

红景天含药血清对肿瘤坏死因子 α 诱导的人类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞增殖的影响

田乐¹, 朴松兰², 何艳新¹, 潘志¹ (1. 长春中医药大学人参科学研究院, 吉林 长春 130117; 2. 长春中医药大学临床医学院, 吉林 长春 130117)

摘要: **目的** 探讨红景天含药血清对肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 诱导的人类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞 (HFLS-RA) 增殖的影响。**方法** 制备空白组、模型组、雷公藤多苷组 ($9.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 及红景天低、中、高剂量组 (1.05 、 2.1 、 $4.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 大鼠含药血清; 体外培养 HFLS-RA, 以 $20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ TNF- α 及 10% 不同组含药血清对 HFLS-RA 进行干预。采用 MTT 法检测各组含药血清对 HFLS-RA 细胞的增殖作用; ELISA 法检测细胞上清液中白细胞介素 6 (IL-6)、白细胞介素 17 (IL-17)、转化生长因子 β (TGF- β)、白细胞介素 10 (IL-10) 的含量; PCR 法检测细胞中维甲酸受体相关孤儿受体 γ t (ROR- γ t)、信号转导及转录激活因子 3 (Stat3)、叉头样转录因子 3 (Foxp3) mRNA 表达; Western Blot 法检测细胞中 ROR- γ t、Stat3、Foxp3 蛋白表达。**结果** 与空白组比较, 模型组培养 HFLS-RA 24、48 h 后细胞增殖水平明显升高 ($P < 0.01$), ROR- γ t、Stat3 mRNA 及蛋白表达上调 ($P < 0.01$), IL-6、IL-17 水平升高 ($P < 0.01$), Foxp3 mRNA 及蛋白表达下调 ($P < 0.01$), TGF- β 、IL-10 水平降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 红景天各剂量组 HFLS-RA 细胞增殖水平降低 ($P < 0.01$), ROR- γ t、Stat3 mRNA 及蛋白表达下调 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), IL-6、IL-17 水平降低 ($P < 0.01$), Foxp3 mRNA 及蛋白表达上调 ($P < 0.01$), TGF- β 、IL-10 水平升高 ($P < 0.01$)。**结论** 红景天含药血清可抑制 TNF- α 诱导的 HFLS-RA 细胞的异常增殖, 其机制可能与下调 ROR- γ t、Stat3 表达及上调 Foxp3 表达有关。

关键词: 红景天含药血清; 人类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞; 维甲酸受体相关孤儿受体 γ t; 信号转导及转录激活因子 3; 叉头样转录因子 3; 细胞增殖; 肿瘤坏死因子 α

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2022)03-0287-06

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2022.03.002

Effect of Serum Containing Herba Rhodiolae on the Proliferation of Human Fibroblast-like Synoviocytes-rheumatoid Arthritis Induced by Tumor Necrosis Factor- α

TIAN Le¹, PIAO Songlan², HE Yanxin¹, PAN Zhi¹ (1. Changchun University of Chinese Medicine, Jilin Ginseng Academy, Changchun 130117 Jilin, China; 2. Changchun University of Chinese Medicine, Clinical Medical School, Changchun 130117 Jilin, China)

Abstract: **Objective** To explore the effect of serum containing Herba Rhodiolae on the proliferation of human fibroblast-like synoviocyte-rheumatoid arthritis (HFLS-RA) induced by tumor necrosis factor- α (TNF- α). **Methods** HFLS-RA cultured *in vitro* was divided into blank group, model group, tripterygium glycosides group ($9.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and low-, medium- and high-dose groups of serum containing Herba Rhodiolae (1.05 、 2.1 、 $4.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), with $20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ TNF- α and different groups of medicated serum HFLS-RA intervened. MTT method was used to detect the proliferation effect of serum containing Herba Rhodiolae on HFLS-RA; ELISA method was used to detect the content of interleukin-6 (IL-6), interleukin-17 (IL-17), transforming growth factor- β (TGF- β) and interleukin-10

收稿日期: 2021-06-09

作者简介: 田乐, 女, 硕士研究生, 研究方向: 药效物质基础与机制研究。Email: tianlehydt@163.com。通信作者: 潘志, 男, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 中药药理学、方证研究及中药复方药效作用物质基础及机理研究, 中药有效成分及应用开发研究。Email: 13596030117@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82074324); 长春中医药大学科学研究发展培育基金项目 (11096)。

(IL-10) in the cell supernatant. The PCR method was used to detect the expression of RAR-related orphan receptor gamma (ROR- γ t), signal transducers and activators of transcription 3 (Stat3) and Foxhead box protein 3 (Foxp3) mRNA in the cells, and the Western Blot method was used to detect the expression of ROR- γ t, Stat3, and Foxp3 protein in the cells. **Results** Compared with the blank group, the cell proliferation level was significantly increased in the model group after 24-hour and 48-hour of HFLS-RA culture ($P < 0.01$), ROR- γ t, Stat3 mRNA and protein expression were upregulated ($P < 0.01$), IL-6 and IL-17 levels were increased ($P < 0.01$), Foxp3 mRNA and protein expression were downregulated ($P < 0.01$), TGF- β and IL-10 levels were reduced ($P < 0.01$); Compared with the model group, the proliferation activity of HFLS-RA in each dose group of the Herba Rhodiolae decreased ($P < 0.01$), the transcription factor ROR- γ t, Stat3 mRNA and protein expression decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), the levels of IL-6 and IL-17 decreased ($P < 0.01$), and Foxp3 mRNA and protein expression upregulated ($P < 0.01$), and the level of TGF- β and IL-10 increased ($P < 0.01$). **Conclusion** Serum containing Herba Rhodiolae is able to inhibit the abnormal proliferation of HFLS-RA induced by TNF- α , and its mechanism may be related to the down-regulation of ROR- γ t expression and Stat3, and the up-regulation of Foxp3 expression.

Keywords: Serum containing Herba Rhodiolae; human fibroblast-like synoviocyte-rheumatoid arthritis (HFLS-RA); RAR-related orphan receptor gamma (ROR- γ t); signal transducers and activators of transcription 3 (Stat3); Foxhead box protein 3 (Foxp3); cell proliferation; tumor necrosis factor- α (TNF- α)

类风湿关节炎 (Rheumatoid arthritis, RA) 是一种常见的自身免疫性疾病, 其主要特点是多个关节滑膜被炎性细胞浸润且关节腔内有血管翳生成, 病理表现为成纤维样滑膜细胞增殖导致滑膜内衬层增生, 最终引起骨组织破坏和软骨退化^[1-2]。目前 RA 治疗药物中的生物制剂价格昂贵, 非甾体抗炎药 (NSAIDs)、环氧化酶-2 抑制剂 (COX-2)、改善病情抗风湿药 (DMARDs) 和糖皮质激素等存在毒副作用问题^[3]。中医药治疗 RA 在改善症状体征及关节功能障碍, 提高生活质量方面有其独特优势^[4]。中药红景天性平、味甘苦, 具有扶正固本、益气活血、止痛止血、化瘀消肿等功效^[5], 《千金翼方》言“景天主寒热风痹”。现代药理研究^[6]表明红景天具有抗炎作用。本课题组前期研究^[7-8]发现, 红景天苷可抑制人类类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞 (HFLS-RA) 的增殖, 其机制可能与对 Wnt/ β -catenin 信号通路的调控有关。目前 RA 的发病机制尚不完全清楚, 但随着近年来对不同 T 细胞亚群分化发育及其关键转录因子的探讨^[9-10], 发现辅助性 T 细胞 17 (Th17) 关键转录因子维甲酸受体相关孤儿受体 γ t (ROR- γ t)、信号转导及转录激活因子 3 (Stat3) 及调节性 T 细胞 (Treg) 关键转录因子叉头样转录因子 3 (Foxp3) 在介导 RA 炎性反应中发挥重要作用。因此, 本研究拟基于 Foxp3/Stat3/ROR- γ t 转录因子调控探讨红景天含药血清对肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 诱导的

HFLS-RA 细胞增殖的影响, 观察红景天治疗 RA 与调节 Th17/Treg 平衡的相关性, 以期对相关研究提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 动物及细胞 健康雄性 Wistar 大鼠 30 只, SPF 级, 体质量 (180 $\pm$ 20)g, 购自长春亿斯实验动物技术公司, 动物生产许可证号: SCXK (吉) 2018-0007。实验动物使用许可证号: SYXK (吉) 2018-0014, 于标准动物房饲养, 12 h 明暗循环, 温度 (22 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C, 湿度 (55 $\pm$ 5)%。人类类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞 (HFLS-RA), 购自北京北纳创联生物技术研究院, 取 3~7 代细胞用于实验。

1.2 药物及试剂 红景天, 北京仟草中药饮片公司, 批号: 190218005, 经长春中医药大学蔡广知副教授鉴定为正品; 雷公藤多苷片, 上海复旦复华药业公司, 批号: 191204。MTT, 北京索莱宝科技公司, 批号: M8180; TNF- α , 美国 Pepro Tech 公司, 批号: 300-01A-10; 人转化生长因子 β (TGF- β)、白细胞介素 6 (IL-6) ELISA 检测试剂盒, 上海优选生物科技公司, 批号: 20201009A; 人白细胞介素 10 (IL-10)、白细胞介素 17 (IL-17) ELISA 检测试剂盒, 江苏科特生物科技公司, 批号: Sep2020; BCA 蛋白浓度测定试剂盒, 上海碧云天生物技术公司, 批号: 120219200821; 总 RNA 提取试剂盒, 北京天根生化

科技有限公司, 批号: U8907; Bioteke super RT Kit, 北京泰克生物技术公司, 批号: B020009018; 2×Hieff Robust PCR Master Mix (With Dye), 上海翊圣生物科技有限公司, 批号: H0001061; ROR- γ t、Foxp3、Stat3 引物, 苏州泓迅生物科技有限公司, 批号: B201009000197; GAPDH (批号: AP0063)、Foxp3 (批号: BS90536)、Stat3 (批号: AP0365) 抗体, 美国 Bioworld 公司; ROR- γ t 抗体 (批号: bs-23019R)、Goat anti-Rabbit IgG(H&L)-HRP (批号: AF12114126), 北京博奥森生物技术有限公司。

1.3 主要仪器 RT-6100 型酶标仪, 深圳雷杜生命科学股份有限公司; ETC811 型基因扩增仪, 苏州东胜兴业科学仪器有限公司; 165-8000 型电泳仪、170-3930 型转膜仪, 美国 Bio-Rad 公司; FL1000 型智能成像系统, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

1.4 含药血清的制备 将 30 只 Wistar 大鼠随机分为空白组、模型组、雷公藤多苷组及红景天低、中、高剂量组, 每组 5 只。以常规水煎法制备红景天水煎液。红景天的临床给药剂量为每人每天 20 g, 根据人与大鼠体表面积换算大鼠等效剂量为 $2.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 作为中剂量, 设置低剂量为 $1.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 高剂量为 $4.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 同法换算雷公藤多苷组给药剂量为 $9.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。各组均采用灌胃给药, 空白组、模型组灌胃等量蒸馏水, 每日 2 次, 连续 7 d。给药结束后腹主动脉采血, 收集血清, 56°C 灭活 30 min, -20°C 保存备用。

1.5 细胞分组及干预 HFLS-RA 细胞随机分为 6 组, 即空白组 (10% 空白组大鼠血清培养基)、模型组 ($20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ TNF- α +10% 空白组大鼠血清培养基)、雷公藤多苷组 ($20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ TNF- α +10% 雷公藤多苷组大鼠血清培养基)、红景天低剂量组 ($20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ TNF- α +10% 红景天低剂量组大鼠血清培养基)、红景天中剂量组 ($20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ TNF- α +10% 红景天中剂量组大鼠血清培养基)、红景天高剂量组 ($20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ TNF- α +10% 红景天高剂量组大鼠血清培养基)。

1.6 MTT 法检测细胞增殖活力 将 HFLS-RA 细胞以 $5 \times 10^4 \cdot \text{mL}^{-1}$ 接种于 96 孔板, 每孔 $100 \mu\text{L}$, 每组设置 6 个复孔, 培养过夜; 按照分组设置加入终质量浓度为 $20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 TNF- α , 1 h 后添加含药血清^[11]; 分别培养 24、48 h 后每孔加入 MTT 溶液 $10 \mu\text{L}$, 再培养 4 h 后每孔加入 DMSO 溶液 $150 \mu\text{L}$, 振荡 10 min 后, 采用酶标仪在 490 nm 波长处测定吸光度 (A) 值。

1.7 ELISA 法检测细胞上清液中 IL-6、IL-17、TGF- β 、IL-10 水平 实验分组、干预同“1.5”项下, 细胞培养 24 h 后收集上清液, 按照试剂盒说明书步骤检测 IL-6、IL-17、TGF- β 、IL-10 水平。

1.8 PCR 法检测细胞中 ROR- γ t、Foxp3、Stat3 mRNA 表达 实验分组、干预同“1.5”项下, 培养 24 h 后弃细胞上清; 每 10 cm^2 面积加入 1 mL RZ 裂解液, 按照试剂盒说明书步骤提取总 RNA, 检测 RNA 含量和纯度 ($A_{260}/A_{280}=1.9\sim 2.1$); 按照试剂盒说明书步骤反转录合成 cDNA, 总 RNA $0.6 \mu\text{g}$, 反应条件: 42°C 、50 min, 70°C 、10 min; 按照试剂盒说明书步骤扩增目标因子 mRNA, 反应体系: $50 \mu\text{L}$, 反应条件: 94°C 预变性 5 min, 94°C 变性 10 s, 60°C 退火 20 s, 72°C 延伸 20 s, 共 40 个循环, 72°C 终延伸 5 min; 1% 琼脂糖凝胶电泳, 电泳条件: 100 V、15 min; 测量目的基因灰度值, 以 β -actin 为内参基因, 进行半定量分析。引物序列见表 1。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences for PCR

基因	引物序列 (5'-3')
β -actin	正向: GACTTCGACGAAGAGATGG
	反向: CAGTGATCTCCTTCTGCATC
ROR- γ t	正向: GTGGGGACAACTCGTCTGG
	反向: AGTGCTGGCATCGGTTTTCG
Foxp3	正向: GTGGCCCGGATGTGAGAAG
	反向: GGAGCCCTTGTCCGATGATG
Stat3	正向: CAGCAGCTTGACACACGGTA
	反向: AAACACCAAAGTGGCATGTGA

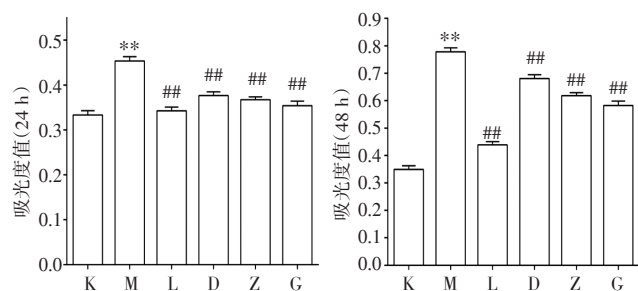
1.9 Western Blot 法检测细胞中 ROR- γ t、Stat3、Foxp3 蛋白表达 实验分组、干预同“1.5”项下, 培养 24 h 后收集细胞; 加入含有 1% PMSF 的 RIPA 裂解液, 用细胞刷刮擦, 4°C 下裂解 30 min; 4°C 下以 $9\ 930 \times g$ 离心 10 min, 收集上清液, 根据 BCA 蛋白浓度测定试剂盒说明书步骤检测蛋白浓度; 蛋白样品加入 5×SDS 蛋白上样缓冲液 (4:1) 混匀, 100°C 煮 5 min; 采用 12% SDS-PAGE 电泳分离蛋白 ($10 \mu\text{g}$, 80 V、30 min 跑上层胶, 120 V、40 min 跑下层胶); 将分离的蛋白质印迹转移到 PVDF 膜上 (250 V 、100 min); 用 5% 脱脂奶粉室温下摇床封闭 1 h, 1×TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min; 用 Foxp3 (1:500)、ROR- γ t (1:500)、Stat3 (1:500) 和 GAPDH (1:2 000) 一抗 4°C 下孵育过夜, 1×TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min; 室温下摇床孵育二抗 [Goat anti-Rabbit

IgG(H&L)-HRP, 1:1 000] 1 h, 1×TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min; 采用 ECL 化学发光, 于蛋白凝胶电泳成像仪中进行成像; 测定条带灰度值, 以 GAPDH 为内参, 对目的蛋白进行半定量分析。

1.10 统计学处理方法 采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析, 计量资料以均数±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), 两两比较采用 LSD 检验(方差齐)或 Dunnett's T3 检验(方差不齐); 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

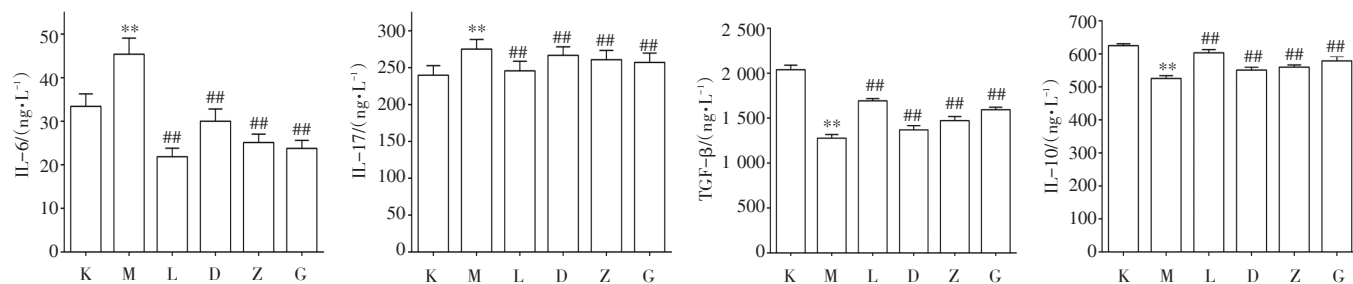
2.1 红景天含药血清对 TNF- α 诱导的 HFLS-RA 细胞增殖的影响 结果见图 1。与空白组比较, 模型组培养 24、48 h 后细胞增殖水平明显升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 雷公藤多苷组及红景天含药血清各剂量组培养 24、48 h 后细胞增殖水平明显降低($P < 0.01$)。结果表明, 红景天含药血清对 TNF- α 诱导的 HFLS-RA 细胞异常增殖具有抑制作用。



注: K. 空白组; M. 模型组; L. 雷公藤多苷组; D. 红景天低剂量组; Z. 红景天中剂量组; G. 红景天高剂量组。与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ### $P < 0.01$

图 1 红景天含药血清对 TNF- α 诱导的 HFLS-RA 细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Figure 1 Effect of serum containing rhodiola on the proliferation of HFLS-RA induced by TNF- α ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)



注: K. 空白组; M. 模型组; L. 雷公藤多苷组; D. 红景天低剂量组; Z. 红景天中剂量组; G. 红景天高剂量组。与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ### $P < 0.01$

图 2 红景天含药血清对 TNF- α 诱导的 HFLS-RA 细胞 IL-6、IL-17、TGF- β 、IL-10 水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Figure 2 Effects of serum containing rhodiola on the levels of IL-6, IL-17, TGF- β and IL-10 in HFLS-RA induced by TNF- α ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

2.2 红景天含药血清对 TNF- α 诱导的 HFLS-RA 细胞 IL-6、IL-17、TGF- β 、IL-10 水平的影响

结果见图 2。与空白组比较, 模型组细胞上清液中的 IL-6、IL-17 水平明显升高($P < 0.01$), TGF- β 、IL-10 水平明显降低($P < 0.01$)。与模型组比较, 雷公藤多苷组及红景天含药血清各剂量组细胞上清液中的 IL-6、IL-17 水平明显降低($P < 0.01$), TGF- β 、IL-10 水平明显升高($P < 0.01$)。

2.3 红景天含药血清对 TNF- α 诱导的 HFLS-RA 细胞 ROR- γ t、Foxp3 及 Stat3 mRNA 表达的影响

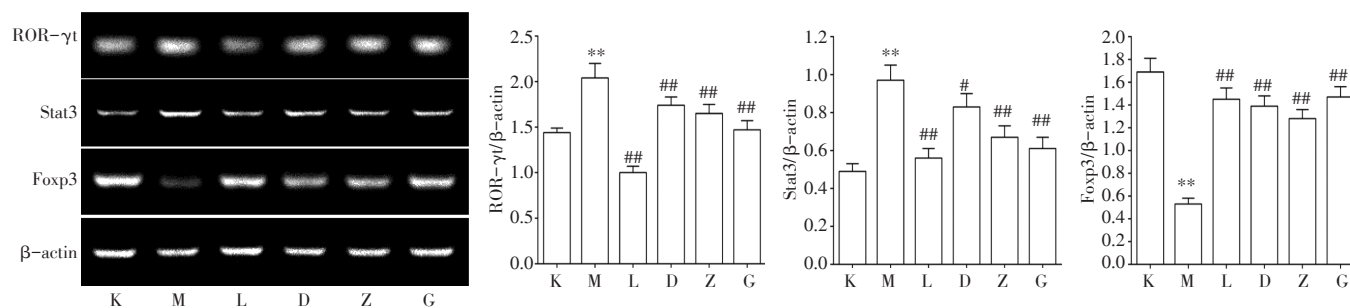
结果见图 3。与空白组比较, 模型组细胞的 ROR- γ t、Stat3 mRNA 表达明显上调($P < 0.01$), Foxp3 mRNA 表达明显下调($P < 0.01$)。与模型组比较, 雷公藤多苷组及红景天含药血清各剂量组细胞的 ROR- γ t、Stat3 mRNA 表达明显下调($P < 0.05$, $P < 0.01$), Foxp3 mRNA 表达明显上调($P < 0.01$)。

2.4 红景天含药血清对 TNF- α 诱导的 HFLS-RA 细胞 ROR- γ t、Stat3、Foxp3 蛋白表达的影响

结果见图 4。与空白组比较, 模型组细胞的 ROR- γ t、Stat3 蛋白表达明显上调($P < 0.01$), Foxp3 蛋白表达明显下调($P < 0.01$)。与模型组比较, 雷公藤多苷组及红景天含药血清中、高剂量组细胞的 ROR- γ t、Stat3 蛋白表达明显下调($P < 0.01$), Foxp3 蛋白表达明显上调($P < 0.01$)。

3 讨论

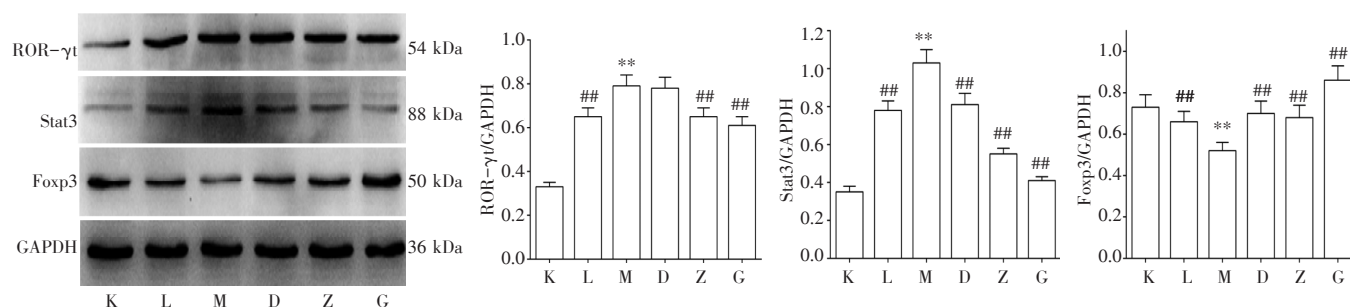
类风湿关节炎(RA)主要表现为慢性滑膜炎, 并导致关节完整性改变, 全世界患病率为 0.5%~1%, 女性是男性的 2~3 倍, 临床主要表现为关节红肿、疼痛、晨僵等^[12], 早期防治可以避免不可逆性残疾。



注: K. 空白组; M. 模型组; L. 雷公藤多苷组; D. 红景天低剂量组; Z. 红景天中剂量组; G. 红景天高剂量组。与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

图 3 红景天含药血清对 TNF- α 诱导的 HFLS-RA 细胞 ROR- γ t、Foxp3 及 Stat3 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Figure 3 Effect of serum containing rhodiola on the expression of ROR- γ t, Foxp3 and Stat3 mRNA in HFLS-RA induced by TNF- α ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)



注: K. 空白组; M. 模型组; L. 雷公藤多苷组; D. 红景天低剂量组; Z. 红景天中剂量组; G. 红景天高剂量组。与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.01$

图 4 红景天含药血清对 TNF- α 诱导的 HFLS-RA 细胞 ROR- γ t、Stat3、Foxp3 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Figure 4 Effect of serum containing rhodiola on the expression of ROR- γ t, Stat3 and Foxp3 in HFLS-RA induced by TNF- α ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

红景天具有润肺、补肾、扶正固本、理气养血、健脑益智和滋补强身的功效,是治疗 RA 的常用中药,具有抗纤维化、抗炎、抗细胞凋亡等多种药理作用^[7,13-14]。

研究^[15]表明,人类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞(HFLS-RA)增殖是滑膜过度增生及血管翳形成的主要原因。HFLS-RA 是 RA 患者滑膜组织中最主要的细胞类型之一,其存在于滑膜衬里层(内膜),可产生多种炎症因子,导致关节炎的发生,也可产生基质降解酶,导致关节骨质破坏;HFLS-RA 的异常增生在 RA 发病机制中发挥了重要作用,是 RA 发生发展过程中的关键细胞,也是 RA 治疗最关键的靶点^[16-17]。本研究结果表明,红景天含药血清可有效抑制 TNF- α 诱导的 HFLS-RA 细胞异常增殖。

IL-17 是一种致炎细胞因子,参与 RA 关节滑膜炎症、血管翳形成、软骨损伤及骨侵蚀等过程。IL-17 可通过增加滑膜成纤维细胞基质金属蛋白酶及软骨细胞的表达来促进软骨基质降解^[18-19]。IL-6 是 RA 发

病中的关键炎症因子,抑制 IL-6 可以有效控制 RA 炎症反应和免疫活化^[20]。TGF- β 和 IL-10 可抑制 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞的活化增殖,发挥维持免疫耐受和抗炎作用。IL-6 可激活 Stat3/ROR- γ t 从而调控 IL-17 的高水平分泌^[21]。而高浓度的 TGF- β 可诱导 Foxp3 调控 IL-10 的高水平分泌^[22]。本研究结果显示,红景天含药血清可降低 TNF- α 诱导的 HFLS-RA 细胞炎症因子 IL-6、IL-17 水平,升高抑炎因子 TGF- β 、IL-10 水平,下调 ROR- γ t、Stat3 表达,上调 Foxp3 表达。

综上所述,红景天含药血清可能通过转录因子 Foxp3/Stat3/ROR- γ t 来调控相关抑炎/促炎因子的水平,从而抑制 TNF- α 诱导的 HFLS-RA 细胞异常增殖。

参考文献:

[1] ALETAHA D, SMOLEN J S. Diagnosis and management of

- rheumatoid arthritis: a review[J]. JAMA, 2018, 320(13): 1360–1372.
- [2] CHUNG I M, KETHARNATHAN S, THIRUVENGADAM M, et al. Rheumatoid arthritis: the stride from research to clinical practice[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(6): 900–910.
- [3] NGIAN G S. Rheumatoid arthritis[J]. Aust Fam Physician, 2010, 39(9): 626–628.
- [4] 宋泽冲, 照日格图. 中医药治疗类风湿关节炎研究进展[J]. 新疆中医药, 2021, 39(1): 113–116.
- [5] 关鑫. 红景天的临床功效与药理作用研究[J]. 中国医药导报, 2010, 7(32): 14–18.
- [6] 路萌, 高丽玲. 高山红景天治疗类风湿性关节炎临床观察[J]. 黑龙江中医药, 2001, 36(3): 23–24.
- [7] 郑洋洋, 代东雪, 潘志, 等. 红景天苷对TNF- α 诱导的人类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞增殖的抑制作用及其意义[J]. 吉林大学学报(医学版), 2017, 43(3): 485–490.
- [8] 郑洋洋. 红景天苷对TNF- α 诱导的人类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞中Wnt/ β -catenin信号通路的调控作用及其意义[D]. 吉林: 长春中医药大学, 2017.
- [9] MAI J, WANG H, YANG X F. Th 17 cells interplay with Foxp3⁺ Tregs in regulation of inflammation and autoimmunity[J]. Front Biosci, 2010, 15: 986–1006.
- [10] KELCHTERMANS H, GEBOES L, MITERA T, et al. Activated CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells inhibit osteoclastogenesis and collagen-induced arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2009, 68(5): 744–750.
- [11] 何莲花, 覃清霞, 王晗, 等. 二妙散对TNF- α 诱导的人类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(5): 11–17.
- [12] MEIER F M, FRERIX M, HERMANN W, et al. Current immunotherapy in rheumatoid arthritis[J]. Immunotherapy, 2013, 5(9): 955–974.
- [13] 龚小军, 陈素红, 吕圭源. 红景天“益气活血”功效相关药理作用研究进展[J]. 安徽医药, 2008, 12(4): 292–294.
- [14] 孙许涛, 柳颖, 姜德友, 等. 红景天药理作用研究进展[J]. 中医药学报, 2017, 45(6): 119–122.
- [15] CONFORTI A, DI C I, PAVLYCH V, et al. Beyond the joints, the extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis[J]. Autoimmun Rev, 2021, 20(2): e102735.
- [16] ZHANG Q, LIU J, ZHANG M, et al. Apoptosis induction of fibroblast-like synoviocytes is an important molecular-mechanism for herbal medicine along with its active components in treating rheumatoid arthritis[J]. Biomolecules, 2019, 9(12): e9120795.
- [17] MCINNES I B, SCHETT G. Pathogenetic insights from the treatment of rheumatoid arthritis[J]. Lancet, 2017, 389(10086): 2328–2337.
- [18] 卢月, 曹雅晶, 钱瑞琴. IL-17在类风湿性关节炎发病机制中的作用[J]. 中国免疫学杂志, 2011, 27(9): 855–859.
- [19] IWAKURA Y, ISHIGAME H, SAIJO S, et al. Functional specialization of interleukin-17 family members[J]. Immunity, 2011, 34(2): 149–162.
- [20] KANG S, TANAKA T, NARAZAKI M, et al. Targeting interleukin-6 signaling in clinic[J]. Immunity, 2019, 50(4): 1007–1023.
- [21] HIRAHARA K, GHORESCHI K, LAURENCE A, et al. Signal transduction pathways and transcriptional regulation in Th17 cell differentiation[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2010, 21(6): 425–434.
- [22] LI M O, FLAVELL R A. TGF- β : a master of all T cell trades [J]. Cell, 2008, 134(3): 392–404.

(编辑: 邹元平)