DOI:10.16016/j.2097-0927.202109056

信筒子醌对系统性红斑狼疮小鼠免疫调节和治疗作用

沈 洁[1],张梦雨[1],郭振涛[2],韩士浩[1],李海涛[1],周正扬[1],彭美玉[1] 261053 山东 潍坊,潍坊医学院:基础医学院免疫学教研室[1],附属医院肾内科[2]

[摘要] **目的** 观测信筒子醌(Embelin)对系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)小鼠的免疫调节,探讨其对 SLE 的治疗作用及其机制。**方法** 腹腔注射 0.5 mL 降植烷(pristane)构建 SLE 小鼠模型,检测小鼠尿蛋白水平确认建模成功。将建模成功的 SLE 小鼠分为对照组和 Embelin 组,每组 5 只;对照组采用 1% DMSO+PBS 灌胃,Embelin 组采用 50 mg/kg Embelin 灌胃,100 μL/次,每周 3 次。灌胃治疗 1 个月后,检测淋巴结大小、脾脏指数、肾脏指数,HE 染色观察肾脏病理学改变,ELISA 法测定血清 dsDNA、ssDNA、IgG 浓度,流式细胞仪检测 Th 细胞亚群和 B 细胞活化指标。**结果** 与对照组比较,Embelin 组 SLE 小鼠淋巴结大小、脾脏指数、肾脏指数、肾小球平均面积均明显降低($P<0.01$);Th1/Th2、Treg/Th17 比率明显升高($P<0.05$),B 细胞的 CD69、CD86、MHC-Ⅱ和 Th 细胞的 CD69、CD154 表达水平均明显降低($P<0.05$);血清中 dsDNA、ssDNA 和 IgG 浓度均明显降低($P<0.01$)。**结论** Embelin 通过调节 Th 细胞亚群平衡,抑制 Th 和 B 细胞的活化,从而发挥对 SLE 小鼠的治疗作用。

[关键词] 信筒子醌;系统性红斑狼疮;Th1/Th2;Treg/Th17;Th 细胞活化;B 细胞活化
[中图法分类号] R285.6; R392.3; R593.24 [文献标志码] A

Immunomodulatory and therapeutic effects of embelin on systemic lupus erythematosus mice

SHEN Jie[1], ZHANG Mengyu[1], GUO Zhentao[2], HAN Shihao[1], LI Haitao[1], ZHOU Zhengyang[1], PENG Meiyu[1]
[1]Department of Immunology, Basic Medical College; [2]Department of Nephrology, Affiliated Hospital, Weifang Medical University, Weifang, Shandong Province, 261053, China

[**Abstract**] **Objective** To observe the immune regulation of embelin against systemic lupus erythematosus (SLE) in mice, so as to investigate its therapeutic effects on SLE and the possible mechanism. **Methods** The mouse model of SLE was established by intraperitoneal injection of 0.5 mL pristane, and urine protein level was detected to confirm the success of modeling. SLE mice then were randomly divided into control group and embelin group ($n=5$ for each group). The embelin group was given embelin 50 mg/kg by intragastric gavage, 100 μL/time, 3 times a week, while the control group was treated with 1% DMSO+PBS instead. After 1 month of administration, the lymph node size, spleen index and renal index of the mice were measured. The renal pathological changes were observed by HE staining; the serum concentrations of dsDNA, ssDNA and IgG were determined by ELISA; the Th cell subsets and B cell activation indexes were detected by flow cytometry. **Results** As compared with the control group, the embelin group had significantly reduced lymph node size, spleen index, kidney index, and mean glomerular area ($P<0.01$), while elevated ratios of Th1/Th2 and Treg/Th17 ($P<0.05$). As for the activation markers, the expression levels of CD69, CD86, MHC-Ⅱ in B cells and CD69, CD154 in Th cells were all obviously decreased ($P<0.05$). In addition, embelin treatment remarkably lowered the concentrations of dsDNA, ssDNA and IgG in serum ($P<0.01$). **Conclusion** Embelin plays a therapeutic role in SLE mice by regulating the balance of Th cell subsets and inhibiting the activation of Th and B cells.

[基金项目] 山东省大学生创新创业训练计划项目(国家级项目)(202110438129);山东省重点研发计划(公益类科技攻关)(2019GSF108044)
[通信作者] 彭美玉,E-mail:pmy-107@163.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

[**Key words**] embelin; systemic lupus erythematosus; ratio of Th1/Th2; ratio of Treg/Th17; Th cell activation; B cell activation

Supported by the Project of Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students in Shandong Province (National project) (202110438129) and the Project of Key Research and Development Plan of Shandong Province (Public Welfare Science and Technology Tackling) (2019GSF108044).
Corresponding author: PENG Meiyu, E-mail: pmy-107@163.com

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus,SLE)是在遗传、激素、感染、环境等综合因素作用下的一种自身免疫病,易导致机体多系统的损害[1-2]。目前,糖皮质激素、抗疟药、免疫抑制剂是SLE的主要治疗药物[3-5]。其中,免疫抑制药可更好地控制SLE活动,有利于减少SLE的暴发和激素的用量,但是免疫抑制剂对免疫系统作用缺乏选择性,长期使用会增加感染风险[6-7]。因此,筛选出更有效的具有免疫调控作用的药物,可为临床研发SLE治疗新药奠定基础。

信筒子醌(Embelin)是从白花酸藤果中提取的一种苯醌类化合物。研究证明,Embelin及其衍生物在中枢神经系统疾病、胰腺癌、乳腺癌、前列腺癌、结肠炎、皮炎中具有镇痛、抗炎、抗癌、抗菌、抗氧化、抗糖尿病等作用[8-9]。课题组前期研究发现,在实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis,EAE)小鼠模型中,Embelin可通过降低Th1和Th17细胞的浸润抑制小鼠EAE的发病[10];在小鼠胰腺癌模型中,Embelin通过抑制IL-6的分泌而降低骨髓来源的抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cells,MDSCs)、Treg、Th1和Th17细胞的浸润[11]。但目前Embelin对SLE的治疗作用及其机制尚不清楚。本研究构建降植烷(pristane)诱导的SLE小鼠模型,观察Embelin对Th1/Th2、Treg/Th17细胞平衡的调节和对Th细胞、B细胞活化的影响,以探讨Embelin对SLE的治疗作用。

1 材料与方法

1.1 材料

6~8周龄SPF级近交系BALB/c雌性小鼠15只(No.1107262011002445,济南朋悦实验动物繁育有限公司),饲养于通风、温度(23±2)℃、相对湿度为(55±15)%的环境内。实验按照潍坊医学院动物伦理要求进行。

主要试剂:Embelin(武汉凯威斯公司),pristane(Sigma公司),尿蛋白试纸(广州市花都高尔宝生物技术有限公司),小鼠淋巴细胞分离液(天津灏洋公司),大鼠抗小鼠流式抗体:PerCP偶联CD3单克隆抗体、APC-H7偶联CD4单克隆抗体、FITC偶联CD69单克隆抗体、APC偶联CD154(CD40L)单克隆抗体、APC偶联CD19单克隆抗体、PE偶联CD86单克隆抗体、FITC偶联CD69单克隆抗体、BV421偶联IA(b)(MHC-Ⅱ)单克隆抗体、PE-cy7偶联IL-4单克隆抗体、BV421偶联IL-17A单克隆抗体、FITC偶联IFN-γ单克隆抗体(BD公司),FITC偶联CD4单克隆抗体、APC偶联CD25单克隆抗体、PE偶联Foxp3单克隆抗体(eBioscience公司),小鼠抗dsDNA抗体ELISA试剂盒(Cusabio公司),小鼠抗ssDNA抗体ELISA试剂盒(Cusabio公司),小鼠IgG检测ELISA试剂盒(Cloud-Clone Corp公司)。

1.2 方法

1.2.1 pristane诱导SLE模型的建立 按照文献[12]制作相关模型,15只小鼠单次腹腔注射0.5 mL pristane诱导SLE模型。每周用尿蛋白试纸测量并记录小鼠尿蛋白情况。

1.2.2 分组和Embelin治疗 pristane诱导3个月后,将尿蛋白为++~+++的10只小鼠分为两组。Embelin组:小鼠给予Embelin(50 mg/kg)灌胃,对照组:小鼠给予溶剂(1% DMSO+PBS)灌胃;100 μL/次,每周3次。Embelin组剂量参照文献[9-11,13]确定。每周称量小鼠体质量,用尿蛋白试纸检测小鼠尿蛋白水平。灌胃治疗1个月后,CO_2窒息法处死小鼠,收集小鼠血液、脾脏、肾脏和主要淋巴结(包括腹部、肠系膜、腹股沟、颈部、腋窝淋巴结),并计算脏器系数。

脏器系数=脏器质量(g)/体质量(g)×100%

1.2.3 肾脏组织学评估 剥离肾脏,固定在4%的多聚甲醛中过夜,脱水嵌入石蜡,切片(4 μm),苏木精-伊红(HE)染色,封片。

1.2.4 免疫细胞比例检测 将脾脏和淋巴结剪碎,40 μm筛网研磨过滤调整细胞数为1×10^6/mL,每检测管分别加入100 μL细胞悬液。T、B细胞表面标志检测:分别加入CD3-PerCP、CD4-APC-H7、CD69-FITC、CD154-APC、CD19-APC、CD86-PE、CD69-FITC、IA(b)-BV421抗体,4 ℃避光孵育30 min,流式细胞仪检测。Treg细胞检测:加入CD4-FITC、CD25-APC抗体表染,4 ℃避光孵育30 min,洗涤,固定透膜,加入抗小鼠CD16/32抗体封闭15 min后加Foxp3-PE,4 ℃避光孵育30 min,流式细胞仪检测。Th细胞亚群检测:将分离的小鼠脾脏和淋巴结细胞加入Leukocyte Activation

Cocktail(BD 公司)刺激 5 h 后收集细胞,加入 CD3-PerCP 和 CD4-APC-H7 抗体进行表面标记染色,固定透膜,加抗小鼠 CD16/32 抗体封闭 15 min 后加 IL-4-PE-cy7、IL-17A-BV421、IFN-γ-FITC 抗体或同型对照抗体,4 ℃避光孵育 30 min,流式细胞仪检测。

1.2.5　血清抗体浓度检测　　CO_2 窒息法处死小鼠后,心脏取血,分离血清,置于-20 ℃保存备用。按照 ELISA 说明书测定血清抗 ds-DNA 抗体、抗 ss-DNA 抗体、IgG 抗体含量,测量 450 nm 处的光密度值 $D(450)$。

1.3　统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件,治疗前后主要指标的比较以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较用 Student's t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$。

2　结果

2.1　Pristane 诱导的 SLE 小鼠模型情况

如表 1 所示,Pristane 诱导小鼠 1 个月时,11 只小鼠出现尿蛋白;3 个月时,15 只小鼠全部出现尿蛋白,其中尿蛋白++的小鼠 4 只,尿蛋白+++的小鼠 7 只。选择 10 只尿蛋白为++~+++的小鼠分为两组,每组包括 2 只尿蛋白++和 3 只尿蛋白+++的小鼠。

表 1　Pristane 诱导小鼠尿蛋白监测情况

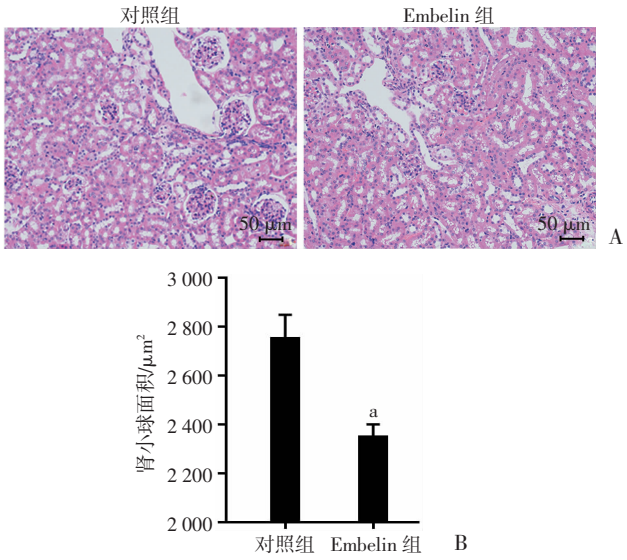
造模时间	小鼠/只	尿蛋白情况					
		−	+	+~++	++	+++	++++
1 个月	15	4	9	2			
2 个月	15		4	6	5		
3 个月	15		1	3	4	7	

2.2　Embelin 减轻 SLE 小鼠肾脏损伤情况

Embelin 治疗 1 个月后,与对照组比较,肾小球肿大现象明显改善(图 1A),肾小球平均面积减小($P<0.01$,图 1B),小鼠蛋白尿水平升高程度受到抑制(表 2)。

表 2　两组治疗过程中小鼠尿蛋白监测情况

时间	组别	n	尿蛋白情况			
			+	++	+++	++++
治疗前	对照组	5		2	3	
	Embelin 组	5		2	3	
治疗 1 周后	对照组	5		2	3	
	Embelin 组	5		3	2	
治疗 2 周后	对照组	5		2	3	
	Embelin 组	5		4	1	
治疗 3 周后	对照组	5		1	4	
	Embelin 组	5	2	2	1	
治疗 4 周后	对照组	5		1	3	1
	Embelin 组	5	2	3		

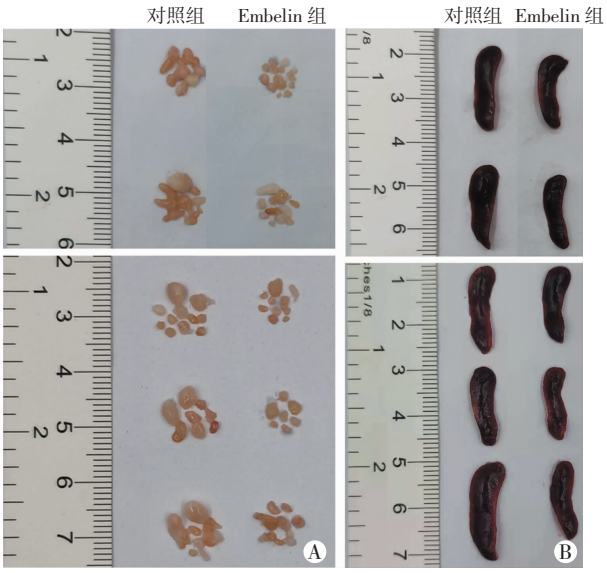


A:HE 染色观察肾组织病理学变化;B:平均肾小球面积分析　a:$P<0.01$,与对照组比较

图 1　信筒子醌对 SLE 小鼠肾组织病理学的改变

2.3　Embelin 减小 SLE 小鼠淋巴结、脾脏肿大情况

与对照组比较,Embelin 治疗后小鼠淋巴结明显变小(图 2A);脾脏变小(图 2B),且其指数明显降低[Embelin 组:(0.33±0.05)%,对照组:(0.52±0.08)%,$P<0.01$];同时,肾脏指数也明显降低[Embelin 组:(1.33±0.11)%,对照组:(1.59±0.09)%,$P<0.01$]。



A:淋巴结;B:脾脏

图 2　SLE 小鼠淋巴结和脾脏大体观

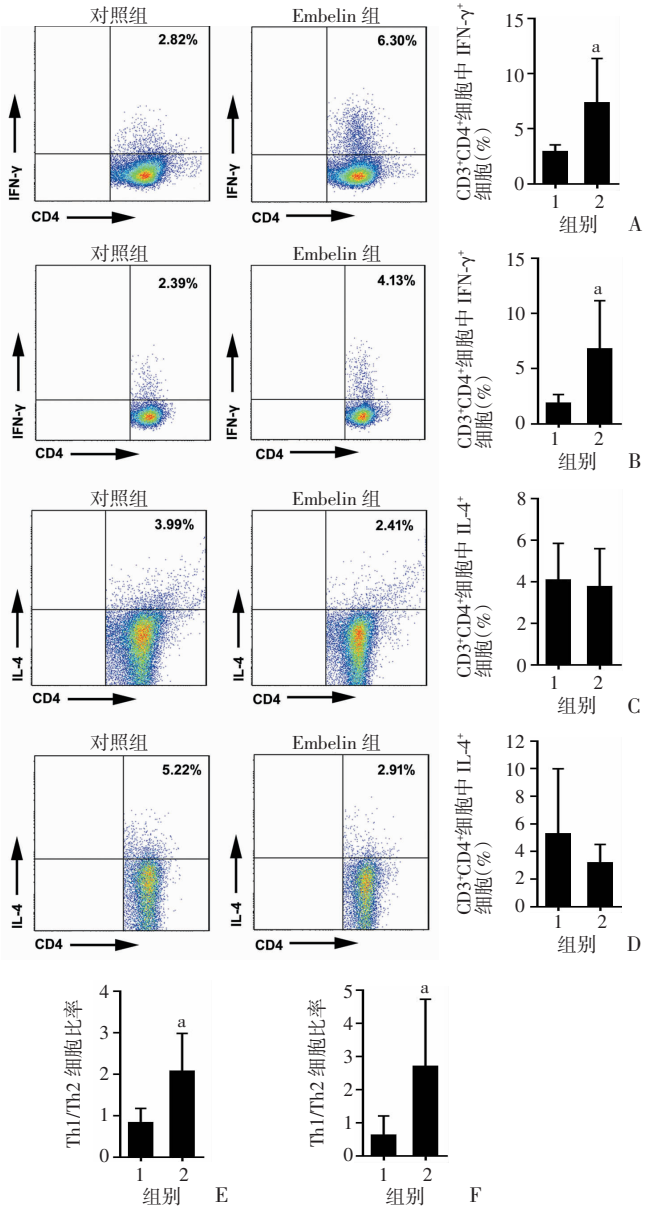
2.4　Embelin 调控 SLE 小鼠 Th1/Th2 细胞平衡

流式细胞仪检测 Th1、Th2 细胞比例变化(Th1:$CD3^+CD4^+IFN\text{-}\gamma^+$;Th2:$CD3^+CD4^+IL\text{-}4^+$)。与对照组比较,Embelin 治疗后小鼠淋巴结和脾脏中 Th1 比例明

显增加($P<0.05$,图 3A、B);淋巴结和脾脏中 Th2 细胞比例差异无统计学意义($P>0.05$,图 3C、D);但是淋巴结和脾脏中 Th1/Th2 均明显升高($P<0.05$,图 3E、F)。

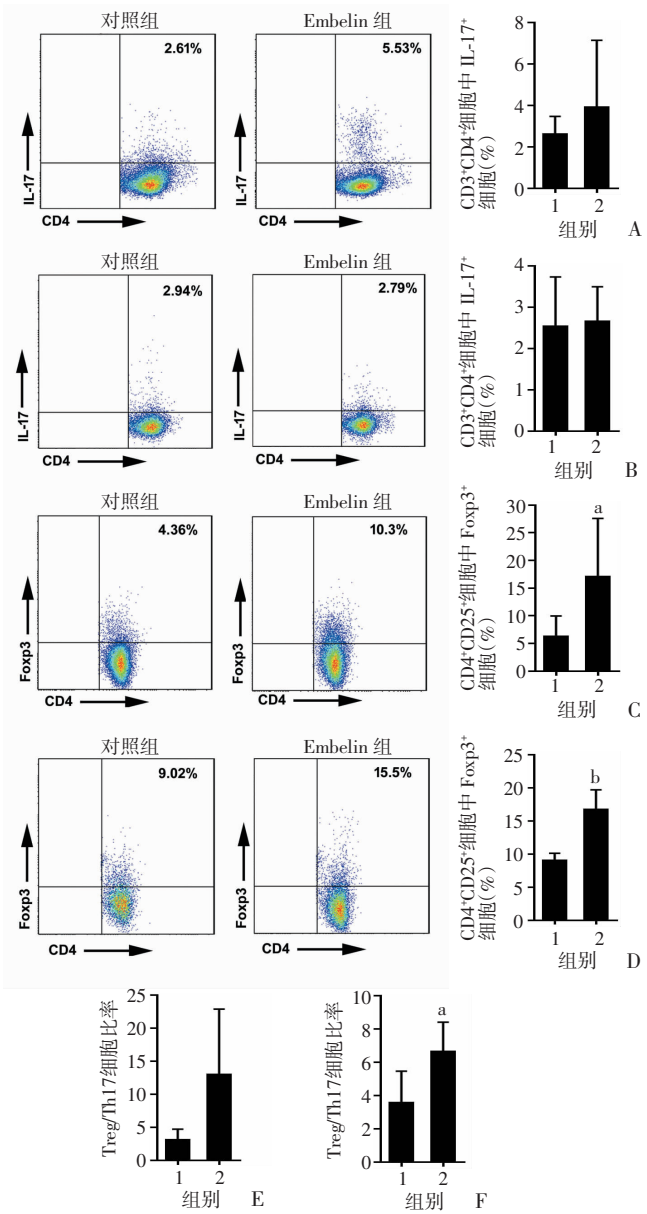
2.5　Embelin 调控 SLE 小鼠 Treg/Th17 细胞平衡

流式细胞仪检测 Th17、Treg 细胞比例变化(Th17:$CD3^+CD4^+IL\text{-}17^+$;Treg:$CD4^+CD25^+Foxp3^+$)。与对照组比较,Embelin 治疗后小鼠淋巴结和脾脏中的 Th17 细胞比例差异无统计学意义($P>0.05$,图 4A、B);但是淋巴结和脾脏中的 Treg 细胞比例均明显增加($P<0.05$,图 4C、D);淋巴结中 Treg/Th17 比率差异无统计学意义($P>0.05$,图 4E);脾脏中 Treg/Th17 明显升高($P<0.05$,图 4F)。



A:小鼠淋巴结 Th1 细胞比例变化;B:小鼠脾脏 Th1 细胞比例变化;C:小鼠淋巴结 Th2 细胞比例变化;D:小鼠脾脏 Th2 细胞比例变化;E、F:小鼠淋巴结(E)和脾脏(F)中 Th1/Th2 细胞比率变化　a:$P<0.05$,与对照组比较

图 3　Embelin 对小鼠淋巴结和脾脏中 Th1、Th2 细胞比例的影响



A:小鼠淋巴结 Th17 细胞比例变化;B:小鼠脾脏 Th17 细胞比例变化;C:小鼠淋巴结 Treg 细胞比例变化;D:小鼠脾脏 Treg 细胞比例变化;E、F:小鼠淋巴结(E)和脾脏(F)中 Treg/Th17 细胞比率变化　a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与对照组比较

图 4　Embelin 对小鼠淋巴结和脾脏中 Th17、Treg 细胞比例的影响

2.6　Embelin 抑制 B 细胞的活化

流式细胞仪检测 B 细胞表面活化标志 CD69、CD86、MHC-Ⅱ 表达情况[$CD19^+CD69^+$;$CD19^+CD86^+$;$CD19^+$ IA(b)$^+$],以探讨 Embelin 对 B 细胞活化能力的影响。与对照组比较,Embelin 组小鼠淋巴结和脾脏中 B 细胞表面的 CD69 表达水平明显降低($P<0.01$,图 5A、B);CD86 的表达水平也明显降低($P<0.01$,图 5C、D);MHC-Ⅱ 的平均荧光强度也明显降低($P<0.01$,图 5E、F)。

2.7　Embelin 抑制 B 细胞分泌抗体功能

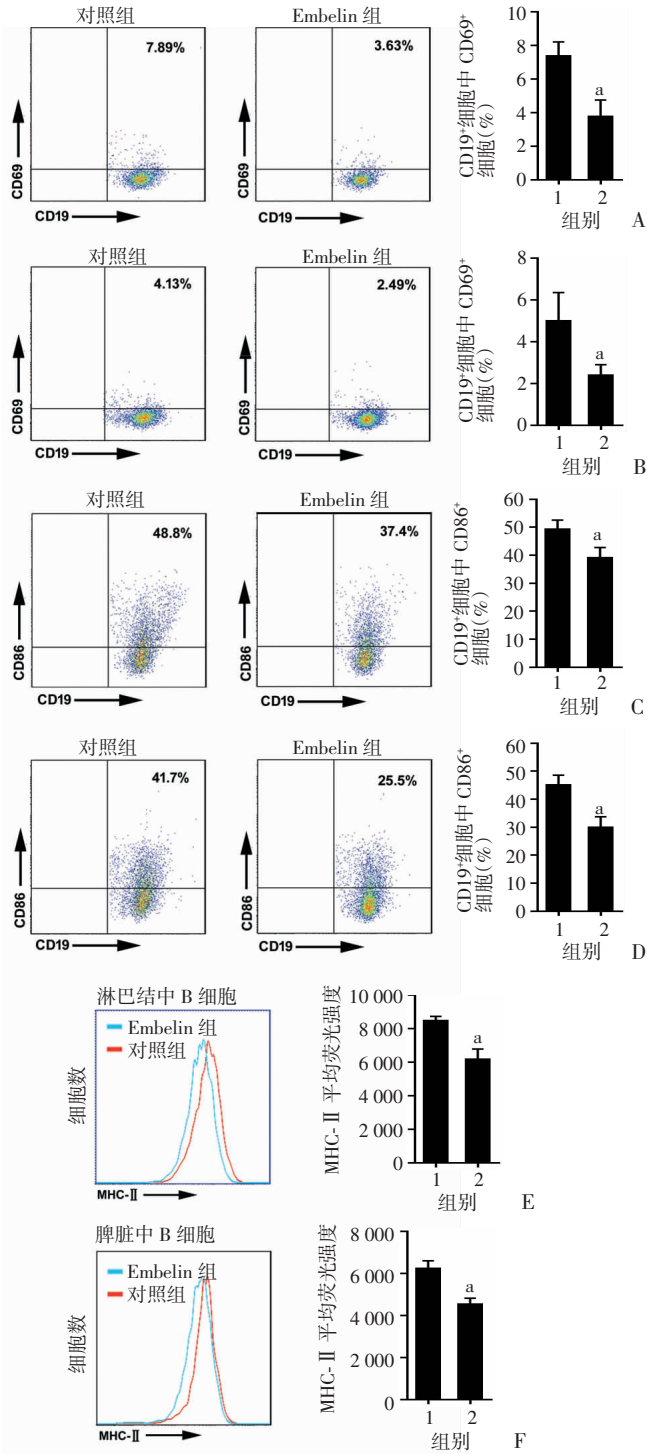
ELISA 法检测血清中抗 dsDNA 抗体、抗 ssDNA 抗体和 IgG 含量的变化,以探讨 Embelin 对 B 细胞分泌自身抗体功能的影响。与对照组比较,Embelin 治疗后小鼠血清中抗 dsDNA 抗体浓度降低($P<0.01$,图 6A);IgG 的浓度明显降低($P<0.01$,图 6B);抗 ssDNA 抗体的光密度值也明显降低($P<0.01$,图 6C)。

2.8　Embelin 抑制 Th 细胞活化

流式细胞仪检测 Th 细胞表面活化标志 CD69、CD154(CD40L)表达情况,以探讨 Embelin 对 Th 细胞活化能力的影响。与对照组比较,Embelin 组淋巴结和脾脏中 Th 细胞表面 CD69 的表达水平明显降低($P<0.01$,图 7A、B);淋巴结中 $CD69^+$Th 细胞表面的 CD154 表达水平差异无统计学意义($P>0.05$,图 7C);脾脏中 $CD69^+$Th 细胞表面的 CD154 表达水平也明显降低($P<0.05$,图 7D)。

3　讨论

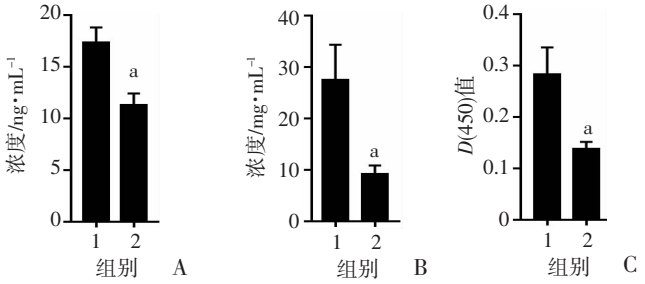
SLE 的突出表现为自身免疫耐受的破坏和血清中出现大量自身抗体。自身抗体与自身抗原结合后形成的免疫复合物沉积在组织中可通过激活补体,促进趋化因子等细胞因子的表达而募集炎症细胞浸润,引起组织炎症反应,最终导致器官受损,以病变累及肾脏为主要特点。目前,SLE 小鼠模型基本可分为 3 类:自发性、诱发性和基因调控模型。自发性模型是在自然情况下发生的,虽然与人类 SLE 发病机制和临床症状更为相似,但由于其发病较晚,周期长,且不易控制实验过程等原因有其局限性;SLE 基因调控小鼠模型是近年新应用的模型,但由于其价格较高且受品系限制等原因短期内无法普及;而诱发性模型由于其发病较早、实验过程易控制、经济适用等优点而应用最广泛。



1:对照组;2:Embelin 组

A:小鼠淋巴结 B 细胞表面 CD69 表达水平;B:小鼠脾脏 B 细胞表面 CD69 表达水平;C:小鼠淋巴结 B 细胞表面 CD86 表达水平;D:小鼠脾脏 B 细胞表面 CD86 表达水平;E:小鼠淋巴结 B 细胞表面 MHC-Ⅱ 表达水平;F:小鼠脾脏 B 细胞表面 MHC-Ⅱ 表达水平　a:$P<0.01$,与对照组比较

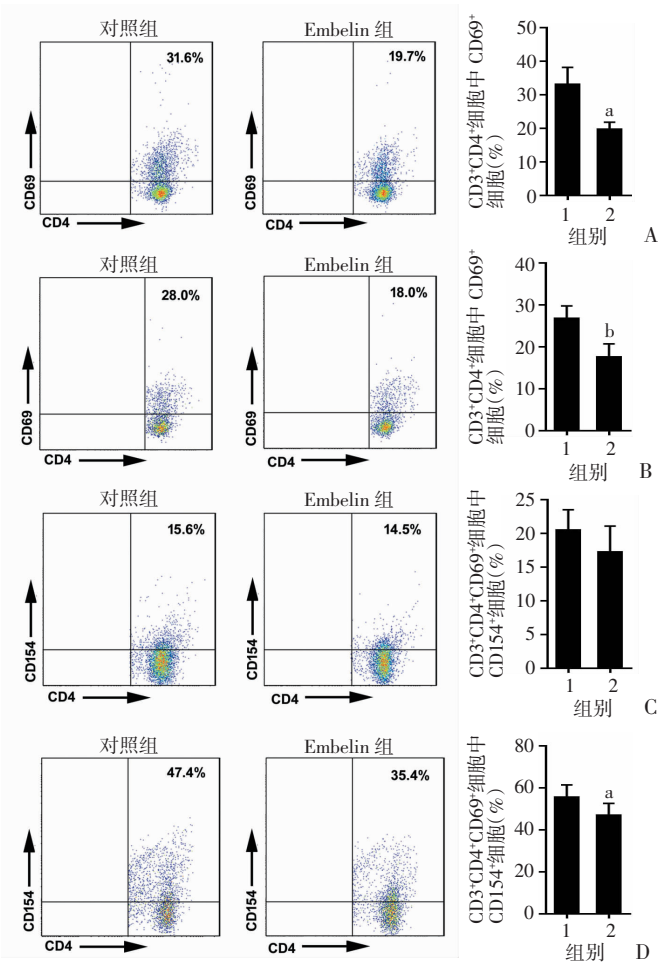
图 5　Embelin 对小鼠淋巴结和脾脏中 B 细胞表面活化标志表达水平的影响



1：对照组；2：Embelin 组

A：小鼠血清 dsDNA 抗体含量变化；B：小鼠血清 IgG 抗体含量变化；C：小鼠血清 ssDNA 抗体含量变化 a：$P<0.01$，与对照组比较

图 6 Embelin 对小鼠血清中抗体含量的影响



1：对照组；2：Embelin 组

A：小鼠淋巴结 T 细胞表面 CD69 表达水平；B：小鼠脾脏 T 细胞表面 CD69 表达水平；C：小鼠淋巴结 $CD69^+$Th 细胞表面 CD154 表达水平；D：小鼠脾脏 $CD69^+$ Th 细胞表面 CD154 表达水平 a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与对照组比较

图 7 Embelin 对小鼠淋巴结和脾脏中 T 细胞表面活化标志表达水平的影响

国内外研究较多的诱发性 SLE 小鼠模型有多种，包括慢性移植物抗宿主病（chronic graft-versus-host disease，cGVHD）模型、肽诱发的模型、烃类化合物诱发的模型等。多种烃类化合物可以诱导小鼠自身抗体的产生，其中 pristane 是目前研究较多且最成功的一种，各品系小鼠均能诱导成功。该方法只需一次性腹腔注射 0.5 mL pristane，1 个月后小鼠可陆续出现各种自身抗体，如抗 dsDNA、抗 Sm 等；6 个月后大部分小鼠肾脏病变出现，表现为免疫复合物性肾小球肾炎、典型狼疮病变形成[14]。因此，本研究选用该模型探讨 Embelin 对 SLE 小鼠的免疫调节和治疗作用。结果显示，Embelin 可明显改善 SLE 小鼠肾小球损伤情况（图 1），降低尿蛋白水平（表 2），缓解淋巴结、脾脏和肾脏肿大（图 2）。因此，可以确定 Embelin 对 SLE 小鼠有治疗作用。

SLE 的发生与 T、B 淋巴细胞异常活化有关[15]。研究表明，活动期 SLE 患者外周血中的 B 细胞表面异常高表达 CD40 和 B7（CD80/CD86）分子，与疾病的严重性及抗 dsDNA 水平的升高相关[16-17]。活化 Th 细胞通过其表面的 CD40L 与 B 细胞表面的 CD40 结合为 B 细胞的活化提供第二活化信号。活化后的 B 细胞分化为浆细胞，浆细胞可合成分泌抗体。本研究发现，Embelin 治疗后，可明显抑制小鼠脾脏和淋巴结中 Th 细胞表面活化标志 CD69、CD154（CD40L）的表达水平，同时 B 细胞表面活化标志 CD69、CD86、MHC-Ⅱ的表达水平也明显下降。表明 Embelin 可抑制 Th 和 B 细胞的活化，可能是 Embelin 可改善 SLE 肾脏损伤情况的机制之一。

初始 Th 细胞在不同细胞因子的作用下可分化为 Th1、Th2、Th17 和 Treg 等亚群，不同 Th 细胞分泌的细胞因子和发挥的免疫作用不尽相同。Th 细胞分泌细胞因子之间的失衡在 SLE 的发生、发展过程中起重要作用，其中 Th1/Th2 失衡在 SLE 中起着决定性的作用[18-20]，与器官受累情况、疾病本身严重程度密切相关。Th1 细胞主要分泌 IL-2、IFN-γ，介导细胞免疫应答；Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-10，介导体液免疫应答。活化 Th2 细胞一方面可通过其表面的 CD40L 直接与 B 细胞表面的 CD40 结合而辅助 B 细胞活化，另一方面，Th2 细胞通过产生细胞因子协助、促进 B 细胞增殖、分化为浆细胞产生抗体。活动性 SLE 表现为 Th1 细胞功能、数量的下降，并伴随 Th2 细胞数量、功能的亢进，从而出现 B 细胞过度活化，产生多种自身抗体[21]。研究表明，SLE 小鼠 Th1/Th2 比例降低，而用甘草酸或地塞米松治疗后，Th1/Th2 比例升高[22]。Th17 主要分泌 IL-17，在 SLE 和多发性硬化症等自身

免疫性疾病的发病机制中起重要作用。在 SLE 中,IL-17 与 B 细胞活化因子共同作用,可减少 B 细胞凋亡、增强 B 细胞增殖,并促进其转变为浆细胞[23]。研究表明 Treg 可下调 Th17 和分泌 IL-17 的滤泡辅助 T 细胞(Tfh)的比例[24-25]。而 Tfh 在生发中心发育和浆细胞形成过程中发挥关键作用。Treg 也可抑制自身反应性 T 细胞的增殖来维持自身抗原的免疫耐受性,Treg 细胞的缺失与 SLE 的发病密切相关[26-27]。研究表明,SLE 患者的 Th1/Th2/Th17/Treg 细胞因子的失衡与 SLE 疾病的进程相关,其中 Th1 和 Treg 的相对减少伴随着 Th17 的相对升高[20]。因此,针对调控 Th1/Th2/Th17/Treg 细胞平衡的研究将成为 SLE 治疗的新方向。本研究显示,Embelin 治疗后,SLE 小鼠淋巴结和脾脏中 Th1/Th2 和 Treg/Th17 比例均明显升高。同时,小鼠血清中 dsDNA、ssDNA 和 IgG 浓度明显下降。提示 Embelin 可通过调节 Th1/Th2 和 Treg/Th17 平衡而改善 SLE 小鼠的疾病损伤情况,这也可能是 Embelin 治疗 SLE 小鼠有效的机制之一。但本实验结果显示,与对照组相比,Embelin 组 SLE 小鼠淋巴结、脾脏中 Th2 和 Th17 细胞的比例差异无统计学意义。我们推测可能是因为每组小鼠数量有限导致,也可能是 Embelin 对 Th2 和 Th17 细胞没有直接调控作用,今后将进一步探讨。

综上所述,Embelin 可通过抑制 Th、B 细胞的活化和调控 Th1/Th2、Treg/Th17 平衡而对 SLE 小鼠具有治疗作用。本研究可为临床 SLE 的治疗用药提供新的理论基础。而 Embelin 对 SLE 小鼠免疫调控的分子机制我们将进一步深入研究。

参考文献:

[1] TSAI C Y, LI K J, HSIEH S C, *et al*. What's wrong with neutrophils in lupus? [J]. Clin Exp Rheumatol, 2019, 37(4): 684-693.

[2] TSAI C Y, HSIEH S C, LU C S, *et al*. Cross-talk between mitochondrial dysfunction-provoked oxidative stress and aberrant noncoding RNA expression in the pathogenesis and pathophysiology of SLE[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(20): 5183. DOI: 10.3390/ijms20205183.

[3] LI M T, ZHAO Y, ZHANG Z Y, *et al*. 2020 Chinese guidelines for the diagnosis and treatment of systemic lupus erythematosus[J]. Rheumatol Immunol Res, 2020, 1(1): 5-23. DOI: 10.2478/rir-2020-0009.

[4] BINDA V, TREZZI B, DEL PAPA N, *et al*. Belimumab may decrease flare rate and allow glucocorticoid withdrawal in lupus nephritis (including dialysis and transplanted patient) [J]. J Nephrol, 2020, 33(5): 1019-1025. DOI: 10.1007/s40620-020-00706-3.

[5] CHEN H L, SHEN L J, HSU P N, *et al*. Cumulative burden of glucocorticoid-related adverse events in patients with systemic lupus erythematosus: findings from a 12-year longitudinal study[J]. J Rheumatol, 2018, 45(1): 83-89. DOI: 10.3899/jrheum.160214.

[6] FANOURIAKIS A, KOSTOPOULOU M, ALUNNO A, *et al*. 2019 update of the EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus[J]. Ann Rheum Dis, 2019, 78(6): 736-745. DOI: 10.1136/annrheumdis-2019-215089.

[7] WANG Z, WANG Y, ZHU R, *et al*. Long-term survival and death causes of systemic lupus erythematosus in China: a systemic review of observational studies[J]. Medicine (Baltimore), 2015, 94(17): e794. DOI: 10.1097/md.0000000000000794.

[8] SHENG Z, GE S, GAO M, *et al*. Synthesis and biological activity of embelin and its derivatives: an overview[J]. Mini Rev Med Chem, 2020, 20(5): 396-407. DOI: 10.2174/1389557519666191015202723.

[9] 彭美玉, 王丽娜, 牟东珍. 信筒子醌升高小鼠胰腺癌 CTL、NK、NKT 和 γδT 细胞比例[J]. 基础医学与临床, 2017, 37(8): 1161-1162. DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2017.08.019.
PENG M Y, WANG L N, MOU D Z. Embelin increased CTL, NK, and ratio of NKT to γδ T cell in pancreatic cancer in mice [J]. Basic Clin Med, 2017, 37(8): 1161-1162. DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2017.08.019.

[10] XUE Z, GE Z, ZHANG K, *et al*. Embelin suppresses dendritic cell functions and limits autoimmune encephalomyelitis through the TGF-β/β-catenin and STAT3 signaling pathways [J]. Mol Neurobiol, 2014, 49(2): 1087-1101. DOI: 10.1007/s12035-013-8583-7.

[11] PENG M, HUANG B, ZHANG Q, *et al*. Embelin inhibits pancreatic cancer progression by directly inducing cancer cell apoptosis and indirectly restricting IL-6 associated inflammatory and immune suppressive cells[J]. Cancer Lett, 2014, 354(2): 407-416. DOI: 10.1016/j.canlet.2014.08.011.

[12] FREITAS E C, DE OLIVEIRA M S, MONTICIELO O A. Pristane-induced lupus: considerations on this experimental model[J]. Clin Rheumatol, 2017, 36(11): 2403-2414. DOI: 10.1007/s10067-017-3811-6.

[13] KO J H, LEE S G, YANG W, *et al*. The application of embelin for cancer prevention and therapy[J]. Molecules, 2018, 23(3): 621. DOI: 10.3390/molecules23030621.

[14] 李荣达, 董莉, 林玲. 诱发性系统性红斑狼疮小鼠模型研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2013, 29(6): 669-671. DOI: 10.13423/j.cnki.cjcmi.006805.
LI R D, DONG L, LIN L. Progress of mouse model of in-

duced systemic lupus erythematosus [J]. Chin J Cell Mol Immunol, 2013, 29(6): 669-671. DOI: 10.13423/j.cnki.cjcmi.006805.

[15] OSTER C, WILDE B, SPECKER C, *et al*. BTLA expression on Th1, Th2 and Th17 effector T-cells of patients with systemic lupus erythematosus is associated with active disease[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(18): 4505. DOI: 10.3390/ijms20184505.

[16] GRAMMER A C, LIPSKY P E. B cell abnormalities in systemic lupus erythematosus[J]. Arthritis Res Ther, 2003, 5(Suppl 4): S22-S27. DOI: 10.1186/ar1009.

[17] YAP D Y H, CHAN T M. B cell abnormalities in systemic lupus erythematosus and lupus nephritis—role in pathogenesis and effect of immunosuppressive treatments[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(24): 6231. DOI: 10.3390/ijms20246231.

[18] DOLFF S, BIJL M, HUITEMA M G, *et al*. Disturbed Th1, Th2, Th17 and Treg balance in patients with systemic lupus erythematosus[J]. Clin Immunol, 2011, 141(2): 197-204. DOI: 10.1016/j.clim.2011.08.005.

[19] MUHAMMAD YUSOFF F, WONG K K, MOHD REDZWAN N. Th1, Th2, and Th17 cytokines in systemic lupus erythematosus[J]. Autoimmunity, 2020, 53(1): 8-20. DOI: 10.1080/08916934.2019.1693545.

[20] TALAAT R M, MOHAMED S F, BASSYOUNI I H, *et al*. Th1/Th2/Th17/Treg cytokine imbalance in systemic lupus erythematosus (SLE) patients: Correlation with disease activity[J]. Cytokine, 2015, 72(2): 146-153. DOI: 10.1016/j.cyto.2014.12.027.

[21] DATTA S K, ZHANG L, XU L T. T-helper cell intrinsic defects in lupus that break peripheral tolerance to nuclear autoantigens[J]. J Mol Med, 2005, 83(4): 267-278. DOI: 10.1007/s00109-004-0624-2.

[22] 王元元, 柴继侠, 孙美群, 等. 甘草酸调节 MRL/lpr 狼疮小鼠的免疫功能及机制[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2017, 33(3): 305-309. DOI: 10.13423/j.cnki.cjcmi.008068.
WANG Y Y, CHAI J X, SUN M Q, *et al*. Glycyrrhizinic acid modulates the immunity of MRL/lpr mice and related mechanism[J]. Chin J Cell Mol Immunol, 2017, 33(3): 305-309. DOI: 10.13423/j.cnki.cjcmi.008068.

[23] DOREAU A, BELOT A, BASTID J, *et al*. Interleukin 17acts in synergy with B cell-activating factor to influence B cell biology and the pathophysiology of systemic lupus erythematosus[J]. Nat Immunol, 2009, 10(7): 778-785. DOI: 10.1038/ni.1741.

[24] WU H Y, QUINTANA F J, WEINER H L. Nasal anti-CD3 antibody ameliorates lupus by inducing an IL-10-secreting $CD4^+$ $CD25^-$ LAP^+ regulatory T cell and is associated with down-regulation of IL-17^+ $CD4^+$ $ICOS^+$ $CXCR5^+$ follicular helper T cells[J]. J Immunol, 2008, 181(9): 6038-6050. DOI: 10.4049/jimmunol.181.9.6038.

[25] LAROSA M, ZEN M, GATTO M, *et al*. IL-12 and IL-23/Th17 axis in systemic lupus erythematosus[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2019, 244(1): 42-51. DOI: 10.1177/1535370218824547.

[26] OHL K, TENBROCK K. Regulatory T cells in systemic lupus erythematosus[J]. Eur J Immunol, 2015, 45(2): 344-355. DOI: 10.1002/eji.201344280.

[27] SCHEINECKER C, GÖSCHL L, BONELLI M. Treg cells in health and autoimmune diseases: New insights from single cell analysis[J]. J Autoimmun, 2020, 110: 102376. DOI: 10.1016/j.jaut.2019.102376.

(收稿:2021-09-07;修回:2021-11-17)

(编辑 王 红)