

引用:朱博玉,陈薇薇,刘智超,常靖升,黄慧萍.复方生地合剂对MRL/lpr小鼠Janus激酶/信号转导和转录激活因子信号通路的影响[J].中医导报,2025,31(8):41-46.

复方生地合剂对MRL/lpr小鼠Janus激酶/信号转导和转录激活因子信号通路的影响*

朱博玉,陈薇薇,刘智超,常靖升,黄慧萍
(上海中医药大学附属市中医医院,上海 200071)

[摘要] 目的:探讨复方生地合剂对MRL/lpr小鼠Janus激酶(JAK)/信号转导和转录激活因子(STAT)信号通路的影响。方法:将30只MRL/lpr小鼠随机分组为模型组、复方生地合剂组、强的松组,每组10只;取10只雌性C57BL/6小鼠作为空白组。复方生地合剂组小鼠予复方生地合剂药液灌胃(27.7 g/kg),强的松组小鼠予强的松片混悬液灌胃(12.3 mg/kg),模型组、空白组小鼠予0.9%氯化钠溶液灌胃(0.3 mL/次),各组均每日给药1次,灌胃8周。观察各组小鼠一般情况、死亡情况、脾脏指数;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测血清白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-17(IL-17)、抗ds-DNA、免疫球蛋白G(IgG)水平;采用Western blotting检测小鼠Janus激酶2(JAK2)、磷酸化Janus激酶2(p-JAK2)、信号转导和转录激活因子1(STAT1)和磷酸化信号转导和转录激活因子1(p-STAT1)蛋白表达;采用HE染色观察肾脏病理变化;采用免疫组化染色检测p-JAK2阳性表达。结果:模型组、复方生地合剂组、强的松组各有1只小鼠死亡,空白组无小鼠死亡。模型组小鼠脾脏指数高于空白组($P<0.05$);复方生地合剂组、强的松组小鼠脾脏指数均低于模型组($P<0.05$)。模型组小鼠血清IL-17、IgG、抗ds-DNA水平高于空白组,IL-2水平低于空白组($P<0.05$);复方生地合剂组、强的松组小鼠血清IL-17、IgG、ds-DNA水平均低于模型组($P<0.05$),IL-2水平高于模型组($P<0.05$)。模型组小鼠肾脏组织JAK2、p-JAK2、STAT1及p-STAT1蛋白相对表达量高于空白组($P<0.05$);复方生地合剂组、强的松组小鼠肾脏组织JAK2、p-JAK2、STAT1及p-STAT1蛋白相对表达量均低于模型组($P<0.05$)。模型组小鼠肾脏组织p-JAK2阳性表达水平高于空白组($P<0.05$);复方生地合剂组、强的松组小鼠肾脏组织p-JAK2阳性表达水平均低于模型组($P<0.05$)。模型组肾脏病理显示系膜细胞及内皮细胞增生,大范围炎症细胞浸润;复方生地合剂组、强的松组可见少量系膜细胞及内皮细胞增生,轻微炎症细胞浸润,轻度肾小管变性。结论:复方生地合剂可能通过抑制JAK2/STAT1信号通路,抑制MRL/lpr小鼠相关炎症因子和抗体表达。

[关键词] 系统性红斑狼疮;复方生地合剂;蛋白酪氨酸激酶2;信号转导与转录活化因子1;MRL/lpr小鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)08-0041-06

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.08.007

Effect of Compound Shengdi Mixture (复方生地合剂) on JAK2/STAT1 Pathway in MRL/lpr Mice

ZHU Boyu, CHEN Weiwei, LIU Zhichao, CHANG Jingsheng, HUANG Huiping

(Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China)

[Abstract] Objective: To explore effect of compound Shengdi mixture (CSM) on janus kinase (JAK)/signal transduction and activator of transcription (STAT) in mice of systemic lupus erythematosus. Methods: Totally 30 MRL/lpr mice were randomly divided into model group, CSM group and prednisone group, with 10 mice in each group. And 10 female C57BL/6 mice were used as blank group. The mice were given CSM liquid medicine (27.7 g/kg) by gavage in CSM group, and prednisone tablet suspension (12.3 mg/kg) by gavage in prednisone group. The mice were given 0.9% sodium chloride solution by gavage (0.3 mL per time) in the model group and blank group, once a day for 8 weeks. The general situation, death and spleen index were observed. The levels of interleukin-2 (IL-2), interleukin-17 (IL-17), anti-ds-DNA and immunoglobulin G (IgG) in serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Western blotting was used to detect the expression

*基金项目:上海医学创新发展基金会中医药科技发展项目(WL-YJXYS-2021005K);上海医学创新发展基金会中医药传承发展项目(WLJH2021ZY-MZY037);上海市医院中药制剂产业转化协同创新中心项目(K211009N)

通信作者:陈薇薇,女,主任医师,研究方向为中医药治疗风湿免疫性疾病

of janus kinase 2 (JAK2), phosphorylated JAK2 (p-JAK2), signal transduction and activator of transcription 1 (STAT1) and phosphorylated STAT1 (p-STAT1) proteins in mice. HE staining was used to observe the pathological changes of kidney tissue. Immunohistochemical staining was used to detect the positive expression of p-JAK2. Results: There was one mouse died in the model group, CSM group and prednisone group, and there was no mouse died in blank group. The model group showed higher spleen index than blank group ($P<0.05$). The CSM group and prednisone group showed lower spleen index than model group ($P<0.05$). The model group showed higher levels of serum IL-17, IgG and anti-ds-DNA than blank group, while lower level of IL-2 than blank group ($P<0.05$). The CSM group and prednisone group showed lower levels of serum IL-17, IgG and anti-ds-DNA than model group, while higher level of IL-2 than model group ($P<0.05$). The model group showed higher protein contents of JAK2, p-JAK2, STAT1 and p-STAT1 in renal tissue than blank group ($P<0.05$). The CSM group and prednisone group showed lower protein contents of JAK2, p-JAK2, STAT1 and p-STAT1 in renal tissue than model group ($P<0.05$). The model group showed higher positive expression of p-JAK2 in kidney than blank group ($P<0.05$). The CSM group and prednisone group showed lower positive expression of p-JAK2 in kidney than model group ($P<0.05$). Renal pathology in model group showed that mesangial cells and endothelial cells proliferated and inflammatory cells infiltrated in a large range. In CSM group and prednisone group, a small amount of mesangial cells and endothelial cells proliferated, with slight inflammatory infiltration and mild renal tubular degeneration. Conclusion: Compound Shengdi mixture may inhibit the expression of inflammatory factors and antibodies through inhibition of JAK2/STAT1 pathway.

[Keywords] systemic lupus erythematosus; compound Shengdi mixture; janus kinase 2; signal transduction and activator of transcription 1; MRL/lpr mice

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种由免疫系统过度激活引起,以全身多系统、脏器受累、反复的复发与缓解、自身抗体和免疫复合物增加以及器官功能障碍为主要临床特点的自身免疫性疾病^[1]。不同地域、种族之间的患病率稍有差异,全球SLE患病率为43.7(15.87~108.92)/100 000,受影响人口为341万^[2]。SLE的发生发展过程复杂,细胞因子紊乱是其重要分子机制。Janus激酶(janus kinase, JAK)/信号转导和转录激活因子(signal transduction and activator of transcription, STAT)信号通路是多细胞因子共用的一条信号转导途径,由4种JAK激酶和7种STATs家族成员组成,参与了机体信号转导、转录调控、免疫应答。许多SLE相关的细胞因子依赖于JAK/STAT通路发挥作用,故而JAK/STAT通路在SLE发病机制中具有重要的桥梁作用,同时JAK/STAT通路也是治疗SLE的重要靶点^[3]。目前, SLE的治疗方法主要包括使用糖皮质激素、非甾体抗炎药、免疫抑制剂、抗疟药和生物制剂^[4]。然而激素和细胞毒性药物的长期使用往往会导致各种不良反应,且疾病反复发作和药物相关器官损伤的积累,会导致难治性SLE。患者的生活质量下降是SLE亟待解决的一个重要问题^[5]。因此,目前SLE的治疗策略侧重于实现明确的缓解状态或低疾病活动度,这恰恰是中医药在控制病程、改善症状、减轻激素毒副作用方面的独特优势^[6]。上海市名中医沈丕安教授以《黄帝内经》“邪入于阴则痹”以及朱丹溪“阳常有余,阴常不足”为理论基础,以“阴虚”立论,强调SLE的病机以阴虚为主,确定了“养阴滋肾,清热通络”为治疗大法。沈丕安在经验方红斑汤基础上创制了复方生地合剂。前期研究^[7-8]显示,复方生地合剂可以改善SLE患者临床症状,降低抗体水平,辅助激素减量,改善辅助性T细胞17(T helper cells 17, Th17)和调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)平衡。据此,本研究通过

MRL/lpr小鼠验证复方生地合剂治疗SLE的可能作用机制,旨在为该方的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物 SPF级雌性MRL/lpr小鼠30只,12周龄,体重为(34.12±3.49)g, SPF级雌性C57BL/6小鼠10只,12周龄,体重为(20.77±0.79)g。动物购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,实验动物生产许可证号:SCXK(沪)2022-0004。实验动物质量合格证号:20220004009149。小鼠饲养于上海市中医医院SPF级动物房,饲养温度20~26℃,湿度为40%~70%,昼夜明暗交替12 h/12 h,自由饮食饮水。本实验经上海市中医医院实验动物伦理委员会批准(2022005)。

1.2 药物 复方生地合剂组成:生地黄30 g,石膏30 g,忍冬藤30 g。生地黄(上海虹桥中药饮片有限公司,批号:240901);石膏(上海余天成中药饮片有限公司,批号:2024072820);忍冬藤(上海德大堂国药有限公司,批号:24050805)。中药经朱海青副主任药师鉴定为正品。中药由上海中医药大学附属市中医医院中药制剂室制备成质量浓度为1.5 g/mL的溶液(批号:Z06190008)。强的松片(上海上药信谊药厂有限公司,批号:H31020675)。10 mg强的松片溶于8.1 mL纯净水中配制成质量浓度为1.23 mg/mL的混悬液。

1.3 试剂 小鼠白细胞介素-2(interleukin-2, IL-2)酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunospot assay, ELISA)试剂盒(批号:U96-1498E)、小鼠抗双链DNA-IgG抗体ELISA试剂盒(批号:U96-3156E)均购自攸碧艾(上海)贸易有限公司;小鼠白细胞介素-17(interleukin-17, IL-17)ELISA试剂盒(批号:PI545)、小鼠免疫球蛋白G(IgG)ELISA试剂盒(批号:PI480)、Quick Block TMWeste一抗稀释液(批号:P0256)、Quick Block TMWeste二抗稀释液(批号:P0258)均购自上海碧云天生物技

术有限公司;重组抗Janus激酶2(JAK2)抗体(批号:ab108596)、重组抗JAK2(phospho Y1007+Y1008)抗体(批号:ab32101)、重组抗信号转导和转录激活因子1(STAT1)抗体(批号:ab281999)、重组抗STAT1(phospho S727)抗体(批号:ab109461)、山羊抗兔IgG(批号:ab6702)均购自英国Abcam公司;Thermo 26616 RageRuler预染marker(批号:26616)购自赛默飞世尔科技公司;无水乙醇(批号:934947)、甲醇(批号:C-94686)、二甲苯(批号:C-00504)均购自上海一研化工厂;Mayer苏木素染色液(批号:BSBA-4021)、伊红染色液(批号:ZLI-9613)均购自中山金桥生物技术有限公司。

1.4 主要仪器 酶标仪(美国BioTek Instruments公司,型号:Epoch 2);转移电泳槽(赛维尔生物技术有限公司,型号:XinPOWER-600&XinPRO-4);正置光学显微镜(德国徕卡公司,型号:Leica DM6B);显微照相仪(日本OLYMPUS公司,型号:IX73);快速研磨仪(上海净信实业发展有限公司,型号:JXFSTPRP-48);隔水式恒温培养箱(上海精宏实验设备有限公司,型号:DNP-9162);漩涡振荡器(上海青浦沪西仪器厂,型号:Vortex-11)。

2 方 法

2.1 分组及给药 采用随机数字表法将30只MRL/lpr小鼠分为模型组、复方生地合剂组、强的松组,每组10只;10只C57BL/6小鼠设为空白组。按人与小鼠等效剂量计算给药量,复方生地合剂组以人临床剂量(2.25 g/kg)计算出小鼠复方生地合剂药液灌胃剂量为27.7 g/kg,强的松组以人临床剂量(1 mg/kg)计算出小鼠强的松片混悬液灌胃剂量为12.3 mg/kg,模型组和空白组予0.9%氯化钠溶液灌胃(0.3 mL/次),各组均每天灌胃1次,连续8周。

2.2 取材 各组小鼠最后一次灌胃结束后,禁食不禁水12 h,以1%戊巴比妥钠(0.3 mL/100 g)腹腔注射进行麻醉,麻醉后取眼眶血2 mL,立即剪开腹部及胸骨,充分暴露心脏,快速灌洗生理盐水25 mL,随后取脾脏、双侧肾脏。脾脏用生理盐水冲洗后用滤纸吸干水分,测量其质量;右侧肾脏固定于4%多聚甲醛中;左侧肾脏-80℃冻存。

2.3 小鼠一般情况及脾脏指数 实验期间观察小鼠一般情况、死亡情况等。末次给药后取脾脏,计算脾脏指数。脾脏指数=脾脏质量(mg)/体重(g)。

2.4 血清IL-2、IL-17、抗ds-DNA抗体、IgG水平 取眼眶血室温静置2 h后,4℃,3 000 r/min(离心半径为10 cm)离心20 min,取上层血清,置于超低温冰箱-80℃冻存。检测时按照ELISA试剂盒说明书进行加样、温育、洗涤、显色等操作,检测血清IL-2、IL-17、抗ds-DNA抗体、IgG水平。

2.5 小鼠肾组织JAK2、磷酸化JAK2(p-JAK2)、STAT1和磷酸化STAT1(p-STAT1)蛋白表达 采用Western blotting检测小鼠肾组织JAK2、p-JAK2、STAT1和p-STAT1蛋白表达。将肾皮质组织80 mg置于蛋白裂解液、蛋白酶抑制剂中匀浆并静置2 h后提取蛋白,4℃,13 000×g离心15 min后取上清液,核酸蛋白浓度测定仪检测提取液中的总蛋白浓度,并依次进行电泳、转膜、封闭。JAK2、p-JAK2、STAT1和p-STAT1一抗按说明书稀释(1:1 000),4℃孵育过夜,TBST洗脱3次后,孵育相应二抗(1:3 000),再用TBST洗脱3次,浸泡ECL发光液中,并用Image

Lab软件采集图像,用Image J软件计算条带的灰度值。

2.6 HE染色 肾组织在4%多聚甲醛溶液中固定48 h,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,制备4 μm切片,烤箱60℃烤片6 h,脱蜡复水,染色,中性树脂封片,60℃烤箱过夜,显微镜下观察肾组织形态。

2.7 免疫组化染色 固定后的肾组织石蜡切片用二甲苯脱蜡,乙醇复水,柠檬酸高温高压修复,过氧化氢阻断内源性过氧化物酶,滴加封闭液封闭,滴加p-JAK2一抗,4℃孵育过夜,切片用HRP标记二抗室温孵育1 h,光学显微镜下观察,阳性表达呈棕黄色,采集图像分析平均光密度。

2.8 统计学方法 采用SPSS 26.0统计软件分析数据,计量资料符合正态分布且方差齐时,多组计量资料比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),组间比较采用LSD法;方差不齐时,组间比较采用Dunnett's T3法,不符合正态分布时,采用非参数检验(Nonparametric Tests),组间比较采用Kruskal Wallis 1-way ANOVA(k samples)。P<0.05为差异有统计学意义。采用Graph Pad Prism9绘制图片。

3 结 果

3.1 一般情况和脾脏指数 空白组小鼠精神状态良好,毛色光泽,运动灵活;模型组1只小鼠在第3周死亡;复方生地合剂组1只小鼠在第5周死亡;强的松组1只小鼠在第7周死亡。模型组、复方生地合剂组、强的松组各有9只小鼠存活至实验终点。死亡小鼠毛发脱落、皮肤血管炎、浅表淋巴结肿大症状明显,死亡前1周均有体质量下降、活动力下降现象。

模型组小鼠脾脏指数高于空白组($P<0.05$);复方生地合剂组、强的松组小鼠脾脏指数均低于模型组($P<0.05$)。(见表1)

表1 各组小鼠脾脏指数比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	脾脏指数/(mg/g)
空白组	10	5.74±0.16
模型组	9	8.37±0.24 ^a
复方生地合剂组	9	7.47±0.24 ^b
强的松组	9	7.00±0.17 ^b
F		262.701
P		0.000

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$ 。

3.2 各组小鼠血清IL-2、IL-17、IgG、抗ds-DNA水平比较 模型组小鼠血清IL-17、IgG、抗ds-DNA水平高于空白组($P<0.05$),IL-2水平低于空白组($P<0.05$);复方生地合剂组、强的松组小鼠血清IL-17、IgG、ds-DNA水平均低于模型组($P<0.05$),IL-2水平均高于模型组($P<0.05$)。(见表2)

表2 各组小鼠血清IL-2、IL-17、IgG、抗ds-DNA水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	IL-17/(pg/mL)	IL-2/(pg/mL)	IgG/(ng/mL)	抗ds-DNA/(ng/mL)
空白组	10	317.66±156.17	7 050.31±1 096.16	89.10±3.24	705.89±140.02
模型组	9	3 174.57±1 217.44 ^a	2 431.85±519.37 ^a	187.40±9.25 ^a	5 856.18±1458.02 ^a
复方生地合剂组	9	846.56±277.11 ^b	3 424.97±766.47 ^b	159.55±5.40 ^b	3 500.57±228.08 ^b
强的松组	9	665.79±390.28 ^b	4 706.71±1 024.16 ^b	127.60±28.76 ^b	2 620.40±138.55 ^b
F		30.878	40.991	60.141	76.881
P		0.000	0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$ 。

3.3 各组小鼠肾组织 JAK2、p-JAK2、STAT1 及 p-STAT1 蛋白相对表达量比较 模型组小鼠肾组织 JAK2、p-JAK2、STAT1 及 p-STAT1 蛋白相对表达量高于空白组 ($P<0.05$); 复方生地合剂组、强的松组小鼠肾组织 JAK2、p-JAK2、STAT1 及 p-STAT1 蛋白相对表达量均低于模型组 ($P<0.05$)。(见图 1、表 3)

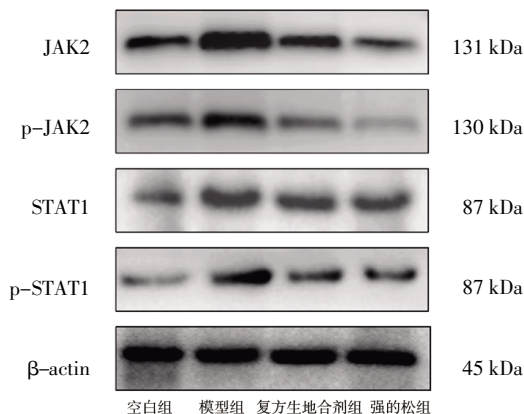


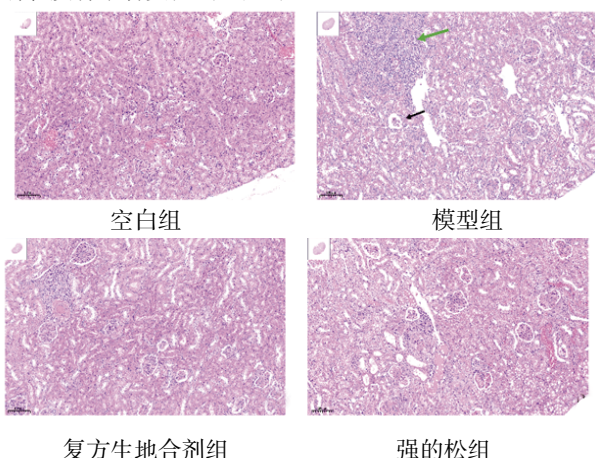
图 1 各组小鼠肾组织 JAK2、p-JAK2、STAT1 及 p-STAT1 蛋白表达 Western blotting 图

表 3 各组小鼠肾组织 JAK2、p-JAK2、STAT1 及 p-STAT1 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	JAK2/β-actin	p-JAK2/β-actin	STAT1/β-actin	p-STAT1/β-actin
空白组	10	0.67 ± 0.18	0.84 ± 0.03	0.63 ± 0.15	0.57 ± 0.26
模型组	9	1.44 ± 0.19 ^a	1.29 ± 0.13 ^a	1.17 ± 0.03 ^a	1.14 ± 0.14 ^a
复方生地合剂组	9	0.74 ± 0.19 ^b	0.84 ± 0.13 ^b	0.78 ± 0.14 ^b	0.52 ± 0.11 ^b
强的松组	9	0.50 ± 0.15 ^b	0.52 ± 0.18 ^b	0.72 ± 0.13 ^b	0.41 ± 0.07 ^b
F		16.675	17.641	11.287	12.409
P		0.001	0.001	0.003	0.002

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$ 。

3.4 各组小鼠肾组织病理损伤程度 模型组小鼠肾组织出现大量淋巴细胞及少量浆细胞浸润,可见肾小球萎缩,大量肾小球系膜细胞增生,肾小管空泡变性;复方生地合剂组、强的松组可见少量系膜细胞及内皮细胞增生,轻微炎症细胞浸润,轻度肾小管变性。(见图 2)



注:绿色箭头为炎症细胞浸润,黑色箭头为肾小球萎缩。

图 2 各组小鼠肾脏病理形态学结果 (HE, ×20)

3.5 各组小鼠肾组织 p-JAK2 阳性表达水平比较 免疫组化染色结果显示, p-JAK2 主要表达于细胞质、细胞核。模型组小

鼠肾组织 p-JAK2 阳性表达水平高于空白组 ($P<0.05$); 复方生地合剂组、强的松组小鼠肾组织 p-JAK2 阳性表达水平均低于模型组 ($P<0.05$)。(见图 3、表 4)

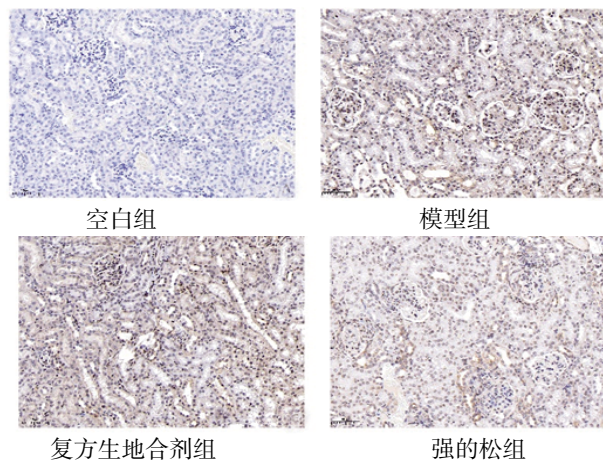


图 3 各组小鼠肾组织 p-JAK2 阳性表达 (免疫组化, ×30)

表 4 各组小鼠肾组织 p-JAK2 阳性表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	p-JAK2
空白组	10	0.16 ± 0.01
模型组	9	0.29 ± 0.01 ^a
复方生地合剂组	9	0.25 ± 0.01 ^b
强的松组	9	0.26 ± 0.01 ^b
F		125.648
P		0.001

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$ 。

4 讨 论

SLE 是典型的自身免疫介导的慢性弥漫性结缔组织病, 临床表现异质性强, 包括肾脏、皮肤、神经精神和心血管等多器官或多系统的不同症状。在 SLE 的免疫环境中, 自身反应性 T 细胞、B 细胞被激活, 产生大量自身抗体, 与抗原结合为免疫复合物。免疫复合物广泛沉积于多个组织、脏器, 引起全身血管炎性损伤^[9-10]。中医古代文献对于 SLE 虽没有系统的论述, 但诸多古籍中有类似记载, 如《金匮要略》中描述的“阴阳毒”以及《诸病源候论》中描述的“赤丹”均与 SLE 相关。沈丕安教授总结 SLE 的症状、体征和发病机理, 以“红斑痹”作为 SLE 的中医病名, 并将其病机概括为“4+1”致痹理论。其中“1”为本虚, 即机体肾阴不足是发病的根本原因; “4”为标实, 分别为热、瘀、痰、毒。二者相合, 造成血络瘀滞, 经脉痹阻, 在外则损伤皮肤经络, 在内则损耗营血和脏腑^[11]。复方生地合剂由生地黄、生石膏、忍冬藤组成。生地黄性味甘、寒, 重用为君药, 可直入血分, 达到清热凉血、养阴生津之效。生地黄对 SLE 引起的发热、红斑皮疹、紫斑瘀点、关节疼痛、蛋白尿均有良好的治疗效果^[12]。现代药理研究发现, 生地黄 95% 乙醇部位具有免疫抑制作用^[13]。生石膏性味辛甘、大寒, 具有清热泻火、除烦止渴之功效, 是清气分实热之首选。生石膏在此方中与凉血分之热的生地黄配伍, 可达到气血两清的目的, 同时其清热的同时不伤津液, 可保护 SLE 阴虚为本的内环境。忍冬藤性味甘、凉, 通经脉而调气血, 乃宣通经脉之药, 为本方之佐使药。忍冬藤与生地黄、生石膏相伍, 可加强清热、解毒、通络作

用,并具引经之用,引主药以入血脉。现代药理研究发现忍冬藤具有抗炎作用^[14]。三药相配,共奏养阴清热、凉血解毒、疏风通络之效^[15]。

MRL/lpr小鼠是SLE的自发性小鼠疾病模型,其因缺失Fas基因而引起淋巴结炎,以及T细胞、B细胞活化等表现。病理改变与人类SLE相似,故本实验采用MRL/lpr小鼠作为模型组,以保证病情一致性^[16]。狼疮性肾炎(lupus nephritis, LN)是SLE最常见且最严重的并发症之一,是治疗SLE的关键点^[17]。SLE患者及狼疮小鼠中存在IL-2产生缺陷, Th17活化增殖,以及Treg减少。上述变化可诱导组织炎症和免疫反应。这在SLE的发病过程中发挥着重要作用^[18]。本研究发现MRL/lpr小鼠的肾组织出大量炎症细胞浸润,肾小球系膜细胞增生,肾小管空泡变性;血清IL-2明显减少。经复方生地合剂、强的松干预后,血清IL-2含量增加,肾组织炎症细胞浸润减少,肾组织结构破坏减轻,表明复方生地合剂可有效改善SLE炎症反应和肾脏损伤。

JAK/STAT信号转导通路是目前研究最多、理解最深入的细胞功能中的通信节点之一^[19]。当细胞因子与其受体结合时,受体分子发生二聚体化并与受体偶联的JAK激酶相互接近并通过酪氨酸磷酸化作用而活化,然后STAT与其结合并完成自身的磷酸化,再形成二聚体,易位至细胞核,与相应的靶基因启动子区域结合而激活相应基因的转录和表达(pSTAT经典通路)^[20]。SLE机体内干扰素、白介素、生长因子等多种细胞因子的激活均有赖于JAK/STAT信号通路的介导^[21],因此,深入研究JAK/STAT信号通路不仅将有助于阐明SLE的发病机制,还能为开发更安全有效药物奠定基础^[22]。JAK/STAT抑制剂现已广泛在临床应用,可阻断SLE异常免疫过程。如抑制JAK1/3的托法替布,可降低疾病活动度,改善皮肤、关节受累情况,并帮助激素减量^[23];托法替尼可降低高密度脂蛋白和胆固醇水平,减少血清中性粒细胞胞外诱捕网(Neutrophil extracellular traps, NETs)数量^[24];巴瑞替尼可选择性抑制JAK1和JAK2,提高关节炎和皮疹的缓解率,改善SLE反应指数(SLE response index, SRI)标准、医师整体评估(physician global assessment, PGA)、狼疮低疾病活动状态(lupus low disease activity status, LLDAS)^[25]。本实验结果显示, MRL/lpr小鼠除了脾脏指数、抗ds-DNA、IgG水平明显增高等表现外,肾组织中JAK2、p-JAK2、STAT1和p-STAT1蛋白含量明显增加,可见JAK/STAT通路参与了SLE发病的分子机制。经复方生地合剂干预后,小鼠血清IL-17、抗ds-DNA、IgG水平降低,表明复方生地合剂具有抑制免疫反应、改善病情的作用。这与既往研究^[26]结果一致。同时,复方生地合剂组、强的松组小鼠肾组织JAK2、p-JAK2、STAT1及p-STAT1蛋白相对表达量均低于模型组,可见复方生地合剂可能通过抑制JAK2/STAT1信号通路,发挥治疗SLE的作用。

综上所述,复方生地合剂可能通过抑制JAK2/STAT1信号通路,减少SLE的相关炎症因子和抗体表达,从而改善SLE疾病活动度。然而本实验仍存在不足:复方生地合剂作为中药

复方,其具体有效成分尚不明确,后续研究需要进一步明确有效成分;复方生地合剂可改善IL-2缺乏,但JAK/STAT与1型干扰素的关系更加密切,与IL-2的具体介导机制仍有待研究^[27];此外, SLE发病机制中JAK/STAT信号通路受到多种因素的调控,并与其他多条信号途径存在复杂的交汇作用,其调控机制与其他信号通路的相互影响也需进一步探索。后续研究可通过体外实验、质谱分析等方法深入研究复方生地合剂治疗SLE的分子机制,从而为临床用药提供科学依据。

参考文献

- [1] FANOURIKIS A, KOSTOPOULOU M, ANDERSEN J, et al. EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus: 2023 update[J]. Ann Rheum Dis, 2024, 83(1): 15-29.
- [2] TIAN J R, ZHANG D Y, YAO X, et al. Global epidemiology of systemic lupus erythematosus: A comprehensive systematic analysis and modelling study [J]. Ann Rheum Dis, 2023, 82(3): 351-356.
- [3] GOROPEVŠEK A, HOLCAR M, PAHOR A, et al. STAT signaling as a marker of SLE disease severity and implications for clinical therapy[J]. Autoimmun Rev, 2019, 18(2): 144-154.
- [4] FANOURIKIS 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.
- [5] KOSTOPOULOU M, MUKHTYAR C B, BERTSIAS G, et al. Management of systemic lupus erythematosus: A systematic literature review informing the 2023 update of the EULAR recommendations[J]. Ann Rheum Dis, 2024, 83(11): 1489-1501.
- [6] ZHU B Y, LIU Z C, ZHAO Z X, et al. Pharmacological mechanism of Chinese medicine in systemic lupus erythematosus: A narrative review[J]. Chin J Integr Med, 2025, 31(2): 157-169.
- [7] 吴菲雅, 苏晓. 复方生地合剂治疗系统性红斑狼疮(阴虚内热型)的疗效及安全性评价[J]. 风湿病与关节炎, 2017, 6(8): 27-31.
- [8] 陈薇薇, 肖小莉, 苏励, 等. 复方生地合剂对MRL/lpr小鼠脾脏组织Th17/Treg平衡的影响[J]. 中医杂志, 2020, 61(6): 519-523.
- [9] COZZANI E, DROSERA M, GASPARINI G, et al. Serology of lupus erythematosus: Correlation between immunopathological features and clinical aspects[J]. Autoimmune Dis, 2014, 2014: 321359.
- [10] FURMENT M M, PERL A. Immunometabolism of systemic lupus erythematosus[J]. Clin Immunol, 2024, 261:

- 109939.
- [11] 陈薇薇,沈丕安,苏晓.沈丕安从痹辨治系统性红斑狼疮学术经验[J].上海中医药杂志,2018,52(4):2-5,1.
- [12] 唐华燕,姚重华,沈丕安.沈丕安名中医重用生地黄在风湿病治疗中的经验摘要[J].风湿病与关节炎,2022,11(3):37-40.
- [13] 郑晓珂,贾玉光,冯志毅,等.生地黄免疫抑制活性部位HPLC指纹图谱研究[J].中药材,2013,36(12):1933-1936.
- [14] 陈焰.金银花与忍冬藤的药理作用差异简述[J].中国继续医学教育,2017,9(17):198-199.
- [15] 苏晓,陈薇薇,杨旭鸣,等.复方生地合剂联合西药治疗系统性红斑狼疮阴虚内热型33例临床观察[J].中医杂志,2015,56(14):1212-1215.
- [16] 邝少松,杨林,严家荣,等.系统性红斑狼疮MRL/lpr小鼠的免疫作用机制[J].中国比较医学杂志,2018,28(4):38-42.
- [17] HARADA T, YAMASHITA H, NAKAJIMA S, et al. Lupus nephritis prolongs improvement of serositis in systemic lupus erythematosus[J]. Joint Bone Spine,2024,91(4):105727.
- [18] 曾君,翟志芳.IL-2在系统性红斑狼疮中的作用研究进展[J].中国免疫学杂志,2022,38(8):1012-1016.
- [19] FORTELNY N, FARLIK M, FIFE V, et al. JAK-STAT signaling maintains homeostasis in T cells and macrophages[J]. Nat Immunol,2024,25(5):847-859.
- [20] PHILIPS R L, WANG Y X, CHEON H, et al. The JAK-STAT pathway at 30: Much learned, much more to do[J]. Cell,2022,185(21):3857-3876.
- [21] 夏文,胡伟新.Janus激酶抑制剂治疗系统性红斑狼疮的研究进展[J].肾脏病与透析肾移植杂志,2024,33(1):64-70.
- [22] 李海东,王旭,王艺睿,等.芦丁通过抑制JAK2-STAT3信号通路活性改善MRL/lpr狼疮小鼠的肾损伤[J].医药导报,2023,42(2):160-166.
- [23] YOU H X, ZHANG G Z, WANG Q, et al. Successful treatment of arthritis and rash with tofacitinib in systemic lupus erythematosus: The experience from a single centre[J]. Ann Rheum Dis,2019,78(10):1441-1443.
- [24] HASNI S A, GUPTA S, DAVIS M, et al. Phase 1 double-blind randomized safety trial of the Janus kinase inhibitor tofacitinib in systemic lupus erythematosus[J]. Nat Commun,2021,12:3391.
- [25] RICHTER P, CARDONEANU A, BURLUI A M, et al. Why do we need JAK inhibitors in systemic lupus erythematosus?[J]. Int J Mol Sci,2022,23(19):11788.
- [26] 陈薇薇,肖小莉,苏励,等.复方生地合剂从TLR-NF- κ B通路调节MRL/lpr小鼠Th17/Treg平衡[J].中华中医药杂志,2020,35(10):5270-5273.
- [27] LIU W P, ZHANG S M, WANG J B. IFN- γ , should not be ignored in SLE[J]. Front Immunol,2022,13:954706.
- (收稿日期:2024-12-20 编辑:蒋凯彪)

(上接第16页)

- [20] HU Y, WANG S X, WU L, et al. Puerarin inhibits inflammation and lipid accumulation in alcoholic liver disease through regulating MMP8[J]. Chin J Nat Med,2023,21(9):670-681.
- [21] CHENG L, YANG Q L, LI C H, et al. Preparation, structural characterization, bioactivities, and applications of *Crataegus* spp. polysaccharides: A review[J]. Int J Biol Macromol,2023,253(Pt 2):126671.
- [22] KUO D H, YEH C H, SHIEH P C, et al. Effect of Shanzha, a Chinese herbal product, on obesity and dyslipidemia in hamsters receiving high-fat diet[J]. J Ethnopharmacol,2009,124(3):544-550.
- [23] DEHGHANI S, MEHRI S, HOSSEINZADEH H. The effects of *Crataegus pinnatifida* (Chinese hawthorn) on metabolic syndrome: A review[J]. IranJ Basic Med Sci,2019,22(5):460-468.
- [24] YEH Y T, CHIANG A N, HSIEH S C. Chinese olive (*Canarium album* L.) fruit extract attenuates metabolic dysfunction in diabetic rats[J]. Nutrients,2017,9(10):1123.
- (收稿日期:2024-11-21 编辑:罗英姣)