA法检测IL-6含量,按照试剂盒说明进行,用酶标仪在570 nm处测定各孔吸光度(A)。

2.4 IL-1R和IL-6 mRNA表达水平 用实时定量PCR(Real time PCR)法^[5]。将FLS接种于细胞培养瓶,37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 条件下培养,分别于不同培养瓶中加入2% NCS-DMEM培养基、羟基积雪草苷(终浓度分别为1,5,10,20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),置37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 条件下培养12 h,加入IL-1 β (终质量浓度为10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)继续培养1,3,6,12,24 h,弃上清。在用0.1% DEPC水处理过的PCR管中加入2 μL Oligo dT, 2 μL RNA和相应体积的DEPC水(总体积12 μL),

70 °C 处理 5 min, 4 °C 冰浴 5 min, 加入 5 μL M-MLV 5 (buffer, 2.5 μL dNTP ($10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 1 μL RNA 酶抑制剂, 1 μL M-MLV, 混匀, 短暂离心, 42 °C 反应 1 h, 获得 cDNA。取上述 cDNA 1 μL , 加入 15.5 μL ddH₂O, 5 μL 10 \times Buffer, 5 μL Mg²⁺ ($25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 1 μL dNTP, 2 μL 引物 (β -actin sense: 5'-ACATCT-GCTGGAAGGTGGAC-3', antisense: 5'-GGTACCAC-CATGTACCCAGG-3'; IL-1R sense: 5'-TCTTCTGTT-GGGTGTCTTT-3', antisense: 5'-GCTCTTACTGGGT-GTTCTAT-3'; IL-6 sense: 5'-TGCCTTCTTGGGACT-GAT-3', antisense: 5'-CTGGCTTTGTCTTCTTCTGTT-3')。实时荧光定量 PCR 分析 Real-time PCR 采用 SYBR Premix Ex Taq 试剂盒 (TaKaRa) 95 °C 2 min, 95 °C 20 s, 54 °C 20 s, 72 °C 20 s 40 个循环, 最后溶解从 60 °C 到 95 °C, 每个循环 0.5 °C 30 s。试验重复 3 次。反应在 Applied Biosystems 7500 上进行, 由 PCR 仪 7500 附带的软件 ddCT study 自动分析 IL-1R 和 IL-6 mRNA 表达水平。

2.5 Western blotting^[6] 将 FLS 接种于细胞培养瓶, 37 °C, 5% CO₂ 条件下培养, 分别于不同培养瓶中加入 2% NCS-DMEM 培养基, 羟基积雪草苷 (终浓度分别为 1, 5, 10, 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 置 37 °C, 5% CO₂ 条件下培养 12 h, 加入 IL-1 β (终质量浓度为 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 继续培养不同时间, 弃上清。蛋白样品经 10% 的 SDS-PAGE 电泳分离, 用半干法转移至 PVDF 膜上。转移后, PVDF 膜用丽春红 S (0.5% 丽春红 S 溶于 1% 醋酸中) 染色, 直至红色条带出现。根据预染蛋白 Marker 的位置, 将膜剪成所需大小, 用双蒸水洗净丽春红 S。膜用封闭缓冲液 (2% BSA 溶于 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl, 50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl, 1% Tween 20, pH 7.4) 封闭 30 min, 再与适当稀释 (1:1 000) 的 Rabbit Polyclonal Antibodies against ERK1/2, Phospho ERK1/2, p38, Phospho p38, Phospho PKC, Phospho CREB 共孵 2 h。以洗涤缓冲液 (10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl, 50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl, 1% Tween 20, pH 7.4) 至少洗涤膜 3 次, 5 min/次。接着与适当稀释 (1:5 000) 的二抗共孵 1~2 h, 同法洗涤膜, 与底物共孵 4 min。最后与 X-感光胶片在暗盒中曝光 5~10 min。冲洗胶片并拍照。采用光密度软件 (Image pro plus) 进行扫描并统计结果。

2.6 统计学处理 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用方差分析, 分析差异的显著性, 并进一步用 ANOVA 和 Dunnett's *t* 检验, 比较组间差异。P < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对 FLS 分泌 IL-6 的影响 IL-1 β 引起关节炎大鼠 FLS 上清 IL-6 水平明显升高。羟基积雪草苷 (1, 5, 10, 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 孵育 24 h 后, 浓度依赖性抑制 IL-1 β 诱导的 IL-6 分泌 (表 1)。

表 1 羟基积雪草苷对 FLS 中 IL-6 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	IL-1 β / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	羟基积雪草苷 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	IL-6 / $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$
空白	-	-	131 \pm 6 ²⁾
模型	10	-	890 \pm 22
羟基积雪草苷	10	1	760 \pm 40
	10	5	654 \pm 38 ¹⁾
	10	10	460 \pm 46 ¹⁾
	10	20	330 \pm 41 ²⁾

注: 与模型组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01 (表 2 同)。

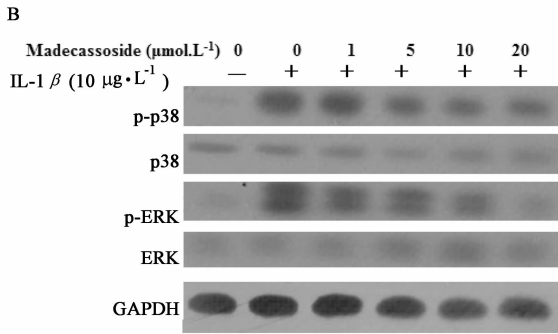
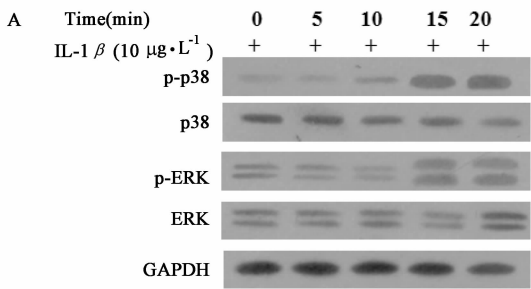
3.2 对 FLS 中 IL-6 mRNA 表达的影响 在 FLS 中加入羟基积雪草苷 (1, 5, 10, 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 预温孵 12 h, 再加入 IL-1 β (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 作用 6 h。羟基积雪草苷浓度依赖性下调 IL-1 β 诱导的 IL-6 mRNA 的表达 (表 2)。

表 2 羟基积雪草苷对 FLS 中 IL-6 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	IL-1 β / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	羟基积雪草苷 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	IL-6 mRNA
空白	-	-	1.0 \pm 0.14 ²⁾
模型	10	-	7.5 \pm 0.35
羟基积雪草苷	10	1	7.1 \pm 0.32
	10	5	5.6 \pm 0.41 ¹⁾
	10	10	4.8 \pm 0.35 ¹⁾
	10	20	3.3 \pm 0.39 ²⁾

3.3 对 FLS 中 MAPK 活化的影响 IL-1 β (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 作用于 FLS 后, 诱导 MAPK 蛋白的磷酸化, 磷酸化的 p38 及 ERK 在 15~20 min 达到高峰, 对总 p38 及 ERK 无影响 (图 1)。将 FLS 与羟基积雪草苷 (1, 5, 10, 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 预孵 12 h 后, 加入 IL-1 β (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 作用 15 min。羟基积雪草苷浓度依赖性下调 IL-1 β 诱导的 p38 及 ERK 蛋白的磷酸化, 对总 p38 及 ERK 无影响 (表 3)。

3.4 对 FLS 中 PKC 磷酸化的影响 IL-1 β (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 作用于 FLS 后, 诱导 PKC 蛋白的磷酸化, 5~10 min 达到高峰 (图 2)。将 FLS 与羟基积雪草苷 (1, 5, 10, 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 预孵 12 h 后, 加入 IL-1 β (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 作用 10 min。可见羟基积雪草苷浓度



A. 加入 IL-1β 10 μg·L⁻¹ 0~20 min;

B. 羟基积雪草苷 0~20 μmol·L⁻¹ (图 2~3 同)

图 1 羟基积雪草苷对 FLS 中 MAPK 通路活化的影响

表 3 羟基积雪草苷对 FLS 中 MAPK 通路活化的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	IL-1β /μg·L ⁻¹	羟基积雪 草苷 /μmol·L ⁻¹	p38 /GAPDH	ERK /GAPDH
空白	-	-	1.0 ± 0.12 ¹⁾	1.0 ± 0.14 ¹⁾
模型	10	-	5.1 ± 0.31	7.5 ± 0.33
羟基积雪草苷	10	1	3.0 ± 0.24	7.1 ± 0.28
	10	5	2.5 ± 0.21	5.6 ± 0.19
	10	10	2.1 ± 0.15	4.8 ± 0.15
	10	20	1.9 ± 0.17 ¹⁾	3.3 ± 0.09 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ P < 0.05 (表 4~5 同)。

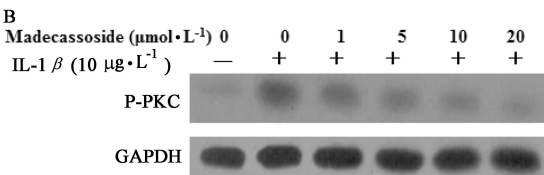
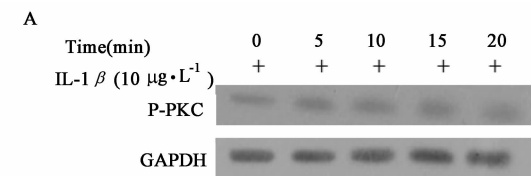


图 2 羟基积雪草苷对 FLS 中 PKC 通路活化的影响

依赖性下调 IL-1β 诱导的 PKC 蛋白的磷酸化(表 4)。

3.5 对 FLS 中 CREB 磷酸化的影响 IL-1β (10 μg·L⁻¹) 作用于 FLS 后,诱导 CREB 蛋白磷酸

表 4 羟基积雪草苷对 FLS 中 PKC 通路活化的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	IL-1β /μg·L ⁻¹	羟基积雪草苷 /μmol·L ⁻¹	PKC/GAPDH
空白	-	-	1.0 ± 0.09 ¹⁾
模型	10	-	2.5 ± 0.26
羟基积雪草苷	10	1	2.2 ± 0.20
	10	5	1.5 ± 0.14
	10	10	1.4 ± 0.15
	10	20	1.2 ± 0.13 ¹⁾

化,磷酸化 CREB 20 min 后达到高峰(图 3)。将 FLS 与羟基积雪草苷(1, 5, 10, 20 μmol·L⁻¹)预孵 12 h 后,加入 IL-1β (10 μg·L⁻¹) 作用 20 min,可见羟基积雪草苷浓度依赖性下调 IL-1β 诱导的 CREB 蛋白磷酸化(表 5)。

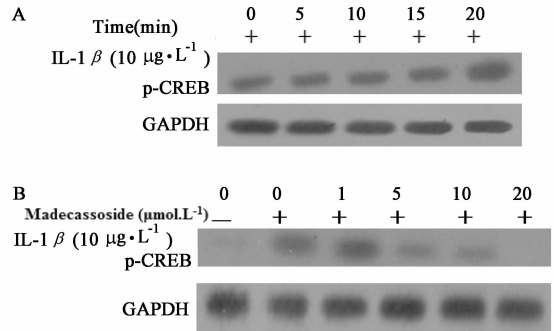


图 3 羟基积雪草苷对 FLS 中 CREB 活化的影响

表 5 羟基积雪草苷对 FLS 中 CREB 通路活化的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	IL-1β /μg·L ⁻¹	羟基积雪草苷 /μmol·L ⁻¹	CREB/GAPDH
空白	-	-	1.0 ± 0.12 ¹⁾
模型	10	-	3.1 ± 0.33
羟基积雪草苷	10	1	2.9 ± 0.23
	10	5	2.1 ± 0.20
	10	10	1.7 ± 0.15
	10	20	1.1 ± 0.19 ¹⁾

4 讨论

IL-1β 是引起 RA 慢性炎症及关节损伤的重要细胞因子,血清及关节滑液中 IL-1β 水平与疾病的活动性及组织形态学特征(如滑膜增生、炎性细胞浸润)等密切相关。在关节处 IL-1β 主要由 FLS 产生并分泌,可以调节多种细胞因子、黏附分子、免疫调节分子的表达,在 RA 的骨侵蚀及软骨破坏中发

挥重要的作用^[7]。本文考察了羟基积雪草苷对 IL-1 β 活化 FLS 的影响。

RA 区别于其他关节炎的特征是关节处炎症慢性化,IL-6 作为一种重要的细胞因子参与其中。临床研究结果显示,RA 患者滑液中高表达的 IL-6 可发挥前炎症因子功能^[8],维持全身性免疫反应异常;促进 FLS 分化,释放大量的炎症因子,促进淋巴细胞归巢及活化,引起关节炎,从而进一步活化 FLS,该过程反复发作使炎症慢性化^[9]。因此,IL-6 靶向性治疗对抑制 RA 关节炎具有积极的意义。本文结果表明,羟基积雪草苷(1,5,10,20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)预孵 24 h 后,浓度依赖性抑制 FLS 中 IL-6 分泌并下调 IL-6 mRNA 的表达。

为进一步明确羟基积雪草苷抑制 FLS 分泌 IL-6 的分子机制,本文考察了其对于 IL-1 β 信号转导通路的影响。IL-1 β 与受体结合后,可通过 MAPK 诱导 AP-1 转录因子的激活^[10]。MAPK 是真核细胞介导细胞反应的重要细胞信号系统,包括 ERK、JNK/SAPK 和 p38 亚家族。结果显示,IL-1 β (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)显著提高 FLS 中 ERK 及 p38 磷酸化水平,对总 ERK 及 p38 无明显影响。羟基积雪草苷明显抑制 IL-1 β 引起的 ERK 磷酸化以及 p38 磷酸化。

IL-1 β 另一条经典的信号途径为 PKC 通路,PKC 活化可能影响 IL-1 β 诱导 FLS 分泌 IL-6。本研究结果显示,IL-1 β (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)引起 PKC 蛋白磷酸化增加,羟基积雪草苷可抑制该作用。IL-6 基因 5' 端启动区包括 NF- κ B, CREB, NF-IL-6 和 AP-1 等共有序列,有研究表明,CREB 活化在巨噬细胞产生 IL-6 的过程中是必需的;在大鼠星状细胞中,CREB 可以通过 p38 MAPK 及 cAMP/PKA 途径活化,从而促进 IL-6 生成;在神经元 H19-7/IGF-IR 细胞中,IL-1 β 与 IL-1R 结合,引起 CREB 活化来调节 IL-6 产生。因此,IL-1 β 诱导 FLS 分泌 IL-6 可能与 CREB 活化有关,羟基积雪草苷抑制 IL-1 β 引起的 CREB 磷酸化。

本文结果证实,羟基积雪草苷可浓度依赖性抑制 IL-1 β 诱导的 FLS 中 IL-6 的分泌,其机制可能与抑制 MAPK 和 PKC 通路活化,降低 IL-6 合成相关蛋白 CREB 的磷酸化有关。本文研究结果为羟基积雪草苷作为 RA 治疗药物的开发利用提供了药理学依据。

[参考文献]

- [1] Hennigan S, Kavanaugh A. Interleukin-6 inhibitors in the treatment of rheumatoid arthritis [J]. *Ther Clin Risk Manag*, 2008, 4(4):767.
- [2] Li H, Gong X, Zhang L, et al. Madecassoside attenuates inflammatory response on collagen-induced arthritis in DBA/1 mice[J]. *Phytomedicine*, 2009, 16(6/7):538.
- [3] Liu M, Dai Y, Yao X, et al. Anti-rheumatoid arthritic effect of madecassoside on type II collagen-induced arthritis in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2008, 8(11):1561.
- [4] 焦河玲,邓虹珠,王晓娟,等. 苦豆子总碱对 S180 荷瘤小鼠的抑瘤作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(2):163.
- [5] 朱向东,梅晓云,吴红彦,等. 痛泻要方对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜细胞间黏附分子-1 mRNA 和蛋白表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(6):174.
- [6] 余欣,邱明义,胡继鹰,等. 乌梅丸对溃疡性结肠炎大鼠肠组织和转录因子-kb 及细胞间黏附分子 1 的影响[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2008, 16(3):172.
- [7] Kandere-Grzybowska K, Kempuraj D, Cao J, et al. Regulation of IL-1-induced selective IL-6 release from human mast cells and inhibition by quercetin [J]. *Br J Pharmacol*, 2006, 148(2):208.
- [8] Kiszal P, Makó V, Prohászka Z, et al. Interleukin-6-174 promoter polymorphism does not influence IL-6 production after LPS and IL-1 beta stimulation in human umbilical cord vein endothelial cells [J]. *Cytokine*, 2007, 40(1):17.
- [9] Kandere-Grzybowska K, Letourneau R, Kempuraj D, et al. IL-1 Induces Vesicular Secretion of IL-6 without degranulation from human mast cells [J]. *J Immunol*, 2003, 171(9):4830.
- [10] Kirchmeyer M, Koufany M, Sebillaud S, et al. All-trans retinoic acid suppresses interleukin-6 expression in interleukin-1-stimulated synovial fibroblasts by inhibition of ERK1/2 pathway independently of RAR activation [J]. *Arthritis Res Ther*, 2008, 10(6):R141.

[责任编辑 聂淑琴]