

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.21.004
网络首发 https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20231026.1252.005(2023-10-26)

松萝提取物对胶原诱导性关节炎大鼠 HMGB1-RAGE 通路及自噬相关基因的影响*

赵青青¹, 安 阳^{2△}, 张 军², 徐 晖², 陆道敏², 曹跃朋², 宁乔怡², 王 莹²

(1. 贵州中医药大学, 贵阳 550001; 2. 贵州中医药大学第二附属医院风湿免疫科, 贵阳 550001)

[摘要] **目的** 探讨松萝提取物对胶原诱导性关节炎(CIA)大鼠高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)-晚期糖基化终产物受体(RAGE)通路及自噬相关基因的影响。**方法** 选择5周龄 SPF 级 Wistar 雌性大鼠 54 只,造模成功后分为空白组、模型组、羟氯喹(HCQ)组,松萝提取物低(2 mg/kg)、中(6 mg/kg)、高(54 mg/kg)剂量组,每组 9 只。空白组、模型组予生理盐水灌胃,其余各组进行相应药物干预。ELISA 检测血清中 IL-6、HMGB1 水平,RT-PCR 检测 Beclin1、B 淋巴细胞瘤-2 基因(Bcl-2)、Ⅲ型磷酸肌醇 3 激酶(PI3K C3)mRNA 表达,Western blot 检测 HMGB1、RAGE、Beclin1、Bcl-2、PI3K C3 蛋白表达。**结果** 与空白组比较,松萝提取物低、中、高剂量组、模型组、HCQ 组血清 IL-6、HMGB1 水平升高,滑膜组织 HMGB1、RAGE 蛋白表达和 Bcl-2、PI3K C3 mRNA 及蛋白表达升高,Beclin1 mRNA 及蛋白表达降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,HCQ 组和松萝提取物中、高剂量组血清 HMGB1、IL-6 水平升高,滑膜组织 HMGB1、RAGE 蛋白表达和 Bcl-2、PI3K C3 mRNA 及蛋白表达降低,Beclin1 mRNA 及蛋白表达升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 HCQ 组比较,松萝提取物中、高剂量组上述指标无明显变化($P>0.05$)。**结论** 松萝提取物可能通过调控自噬水平,降低炎症反应。

[关键词] 类风湿关节炎;高迁移率族蛋白 B1;晚期糖基化终产物受体;自噬;松萝提取物
[中图法分类号] R392.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)21-3220-07

Effects of usnea extract on HMGB1-RAGE pathway and autophagy related gene in rat with collagen-induced arthritis*

ZHAO Qingqing¹, AN Yang^{2△}, ZHANG Jun², XU Hui², LU Daomin²,
CAO Yuepeng², NING Qiaoyi², WANG Ying²

(1. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou 550001, China;
2. Department of Rheumatism and Immune, Second Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou 550001, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effects of usnea extract on high mobility group protein B1 (HMGB1) advanced stage glycosylation end-product receptor (RAGE) pathway and autophagy related genes in collagen-induced arthritis (CIA) rats. **Methods** A total of 54 the grade SPE Wistar female rats of 5 weeks old were selected. After successful modeling, the rats were divided into the blank group, model group, hydroxychloroquine (HCQ) group, usnea extract low-dose group (2 mg/kg), medium dose group (6 mg/kg) and high dose group (54 mg/kg), 9 cases in each group. The blank group and model group were given the normal saline by gavage, and the other groups were given the corresponding drug interventions. The serum IL-6 and HMGB1 levels were detected by ELISA method, and the mRNA expressions of Beclin1, Bcl-2 and PI3K C3 were detected by RT-PCR, and the protein expressions of HMGB1, RAGE, Beclin1, Bcl-2 and PI3K C3 were detected by the Western blot method. **Results** Compared with the blank group, the serum HMGB1 and IL-6 levels in the usnea low-dose, medium-dose and high-dose groups, model group and HCQ group were inc-

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81960909,82060909);贵州省科技计划项目(黔科合平台人才[2020]2202号);贵州省科技平台及团队计划项目(黔科合平台人才[2018]5707)。 作者简介:赵青青(1993—),在读硕士研究生,主要从事中西医结合风湿免疫疾病防治研究。
△ 通信作者, E-mail: anyang8372@126.com。

reased, the protein expressions of HBGB1 and RAGE and Bcl-2 and PI3K C3 mRNA and protein were increased, the protein expression of Beclin1 mRNA was decreased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Compared with the model group, the HMGB1 and IL-6 levels in the HCQ group and the usnea extract medium-dose and high-dose groups were increased, the HMGB1, RAGE protein expression and Bcl-2 and PI3K C3 mRNA and protein expression were decreased, Beclin1 mRNA and protein expressions were increased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Compared with the HCQ group, the above indicators in the usnea extract medium-dose and high-dose groups had no significant change ($P > 0.05$). **Conclusion** Usnea extract could reduce the inflammatory reaction by regulating the autophagy level.

[Key words] rheumatoid arthritis; high mobility group protein; receptor of advanced glycation endproducts; autophagy; usnea extract

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种自身免疫性疾病,其主要病理改变在滑膜组织,以对称性、破坏性关节炎为特征,致残率高^[1]。滑膜细胞自噬参与了 RA 关节的炎症与损坏,高迁移率族蛋白 B1(high mobility group protein, HMGB1)是重要的细胞自噬调节基因,近年来研究认为其与高亲和力受体也就是晚期糖基化终产物受体(the receptor of advanced glycation endproducts, RAGE)结合,促进滑膜成纤维细胞(synovial fibroblast, SF)迁移、增殖和分化,进而导致关节破坏和功能丧失^[2]。研究证实, HMGB1-RAGE 可以激活死亡相关蛋白激酶(death-associated protein kinase, DAPK)促使 Beclin1 磷酸化,诱导 Beclin1 与 B 淋巴细胞瘤-2 基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)分离,调节细胞自噬^[3],调控关节炎症。

侗药松萝性味甘、平,有除湿通络、清热解毒之功。有研究证实,松萝提取物有抗炎、镇痛、抑制血管生成等作用^[4]。课题组在前期的临床研究中证实松萝的组方可改善 RA 患者的临床症状和体征,降低炎症水平^[5]。动物实验研究显示,松萝制剂能减轻胶原诱导性关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)模型大鼠关节肿胀,降低滑膜细胞活化核转录因子 κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)的蛋白活性^[6-7]。本研究探讨松萝提取物对 HMGB1-RAGE 通路及自噬相关基因的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

SPF 级 Wistar 大鼠 54 只,雌性,5 周龄,体重(160±10)g,购自湖北省实验动物研究中心,许可证号 SCXK(鄂)2020-0018,饲养于贵阳中医学院实验动物中心。电热恒温培养(ICV-450)购自日本 ASONE 公司;离心机(HI650)购自湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;HMGB1 检测试剂盒(SEA399Ra)购自武汉优尔生商贸有限公司;QuantiCyto[®] Rat IL-6 ELISA kit(ERC003.48)购自深圳欣博盛生物科技有

限公司;磷酸酶抑制剂(S1873)、RIPA 裂解液(P0013B)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(P0010)购自上海碧云天生物技术有限公司;Taq Plus DNA Polymerase(ET105-01)购自日本 TINGEN 公司;松萝提取物[批号:IU0130,其主要成分为松萝酸(纯度>98%)]、羟氯喹(HCQ,批号:IH0720)购自北京索莱宝科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 分组和建模

饲养环境(22±2)℃、湿度约 70%,适应性饲养 1 周启动实验。采用随机数字表法将大鼠分为松萝提取物低剂量组、松萝提取物中剂量组、松萝提取物高剂量组、HCQ 组、模型组、空白组^[8],每组 9 只。

牛Ⅱ型胶原放置醋酸(0.1 mol/L)内溶解,充分混合(2 mg/mL 溶液),4℃冰箱静置 1 d。等量混合弗氏全佐剂同时乳化得到Ⅱ型胶原乳液,向大鼠尾根部注射 0.1 mL 以诱导炎症,构建稳定的 CIA 大鼠模型^[9]。有效建模的标准:经关节评分显示模型大鼠的趾端到踝关节区域见红肿现象,同时关节炎评分在 4 分以上^[10]。

根据课题组先前的实验经验^[4]及临床成人用量(常规 15 g、小量 6 g、大量 120 g)之间的比例,本研究松萝提取物给药低剂量为 2 mg/kg,中剂量为 6 mg/kg,高剂量为 54 mg/kg。HCQ 成人用量为每天 400 mg,根据 60 kg 成人和动物药物剂量对应换算系数表,双方换算系数 $W=5.4$,即大鼠用药剂量为人用药剂量的 5.4 倍^[11],由此每只大鼠用药量为每天 36 mg。各组给予相应药物灌胃,空白组及模型组灌胃等量生理盐水,每天 1 次,连续灌胃 28 d。

1.2.2 样品采集

待最后 1 次灌胃结束后 2 h,经腹腔注入 0.4 mL/100 g 氨基甲酸乙酯行麻醉处理,采集 5 mL 左右的股动脉血液室温下静置 0.5 h,3 000 r/min 离心 15 min,提取血清,待后续实验。处死大鼠,取后右足踝关节,分离出滑膜组织,检测蛋白水平。

1.2.3 ELISA 检测血清致炎因子水平

采集大鼠血液,常规离心,分离血清,ELISA 检测 HMGB1、IL-6 水平。按照相关试剂盒说明进行操作,37 ℃ 反应 30 min 温育,洗板 5 次,加入酶标试剂,37 ℃ 反应,再洗板 5 次,加入显色液 A、B,37 ℃ 显色 10 min,加入终止液,酶标仪在 450 nm 波长处测量吸光度(A)值。

1.2.4 RT-PCR 检测 Bcl-2、Beclin1 和Ⅲ型磷酸肌醇 3 激酶(ptdlns3K Class 3,PI3K C3)mRNA 表达

完成总 RNA 的提取和对 cDNA 的逆转录合成。合成条件:50 ℃ 2 min,95 ℃ 10 min;95 ℃ 30 s,

60 ℃ 30 s,40 个循环。测定 Bcl-2、Beclin1、PI3K C3 mRNA 表达。引物设计见表 1。

1.2.5 Western blot 检测 HMGB1、RAGE、Beclin1、Bcl-2 和 PI3K C3 蛋白表达

将剪碎的滑膜组织块匀浆,冰上裂解 30 min 后,在 4 ℃ 下 12 000 r/min 离心 5 min,取上清液。以 BSA 为标准,Bradford 法对上清液进行蛋白定量。随后进行蛋白变性,SDS-PVDF 电泳,TBST 封闭液浸泡 PVDF 膜,室温摇床封闭 2 h。一抗 4 ℃ 过夜,二抗孵育 2 h,反复洗膜,显色曝光,分析目的条带相对灰度值。

表 1 Beclin1、Bcl-2、PI3K C3 引物序列

引物	方向	序列	长度(bp)
β-actin	上游	5'-CACGATGGAGGGGCCGACTCATC-3'	240
	下游	5'-TAAAGACCTCTATGCCAACACAGT-3'	
Beclin1	上游	5'-GAGGTACCGACTTGTTCCT-3'	225
	下游	5'-CCTTTCTCCACGTCCATCCT-3'	
Bcl-2	上游	5'-TGACTGAGTACCTGAACCGGCATCT-3'	120
	下游	5'-GAGACAGCCAGGAGAAATCAAACAGA-3'	
PI3K C3	上游	5'-GCAACAAGTCCTCTGCCAAA-3'	222
	下游	5'-ACGTAATAGAGGAGCTGGGC-3'	

1.2.6 关节滑膜病理形态学观察

取关节滑膜组织,4%多聚甲醛溶液,石蜡包埋,常规 HE 和胶原纤维染色。光镜下观察滑膜细胞病理改变,图像分析系统分析结果。

1.2.7 透射电子显微镜观察自噬体情况

将待观察细胞离心,洗涤,戊二醛、锇酸固定,丙酮梯度脱水,浸泡,包埋,修块,定位,切片,染色。在透射电镜下观察细胞自噬体和自噬泡的形成。

1.3 统计学处理

采用 SPSS22.0 软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析(ANOVA),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠关节炎指数和关节肿胀情况

与模型组 $[(3.50 \pm 0.53)$ 分] 比较,HCQ 组 $[(1.62 \pm 0.74)$ 分] 和松萝提取物中、高剂量组 $[(2.25 \pm 0.88)$ 分、 (1.75 ± 0.70) 分] 关节炎指数降低 ($P < 0.05$),关节红肿情况明显缓解;与 HCQ 组比较,松萝提取物中、高剂量组关节炎指数、红肿情况无明显变化 ($P > 0.05$),松萝提取物低剂量组 $[(3.00 \pm 0.75)$ ng/mL] 关节炎指数升高 ($P < 0.05$),见图 1。

2.2 关节滑膜细胞病理形态学

空白组病理结构正常。模型组可见滑膜细胞明显增生,并伴有炎性细胞浸润,血管翳形成。与模型组比较,各剂量松萝提取物组及 HCQ 组滑膜细胞增殖程度逐渐减低,滑膜细胞层数减少,排列更整齐,见图 2。

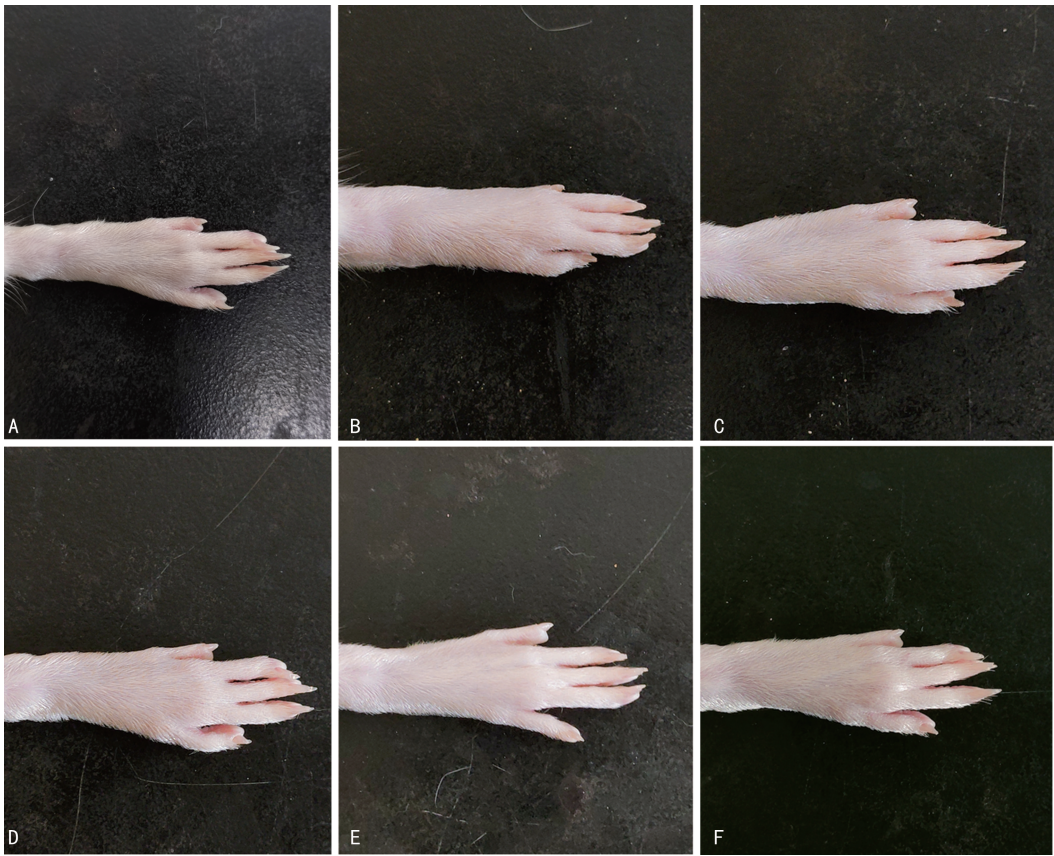
2.3 各组大鼠 IL-6、HMGB1 水平

与空白组比较,模型组 IL-6 与 HMGB1 水平升高 ($P < 0.05$);与模型组比较,松萝提取物低、中、高剂量组、HCQ 组 HMGB1、IL-6 水平降低 ($P < 0.05$);与 HCQ 组比较,松萝提取物低剂量组 HMGB1、IL-6 水平升高 ($P < 0.05$),松萝提取物中、高剂量组 HMGB1、IL-6 水平无明显变化 ($P > 0.05$),见表 2。

表 2 各组大鼠血清中 IL-6、HMGB1 水平比较
($\bar{x} \pm s, n = 9, \text{pg/mL}$)

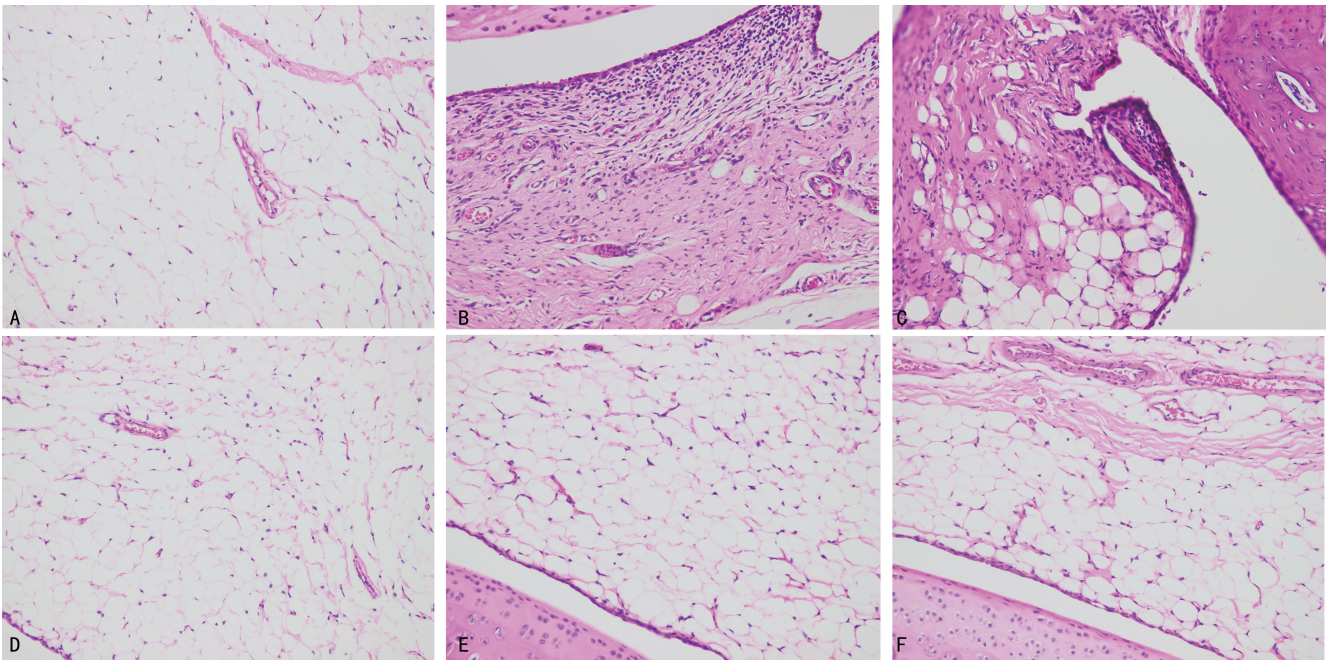
组别	IL-6	HMGB1
空白组	272.66±45.09	587.33±62.01
模型组	609.33±45.72 ^a	2 000.66±193.41 ^a
松萝提取物低剂量组	512.00±52.50 ^{abc}	1 690.33±198.87 ^{abc}
松萝提取物中剂量组	433.33±53.66 ^{ab}	1 250.66±158.77 ^{ab}
松萝提取物高剂量组	452.66±71.59 ^{ab}	1 140.33±176.21 ^{ab}
HCQ 组	401.66±53.78 ^{ab}	1 061.00±143.62 ^{ab}

^a: $P < 0.05$, 与空白组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 HCQ 组比较。



A:空白组,无关节发红、肿胀;B:模型组,可见脚趾延续到整个踝关节重度红肿;C:松萝提取物低剂量组,可见足爪关节红肿较模型组稍缓解;D、E、F:分别为松萝提取物中、高剂量组及 HCQ 组,可见足爪关节红肿明显缓解。

图 1 各组大鼠足踝外观变化情况



A:空白组;B:模型组;C:松萝提取物低剂量组;D:松萝提取物中剂量组;E:松萝提取物高剂量组;F:HCQ 组。

图 2 各组大鼠滑膜细胞病理形态学(HE,200×)

2.4 各组大鼠滑膜组织 Beclin1、Bcl-2 与 PI3K C3 mRNA 表达

与空白组比较,松萝提取物不同剂量组、HCQ 组和模型组 Bcl-2、PI3K C3 mRNA 表达升高,Beclin1

mRNA 表达降低,差异有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,HCQ 组和松萝提取物中、高剂量组 Bcl-2、PI3K C3 mRNA 表达降低,Beclin1 mRNA 表达升高($P<0.05$);与 HCQ 组比较,松萝提取物高、中剂

量组上述指标无明显变化($P>0.05$),见表 3。

表 3 各组大鼠滑膜组织 Beclin1、Bcl-2 与 PI3K C3 mRNA 表达比较($\bar{x}\pm s,n=9$)

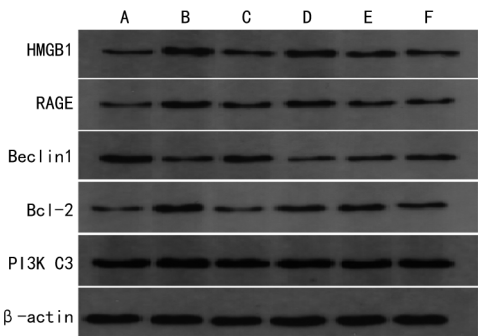
组别	Beclin1	Bcl-2	PI3K C3
空白组	0.98±0.13	1.13±0.14	0.96±0.10
模型组	0.43±0.05 ^a	3.74±0.40 ^a	1.24±0.11 ^a
松萝提取物低剂量组	0.49±0.06 ^{ac}	3.23±0.33 ^{ac}	1.09±0.18 ^{ac}
松萝提取物中剂量组	0.66±0.08 ^{ab}	2.49±0.40 ^{ab}	1.07±0.14 ^{ab}
松萝提取物高剂量组	0.72±0.11 ^{ab}	2.24±0.35 ^{ab}	0.98±0.11 ^{ab}
HCQ 组	0.77±0.08 ^{ab}	2.09±0.32 ^{ab}	0.98±0.16 ^{ab}

^a: $P<0.05$,与空白组比较;^b: $P<0.05$,与模型组比较;^c: $P<0.05$,与 HCQ 组比较。

2.5 各组大鼠滑膜组织 HMGB1、RAGE、Bcl-2、PI3K C3 与 Beclin1 蛋白表达

与空白组比较,模型组 HMGB1、RAGE、Bcl-2、PI3K C3 蛋白表达升高,Beclin1 蛋白表达降低,差异有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,HCQ 组和松萝提取物中、高剂量组 HMGB1、RAGE、Bcl-2、PI3K C3 蛋白表达降低,Beclin1 蛋白表达升高,差异有统计学意义($P<0.05$);与 HCQ 组比较,松萝提取物中、高剂量组上述指标无明显变化($P>0.05$),见图

3、表 4。

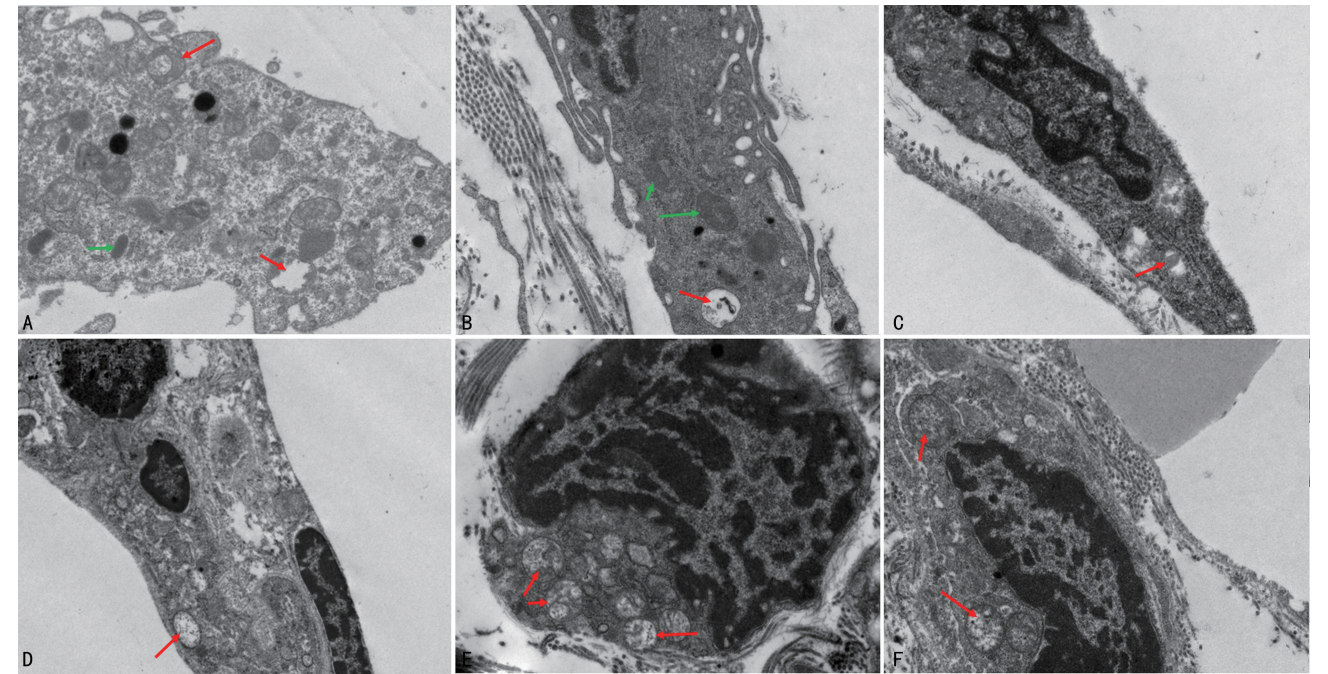


A:空白组;B:模型组;C:松萝提取物低剂量组;D:松萝提取物中剂量组;E:松萝提取物高剂量组;F:HCQ 组。

图 3 各组大鼠膜组织相关蛋白表达条带图

2.6 透射电子显微镜观察自噬体情况

透射电子显微镜观察发现,空白组滑膜组织中细胞线粒体结构完整,有少量自噬体形成,维持正常细胞代谢需求;与空白组比较,模型组细胞线粒体结构完整,数量有所增加,自噬体数量相对较少;与模型组比较,松萝提取物低剂量组细胞自噬体数量未见明显异常变化,松萝提取物中剂量组细胞自噬体数量增加,细胞出现一定固缩,凋亡程度加重,松萝提取物高剂量组及 HCQ 组自噬体数量增加更明显,见图 4。



A:空白组;B:模型组;C:松萝提取物低剂量组;D:松萝提取物中剂量组;E:松萝提取物高剂量组;F:HCQ 组;绿色箭头:线粒体;红色箭头:自噬体。

图 4 透射电子显微镜观察自噬体(7 000×)

表 4 各组大鼠滑膜组织 HMGB1、RAGE、Bcl-2、PI3K C3 与 Beclin1 蛋白表达比较($\bar{x}\pm s,n=9$)

组别	HMGB1	RAGE	Beclin1	Bcl-2	PI3K C3
空白组	0.32±0.08	0.23±0.05	0.85±0.08	0.32±0.09	0.54±0.04
模型组	1.11±0.21 ^a	0.79±0.10 ^a	0.38±0.10 ^a	0.79±0.04 ^a	0.66±0.05 ^a

续表 4 各组大鼠滑膜组织 HMGB1、RAGE、Bcl-2、PI3K C3 与 Beclin1 蛋白表达比较($\bar{x}\pm s,n=9$)

组别	HMGB1	RAGE	Beclin1	Bcl-2	PI3K C3
松萝提取物低剂量组	1.01±0.17 ^{ac}	0.67±0.01 ^{ac}	0.44±0.06 ^{ac}	0.70±0.06 ^{ac}	0.62±0.05 ^{ac}
松萝提取物中剂量组	0.79±0.05 ^{ab}	0.52±0.06 ^{ab}	0.57±0.07 ^{ab}	0.57±0.05 ^{ab}	0.58±0.58 ^{ab}
松萝提取物高剂量组	0.73±0.03 ^{ab}	0.47±0.03 ^{ab}	0.62±0.06 ^{ab}	0.52±0.09 ^{ab}	0.57±0.79 ^{ab}
HCQ 组	0.65±0.04 ^{ab}	0.38±0.08 ^{ab}	0.69±0.07 ^{ab}	0.47±0.11 ^{ab}	0.56±0.06 ^{ab}

^a: $P<0.05$,与空白组比较;^b: $P<0.05$,与模型组比较;^c: $P<0.05$,与 HCQ 组比较。

3 讨 论

RA 属于一类尚无确切病因的多因素自身免疫性疾病,侗族医学属“水热病”范畴,主要是由于外感风、寒、湿、热等邪毒,导致“气血热、水火交争”的变化,致使脉道不通、气血水津代谢异常,机体蕴生“邪热”所致,不通则痛,不荣则痛,疼痛乃邪热蕴阻关节之外像^[12]。在病因、病机及治疗理论上,侗医名家吴定元著《草木春秋》系统的描述了风湿病的发病特征,对风湿病提出“赶邪、消水”的诊疗方法,认为有邪当驱赶,肿胀宜消水。侗药松萝性味甘、平,有气无味而属阳,主表散、上升,使在表之邪气得以发散,在内的水湿得以宣发肃降、通调水道,让水液自流;该药生于树颠而下垂,位阳兼有阴的属性,主里、下降,可通过利水分消在内之邪。具有祛风除湿通络、消肿止痛、清热解毒化邪气之功^[13],可治风湿痹痛、跌打损伤。

自噬是一种参与细胞解决应激、修复损伤和维持稳态的重要代谢过程。但过度自噬或持续时间过长,会引起细胞代谢紊乱甚至细胞凋亡^[14]。研究表明,自噬在滑膜炎的发生和发展中发挥了重要作用,自噬失调可能导致炎症反应的加剧和 RA 发病^[15]。HMGB1 及其受体 RAGE 的表达和激活可以促进自噬的发生和早期阶段的进展,同时 HMGB1 还可以通过启动 NF-κB 和丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)等多种信号通路,促进 IL-6 等炎症因子的释放来促进炎症反应,进而影响自噬的进程^[16]。在自噬初期,Beclin1 与 PI3K C3 蛋白结合形成复合物^[17],促进磷脂酰肌醇 3-磷酸产生,从而促进自噬体形成和成熟。另外,Beclin-1 与 Bcl-2 通过调节线粒体自噬清除病态线粒体等^[18],保证细胞代谢的平稳和能量的供应。Brazilin(具有抗炎特性)处理 RA 滑膜细胞后,LC3-II 和 Beclin1 等与自噬相关的蛋白表达升高^[19]。此外,用自噬抑制剂如氯喹类处理 CIA 大鼠模型后,可以有效减轻炎症反应、减少趋化因子的分泌等^[20]。自噬在类风湿炎症中有重要的作用,调控自噬可能成为治疗类风湿疾病的一个重要手段。

本研究结果显示,与空白组比较,模型组大鼠关节炎指数明显升高,大鼠滑膜组织中 HMGB1、

RAGE、Bcl-2、PI3K C3 蛋白表达明显升高,Bcl-2、PI3K C3 mRNA 表达升高,Beclin1 mRNA 和蛋白表达降低,表明模型制备成功。经过不同剂量松萝提取物或 HCQ 的干预后,大鼠关节炎指数有所下降,IL-6 炎症因子水平改善,滑膜组织 Beclin1 mRNA 和蛋白表达有不同程度升高,HMGB1、RAGE、Bcl-2、PI3K C3 蛋白表达降低,Bcl-2、PI3K C3 mRNA 表达降低。与 HCQ 组比较,松萝提取物中、高剂量组的关节指数评分,血清 IL-6、HMGB1 水平,滑膜组织 HMGB1、RAGE、Bcl-2、PI3K C3、Beclin1 蛋白表达及 Beclin1、Bcl-2、PI3K C3 mRNA 表达无明显变化($P>0.05$)。透射电子显微镜显示,松萝提取物中、高剂量组及 HCQ 组自噬体数量增加,细胞凋亡程度加重,松萝提取物可能通过调控细胞自噬达到抑制滑膜细胞炎症反应的作用。药物的剂量是影响治疗效果的重要因素,本研究表明松萝提取物低剂量组与模型组,松萝提取物中、高剂量组与 HCQ 组上述指标未显示明显差异,为确保治疗效果最大化,对该药物的剂量需进行深入的研究,发现最佳剂量以便更好地评估药物的疗效和安全性。

综上所述,松萝提取物可能通过调控自噬水平降低炎症反应。

参考文献

[1] CHU C Q. Fibroblasts in rheumatoid arthritis [J]. N Engl J Med,2020,383(17):1679-1681.

[2] TANIGUCHI N, KAWAKAMI Y, MARUY-AMA I, et al. HMGB proteins and arthritis [J]. Hum Cell,2018,31(1):1-9.

[3] MOU K, LIU W, HAN D, et al. HMGB1/RAGE axis promotes autophagy and protects keratinocytes from ultraviolet radiation-induced cell death[J]. J Dermatol Sci,2017,85(3):162-169.

[4] 雷玉梅,安阳,张军,等. 松萝提取物对 CIA 大鼠 HMGB1 介导的炎症因子表达的影响[J]. 中医药学报,2022,50(2):28-32.

[5] 安阳,黄颖,曹跃朋,等. 侗族药松杖方对类风湿关节炎患者活动期的临床疗效观察[J]. 贵阳中医学院学报,2018,40(1):87-89.

[6] 安阳,陆道敏,马武开,等. 松筋通络方对胶原性关节炎大鼠血清 IL-1、IL-1 β 、TNF- α 及滑膜病理的影响[J]. 风湿病与关节炎,2013,2(11):32-34.

[7] 安阳,马武开,陆道敏,等. 松筋通络方对胶原性关节炎大鼠关节炎症及滑膜细胞 NF- κ B 信号的影响[J]. 医学信息,2013,26(29):77-78.

[8] MUSUMECI D,ROVIELLO G N,MONTESARCHIO D. An overview on HMGB1 inhibitors as potential therapeutic agents in HMGB1-related pathologies[J]. Pharmacol Ther,2014,141(3):347-357.

[9] 吴闵,徐晖,黄颖,等. 金乌健骨胶囊对胶原诱导关节炎模型大鼠自噬相关基因表达的影响[J]. 中药材,2021,44(5):1202-1207.

[10] 陈颖婷,何柯新,王云秀,等. 雷公藤内酯醇对类风湿关节炎大鼠 TLR4/NF- κ B 信号通路的调控作用研究[J]. 国际检验医学杂志,2019,40(17):2053-2057.

[11] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2011:31-33.

[12] 秦倩,青玉凤,周闻君,等. 自噬在类风湿关节炎发病机制中的作用进展[J]. 中国医药导报,2019,16(28):59-62.

[13] 罗丰,袁雪梅,李春香,等. 龙运光从“肝脾肾”论治痹证的经验拾萃[J]. 贵州中医药大学学报,2022,44(5):7-10.

[14] 刘煜,岳婷,杨东宇,等. 自噬在类风湿关节炎发病机制中的研究进展[J]. 中国全科医学,2023,

26(29):3710-3714.

[15] 安阳,马武开,黄颖,等. 侗医药松杖方对类风湿关节炎患者滑膜细胞 STAT_3 炎症信号表达的影响[J]. 陕西中医,2021,42(1):8-11.

[16] MAHMOUD HASHEMI A,SOLAHAYE KAH-NAMOUII S,AGHAJANI H,et al. Quercetin decreases Th17 production by down-regulation of MAPK-TLR4 signaling pathway on T cells in dental pulpitis[J]. J Dent (Shiraz),2018,19(4):259-264.

[17] SAHNI S,MERLOT A M,KRISHAN S,et al. Gene of the month:BECN1[J]. J Clin Pathol,2014,67(8):656-660.

[18] 姜刚刚,田杰祥,漆文霞,等. 细胞自噬与凋亡在类风湿关节炎发病机制中的作用及其潜在性应用研究进展[J]. 辽宁中医杂志,2022,10(1):217-220.

[19] LEE H,KANG S W,BYUN H S,et al. Brazilin limits inflammatory responses through induction of prosurvival autophagy in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes[J]. PLoS One,2015,10(8):e0136122.

[20] LI S,CHEN J W,XIE X,et al. Autophagy inhibitor regulates apoptosis and proliferation of synovial fibroblasts through the inhibition of PI3K/AKT pathway in collagen-induced arthritis rat model[J]. Am J Transl Res,2017,9(5):2065-2076.

(收稿日期:2023-02-21 修回日期:2023-07-22)
(编辑:唐 璞)

(上接第 3219 页)

[18] GODWIN J G,GE X,STEPHAN K,et al. Identification of a microRNA signature of renal ischemia reperfusion injury[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2010,107(32):14339-14344.

[19] ARINA P,SINGER M. Pathophysiology of sepsis[J]. Curr Opin Anaesthesiol,2021,34(2):77-84.

[20] 林兰,何兵,程衍杨,等. 蛋白激酶 C 抑制剂对脂多糖所致大鼠肾微血管内皮细胞损伤的保护作用[J]. 中华危重病急救医学,2019,31(3):346-349.

(收稿日期:2022-12-28 修回日期:2023-08-14)
(编辑:张芃捷)