

芦荟大黄素对结肠炎小鼠模型脾脏 T 细胞亚群的影响

郭向华^{1,2}, 周 联¹, 王 青¹, 王丽虹¹, 郑冬生¹(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405; 2. 广东医学院, 广东 东莞 523808)

摘要: 目的 观察芦荟大黄素(Aloe-emodin, AE)对三硝基苯磺酸(TNBS)诱导的结肠炎小鼠模型脾脏 T 细胞亚群的影响。方法 将 40 只 BALB/c 小鼠随机分为 4 组, 即乙醇对照组、模型组、AE 组及柳氮磺吡啶(SASP)组。后 3 组以 TNBS 灌肠制备小鼠结肠炎模型, 8 h 后给予生理盐水、AE(150 mg·kg⁻¹)或 SASP(260 mg·kg⁻¹)灌胃治疗, 连续 6 d。每天进行疾病活动指数(DAI)评分, 6 d 后处死小鼠, 评估各组结肠组织学损伤指数(TDI)及脏器指数, 应用流式细胞仪检测各组小鼠脾脏 CD4⁺/CD8⁺T 细胞及 Th1、Th2、Tc1、Tc2 细胞亚群的变化情况。结果 AE 灌胃治疗可明显降低 TNBS 结肠炎小鼠的 DAI 评分和 TDI 评分 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 与模型组比较, AE 组小鼠脾脏 CD4⁺T 淋巴细胞水平明显降低, 而 CD8⁺细胞比例升高, CD4⁺/CD8⁺比值降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.001$), 脾指数下降; AE 组小鼠脾脏的 Th1 细胞、Tc1 细胞水平明显降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 而 Th2 细胞明显升高($P < 0.001$), Th1/Th2 比值、Tc1/Tc2 比值也明显降低($P < 0.01$)。结论 芦荟大黄素可能通过调节 CD4⁺/CD8⁺T 淋巴细胞亚群的平衡, 抑制 Th1 型/Tc1 型细胞分化, 诱导以 Th2 型为主的免疫反应, 从而减轻 TNBS 结肠炎小鼠的炎症病理损伤。

关键词: 芦荟大黄素; 炎症性肠病; T 细胞亚群; Th1 细胞; Th2 细胞; Tc1 细胞

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)04-0356-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.04.008

Effects of Aloe-emodin on Splenic T Cell Subsets in Mice with Colitis

GUO Xianghua^{1,2}, ZHOU Lian¹, WANG Qing¹, WANG Lihong¹, ZHENG Dongsheng¹(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. Guangdong Medical College, Dongguan 523808 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of aloe-emodin(AE) on splenic T cell subsets in mice with colitis induced by 2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid(TNBS). **Methods** Forty BALB/C mice were randomly divided into normal control group, model group, AE group and sulfasalazine (SASP) group. Mice in the last three groups were given enema of TNBS to induce colitis, and 8 hours later were given intragastrical administration of normal saline, AE (150 mg·kg⁻¹) or SASP (260 mg·kg⁻¹) respectively once a day for 6 continuous days. Everyday, the disease activity index (DAI) was scored. At the end of medication, colonic tissues damage index (TDI) was evaluated, and the percentages of CD4⁺/CD8⁺T cells as well as Th1, Th2, Tc1 and Tc2 cells in mice spleen were analyzed by flow cytometry (FCM). **Results** DAI and TDI scores in AE group were significantly lower than that of the model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Meanwhile, the results of FCM analysis showed that the percentage of CD4⁺T cells, CD4⁺/CD8⁺ ratio, spleen index, the percentages of Th1 and Tc1 cells, and the ratio of Th1/ Th2, Tc1/Tc2 were markedly decreased ($P < 0.05 \sim P < 0.001$), while the percentages of CD8⁺ T cells and Th2 cells were increased obviously ($P < 0.05 \sim P < 0.001$) in the spleen of AE group. **Conclusion** AE treatment can significantly relieve the inflammatory pathological injury in TNBS-induced colitis of mice, which might be associated with the regulation of CD4⁺/CD8⁺T cells balance, inhibition of Th1 /Tc1 differentiation, and induction of Th2 type immunity.

Keywords: Aloe-emodin; Inflammatory bowel disease; T cell subsets; Th1 cells; Th2 cells; Tc1 cells

收稿日期: 2013-03-14

作者简介: 郭向华, 女, 博士研究生, 研究方向: 中药免疫药理研究。Email: gxh2001974@163.com。通讯作者: 周联, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中医药免疫研究。Email: zl@gzucm.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金(30873415); 教育部博士学科点专项科研基金(20124425110010)。

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)与克罗恩病(Crohn's disease, CD)统称炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD),是一组病因未明的肠道自身免疫性疾病,临床以反复发作的腹痛、腹泻、黏液脓血便为主要表现。由于该病的发病机制尚不明确,为其临床治疗带来极大的难度。因此,寻找高效低毒的抗 IBD 药物成为目前非常紧迫的任务。芦荟大黄素(Aloe-emodin, AE)是从芦荟及蓼科大黄属植物的根茎中分离得到的一种蒽醌类单体化合物,已发现其具有抗氧化、抗肿瘤、抗菌消炎以及调节免疫等多方面作用^[1]。本研究利用 2, 4, 6, -三硝基苯磺酸(2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid, TNBS)诱导的小鼠结肠炎模型,旨在观察芦荟大黄素对模型动物脾脏 T 细胞亚群的影响,以探讨其免疫调节机制,为临床治疗 IBD 提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物 SPF 级 BALB/c 小鼠 40 只,雌性,6~8 周龄,体质量 18~22 g,由广东省医学实验动物中心提供,动物许可证号:SCXK(粤)2008-0002。

1.2 药物、试剂及主要仪器 TNBS,批号:LHD 12059,美国 Sigma 公司;芦荟大黄素,陕西森弗生物技术有限公司(纯度 99 %);柳氮磺吡啶肠溶片(SASP),批号:20110503,上海中西三维药业有限公司;PE-Cy7 anti-mouse CD3(批号:B138454)、APC-anti-mouse CD8a(批号:B145493)、PE-anti-mouse CD69(批号:B140783),美国 Biolegend 公司;PE-Rat IgG1 K Isotype Control(批号:E01654-1630)、PE anti-mouse IFN- γ (批号:E02134-1630)、PE anti-mouse IL-4(批号:E02006-1630),美国 eBioscience 公司;佛波酯(PMA,批号:3-H42930)、离子霉素,美国 Enzo Life Science 公司;FIX&PERM Kit,美国 Caltag 公司;BFA/Monensin Mixture,杭州联科生物技术有限公司。台式冷冻高速离心机,美国 Beckman 公司;流式细胞仪,美国 BD 公司。

1.3 药物配制 2.5 %TNBS:用 5 %TNBS 加无水乙醇 1:1 混匀稀释。AE 和 SASP 用 0.3 %羧甲基纤维素钠溶液配置成所需混悬液,置 4 °C 备用。

1.4 动物分组、模型复制及给药 40 只 BALB/c 小鼠适应性饲养 1 周后,随机分为 4 组,每组 10 只,即乙醇对照组、模型组、芦荟大黄素组(AE 组)及柳氮磺吡啶组(SASP 组)。各组动物禁食不禁水 24 h 后,腹腔注射 4 %水合氯醛 7.5 mL·kg⁻¹,待麻醉后进行灌肠造模,除乙醇对照组灌注 50 %乙醇外,其余动物

用灌胃针吸取 2.5 %TNBS100 μ L 进行灌肠造模,注入药液后均倒置 60 s,之后放回笼中饲养。造模 8 h 后待动物自由活动后开始灌胃给药,连续 6 d。乙醇对照组和模型组每天给 10 mL·kg⁻¹ 喂饲生理盐水,AE 组和 SASP 组分别按 150, 260 mg·kg⁻¹ 灌胃,灌胃体积同前两组。

1.5 疾病活动指数 根据 Hartmann 等^[2]的方法,观察造模后小鼠每日体质量变化(较实验开始时体质量变化百分比)、大便性状(大便是否成形)、肉眼血便情况。对小鼠进行疾病活动指数评分(disease activity index,DAI)评分。

1.6 标本采集及指标检测

1.6.1 镜下组织学评分 给药 6 d 后,迅速剪开腹腔,截取病变明显处结肠,进行常规 HE 染色,镜下观察组织学病理变化,分别从黏膜受累的范围、程度及炎症细胞的浸润情况等组织学的改变,参照文献^[3]评判标准采用双盲法进行组织学损伤指数(tissues damage index,TDI)评分。

1.6.2 脏器指数 给药 6 d 后,处死小鼠取出胸腺、脾脏,称湿质量,计算公式:脏器指数=脏器质量(mg)/体质量(g)×10。

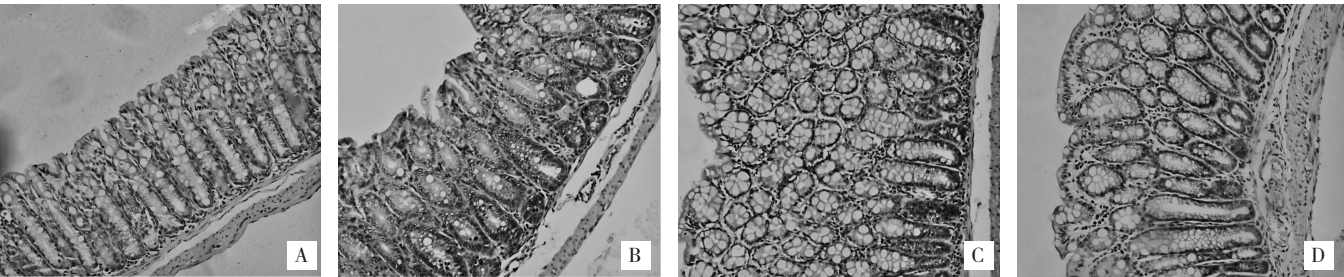
1.6.3 流式细胞术测定脾脏的 T 细胞亚群 取出各组小鼠的脾脏,采用研磨法制备脾细胞悬液。用冷 RPMI1640 培养液重悬细胞,调整细胞浓度至 1×10^7 /mL,接种于 48 孔培养板内,依次加入细胞刺激剂 PMA 100 ng·mL⁻¹、离子霉素 1 μ g·mL⁻¹ 和蛋白阻断剂(BFA 终浓度 3 μ g·mL⁻¹,莫能菌素终浓度 1.4 μ g·mL⁻¹),混匀后放入 37 °C 孵箱中培养。5 h 后收集细胞分为对照管和目标管,每管加入表面抗体 CD3、CD8 各 0.25 μ g 避光孵育后加入 FIX 和 PERM 液各 100 μ L 进行固定、破膜,之后目标管分别加入细胞因子抗体 IFN- γ 、IL-4,对照管加入同型对照抗体,避光孵育 30 min 后,洗涤细胞 2 次,最后以 400 μ L 洗涤液重悬细胞,24 h 内采用 FCM 检测分析。以 CD3 直方图设门区分 CD4⁺T 细胞及 CD8⁺T 细胞,最终以散点图 CD3⁺CD8⁻IFN- γ ⁺、CD3⁺CD8⁻IL-4⁺ 染色阳性分别表示 Th1 和 Th2 细胞;以 CD3⁺CD8⁺IFN- γ ⁺、CD3⁺CD8⁺IL-4⁺ 分别表示 Tc1 和 Tc2 细胞,用 Cell squest 软件获取并分析数据。

1.7 统计学处理方法 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异的比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 各组小鼠的一般情况及DAI评分结果 见表1。模型组小鼠在TNBS灌肠后第2天出现腹泻,肛周可见稀便甚至血便沾染,体质量明显下降,同时伴精神萎靡、懒动、毛发松散无光泽,其DAI评分明显高于乙醇对照组($P < 0.001$)。AE组和SASP组小鼠在给予TNBS灌肠造模后也出现了不同程度的体质量下降及大便性状改变,但未见肉眼血便。两组小鼠在治疗第3天症状开始减轻,饮食、活动和体质量明显增加,大便逐渐转为成形大便。该两组DAI评分均显著低于模型组($P < 0.01$)。

2.2 各组小鼠胸腺指数和脾脏指数变化 见表1。模型组小鼠的脾脏指数明显升高,与乙醇对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.001$)。而AE和SASP治疗均可明显降低结肠炎小鼠的脾脏指数,与模型组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。各组小鼠胸腺指数差异无统计学意义($P > 0.05$)。



A. 乙醇对照组; B. 模型组; C. AE组; D. SASP组

图1 各组小鼠结肠黏膜病理改变($\times 200$)

Figure 1 Colonic Histopathology of experimental mice($\times 200$)

2.4 各组小鼠脾脏CD4⁺、CD8⁺T淋巴细胞检测 见表2。与乙醇对照组比较,模型组小鼠脾脏CD4⁺T细胞比例明显升高,CD8⁺T细胞明显降低,致使CD4⁺/CD8⁺比值显著升高($P < 0.001$)。而AE组和SASP组小鼠脾脏CD4⁺T细胞水平明显降低,CD8⁺T细胞水平升高,CD4/CD8比值降低,与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.001$)。

2.5 各组小鼠脾脏Th和Tc细胞流式测定 见表3。

表3 各组小鼠脾脏Th和Tc细胞检测结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 The percentages of Th and Tc cells in the spleen of mice

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	Th1 / %	Th2 / %	Th1 / Th2	Tc1 / %	Tc2 / %	Tc1 / Tc2
乙醇对照组	-	2.16 ± 0.40**	1.20 ± 0.19**	1.84 ± 0.44**	1.43 ± 0.61***	0.80 ± 0.27	2.07 ± 1.01*
模型组	-	4.96 ± 0.93	0.66 ± 0.21	7.44 ± 2.81	3.21 ± 0.37	0.90 ± 0.13	3.63 ± 0.79
AE组	150	3.45 ± 0.32*	2.86 ± 0.28***	1.23 ± 0.17**	1.61 ± 0.16**	0.96 ± 0.19	1.71 ± 0.24**
SASP组	260	3.15 ± 0.344*	0.86 ± 0.21	3.83 ± 1.03*	1.47 ± 0.12***	1.01 ± 0.24	1.56 ± 0.45**

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ 。

表1 各组小鼠DAI、TDI评分及脏器指数的变化($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 DAI, TDI scores and thymus index, spleen index scores in mice

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	DAI	TDI	胸腺指数	脾脏指数
乙醇对照组	-	0.20 ± 0.30***	1.20 ± 1.30***	35.04 ± 2.68	39.24 ± 2.80***
模型组	-	2.20 ± 1.34	11.00 ± 2.00	30.36 ± 4.22	62.69 ± 8.08
AE组	150	0.80 ± 0.44**	6.00 ± 1.58*	32.80 ± 6.62	48.72 ± 5.81*
SASP组	260	0.60 ± 0.22**	5.20 ± 1.30*	34.20 ± 3.15	42.74 ± 2.30*

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ 。

2.3 各组小鼠镜下组织学改变及TDI评分结果 见图1及表1。镜下可见模型组小鼠结肠黏膜明显充血水肿、糜烂,上皮细胞大片坏死脱落、溃疡形成,黏膜及黏膜下层有大量的淋巴细胞浸润,腺体破坏增加,杯状细胞减少,腺腔变小或消失。而AE组和SASP组小鼠结肠黏膜病理损伤较模型组显著减轻,间质仅存轻度水肿和少量淋巴细胞浸润。TDI评分结果也显示AE组和SASP组的TDI评分明显低于模型组($P < 0.05$)。

细胞比例明显升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), 而 Th2 细胞比例明显降低($P < 0.01$), 从而使 Th1/Th2 比值、Tc1/Tc2 比值均明显高于乙醇对照组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。与模型组比较, AE 组和 SASP 组小鼠脾脏的 Th1 细胞、Tc1 细胞比例均明显降低, 而 Th2 细胞明显升高, Th1/Th2 比值、Tc1/Tc2 比值也明显降低, 差异具有统计学意义($P < 0.05 \sim P < 0.001$)。各组小鼠脾脏的 Tc2 细胞比例差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

尽管 IBD 病因和发病机制仍不十分清楚, 但免疫紊乱是目前被认为最重要的原因^[4]。T 细胞作为机体免疫反应的核心, 在 IBD 的发病过程中起重要作用^[4]。T 细胞属高度异质性的细胞群体, 根据细胞表面分化抗原的不同, 可将其分为 CD4⁺ 细胞和 CD8⁺ 细胞亚群。前者又称为辅助性 T 细胞 (Th), 后者又称为细胞毒性 T 细胞 (Tc)。CD4/CD8 比值可反映机体细胞免疫功能, 比值增高表明细胞免疫功能处于“过度活跃”状态, 反之属“免疫抑制”状态。根据 CD4⁺T 细胞分泌细胞因子的不同, 可将 Th 细胞分为 Th1 和 Th2 两大类。Th1 细胞以分泌 IFN- γ 、IL-12 等为特征, 主要介导细胞免疫的形成; 而 Th2 型反应则是以大量 IL-4 的分泌为特征, 主要介导体液免疫。Th1 和 Th2 细胞之间存在交互负反馈调节, 形成机体免疫功能的平衡。1995 年 Sad 等^[5]将能分泌 Th1 和 Th2 样细胞因子的 CD8⁺ 细胞毒性 T 淋巴细胞分别命名为 Tc1 和 Tc2。正常情况下, Th1/Th2 和 Tc1/Tc2 二者处于平衡状态, 维持机体正常免疫功能。

目前研究已经证实, Th1/Th2 比例失衡是 IBD 发病的重要机制之一。通常认为, CD 是由 Th1 细胞介导的免疫损伤为主, 而 UC 是 Th2 细胞介导的炎症性疾病^[6]。本研究所采用的 TNBS/乙醇诱导的小鼠结肠炎是目前国际上公认的研究 IBD 免疫学发病机制的理想动物模型, 该模型肠道组织学变化趋向于人类的 CD, 引发以 Th1 型为主的免疫炎症反应。

芦荟是一种药用价值极高的植物, 药理研究表明, 芦荟提取物具有减轻应激性溃疡大鼠胃黏膜损伤的作用; 鲜芦荟汁灌肠对慢性溃疡性结肠炎患者也有较好的临床疗效^[1]。AE 是药用芦荟的主要活性成分, 文献报道^[7-8]AE 能够抑制植物血凝素 (PHA) 及 IL-2 诱发的 T 细胞增殖和降低重症急性胰腺炎大鼠血清中 IL-6、TNF- α 水平。以上研究显示 AE 具有良好的抗炎、抗溃疡和免疫调节功能, 可能成为治

疗 IBD 有前景的药物。因此, 本实验观察 AE 对 TNBS 诱导的小鼠结肠炎模型脾脏 T 细胞亚群的影响, 以探讨其免疫调节机制, 为临床治疗 IBD 提供理论依据。

本研究结果发现, 模型组小鼠在 TNBS/乙醇灌肠后出现明显的腹泻、血便及体重减轻; 结肠组织病理损伤严重, 镜下可见结肠黏膜透壁性炎症及溃疡形成; 其 DAI 评分、TDI 评分均显著高于乙醇对照组; 检测还发现模型组小鼠脾脏 CD4⁺T 淋巴细胞比例、CD4/CD8 比值和脾指数也较乙醇对照组明显升高, CD8⁺T 细胞比例降低, 以上结果提示 TNBS/乙醇灌肠成功复制了小鼠结肠炎模型; 而该模型可以诱发明显的脾细胞功能紊乱, 表现为 CD4⁺T 细胞功能亢进, 这与文献^[6]报道的 IBD 结肠黏膜局部免疫紊乱一致。而 AE 灌胃治疗 1 周后, 可以明显减轻结肠炎小鼠的消化道症状和肠黏膜的病理损伤, 抑制脾脏过度激活的 CD4⁺T 淋巴细胞反应。现已明确 CD4⁺T 细胞是肠黏膜炎症的主要效应细胞, 在 IBD 的发生和维持中起着重要的作用^[6]。抑制脾脏过度激活的 CD4⁺T 细胞反应, 纠正 CD 小鼠细胞亚群的失衡状态, 可能是 AE 发挥免疫治疗的机制之一。

流式细胞术检测发现, 模型组小鼠脾脏存在明显的 T 细胞亚群平衡紊乱, 主要表现为 Th1/Tc1 型反应亢进, 而 Th2 型反应低下, 与文献报道一致^[4]。相反, AE 治疗组小鼠脾脏的 Th1、Tc1 细胞比例均明显降低, 而 Th2 细胞比例明显升高, Th1/Th2 细胞的比值、Tc1/Tc2 细胞的比值也明显降低, 这表明 AE 治疗可以将 TNBS 诱导的 Th1、Tc1 极化状态逆转为以 Th2 型为主的免疫反应。这无疑会使 Th1 型细胞因子, 如 IL-12、IFN- γ 、TNF- α 等促炎因子产生减少, 而 Th2 型的抑炎因子, 如 IL-4、IL-10 等产生增多, CD 小鼠结肠黏膜损伤必然会有所减轻。已有资料^[9-10]表明, 应用抗 IL-12 的单抗阻断 Th1 型反应或调节机体的免疫反应为 Th2 型反应后, 均可迅速缓解或减轻 Th1 驱动的结肠炎。很显然, AE 改善 CD 小鼠的炎症病理损伤, 对结肠炎小鼠发挥治疗作用的机制可能与其抑制 Th1/Tc1 型反应、促进 Th2 型反应、恢复 Th1/Th2 型反应的平衡有关。

综上所述, 芦荟大黄素可能主要通过调节 CD4⁺/CD8⁺T 淋巴细胞亚群间的平衡, 抑制 Th1 型/Tc1 型细胞分化, 诱导以 Th2 型为主的免疫反应, 从而减轻 TNBS 结肠炎小鼠的炎症病理损伤, 对实验动物发挥免疫保护作用。

参考文献:

- [1] 王莲, 吕芳, 张荣泉. 植物芦荟的化学成分、药理作用及应用的研究进展[J]. 天津药学, 2009, 21 (2): 63-65.
- [2] Hartmann G, Bidlingmaier C, et al. Specific type IV phosphodiesterase inhibitor rolipram mitigates experimental colitis in mice[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2000, 292(1): 22-30.
- [3] Santucci L, Fiorucci S, Rubinstein N, et al. Galectin-1 suppresses experimental colitis in mice [J]. Gastroenterology, 2003, 124 (5): 1381-1394.
- [4] Siegmund B, Zeitz M. Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease[J]. World J gastroenterol, 2011, 17(27): 3178-3183.
- [5] Sad S, Marcotte R, Mosmann T, et al. Cytokine induced differentiation of precursor mouse CD8⁺ T cells into cytotoxic CD8⁺ T cells secreting Th1 or Th2 cytokines[J]. Immunity, 1995, 2(3): 271-279.
- [6] Macdonald TT, Monteleone G, Pender SL. Recent developments in the immunology of inflammatory bowel disease[J]. Scand J Immunol, 2000, 51(1): 2-9.
- [7] 李新, 温寅飞, 等. 芦荟大黄素对白细胞介素-2 引起大鼠 T 细胞增殖和细胞内 Ca²⁺ 浓度变化的影响[J]. 中草药, 2010, 41(12): 2027-2030.
- [8] 李锦山, 李国辉, 等. 芦荟大黄素对大鼠实验性急性胰腺炎的作用[J]. 中国医药导报, 2009, 6(6): 14-15.
- [9] Wang LJ, Cao Y, Shi HN. Helminth infections and intestinal inflammation[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(33): 5125-5132.
- [10] Mannon PJ, Fuss IJ, Mayer L, et al. Anti-interleukin-12 antibody for active Crohn's disease [J]. N Engl J Med, 2004, 351 (20): 2069-2079.

(编辑: 邓响潮)

补骨脂 4 种组分对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症因子的影响

柴丽娟¹, 王安红², 徐金虎², 王虹¹, 王少峡¹, 张晗¹, 张晓霞² (1. 天津中医药大学 天津市中药药理学重点实验室, 天津 300193; 2. 天津中医药大学方剂学教育部重点实验室, 天津 300193)

摘要: 目的 探讨补骨脂 4 种组分补骨脂素、corylifol A、新补骨脂异黄酮、补骨脂酚对巨噬细胞 RAW264.7 细胞炎症因子的影响。方法 ELISA 法测定补骨脂 4 种组分对 LPS 刺激 RAW264.7 细胞 TNF- α , IL-1 β , IL-6 分泌的影响及雌激素受体抑制剂(ICI 182.170)的拮抗作用。结果 与正常对照组比较, 脂多糖(LPS)组可以显著升高 RAW264.7 细胞表达 TNF- α , IL-1 β , IL-6($P < 0.05$); corylifol A、补骨脂酚在 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下能显著降低 TNF- α 的分泌($P < 0.05$); 补骨脂素、corylifol A、新补骨脂异黄酮在 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下能显著降低 IL-1 β 的分泌($P < 0.05$); corylifol A、新补骨脂异黄酮、补骨脂酚在 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下显著降低 IL-6 的分泌。补骨脂 4 种组分的抗炎作用与补骨脂雌激素样活性无关。结论 补骨脂 4 种不同组分对 LPS 刺激引起的炎症因子的释放有抑制作用, 其抗炎作用与雌激素受体样活性无关。

关键词: 补骨脂素; corylifol A; 新补骨脂异黄酮; 补骨脂酚; TNF- α ; IL-1 β ; IL-6; 雌激素样作用

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)04-0360-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.04.009

Inhibition of Inflammatory Cytokines in the LPS-induced RAW264.7 Cells by Four Components from Fructus Psoraleae

CHAI Lijuan¹, WANG Anhong², XU Jinhui², WANG Hong¹, WANG Shaoxia¹, ZHANG Han¹, ZHANG Xiaoxia² (1. Tianjin Key Laboratory of Chinese Medicine Pharmacology, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 2. Key Laboratory of Pharmacology of Traditional Chinese Medical Formulae, Ministry of Education, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

Abstract: Objective To explore the effects of four components of psoralen, corylifol A, neobavaisoflavone, bakuchiol from Fructus Psoraleae on the inflammatory cytokines in LPS-induced RAW264.7 cells. **Methods** ELISA was adopted to examine the effect of the four components on the secretion of inflammatory cytokines of TNF- α ,

收稿日期: 2013-03-07

作者简介: 柴丽娟, 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 中药药理学。Email: cljuan1258@163.com。

基金项目: 科技部国际合作项目(2008DFB30070); 国家自然科学基金项目(81102860); 天津市卫生局科技基金项目(2010KZ118)。