

• 实验研究 •

蠲痹颗粒醇提物调控 MAPK 信号转导抑制 T 细胞活化效应机制的研究*

邹楠婷, 吴 招, 顾茜兰, 应 赛, 杨海浩, 祁 燕, 李小丝, 彭江云[△], 万春平[△]
(云南中医药大学, 云南 昆明 650500)

摘要: 目的 探讨蠲痹颗粒醇提物(JBKL)在丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号转导通路中抑制 T 细胞活化的效应机制, 揭示扶阳学派应用扶阳理论治疗类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)的现代免疫学机制。方法 噻唑蓝(MTT)比色法检测 JBKL 对伴刀豆球蛋白(Con A)、脂多糖(LPS)诱导 T、B 脾淋巴细胞增殖活性及细胞毒性的影响; 建立体外抗 CD3 单克隆抗体(Anti-CD3 mAb)诱导的 T 细胞活化模型, MTT 检测 JBKL 对 T 细胞体外活化增殖的影响, 酶联免疫吸附法(ELISA)测定干扰素- γ (IFN- γ)、白细胞介素-17A(IL-17A)、IL-10 和 IL-6 在细胞上清中的含量; 蛋白质印迹法(Western blot)检测体外纯化 CD4⁺ T 细胞中 ERK 和 p38 蛋白的磷酸化水平。结果 JBKL 在浓度 30 μ g/mL 时显著抑制 Con A、Anti-CD3 mAb 和 LPS 诱导的 T 细胞和 B 细胞增殖功能; JBKL 在浓度 (3~30) μ g/mL 时对正常脾淋巴细胞无明显的细胞毒性作用, 明显下调 IFN- γ 、IL-17A 和促炎因子 IL-6 的含量, 而促进 IL-10 的分泌; JBKL 在浓度 100 μ g/mL 时抑制 MAPK 信号通路, 可降低纯化 CD4⁺ T 细胞磷酸化 ERK 和 p38 蛋白的表达。结论 JBKL 阻碍 T 细胞介导的免疫反应, 减少 MAPK 信号通路磷酸化 ERK 和 p38 蛋白表达, 可能是其治疗 RA 的重要分子机制之一。

关键词: 蠲痹颗粒; 类风湿关节炎; CD4⁺ T 细胞; MAPK 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2022)03-0035-06

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2022.03.008

Mechanism of Juanbi Granules Ethanol Extract Suppressing the Activation of T Cells through the MAPK Signaling Transduction Pathway

ZOU Nanting, WU Zhao, GU Qianlan, YING Sai, YANG Haihao, QI Yan,
LI Xiaosi, PENG Jiangyun, WAN Chunping
(Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: **Objective** To investigate the potential mechanism of the ethanol extract of Juanbi Granules (JBKL) on T cell activation via the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling transduction pathway, and to reveal the mechanism of immunosuppression on the application of Yang-aided theory in rheumatoid arthritis (RA) treatment. **Methods** T cells and B cells proliferation assay were induced by concanavalin A (Con A) and lipopolysaccharide (LPS), respectively. Splenocyte proliferation and cytotoxicity were detected by MTT assay. The T cells were further stimulated in vitro with Anti-CD3 mAb to establish Anti-CD3 mAb-induced T cells activation; ELISA assay was used to measure the supernatant concentrations of interferon- γ (IFN- γ), interleukin (IL)-17A, IL-10 and IL-6. The expression of MAPK signaling pathway related proteins (p-ERK and p-p38) in purified CD4⁺ T cells were detected by Western blot assay. **Results** Compared with the vehicle control group, JBKL (30 μ g/mL) significantly inhibited the proliferation of T cells induced by Con A and Anti-CD3 mAb, and

收稿日期: 2022-02-10

* 基金项目: 国家中医药管理局国家中医(类风湿关节炎)临床研究基地建设项目(国中医药科技函[2018]131号); 云南省中医(风湿病)临床医学研究中心项目(202102AA310006); 云南省卫生科技计划项目(2017NS166)

第一作者简介: 邹楠婷(1999-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 免疫药理学。

[△]通信作者: 彭江云, E-mail: pengjiangyun@126.com; 万春平, E-mail: wanchunping1012@163.com

the proliferation of B cells responded to LPS. Further, JBKL groups had no remarkable cytotoxicity in normal mouse spleen lymphocytes. The levels of IFN- γ L-17A, IL-6 content were obviously decreased in the JBKL (3~30 μ g/mL) group and the IL-10 content was up-regulated. The phosphorylation levels of ERK and p38 proteins were lower in the JBKL (100 μ g/mL) group than those in the vehicle group. **Conclusion** JBKL can significantly restrain the activation and proliferation of CD4⁺T cells, which may be related to the inhibition of p-ERK and p-p38 MAPK signaling pathways. This may be an important molecular mechanism contributes to the effect of JBKL in rheumatoid arthritis treatment.

KEY WORDS: Juanbi Granules; rheumatoid arthritis; CD4⁺T cells; MAPK signaling transduction pathway

蠲痹颗粒是由云南省当代扶阳学派杰出代表、著名中医学家吴生元教授研制的抗类风湿关节炎的经验药方^[1],1995 年获院内制剂批件(滇 ZJGF/1995-25),2008 年获再注册批件(滇药制字(Z)20082554A),2012 年 8 月获国家发明专利(专利号:201010185717.X)。处方由附片、川芎、桂枝、五加皮等药味配伍而成,具有温阳通络、祛风除湿、散寒、消肿止痛的功效,主治风寒湿痹证。

前期临床观察和实验研究证实:蠲痹颗粒对活动期类风湿关节炎有显著临床疗效,能减轻病人的临床症状,下调 C-反应蛋白(CRP)和血沉(ESR)等有关治疗指标。此外,蠲痹颗粒对大鼠佐剂性关节炎(AA)和小鼠胶原性关节炎(CIA)有显著的抗炎和镇痛作用^[2-4],提示蠲痹颗粒防治类风湿关节炎与其抑制 T 细胞介导的免疫反应密切相关。但该药的确切免疫调节机制尚未明确,因此有必要进一步研究其治疗类风湿关节炎的免疫学机制。

最新研究显示^[5-7],丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)信号通路与 RA 时 T 淋巴细胞激活和细胞因子分泌具有密切联系,已成为 RA 药物治疗的重要作用靶点。该通路主要由 ERK、p38 和 JNK 激酶组成的。本研究通过建立体外细胞分化模型,探讨蠲痹颗粒醇提物(JBKL)对 T、B 淋巴细胞体外增殖的影响,及其调控 MAPK 信号转导干预 T 细胞活化效应机制的研究,为扶阳法治疗风寒湿痹证类风湿关节炎提供理论依据和科学基础。

1 材料与方法

1.1 材料 BALB/c 小鼠,雌性,78 周龄,体质量(18 $\pm$ 1)g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,合格证号:SCXK(京)2019-0010;实验动物在 SPF 级动物房饲养 1 周后使用。环境温度湿度分别为(22 $\pm$

1) $^{\circ}$ C 和(55 $\pm$ 5)%,12 h 昼夜循环。动物自主摄取灭菌或消毒后的饲料和水。所有实验均严格按照实验动物相关条例执行。

蠲痹颗粒浸膏醇提物制备:称取 289.4 g 蠲痹颗粒浸膏,用蒸馏水加热溶解完全,冷却后加入乙醇混匀,直至乙醇含量为 80%,放置 12 h 后离心,取上清液过滤,并减压回收乙醇,得蠲痹颗粒药材浸膏,将浸膏置于真空干燥箱真空干燥约 2 d,得蠲痹颗粒固体浸膏 3.658 g,折合原药材:1 g 醇提物相当于 79.11 g 蠲痹颗粒浸膏。

RPMI-1640 培养基购自 GibcoBRL 公司(life Technologies,Grandisland,NY,USA);胎牛血清(fetal calf serum,FBS)和 MTT 均购买于 Hyclone 公司(Logan,Utah,USA);刀豆蛋白 A(Con A)和细菌脂多糖(LPS)均购自美国 SIGMA 公司(St. Louis,MO,USA);IL-10、IL-6、IL-17A 和 IFN- γ 细胞因子 ELISA 检测试剂盒和 Anti-CD3 抗体均购自 BD PharMingen 公司(San Diego,CA,USA);抗 phospho-ERK1/2,phospho-p38 购自 Cell Signaling Technology;其它试剂为国产分析纯。

Megafuge 11.0R 离心机(德国 ThermoScientific Heraeus);二氧化碳培养箱购自美国 Thermo-Fisher;Epoch 连续波长酶标仪来自美国 Bio-Tek 公司;DM2500 正置显微镜(德国莱卡仪器有限公司);伯乐小型垂直电泳套装及通用电泳仪 164-5070(美国 Bio-Rad)、ODYSSEYCLx 激光成像系统(美国 LI-COR 公司)。

1.2 脾淋巴细胞和纯化 CD4⁺T 细胞制备 脱颈椎处死小鼠,摘取脾脏,研磨获取脾细胞悬液,用红细胞裂解液裂解红细胞,用 PBS 洗 2~3 次,离心滤过后加入含 2% FBS 的 RPMI-1640 混匀得到脾淋巴细胞,并

将细胞调至所需浓度。采用免疫磁珠分离法(阴性选择),加入小鼠抗小鼠 I-Ad/b、同山羊抗小鼠抗体 IgG 结合磁珠,除去与磁珠结合 I-A+抗原递呈细胞和 Ig+ 的 B 细胞,获得纯化的 T 细胞。CD4⁺T 细胞的纯化在上述纯化条件下加入抗 CD8 抗体标记磁珠,除去 CD8⁺T 细胞,得到纯化 CD4⁺T 细胞。以上操作均需无菌处理。

1.3 JBKL 对小鼠脾淋巴细胞增殖功能的影响 以 5×10^5 /孔的 BALB/c 小鼠脾淋巴细胞数接种于 96 孔板,药物组加入低、中、高剂量(3、10、30 $\mu\text{g/mL}$)的 JBKL,再加入 5 $\mu\text{g/mL}$ ConA 或 LPS(10 $\mu\text{g/mL}$)刺激 T、B 淋巴细胞增殖。另外,设不加刺激剂和药物的空白组,以及只加刺激剂的对照组,放入 37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 培养箱,培养第 44 h 后每孔加入 5 mg/mL MTT 20 μL ,再孵育 4 h 结束后,吸除上清,每孔加入 100 μL DMSO,低速振荡充分溶解反应后的 MTT 结晶,用酶标仪在 570 nm 波长处检测各孔的吸光度。对于 Anti-CD3 mAb 诱导 T 细胞增殖,方法如下:5 $\mu\text{g/mL}$ Anti-CD3 mAb 稀释溶液(碳酸盐缓冲液稀释,pH 9.6)包被 96 孔培养板,诱导 T 淋巴细胞增殖,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中放置 2 h 后,丢弃液体,用 PBS 洗 1 次,加入脾淋巴细胞(5×10^5 /孔)和不同浓度 JBKL,之后的方法同上均用 MTT 法检测。

1.4 MTT 检测 JBKL 对小鼠脾淋巴细胞细胞毒性检测 往 96 孔板内加入 4×10^5 /孔的正常小鼠脾淋巴细胞,同时加入 JBKL(0、3、10、30 $\mu\text{g/mL}$)。37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养 44 h 后,每孔加入 20 μL 5 mg/mL MTT,继续孵育 4 h。培养结束时,弃去原液,每孔加入 100 μL DMSO,充分溶解结晶,用酶标仪于 570 nm 处测定吸光度。

1.5 JBKL 对 Anti-CD3 mAb 诱导 T 细胞细胞因子产生的影响 纯化的 CD4⁺T 淋巴细胞(4×10^5 /孔)接种于包被着 anti-CD3 mAb(5 $\mu\text{g/mL}$)的 24 孔培养板中,同时加入不同浓度的 JBKL(0、3、10、30 $\mu\text{g/mL}$)。对照组则不含 anti-CD3 mAb。37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 培养箱中培养,36 h 后收集细胞上清液,离心(5 000 r/min,4 $^{\circ}\text{C}$,5 min),根据相应 IL-10、IL-6、IFN- γ 和 IL-17A 的 ELISA 试剂盒说明书检测细胞培养液中各细胞因

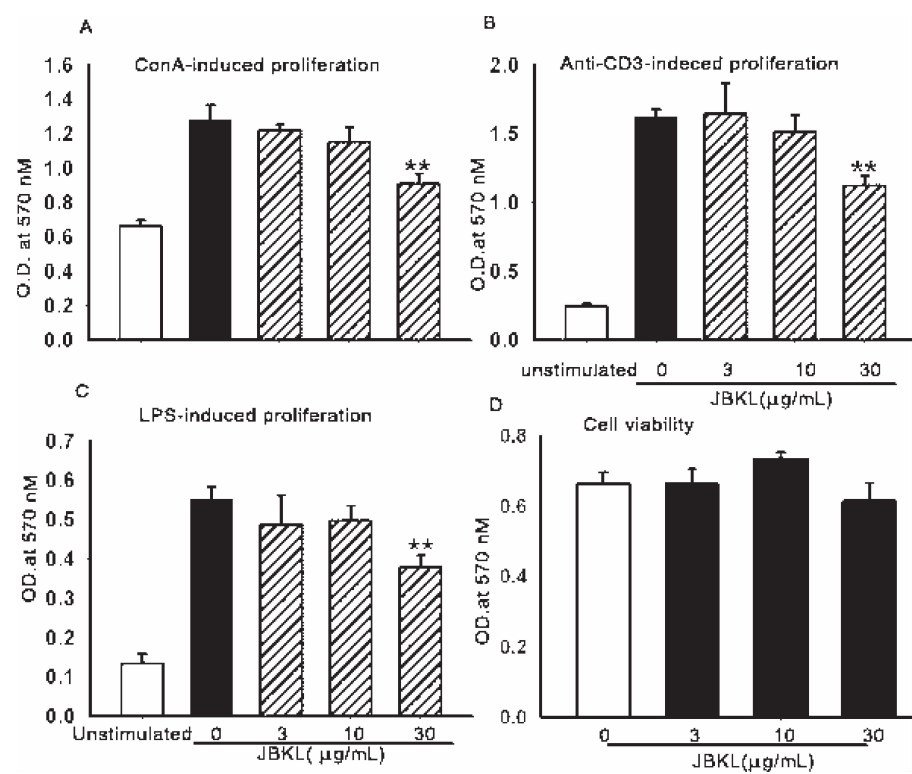
子的含量。

1.6 CD4⁺T 细胞 MAPK 信号通路的相关蛋白表达水平 PBS 稀释的 anti-CD3 mAb(5 $\mu\text{g/mL}$)加入 24 孔培养板,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 包被过夜,用 PBS 洗 2 次。加入 CD4⁺T 淋巴细胞(5×10^6 /孔)、anti-CD28 mAb(2 $\mu\text{g/mL}$)和不同浓度的薏苡颗粒提取物(0、3、10、30、100 $\mu\text{g/mL}$),刺激 30 min,另设无刺激对照组。收集细胞于 Eppendorf 管中,每管分别加入等量的裂解溶液(RIPA、蛋白酶抑制剂和磷酸化蛋白酶抑制剂),4 $^{\circ}\text{C}$ 裂解 30 min,离心(4 $^{\circ}\text{C}$ 、10 min、12 000 r/min),吸取上清获得细胞总蛋白。总蛋白按照 BCA 蛋白浓度测定试剂盒说明书测定后再把浓度调成一致,取相同体积样品加入适量 SDS,100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴煮沸 10 min 变性总蛋白。将总蛋白进行垂直电泳分离、转膜、封闭、洗膜,分别加入抗体 p-ERK 和 p-P38,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 6 h,洗膜,加入相应二抗室温避光孵育 1 h,弃去二抗洗膜后于 ODYSSEYCLx 双色红外激光成像仪上扫膜,用 ImageStudio 软件采集分析蛋白条带图像。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)的显色为内参。

1.7 统计学分析 用 SPSS 17.0 软件对数据结果进行分析,所有数据都以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较使用 *t* 检验和单因素方差分析处理, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 JBKL 对小鼠脾淋巴细胞活性和细胞毒性的影响 图 1A 结果显示,正常小鼠 T 淋巴细胞在丝裂原 Con A 诱导下显著增殖;与溶媒对照组比较,JBKL 30 $\mu\text{g/mL}$ 药物干预后,能够显著抑制 Con A 诱导小鼠 T 淋巴细胞增殖能力。图 1B 结果表明,与溶媒对照组相比,JBKL 30 $\mu\text{g/mL}$ 显著抑制 Anti-CD3 mAb 诱导正常小鼠脾脏 T 淋巴细胞活化。图 1C 结果表明,LPS 显著刺激正常小鼠 B 淋巴细胞发生增殖,与溶媒对照组相比,JBKL 30 $\mu\text{g/mL}$ 药物干预显著抑制正常小鼠 B 淋巴细胞的增殖活性。图 1D 结果表明,与溶媒对照组相比,JBKL 在浓度(3~30) $\mu\text{g/mL}$ 对正常脾淋巴细胞活度无明显的影响,提示 JBKL 在(3~30) $\mu\text{g/mL}$ 对正常小鼠淋巴细胞无明显细胞毒性作用。上述结果表明,JBKL



注:与溶媒对照组相比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

图 1 不同浓度蠼螋颗粒醇提取物(JBKl)对 ConA(A)、Anti-CD3 mAb(B)和 LPS(C)诱导的正常小鼠脾淋巴细胞增殖情况影响和细胞毒性(D)($\bar{x}\pm s,n=3$)

体外具有显著的免疫抑制活性。

2.2 JBKl 对 TCR 信号诱导的 CD4⁺ T 淋巴细胞细胞因子产生的影响 为进一步探究 JBKl 对细胞因子产生的影响,本研究应用 ELISA 法检测 JBKl 对 Anti-CD3 mAb 诱导 CD4⁺ T 淋巴细胞细胞因子产生的影响。ELISA 检测结果显示,CD4⁺ T 淋巴细胞

经 Anti-CD3 mAb 诱导后分泌更多的 IFN- γ 、IL-17A、Treg 细胞因子(IL-10)和促炎细胞因子(IL-6)。给予不同浓度的 JBKl 作用后,产生的 IFN- γ 和 IL-17A 显著低于溶媒对照组。同时大幅增加 Treg 负调控细胞因子(IL-10)的分泌量,降低 IL-6 产生水平(表 1)。

表 1 蠼螋颗粒醇提取物(JBKl)对 Anti-CD3 mAb 诱导 CD4⁺ T 细胞细胞因子的影响($\bar{x}\pm s,n=3,\mu\text{g/mL}$)

组别	剂量/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	IFN- γ	IL-17A	IL-6	IL-10
无刺激剂组		99.18 $\pm$ 45.43	100.29 $\pm$ 45.43	18.39 $\pm$ 0.93	11.37 $\pm$ 3.63
溶媒对照组		2 590.50 $\pm$ 30.59	623.45 $\pm$ 17.17	154.69 $\pm$ 30.74	361.34 $\pm$ 27.66
JBKl 低浓度组	3	2 289.68 $\pm$ 331.41	474.07 $\pm$ 29.06*	146.52 $\pm$ 14.43	354.43 $\pm$ 34.43
JBKl 中浓度组	10	2 032.73 $\pm$ 256.24	471.22 $\pm$ 102.78	108.42 $\pm$ 16.37	401.56 $\pm$ 61.56
JBKl 高浓度组	30	2 129.47 $\pm$ 16.66*	324.26 $\pm$ 35.63**	89.18 $\pm$ 23.54*	571.75 $\pm$ 81.75*

注:与溶媒对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

2.3 JBKl 干预后,CD4⁺ T 淋巴细胞磷酸化 p38 和 ERK 蛋白水平变化 图 2 结果显示,30 $\mu\text{g/mL}$ 和 100 $\mu\text{g/mL}$ JBKl 作用后磷酸化 ERK 表达量较溶

媒对照组减少。而在浓度 100 $\mu\text{g/mL}$,JBKl 显著抑制 p38 磷酸化表达水平,提示 JBKl 可能通过作用于 ERK-MAPK 和 p38-MAPK 信号通路来发挥抑

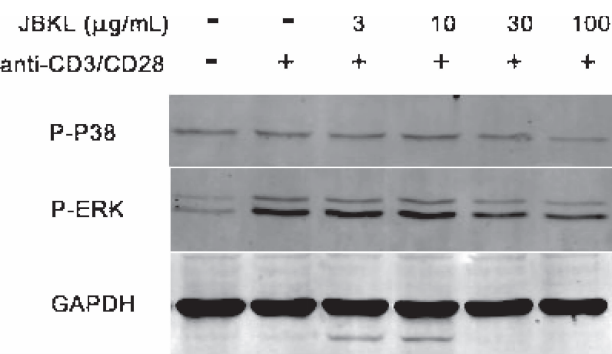


图 2 薏苡仁颗粒醇提物(JBKL)对 Anti-CD3 mAb 诱导 CD4⁺T 淋巴细胞 MAPK 信号通路的影响

制 T 细胞活化的作用。

3 讨论

T 细胞介导的免疫反应损伤是导致 RA 等系统性自身免疫病发病的主要原因之一^[1,8]。临床上大多数 RA 患者的病程较长, 主要以关节的免疫损伤为特征, 并且在病原生物的持续感染下, 病变可从小关节波及到大关节, 最终引起严重的炎症损害^[8]。但该病病因和发生机制目前尚未阐明。T 淋巴细胞作为适应性免疫应答的主要效应细胞, 其不同亚群发挥着不同的免疫效应, 主要诱导分泌各类细胞因子或效应分子, 从而参与调节体液免疫应答、炎症反应和自身免疫病等过程。因此, 类风湿性关节炎的发生与针对自身抗原的 T 淋巴细胞异常活化增殖有关^[9-10]。

前期研究显示, 薏苡仁颗粒能有效抑制 DNFB 引发的迟发型超敏反应(DTH)。DNFB 能够刺激 T 细胞活化, 释放大量的细胞因子和炎症介质, 造成炎症性损伤。基于此, 我们进一步研究发现薏苡仁颗粒能显著改善胶原诱导性小鼠关节炎, 维持 Th17/Treg 细胞平衡, 减少致病因子 IL-17A 分泌量, 促进免疫抑制因子 IL-10 的释放, 动物模型实验证明给予薏苡仁颗粒后能阻碍 T 细胞异常活化而发生的免疫应答, 所以薏苡仁颗粒治疗 RA 的免疫调节机制是值得探索的。因此, 本实验采用 ConA、Anti-CD3 mAb 和 LPS 诱导脾脏 T、B 淋巴细胞增殖的体外模型, 并加入 JBKL; MTT 结果显示, T、B 细胞增殖活性在 JBKL 干预后减弱。且细胞毒性实验结果表明 JBKL 对正常脾淋巴细胞无明显细胞毒性作用, 排除了 JBKL

抑制淋巴细胞增殖作用依赖于细胞毒性的可能, 与前期体内结果一致, 进而证实薏苡仁颗粒具有显著免疫抑制活性, 这可能是薏苡仁颗粒治疗 RA 主要的依据之一^[1,4,11]。

白细胞分化抗原 3(CD3)是一类分布于细胞膜表面的蛋白质, CD3 和 TCR 肽链(α 、 β 、 γ)以非共价键相互连接, 形成 CD3-TCR 复合体, 在抗原刺激下使 T 细胞活化^[12]。大量研究证实 Anti-CD3 mAb 可模拟抗原刺激直接作用于 CD3, 介导 T 细胞快速活化增殖, 促进 Th1、Th17、Treg 等 T 细胞亚群分泌细胞因子和炎症介质释放^[13]。结果表明, JBKL 30 μg/mL 显著降低了 IFN- γ 、IL-17A 和 IL-6 的水平, 显著提高了负调控因子 IL-10 的水平。IFN- γ 除了激活巨噬细胞发挥抗肿瘤效应和促进炎症反应外, 还有免疫调节作用^[14]。由 Th17 细胞分泌的 IL-17A 有较强的促炎症作用, 在 RA 的启动与进展中发挥关键作用^[15-17]。另外, Th17 细胞在 IL-6 刺激下会发生增殖和分化^[18], IL-6 还可以活化 B 淋巴细胞, 发挥以抗体为主导的特异性体液免疫效应。由 Treg 细胞分泌的 IL-10 是维持免疫耐受的关键因子, 以防止自生免疫性疾病发生。课题组前期在胶原诱导性关节炎模型中发现 JBKL 能调控 Th17 细胞与 Treg 细胞平衡, 下调促炎因子 IL-17A 表达^[3]。本研究在体外细胞因子表达角度进一步证实 JBKL 能调控 Th17/Treg 细胞平衡, 这可能是薏苡仁颗粒治疗类风湿性关节炎的免疫学机制之一。

在 RA 发病时, MAPK 信号通路是参与 TCR 信号转导的重要途径。T 细胞激活信号通过多种途径转导入细胞核, 其中 MAPK 信号通路是参与 TCR 信号转导的重要途径。MAPK 的 3 种主要成分: ERK、JNK 以及 P38 均参与 T 细胞激活。通过激活 MAPK 信号通路释放多种核转录因子, 参与 T 细胞免疫应答过程^[19]。基于此, 我们进一步应用 Western blot 检测 JBKL 对 MAPK 信号通路中相关蛋白的影响。结果表明, JBKL 给药后磷酸化 ERK 和 p38 表达降低, 提示抑制 MAPK 信号通路, 可能是薏苡仁颗粒免疫抑制作用及治疗类风湿性关节炎的分子机制之一。

综上所述, 本实验结果证实了 JBKL 通过调控

MAPK 信号转导通路中 p38 和 ERK 蛋白磷酸化,从而抑制 T 细胞活化增殖和促炎因子分泌。本研究可为深入探究中药复方薏苡颗粒治疗类风湿关节炎的作用机制提供科学基础。

参考文献:

- [1] 刘维超,李玲玉,万春平,等. 薏苡颗粒对胶原诱导性关节炎小鼠 Th17/Treg 细胞平衡调控作用的研究[J]. 风湿病与关节炎,2014,3(4):31-33,38.
- [2] 彭江云,李兆福,刘维超,等. 薏苡颗粒治疗类风湿关节炎 40 例临床疗效观察[J]. 云南中医中药杂志,2009,30(12):12-14.
- [3] 彭江云,李兆福,杨洲,等. 薏苡颗粒抗炎镇痛作用的实验研究[C]// 海峡两岸中医药发展大会风湿论文集. 北京: 中华中医药学会,2009:62-63.
- [4] 万春平,彭江云,李兆福,等. 薏苡颗粒对胶原诱导性小鼠关节炎的抑制作用及机制研究[J]. 中药材,2013,36(9):1505-1507.
- [5] CHEN Y,LI H,LI M,et al. *Salvia miltiorrhiza* polysaccharide activates T lymphocytes of cancer patients through activation of TLRs mediated -MAPK and -NF- κ B signaling pathways[J]. J Ethnopharmacol,2017,200:165-173.
- [6] JAKHAR R,SHARMA C,PAUL S,et al. Immunosuppressive potential of astemizole against LPS activated T cell proliferation and cytokine secretion in RAW macrophages, zebrafish larvae and mouse splenocytes by modulating MAPK signaling pathway[J]. Int Immunopharmacol,2018,65:268-278.
- [7] KLEBANOFF C A,CROMPTON J G,LEONARDI A J,et al. Inhibition of AKT signaling uncouples T cell differentiation from expansion for receptor-engineered adoptive immunotherapy[J]. JCI Insight,2017,2(23):e95103.
- [8] 秦林,马毅,张丹,等. 寒热配伍对类风湿性关节炎免疫功能影响的研究概况[J]. 云南中医学院学报,2005(3):61-62,67.
- [9] XIAO BG,LINK H. Antigen-specific T cells in autoimmune diseases with a focus on multiple sclerosis and experimental allergic encephalomyelitis[J]. Cell Mol Life Sci,1999,56(1-2):5-21.
- [10] VANDERBORGHT A,GEUSENS P,RAUS J,et al. The autoimmune pathogenesis of rheumatoid arthritis:role of autoreactive T cells and new immunotherapies[J]. Semin Arthritis Rheum,2001,31(3):160-175.
- [11] 万春平,李兆福,杨会军,等. 薏苡颗粒主要药效学及安全性评价研究[J]. 风湿病与关节炎,2012,1(5):16-18,28.
- [12] BLUESTONE J,PARDOLL D,SHARROW S et al. Characterization of murine thymocytes with CDS-associated T-cell receptor structures[J]. Nature,1987,326(6108):82-84.
- [13] 何礼芳,朱锡华. T 淋巴细胞活化及其代谢变化[J]. 国外医学(免疫学分册),1991(2):60-64.
- [14] 何维. 医学免疫学[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:94.
- [15] MIOSEC P. Interleukin-17 in fashion,at last:ten years after its description,its cellular source has been identified[J]. Arthritis Rheum,2007,56(7):2111-2115.
- [16] KIM J,KANG S,KIM J,et al. Elevated levels of T helper 17 cells are associated with disease activity in patients with rheumatoid arthritis [J]. Ann Lab Med,2013,33(1):52-59.
- [17] LI G,ZHANG Y,QIAN Y,et al. Interleukin-17A promotes rheumatoid arthritis synoviocytes migration and invasion under hypoxia by increasing MMP2 and MMP9 expression through NF- κ B/HIF-1 α pathway[J]. Mol Immunol,2013,53(3):227-236.
- [18] PARK J S,KWOK S K,LIM M A,et al. STA-21,a promising STAT-3 inhibitor that reciprocally regulates Th17 and Treg cells,inhibits osteoclastogenesis in mice and humans and alleviates autoimmune inflammation in an experimental model of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheumatol,2014,66(4):918-929.
- [19] WHITMARSH A J,DAVIS R J. Transcription factor AP-1 regulation by mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways [J]. J Mol Med (Berl),1996,74(10):589-607.