论著

文章编号:1000-5404(2012)19-1972-05

青藤碱对牙龈卟啉单胞菌脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞 IL-8 表达的影响

王 春,向学熔,杨明聪,陈芳淳 (401147 重庆,重庆医科大学附属口腔医院牙周科)

[摘要] **目的** 探讨青藤碱对牙龈卟啉单胞菌脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞表达 IL-8 的影响。**方法** 用不同浓度的青藤碱(25、50、100 μmol/L)预处理 24 h 后,再加入 1 μg/ml 的脂多糖(LPS)处理人牙龈成纤维细胞。采用 RT-PCR、ELISA 法检测青藤碱对脂多糖诱导细胞表达 IL-8 的影响;用 Western blot 法检测青藤碱对 NF-κB 核转位及 IκBα 降解的影响。加入 NF-κB 抑制剂 Bay11-7085 10 μmol/L、TPCK 20 μmol/L 预处理细胞 24 h 后,再用 LPS 刺激细胞 4 h,采用 ELISA 法检测 NF-κB 抑制剂对脂多糖诱导的 IL-8 表达的影响。**结果** 青藤碱剂量依赖性地抑制脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞中 IL-8 mRNA 及蛋白表达($P<0.05$);与脂多糖组比较,青藤碱基本上把 NF-κB 阻滞在细胞质中,而细胞经脂多糖处理 1 h 后,大部分 NF-κB 被转运到细胞核中,经 100 μmol/L 青藤碱预处理细胞的细胞质中 NF-κB 含量为脂多糖组的 2 倍;脂多糖处理细胞 1 h 后,50% 的 IκBα 降解,但经青藤碱预处理细胞后,呈浓度依赖性抑制脂多糖诱导 IκBα 的降解($P<0.05$)。50 μmol/L 的青藤碱使脂多糖诱导 IκBα 的降解恢复到正常水平;脂多糖处理组 IL-8 表达量为对照组的 2.4 倍,但加入 NF-κB 抑制剂 Bay11-7085(10 μmol/L)、TPCK(20 μmol/L)后 IL-8 蛋白的表达量分别下降为对照组的 1.8 倍和 1.6 倍。**结论** 青滕碱可能通过阻断 NF-κB 的核转位以及 IκBα 的降解来抑制牙龈卟啉单胞菌脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞 IL-8 的合成。

[关键词] 青藤碱;牙龈;成纤维细胞;白细胞介素-8;NF-κB

[中图法分类号] R285.5; R392.3; R781.41 [文献标志码] A

Effect of sinomenine on IL-8 expression in porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide-stimulated human gingival fibroblasts

Wang Chun, Xiang Xuerong, Yang Mingcong, Chen Fangchun (Department of Periodontology, Hospital of Stomatology, Chongqing Medical University, Chongqing, 401147, China)

[**Abstract**] **Objective** To study the effect of sinomenine (Sin) on IL-8 expression in porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide (LPS)-stimulated human gingival fibroblasts (HGF). **Methods** HGF were pretreated with Sin at the concentrations of 25, 50 and 100 μmol/L for 24 h and then with 1 μg/ml LPS which was added into Sin. Effect of Sin on LPS-mediated IL-8 expression in HGF was detected by RT-PCR and ELISA, respectively. Effect of Sin on NF-κB translocation and IκB degradation was detected by Western blotting. Effect of NF-κB inhibitors, Bay11-7085 (10 μmol/L) and TPCK (20 μmol/L), on Sin-mediated IL-8 expression in HGF, was detected by ELISA 24 h after pretreatment followed by 4 h-LPS stimulation. **Results** Sin suppressed the IL-8 mRNA and protein expressions in LPS-mediated HGF in dose-dependent manner ($P<0.05$). SIN could almost keep the NF-κB in the cytoplasm compared with LPS. Most NF-κB was transported in the nuclei 1 h after LPS treatment. The NF-κB level was 2-fold higher than the LPS level in cytoplasm after Sin (100 μmol/L) pretreatment. Fifty percent of IκBα was degraded 1 h after the HGF were pretreated with LPS and Sin inhibited the LPS-mediated degradation of IκBα in a dose-dependent manner after HGF were pretreated ($P<0.05$). Sin (50 μmol/L) pretreatment returned the LPS-mediated IκBα degradation to its normal levels. The IL-8 expression level was 2.4-fold higher in LPS pretreatment group than in control group, and 1.8-fold and 1.6-fold lower in LPS pretreatment group than in control group after pretreatment with NF-κB inhibitors, Bay11-7085 (10 μmol/L) and TPCK (20 μmol/L). **Conclusion** Sin inhibits the porphyromonas

[通信作者] 向学熔,E-mail:cqzxfxp@sina.com

gingivalis LPS-mediated IL-8 expression in HGF by blocking the NF-κB translocation and the IκBα degradation.

[**Key words**] sinomenine; gingiva; fibroblast; interleukin-8; NF-kappa B

Corresponding author: Xiang Xuerong, E-mail:cqzxfxp@sina.com

牙龈卟啉单胞菌表面的毒力因子脂多糖能刺激细胞分泌多种细胞因子,如 IL-6、IL-8[1]。IL-8 参与局部的炎症反应和牙周组织的破坏,表达水平与牙周炎的严重程度密切相关。因此,降低 IL-8 的表达可能是治疗牙周炎的有效途径之一。青藤碱(sinomenine,SIN)是从中药青风藤中提取的生物碱单体,它具有抗炎、免疫抑制、镇痛、降压、抗心律失常等药理作用[2-3]。刘良等[4]研究发现,青藤碱可抑制 IL-8 的表达,但其作用机制尚不清楚。本研究以牙龈卟啉单胞菌脂多糖刺激活化人牙龈成纤维细胞,观察青藤碱对人牙龈成纤维细胞 IL-8 表达的影响以及 NF-κB 信号转导通路中磷酸化-IκBα 蛋白、NF-κB p65 蛋白的表达变化,以了解青藤碱抗牙周炎的分子机制,为其临床应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

实验用牙龈卟啉单胞菌 ATCC33277 的 LPS 由加拿大拉瓦尔大学 Daniel Gfenier 教授惠赠,细胞质、细胞核蛋白提取试剂盒、BeyoECL Plus 波形丝蛋白多克隆抗体、角蛋白单克隆抗体(江苏碧云天公司);小牛血清、青霉素、链霉素、高糖 DMEM 培养液(美国 Gibco-BRL 公司);Trizol(上海生物工程有限公司);NF-κB P65 和 IκBα 抗体(美国 Santa Cruz 公司);IL-8 ELISA 试剂盒(深圳欣博盛公司);青藤碱(美国 Sigma 公司);NF-κB 抑制剂 Bay11-7085、TPCK(美国 Calbiochem 公司)。

1.2 人牙龈成纤维细胞的分离、培养

人牙龈成纤维细胞的原代培养及鉴定[5]:取临床上因正畸或阻生拔除的牙齿,无龋病及牙周病,牙龈组织取自牙乳头部位,剪成 1 mm×1 mm×1 mm,铺于 25 ml 的组织培养瓶内,加入含 200 ml/L 小牛血清、100 U/ml 青霉素、100 U/ml 链霉素、20 mmol/L Hepes 液的高糖 DMEM 培养液;瓶底向上,放入 37 ℃、5% CO_2 培养箱中,2 h 后翻转,继续培养,3 d 换 1 次液,细胞长满瓶底后用浓度为 2.5 g/L 的胰蛋白酶消化,按 1∶4 传代培养;采用免疫细胞化学染色鉴定人牙龈成纤维细胞。

1.3 细胞活力检测

将对数生长期的人牙龈成纤维细胞以 1.0×10^4/孔的密度接种于 96 孔板中,分为对照组、脂多糖组(用 1 μg/ml LPS 处理细胞 24 h)、青藤碱组(采用 25、50、100 μmol/L 的青藤碱处理细胞 24 h)、脂多糖+青藤碱组(用 1 μg/ml LPS 及浓度分别为 25、50、100 μmol/L 的青藤碱处理细胞 24 h),采用 MTT 法检测细胞活力。待细胞贴壁后,按 1.2 方法预处理细胞,弃去上清液。细胞经 PBS 洗后,将含 MTT(1 mg/ml)细胞培养液 100 μl 加入 96 孔板内,并将细胞放在 37 ℃孵箱里培养 4 h。移去上清液后,每孔加入 150 μl DMSO,用酶标仪在 490 nm 波长下检测光密度值。每孔细胞的活性用各组与对照组相比较的百分比表示。

1.4 上清液中 IL-8 表达的检测

将对照组、脂多糖组(1 μg/ml LPS 刺激细胞 24 h)、青藤碱组(用浓度分别为 25、50、100 μmol/L 的青藤碱处理细胞 24 h 后,吸去上清液,加入 1 μg/ml LPS 处理细胞 4 h)上清液收集在 EP 管内,13 000×g 离心,参照 ELISA 检测试剂盒说明书操作,检测上清液 IL-8 的含量。检测吸收波长为 450 nm,按标准曲线求出 IL-8 的浓度。每个样本设置 3 个复孔。

1.5 RT-PCR 检测 IL-8 mRNA 水平

按 Trizol 提取 mRNA 说明书,从对照组、脂多糖组、青藤碱组中提取总 RNA。然后采用分光光度计测 D(260)及 D(280)值确定 RNA 的浓度和纯度。然后按逆转录说明书将 mRNA 逆转录成 cDNA,逆转录条件为:在 42 ℃孵育 60 min,在 95 ℃孵育 5 min。PCR 的引物序列:IL-8 正义链:5′-TCTCAGCCCTCT-TCAAAAACTTCTC-3′,反义链:5′-ATGACTTCCAAGCTGGC-CGTGGCT-3′,片段大小为 292 bp;GAPDH 正义链:5′-CTCTCT-GCTCCTCCTGTTCGACAG-3′,反义链:5′-GTGGAATCATATTG-GAACATGT-3′,片段大小为 230 bp。PCR 反应体系为 50 μl,包括:5 μl 10×PCR buffer,33.5 μl H_2O,1 μl 正链引物,1 μl 反链引物。0.5 μl 的 *Taq* DNA polymerase (5 U/μl),4 μl dNTPs (2.5 mmol/L)。PCR 扩增条件:GAPDH:94 ℃ 30 s;54 ℃ 30 s;72 ℃ 1 min;23 个循环后,72 ℃延伸 5 min;IL-8:94 ℃ 30 s;60 ℃ 30 s;72 ℃ 1 min;30 个循环后 72 ℃延伸 5 min。取 PCR 产物用 1.2% 的聚丙烯酯胺凝胶进行电泳,紫外灯下观察 IL-8、GAPDH 条带并拍照。IL-8 mRNA 水平以特异性 IL-8 的灰度与 GAPDH 的灰度值之比表示。

1.6 核蛋白的提取以及 Western blot 检测蛋白水平

采用冰冷的 PBS 洗对照组、脂多糖组(1 μg/ml LPS 处理细胞 1 h)、青藤碱处理组(青藤碱处理细胞 24 h 后,吸取上清液,加入 1 μg/ml 的 LPS 处理细胞 1 h)细胞 2 次,加入 PBS 1 ml,并将细胞刮下,按试剂盒说明书提取总蛋白或者胞浆胞核蛋白,Bradford 法分析蛋白的含量。以 50 μg/孔上样,在 10% 的琼脂糖凝胶上电泳,将电转分离的蛋白电转到 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉封闭 1 h,一抗 4 ℃孵育过夜,PBST 洗 3 次,二抗 37 ℃孵育 1 h,ECL 发光显影。扫描后 Quantity one 进行灰度分析。

1.7 统计学分析

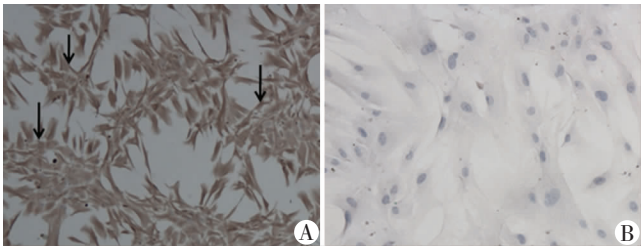
用 SPSS 11.5 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 t 检验及单因素方差分析。

2 结果

2.1 人牙龈成纤维细胞的培养及鉴定

原代培养的人牙龈成纤维细胞为梭形或星形,细胞质丰满,细胞核为圆形。有时可见少量的扁平多角形上皮样细胞,

但生长缓慢并逐渐消失,传至3~4代后,细胞即为纯化的梭形细胞,免疫细胞化学染色鉴定:表现为抗波形丝蛋白多克隆抗体阳性,抗细胞角蛋白阴性,证实细胞的间叶源性,而非上皮源性。见图1。

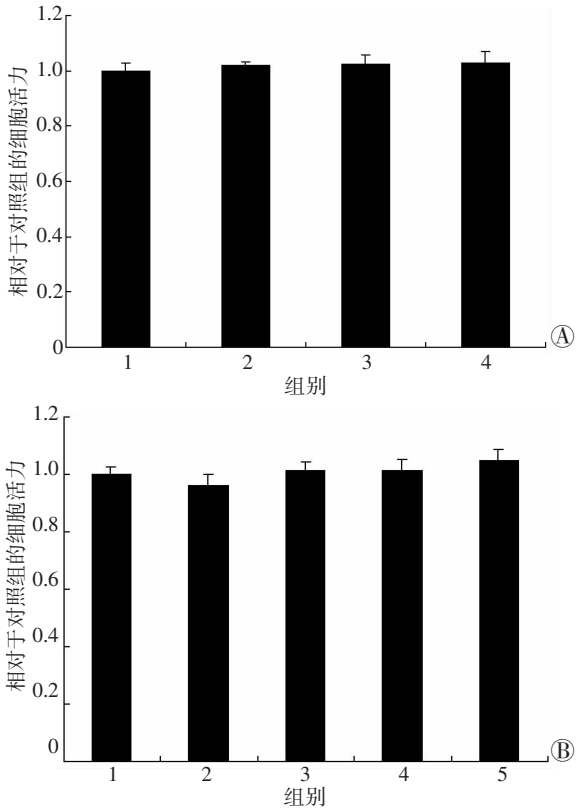


A:波形丝蛋白染色阳性 ↑:阳性细胞;B:角蛋白染色阴性

图1 免疫细胞化学染色鉴定人牙龈成纤维细胞 (SABC ×400)

2.2 青藤碱对人牙龈成纤维细胞活性的影响

MTT结果显示,细胞经脂多糖处理24 h后,人牙龈成纤维细胞的存活率为(95.0±3.5)%。不同浓度(25、50、100 μmol/L)的青藤碱预处理细胞24 h后,可增加脂多糖诱导的细胞的存活率。但与对照组比较,25、50、100 μmol/L青藤碱处理的细胞,细胞的活力差异无统计学意义($P>0.05$)。表明25、50、100 μmol/L的青藤碱对细胞没有明显毒性。见图2。

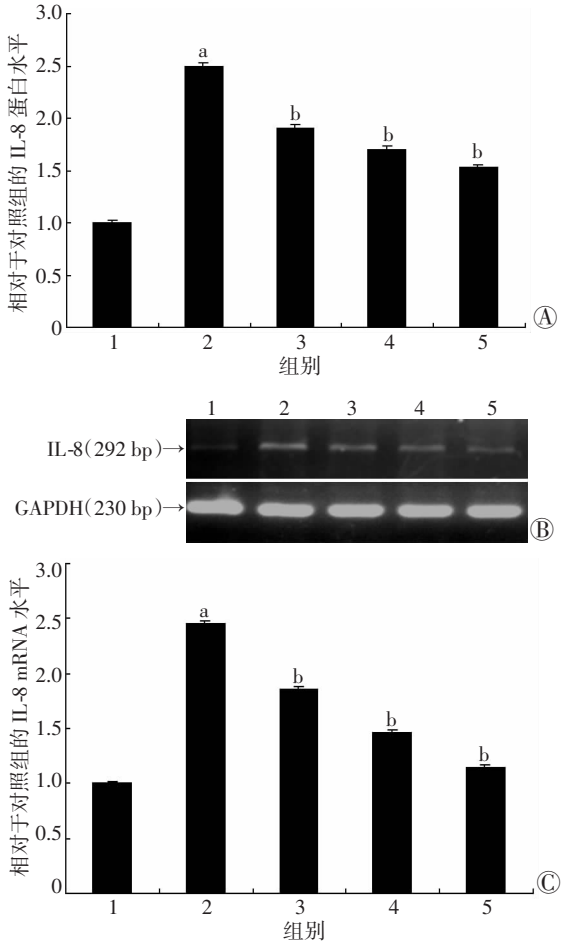


A:青藤碱对人牙龈成纤维细胞细胞活力的影响 1:对照组;2:25 μmol/L青藤碱组;3:50 μmol/L青藤碱组;4:100 μmol/L青藤碱组;B:脂多糖存在的条件下青藤碱对人牙龈成纤维细胞细胞活力的影响 1:对照组;2:脂多糖组;3:脂多糖(1 μg/ml)+青藤碱(25 μmol/L)组;4:脂多糖(1 μg/ml)+青藤碱(50 μmol/L)组;5:脂多糖(1 μg/ml)+青藤碱(100 μmol/L)组

图2 MTT检测青藤碱对人牙龈成纤维细胞细胞活力的影响

2.3 青藤碱对脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞IL-8表达的影响

采用RP-PCR及ELISA法检测炎症因子IL-8表达。结果显示,青藤碱呈浓度依赖性抑制LPS诱导的IL-8蛋白和mRNA水平的表达($P<0.05$),见图3。



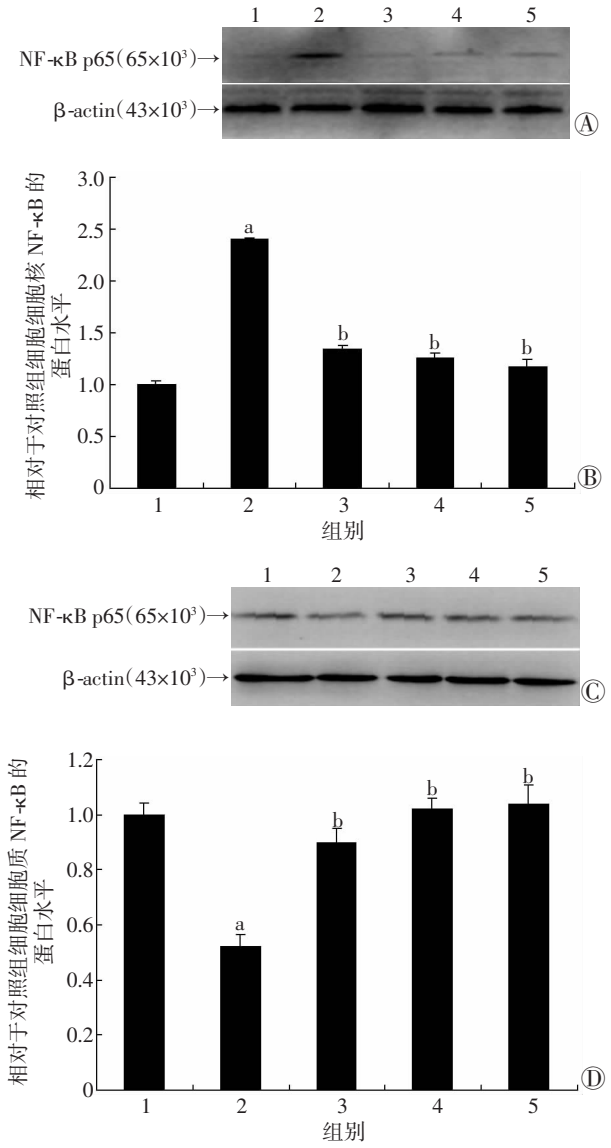
1:对照组;2:脂多糖组;3:脂多糖(1 μg/ml)+青藤碱(25 μmol/L)组;4:脂多糖(1 μg/ml)+青藤碱(50 μmol/L)组;5:脂多糖(1 μg/ml)+青藤碱(100 μmol/L)组;a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与脂多糖组比较

A:ELISA检测青藤碱对脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞IL-8蛋白水平的影响;B:RT-PCR检测青藤碱对脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞IL-8 mRNA水平的影响;C:青藤碱对脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞IL-8 mRNA水平的影响(灰度分析结果)

图3 青藤碱对脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞IL-8蛋白及mRNA水平表达的影响

2.4 青藤碱对脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞NF-κB核转位的影响

在脂多糖(1 μg/ml)处理细胞前用青藤碱(25、50、100 μmol/L)预处理细胞24 h,与脂多糖组比较,青藤碱基本上把NF-κB阻滞在细胞质中,而细胞经脂多糖处理1 h后,大部分NF-κB被转运到细胞核中,经100 μmol/L青藤碱处理的细胞质中NF-κB含量为脂多糖组的2倍。见图4。



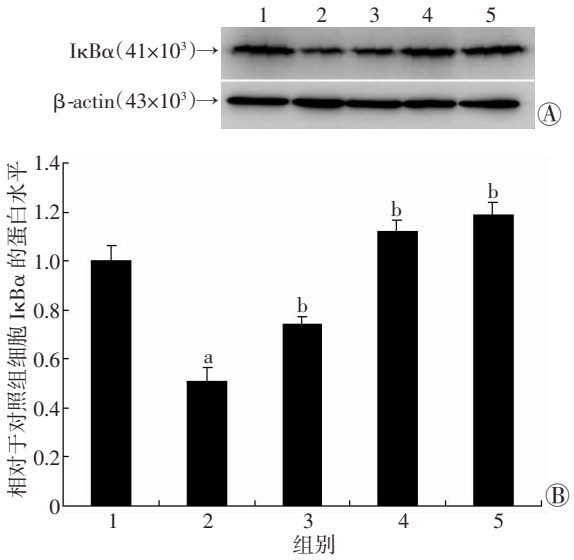
1:对照组;2:脂多糖组;3:脂多糖(1 μg/ml) + 青藤碱(25 μmol/L)组;4:脂多糖(1 μg/ml) + 青藤碱(50 μmol/L)组;5:脂多糖(1 μg/ml) + 青藤碱(100 μmol/L)组;a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与脂多糖组比较

A:Western blot 检测青藤碱对脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞细胞核 NF-κB 蛋白表达的影响;B:青藤碱对脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞细胞核 NF-κB 蛋白表达的影响(灰度分析结果);C:Western blot 检测青藤碱对脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞细胞质 NF-κB 蛋白表达的影响;D:青藤碱对脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞细胞质 NF-κB 蛋白表达的影响(灰度分析结果)

图 4 青藤碱对脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞 NF-κB 核转位的影响

2.5 青藤碱对脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞 IκBα 降解的影响

如图 5 所示,脂多糖处理细胞 1 h 后,50% 的 IκBα 降解。青藤碱预处理细胞后,呈浓度依赖性地抑制脂多糖诱导 IκBα 的降解。50 μmol/L 的青藤碱使脂多糖诱导 IκBα 的降解恢复到正常水平。



1:对照组;2:脂多糖组;3:脂多糖(1 μg/ml) + 青藤碱(25 μmol/L)组;4:脂多糖(1 μg/ml) + 青藤碱(50 μmol/L)组;5:脂多糖(1 μg/ml) + 青藤碱(100 μmol/L)组;a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与脂多糖组比较

A: Western blot 检测青藤碱对脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞 IκBα 降解的影响;B:灰度分析结果

图 5 青藤碱对脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞 IκBα 降解的影响

2.6 NF-κB 抑制剂对脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞 IL-8 蛋白表达的影响

加入 NF-κB 抑制剂 Bay11-7085(10 μmol/L)、TPCK(20 μmol/L)预处理细胞 24 h,再用 LPS 刺激细胞 4 h,按 ELISA 法检测上清液中 IL-8 蛋白的表达,将对照组 IL-8 表达量设为 1,脂多糖处理组 IL-8 表达量为对照组的 2.4 倍,但加入 NF-κB 抑制剂 Bay11-7085(10 μmol/L)、TPCK(20 μmol/L)后 IL-8 蛋白的表达量分别下降为对照组的 1.8 倍和 1.6 倍,表明 NF-κB 抑制剂对脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞 IL-8 蛋白表达有抑制作用。

3 讨论

本研究显示:①青藤碱可以抑制牙龈卟啉单胞菌脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞 IL-8 在蛋白以及 mRNA 水平的表达;②青藤碱抑制脂多糖诱导的 NF-κB 的核转位以及 IκBα 的降解;③NF-κB 抑制剂 Bay11-7085(10 μmol/L)、TPCK(20 μmol/L)可以有效抑制脂多糖诱导的 IL-8 蛋白的表达。我们推测青藤碱抑制脂多糖诱导的 IL-8 表达的具体通路可能是通

过抑制 NF-κB 的核转位以及 IκBα 的降解实现的。

炎症牙龈组织中存在 IL-8 的分泌，是龈沟液中 IL-8 的主要来源，IL-8 参与了牙周炎的病理过程。IL-8 在中性粒细胞的激活及聚集中起着重要的作用，IL-8 的过表达，会导致慢性炎症组织的破坏[6]。IL-8 水平的量变在一定程度上反映了慢性牙周炎的严重程度，牙周状况愈健康，IL-8 浓度愈低[7]。研究显示，作为牙周组织主要组成细胞的成纤维细胞，在牙龈卟啉单胞菌脂多糖刺激下可短暂或持续性增强 IL-8 的分泌，引发初始的局部炎症反应，从而为炎症细胞的趋化和浸润提供了基础[8]。本研究结果表明，青藤碱可浓度依赖性地抑制牙龈卟啉单胞菌脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞 IL-8 蛋白及 mRNA 的表达，说明青藤碱有抗牙周炎症的作用。有研究发现，细胞膜上的 TLR4 识别牙龈卟啉单胞菌相关组分后，导致转录因子 NF-κB 的早期激活，促进炎症因子的表达[1,9]。当细胞受到各种刺激原作用时，IκBα 降解从而使 NF-κB 与 IκBα 发生解离，并迅速从细胞质易位到细胞核，在细胞核内与相应基因上的 κB 位点发生特异性的结合，调控细胞因子、化学趋化因子、黏附分子等相关基因的表达。本研究结果显示，牙龈卟啉单胞菌脂多糖(1 μg/ml)可诱导人牙龈成纤维细胞 NF-κB 的核转位，且诱导 IκBα 的降解，但青藤碱在对细胞没有毒性的浓度范围内，可以剂量依赖性地抑制 NF-κB 的核转位以及 IκBα 的降解。

有数据显示青藤碱能对抗 LPS 诱导的脂质过氧化及炎性损伤，提高软骨细胞的超氧化物歧化酶活性，提高氧自由基清除水平，对软骨细胞具有保护作用[10]。青藤碱能抑制类风湿关节炎炎性细胞黏附，可以抑制缺血及再灌注损伤[11-12]，尽管有很多关于青藤碱阻止一些慢性疾病发生的文献报道，青藤碱在人牙龈成纤维细胞功能方面的作用还少有报道。因此，我们研究了青藤碱对 NF-κB/IκBα 通路的影响，以期确定青藤碱对人牙龈成纤维细胞保护作用的具体机制。结果表明青藤碱可能通过抑制脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞 NF-κB 的激活，最终降低 IL-8 的表达，从而达到抗牙周炎的作用。

牙周炎是我国成年人牙缺失的首要原因。发现针对 NF-κB/IκBα 信号通路作用的药物，可能是防治牙周炎的有效途径之一。青藤碱抑制 IL-8 在蛋白和 mRNA 转录水平上的表达，这种显著的抗炎效应可能是其在防止牙周炎发生、发展方面发挥作用的重要因素之一。本研究结果揭示了牙龈卟啉单胞菌脂多糖可能通过 NF-κB/IκBα 通路诱导人牙龈成纤维细胞 IL-8 表达，同时也发现青藤碱可能通过 NF-κB/IκBα 通路抑制牙龈卟啉单胞菌脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞 IL-8 的表达，最终发挥抗牙周炎的作用。

参考文献：

[1] Inomata M, Into T, Murakami Y. Suppressive effect of the antimicrobial peptide LL-37 on expression of IL-6, IL-8 and CXCL10 induced by Porphyromonas gingivalis cells and extracts in human gingival fibroblasts[J]. Eur J Oral Sci, 2010, 118(6): 574-581.

[2] 刘剑平，卢来春，张国元，等. 青藤碱对狼疮鼠外周血 IL-10、TNF-α、抗 dsDNA 抗体表达的影响[J]. 第三军医大学学报，2010，32(8)：856-858.

[3] 周素娴，苏珂，于健，等. 青藤碱对糖尿病大鼠脑缺血再灌注损伤 P-选择素和细胞间黏附分子-1 表达的影响[J]. 时珍国医国药，2009，20(7)：1593-1595.

[4] 刘良，李晓娟，王培训，等. 青藤碱对人外周血单个核细胞 IL-1β 和 IL-8 细胞因子基因表达的影响[J]. 中国免疫学杂志，2002，18(4)：241-244.

[5] 贾晓真，樊明文，陈智. LPS 刺激牙龈成纤维细胞 IL-6、IL-8 的产生和膜表面受体 CD14 的表达[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志，2002，12(4)：201-205.

[6] Mahanonda R, Sa-Ard-Iam N, Montreekachon P, *et al*. IL-8 and IDO expression by human gingival fibroblasts *via* TLRs[J]. J Immunol, 2007, 178(2): 1151-1157.

[7] 朱治宇，刘国勤. 慢性牙周炎治疗前后患牙龈沟液中 IL-8 和 TNF-α 水平变化比较[J]. 细胞与分子免疫学杂志，2010，26(11)：1111-1112，1115.

[8] 陈云芳，严杰，张迪亚，等. 牙龈卟啉单胞菌脂多糖诱导不同细胞分泌炎性细胞因子的差异性[J]. 浙江大学学报：医学版，2008，37(6)：623-628，633.

[9] Jotwani R, Moonga B S, Gupta S, *et al*. Nuclear factor-kappaB p50 subunits in chronic periodontitis and Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide-pulsed dendritic cells[J]. Ann N Y Acad Sci, 2010, 1192: 278-285.

[10] 刘维，吴沅暾. 青藤碱对炎性刺激下体外培养关节软骨细胞的保护作用[J]. 国际免疫学杂志，2011，34(5)：309-312.

[11] 肖涟波，欧阳桂林，张新文，等. 青藤碱对类风湿关节炎患者滑膜细胞与炎性细胞黏附作用的研究[J]. 中国基层医药，2010，17(3)：410-412.

[12] 王博，徐达，王锡智，等. 青藤碱减轻小鼠肾脏缺血再灌注损伤[J]. 中华器官移植杂志，2011，32(2)：73-77.

（**收稿**：2012-03-31；**修回**：2012-05-02）

（编辑　张　维）