

引用本文:宋颖,朱世文,王晓馨.不同剂量雷公藤多苷对寻常型银屑病样小鼠血清炎症因子的影响[J].安徽医药, 2021, 25(10):1934-1938.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.10.006.



◇ 药学研究 ◇

不同剂量雷公藤多苷对寻常型银屑病样小鼠血清炎症因子的影响

宋颖¹,朱世文²,王晓馨¹

作者单位:¹宝鸡市人民医院皮肤科,陕西 宝鸡 721000;

²青海大学附属医院皮肤科,青海 西宁 810001

通信作者:王晓馨,女,副主任医师,研究方向为白癜风、银屑病等皮肤疾病,Email:Qinghua1221@yeah.net

摘要: **目的** 观察不同剂量雷公藤多苷对寻常型银屑病样小鼠血清炎症因子白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-23(IL-23)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和核转录因子- κ B(NF- κ B)的影响,并探讨其最佳治疗剂量。**方法** 2019年2—11月,将40只BALB/c雄性小鼠采用随机数字表法分为五组($n=8$):对照组、模型组、低、中、高剂量组给药组。小鼠建模后给药组采用不同剂量雷公藤多苷灌胃,浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 和 $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,持续灌胃14 d。收集小鼠病变皮肤组织,对超氧化物歧化酶(SOD)活性及谷胱甘肽(GSH)和丙二醛(MDA)水平进行测定。酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测各组小鼠血清IL-6、IL-17、IL-23和TNF- α 水平,Western blotting法检测小鼠血清NF- κ B水平。细胞处理后流式细胞术检测各组细胞周期。**结果** 病变皮肤均质化后SOD活性、GSH和MDA水平测定结果显示,模型组小鼠的GSH水平(8.94 ± 0.95) U/mgprot和SOD活性(21.37 ± 3.76) U/mgprot低于对照组(30.93 ± 1.91) U/mgprot、(44.35 ± 4.09) U/mgprot, $P=0.002, 0.007$,给药组小鼠的GSH水平和SOD活性高于模型组,其中中剂量组最高,为(36.03 ± 1.34) U/mgprot、(42.45 ± 2.43) U/mgprot, $P<0.001, P=0.003$,低剂量组最低为(26.86 ± 2.03) U/mgprot、(30.39 ± 2.04) U/mgprot,均 $P<0.05$;而MDA测定结果相反,模型组小鼠MDA水平高于对照组, (74.64 ± 2.29) nmol/mgprot比(40.51 ± 2.34) nmol/mgprot, $P<0.001$,经过药物治疗后降低($P<0.001$)。ELISA结果显示,与对照组相比,模型组小鼠血清中IL-6、IL-17、IL-23和TNF- α 表达水平升高为(4.93 ± 0.09) pg/mg、(9.05 ± 0.20) pg/mg、(5.23 ± 0.17) pg/mg、(11.51 ± 1.23) pg/mg,均 $P<0.05$;低剂量组小鼠IL-17和TNF- α 的表达水平与模型组相比差异无统计学意义(均 $P>0.05$),中剂量组(2.76 ± 0.23) pg/mg、(6.12 ± 0.27) pg/mg、(3.19 ± 0.21) pg/mg、(8.21 ± 0.44) pg/mg和高剂量组(3.72 ± 0.09) pg/mg、(6.02 ± 0.25) pg/mg、(3.37 ± 0.41) pg/mg、(8.44 ± 0.38) pg/mg小鼠血清炎症因子下降,均 $P<0.05$ 。Western blotting结果显示,与对照组相比,模型组小鼠的NF- κ B表达水平升高($P<0.001$),给药组小鼠NF- κ B表达水平降低($P=0.005$),且高剂量组小鼠的抑制效果最佳($P<0.001$)。流式细胞术结果显示,与对照组相比,10 mg/L雷公藤多苷处理48 h的HaCat细胞的G1期细胞所占比例差异无统计学意义($P=0.300$),而20 mg/L和40 mg/L雷公藤多苷处理48 h后细胞G1期细胞所占比例升高($P<0.001, P=0.013$)。**结论** 雷公藤多苷可以降低银屑病样小鼠血清炎症因子,抑制NF- κ B表达,调节病变皮肤抗氧化水平,并且最佳使用量在 $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 左右。

关键词: 雷公藤属; 银屑病; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽; 白细胞介素类; 核转录因子- κ B; 小鼠,近交BALB/C

Effects of different doses of tripterygium glycosides on serum inflammatory factors in psoriatic vulgaris-like mice

SONG Ying¹, ZHU Shiwen², WANG Xiaoxin¹

Author Affiliations:¹Department of Dermatological, Baoji People's Hospital, Baoji, Shaanxi 721000, China;²Department of Dermatological, Qinghai University Affiliated Hospital, Xining, Qinghai 810001, China

Abstract: **Objective** To observe the effects of different doses of tripterygium glycosides on serum inflammatory factors IL-6, IL-17, IL-23, TNF- α and NF- κ B in psoriasis vulgaris mice, and to explore the optimal therapeutic dose. **Methods** From February 2019 to November 2019, 40 male BALB/c mice were randomly assigned into 5 groups ($n=8$) using a random number table method: the blank control group, the model control group, and the low, medium, and high dose groups, respectively. After modelling, the drug-administered group was administered with different doses of tripterygium glycosides at a concentration of $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ and $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ for 14 days. Diseased skin tissues of mice were collected, and SOD activity, GSH and MDA levels were measured. The serum levels of IL-6, IL-17, IL-23 and TNF- α in each group of mice were detected by ELISA, and the serum levels of NF- κ B were analyzed by Western blotting. After cell treatment, the cell cycle of each group was detected by flow cytometry. **Results** After homogenization of the diseased skin, the determination result of SOD activity and GSH and MDA levels showed that the GSH [(8.94 ± 0.95) U/mgprot vs. (30.93 ± 1.91) U/mgprot] level and SOD [(21.37 ± 3.76) U/mgprot vs. (44.35 ± 4.09) U/mgprot] activity of mice in model group were signifi-

cantly lower than those in control group (all $P<0.05$); GSH and SOD in the drug-administered groups were significantly higher than those in the model group, of which the middle-dose group was the highest [GSH: (36.03 ± 1.34) U/mgprot, SOD: (42.45 ± 2.43) U/mgprot, all $P<0.05$] and the low dose group was the lowest [(26.86 ± 2.03) U/mgprot, (30.39 ± 2.04) U/mgprot, all $P<0.05$]. However, the results of MDA were reversed. The MDA in the model group [(74.64 ± 2.29) nmol/mgprot] was higher than that in the control group [(40.51 ± 2.34) nmol/mgprot, $P<0.001$], and it was significantly reduced after drug treatment ($P<0.001$). The results of ELISA showed that expression levels of IL-6 (4.93 ± 0.09) pg/mg, IL-17 (9.05 ± 0.20) pg/mg, IL-23 (5.23 ± 0.17) pg/mg and TNF- α (11.51 ± 1.23) pg/mg in the model group were significantly higher than those in the control group (all $P<0.05$). There was no significant difference in the expression levels of IL-17 and TNF- α between the the low dose group and the model group (all $P>0.05$), and the serum inflammatory factors (IL-6, IL-17, IL-23 and TNF- α) in mice of the medium dose group [(2.76 ± 0.23) pg/mg, (6.12 ± 0.27) pg/mg, (3.19 ± 0.21) pg/mg, (8.21 ± 0.44) pg/mg] and the high dose group [(3.72 ± 0.09) pg/mg, (6.02 ± 0.25) pg/mg, (3.37 ± 0.41) pg/mg, (8.44 ± 0.38) pg/mg] decreased significantly compared with the model group (all $P<0.05$). The Western blotting results showed that the expression level of NF- κ B significantly increased in model group ($P<0.001$) and significantly reduced in the drug-administered groups compared with control group ($P=0.005$), and the inhibitory effect in high dose group was the best ($P<0.001$). In the flow cytometry results, compared with the control group, there was no significant difference in the proportion of G1 phase cells of HaCat cells treated with 10 μ g/ml triptolide for 48 h ($P=0.3$). After treatment with 20 mg/L and 40 mg/L tripterygium glycosides for 48 h, the proportion of cells in G1 phase increased significantly ($P<0.001$, $P=0.013$). **Conclusion** Tripterygium glycosides can reduce serum inflammatory factors, inhibit NF- κ B expression, and regulate the level of antioxidant skin disease in psoriasis-like mice. The optimal dosage is about 20 mg $\cdot$ kg $^{-1}\cdot$ d $^{-1}$.

Key words: Tripterygium; Psoriasis; Superoxide dismutase; Glutathione; Interleukins; NF- κ B; Mice, inbred BALB/C

银屑病是一种慢性、免疫介导的疾病,全世界约1亿人受其影响^[1]。从组织学方面讲,角质形成的细胞增殖、表皮网状角化过度 and 表皮增厚都能引起银屑病^[2]。尽管银屑病的确切病因尚不清楚,但是越来越多的研究表明,炎性细胞因子和趋化因子的产生会促进疾病的发展,因此抗炎成为治疗银屑病的一种有效方式。其中白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-23(IL-23)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和核转录因子- κ B(NF- κ B)等细胞因子在银屑病的发生发展过程中具有重要作用^[3]。

在银屑病等皮肤疾病治疗过程中,天然产物备受青睐,雷公藤多苷(Tripterygium glycosides)的多种生物活性受到广泛关注和研究。雷公藤多苷是源于雷公藤根的一种脂溶性混合物,可影响炎症过程和免疫疾病,因此具有抗炎和免疫调节等作用^[4]。但雷公藤多苷的标准提取物较为单一,可能会引起较为严重的临床不良反应^[5],导致其在治疗银屑病时没有标准用量。本研究通过观察不同剂量雷公藤多苷对银屑病样小鼠血清炎性因子的影响,探讨其最佳治疗剂量,为病人合理用药提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物和试剂 40只雄性BALB/c小鼠(18~20 g)由陕西中药研究所[SYXK(陕)2016-003]提供,研究时间为2019年2—11月。雷公藤多苷片由浙江得恩德制药有限公司生产;咪喹莫特(IMQ)乳膏由珠海联邦制药股份有限公司生产。ELISA试剂盒购于Sigma;超氧化物歧化酶(SOD)活性测试试剂盒和谷胱甘肽(GSH)和丙二醛(MDA)水平测定试剂盒购买于Biovision;抗TNF- α 和NF- κ B一抗和二

抗购买于Sino Biological;HaCat细胞购买于中科院细胞库;DMEM培养基、10%胎牛血清和青链霉素双抗购买于Thermo。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及造模 将40只BALB/c雄性小鼠置于动物饲养室饲养,饲养环境为实验动物生长的标准环境,用标准啮齿类动物饲料进行喂养,适应性饲养3 d后将小鼠编号并采用随机数字表法分为五组:对照组,模型组,低、中、高剂量给药组,每组8只。采用IMQ诱导进行寻常型银屑病造模:小鼠连续7 d接受每天62.5 mg的5% IMQ乳膏涂抹在其背部3 cm $\times$ 2.5 cm的剃毛区域,而模型组在剃毛后则涂抹等量凡士林,对照组仅剃毛,不做任何处理。造模成功后,给药组分别灌胃10 mg $\cdot$ kg $^{-1}\cdot$ d $^{-1}$ 、20 mg $\cdot$ kg $^{-1}\cdot$ d $^{-1}$ 和40 mg $\cdot$ kg $^{-1}\cdot$ d $^{-1}$ 的雷公藤多苷,连续灌胃14 d。

1.2.2 细胞造模 将复苏后的细胞正常培养及传代,选择生长旺盛、形态良好的细胞接种于24孔板上,每孔加入1.5 mL的完整培养基培养24 h,待细胞贴壁后,分别加入浓度为50 μ g/L的 γ -干扰素(IFN- γ)和10 μ g/L的IL-6刺激因子刺激细胞48 h^[6],收集细胞用于后续实验。

1.2.3 细胞培养 HaCat细胞分为四组:对照组,以及低、中、高剂量给药组。细胞培养在完全培养基中(DMEM+10%胎牛血清+青链霉素双抗),给药组的培养基中分别加入浓度梯度为10 mg/L、20 mg/L及40 mg/L的雷公藤多苷,细胞培养瓶置于37 $^{\circ}$ C、二氧化碳浓度为5%的培养箱中培养。

1.2.4 小鼠皮肤组织SOD活性及GSH和MDA水平测定 灌胃14 d后收集皮肤组织在Tris缓冲液(20

mmol/L, pH 7.5) 中均质化, 然后 12 000 r/min 离心 10 min 收集上清液。所有操作均在 4 ℃ 环境中进行。上清液用于 SOD 活性及 GSH 和 MDA 水平测定。以牛血清蛋白为标准, 通过 Bradford 方法测定上清液中蛋白质的浓度。所有测定实验严格按照试剂盒说明书进行, 重复 3 次。

1.2.5 ELISA 分析 所有小鼠在灌胃 14 d 后用 3% 戊巴比妥钠溶液麻醉。腹腔静脉取全血, 分离血清, 使用酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒测定 IL-1、IL-6、IL-18 和 IL-23 水平。所有测定实验严格按照试剂盒说明书进行, 重复 3 次。

1.2.6 蛋白质印迹法 从收集到的小鼠全血和病变皮肤中获得总蛋白样品, 在 4 ℃ 离心机中 12 000 r/min 离心 5 min。蛋白样品通过十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 在 80 V 下电泳 0.5 h, 在 120 V 下电泳 1.5 h。分离的蛋白质转移到 PVD 膜上 30 min。用含有 0.1% 的吐温 20 缓冲液孵育 1 h 后, 用抗 TNF- α 和 NF- κ B 一抗在 4 ℃ 下孵育过夜。缓冲液洗涤 3 次后, 用辣根过氧化物酶偶联的二抗孵育 1 h。显影拍照后用使用 Image J 软件分析图像。

1.2.7 流式细胞术检测 各组细胞的周期变化 细胞培养 48 h 后, 采用不含 EDTA 的 0.25% 胰酶消化处理, 终止消化后, 于 1 500 r/min 离心处理 5 min, 然后收集细胞。PBS 液洗涤细胞沉淀 2 次, 加入预冷的 70% 甲醇 1 mL, 于 4 ℃ 环境下固定 4 h。然后再加入含有 100 mg/L RNase A 的 PBS 液 500 μ L, 于 37 ℃ 环境孵育 30 min, 完成后, 再加入 PI 调整浓度为 50 mg/L。避光 37 ℃ 孵育 30 min。取 200 μ L 的单细胞悬液, 流式上机检测。

1.3 统计学方法 所有数据分析均使用 SPSS 20.0 进行, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间多重比较用 LSD-*t* 法, 最终结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 雷公藤多苷调节小鼠病变皮肤组织中 SOD 活性及 GSH 和 MDA 水平 结果显示 (表 1), 与对照组比较, 模型组小鼠的 GSH 水平和 SOD 活性均显著降低 ($P=0.002$; $P=0.007$), 给药组的 GSH 水平和 SOD 活性高于模型组, 其中中剂量组最高 ($P < 0.001$, $P=0.003$), 低剂量组最低 ($P=0.004$; $P=0.037$); 模型组小鼠 MDA 水平高于对照组 ($P < 0.001$), 经过药物治疗处理后 MDA 水平降低 ($P < 0.001$)。这些结果表明, 20 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 的雷公藤多苷可以明显抑制 MDA 水平, 可以有效调节 IMQ 诱导的小鼠体内的氧化/抗氧化状态, 从而达到更有利的生理平衡。

2.2 ELISA 分析小鼠血清 IL-6、IL-17、IL-23 和

表 1 小鼠病变皮肤组织中 SOD 活性及 GSH 和 MDA 水平/ $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数	GSH/(U/mg-prot)	SOD/(U/gprot)	MDA/(nmol/mg-prot)
对照组	8	30.93 $\pm$ 1.91	44.35 $\pm$ 4.09	40.51 $\pm$ 2.34
模型组	8	8.94 $\pm$ 0.95 ^①	21.37 $\pm$ 3.76 ^①	74.64 $\pm$ 2.29 ^①
低剂量组	8	26.86 $\pm$ 2.03 ^②	30.39 $\pm$ 2.04 ^{①②}	38.45 $\pm$ 0.84 ^②
中剂量组	8	36.03 $\pm$ 1.34 ^{①②③}	42.45 $\pm$ 2.43 ^②	37.59 $\pm$ 1.11 ^②
高剂量组	8	26.95 $\pm$ 1.84 ^②	40.61 $\pm$ 3.73 ^②	35.79 $\pm$ 1.22 ^②
<i>F</i> 值		218.232	60.331	669.574
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

注: GSH 活性测试试剂盒和谷胱甘肽, SOD 超氧化物歧化酶, MDA 丙二醛。

①与对照组比较, $P < 0.05$ 。②与模型组比较, $P < 0.05$ 。③与低剂量组比较, $P < 0.05$ 。

TNF- α 结果显示 (表 2), 模型组小鼠血清中 IL-6、IL-17、IL-23 和 TNF- α 水平相较于对照组升高 ($P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.001$, $P = 0.011$), 表明 IMQ 诱导的银屑病可引起小鼠血清炎症因子升高; 而低剂量组的 IL-17 和 TNF- α 表达水平与模型组相比差异无统计学意义 ($P = 0.068$, $P = 0.98$), 中剂量组和高剂量组小鼠血清炎症因子下降 ($P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.001$, $P = 0.041$)。

表 2 银屑病样小鼠血清中炎症因子表达水平/(pg/mg, $\bar{x} \pm s$)

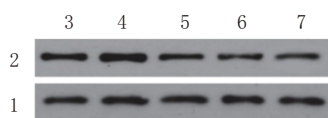
组别	鼠数	IL-6/	IL-17	IL-23	TNF- α
对照组	8	2.33 $\pm$ 0.21	5.13 $\pm$ 0.09	1.38 $\pm$ 0.11	6.24 $\pm$ 0.22
模型组	8	4.93 $\pm$ 0.09 ^①	9.05 $\pm$ 0.20 ^①	5.23 $\pm$ 0.17 ^①	11.51 $\pm$ 1.23 ^①
低剂量组	8	3.83 $\pm$ 0.25 ^{①②}	8.95 $\pm$ 0.17 ^①	4.87 $\pm$ 0.13 ^①	11.41 $\pm$ 0.89 ^①
中剂量组	8	2.76 $\pm$ 0.23 ^{②③}	6.12 $\pm$ 0.27 ^{①②③}	3.19 $\pm$ 0.21 ^{①②③}	8.21 $\pm$ 0.44 ^{①②③}
高剂量组	8	3.72 $\pm$ 0.09 ^{①②③④}	6.02 $\pm$ 0.25 ^{①②③}	3.37 $\pm$ 0.41 ^{①②③}	8.44 $\pm$ 0.38 ^{①②③}
<i>F</i> 值		271.803	556.091	362.833	67.378
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000

注: IL-6 白细胞介素-6, IL-17 白细胞介素-17, IL-23 白细胞介素-23, TNF- α 肿瘤坏死因子- α 。

①与对照组比较, $P < 0.05$ 。②与模型组比较, $P < 0.05$ 。③与低剂量组比较, $P < 0.05$ 。④与中剂量组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 Western blotting 分析小鼠皮肤中 NF- κ B 水平 Western blotting 分析雷公藤多苷对 NF- κ B 蛋白表达影响的结果表明 (图 1), 模型组小鼠的 NF- κ B 表达水平相较于对照组升高 ($P < 0.001$), 而各个给药组的小鼠 NF- κ B 表达水平发生降低 ($P = 0.005$), 且中剂量组的抑制效果最佳 ($P < 0.001$) (图 1)。

2.4 不同剂量雷公藤多苷对各组细胞周期的影响 流式细胞术检测各组细胞的周期变化情况结果表明



注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶;2—核转录因子- κ B;3—对照组;4—模型组;5—低剂量组;6—中剂量组;7—高剂量组。

图1 Western blotting检测小鼠病变皮肤中NF- κ B表达水平

(表3),与对照组相比,低剂量组(10 mg/L)雷公藤多苷处理48 h的HaCat细胞的G1期细胞所占比例差异无统计学意义($P=0.3$),而中剂量组(20 mg/L)和高剂量组(40 mg/L)雷公藤多苷处理48 h后细胞G1期细胞所占比例升高($P<0.001$, $P=0.013$),即细胞阻滞在G1期。

表3 不同剂量雷公藤多苷对各组小鼠组织细胞周期的影响($\%\bar{x}\pm s$)

组别	重复次数	G1	S	G2
对照组	3	62.3 $\pm$ 1.4	6.7 $\pm$ 0.8	31.0 $\pm$ 1.35
低剂量组	3	60.5 $\pm$ 1.5	5.4 $\pm$ 0.7	34.1 $\pm$ 1.2
中剂量组	3	77.5 $\pm$ 1.2 ^①	2.8 $\pm$ 0.4 ^①	19.7 $\pm$ 0.6 ^①
高剂量组	3	68.2 $\pm$ 0.8 ^①	7.8 $\pm$ 0.7 ^①	24 $\pm$ 0.6 ^①
F值		31.074	187.325	76.343
P值		0.000	0.000	0.000

注:①与对照组相比, $P<0.01$ 。

3 讨论

银屑病的治疗一直是皮肤病领域重要的问题和研究热点。本研究结果表明,IMQ诱导的寻常型银屑病样小鼠的MDA水平升高,同时GSH水平和SOD活性降低,这表明氧化应激在银屑病发病机制中起关键作用^[7]。而雷公藤多苷处理导致给药组小鼠SOD活性增加,GSH水平上升和MDA水平下降,这表明,雷公藤多苷可通过抗氧化机制抑制银屑病的发展。同时我们发现,中剂量(20 mg $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹)灌胃组的抗氧化效果最好,高剂量(40 mg $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹)灌胃组的小鼠抗氧化效果略有下降。

研究表明,T细胞介导了银屑病的发生;几种全身性促炎细胞因子(IL-6、IL-17、IL-23和TNF- α)也是银屑病的主要参与者^[8,13]。乔菊等^[9]研究表明,银屑病人组织和血清中TNF- α 、IL-17A、IL-23和IL-36 γ 水平升高;其中TNF- α 不仅增加了其他促炎细胞因子的产生,还诱导了NF- κ B的产生并影响细胞的增殖和存活^[10]。研究表明,在牛皮癣病人的皮肤和血清中,IL-6水平显著增加^[11],这说明IL-6是潜在用于治疗牛皮癣的靶标细胞因子。IL-17能诱导人皮肤角质细胞中形成IL-6、IL-8和CXCL5,间接促进嗜中性粒细胞的分化、活化和迁移^[12-13]。因此,在本研究中检测了细胞因子TNF- α 、IL-6、IL-17和IL-23的变化趋势。结果表明,用不同剂量的雷公藤多苷灌胃小鼠后,上述几种细胞因子表达水平显著降

低,小鼠的炎症状态得到了有效改善;但低剂量组的小鼠血清细胞因子没有明显变化,剂量升高后细胞因子水平才发生显著下降。Western blotting结果也表明,雷公藤多苷可以抑制NF- κ B的表达水平。

本研究的实验结果与高军等^[14]研究结果一致,雷公藤多苷可抑制寻常银屑病样小鼠血清NF- κ B的表达水平,从而对T细胞的活化与增殖产生抑制作用。而T细胞在银屑病的发病机制中起着重要作用^[15]。IL-23/Th17通路被认为是银屑病发病的中心,而TNF- α 和IL-17可根据其作用方式分为调节性和效应性细胞因子^[16]。同时TNF- α 和IL-6的表达又受到NF- κ B的调控^[17],因此NF- κ B可能是雷公藤多苷影响寻常型银屑病样小鼠促炎细胞因子的关键因子。研究表明,雷公藤多苷导致的抗增殖、促凋亡、抗炎作用与其抗银屑病作用有关^[14]。因此我们通过流式细胞术检测其对各组细胞周期的影响。结果表明,雷公藤多苷处理细胞后,会将银屑病模型细胞的细胞周期阻滞在G1期。这表明,雷公藤多苷可通过抑制细胞增殖而抑制银屑病的发展,这可能与雷公藤多苷抑制Wnt/Frizzled信号传导通路有关^[18]。

综上所述,雷公藤多苷通过调节细胞周期和促炎细胞因子改善了IMQ诱导的小鼠牛皮癣样皮肤损伤的严重程度,而抑制NF- κ B可能是雷公藤多苷影响寻常型银屑病小鼠促炎细胞因子的关键步骤,当然这还需进一步实验验证。同时实验结果表明,雷公藤多苷抗银屑病的有效剂量在20~40 mg $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹,但还需进一步研究以确定其临床最佳使用剂量。

参考文献

- [1] 姜蔚蔚,张春雷. 银屑病发病机制相关信号通路研究进展[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2018, 34(6): 378-381, 384.
- [2] KIM WB, JEROME D, YEUNG J. Diagnosis and management of psoriasis [J]. Can Fam Physician, 2017, 63(4): 278-285.
- [3] HARDEN JL, KRUEGER JG, BOWCOCK AM. The immunogenetics of psoriasis: a comprehensive review [J]. J Autoimmun, 2015, 64: 66-73.
- [4] 魏建华. 雷公藤多苷联合窄谱中波紫外线治疗寻常型银屑病对患者免疫细胞因子的影响[J]. 皮肤与性病, 2018, 40(3): 390-391.
- [5] 杨冬梅, 刘俊. 雷公藤多苷临床应用及不良反应的研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(20): 2185-2190.
- [6] 万全. 丹皮酚干预银屑病 HaCaT 细胞 microRNA-155 调控 SOCS1-STAT3 的研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
- [7] 麦莉莉, 罗晓苑, 何海春, 等. 氧化应激相关因子及肿瘤坏死因子与寻常型银屑病疾病活动的相关性研究[J]. 中国当代医药, 2017, 24(19): 15-17.
- [8] GIROLOMONI G, STROHAL R, PUIG L, et al. The role of IL-23 and the IL-23/TH 17 immune axis in the pathogenesis and treatment of psoriasis [J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2017, 31(10): 1616-1626.
- [9] 乔菊, 高祎濛, 李峰, 等. 银屑病患者外周血 TNF- α 、IL-17A、IL-

- 23、IL-36 γ 表达水平及临床意义[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2019, 33(3): 280-284.
- [10] HUANG WC, DAI YW, PENG HL, et al. Phloretin ameliorates chemokines and ICAM-1 expression via blocking of the NF- κ B pathway in the TNF- α -induced HaCaT human keratinocytes [J]. Int Immunopharmacol, 2015, 27(1): 32-37.
- [11] 徐文静, 席建元. 银屑平丸对 BALB/c 小鼠银屑病样模型血清中 IL-6 与 IL-21 表达的影响[J]. 中医药导报, 2018, 24(22): 17-20, 32.
- [12] 曹天宇, 李冰, 邵帅, 等. 干扰素诱导蛋白 16 在银屑病患者皮损中的表达及其调控[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2016, 30(3): 239-241.
- [13] 徐可佳, 史丙俊, 熊霞, 等. 银屑病全基因组关联的易感基因和信号通路的研究进展[J]. 重庆医学, 2016, 45(26): 3725-3727.
- [14] 高军, 任万明, 强志鹏. 雷公藤多甙对银屑病患者 NF- κ B 及细胞因子的影响[J]. 西部中医药, 2013, 26(9): 26-28.
- [15] PARKES M, CORTES A, HEEL DAVAN, et al. Genetic insights into common pathways and complex relationships among immune-mediated diseases [J]. Nature Reviews Genetics, 2013, 14(9): 661-673.
- [16] 杨君义, 王艳芝, 徐飞. IL-23/Th17 通路靶向药物在治疗银屑病中的研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(11): 1236-1239.
- [17] 马学伟, 陈虎, 张培红, 等. 克银 I 号方对寻常型银屑病患者血清白细胞介素-2、白细胞介素-2 受体及肿瘤坏死因子- α 的影响[J]. 河北中医, 2011, 33(11): 1617-1619.
- [18] 刘秀卿, 李卓成, 吴文中. 雷公藤多甙对咪喹莫特诱导银屑病样小鼠 Wnt/Frizzled 信号传导通路的影响[J]. 海南医学院学报, 2016, 22(11): 1044-1047.
- (收稿日期: 2020-02-05, 修回日期: 2020-02-22)

引用本文: 曹峰, 刘敏, 赵潇. 舒芬太尼调控 miR-1 抑制肝癌细胞 MHCC97-H 增殖、侵袭和迁移的机制研究[J]. 安徽医药, 2021, 25(10): 1938-1942. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2021.10.007.

◇ 药学研究 ◇



舒芬太尼调控 miR-1 抑制肝癌细胞 MHCC97-H 增殖、侵袭和迁移的机制研究

曹峰^{1a}, 刘敏^{1b}, 赵潇²

作者单位:¹北京中医药大学枣庄医院,^a外三科,^b手术室, 山东 枣庄 277800;

²枣庄矿业集团中心医院手术室, 山东 枣庄 277800

摘要: 目的 探讨舒芬太尼调控微小 RNA-1(miR-1)表达对人肝癌 MHCC97-H 细胞增殖、侵袭和迁移的影响及其机制。方法 本研究起止时间为 2018 年 3 月至 2019 年 9 月, 采用细胞计数试剂盒(CCK-8)实验检测不同浓度的舒芬太尼对人肝癌 MHCC97-H 细胞活力的影响, qRT-PCR 检测舒芬太尼对 MHCC97-H 细胞中 miR-1 表达的影响; 通过脂质体转染法将 miR-1 抑制剂(inhibitor)及阴性对照转染至 MHCC97-H 细胞, 实验分为 Control 组、舒芬太尼(Sufentanil)组、转染对照(Sufentanil+NC)组和转染(Sufentanil+miR-1)组。细胞计数试剂盒(CCK-8)实验检测各组 MHCC97-H 细胞增殖能力, Transwell 实验检测各组 MHCC97-H 细胞侵袭能力, 划痕实验检测各组 MHCC97-H 细胞迁移能力, 蛋白质印迹法(Western blotting)检测各组 MHCC97-H 细胞中基质金属蛋白酶-2(MMP-2)和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)蛋白表达情况。**结果** 不同浓度的舒芬太尼对肝癌 MHCC97-H 细胞活力具有不同程度的抑制作用; 与 Control 组比, Sufentanil 组 MHCC97-H 细胞中 miR-1 的表达[(1.00±0.09)比(2.25±0.24)]明显升高($P<0.05$), 细胞增殖[(0.54±0.05)比(0.34±0.03)]、侵袭[(106.24±8.25)个比(51.34±5.02)个]和迁移能力[(37.36±4.01)%比(16.34±1.72)%]降低($P<0.05$), MMP-2[(0.33±0.04)比(0.15±0.02)]和 MMP-9[(0.24±0.02)比(0.11±0.01)]的表达下调($P<0.05$); 与 Sufentanil+NC 组比, Sufentanil+miR-1 组 MHCC97-H 细胞中 miR-1 的表达[(2.20±0.21)比(1.42±0.15)]明显降低($P<0.05$), 细胞增殖[(0.32±0.03)比(0.46±0.04)]、侵袭[(52.36±5.14)个比(91.16±6.06)个]和迁移能力[(17.11±1.71)%比(29.85±3.10)%]升高($P<0.05$), MMP-2[(0.15±0.02)比(0.27±0.02)]和 MMP-9[(0.13±0.01)比(0.19±0.02)]的表达上调($P<0.05$)。**结论** 舒芬太尼可通过调控 miR-1 的表达抑制人肝癌 MHCC97-H 细胞的增殖、侵袭和迁移, 其机制可能与调控 MMP-2 和 MMP-9 表达有关。

关键词: 舒芬太尼; 肝肿瘤; 微小 RNA-1; 人肝癌 MHCC97-H 细胞; 增殖; 侵袭; 迁移

Mechanism of sufentanil inhibiting proliferation, invasion and migration of hepatocellular carcinoma cell line MHCC97-H by regulating miR-1

CAO Feng^{1a}, LIU Min^{1b}, ZHAO Xiao²

Author Affiliations:^{1a}General Surgery Three, ^{1b}Operation Room, Zaozhuang Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Zaozhuang, Shandong 277800, China; ²Operation Room, Zaozhuang Mining Group Central Hospital, Zaozhuang, Shandong 277800, China