

松节方醇提物对类风湿关节炎模型大鼠 T 细胞抗原受体信号通路相关分子表达的影响

莫宗成, 李恒华, 黄文涛, 吴思澜, 梅小利, 兰 波, 黄崇刚*

重庆市中药研究院 国家中医药管理局中药药理三级实验室, 重庆 400065

摘 要: **目的** 探讨松节方醇提物 (SJF) 对炎症动物模型 T 细胞抗原受体 (TCR) 信号通路酪氨酸激酶及磷酸酶相关分子表达的作用机制。**方法** 采用类风湿关节炎 (RA) 大鼠模型, 给予 SJF 2 周, 酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测 RA 大鼠关节液中蛋白酪氨酸激酶 (Lck、Fyn、ZAP70)、酪氨酸磷酸酶 (CD45) 含量, 观察 RA 大鼠踝关节组织病理学变化, 免疫组化检测 RA 大鼠踝关节滑膜组织中 Lck、Fyn、ZAP70、CD45 表达情况。**结果** SJF 能显著降低 RA 大鼠关节液 Lck、Fyn、ZAP70、CD45 含量, 抑制 RA 大鼠滑膜组织炎性细胞浸润和滑膜组织增生, 同时明显下调滑膜组织 Lck、Fyn、ZAP70、CD45 的表达。**结论** SJF 对 RA 大鼠的作用机制可能是通过抑制异常激活的 TCR 信号通路酪氨酸激酶及磷酸酶相关分子的表达来调控其下游的各级信号通路转导功能, 从而起到抗炎作用。

关键词: 松节方; 类风湿关节炎; T 细胞抗原受体; 酪氨酸激酶; 磷酸酶

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)02-0406-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.02.017

Effects of ethanol extract of Songjie Fang on expression of tyrosine kinase and phosphatase-related molecules in TCR signaling pathway in rats with rheumatoid arthritis

MO Zong-cheng, LI Heng-hua, HUANG Wen-tao, WU Si-lan, MEI Xiao-li, LAN Bo, HUANG Chong-gang

Three Grade Laboratory of Pharmacology of Chinese Medicine of Chinese Medicine Management Bureau, Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China

Abstract: Objective To investigate the effect of ethanol extract of Songjie Fang (SJF) effect on the expression of tyrosine kinase and phosphatase-related molecules in the T cell antigen receptor (TCR) signaling pathway in rheumatoid arthritis rats and its mechanism. **Methods** The rheumatoid arthritis (RA) rat model was administered SJF for 2 weeks. Then the content of tyrosine kinase (Lck, Fyn, ZAP70) and tyrosine phosphatase (CD45) in joint fluids was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). To observe the histopathological changes of the ankle joints, and the expressions of Lck, Fyn, ZAP70 and CD45 in the synovial tissue were detected by immunohistochemistry. **Results** The ethanol extract of SJF significantly reduced the content of Lck, Fyn, ZAP70 and CD45 in joint fluid, inhibited the infiltration of inflammatory cells and hyperplasia in the synovial tissue. Meanwhile, down-regulated the expression of Lck, Fyn, ZAP70 and CD45 in synovial tissue significantly. **Conclusion** The mechanism of anti-inflammation affected by ethanol extract of SJF may be related to inhibiting the tyrosine kinase and phosphatase-related molecules in the TCR signaling pathway.

Key words: Songjie Fang; rheumatoid arthritis; T cell antigen receptor; tyrosine kinase; phosphatase

近年来研究表明, T 细胞在风湿性疾病的发生发展过程中起到了较为关键的作用^[1-2]。研究发现, 关节内滑膜 T 细胞的浸润和聚集是许多炎性关节炎的特征之一, 这些激活的 T 细胞及其产物的释放与关节炎症的发生和发展密切相关。T 细胞是获得性

免疫系统中主要的功能细胞, 负责识别抗原, 并指挥其他免疫细胞进行免疫应答, 而在抗原识别中起关键作用的是 T 细胞表面的 T 细胞抗原受体 (T cell receptor, TCR)。TCR 的主要功能是在识别特异抗原后激活 T 细胞。TCR 能特异性地识别各种多肽抗

收稿日期: 2019-07-10

基金项目: 重庆市科委基本业务费项目 (cstc2018jxjl-jbky130009); 重庆市卫计委中医药科技项目 (ZY201802123)

作者简介: 莫宗成, 硕士, 助理研究员, 从事中药新药研发及中药药理毒理研究。Tel: (023)89029135 E-mail: 27136289@qq.com

*通信作者 黄崇刚 Tel: (023)89029152 E-mail: hcg2091@163.com

原并通过胞内区免疫酪氨酸受体激活基序 (ITAM) 磷酸化传递抗原刺激信号,进而引发 T 细胞的免疫效应。而蛋白酪氨酸激酶及磷酸酶是细胞内信号转导的关键信号转导分子,目前认为,其中 Src 激酶 (Lck、Fyn)、Syk 激酶 (ZAP70) 和磷酸酶 (CD45 等) 所主导的蛋白磷酸化和去磷酸化,在实现信号的跨膜传递、激活 T 细胞过程中起重要作用。松节方源于《外台秘要》,由羌活、独活、松节 3 味药组成,有散寒、祛风、除湿、通经活络之功效,善治风寒湿痹。前期研究显示该方可通过调节炎症因子水平达到抗炎的作用^[3]。本研究在前期实验的基础上,开展实验研究松节方醇提物 (SJF) 对类风湿关节炎 (RA) 大鼠 TCR 信号通路中 Lck、Fyn、ZAP70、CD45 等上游酪氨酸激酶及磷酸酶表达的影响,进一步探讨其作用机制,为中医药防治 RA 提供实验参考依据。

1 材料

1.1 动物

SD 大鼠, SPF 级,雌雄各半,体质量 180~220 g,重庆市中药研究院实验动物研究所提供,生产许可证号 SCXK (渝) 2017-0003。动物实验在重庆市中药研究院中药药理三级实验室进行。

1.2 药物及试剂

羌活、独活、油松节均购自重庆市中药材专业市场,经本院中药博物馆王昌华主任药师鉴定,羌活为伞形科植物羌活 *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang、独活为伞形科植物重齿毛当归 *Angelica pubescens* Maxim. f. *biserrata* Shan et Yuan 的干燥根、油松节为松科植物油松 *Pinus tabulaeformis* Carr. 的干燥瘤状节或分枝节;昆明山海棠片 (批号 20140601, 滇虹药业集团玉溪生物制药有限公司);聚山梨酯-80 (Shanghai Macklin Biochemical Co., Ltd.);鸡 II 型胶原蛋白 (CCII, Sigma 公司);弗氏完全佐剂 (FCA, Sigma 公司);Lck、Fyn、CD45、ZAP70 ELISA 试剂盒 (上海酶联生物科技有限公司);戊巴比妥钠 (Sigma 公司);兔抗 Lck 单克隆抗体 (一抗, Abcam 公司);兔抗 CD45 多克隆抗体 (一抗)、兔抗 FYN 多克隆抗体 (一抗, GeneTex 公司);兔抗 ZAP70 多克隆抗体 (一抗, ZENBIO 公司);兔链霉卵白素-生物素法检测系统 (SP) 试剂盒、DAB 显色试剂盒 (北京中杉金桥生物技术有限公司);Tris-EDTA 抗原修复液 (10×)、EDTA 抗原修复液 (50×)、PBS 磷酸盐粉剂 (北京雷根生物技术有限公司);枸橼酸盐缓冲液 (粉剂,

博士德生物工程有限公司)。

1.3 主要仪器

ST-360 酶标仪 (上海科华试验系统有限公司);0~150 mm 数显游标卡尺 (上海九量五金工具有限公司);ASP300S 组织自动脱水机、HistoCore Arcadia H 石蜡包埋机、RM2235 轮转切片机 (德国徕卡有限公司);TR-180 生物组织自动染色机 (湖北泰维医疗科技有限责任公司);CH30 光学显微镜 (奥林巴斯株式会社);Mias-2000 病理图像处理系统 (四川大学图像处理国家研究所)。

2 方法

2.1 SJF 的制备

参考文献方法^[4],称取等量的羌活、独活、油松节药材适量,加入 10 倍量 75%乙醇浸泡 0.5 h,回流提取 2 次,每次 1 h,合并提取液,滤过,减压回收乙醇,即得提取物流浸膏 (总香豆素质量分数为 73 mg/g)。使用时将提取的浸膏滴加 2~3 滴聚山梨酯-80 碾磨混匀,用纯化水稀释至实验所需质量浓度。

2.2 造模与给药

参照文献方法^[5]进行模型制备:取 CCII 25 mg 溶解于 0.1 mol/L 醋酸溶液 6.25 mL 中,置于 4 ℃冰箱内过夜。实验当天取 CCII 与等体积 FCA 混合乳化,制成胶原质量浓度为 2 mg/mL 的乳化剂,乳化过程保持胶原冰冷。对造模大鼠单侧足跖 sc 上述乳剂 100 μL/只,1 周后,造模大鼠尾根部 sc 新配制的上述乳化剂 (胶原质量浓度为 2 mg/mL, 100 μL/只)。加强免疫 1 周后,将造模成功的大鼠根据关节肿胀度分为 5 组,即模型组, SJF 6.16、3.08、1.54 g/kg (生药剂量)组,昆明山海棠片 (阳性对照, 0.20 g/kg) 组,每组 10 只,另取 10 只未造模处理的大鼠为对照组。分组当天各组开始 ig 给予相应药物,对照组、模型组给予纯化水,给药体积为 10 mL/kg,每日给药 1 次,连续给药 14 d。

2.3 指标检测

2.3.1 关节肿胀度 用游标卡尺分别于造模前及给药第 1、7、14 天检测各组大鼠踝关节直径,计算关节肿胀度。

关节肿胀度 = 给药后关节直径 - 造模前关节直径

2.3.2 关节液 Lck、Fyn、ZAP70、CD45 水平测定 末次给药后 1 h,对大鼠麻醉,用注射器从大鼠踝关节注射 1 mL 生理盐水进入关节腔,活动关节后回抽关节液,收集关节液。将采集到的关节液用酶联

免疫吸附法测定 Lck、Fyn、CD45、ZAP70 水平。

2.3.3 关节滑膜组织 Lck、Fyn、CD45、ZAP70 蛋白表达的测定 (免疫组化法) 收集关节液后, 将大鼠注射侧踝关节滑膜组织无菌取下, 用 4% 多聚甲醛溶液固定, 脱水, 浸蜡, 包埋, 常规病理切片, 用免疫组化染色法观察滑膜组织中酪氨酸激酶-磷酸酶蛋白的表达。所有切片在显微镜 (400×) 下定量检测 (Mias-2000 病理图像处理系统) 各组动物阳性表达情况, 结果用积分吸光度值表示。每个标本染色阳性区域随机选取 10 个不重叠的高倍镜视野观察, 并测定积分吸光度值, 取均值作为该切片的阳性表达半定量值。

2.3.4 关节滑膜组织病理组织学观察 收集关节液后, 将大鼠注射侧踝关节滑膜组织无菌取下, 用 4% 多聚甲醛溶液固定, 脱水, 浸蜡, 包埋, 常规病理切片, 显微镜 (100×) 下观察滑膜组织的病理学改变。按以下标准对滑膜组织病理变化进行评分, ①水肿:

无水肿为 0 分, 轻微水肿为 1 分, 中度水肿为 2 分, 重度水肿为 3 分; ②纤维组织增生: 无增生为 0 分, 轻微增生为 1 分, 中度增生为 2 分, 重度增生为 3 分; ③慢性炎性细胞浸润: 未见或偶见为 0 分, 稀疏散在少量为 1 分, 较密集中等量为 2 分, 密集大量为 3 分。

2.4 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析, 组间数据采用 One Way-ANOVA 分析。

3 结果

3.1 各组大鼠关节肿胀度比较

与对照组比较, 造模 2 周后 (给药第 1 天) 模型组大鼠关节肿胀度显著增加 ($P < 0.01$), 且关节肿胀程度维持在较高水平; 与模型组比较, SJF 高、中剂量组给药第 14 天大鼠关节肿胀度明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 提示 SJF 对 RA 大鼠关节炎有一定的治疗作用。结果见表 1。

表 1 SJF 对 RA 大鼠关节肿胀度的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)
Table 1 Effect of SJF on degree of joint swelling in RA rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	造模前关节 直径/mm	关节肿胀度/mm		
			给药第 1 天	给药第 7 天	给药第 14 天
对照	—	6.81 ± 0.47	0.03 ± 0.94	-0.15 ± 0.85	-0.20 ± 0.68
模型	—	6.96 ± 0.48	2.96 ± 0.72 ^{##}	2.01 ± 0.58 ^{##}	1.81 ± 0.55 ^{##}
SJF	6.16	6.94 ± 0.68	2.95 ± 0.63	1.61 ± 0.61	1.10 ± 0.70 ^{**}
	3.08	6.96 ± 0.46	2.90 ± 0.73	1.64 ± 0.72	1.27 ± 0.49 [*]
	1.54	6.98 ± 0.37	2.83 ± 0.76	1.73 ± 0.37	1.43 ± 0.36
昆明山海棠片	0.20	6.97 ± 0.37	2.89 ± 0.79	1.56 ± 0.55	1.08 ± 0.66 ^{**}

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$, 下同

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below

3.2 各组大鼠关节液 Lck 水平及其在滑膜组织中蛋白表达水平比较

与对照组比较, 模型组大鼠关节液中 Lck 水平显著升高 ($P < 0.01$), 关节滑膜组织中 Lck 可见强阳性表达 (胞膜棕黄色颗粒为阳性表达), 阳性细胞数分布明显增加, 着色较深。与模型组比较, SJF 6.16、3.08 g/kg 剂量组大鼠关节液 Lck 水平明显降低 ($P < 0.01$); SJF 6.16、3.08 g/kg 剂量组大鼠关节滑膜组织 Lck 阳性表达均明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结果见表 2 及图 1。

3.3 各组大鼠关节液 Fyn 水平及其在滑膜组织中蛋白表达水平比较

与对照组比较, 模型组大鼠关节液中 Fyn 水平显著升高 ($P < 0.01$), 关节滑膜组织中 Fyn 可见强阳性表达 (胞浆棕黄色颗粒为阳性表达), 阳性细胞

数分布明显增加, 着色较深。与模型组比较, SJF 6.16、3.08 g/kg 剂量组大鼠关节液 Fyn 水平明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); SJF 6.16 g/kg 剂量组大鼠关节滑膜组织 Fyn 阳性表达明显降低 ($P < 0.01$)。结果见表 2 及图 1。

3.4 各组大鼠关节液 ZAP70 水平及其在滑膜组织中蛋白表达水平比较

与对照组比较, 模型组大鼠关节液中 ZAP70 水平显著升高 ($P < 0.01$), 关节滑膜组织中 ZAP70 可见强阳性表达 (胞浆棕黄色颗粒为阳性表达), 阳性细胞数分布明显增加, 着色较深。与模型组比较, SJF 6.16、3.08 g/kg 剂量组大鼠关节液 ZAP70 水平明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); SJF 6.16 g/kg 剂量组大鼠关节滑膜组织 ZAP70 阳性表达降低 ($P < 0.01$)。结果见表 3 及图 2。

表 2 SJF 对 RA 大鼠关节液 Lck、Fyn 水平及滑膜组织 Lck、Fyn 蛋白阳性表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of SJF on Lck, Fyn content in joint fluid and Lck, Fyn expression in synovial tissue of RA rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	Lck		Fyn	
		关节液/(ng·mL ⁻¹)	滑膜组织阳性表达/(×10 ³)	关节液/(ng·mL ⁻¹)	滑膜组织阳性表达/(×10 ³)
对照	—	2.08±0.36	—	5.06±0.44	—
模型	—	2.82±0.27 ^{##}	7.81±2.43	5.81±0.25 ^{##}	4.44±1.71
SJF	6.16	2.20±0.29 ^{**}	3.24±1.82 ^{**}	5.38±0.21 ^{**}	2.35±1.24 ^{**}
	3.08	2.44±0.20 ^{**}	5.50±2.34 [*]	5.48±0.35 [*]	3.22±1.76
	1.54	2.67±0.17	6.39±3.17	5.63±0.40	3.81±2.28
昆明山海棠片	0.20	2.25±0.30 ^{**}	3.36±1.48 ^{**}	5.43±0.20 ^{**}	2.27±1.43 ^{**}

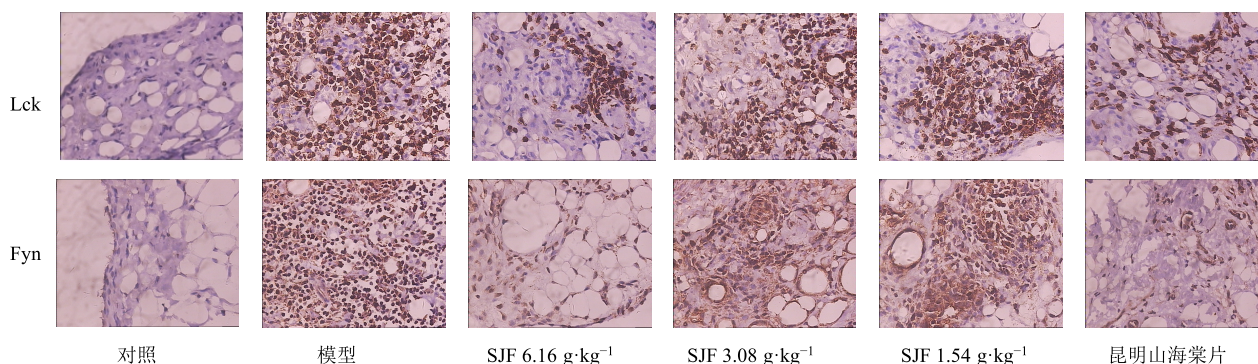


图 1 SJF 对 RA 大鼠关节滑膜组织 Lck 和 Fyn 蛋白阳性表达的影响 (免疫组化法, ×400)

Fig. 1 Effect of SJF on Lck and Fyn expression in synovial tissue of RA rats (immunohistochemistry, ×400)

表 3 SJF 对 RA 大鼠关节液 ZAP70、CD45 水平及滑膜组织 ZAP70、CD45 蛋白阳性表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of SJF on ZAP70, CD45 content in joint fluid and ZAP70, CD45 expression in synovial tissue of RA rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	ZAP70		CD45	
		关节液/(ng·mL ⁻¹)	滑膜组织阳性表达/(×10 ³)	关节液/(ng·mL ⁻¹)	滑膜组织阳性表达/(×10 ³)
对照	—	1.91±0.13	—	2.29±0.20	—
模型	—	2.16±0.13 ^{##}	3.70±1.63	2.95±0.35 ^{##}	7.21±2.37
SJF	6.16	1.93±0.20 ^{**}	2.27±1.14 ^{**}	2.41±0.23 ^{**}	3.75±1.64 ^{**}
	3.08	2.01±0.17 [*]	2.75±1.68	2.62±0.28 [*]	4.94±2.15 [*]
	1.54	2.12±0.27	3.34±1.77	2.83±0.23	5.82±2.84
昆明山海棠片	0.20	2.07±0.18 ^{**}	2.32±1.21 ^{**}	2.45±0.27 ^{**}	3.35±1.99 ^{**}

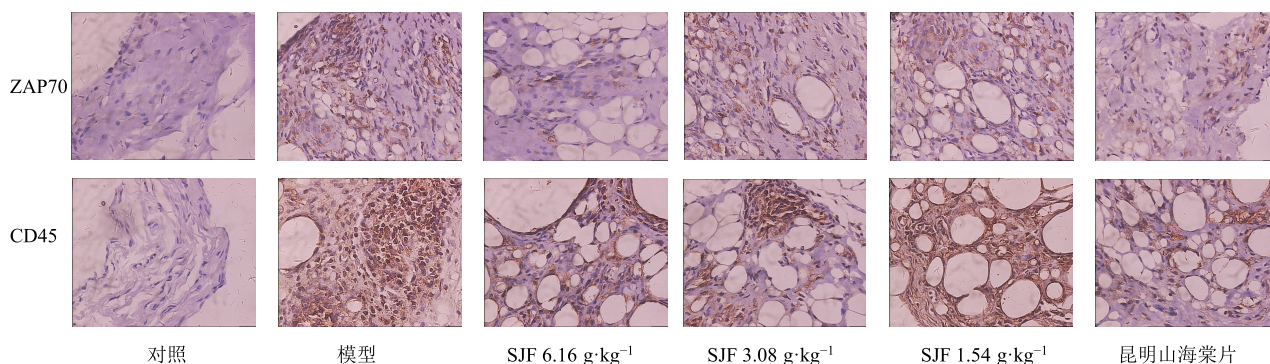


图 2 SJF 对 RA 大鼠关节滑膜组织 ZAP70 和 CD45 蛋白阳性表达的影响 (免疫组化法, ×400)

Fig. 2 Effect of SJF on ZAP70 and CD45 expression in synovial tissue of RA rats (immunohistochemistry, ×400)

3.5 各组大鼠关节液 CD45 水平及其在滑膜组织中蛋白表达水平比较

与对照组比较, 模型组大鼠关节液中 CD45 水平显著升高 ($P < 0.01$), 关节滑膜组织中 CD45 可见强阳性表达 (胞膜棕黄色颗粒为阳性表达), 阳性细胞数分布明显增加, 着色较深。与模型组比较, SJF 6.16、3.08 g/kg 剂量组大鼠关节液 CD45 水平明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); SJF 6.16、3.08 g/kg 组大鼠关节滑膜组织 CD45 阳性表达明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结果见表 3 及图 2。

3.6 各组大鼠滑膜组织病理组织学检查结果

光镜 ($\times 100$) 观察结果显示, 对照组大鼠滑膜组织结构正常, 未见明显病理变化; 模型组大鼠滑膜组织水肿伴纤维组织增生和较多慢性炎性细胞浸润 (“/” 所示); SJF 6.16、3.08 g/kg 剂量组、昆

明山海棠片组大鼠滑膜组织轻微纤维组织增生和少量慢性炎性细胞浸润; SJF 1.54 g/kg 剂量组大鼠滑膜组织水肿伴纤维组织增生和较多慢性炎性细胞浸润。结果见表 4 及图 3。

表 4 SJF 对 RA 大鼠滑膜组织病理学改变的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 4 Effect of SJF on synovial histopathological examination of RA rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	半定量评分值
对照	—	0 ± 0
模型	—	7.30 ± 0.95 ^{##}
SJF	6.16	5.10 ± 1.79 ^{**}
	3.08	6.00 ± 1.49 [*]
	1.54	6.80 ± 1.40
昆明山海棠片	0.20	5.40 ± 1.26 ^{**}

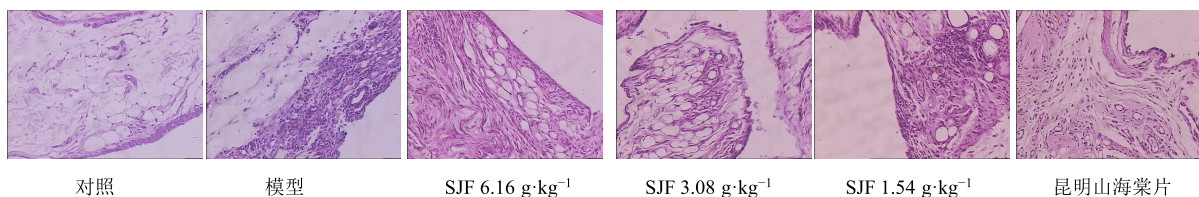


图 3 SJF 对 RA 大鼠关节滑膜病理组织学的影响

Fig. 3 Effect of SJF on histological examination of synovial membrane in RA rats

4 讨论

关节炎是一种由多种因素引起关节炎症性病变的慢性疾病, 以关节红肿、热、痛和功能障碍为主要表现, 其发病率高, 致病机制复杂, 最常见的是骨关节炎 (OA) 和 RA。流行病学调查显示, 成年人 RA 患病率在 0.2%~0.8%, 由于其病理过程难以控制, 对患者身心健康及生存质量均有较大的损害, 因此 RA 已成为医学界关注较多、研究较深入的临床难治性疾病^[6]。RA 目前尚无特效疗法, 仍停留于对炎症及后遗症的综合治疗。化学药目前的一线用药仍是非甾体类抗炎免疫药, 但存在副作用大、作用单一及有较多禁忌症等缺点。中药治疗关节炎具有独特优势, 中药复方的效果显著, 但缺乏相对明确的产生药理作用的物质基础^[7]。目前市面常见中成药多为大复方, 大多辛热燥烈, 作用较猛, 但存在明显的副作用。本研究所选方剂源于《外台秘要》, 属古典经方, 由羌活、独活、松节组成, 现代药理研究显示其组成药物均有明显的抗炎、镇痛作用, 且毒性反应低, 研究其对 RA 的作用机制, 有助于发现新的治疗药物。本研究所选阳性药昆明山海棠

片是临床用于治疗 RA 的常用上市药, 治疗风寒湿邪痹阻经络所致关节疼痛、屈伸不利等症, 与 SJF 有相似的功能主治, 但毒副作用较大。

RA 的发病机制尚未完全明确, 其中 T 淋巴细胞介导的细胞免疫应答异常是 RA 的主要起始环节, 它是涉及众多蛋白分子及一系列相关细胞因子的复杂过程^[1-2]。目前研究显示多种细胞信号转导通路异常在 RA 的发病和发展中起着极其重要的作用, 可以通过调控 MAPK、JAK/STAT、NF- κ B 等 TCR 信号通路的下游信号转导来使 T 淋巴细胞发挥作用^[8-13]。

目前对 T 淋巴细胞活化的信号转导前期环节研究较少。在细胞活化信号转导早期, TCR 与 CD3 结合后形成 TCR/CD3 复合体, 可激活与其偶联的蛋白酪氨酸激酶, 其中包括 Lck、Fyn、Zap-70。Lck 对 TCR/CD3 复合体胞内部分的 ITAM 结构域的磷酸化, Fyn 则参与 TCR/CD3 复合体介导的细胞信号转导, Zap-70 结合到 TCR/CD3 上并被活化, 然后促进下游接头蛋白和支架蛋白的结合和磷酸化。而 CD45 受体酪氨酸磷酸酯酶调节 Lck 和其他 Src 家

族酪氨酸激酶的磷酸化状态和活性。通过一系列的蛋白分子磷酸化和去磷酸化,形成级联反应,使下级信号通路异常激活,最终导致细胞增殖和免疫调节紊乱。本研究结果显示,与对照组相比,RA 大鼠关节液中 Lck、Fyn、ZAP70、CD45 水平明显升高,同时滑膜组织 Lck、Fyn、ZAP70、CD45 呈强阳性表达,与之能吻合。

前期研究表明, SJF 能显著降低关节炎大鼠血清 TNF- α 、INF- γ 、IL-1 β 水平,升高血清 IL-10 水平,通过调节炎症因子水平达到抗炎的作用^[3]。结果显示, SJF 对 RA 大鼠的炎症有较好的抑制作用,能明显降低 RA 大鼠的关节肿胀度,使 RA 大鼠关节滑膜组织水肿伴纤维组织增生和慢性炎性细胞浸润程度减轻,其作用效果与昆明山海棠片相当。本实验重点观察了 SJF 对 RA 大鼠 TCR 信号通路前期信号转导的影响。研究发现 SJF 能显著降低 RA 大鼠关节液 Lck、Fyn、ZAP70、CD45 水平,同时明显下调滑膜组织 Lck、Fyn、ZAP70、CD45 的表达。提示 SJF 抑制 RA 的机制可能是通过抑制异常激活的 TCR 信号通路酪氨酸激酶及磷酸酶相关分子的表达来调控其下游的各级信号通路转导功能,对后续信号通路的影响还需进一步的研究。

参考文献

[1] 张雪玲,李武国,周仲洋,等. T 细胞代谢异常对类风湿关节炎发生发展的影响 [J]. 中华风湿病学杂志, 2018, 22(11): 789-792.

[2] Thomas R, Turner M, Cope A P. High avidity autoreactive T cells with a low signalling capacity through the T-cell receptor: Central to rheumatoid arthritis pathogenesis? [J]. *Arthr Res Ther*, 2008, 10(4): 210-218.

[3] 莫宗成,梅小利,黄文涛,等. 松节方提取物对炎症动

物模型的抗炎作用及机制探讨 [J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(2): 304-309.

[4] 张天齐,玄玲玲,姜仁涛,等. 雷公藤叶组分 TZT-5 对大鼠关节炎的抑制作用 [J]. 中草药, 2013, 44(12): 1628-1631.

[5] 施小山,李伦乙,郭兴东. T 细胞抗原受体的结构与功能研究进展 [J]. 中国细胞生物学学报, 2011, 33(9): 955-963.

[6] 李文敬,杨连洲,苏厚恒. 自身免疫性疾病中西医结合治疗学 [M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2007.

[7] 池里群,周彬,高文远,等. 治疗类风湿性关节炎常用药物的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(15): 2851-2858.

[8] Page T H, Brown A, Timms E M, *et al*. Inhibitors of p38 suppress cytokine production in rheumatoid arthritis synovial membranes does variable inhibition of interleukin-6 production limit effectiveness *in vivo*? [J]. *Arthr Rheumatol*, 2010, 62(11): 3221-3231.

[9] 戴敏,魏伟. 类风湿关节炎滑膜细胞信号转导机制研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2003, 19(5): 481-485.

[10] 唐敏,何成松. 丝裂原活化蛋白激酶信号转导通路与类风湿关节炎关系的研究 [J]. 现代医药卫生, 2014, 30(8): 1203-1206.

[11] Galligan C L, Siminovitch K A, Keystone E C, *et al*. Fibrocyte activation in rheumatoid arthritis [J]. *Rheumatology*, 2010, 49(4): 640-651.

[12] 杨馨,刘旭光,王月,等. 艾灸对类风湿性关节炎家兔滑膜细胞 JAK-STAT 通路负反馈调节家族细胞因子信号抑制因子的影响 [J]. 针刺研究, 2013, 38(2): 129-133.

[13] 石慧,王丹彤,乌日嘎,等. TNF- α 介导的 NF- κ B 信号通路在类风湿性关节炎血管形成中的作用 [J]. 医学综述, 2012, 18(15): 2397-2400.