

无尾果抗类风湿关节炎的有效部位筛选研究

高燕萍¹, 吴强², 陈芳有³, 黄丽萍³, 李燕珍², 钟国跃¹(1. 江西中医药大学中药资源与民族药研究中心, 江西 南昌 330004; 2. 江西中医药大学科技学院, 江西 南昌 330004; 3. 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330004)

摘要: **目的** 观察无尾果不同提取部位对人风湿性关节炎成纤维滑膜细胞(MH7A)相关细胞因子分泌及凋亡的影响, 初步筛选其抗类风湿关节炎(RA)的有效部位。**方法** 采用肿瘤坏死因子 α (TNF- α)诱导 MH7A 细胞建立类风湿关节炎滑膜细胞模型, 并以无尾果总提物、水部位、正丁醇部位、乙酸乙酯部位和石油醚部位进行干预。采用 CCK8 法检测 MH7A 细胞的增殖活性, 并计算半数抑制浓度(IC₅₀); 流式细胞术检测 MH7A 细胞凋亡; ELISA 法检测 TNF- α 诱导 MH7A 细胞分泌白细胞介素(IL)-6、IL-4、IL-1 β 、血管内皮生长因子(VEGF)、NF- κ B 受体活化因子配体(RANKL)水平; Western Blot 法检测 MH7A 细胞的凋亡相关蛋白表达水平。**结果** 无尾果总提物、水部位、正丁醇部位、乙酸乙酯部位和石油醚部位对 MH7A 细胞的 IC₅₀ 值分别为 223.9、99.4、123.7、497.9、>1 000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。与正常对照组比较, 模型组细胞上清液中的 IL-6、IL-1 β 、IL-4、VEGF 和 RANKL 含量显著升高($P<0.01$), 凋亡细胞显著增多($P<0.01$), 促凋亡因子 Bax、Caspase-9、Caspase-3 和抗凋亡因子 Bcl-2 的蛋白表达水平均显著升高($P<0.01$)。与模型组比较, 无尾果总提物组、水部位组和正丁醇部位组均可显著诱导 MH7A 细胞凋亡($P<0.01$); 显著降低 IL-6、IL-1 β 、VEGF 和 RANKL 水平($P<0.01$), 升高 IL-4 水平($P<0.01$); 水部位组和正丁醇部位组能明显上调促凋亡蛋白 Bax、Caspase-9 和 Caspase-3 的表达($P<0.01$), 抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达($P<0.01$)。**结论** 无尾果提取物诱导 MH7A 细胞凋亡及抗炎作用可能是其抗 RA 的机制之一, 水部位和正丁醇部位为其主要药效部位。

关键词: 无尾果; 人风湿性关节炎成纤维滑膜细胞(MH7A); 细胞因子; 细胞凋亡; 类风湿关节炎; 有效部位; 水部位; 正丁醇部位

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2021)04-0467-06

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.04.003

Screening the Effective Fraction of *Coluria longifolia* against Rheumatoid Arthritis

GAO Yanping¹, WU Qiang², CHEN Fangyou³, HUANG Liping³, LI Yanzhen², ZHONG Guoyue¹ (1. Center of Natural Resources of Chinese Medicinal Materials and Ethnic Medicine Research, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004 Jiangxi, China; 2. Science and Technology College, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004 Jiangxi, China; 3. College of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004 Jiangxi, China)

Abstract: **Objective** The effects of different extracts of *coluria longifolia* Maxim on cytokines secretion and apoptosis of human rheumatoid arthritis fibroblast synoviocyte MH7A were investigated, to preliminarily screen the effective fraction against rheumatoid arthritis. **Methods** Total extract and the fractions of water, *n*-butanol, ethyl acetate and petroleum ether from the *C. longifolia* Maxim were prepared and applied to TNF- α induced rheumatoid arthritis fibroblast synoviocyte MH7A cells. The proliferation of MH7A cells was detected by CCK8 method and IC₅₀ was calculated; the apoptosis of MH7A cells was detected by flow cytometry; the levels of IL-6, IL-4, IL-1 β , vascular endothelial growth factor(VEGF) and NF- κ B receptor activating ligand(RANKL) induced by TNF- α were

收稿日期: 2020-07-15

作者简介: 高燕萍, 女, 博士, 讲师, 研究方向: 中药药理与物质基础研究。Email: gyp1271985@126.com。通信作者: 钟国跃, 男, 博士, 教授, 研究方向: 植物化学与植物资源学。Email: zgy1037@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目(81860739); 江西省卫生计生委中医药科研项目(2017A286); 国家重点研发计划项目(2019YFC1712300); 江西省双一流学科(中药学)建设项目(JXSYLXK-ZHYA0034)。

detected by ELISA; the expression of apoptosis related proteins in MH7A cells was detected by Western Blot.

Results The IC_{50} values of the total extract and the fractions of water, *n*-butanol, ethyl acetate and petroleum ether from the *C. longifolia* Maxim on MH7A cells were 223.9, 99.4, 123.7, 497.9 and $>1\ 000\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively. Compared with the normal control group, the levels of IL-6, IL-1 β , IL-4, VEGF and RANKL in the model group were significantly increased ($P<0.01$), ratio of apoptotic cells and the expression of apoptosis related proteins including Bax, Caspase-9, Caspase-3 and Bcl-2 were also significantly increased ($P<0.01$). Compared with the model group, the total extract group, water extract group and *n*-butanol fraction group of *C. longifolia* Maxim could significantly induce the apoptosis of MH7A cells ($P<0.01$), significantly reduce the levels of IL-6, IL-1 β , VEGF and RANKL ($P<0.01$), and increase the level of IL-4 ($P<0.01$). Furthermore, compared with the model group, the expression of pro-apoptotic factors Bax, Caspase-9 and Caspase-3 were significantly increased ($P<0.01$), and the expression of anti-apoptotic protein Bcl-2 was significantly decreased ($P<0.01$).

Conclusion The inhibition of inflammation and induction of apoptosis in MH7A cells induced by the extract of *C. longifolia* Maxim may be one of the mechanisms of its anti-rheumatoid diseases, among which water and *n*-butanol fractions are the main active fractions.

Keywords: *Coluria longifolia*; human rheumatoid arthritis fibroblast synoviocyte (MH7A); cytokines; cell apoptosis; rheumatoid arthritis; active fractions; water fractions; *n*-butanol fractions

类风湿关节炎(Rheumatoid arthritis, RA)是一种以炎性滑膜病变为主的自身免疫性疾病,致残率较高,全球患病率为1%~2%^[1-2]。目前临床抗RA药物治疗有限,不良反应较多,如胃肠道反应、肝功能损害、白细胞和血小板减少等;而生物制剂类的RA治疗药物效果相对更好,但其存在价格昂贵、容易降解、生物利用度差等不足,还有引发结核病以及增加严重感染的风险^[3-4]。因此,研发新型高效低毒的RA治疗药物具有重要意义。无尾果(*C. longifolia* Maxim.)为蔷薇科无尾果属植物,是藏药“热袞巴”的主要来源品种之一,具有清热消炎、祛瘀等功效。本课题组前期研究^[5]发现,无尾果乙醇提取物能显著改善II型胶原蛋白诱导的类风湿关节炎(Collagen-induced arthritis, CIA)大鼠的症状,升高CIA大鼠的血清白细胞介素(IL)-2水平,降低肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、IL-1 β 及IL-6水平,并可显著下调p65、I κ B α 磷酸化水平,具有较好的抗RA作用。本研究拟进一步通过建立TNF- α 诱导的类风湿关节炎滑膜细胞模型,考察无尾果不同提取部位的抗炎、骨保护及促凋亡等方面的作用,以筛选出其活性部位,为阐明无尾果抗RA的作用机制及其开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 细胞株 人风湿性关节炎成纤维样滑膜细胞株

MH7A, 购自广州吉妮欧生物科技有限公司。

1.2 药物及试剂 无尾果药材购自成都荷花池药材市场,经江西中医药大学钟国跃教授鉴定为蔷薇科植物无尾果 *Coluria longifolia* Maxim.。粗提物制备方法:取无尾果干燥药材 5.0 kg,用 80%乙醇冷浸提取,浓缩乙醇得到其总提物 397.0 g。取总提物 15.36 g,用水分散,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取;回收溶剂,干燥,分别得到石油醚部位干浸膏 1.20 g、乙酸乙酯部位干浸膏 3.81 g、正丁醇部位干浸膏 6.23 g 和余下水部位干浸膏 2.18 g。

DMEM 高糖培养基(批号:11995040)、磷酸盐缓冲液(PBS,批号:10010023)、胰蛋白酶(批号:25200114)、双抗(批号:15240062),均购自美国 Gibco 公司;胎牛血清(FBS),以色列 BI 公司,批号:BISH0129;CCK8 试剂盒(批号:C0038)、细胞凋亡试剂盒(批号:C1063)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(批号:P0010S)、 β -actin 抗体(批号:AA128)、Caspase-9 抗体(批号:AC062)、Caspase-3 抗体(批号:AC030)、Bcl-2 抗体(批号:AB112)、Bax 抗体(批号:AB026),均购于上海碧云天生物技术研究;荧光二抗,美国 LI-COR 公司,批号:A23910;TNF- α ,美国 PeproTech 公司,批号:300-01A;IL-4(批号:BMS225)、IL-6(批号:BMS213)、IL-1 β (批号:BMS224)、血管内皮生长因子(VEGF,批号:BMS277) ELISA 检测试剂盒,均

购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; NF- κ B 受体活化因子配体(RANKL)检测试剂盒, 美国 Abcam 公司, 批号: ab213841。

1.3 仪器 DMI3000B 型显微镜, 德国 LEICA 公司; MCO-170 型细胞培养箱, 日本 SANYO 公司; ALLEGRA X-15R 型低温高速台式离心机, 美国 Beckman 公司; ODYSSEY 型多功能成像系统, 美国 LI-COR 公司; FACSCalibur 型流式细胞仪, 美国 BD 公司; 1658001 型垂直电泳仪, 美国 Bio-Rad 公司; Spark 10M 型多功能酶标仪, 瑞士 Tecan 公司。

1.4 细胞培养 采用含 20% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM 培养基, 于 5% CO_2 、37 $^{\circ}\text{C}$ 细胞培养箱中进行 MH7A 细胞培养。

1.5 CCK8 法检测细胞增殖活性 采用 96 孔细胞培养板以 $1 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度接种 MH7A 细胞, 给药组分别加入 100 μL 浓度为 0.1、0.3、1、3、10、30、100、300、1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的无尾果总提物、水部位、正丁醇部位、乙酸乙酯部位和石油醚部位, 每浓度设置 6 个复孔。继续培养 24 h, 每孔加入 10 μL 浓度为 5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 CCK8 溶液, 置于细胞培养箱孵育 4 h。最后, 在 450 nm 波长处检测各孔的吸光度, 计算半数抑制浓度(IC_{50})。

1.6 ELISA 法检测相关细胞因子含量 采用“1.5”项下方法进行铺板。待细胞贴壁后, 正常对照组仅加入等量的溶剂, 模型组加入 20 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 TNF- α ; 给药组加入 20 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 TNF- α 后, 再分别加入终浓度为 20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的无尾果总提物、10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的水部位、10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的正丁醇部位、50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的乙酸乙酯部位和 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的石油醚部位, 每组设置 3 个复孔。置于细胞培养箱中培养 24 h 后, 收集细胞上清液, 按照 ELISA 试剂盒说明书步骤检测细胞 IL-6、IL-1 β 、IL-4、VEGF、RANKL 的水平。

1.7 流式细胞术检测细胞凋亡 采用 6 孔细胞培养板以 $3 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度接种 MH7A 细胞, 每孔 2 mL。孵育 24 h 后完全贴壁, 细胞分组、造模同“1.6”项; 分别加入终浓度为 20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的无尾果总提物、10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的水部位、10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的正丁醇部位、50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的乙酸乙酯部位和 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的石油醚部位, 正常对照组加入相同体积溶剂。培养 24 h 后, 收集细胞, 参照试剂盒操作说明书进行染色, 最后采用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.8 Western Blot 法检测凋亡相关蛋白的表达 采用 6 孔细胞培养板以 $3 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度接种 MH7A 细胞,

每孔 2 mL。孵育 24 h 后, 细胞分组、造模同“1.6”项; 分别加入终浓度为 20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的无尾果总提物、10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的水部位、10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的正丁醇部位、50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的乙酸乙酯部位和 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的石油醚部位, 正常对照组加入相同体积溶剂。继续孵育 24 h 后, 弃去培养基, 以 PBS 漂洗 1 次, 再加入细胞裂解液 100 μL , 冰浴裂解。然后, 收集细胞, 采用 12 000 $\times g$ 离心 10 min, 取上清并用 BCA 蛋白浓度定量试剂盒测定浓度。之后, 加入上样缓冲液, 煮沸后离心收集样品。各组样品采用 SDS-PAGE 胶进行电泳分离, 然后电转到膜上; 用 5% 的脱脂奶粉封闭 30 min 后, 分别加入不同抗体, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜; 用 TBST 洗涤 3 次后, 加入二抗后室温孵育 2 h; 再用 TBST 洗涤 3 次后, 采用 ODYSSEY 双色红外激光成像仪进行成像。以 β -actin 为内参, 对相关蛋白表达进行半定量分析。

1.9 统计学处理方法 采用 GraphPad Prism 7 统计软件进行数据分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示; 多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 两两比较用 LSD 检验; 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

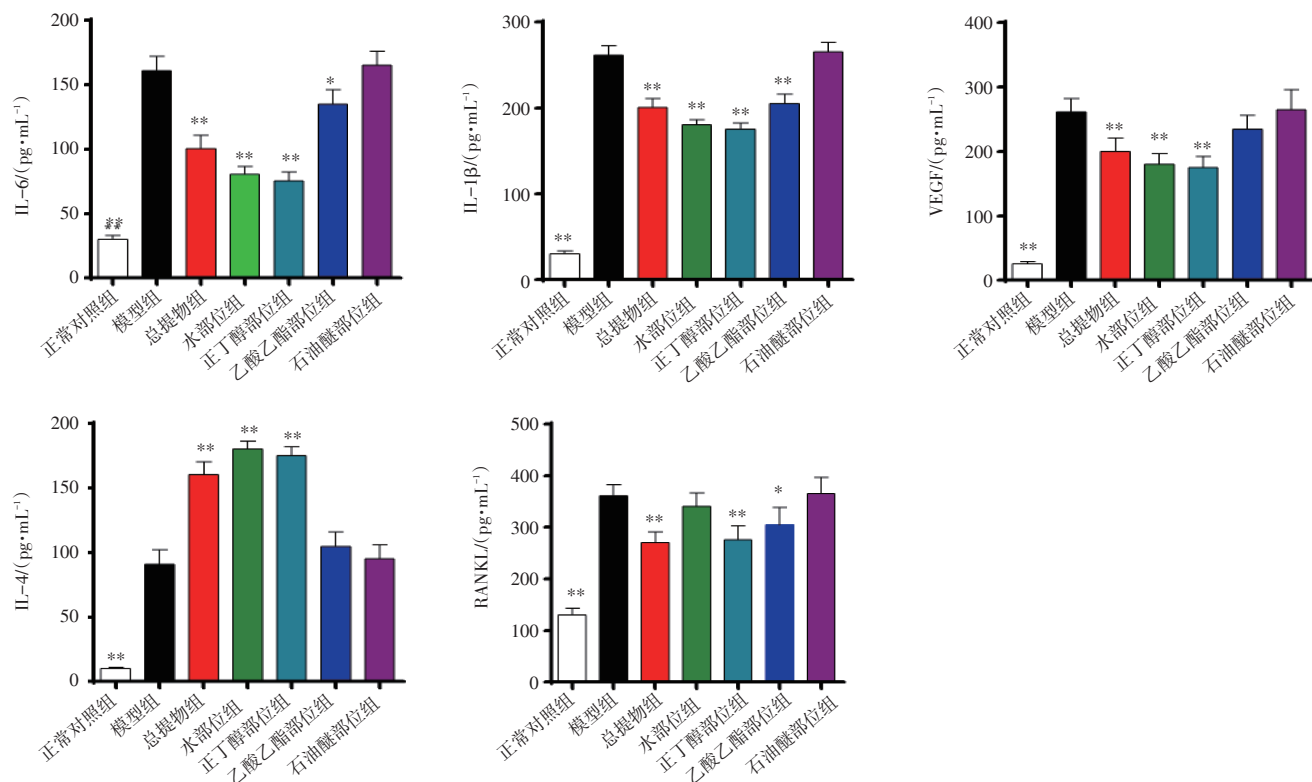
2.1 无尾果总提物及其不同提取部位对 MH7A 细胞增殖的影响 结果见表 1。无尾果总提物组、水部位组、正丁醇部位组、乙酸乙酯部位组和石油醚部位组对 MH7A 细胞的 IC_{50} 值分别为 223.9、99.4、123.7、497.9、 $> 1\,000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。后续实验选择各组约 IC_{50} 值的 1/10 浓度, 即终浓度为 20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的无尾果总提物、10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的水部位、10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的正丁醇部位、50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的乙酸乙酯部位和 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的石油醚部位, 进一步考察其对不同细胞因子及细胞凋亡的影响。

2.2 无尾果总提物及其不同提取部位对 MH7A 细胞相关细胞因子分泌的影响 结果见图 1。与正常对照组比较, 模型组细胞上清液中的 IL-6、IL-1 β 、IL-4、VEGF、RANKL 含量显著升高, 差异均具有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较, 无尾果总提物组、正丁醇部位组均可显著降低 IL-6、IL-1 β 、VEGF 和 RANKL 水平, 明显升高 IL-4 的水平, 差异均有统计学意义($P < 0.01$); 水部位组可显著降低 IL-6、IL-1 β 、VEGF 水平, 明显升高 IL-4 的水平, 差异均有统计学意义($P < 0.01$); 乙酸乙酯部位组能显著降

表 1 无尾果总提取物及其水、正丁醇、乙酸乙酯、石油醚部位对 MH7A 细胞的 IC_{50} 值($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 1 The IC_{50} values of the total extract and the fractions of water, *n*-butanol, ethyl acetate and petroleum ether from the *C. longifolia* Maxim on MH7A cells($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	$IC_{50}/(\mu g \cdot mL^{-1})$
总提取物组	223.9 ± 15.2
水部位组	99.4 ± 6.8
正丁醇部位组	123.7 ± 10.3
乙酸乙酯部位组	497.9 ± 31.1
石油醚部位组	$> 1\ 000$



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

图 1 无尾果总提取物及其水、正丁醇、乙酸乙酯、石油醚部位对细胞因子 IL-6、IL-1β、IL-4、VEGF、RANKL 分泌的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Figure 1 Effects of the total extract and the fractions of water, *n*-butanol, ethyl acetate and petroleum ether from the *C. longifolia* Maxim on the secretion of cytokines IL-6, IL-1β, IL-4, VEGF and RANKL($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

2.4 无尾果总提取物及其不同提取部位对 MH7A 细胞凋亡相关蛋白的影响 结果见图 3。与正常对照组比较, 模型组的促凋亡蛋白 Bax、Caspase-9、Caspase-3 和抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达水平均显著升高, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较, 无尾果水部位组、正丁醇部位组可明显上调促凋亡蛋白 Bax、Caspase-9 和 Caspase-3 的表达, 抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达, 差异均有统计学意义($P < 0.01$); 无

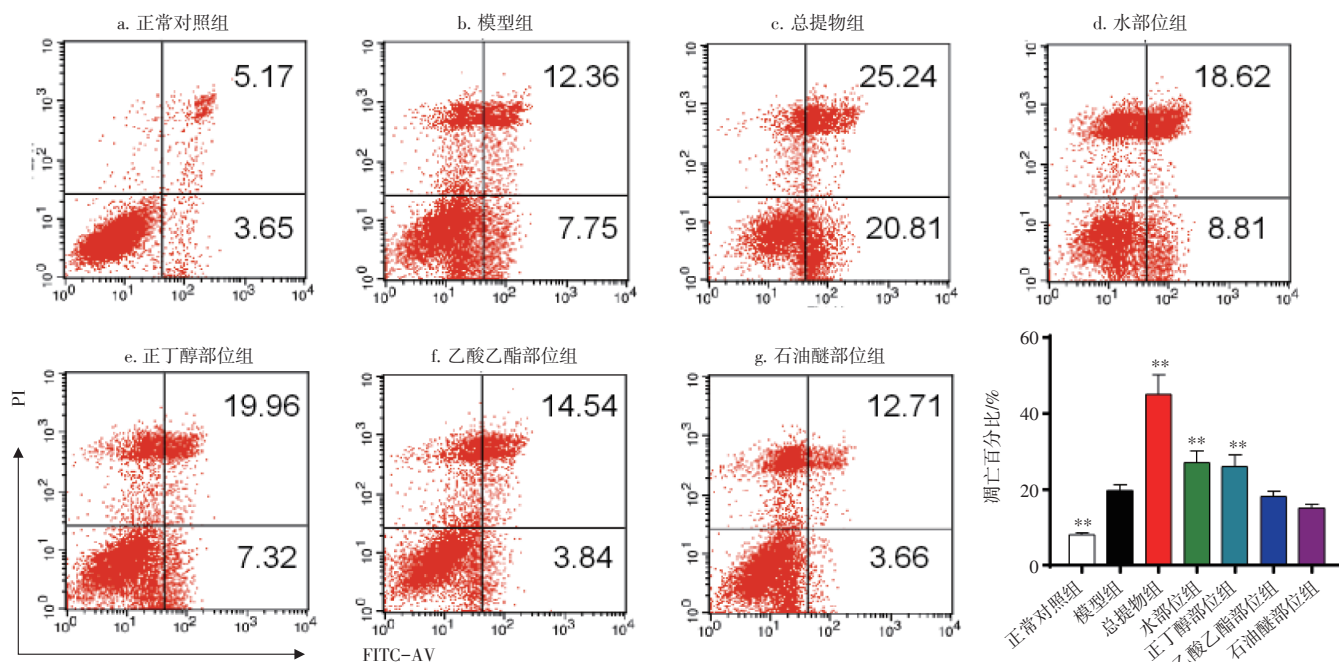
低 IL-6、IL-1β、RANKL 水平, 差异具有统计学意义($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$)。

2.3 无尾果总提取物及其不同提取部位对 MH7A 细胞凋亡的影响 结果见图 2。MH7A 细胞经 TNF-α 以及无尾果总提取物、水部位、正丁醇部位、乙酸乙酯部位和石油醚部位处理 24 h 后, 与正常对照组比较, 模型组的 MH7A 细胞凋亡明显增加, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较, 无尾果总提取物组、水部位组和正丁醇部位组可显著诱导 MH7A 细胞凋亡, 差异均有统计学意义($P < 0.01$)。

尾果总提取物组可明显上调促凋亡蛋白 Caspase-9 和 Caspase-3 的表达, 抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达, 差异均有统计学意义($P < 0.01$)。

3 讨论

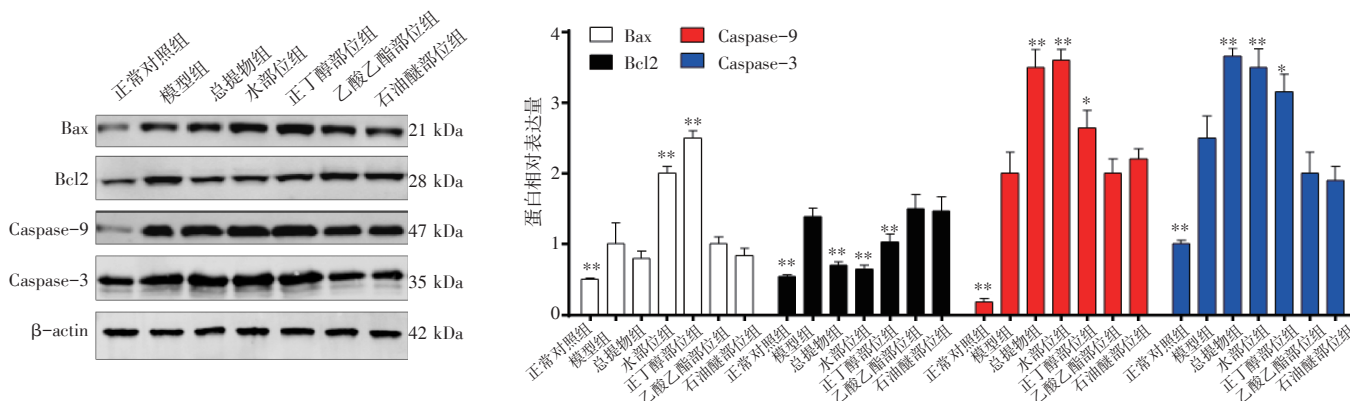
类风湿关节炎(RA)的发病机制复杂, 靶器官内可能存在多种机制同时或依序发生, 并相互影响, 成纤维滑膜细胞活化、增殖与凋亡造成系统稳态被



注：与模型组比较，** $P < 0.01$

图 2 无尾果总提物及其水、正丁醇、乙酸乙酯、石油醚部位对 MH7A 细胞凋亡的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Figure 2 Effects of the total extract and the fractions of water, *n*-butanol, ethyl acetate and petroleum ether from the *C. longifolia* Maxim on the apoptosis of MH7A cells($\bar{x} \pm s$, $n=3$)



注：与模型组比较，** $P < 0.01$

图 3 无尾果总提物、水、正丁醇、乙酸乙酯和石油醚部位对 MH7A 细胞凋亡相关蛋白的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Figure 3 Effects of the total extract and the fractions of water, *n*-butanol, ethyl acetate and petroleum ether from the *C. longifolia* Maxim on the apoptosis related proteins in MH7A cells($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

打破之后，炎症介质释放，进而引发 RA 的炎症过程和骨质破坏^[6]。MH7A 细胞是从 RA 患者体内分离出来的类风湿关节炎成纤维细胞系，在增生性滑膜中起主导作用，呈现类肿瘤样增生，可入侵软骨和股骨。在强致炎因子肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的刺激下，细胞内炎症因子水平上升，导致炎症级联反应的发生；炎症的加重进一步导致滑膜增生，形成血管翳，同时破坏骨质，加速骨降解，促进 RA 发生进程^[7]。因此，MH7A 细胞的炎症因子水平在 RA 的发生发展中起至关重要的作用。本研究结果表明，无

尾果总提物、水部位、正丁醇部位均可显著下调 MH7A 细胞的促炎因子 IL-6 水平，同时显著上调抑炎因子 IL-4 水平，表现出较好的抗炎活性。

随着炎症的加重，血管内皮生长因子(VEGF)在滑膜细胞增殖过程中直接参与了滑膜增生过程，并且 VEGF 在滑膜细胞过表达可加速滑膜形成血管翳^[8]。本研究结果表明，无尾果总提物、水部位及正丁醇部位可明显下调 VEGF 的表达，提示其对滑膜增生和新生血管有潜在的抑制作用。

在 RA 的发病机制过程中，NF- κ B 受体活化因子

配体(RANKL)发挥了至关重要的作用, RANKL 异常升高可破坏骨吸收平衡和骨形成, 加速骨分解代谢, 导致骨质破坏^[9]。本研究发现, 无尾果总提物、正丁醇部位和乙酸乙酯部位对 RANKL 因子的调控作用, 与前期研究^[5]中无尾果乙醇提取物对 NF- κ B 信号通路的调节作用相一致。

类风湿关节炎的关节软骨和骨组织的损害, 与滑膜细胞的过度增殖活化与凋亡密切相关^[10]。本研究发现, 无尾果总提物组、水部位组和正丁醇部位组可以显著抑制 RA 细胞的增殖, 在治疗 RA 方面呈现了良好的应用前景。Bax 是重要的凋亡蛋白, 而 Bcl-2 是抗凋亡蛋白, Bax 与 Bcl-2 相互作用激活 Caspase-9 和 Caspase-3 继而诱导细胞凋亡^[11]。本研究发现, 经无尾果总提物、水部位、正丁醇部位处理后, MH7A 细胞抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达显著下调, 同时促凋亡蛋白 Bax 表达显著上调, Caspase-9、Caspase-3 被激活诱导细胞凋亡。

综上所述, 无尾果总提物、水部位、正丁醇部位可以降低 IL-6、IL-1 β 、VEGF、RANKL 细胞因子的分泌, 抑制 TNF- α 诱导的 MH7A 细胞的增殖, 同时调节 Bcl-2 家族 Bcl-2、Bax 蛋白的表达, 促使 Caspase-9 和 Caspase-3 的激活, 最终诱导 MH7A 细胞凋亡。本研究结果初步表明, 无尾果水部位和正丁醇部位可能存在一些极性相对大的具有抗 RA 活性的化合物, 这可能是无尾果总提物抗 RA 的药效物质基础。因此, 值得进一步进行活性跟踪, 分离这 2 个部位的化合物, 并进一步进行活性筛选, 以期找到无尾果抗 RA 的活性化合物, 明确其抗 RA 的作用途径, 为 RA 药物的开发提供科学依据。

参考文献:

[1] SHARIF K, SHARIF A, JUMAH F, et al. Rheumatoid arthritis in

review: clinical, anatomical, cellular and molecular points of view [J]. Clin Anat, 2018, 31(2): 216-223.

[2] KOENDERS M I, VAN DEN BERG W B. Novel therapeutic targets in rheumatoid arthritis[J]. Trends Pharmacol Sci, 2015, 36(4): 189-195.

[3] SMOLEN J S, ALETAHA D. Rheumatoid arthritis therapy reappraisal: strategies, opportunities and challenges[J]. Nat Rev Rheumatol, 2015, 11(5): 276-289.

[4] GLINATSI D, HEIBERG M S, RUDIN A, et al. Head-to-head comparison of aggressive conventional therapy and three biological treatments and comparison of two de-escalation strategies in patients who respond to treatment: study protocol for a multicenter, randomized, open-label, blinded-assessor, phase 4 study[J]. Trials, 2017, 18(1): 161-170.

[5] 高燕萍, 魏荣锐, 吴强, 等. 无尾果醇提物对类风湿性关节炎大鼠的影响[J]. 中成药, 2019, 41(3): 673-676.

[6] CIECHOMSKA M, WILSON C L, FLOUDAS A, et al. Antigen-specific B lymphocytes acquire proteoglycan aggrecan from cartilage extracellular matrix resulting in antigen presentation and CD4⁺ T-cell activation[J]. Immunology, 2014, 141(1): 70-78.

[7] NOSS E H, BRENNER M B. The role and therapeutic implications of fibroblast-like synoviocytes in inflammation and cartilage erosion in rheumatoid arthritis[J]. Immunol Rev, 2008, 223(1): 252-270.

[8] RUDOLPH E H, WOODS J M. Chemokine expression and regulation of angiogenesis in rheumatoid arthritis[J]. Curr Pharm Des, 2005, 11(5): 613-631.

[9] WRIGHT H L, MCCARTHY H S, MIDDLETON J, et al. RANK, RANKL and osteoprotegerin in bone biology and disease[J]. Curr Rev Musculoskelet Med, 2009, 2(1): 56-64.

[10] 施桂英, 栗占国, 袁国华. 关节炎概要[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005: 300-332.

[11] CHEN H C, KANAI M, INOUE Y, YAMAUCHI A, et al. An interconnected hierarchical model of cell death regulation by the BCL-2 family[J]. Nat Cell Biol, 2015, 17(10): 1270-1281.

(编辑: 邹元平)