

研究论文

红景天苷通过调节p38和JNK信号通路抑制BV-2细胞分泌炎症因子

王杰*, 张艳玲, 庄楠

潍坊护理职业学院, 潍坊 262500

摘要: 红景天苷是传统中药红景天的主要成分, 已有研究显示红景天苷具有一定的抗炎性作用。本研究旨在探讨红景天苷对BV-2细胞炎症反应的调节作用及可能机制。实验分为对照组、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)组、红景天苷组、红景天苷预处理+LPS组, 用100 $\mu\text{g/L}$ LPS和/或10 mg/L 红景天苷处理BV-2细胞, 收集细胞培养基上清(条件培养基), 采用real-time PCR方法检测细胞IL-6和TNF- α mRNA表达水平, ELSIA方法检测培养基IL-6和TNF- α 含量, 条件培养基处理PC12细胞24 h后, Hoechst 33258染色检测细胞核形态学改变, cell counting kit 8 (CCK-8)试剂盒检测细胞活力, 免疫印迹方法检测BV-2细胞p38和JNK的磷酸化水平。结果表明100 $\mu\text{g/L}$ LPS处理可显著提高BV-2细胞内IL-6和TNF- α 的表达水平($P < 0.05$)。红景天苷可显著下调LPS诱导的BV-2细胞IL-6和TNF- α 表达量($P < 0.05$), 下调p38和JNK的磷酸化水平($P < 0.05$)。SB202190和SP600125可降低LPS引起的IL-6和TNF- α 表达, 与红景天苷共处理后可拮抗LPS的诱导效应。与LPS组相比, 红景天苷预处理+LPS组的条件培养基处理后, PC12细胞的细胞活力显著升高($P < 0.05$), 同时细胞核固缩和聚集情况减少($P < 0.05$)。以上结果提示, 红景天苷可在一定程度上抑制小胶质细胞活动, 通过调节p38和JNK信号通路减少炎症因子释放, 从而降低PC12细胞的损伤。

关键词: 红景天苷; 炎症反应; 细胞凋亡; PC12

中图分类号: Q189

Salidroside inhibits inflammatory factor release in BV-2 cells through p38 and JNK pathways

WANG Jie*, ZHANG Yan-Ling, ZHUANG Nan

Weifang Nursing Vocational College, Weifang 262500, China

Abstract: Salidroside is the major bioactive component of *Rhodiola sachalinensis*. Studies have shown that salidroside has anti-inflammatory effects. In the present study, we examined whether salidroside inhibited inflammatory reaction in BV-2 microglial cells and thereby inhibited PC12 apoptosis. BV-2 cells were induced by lipopolysaccharides (LPS, 100 $\mu\text{g/L}$) and/or salidroside (10 mg/L), and then the conditioned medium was collected. Real time-PCR was used to detect IL-6 and TNF- α mRNA expression. The contents of IL-6 and TNF- α in medium were detected by ELSIA. Conditioned medium was added to PC12 culture medium and cell counting kit-8 and Hoechst 33258 were used to assess cell viability and cell apoptosis, respectively, after 24 h of incubation. The levels of phospho-p38 mitogen-activated protein kinase (p-p38) and phospho-c-Jun N-terminal kinase (p-JNK) in BV-2 cells were examined by Western blot analysis. The result showed that salidroside pretreatment decreased the expression of IL-6 and TNF- α as well as phosphorylation of p38 and JNK induced by LPS in BV-2 cells. The inhibitors of p38 (SB202190) and JNK (SP600125) could reduce IL-6 and TNF- α mRNA expression that was induced by LPS. Combined utilization of SB202190, SP600125 and salidroside could attenuate the effects of LPS. After conditioned medium treatment, PC12 cell viability and cell apoptosis were ameliorated in salidroside

Received 2017-05-02 Accepted 2017-10-10

This work was supported by the College Research Subject of Weifang Nursing Vocational College in 2016, Shandong Province, China (No. YKY2016005).

*Corresponding author. Tel: +86-536-3885660; E-mail: 15853603713@163.com

pretreatment + LPS group compared with LPS group. These results suggest that salidroside inhibits PC12 cell apoptosis by decreasing inflammatory factor release as well as p38 and JNK activation in activated microglia.

Key words: salidroside; inflammation; apoptosis; PC12

慢性炎症是神经退行性疾病、缺血和机械性脑损伤等神经系统疾病的共同特征, 伴随着小胶质细胞和星形胶质细胞的激活及炎症因子释放, 为了缓解这些疾病症状, 临床上使用一些抗炎药物作为辅助治疗。红景天苷具有清除自由基、抑制钙超载、抑制炎症反应和促进神经营养因子释放等作用, 对于改善神经退行性疾病及脑损伤修复、促进神经再生和维持血脑屏障结构正常发挥重要功能^[1-3]。有研究表明红景天苷可通过抑制肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 的表达, 从而对 1- 甲基-4 苯基-1, 2, 3, 6- 四氢吡啶诱发的帕金森病小鼠模型黑质区多巴胺能神经元具有保护作用。红景天苷可对抗脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导引起的小鼠体内 IL-6 的表达水平升高^[4]。另有研究证实红景天苷可抑制心肌缺血造成的炎症反应, 从而抑制细胞凋亡^[5]。然而, 红景天苷对炎症状态下神经细胞的保护作用及机制还不清楚。BV-2 细胞系是 Blasi 等在 1990 年应用携带癌基因 *v-raf/v-myc* 的反转录病毒 J2 感染原代培养的小鼠小胶质细胞而获得的永生细胞系, 具有小胶质细胞的形态学和功能特性^[6]。本研究用 LPS 诱导 BV-2 细胞, 观察 IL-6 和 TNF- α 的表达。通过 LPS 和红景天苷处理 BV-2 细胞, 用该条件培养基处理 PC12 细胞, 观察细胞的存活; 检测红景天苷预处理 BV-2 细胞后, LPS 诱导的 p38 和 JNK 磷酸化水平的变化。

1 材料与方法

1.1 细胞、主要试剂 BV-2 细胞和分化的 PC12 细胞株由潍坊医学院馈赠。红景天苷购自中国药品生物制品检定所; DMEM 高糖培养基、胎牛血清和胰蛋白酶购自 Gibco 公司; CCK-8 试剂盒购自 Dojindo; Hoechst 33258 染色试剂盒购自碧云天; IL-6 和 TNF- α ELISA 试剂盒购自博士德公司; p38、p-p38、JNK2 及 p-JNK2 抗体购自 Cell Signaling Technology 公司; SB202190 和 SP600125 购自 Sigma 公司。

1.2 PC12 和 BV-2 细胞培养 BV-2 细胞培养于 DMEM 高糖基础培养基中, 培养液中添加 5% 胎牛血清、 1×10^5 U/L 青霉素和 100 mg/L 的链霉素。PC12

培养于 DMEM 高糖基础培养基中, 培养液中添加 10% 胎牛血清、 1×10^5 U/L 青霉素和 100 mg/L 的链霉素。细胞以 1×10^5 个/mL 种植于 75 cm² 培养瓶、6 孔板或 96 孔板中, 置于 37 °C, 含 5% CO₂ 的培养箱中培养, 隔天换液, 当细胞融合达 80% 以上时用 0.25% 胰蛋白酶消化传代, 当细胞进入对数生长期即可进行后续加药处理。

1.3 实验分组和条件培养基收取 实验分为对照组、LPS 组、红景天苷组和红景天苷预处理 +LPS 组。100 μ g/L LPS 添加于对数生长期的 BV-2 细胞^[7], 24 h 后收取培养基, 1000 r/min 离心 5 min, 留上清作为条件培养基, -80 °C 保存。红景天苷预处理 +LPS 组, 则于 LPS 处理前 30 min 加入 10 mg/L^[8] 红景天苷, 同法收集上清。

1.4 Real-time PCR 检测 BV-2 细胞 IL-6 和 TNF- α mRNA 表达水平

按照 TAKARA 公司 RNA 提取试剂盒说明书的要求操作, 提取 RNA。六孔板每孔加入 TRIzol 试剂 500 μ L, 充分混匀, 室温静置 10 min, 加入 100 μ L 氯仿, 振荡离心管, 室温放置 15 min, 4 °C 12000 r/min 离心 15 min, 取上层液相转移至另一管, 加入等体积异丙醇, 轻轻颠倒充分混匀液体, 室温放置 10 min, 4 °C 12000 r/min 离心 15 min, 弃上清, 加入 1 mL 75% 乙醇洗涤, 4 °C 10000 r/min 离心 10 min, 弃上清, 在超净工作台中干燥 5 min, 加入适量无 RNA 酶水。反应体系与反应程序根据试剂盒说明书的要求进行操作, 反应体系 (25 μ L): RNA 模版 5 μ L、Taq 酶 0.5 μ L、反转录酶 0.5 μ L, PCR 反应液 14 μ L。反应程序设定: 95 °C 预变性 5min 后, 95 °C 变性 15 s, 58 °C 退火 15 s, 72 °C 延伸 40 s, 总计 40 个循环。通过实时荧光 PCR 仪特定软件程序记录并分析检测数据结果。IL-6 引物序列为: 上游 5'-GAGGATACCACTCCAAACAGACC-3', 下游 5'-AAGTGCATCATCGTTGTTCATACA-3'^[9]; TNF- α 引物序列: 上游 5'-CAG ACCCTCACACTCAGATCATCTT-3', 下游 5'-CAGAGCAATGACTCCAAAGTAGACCT-3'^[10]; GAPDH 引物: 上游 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3', 下游 5'-TC-CACCACCCTGTTGCTGTA-3'。

1.5 ELSIA 方法检测 BV-2 细胞培养上清中 IL-6 和 TNF- α 含量

根据博士德公司 ELISA 试剂盒说明书的要求操作。细胞培养上清离心去除沉淀; 稀释好的 ABC 和 TMB 显色液预先在 37 °C 中平衡 30 min; 加入 100 μ L 样品, 37 °C 反应 1.5 h; 吸去酶标板内的液体; 每孔加入生物素抗小鼠 IL-6/TNF- α 抗体 100 μ L; 37 °C 反应 60 min; 1 $\times$ 洗涤缓冲液洗涤 3 次, 每次 1 min; ABC 工作液按每孔 100 μ L 依次加入 (TMB 空白显色孔除外), 37 °C 30 min; 1 $\times$ 洗涤缓冲液洗涤 5 次, 每次 1~2 min 左右; 按每孔 90 μ L 依次加入已在 37 °C 平衡 30 min 的 TMB 显色液, 37 °C 光反应 15~20 min; 每孔 100 μ L 依次加入 TMB 终止液, 用酶标仪在 450 nm 测定各孔 OD 值。

1.6 CCK-8 试剂盒检测 PC12 细胞活力 PC12 细胞接种于 96 孔板, 加入不同组的条件培养基处理 24 h, 终体积为 100 μ L; 每孔加入 10 μ L 的 CCK-8 试剂, 培养箱内孵育 3~4 h, 用酶标仪在 450 nm 波长下测定各孔 OD 值。

1.7 PC12 细胞核形态学检测 PC12 细胞种植于经多聚赖氨酸包被的玻片上, 培养 1 d 后去除培养基, 用 0.01 mol/L PBS 清洗 3 次, 加入收集的不同组别条件培养基处理, 培养继续 24 h 取出, 用 4 °C 预冷的 0.01 mol/L PBS 清洗 3 次, 经 4 °C 预冷的 4% 多聚甲醛固定, Hoechst 33258 染色检测细胞核形态学改变。

1.8 免疫印迹检测 BV-2 细胞 p38 和 JNK 的磷酸化水平 BV-2 细胞用 4 °C 预冷的 PBS 洗 1 次, 加入蛋白裂解缓冲液 100 μ L。匀浆离心后, 取上清, 用 BCA 法测定蛋白含量。取 30 g 样本经十二烷基磺酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 从凝胶分离蛋白, 转印蛋白至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h, 分别加兔抗 p38 单克隆抗体 (1:2000), 兔抗 p-p38 单克隆抗体 (1:2000)、兔抗 JNK2 单克隆抗体 (1:2000)、兔抗 p-JNK2 单克隆抗体 (1:1000), TBST 缓冲液洗 15 min $\times$ 3 次。辣根过氧化物标记山羊抗兔二抗 (1:10000, 博士德) 室温下孵育 1 h。经 TBST 缓冲液洗 15 min $\times$ 3 次后, ECL (Millipore) 化学发光法显影。

1.9 统计学方法 应用 SPSS15 和 GraphPad Prism 软件进行统计学处理, 结果以 mean $\pm$ SD 表示, 两组组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 继以 Student-Newman-Keuls 进行组间两两比较, 以 $P < 0.05$ 为差异有统

计学意义。

2 结果

2.1 LPS 诱导后 BV-2 细胞 IL-6 和 TNF- α 的表达

处于对数生长期的 BV-2 细胞, 100 μ g/L LPS 诱导 30 min 后检测胞内 IL-6 和 TNF- α 的 mRNA 水平, LPS 诱导 24 h 后检测培养基中 IL-6 和 TNF- α 蛋白的含量。Real-time PCR 结果显示, 与对照组相比, LPS 处理后 BV-2 细胞内 IL-6 (图 1A) 和 TNF- α (图 1C) mRNA 表达量显著上调 ($P < 0.001$)。ELISA 结果显示, LPS 处理后培养基中 IL-6 (图 1B) 和 TNF- α (图 1D) 的含量分别为 (10.60 ± 1.51) ng/mL 和 (17.71 ± 1.48) ng/mL, 显著高于对照组 ($P < 0.001$), 以上结果说明 LPS 可以诱导 BV-2 细胞的炎症反应, 促进 IL-6 和 TNF- α 炎症因子释放。

2.2 条件培养基对 PC12 细胞存活的影响

PC12 细胞经对照组、LPS 组、红景天苷组和红景天苷预处理 +LPS 组的条件培养基分别处理后, 通过 Hoechst 染色和 CCK-8 检测凋亡情况和细胞活力。Hoechst 染色结果显示 (图 2A 和图 2B), 与 LPS 组 $[(75.05 \pm 5.58)\%]$ 相比, 红景天苷预处理 +LPS 组的条件培养基可使 PC12 细胞核固缩和碎裂数量减少 $[(10.8 \pm 1.74)\%, P < 0.001]$, 但不能使细胞恢复至对照组水平 $[(4.76 \pm 0.42)\%, P < 0.05]$; 而与对照组相比, 红景天苷组的条件培养基可使细胞凋亡数量减少 $[(2.33 \pm 0.35)\%, P < 0.05]$ 。CCK-8 的结果显示 (图 2C), 与对照组细胞 OD 值 (0.74 ± 0.04) 相比, LPS 组 PC12 细胞的活力 (0.24 ± 0.02) 降低, 差异有统计学意义; 而与 LPS 组相比, 10 mg/L 红景天苷预处理 30 min 可提高 PC12 细胞活力 $(0.59 \pm 0.04, P < 0.001)$, 差异有统计学意义。以上结果说明 BV-2 细胞经红景天苷预处理后, LPS 诱导的条件培养基对 PC12 细胞活力和凋亡的影响下调。

2.3 红景天苷预处理对 LPS 诱导的 BV-2 细胞中 IL-6 和 TNF- α mRNA 表达的影响

处于对数生长期的 BV-2 细胞经 10 mg/L 红景天苷和 100 μ g/L 的 LPS 处理, RT-PCR 结果显示: 与 LPS 组相比, 红景天苷预处理 +LPS 组 BV-2 细胞内 IL-6 (图 3A) 和 TNF- α (图 3B) mRNA 表达量显著下调 ($P < 0.001$)。

2.4 红景天苷预处理对 LPS 诱导的 BV-2 细胞 p38 和 JNK 磷酸化的影响

处于对数生长期的 BV-2 细胞经 100 μ g/L LPS

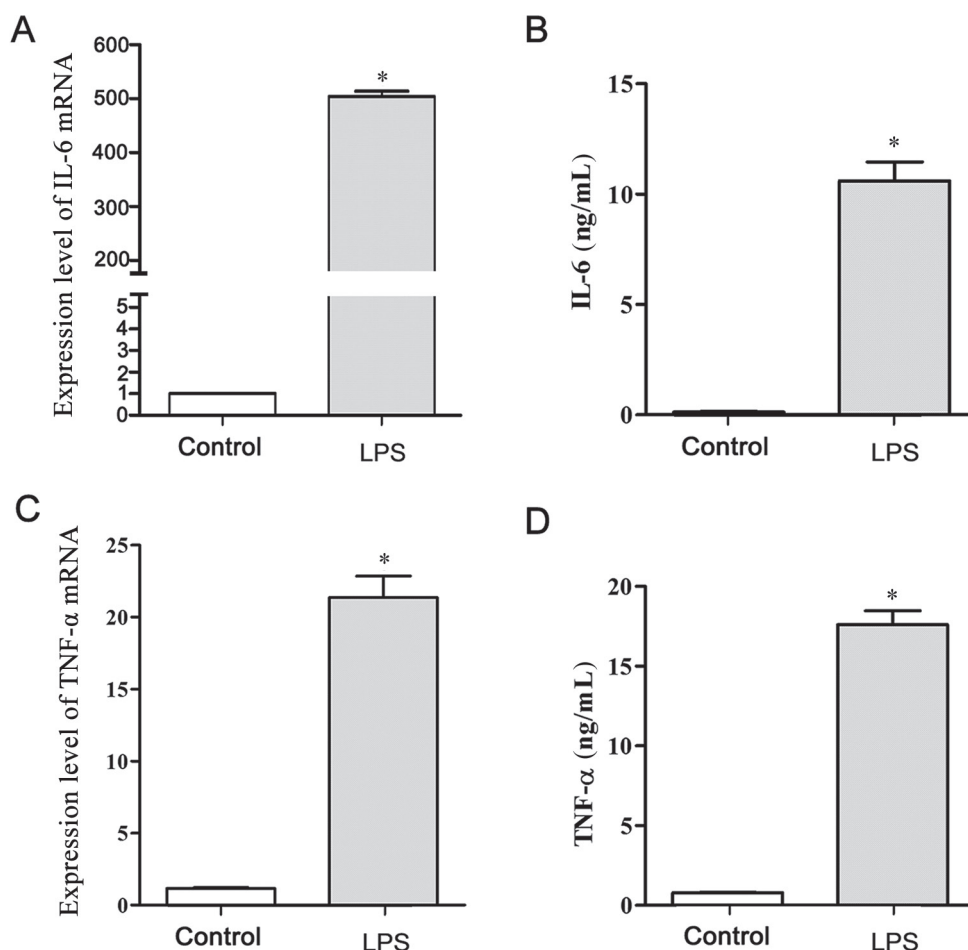


图 1. LPS诱导的BV-2细胞IL-6和TNF-α表达量的变化

Fig. 1. Expression changes of IL-6 and TNF-α in BV-2 cells. *A*: IL-6 mRNA level increased 30 min after 100 μg/L LPS treatment. *B*: IL-6 protein in medium increased 24 h after 100 μg/L LPS treatment. *C*: TNF-α mRNA level increased 30 min after 100 μg/L LPS treatment. *D*: TNF-α protein in medium increased 24 h after 100 μg/L LPS treatment. Data are presented as the means ± SD in each group ($n = 5$). * $P < 0.001$ compared with control.

诱导 30 min 后，Western blot 检测胞内 p38 和 JNK2 的磷酸化水平含量。结果显示，与对照组相比，LPS 可显著促进 BV-2 细胞 p38 (图 4A) 和 JNK2 (图 4B) 蛋白的磷酸化水平 ($P < 0.001$ 或 0.01)，而红景天苷可降低 p38 和 JNK2 蛋白的磷酸化水平 ($P < 0.05$)；与 LPS 组相比，红景天苷预处理后可显著降低 LPS 诱导的 p38 和 JNK2 的磷酸化水平 ($P < 0.001$)。

接下来我们使用 p38 特异性拮抗剂 SB202190 (10 μmol/L) 和 JNK2 特异性拮抗剂 SP600125 预处理 30 min。结果显示，与 LPS 组相比，SB202190 (10 μmol/L) 可显著降低 LPS 诱导的 p38 的磷酸化水平；与 SB202190 组和红景天苷组相比，SB202190 与红景天苷共处理显著下调 p38 的磷酸化水平 (图 4C，

$P < 0.001$)。与 LPS 组相比，SP600125 可显著降低 LPS 诱导的 JNK2 的磷酸化水平；与 SP600125 组和红景天苷组相比，SP600125 与红景天苷共处理显著下调 JNK2 的磷酸化水平 (图 4D， $P < 0.001$)。为证实 p38 和 JNK 参与红景天苷对 BV-2 细胞炎症反应的调控，我们又检测了 SB202190 和 SP600125 处理后 IL-6 (图 4E) 和 TNF-α (图 4F) 的表达情况。RT-PCR 结果显示：与 LPS 组相比，红景天苷、SB-202190 和 SP600125 处理可分别显著抑制 LPS 诱导的 IL-6 和 TNF-α 表达上调，而 SB202190、SP600125 和红景天苷共处理组 IL-6 和 TNF-α 表达量低于对照组 ($P < 0.05$)。以上结果说明红景天苷通过影响 p38 和 JNK2 的蛋白磷酸化调控 BV-2 细胞 IL-6 和 TNF-α 的表达。

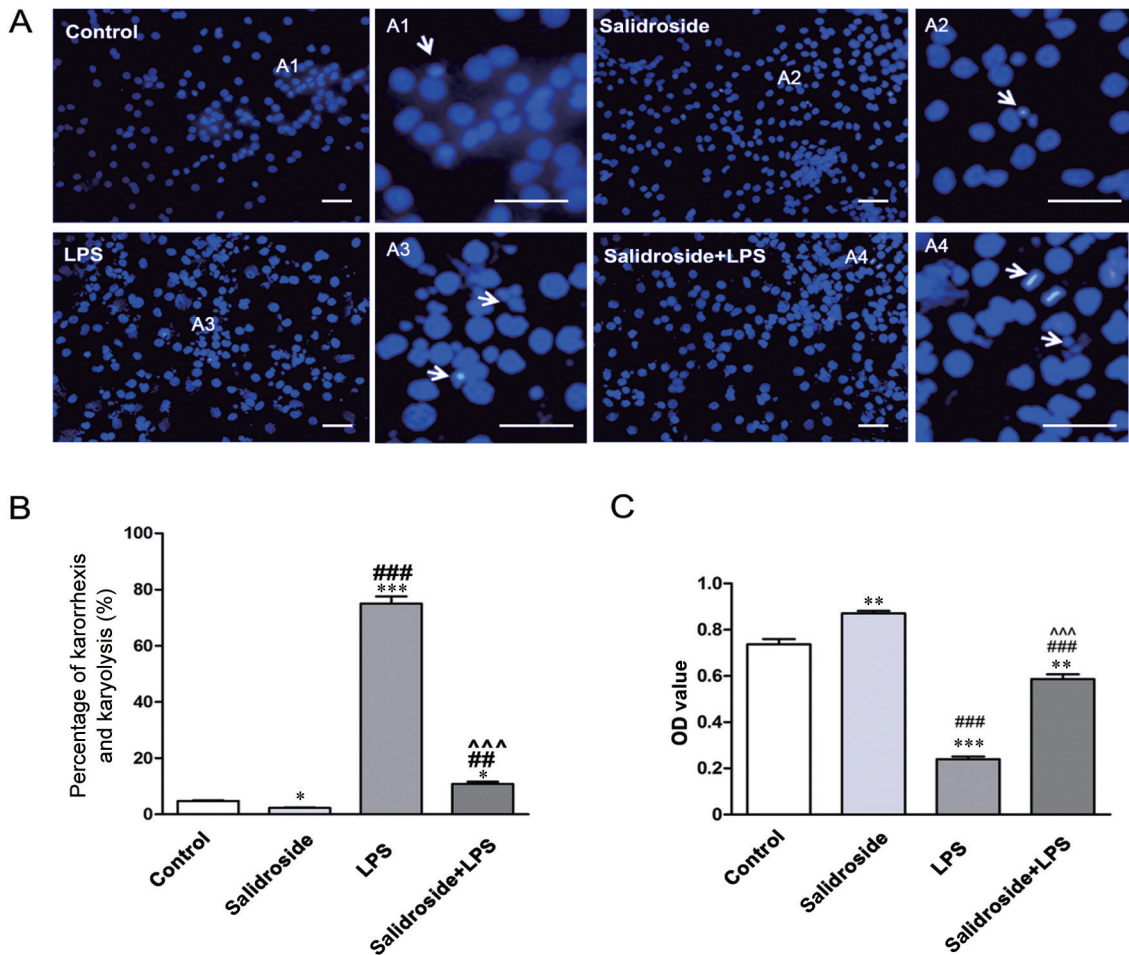


图 2 条件培养基处理后PC12细胞凋亡和活力的变化

Fig. 2. Effects of conditioned medium on the apoptosis and cell viability of PC12 cells. *A*: PC12 cells were stained by Hoechst 33258 after conditioned medium treatment. *B*: Comparison of the percentage of karyorrhexis and karyolysis. *C*: Cell viability was tested by CCK-8. Data are presented as the means $\pm$ SD in each group ($n = 5$). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ compared with control; ### $P < 0.01$, ^^^ $P < 0.001$ compared with salidroside; ^^^ $P < 0.001$ compared with LPS. Scale bar, 20 μm .

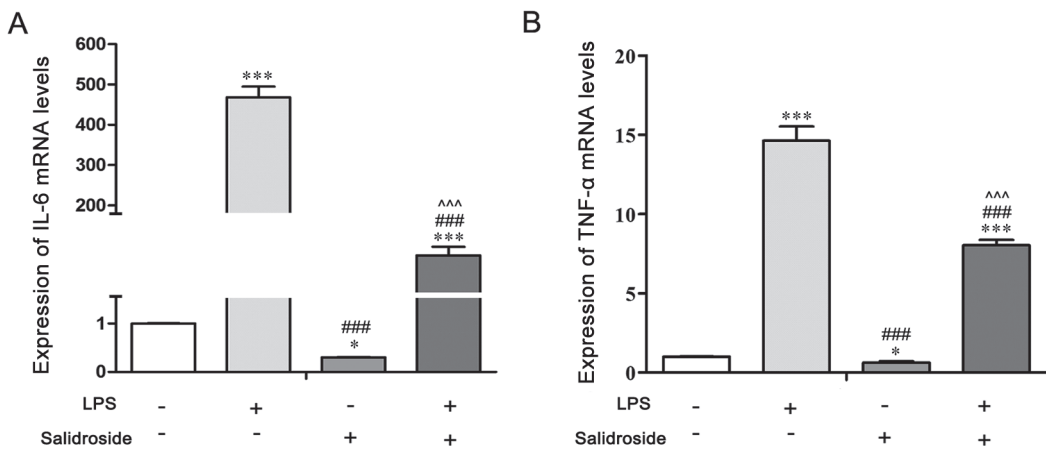


图 3 红景天苷预处理后BV-2细胞IL-6和TNF- α mRNA的表达

Fig. 3. Change of IL-6 and TNF- α mRNA levels in BV-2 cells after salidroside pretreatment. *A*: IL-6 mRNA levels. *B*: TNF- α mRNA levels. Data are presented as the means $\pm$ SD in each group ($n = 3$). * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ compared with control; ### $P < 0.001$ compared with salidroside; ^^^ $P < 0.001$ compared with LPS.

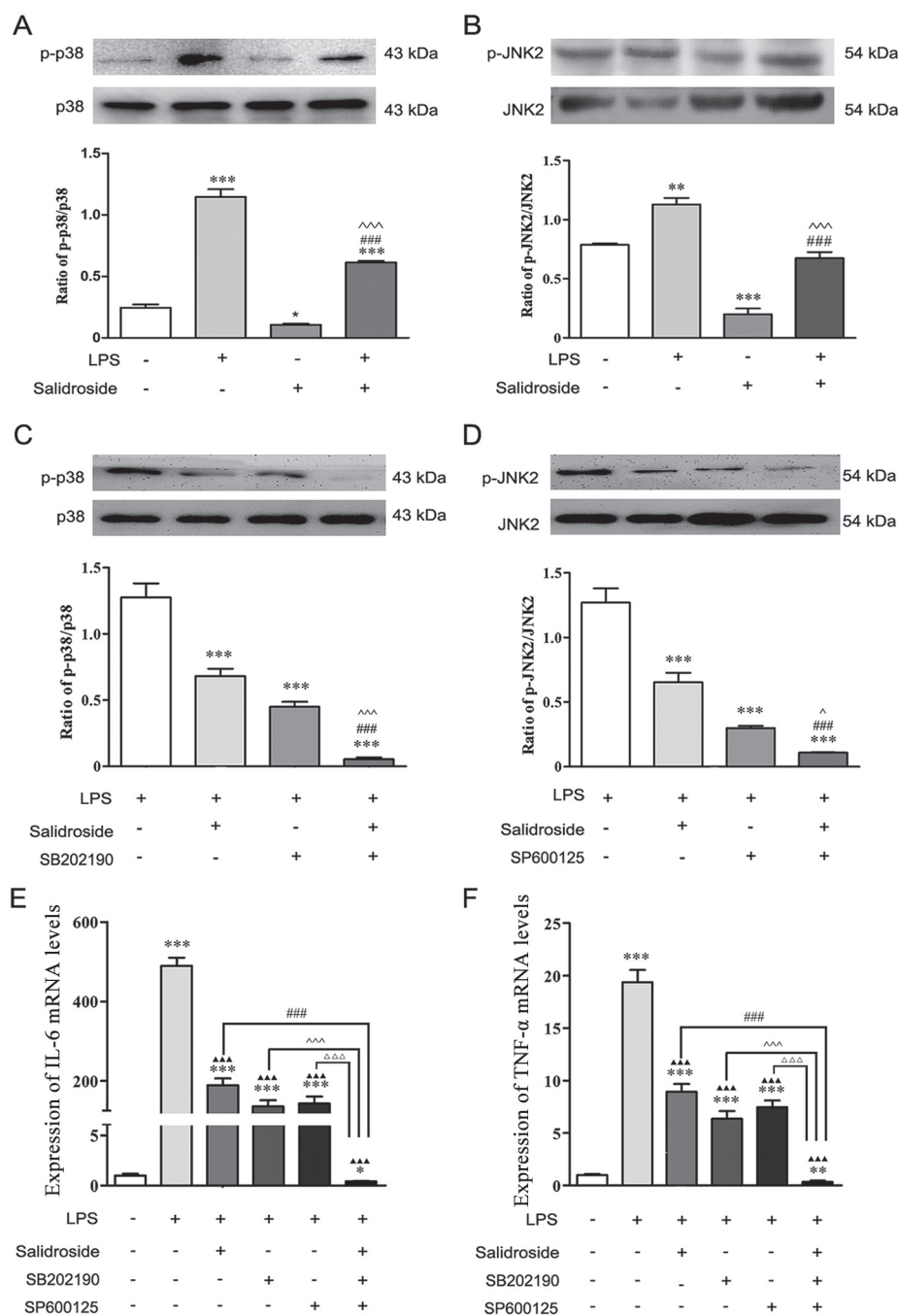


图 4. p38和JNK2蛋白的磷酸化水平对BV-2细胞IL-6和TNF- α 表达的影响

Fig. 4. The effect of phosphorylation levels of p38 and JNK2 on IL-6 and TNF- α mRNA expression in BV-2 cells. *A, B*: Western blot analysis of p-p38 (*A*) and p-JNK2 (*B*) protein expression. Salidroside decreased p-p38 level in normal culture and LPS treatment conditions. ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ compared with control; ### $P < 0.001$ compared with LPS; ^^^ $P < 0.001$ compared with salidroside. *C, D*: Western blot analysis of p-p38 (*C*) and p-JNK2 (*D*) protein expression with antagonist treatments. SB202190 and SP600125 could reduce p-p38 and p-JNK2 protein expression induced by LPS, respectively. Salidroside combined with SP600125 or SB202190 could strongly inhibit p-p38 and p-JNK2 protein expression. *** $P < 0.001$ compared with LPS; ### $P < 0.001$ compared with LPS+ Salidroside; ^^^ $P < 0.001$ compared with LPS+ SB202190; ^ $P < 0.05$ compared with LPS+ SP600125. *E, F*: Changes of IL-6 (*E*) and TNF- α (*F*) mRNA levels. Salidroside, SP600125 and SB202190 could reduce the IL-6 and TNF- α mRNA expression that induced by LPS, respectively. Moreover, the combination of salidroside, SP600125 and SB202190 could further reduce IL-6 and TNF- α mRNA levels than used alone. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ compared with control; ▲▲▲ $P < 0.001$ compared with LPS; ### $P < 0.001$; ^^^ $P < 0.001$; △△△ $P < 0.001$. Data are presented as the means $\pm$ SD in each group ($n = 3$).

3 讨论

本研究采用体外细胞培养方法,应用LPS、红景天苷、红景天苷预处理+LPS分别处理BV-2细胞,并收集其条件培养基,观察条件培养基对PC12细胞存活的影响。结果显示,与LPS组相比,经红景天苷预处理+LPS组的条件培养基处理后,PC12细胞的细胞活力显著升高,细胞核固缩和碎片化情况减弱,说明红景天苷可下调LPS的作用。红景天苷可显著下调LPS诱导的BV-2细胞IL-6和TNF- α 表达量,下调BV-2细胞p38和JNK的磷酸化水平,说明红景天苷可调节BV-2细胞的活动进而参与调节炎症反应。

小胶质细胞是存在于中枢神经系统的巨噬细胞,发挥着重要的免疫应答功能。在缺氧缺血性脑损伤和神经退行性疾病等病理性的脑组织中,小胶质细胞活化程度增强,并释放大量的炎症因子,造成神经细胞进一步损伤^[11-13]。前期已有研究证实红景天苷可抑制心肌缺血引起的炎症反应,并能抑制炎症反应引起的细胞凋亡^[5]。另有研究显示红景天苷处理可减轻LPS诱导的小鼠抑郁样行为表现,并降低LPS诱导后小鼠血清IL-1、IL-6和TNF- α 的含量^[4,14]。红景天苷这种对炎症反应的调节可能涉及到JAK2-STAT3和MAPK等信号通路^[8,14]。

本研究通过两个方面考察红景天苷对BV-2细胞炎症反应的影响。一方面检测红景天苷处理后炎症因子的释放,结果显示红景天苷可显著降低LPS诱导的IL-6和TNF- α 表达水平,说明红景天苷可抑制小胶质细胞炎症因子的释放。另一方面检测红景天苷处理后BV-2细胞胞内信号通路p38和JNK的活化。p38是巨噬细胞炎症反应重要的胞内信号转导蛋白。LPS可上调p38的磷酸化水平,增加巨噬细胞如RAW264.7、BV-2等胞内IL-6和TNF- α 的表达^[8,15,16],而p38抑制剂SB203580可阻断LPS诱导这种效应^[15]。本研究结果显示LPS处理后,BV-2细胞p-p38水平显著上调,而红景天苷预处理可拮抗LPS的诱导作用,说明p38可能参与红景天苷调节小胶质细胞的激活过程。有研究证实在应对炎症、氧化应激等不良外界刺激时,JNK磷酸化水平升高^[17,18]。LPS不仅可诱导炎症反应,同时也促进过氧化物如一氧化氮的产生^[19]。本研究结果显示,LPS处理BV-2细胞后,其胞内p-JNK水平显著上调,而红景天苷预处理可抑制LPS诱导的JNK磷酸化水平上调。说明JNK也可能参与红景天苷

调节炎症反应的过程。而p38抑制剂SB202190或JNK抑制剂SP600125处理可使LPS诱导的IL-6和TNF- α 表达水平降低。SB202190、SP600125和红景天苷共处理可完全阻断LPS的诱导效应。红景天苷预处理+LPS组的条件培养基不仅可提高PC12细胞的存活率,还可抑制炎症因子引起的细胞凋亡,这提示红景天苷对神经元的保护作用可能是通过抑制小胶质细胞的活动来实现的。

参考文献

- 1 Yang DW, Kang OH, Lee YS, Han SH, Lee SW, Cha SW, Seo YS, Mun SH, Gong R, Shin DW, Kwon DY. Anti-inflammatory effect of salidroside on phorbol-12-myristate-13-acetate plus A23187-mediated inflammation in HMC-1 cells. *Int J Mol Med* 2016; 38(6): 1864-1870.
- 2 Zhang WS (张文生), Zhu LQ, Niu FL, Deng RC, Ma CX. Protective effects of salidroside on injury induced by hypoxia/hypoglycemia in cultured neurons. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志) 2004; 29(5): 459-462 (in Chinese with English abstract).
- 3 Zhao L (赵玲), Zhao HB, Pan Q, Li G, Wang JN, Tang JJ. Salidroside induces the differentiation of mouse bone marrow mesenchymal stem cells into neuron-like cells mediated by calcium/calmodulin signaling pathway. *Chin J Tiss Eng Res* (中国组织工程研究) 2014; 18(37): 6019-6023 (in Chinese with English abstract).
- 4 Zhu L, Wei T, Gao J, Chang X, He H, Miao M, Yan T. Salidroside attenuates lipopolysaccharide (LPS) induced serum cytokines and depressive-like behavior in mice. *Neurosci Lett* 2015; 606: 1-6.
- 5 Zhu L, Wei T, Gao J, Chang X, He H, Luo F, Zhou R, Ma C, Liu Y, Yan T. The cardioprotective effect of salidroside against myocardial ischemia reperfusion injury in rats by inhibiting apoptosis and inflammation. *Apoptosis* 2015; 20(11): 1433-1443.
- 6 Blasi E, Barluzzi R, Bocchini V, Mazzolla R, Bistoni F. Immortalization of murine microglial cells by a v-raf/v-myc carrying retrovirus. *J Neuroimmunol* 1990; 27(2-3): 229-237.
- 7 Hu LF, Wong PT, Moore PK, Bian JS. Hydrogen sulfide attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation by inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase in microglia. *J Neurochem* 2007; 100(4): 1121-1128.
- 8 Sun P, Song SZ, Jiang S, Li X, Yao YL, Wu YL, Lian LH, Nan JX. Salidroside regulates inflammatory response in Raw 264.7 macrophages via TLR4/TAK1 and ameliorates inflammation in alcohol binge drinking-induced liver injury. *Molecules* 2016; 21(11): E1490.

- 9 Xu YX, Du F, Jiang LR, Gong J, Zhou YF, Luo QQ, Qian ZM, Ke Y. Effects of aspirin on expression of iron transport and storage proteins in BV-2 microglial cells. *Neurochem Int* 2015; 91: 72–77.
- 10 Oh WJ, Jung U, Eom HS, Shin HJ, Park HR. Inhibition of lipopolysaccharide-induced proinflammatory responses by *Buddleja officinalis* extract in BV-2 microglial cells via negative regulation of NF- κ B and ERK1/2 signaling. *Molecules* 2013; 18(8): 9195–9206.
- 11 Wang WY, Tan MS, Yu JT, Tan L. Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in Alzheimer's disease. *Ann Transl Med* 2015; 3(10): 136.
- 12 Chen SH, Oyarzabal EA, Hong JS. Critical role of the Mac1/NOX2 pathway in mediating reactive microgliosis-generated chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. *Curr Opin Pharmacol* 2015; 26: 54–60.
- 13 Kaur C, Rathnasamy G, Ling EA. Roles of activated microglia in hypoxia induced neuroinflammation in the developing brain and the retina. *J Neuroimmune Pharmacol* 2013; 8(1): 66–78.
- 14 Qi Z, Qi S, Ling L, Lv J, Feng Z. Salidroside attenuates inflammatory response via suppressing JAK2-STAT3 pathway activation and preventing STAT3 transfer into nucleus. *Int Immunopharmacol* 2016; 35: 265–271.
- 15 Shi Q, Cheng L, Liu Z, Hu K, Ran J, Ge D, Fu J. The p38 MAPK inhibitor SB203580 differentially modulates LPS-induced interleukin 6 expression in macrophages. *Cent Eur J Immunol* 2015; 40(3): 276–282.
- 16 Lee JY, Yune TY. Ghrelin inhibits oligodendrocyte cell death by attenuating microglial activation. *Endocrinol Metab (Seoul)* 2014; 29(3): 371–378.
- 17 Yeom M, Kim JH, Min JH, Hwang MK, Jung HS, Sohn Y. *Xanthii fructus* inhibits inflammatory responses in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages through suppressing NF-kappaB and JNK/p38 MAPK. *J Ethnopharmacol* 2015; 176: 394–401.
- 18 Ceppo F, Jager J, Berthou F, Giorgetti-Peraldi S, Cormont M, Bost F, Tanti JF. Implication of MAP kinases in obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Biol Aujourd'hui* 2014; 208(2): 97–107 (in French with English abstract).
- 19 Svensson C, Fernaeus SZ, Part K, Reis K, Land T. LPS-induced iNOS expression in Bv-2 cells is suppressed by an oxidative mechanism acting on the JNK pathway--a potential role for neuroprotection. *Brain Res* 2010; 1322: 1–7.