

· 基础研究 ·

基于 NF- κ B 通路的芒果苷干预脂多糖诱导的
细胞炎症作用机制研究雷莉妍¹ 王瑞成² 周 瑞¹ 唐志书¹ 宋忠兴¹ 李蕊萍³

摘要 **目的** 研究芒果苷对小鼠巨噬细胞 RAW 264.7 的保护作用,并探讨其可能的作用机制。**方法** 采用脂多糖(LPS)诱导 RAW 264.7 细胞炎症模型。实验分四步:(1)细胞存活率实验分 5 组,即:空白组、LPS 组、LPS + 不同浓度(50、100、150 μ g/mL)芒果苷组。MTT 法检测细胞存活率。(2)一氧化氮(NO)、白介素 1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)及白介素 6(IL-6)分泌实验分 6 组,即:空白组、LPS 组、LPS 和不同浓度芒果苷(50、100、150 μ g/mL)组、LPS + BAY 11-7082[核因子 κ B(NF- κ B)抑制剂]组。Griess 法检测 NO 分泌量,ELISA 法检测 IL-1 β 、TNF- α 及 IL-6 分泌量。(3)诱导型一氧化氮合酶(iNOS)与环氧化酶-2(COX-2)mRNA 及蛋白表达实验分组同细胞存活率实验。实时荧光定量 PCR 检测 iNOS 及 COX-2 mRNA 水平变化,Western blot 检测 iNOS 及 COX-2 蛋白表达水平。(4)细胞质、细胞核中 NF- κ B 表达实验分 3 组,即:空白组、LPS 组、LPS + 150 μ g/mL(终末浓度)芒果苷共处理组,Western blot 检测细胞质、细胞核中 NF- κ B p65 蛋白表达量。**结果** (1)与空白组比较,LPS 组显著降低 RAW264.7 细胞存活率($P < 0.05$);与 LPS 组比较,50 ~ 150 μ g/mL 芒果苷预处理对 RAW264.7 细胞增殖无显著影响($P > 0.05$)。(2)与空白组比较,LPS 组 NO、IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 分泌量显著升高($P < 0.05$);与 LPS 组比较,除 50 μ g/mL 芒果苷预处理组 NO、TNF- α 分泌量无显著变化外($P > 0.05$),其余各组 NO、IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 分泌量均显著降低($P < 0.05$)。(3)与空白组比较,LPS 组 iNOS、COX-2 mRNA 及蛋白表达量均显著升高($P < 0.05$);与 LPS 组比较,50 ~ 150 μ g/mL 芒果苷预处理组 iNOS、COX-2 mRNA 及蛋白表达显著下降($P < 0.05$)。(4)与空白组比较,LPS 组细胞质中 NF- κ B p65 蛋白量减少,细胞核中则增多($P < 0.05$);与 LPS 组比较,150 μ g/mL 芒果苷预处理组细胞质中 NF- κ B p65 蛋白量升高,细胞核中蛋白量减少($P < 0.05$)。**结论** 芒果苷可能通过抑制 NF- κ B 信号通路,而抑制 iNOS、COX-2 表达及相关炎症因子的分泌,干预 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症。

关键词 芒果苷;脂多糖;炎症;核因子 κ B 通路

Mechanism of Mangiferin for Intervening Lipopolysaccharide Induced Inflammation in RAW264.7 Cells Based on NF- κ B Pathway LEI Li-yan¹, WANG Rui-cheng², ZHOU Rui¹, TANG Zhi-shu¹, SONG Zhong-xing¹, and LI Rui-ping³ 1 Shaanxi University of Chinese Medicine, Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Shaanxi Province Key Laboratory of New Drugs and Chinese Medicine Foundation Research, Shaanxi (712083); 2 Department of Gynecology, Affiliated Hospital to Shaanxi University of Chinese Medicine, Shaanxi (712000); 3 Department of Rehabilitative Medicine, Weinan First Hospital, Shaanxi (714000)

ABSTRACT **Objective** To study the protective effect and mechanism of mangiferin on inflammation induced by lipopolysaccharide (LPS) in RAW264.7 cells. **Methods** RAW264.7 cell inflammation model was induced by LPS. The experiment was divided into four steps: (1) Cell viability experiment was

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81603357);陕西省自然科学基金项目(No. 2017JQ8043);陕西省教育厅科研基金项目(No. 16JK1222);陕西中医药大学科研基金项目(No. 2017QN21)

作者单位:1. 陕西中医药大学陕西省中药资源产业化协同创新中心,陕西省中药基础与新药研究重点实验室(陕西 712083);2. 陕西中医药大学附属医院妇科(陕西 712000);3. 陕西省渭南市第一医院康复医学科(陕西 714000)

通讯作者:雷莉妍, Tel: 029-38182205, E-mail: liyanlei-2005@163.com

DOI: 10.7661/j. cjim. 20190116. 096

conducted. RAW264. 7 cells were divided into 5 groups, i.e., blank group, LPS group, LPS + different concentrations (50, 100, 150 $\mu\text{g/mL}$) mangiferin groups. The cell viability was measured by MTT assay. (2) Nitric oxide (NO), IL-1 β , tumor necrosis factor alpha (TNF- α), and IL-6 secretion experiments were conducted. Cells were divided into 6 groups, i.e., blank group, LPS treatment group, LPS + different concentrations of mangiferin (50, 100, 150 $\mu\text{g/mL}$) groups, LPS + BAY 11-7082 (NF- κB inhibitor) group. Detection of NO secretion was detected by Griess assay, and the secretions of IL-1 β , TNF- α , and IL-6 were detected by ELISA. (3) Inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cyclooxygenase-2 (COX-2) mRNA and protein expression experiments were conducted. The groups were divided in the same way as that in the cell viability experiments. Real-time quantitative PCR was used to detect the changes of iNOS and COX-2 mRNA levels. And the expression levels of iNOS and COX-2 protein were detected by Western blot. (4) The expressions of nuclear factor-kappaB (NF- κB) in cytoplasm and nucleus were detected. The cells were divided into three groups, i.e., blank group, LPS treatment group, LPS + 150 $\mu\text{g/mL}$ (final concentration) mangiferin co-treatment group. The expressions of NF- κB p65 protein in cytoplasm and nucleus were detected by Western blot. Results (1) Compared with the blank group, the survival rate of RAW264. 7 cells was significantly reduced in the LPS group ($P < 0.05$). Compared with the LPS group, 50 – 150 $\mu\text{g/mL}$ mangiferin pretreatment had no significant effect on the proliferation of RAW264. 7 cells ($P > 0.05$). (2) Compared with the blank group, the secretion levels of NO, IL-1 β , TNF- α , and IL-6 were significantly increased in the LPS group ($P < 0.05$). Compared with the LPS group, the secretion levels of NO and TNF- α in the 50 $\mu\text{g/mL}$ mangiferin pretreatment group had no significant changes ($P > 0.05$), but the secretion of NO, IL-1 β , TNF- α , and IL-6 significantly decreased in the rest groups ($P < 0.05$). (3) Compared with the blank group, the expression levels of iNOS and COX-2 mRNA and protein were significantly increased in the LPS group ($P < 0.05$). Compared with the LPS group, pretreatment with 50 – 150 $\mu\text{g/mL}$ mangiferin reduced iNOS and COX-2 mRNA and protein expression levels ($P < 0.05$). (4) Compared with the blank group, the NF- κB p65 protein was significantly decreased in the cytoplasm and increased in the nucleus in the LPS group ($P < 0.05$). Compared with the LPS group, 150 $\mu\text{g/mL}$ mangiferin pretreatment increased the NF- κB p65 protein in the cytoplasm, and decreased it in the nucleus ($P < 0.05$). Conclusion Mangiferin intervened LPS-induced RAW 264. 7 cell inflammation possibly by inhibiting NF- κB signaling pathway, thus further inhibiting the expression levels of iNOS/COX-2 and the secretion of related inflammatory factors.

KEYWORDS mangiferin; lipopolysaccharide; inflammation; nuclear factor- κB pathway

芒果苷是从知母中提取出来的一种黄酮类化合物,具有多种药理活性,如止咳、平喘^[1,2]、抗菌^[3]、抗炎^[4]、抗氧化^[5]、降血糖^[6]等。炎症是机体对致炎性因素的一种应答性反应,人类大多数疾病都与炎症有着密切的联系,如心血管疾病^[7]、糖尿病^[8]、癌症^[9]等。在脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的炎症过程中,核转录因子 κB (nuclear factor- κB , NF- κB) 及丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)是两条重要的信号通路。一般情况下,未激活的 NF- κB 与其抑制因子 NF- κB 抑制蛋白(inhibitor of NF- κB , I κB)结合在一起,以无活性的形式存在于细胞质中。当受到 LPS 刺激后, NF- κB 会被激活,与 I κB 蛋白分离, NF- κB p65 亚基由细胞浆中移位至细胞核中,进而调节下游靶基因的

转录和表达,包括 IL-1 β 、TNF- α 、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)及 COX-2 等^[10]。BAY11-7082 是一种 NF- κB 通路抑制剂,能抑制一些细胞因子诱导的 I $\kappa\text{B}\alpha$ 的磷酸化,从而抑制 I $\kappa\text{B}\alpha$ 降解和随后的 NF- κB 核转运,最终抑制依赖于 NF- κB 的基因转录^[11]。研究显示,芒果苷具有显著的抗炎作用^[12],因此本实验拟探讨芒果苷对 LPS 诱导的小鼠巨噬细胞 RAW264. 7 凋亡的影响,并对其作用机制进行探讨。

材料与方法

1 细胞株 小鼠巨噬细胞 RAW264. 7 购自中国科学院上海生科院细胞资源中心,资源编号: 3131C0001000800013。

2 药物 芒果苷标准品(中国食品药品检定研

究院,批号:111607-201704,纯度:98.1%)。

3 试剂与仪器 LPS(美国 Sigma Aldrich 公司,批号:015M4077V);RPMI-1640 培养基(美国 Hyclone 公司,批号:AD17321264);胎牛血清(以色列 Biological Industries 公司,批号:1741844);胰蛋白酶(以色列 Biological Industries 公司,批号:0035017);青霉素/链霉素双抗(北京索莱宝公司,批号:AD20170804);NF-κB p65 一抗、iNOS 一抗、COX-2 一抗及辣根过氧化物酶标记的抗兔二抗(批号分别为:8、5、9、26)均购自美国 Cell Signaling Technology 公司;β-actin 一抗、组蛋白 H3 一抗及细胞核蛋白与细胞浆蛋白抽提试剂盒(批号分别为:AA128、AF0009、P0028)均购自碧云天生物技术研究;逆转录试剂盒(批号:M20100)和 qPCR 试剂盒(批号:M30510)购自北京全式金生物科技有限公司;总 RNA 柱式抽提试剂盒(上海生物工程股份有限公司,批号:D714KA6099);ECL 化学发光试剂盒(美国 Bio-Rad 公司,货号:1705062S)。311 型细胞培养箱(美国 Thermo 公司),SW-CJ-2FD 型超净工作台(苏净集团安泰公司),DSZ2000X 型倒置显微镜(重庆澳浦光电技术有限公司),LD5-2A 型低速离心机(北京雷博尔医疗器械有限公司),HH-4 数显恒温水浴锅(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司),Thermo Multiskan GO 多功能酶标仪(美国 Thermo 公司),ChemiDoc XRS + 化学发光 XRS + (美国 Bio-rad 公司)。

4 方法

4.1 细胞存活率 采用 MTT 法检测。细胞分组为:空白对照组、LPS 处理组、LPS + 不同浓度芒果苷(50、100、150 μg/mL)共处理组。取对数生长期的 RAW264.7 细胞以 1 × 10⁵ 个/每孔的密度接种于 96 孔板中,细胞贴壁 4 ~ 6 h,每组设置 3 个复孔。用不同浓度的芒果苷预处理细胞 1 h,空白对照组和 LPS 处理组加入相同体积的空白培养基。随后每孔加入 1 μg/mL LPS 处理细胞 24 h。在细胞培养结束前 4 h,每孔加入 15 μL MTT。细胞培养结束后,吸去细胞上清,每孔加入 150 μL 二甲基亚砷,37 ℃ 孵育 10 min,用全波长酶标仪检测 450 nm 处的光密度值。细胞相对存活率(%) = (给药组平均光密度值 - 空白孔平均光密度值) / (空白对照组平均光密度值 - 空白孔平均光密度值) × 100%,空白孔为只加培养液、MTT、DMSO 孔。

4.2 NO、IL-1β、IL-6、TNF-α 生成水平 采用 Griess 法检测 NO 浓度,ELISA 法检测 IL-1β、IL-6、

TNF-α 浓度。细胞分组为:空白对照组、LPS 处理组、LPS + 不同浓度芒果苷(50、100、150 μg/mL)共处理组、LPS + BAY 11-7082 (NF-κB 抑制剂)共处理组。RAW264.7 细胞以 2 × 10⁶ 个/每孔的密度接种于 6 孔板中,细胞贴壁后用不同浓度的芒果苷或 BAY 11-7082 预处理 1 h,随后每孔加入 1 μg/mL LPS 处理细胞 24 h。吸取 50 μL 上清至新的 96 孔板中用于 NO 浓度检测,随后每孔加入 50 μL 磺胺试剂,避光孵育 5 min 后,每孔再加入 50 μL N-1-萘基乙基二胺试剂,用酶标仪检测 545 nm 的吸光度值。另分别各取 100 μL 上清液至 IL-1β、IL-6、TNF-α 抗体预包被酶标板中,37 ℃ 孵育 90 min,洗涤液洗板 5 次。随后每孔加入 100 μL 的生物素化抗体工作液,37 ℃ 孵育 60 min,洗涤液洗板 5 次。每孔加入酶结合物工作液 100 μL,37 ℃ 孵育 30 min,洗涤液洗板 5 次。每孔加入 100 μL 显色底物,避光 37 ℃ 孵育 15 min。每孔加入 100 μL 终止液,混匀后立即测量 450 nm 处的光密度值。

4.3 iNOS、COX-2 mRNA 水平 采用实时荧光定量 PCR 检测。细胞分组为:空白对照组、LPS 处理组、LPS + 不同浓度芒果苷(50、100、150 μg/mL)共处理组。RAW264.7 细胞接种于 6 孔板中,药物处理方法同 4.1。采用总 RNA 提取试剂盒提取细胞总 RNA,反转录制备 cDNA,以 cDNA 为模板,加入目的基因引物,进行目的基因的扩增。本实验用引物见表 1,β-actin 引物购自上海生物工程股份有限公司(B662302)。荧光定量检测采用程序具体参数为:94 ℃ 30 s;94 ℃ 5 s;60 ℃ 15 s;72 ℃ 10 s,荧光检测,重复 2 ~ 4 步骤 40 个循环;溶解曲线,测出每组的 Ct 值,并计算每个基因的相对表达量,计算公式为:基因相对表达量 = 2^{-(ΔCt 目的基因 - ΔCt 内参基因)},其中 ΔCt = Ct 实验组 - Ct 空白对照组。

基因名称	引物序列	引物长度(bp)
COX-2	F:5'-CCACTTCAAGGAGTCTGGA-3'	20
	R:5'-AGTCATCTGCTACGGGAGGA-3'	20
iNOS	F:5'-CCTGCTTTGTGCGAAGTGTC-3'	20
	R:5'-CCCAAACACCAAGCTCATGC-3'	20

4.4 iNOS、COX-2 蛋白表达水平 Western blot 法检测蛋白表达量。iNOS、COX-2 蛋白检测时,细胞分组及药物处理方法同 4.3。收集处理细胞,经 RIPA 裂解液裂解细胞,12 000 r/min 离心 10 min,取上清用于蛋白检测。BCA 蛋白检测试剂盒检测总蛋白浓度。蛋白样品经 SDS-PAGE 电泳分离后,转移至 PVDF 膜上,并于 37 ℃ 用脱脂牛奶封闭膜 1 h。

用 TBST 以 1:1 000 稀释一抗,于 4 ℃ 孵育 PVDF 膜过夜。用 TBST 溶液将膜清洗 3 次。再用 TBST 稀释的二抗溶液于 37 ℃ 孵育 PVDF 膜 1 h,随后用 TBST 洗膜 3 次,并采用 ECL 法进行显色。

4.5 细胞质、细胞核中 NF-κB p65 蛋白水平 Western blot 法检测蛋白量。细胞分为 3 组:空白对照组、LPS 处理组、LPS + 150 μg/mL (终末浓度) 芒果苷共处理组。RAW264.7 细胞接种于 6 孔板中,细胞贴壁后用 150 μg/mL 芒果苷预处理 1 h,随后每孔加入 1 μg/mL LPS 处理细胞 24 h。采用细胞核蛋白与细胞浆蛋白抽提试剂盒分离并提取 RAW264.7 细胞核及细胞浆蛋白。蛋白浓度测定及 Western blot 方法同 4.4。

5 统计学方法 采用 SPSS 16.0 对数据进行分析。所有数据均为 3 次独立实验结果,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间的比较采用单因素方差分析,方差齐性时多组间两两比较采用 LSD 法;方差不齐时多组间两两比较采用 Dunnett's T3 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组细胞存活率比较(表 2) 与空白组比较,LPS 组细胞相对存活率下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。50、100、150 μg/mL 芒果苷预处理组细胞相对存活率与 LPS 组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2 各组 NO、IL-1β、IL-6、TNF-α 水平比较(表 3) 与空白组比较,LPS 组 NO、IL-1β、TNF-α、IL-6 的分泌增加,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与 LPS 组

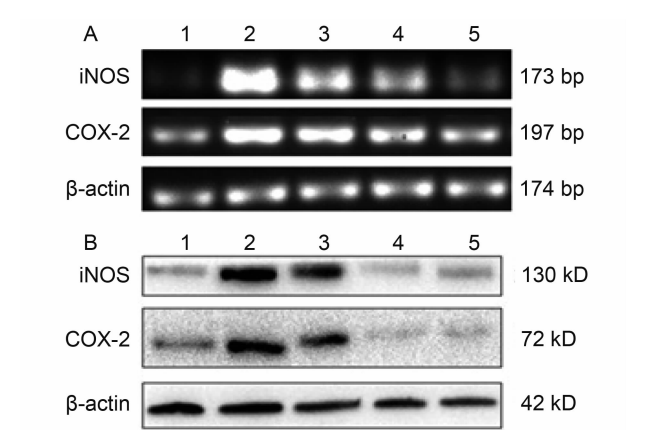
表 2 各组细胞存活比较 (%, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	细胞相对存活率
空白	3	100.00 ± 0.98
LPS	3	83.38 ± 4.47 *
LPS + 50 μg/mL 芒果苷	3	82.17 ± 4.45
LPS + 100 μg/mL 芒果苷	3	83.37 ± 2.38
LPS + 150 μg/mL 芒果苷	3	84.30 ± 4.62

注:与空白组比较, * $P < 0.05$

比较,50 μg/mL 芒果苷预处理组 IL-1β、IL-6 分泌显著下降($P < 0.05$),但 NO、TNF-α 分泌量无显著变化($P > 0.05$);100、150 μg/mL 芒果苷预处理组、BAY11-7082 预处理组 NO、IL-1β、IL-6、TNF-α 分泌量均降低($P < 0.05$)。

3 各组 iNOS、COX-2 mRNA 及蛋白表达水平比较(图 1,表 4) LPS 组 iNOS、COX-2 mRNA 及蛋



注:A 为 DNA 电泳;B 为蛋白电泳;1 为空白组;2 为 LPS 组;3 为 LPS + 50 μg/mL 芒果苷组;4 为 LPS + 100 μg/mL 芒果苷组;5 为 LPS + 150 μg/mL 芒果苷组

图 1 各组 iNOS、COX-2 mRNA 及蛋白表达水平比较

表 3 各组 NO、IL-1β、TNF-α、IL-6 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NO (μmol/L)	IL-1β (pg/mL)	TNF-α (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)
空白	3	1.27 ± 0.76	51.77 ± 15.83	305.41 ± 12.22	42.37 ± 2.54
LPS	3	31.42 ± 2.59 *	272.21 ± 27.45 *	1 204.26 ± 23.88 *	314.68 ± 38.26 *
LPS + 50 μg/mL 芒果苷	3	27.35 ± 3.39	185.98 ± 37.44 Δ	949.52 ± 136.76	253.84 ± 35.81 Δ
LPS + 100 μg/mL 芒果苷	3	14.79 ± 1.97 Δ	152.81 ± 22.34 Δ	680.27 ± 13.29 Δ	205.83 ± 50.89 Δ
LPS + 150 μg/mL 芒果苷	3	9.18 ± 3.03 Δ	95.59 ± 32.36 Δ	490.52 ± 70.49 Δ	59.11 ± 15.20 Δ
LPS + 10 μmol/L BAY11-7082	3	5.17 ± 2.21 Δ	82.10 ± 19.40 Δ	343.77 ± 35.89 Δ	78.85 ± 18.73 Δ

注:与空白组比较, * $P < 0.05$;与 LPS 组比较, Δ $P < 0.05$

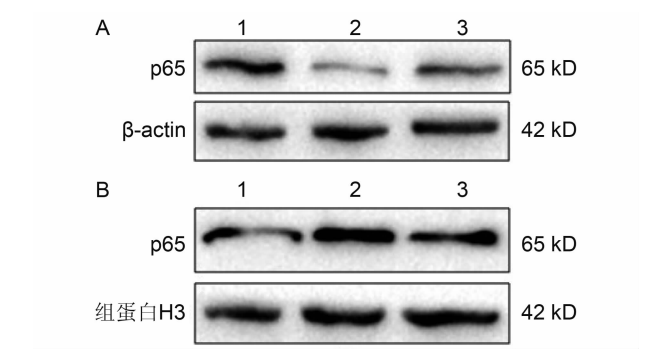
表 4 各组 iNOS、COX-2 mRNA 及蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	iNOS		COX-2	
		mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
空白	3	0.97 ± 0.09	1.07 ± 0.05	1.03 ± 0.08	0.97 ± 0.04
LPS	3	3.19 ± 0.10 *	3.46 ± 0.06 *	1.71 ± 0.05 *	1.85 ± 0.05 *
LPS + 50 μg/mL 芒果苷	3	2.62 ± 0.06 Δ	2.90 ± 0.09 Δ	1.67 ± 0.07 Δ	1.67 ± 0.06 Δ
LPS + 100 μg/mL 芒果苷	3	2.26 ± 0.12 Δ	1.45 ± 0.06 Δ	1.34 ± 0.04 Δ	1.19 ± 0.04 Δ
LPS + 150 μg/mL 芒果苷	3	1.62 ± 0.07 Δ	1.21 ± 0.05 Δ	1.12 ± 0.15 Δ	1.13 ± 0.07 Δ

注:与空白组比较, * $P < 0.05$;与 LPS 组比较, Δ $P < 0.05$

白表达均提高,与空白组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。与 LPS 组比较,50、100、150 $\mu\text{g/mL}$ 芒果苷预处理后,各组 iNOS、COX-2 mRNA 及蛋白表达水平平均降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

4 各组细胞质、细胞核中 NF- κ B p65 蛋白水平比较(图 2,表 5) LPS 组细胞质中 NF- κ B p65 蛋白显著减少,细胞核中则明显增多,与空白组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。150 $\mu\text{g/mL}$ 芒果苷预处理细胞后,LPS 诱导的 NF- κ B p65 入核减少,细胞质中 NF- κ B p65 蛋白表达增多,与 LPS 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。



注:A 为细胞质蛋白电泳;B 为细胞核蛋白电泳;1 为空白组;2 为 LPS 组;3 为 LPS + 150 $\mu\text{g/mL}$ 芒果苷组

图 2 各组细胞质、细胞核中 NF- κ B p65 蛋白表达水平

表 5 各组细胞质、细胞核中 NF- κ B p65 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NF- κ B p65	
		细胞质	细胞核
空白	3	1.05 $\pm$ 0.04	1.01 $\pm$ 0.04
LPS	3	0.50 $\pm$ 0.04 *	1.83 $\pm$ 0.06 *
LPS + 150 $\mu\text{g/mL}$ 芒果苷	3	0.79 $\pm$ 0.05 Δ	1.24 $\pm$ 0.12 Δ

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;与 LPS 组比较, $\Delta P < 0.05$

讨 论

炎症在多种病理过程中发挥着重要作用。芒果苷具有显著的抗炎效果,对呼吸系统炎症^[13]、心血管炎症^[14]、肠道炎症^[15]等具有良好的效果。目前对芒果苷的抗炎作用研究多集中在药效学上,对其作用机制的研究尚欠缺。巨噬细胞是介导炎症反应的主要细胞,正常情况下,巨噬细胞处于静息状态,在 LPS 等刺激后,巨噬细胞被激活,能够分泌多种炎症介质,从而建立炎症细胞模型。LPS 来源于革兰氏阴性菌细胞壁中,具有很强的生物毒性。在体外用 LPS 诱导的炎症细胞模型中,巨噬细胞会产生大量的前炎症因子如

IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 等和炎症介质如 NO、PGE₂ 及 ROS 等。其中有些炎症因子如 IL-1 β 及 TNF- α 又可反馈调节巨噬细胞,促使细胞产生更多的炎症介质及细胞因子,加剧炎症反应。NO 和 PGE₂ 是两种重要的炎症介质。研究显示,在 LPS 刺激下,巨噬细胞产生的 NO 及 PGE₂ 主要由 iNOS 和 COX-2 诱导产生,iNOS 和 COX-2 通过调节 NO 及 PGE₂ 在炎症反应过程中发挥着举足轻重的作用^[16]。本研究结果显示,LPS 能显著诱导 RAW264.7 细胞表达炎症细胞因子(IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α)、产生次级炎症介质的酶(iNOS 及 COX-2)及次级炎症介质 NO。芒果苷对 LPS 诱导的炎症介质、细胞因子及相关酶有很好的抑制作用。

NF- κ B 是一种重要的核转录因子^[17],参与机体免疫调节、炎症反应等多种生理过程。NF- κ B 与 I κ B、IKK 是 NF- κ B 信号通路的主要分子。静息状态的 NF- κ B 与 I κ B 形成复合物,存在于细胞浆中。当细胞被激活后,IKK 促进 I κ B 磷酸化并与 NF- κ B 解离,释放出 NF- κ B,游离的 NF- κ B 由细胞质进入细胞核中,与靶 DNA 结合,促进下游基因的表达^[18]。本研究结果显示,芒果苷能显著抑制 LPS 诱导的 NF- κ B p65 细胞核移位,进而抑制 NF- κ B 活性。NF- κ B 抑制剂 BAY 11-7082 也具有类似的活性。

据报道,参与炎症反应各阶段的许多分子都受 NF- κ B 的调控,包括促炎因子如 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 、趋化因子、黏附因子及产生次级炎症介质的酶如 COX-2 和 iNOS^[19-21]。这提示,芒果苷可能通过抑制 NF- κ B 信号通路活性,进而抑制促炎因子、相关酶及其靶分子的表达,发挥抗炎作用。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] 董漪竹,吴植强. 芒果苷镇咳、祛痰、平喘作用的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2017, 24(2): 171 - 176.
- [2] 黄云,胡文姬,李学坚,等. 芒果苷近 10 年研究进展[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(1): 269 - 274.
- [3] 王志萍,邓家刚,谭珍媛. 芒果苷片体外抑菌杀虫作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(9): 2167 - 2168.
- [4] 郭宏伟,邓家刚,运晨霞,等. 芒果苷抑制哮喘小鼠气道炎症的机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9): 187 - 190.
- [5] 谭之强. 芒果苷通过抑制氧化应激及抗凋亡作用保护大鼠颅脑损伤[J]. 神经损伤与功能重建, 2018, 13(1): 26 - 28.
- [6] 吴巍,滕厚雷. 小檗碱与芒果苷及其配伍对 L6 成纤维

- 细胞葡萄糖摄取的影响及机制[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(9): 1259-1260.
- [7] Dinh QN, Drummond GR, Sobey CG, et al. Roles of inflammation, oxidative stress, and vascular dysfunction in hypertension[J]. Biomed Res Int, 2014, 2014(1): 406960.
- [8] Lontchi-Yimagou E, Sobngwi E, Matsha TE, et al. Diabetes mellitus and inflammation[J]. Curr Diabetes Rep, 2013, 13(3): 435-444.
- [9] Hoenerhoff MJ. Inflammation and cancer: Partners in crime[J]. Vet J, 2015, 206(1): 1-2.
- [10] Yang C, Liu P, Wang S, et al. Shikonin exerts anti-inflammatory effects in LPS-induced mastitis by inhibiting NF- κ B signaling pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 505(1): 1-6.
- [11] Hou J, Gu Y, Zhao S, et al. Anti-inflammatory Effects of Aurantio-Obtusin from seed of *Cassia obtusifolia* L. through modulation of the NF- κ B pathway[J]. Molecules, 2018, 23(12): E3093.
- [12] 黄云, 胡文姬, 李学坚, 等. 芒果苷近 10 年研究进展[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(1): 269-274.
- [13] Guo HW, Yun CX, Hou GH, et al. Mangiferin attenuates TH1/TH2 cytokine imbalance in an ovalbumin-induced asthmatic mouse model[J]. PLoS One, 2014, 9(6): e100394.
- [14] Prabhu S, Jainu M, Sabitha KE, et al. Effect of mangiferin on mitochondrial energy production in experimentally induced myocardial infarcted rats[J]. Vascul Pharmacol, 2006, 44(6): 519-525.
- [15] Morais TC, Arruda BR, de Sousa Magalhães H, et al. Mangiferin ameliorates the intestinal inflammatory response and the impaired gastrointestinal motility in mouse model of postoperative ileus[J]. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2015, 388(5): 531-538.
- [16] Natarajan K, Abraham P, Kota R, et al. NF- κ B-iNOS-COX2-TNF- α inflammatory signaling pathway plays an important role in methotrexate induced small intestinal injury in rats[J]. Food Chem Toxicol, 2018, 118(1): 766-783.
- [17] Sang W, Zhong Z, Linghu K, et al. Siegesbeckia pubescens Makino inhibits Pam3CSK4-induced inflammation in RAW 264. 7 macrophages through suppressing TLR1/TLR2-mediated NF- κ B activation[J]. Chin Med, 2018, 13(37): 1-10.
- [18] 王晓晨, 吉爱国. NF- κ B 信号通路炎症反应[J]. 生理科学进展, 2014, 45(1): 68-71.
- [19] Kang SR, Han DY, Park KI, et al. Suppressive effect on lipopolysaccharide-induced proinflammatory mediators by *Citrus aurantium* L. in macrophage RAW 264. 7 cells via NF- κ B signal pathway[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2011, 2011(1): 1-12.
- [20] Park KI, Kang SR, Park HS, et al. Regulation of proinflammatory mediators via NF- κ B and p38 MAPK-dependent mechanisms in RAW 264. 7 macrophages by polyphenol components isolated from Korea *Lonicera japonica* THUNB [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012, 2012(1): 1-10.
- [21] Lee MS, Kwon MS, Choi JW, et al. Anti-inflammatory activities of an ethanol extract of *Ecklonia stolonifera* in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264. 7 murine macrophage cells[J]. J Agric Food Chem, 2012, 60(36): 9120-9129.

(收稿: 2018-09-01 在线: 2019-03-07)

责任编辑: 段碧芳

英文责编: 张晶晶