

薯蓣皂苷片含药血清对 IL-17 和 TNF- α 诱导大鼠滑膜细胞株 RSC-364 NF- κ B p65、STAT3 及 VEGF 影响的实验研究

郭亚春¹ 高亚贤² 宋鸿儒²

摘要 目的 观察薯蓣皂苷片含药血清对白细胞介素-17(interleukin-17, IL-17)联合肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)诱导大鼠滑膜细胞株(rat synovial cell-364, RSC-364)核转录因子- κ B (nuclear factor of kappa B, NF- κ B)、信号转导子和转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达的影响,探讨薯蓣皂苷片抑制类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)血管新生可能的作用机制。方法 实验设空白对照组、细胞模型组、薯蓣皂苷片含药血清组、雷公藤多苷片(阳性对照)含药血清组。制备薯蓣皂苷片和雷公藤多苷片含药血清;用 IL-17 和 TNF- α 联合刺激 RSC-364 建立 RA 细胞模型,薯蓣皂苷片与雷公藤多苷片含药血清分别进行干预,应用 TransAMTM NF- κ B p65 活性检测试剂盒检测 NF- κ B p65 的 DNA 结合活性,应用 Western blot 方法观察 STAT3 蛋白的表达及应用实时荧光定量 PCR 方法观察 VEGF mRNA 表达。结果 与空白对照组比较,IL-17 和 TNF- α 联合诱导的细胞模型组核蛋白提取物中 NF- κ B p65 DNA 结合活性、STAT3 蛋白表达及 VEGF mRNA 表达均显著增高($P < 0.01$, $P < 0.05$);与模型组比较,薯蓣皂苷片含药血清组、雷公藤多苷片含药血清组 NF- κ B p65 的 DNA 结合活性、STAT3 蛋白表达及 VEGF mRNA 表达均显著降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。薯蓣皂苷片含药血清组与雷公藤多苷片含药血清组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 薯蓣皂苷片可能通过抑制 NF- κ B 信号转导通路中 NF- κ B p65 的活性和酪氨酸蛋白激酶家族 Janus kinase(JAK)-信号转导子和转录激活因子信号转导通路中 STAT3 蛋白表达来抑制 VEGF mRNA 表达,从而起到抑制 RA 血管新生的作用。

关键词 薯蓣皂苷片;类风湿关节炎;血管新生;核转录因子- κ B p65;信号转导子和转录激活因子 3;血管内皮生长因子

Effects of Dioscornin Tablet Containing Serum on NF- κ B p65, STAT3, and VEGF mRNA Expressions in Rats' Synovial Cell Strain RSC-364 Induced by IL-17 and TNF- α GUO Ya-chun¹, GAO Ya-xian², and SONG Hong-ru² 1 Department of Pathogen Biology, Chengde Medical College, Hebei (067000), China; 2 Department of Immunology, Chengde Medical College, Hebei (067000), China

ABSTRACT Objective To observe the effects of Dioscornin Tablet (DT) containing serum on nuclear factor of kappa B (NF- κ B) p65, signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), and vascular endothelial growth factor (VEGF) mRNA expressions in rats' synovial cell strain 364 (RSC-364) induced by interleukin-17 (IL-17) and tumor necrosis factor- α (TNF- α), and to investigate the underlying mechanisms for DT to inhibit angiogenesis of rheumatoid arthritis (RA). Methods In this experiment, the vehicle control group, the cell model group, the DT containing serum group, and the positive control group (Tripterygium containing serum) were set up. The DT containing serum and the Tripterygium containing serum were prepared. The RA cell model was established by IL-17 combined TNF- α induced injury in RSC-364. The RA cells were intervened by DT containing serum and Tripterygium containing serum respectively. The DNA binding activity of NF- κ B p65 was detected using TransAMTM NF- κ B

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 30873420)

作者单位:1.承德医学院病原生物学教研室(河北承德 067000);2.承德医学院免疫学教研室(河北承德 067000)

通讯作者:宋鸿儒, Tel:0314-2291166, E-mail: songhongru@163.com

p65. The expression of STAT3 was observed using Western blot. The VEGF mRNA expressions were detected by real-time quantitative PCR. Results Compared with the vehicle control group, the NF- κ B p65 activity, the expressions of STAT3 and VEGF mRNA increased significantly in RSC-364 induced by IL-17 + TNF- α ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Compared with the model group, the NF- κ B p65 activity, the expressions of STAT3 and VEGF mRNA decreased significantly in the DT containing serum group and the positive control group ($P < 0.01$, $P < 0.05$). There was no statistical difference between the two groups ($P > 0.05$). Conclusion DT inhibited the VEGF mRNA expression through inhibiting the NF- κ B p65 activity and the STAT3 protein expression in the Janus kinase (JAK)-signal transducer and activating transcription factor pathway, thus inhibiting the angiogenesis of RA.

KEYWORDS Dioscornin Tablet; rheumatoid arthritis; angiogenesis; nuclear factor of kappa B p65; signal transducer and activator of transcription 3; vascular endothelial growth factor

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性自身免疫性疾病,其病因和发病机制尚不完全清楚,基本病理特征为关节滑膜炎,成纤维样滑膜细胞过度增生,大量炎症细胞浸润以及血管翳的形成。有研究表明酪氨酸蛋白激酶家族 Janus kinase(JAK)-信号转导子和转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)信号通路中的信号转导子和转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription, STAT3)^[1],核转录因子- κ B(nuclear factor of kappa B, NF- κ B)通路中的 NF- κ B^[2]在 RA 发病及进展中发挥了重要作用。前期研究表明从薯蓣科植物穿龙薯蓣中提取的穿山龙总皂苷,能抑制 RA 新生血管生成,其作用与抑制滑膜血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factors, VEGF)表达有关^[3],薯蓣皂苷片为穿山龙总皂苷中水溶性总皂苷,本实验拟通过体外滑膜细胞株检测 NF- κ B、STAT3、VEGF 的表达水平,探讨 NF- κ B、STAT3 信号通路和 VEGF 在 RA 滑膜血管生成中的作用,通过这两条途径进一步探讨薯蓣皂苷片抗 RA 滑膜新生血管生成中的作用机制,为薯蓣皂苷片治疗 RA 提供实验依据。

材料与方法

1 动物、药物、试剂与仪器

1.1 动物 清洁级健康 Wistar 大鼠 24 只,雄性,体重(260 ± 20)g,购于北京维通利华实验技术有限公司,合格证号:0248274,许可证号:SCXK(京)2009-0004。

1.2 药物 雷公藤多苷片(黄石飞云制药有限公司,生产批号:Z42021212, 10 mg/片);薯蓣皂苷片(西安东盛科技股份有限公司,生产批号:H20003743, 80 mg/片)。

1.3 试剂 TRIZOL Reagent(批号:15596-026, Invitrogen 公司,美国);RT master Mix, Taq DNA polymerase(大连宝生物公司,批号:DRR036s, DRR039s);引物 GAPDH:上游 5'-TG-GTCTACATGTTCCAGTATGACTGAT-3',下游 5'-CCATTTGATGTTAGCGGGATCTC-3' 探针 5'-FAM-CCACGCAAGTTCAACGGCACAGTT-Eclipse-3',扩增产物为 134 bp;VEGF 上游 5'-TCACTCCCT-CAAATTACTTCGG-3'下游 5'-TCTCTCTCTTCCTTGACTTCTCTC-3',探针 5'-FAM-TCCTGCTACTCTTTCTCTCTGCTGAT-Eclipse-3' 扩增产物为 87 bp(大连宝生物公司设计合成);TransAMTM NF- κ B p65 活性检测试剂盒,Recombinant NF- κ B p65 protein(Active Motif 公司,美国);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(Pierce 公司,美国);兔抗 STAT3 多克隆抗体(SANTA 公司,美国)。大鼠成纤维样滑膜细胞株 RSC-364:解放军总医院骨病研究所提供。

1.4 仪器 2K15 型高速冷冻离心机(Sigma 公司,美国);SLAN 荧光定量 PCR 检测系统(上海宏石医疗科技有限公司,型号:1202-0204);DU800 型紫外可见分光光度计(BECKMAN COULTER 公司,美国);电泳槽 DYC2-AOB(北京六一仪器厂,型号:DYCP-31CN);MK-3 酶联检测仪(Thermo 公司,美国)。

2 实验方法

2.1 含药血清的制备 健康 Wistar 大鼠,适应性饲养 1 周后,按随机数字表法将 24 只 Wistar 大鼠随机分为雷公藤多苷片组与薯蓣皂苷片组,每组 12 只,分别给予以上相应药物 120.450 mg/(kg·d),连续灌胃 7 天,第 8 天给药 1 h 后常规取血分离血清,56℃ 恒温水浴灭活,0.22 μ m 滤膜过滤,-20℃ 保存备用。

2.2 细胞模型建立及分组 取对数生长期的

RSC-364 细胞($2 \times 10^4/L$),每孔 1 000 μL 加入 6 孔板培养,将实验分空白对照组、细胞模型组、雷公藤多苷片含药血清组、薯蓣皂苷片含药血清组,每组设 6 个复孔,待细胞长满 6 孔板 80% 后,空白对照组和细胞模型组加培养液,雷公藤多苷片组、薯蓣皂苷片组分别加入含相应药物的 20% 含药血清,培养 1 h 后药物组和细胞模型组均加入肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α , 10 $\mu g/L$) + 白细胞介素-17 (interleukin-17, IL-17, 10 $\mu g/L$),孵育 24 h。

2.3 大鼠滑膜细胞株(rat synovial cell-364, RSC-364)NF- κ B p65 活性测定 取孵育好的细胞进行核蛋白的提取和 NF- κ B p65 的 DNA 结合活性的测定。(1)滑膜细胞株蛋白的提取:将 6 孔板里的培养基弃去,用含磷酸酶抑制剂的 PBS 洗涤后,加入预冷的含磷酸酶抑制剂的 PBS,刮下细胞移至预冷的离心管中,于 4 $^{\circ}C$ 离心 5 min,收集细胞沉淀置于冰上。用预冷的低张裂解液轻柔重悬细胞并轻柔吹打,转移至预冷的 Eppendorf 管中,冰上孵育 15 min,加入去污剂,高速震荡混匀 10 s,4 $^{\circ}C$ 离心 30 s,转移上清液剔除胞浆蛋白。重悬细胞沉淀至裂解缓冲液中,吹打混匀,高速震荡混匀,放入冰盒,置于水平震荡的摇床上孵育 30 min,高速震荡混匀 30 s,4 $^{\circ}C$ 离心 10 min,吸取上清液即为核蛋白。采用二辛可酸法(BCA 分析法)测定样本核蛋白的浓度,将核蛋白分装置于 -80 $^{\circ}C$ 保存备用。(2)NF- κ B p65 的 DNA 活性检测:参照 TransAMTM NF- κ B p65 活性检测试剂盒说明书,具体方法如下:设立空白对照孔、阳性对照孔、特异性或非特异性竞争对照孔、Recombinant protein 孔及各样品核蛋白孔。首先向各检测孔中分别加入完全连接缓冲液或含有特定寡核苷酸的完全连接缓冲液;再加入含有相同质量各样本核提取物或含有 the Jurkat(阳性对照)的完全裂解缓冲液,Recombinant protein 孔中依次加入梯度液,封板,室温下摇床孵育 1 h;然后依次经 NF- κ B p65 抗体(1:1 000),HRP-标记的二抗(1:1 000)室温孵育,最后每孔加入室温的显色剂和终止液,5 min 之内应用 MK-3 酶联检测仪 450 nm 波长测量出吸光度值,通过标准曲线,换算成 ng 值,得到蛋白含量。

2.4 Western blot 方法检测 RSC-364 细胞 STAT3 蛋白的表达 取孵育好的细胞温和 PBS 洗涤,加入冰预冷的细胞裂解液(RTPA:PMSF=100:1)裂解,离心,提取细胞总蛋白。按照 BCA 蛋白定量试剂盒说明进行定量测定,并计算出上样的样品体积。配 8% 分离胶和 5% 浓缩胶,烷基硫酸钠-聚丙烯

酰胺凝胶电泳,每孔的上样量 30 μg ,恒压 120 V 进行电泳,电泳 2 h。将合适大小的 PVDF 膜预先激活,将滤纸和纤维帕在转膜缓冲液中浸泡,按阳极-纤维帕-滤纸-PVDF 膜-凝胶-滤纸-纤维帕-阴极的顺序放到转膜槽中,转膜条件为恒电流 2 mA/cm²,时间 2 h。转膜完成后,PVDF 膜蛋白面朝上置于 5% 脱脂奶粉的封闭液中摇床上封闭 2 h。PVDF 膜分别用大鼠 STAT3 多克隆抗体(1:200),4 $^{\circ}C$ 孵育过夜,再与相应的 HR-PO 抗 Ig 抗体耦联物(1:5 000)孵育 1 h,以上步骤间用 TBST 常温下充分洗膜。同样方法,以 β -actin 杂交做为内对照。按照 ECL 检测试剂盒说明书进行荧光染色,并用 X 光胶片感光、显影、洗片,经扫描仪扫描后获得图像。

2.5 实时荧光定量 PCR 检测 RSC-364 细胞 VEGF mRNA 的表达 取孵育好的细胞,用 Trizol 法提取总 RNA,检测 RNA 纯度及浓度,取纯度好的样品进行逆转录反应,cDNA 置 -20 $^{\circ}C$ 保存备用。PCR 反应体系为 25 μL ,每个样品设 3 个平行复孔取均值。依据所得目的基因与内参基因 Ct 值(Ct 值为每个反应孔内荧光信号达到设定阈值时所对应的循环数),用内参进行标准化处理,按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法对基因表达进行相对定量分析。 $\Delta\Delta Ct = (\text{待测组目的基因 Ct 均值} - \text{待测组内参照基因 Ct 均值}) - (\text{对照组目的基因 Ct 均值} - \text{对照组内参照基因 Ct 均值})$, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 代表目的基因在不同组织的相对表达量,进行实验数据分析。

2.6 统计学分析 使用 SPSS 17.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,若数据符合正态分布、方差齐,组间均数比较采用单因素方差分析,多个样本均数间两两比较采用 Newman-Keuls-q 检验,否则采用 Games-Howell 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

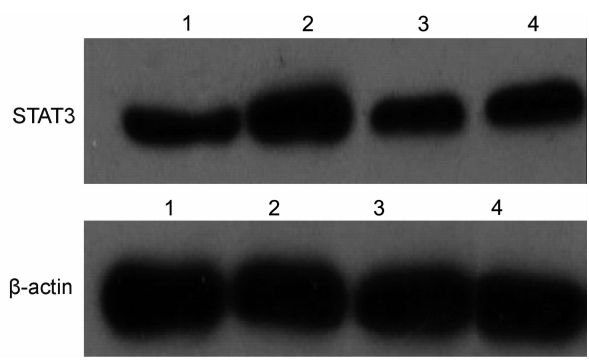
结 果

各组滑膜细胞 RSC-364 NF- κ B p65 DNA 结合活性、STAT3 蛋白表达及 VEGF mRNA 表达的影响比较(表 1,图 1-3)。与空白对照组比较,模型组核蛋白提取物中 NF- κ B p65 的 DNA 结合活性显著增高($P < 0.01$),STAT3 蛋白表达及 VEGF mRNA 表达均显著增高($P < 0.01$, $P < 0.05$);与模型组比较,雷公藤多苷片含药血清组、薯蓣皂苷片含药血清组的 NF- κ B p65 DNA 结合活性显著降低($P < 0.01$),STAT3 蛋白表达及 VEGF mRNA 表达明显降低($P < 0.01$, $P < 0.05$);雷公藤多苷片含药血清组及薯蓣皂苷片含药血清组之间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 各组滑膜细胞 RSC-364 NF-κB p65 DNA 结合活性、STAT3 蛋白表达及 VEGF mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NF-κB p65 (ng)	STAT3	VEGF mRNA ($2^{-\Delta\Delta CT}$)
空白对照	6	0.023 ± 0.004	0.523 ± 0.056	1.00 ± 0.28
模型	6	0.043 ± 0.003 **	1.085 ± 0.106 **	3.67 ± 0.51 *
雷公藤多苷片含药血清	6	0.033 ± 0.003 $\Delta\Delta$	0.661 ± 0.123 $\Delta\Delta$	1.54 ± 0.24 Δ
薯蓣皂苷片含药血清	6	0.029 ± 0.004 $\Delta\Delta$	0.723 ± 0.077 $\Delta\Delta$	1.11 ± 0.13 Δ

注:与空白对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$



注:1 为空白对照组;2 为模型组;3 为雷公藤多苷片含药血清组;4 为薯蓣皂苷片含药血清组

图 1 各组滑膜细胞 RSC-364 STAT3 蛋白表达比较

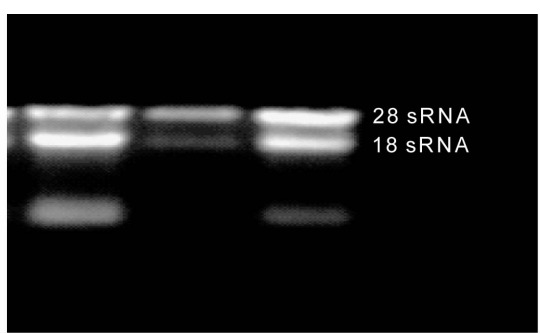
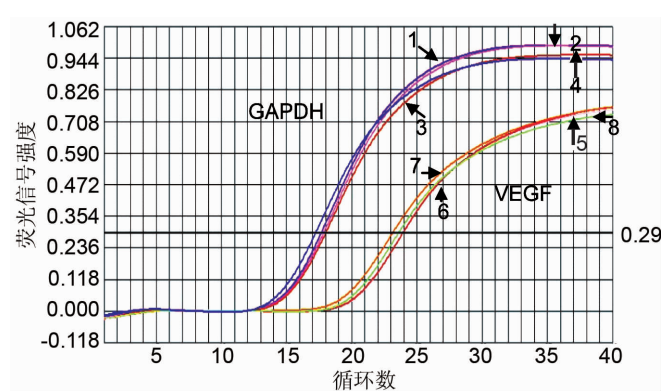


图 2 滑膜细胞总 RNA 的完整性鉴定



注:1,5 为空白对照组;2,6 为薯蓣皂苷片含药血清组;3,7 为雷公藤多苷片含药血清组;4,8 为模型组

图 3 各组滑膜细胞 RSC-364 VEGF mRNA 表达比较

讨 论

成纤维细胞样细胞 (fibroblastlike cells, FLSs) 是一类从 RA 滑膜中分离得到的外观类似成纤维细胞的 B 型滑膜细胞,根据滑膜细胞克隆结果,FLSs 是滑膜细胞主要克隆细胞,而 FLSs 的标志类似于成纤维细胞。FLSs 增殖和分泌在 RA 发病过程中发挥着关键性作用。TNF-α 作为一个重要的炎性细胞因子,可以诱导 FLSs 过度增殖和活化,随后产生大量炎症介质、化学趋化因子,分泌多种基质降解酶等,最终导致关节内炎性细胞聚集、滑膜组织增厚、关节结构破坏,研究表明应用 TNF 拮抗剂可以减轻关节炎症和滑膜组织增生^[4]。此外,TNF-α 还能增强内皮细胞黏附分子的表达,刺激结缔组织和多形核细胞产生前列腺素,而上调 VEGF 以及促进外周血单核细胞分泌 VEGF 从而促进滑膜血管的增生^[5]。IL-17 是由 T 细胞介导激活状态的软骨细胞分泌的前炎症因子,是 RA 患者破骨反应的关键细胞因子,它能刺激上皮细胞、内皮细胞和纤维基质细胞分泌 IL-16、IL-8 和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 等细胞因子,还参与滑膜细胞的增生和诱导基质金属蛋白酶的产生,从而加重关节软骨的破坏^[6,7],因此 IL-17 成为治疗 RA 关节破坏非常重要的靶因子^[8]。本研究选用大鼠成纤维样滑膜细胞株 RSC-364 为研究对象,以 IL-17 和 TNF-α 为刺激因子可促进滑膜细胞的过度增生和产生,释放多种炎性介质,从而模拟了 RA 的炎性滑膜细胞。

NF-κB 是一类具有启动基因转录功能的蛋白质,在 RA 的滑膜细胞中广泛表达,与其调控的细胞因子一同积极参与了关节炎症及损伤反应等病理进程,在 RA 的发病中起关键作用。已有研究表明,NF-κB 可能对血管形成具有核心的调节作用^[2],在胶原诱导型关节炎鼠模型中抑制 NF-κB 的表达,将下调白细胞介素-1β (interleukin-1β, IL-1β) 等炎症因子表达,在高表达 NF-κB 的裸鼠胰腺癌移植瘤中封闭 NF-κB 的表达,将下调 VEGF, IL-8 等多种促血管生成因子,推测 NF-κB 调节通路和 RA 的发生发展密切相关^[9]。本实验选择的阳性对照药物雷公藤是目前治疗 RA 药物中疗效最被肯定的单味中药^[10]。本研究结果证实,薯蓣皂苷片含药血清可以显著降低 RA 细胞模型组 NF-κB p65 的 DNA 结合活性,其效果与雷公藤含药血清组比较,差异无统计学意义,结合 VEGF mRNA 的表达结果,提示薯蓣皂苷片可能通过 NF-κB 途径抑制 RA 血管新生。

STAT3 作为 JAK-STAT 信号转导途径的底物在介导 RA 滑膜细胞信号转导中发挥了重要的作用。研究发现, VEGF 启动子区上存在着 STAT3 的结合位点, STAT3 蛋白通过该结合位点可以直接调节 VEGF 的表达。当在细胞外信号刺激下, STAT3 的酪氨酸基团被磷酸化而激活成磷酸化-STAT3 (p-STAT3) 并在 SH2 区形成同源或异源二聚体, 随后 p-STAT3 蛋白二聚体迅速转位入核结合并诱导下游基因如 VEGF 等的异常高表达^[1]。本研究采用 Western blot 方法检测各细胞组的 STAT3 蛋白水平, 发现薯蓣皂苷片含药血清可以使 RA 细胞模型组 STAT3 蛋白显著下降, 结合 VEGF mRNA 的表达结果, 考虑薯蓣皂苷片可能通过抑制 STAT3 蛋白而降低 VEGF 的分泌, 进而减少 RA 血管新生。

薯蓣皂苷片为穿山龙水溶性总皂苷, 穿山龙为薯蓣科植物穿龙薯蓣的干燥根茎, 其有效成分主要为甾体皂苷类, 具有舒筋活血、祛风止痛、止咳平喘等功效, 主治腰腿疼痛、筋骨麻木、风湿热、跌打损伤等症。本课题组前期研究表明, 穿山龙总皂苷能抑制 RA 新生血管生成与抑制滑膜 VEGF 表达有关^[3], 考虑其调节 VEGF 作用机制可能和 VEGF 生成的信号转导途径有关。因此, 本部分实验通过体外观察薯蓣皂苷片含药血清对 IL-17 和 TNF- α 联合诱导的大鼠滑膜细胞株 RSC-364 NF- κ B p65、STAT3 及 VEGF 表达的影响, 证实了薯蓣皂苷片含药血清可能通过抑制转录因子 NF- κ B p65、STAT3 来调控血管新生关键因子 VEGF 的产生, 进而抑制 RA 血管新生, 但细胞内存在的信号转导通路是复杂精密的调控网络, 关于薯蓣皂苷片抑制 VEGF 的确切调控机制, 仍有待于进一步深入研究。

参 考 文 献

[1] Choi JH, Ahn MJ, Park CK, et al. Phospho-STAT3 expression and correlation with VEGF, p53, and Bcl-2 in gastric carcinoma using tissue

microarray[J]. APMIS, 2006, 114(9): 619-625.

- [2] 赵雅静, 杨林. 核转录因子 NF- κ B 与类风湿性关节炎关系的研究进展[J]. 华北煤炭医学院报, 2008, 10(1): 32-34.
- [3] 董文娟, 梁秀军, 翟泽玲, 等. 穿山龙总皂苷对 CIA 大鼠滑膜血管新生的作用[J]. 承德医学院学报, 2010, 27(4): 360-362.
- [4] 刘益杰, 冯伟, 褚立希, 等. 淫羊藿苷对 IL-1 β 刺激 RA 滑膜成纤维细胞增殖及 TNF- α 和 RANKL 分泌的影响[J]. 上海中医药杂志, 2012, 46(3): 77-80.
- [5] Van Doornum S, McColl G, Wicks IP. Tumor necrosis factor antagonists improve disease activity but not arterial stiffness in rheumatoid arthritis[J]. Rheumatology, 2005, 44(11): 1428-1432.
- [6] Jhun JY, Ju JH, Cho ML, et al. Oral administration of type-II collagen suppresses IL-17-associated RANKL expression of CD4⁺T cells in Collagen-I induced arthritis[J]. Rheum Dis, 2008, 11(1): 240.
- [7] Kirkham BW, Lassere MN, Edmonds JP, et al. Synovial membrane cytokine expression is predictive of joint damage progression in rheumatoid arthritis: a two-year prospective study (the DAM-AGE study cohort)[J]. Arthritis Rheum, 2006, 54(4): 1122-1131.
- [8] Park SJ, Lee YC. Interleukin-17 regulation: an attractive therapeutic approach for asthma[J]. Respir Res, 2010, 11(1): 78.
- [9] Xiong HQ, Abbruzzese JL, Lin E, et al. NF-kappaB activity blockade impairs the angiogenic potential of human pancreatic cancer cells[J]. Int J Cancer, 2004, 108(2): 181-188.
- [10] 张前德, 时彦标, 谈文峰, 等. 雷公藤甲素对类风湿关节炎滑膜成纤维细胞系 MH7A 中 VEGF、MMP-9 水平变化的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2008, 28(7): 902-905.

(收稿: 2012-06-24 修回: 2012-09-29)