

松节方提取物对炎症动物模型的抗炎作用及机制探讨

莫宗成,梅小利,黄文涛,吴思澜,王敏,黄崇刚*

重庆市中药研究院 国家中医药管理局中药药理三级实验室,重庆 400065

摘要:该文旨在评价松节方提取物(SJF)的抗炎镇痛作用,尤其是对关节炎的抑制作用,并初步探讨其作用机制。采用二甲苯诱导的小鼠耳肿胀模型、醋酸诱导的小鼠疼痛模型、鸡 II 型胶原(CCII)诱导的大鼠关节炎模型,观察松节方提取物的体内抗炎镇痛活性和抗关节炎的作用,检测大鼠血清 TNF- α 、INF- γ 、IL-10、IL-1 β 含量,观察大鼠踝关节组织病理学变化。结果表明松节方提取物可减轻上述模型的炎症及疼痛症状,抑制 CCII 致关节炎大鼠滑膜组织炎性细胞浸润和滑膜组织增生,能显著降低关节炎大鼠血清 TNF- α 、INF- γ 、IL-1 β 含量,升高血清 IL-10 含量。说明松节方提取物具有较好的抗炎镇痛作用,可明显抑制 CCII 所致大鼠关节炎,降低其关节组织损伤程度,其机制可能与调节炎症因子表达相关。

关键词:关节炎;松节方;提取物;抗炎;机制

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.2.022

Anti-inflammatory Effect and Mechanism of SongJieFang Extract in Animal Inflammation Models

MO Zong-cheng, MEI Xiao-li, HUANG Wen-tao, WU Si-lan, WANG Min, HUANG Chong-gang*

*Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chinese Medicine Management**Bureau of the Three grade Laboratory, Chongqing 400065, China*

Abstract: The aim of this study was to evaluate the anti-inflammatory and analgesic effects of SongJieFang (SJF) extracts, especially the inhibitory effect on rheumatoid arthritis, and to explore its mechanism. Three artificially induced models were used to evaluate the effects, including Murine Ear Edema Model induced by xylene, Murine Pain Model induced by acetic acid and Rat Rheumatoid Arthritis Model induced by chicken collagen II. The levels of TNF- α , INF- γ , IL-10 and IL-1 β in serum were detected and the histopathological changes of the ankle joint were observed. The results showed that SJF extract can reduce the inflammation and pain of the above model, inhibit the inflammatory cell infiltration and tissue hyperplasia in synovium in Rat Rheumatoid Arthritis Model, and significantly decrease the serum TNF- α and INF- γ , IL-1 β levels, but increased serum IL-10 levels. These results suggested that SJF extract can inhibit the arthritis in Rat Rheumatoid Arthritis Model and reduce the degree of joint injury. The mechanism may be related to the regulation of inflammatory factor expression.

Key words: rheumatoid arthritis; SongJieFang; extract; anti-inflammation; mechanism

关节炎是一种由多种因素引起关节炎性病变的慢性疾病,以关节红肿、热、痛和功能障碍为主要表现,其发病率高,致病机制复杂,最常见的是骨关节炎和类风湿性关节炎。中医将之归属于属痹证范畴,临床分型主要分为风寒湿痹、风湿热痹、瘀血阻络等型。松节方源于《外台秘要》,有散寒祛风除湿、通经活络之功效,善治风寒湿痹。前期我们研究了方中各药材的有效组分及其配比,得出三味药材

抗炎镇痛作用较强的提取部位分别为羌活水提部位、独活乙酸乙酯部位、松节正己烷部位,其按生药含量 1:1:1 的比例进行组合后抗炎镇痛作用尤为显著。为了进一步阐明松节方的作用,我们对松节方提取物(SJF)的抗炎镇痛作用及其对大鼠佐剂性关节炎的保护作用进行评价,并初步探讨其作用机制。

1 材料与仪器

1.1 动物

KM 小鼠,SPF 级,雌雄各半,18~22 g;SD 大鼠,SPF 级,雌雄各半,180~220 g,均由重庆市中药

研究院实验动物研究所提供,实验动物生产许可证号:SCXK(渝)2012-0006。动物实验在重庆市中药研究院中药药理三级实验室进行。

1.2 药材

羌活、独活、油松节均购自重庆市中药材专业市场,经我院中药博物馆王昌华副研究员鉴定:所购羌活为伞形科植物羌活 *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang,独活为伞形科植物重齿毛当归 *Angelica pubescens* Maxim. f. *biserrata* Shan et Yuan 的干燥根,油松节为松科植物油松 *Pinus tabulaeformis* Carr. 的干燥瘤状节或分枝节。

1.3 对照品及试剂

昆明山海棠片 (THHT),滇虹药业集团玉溪生物制药有限公司,批号:20140502;吐温-80,重庆川东化工(集团)有限公司化学试剂厂,批号:20090416;鸡 II 型胶原蛋白 (CCII),Sigma,批号 H05N6J5556;弗氏完全佐剂 (FCA),Sigma,批号 SL-BK7817V;冰醋酸,重庆川东化工(集团)有限公司化学试剂厂,批号 20110301;二甲苯,重庆川东化工(集团)有限公司化学试剂厂,批号 20091020;TNF- α 、INF- γ 、IL-10、IL-1 β ELISA 试剂盒,上海继锦化学科技有限公司,批号均为 E20160901A;0.9%氯化钠注射液,西南药业股份有限公司,批号 14040037;戊巴比妥钠,Sigma,批号 922L034。

1.4 主要仪器

ST-360 酶标仪,上海科华试验系统有限公司;ASP300S 组织自动脱水机,德国球卡仪器有限公司;RM2235 轮转切片机,德国球卡仪器有限公司;TR-180 生物组织自动染色机,湖北泰维医疗科技有限责任公司;Mias-2000 病理图象处理系统,四川大学图象处理国家研究所;0~150 mm 数显游标卡尺,上海九量五金工具有限公司。

2 实验方法

2.1 实验样品制备

参考文献方法^[1],称取羌活、独活、油松节药材,分别加 10 倍量 75% 乙醇浸泡 0.5 h,回流提取 2 次,每次 1 h,合并提取液,过滤,减压回收乙醇,即得提取物流浸膏,再通过不同溶剂提取而得(三种药材提取部位分别为羌活水提部位、独活乙酸乙酯部位、松节正己烷部位)。使用时将提取的浸膏按生药含量 1:1:1 的比例进行组合配比,滴加 2~3 滴吐温-80 碾磨混匀后再用纯化水稀释至实验所需浓

度。

2.2 对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响^[2]

将 KM 小鼠随机分为空白对照组、SJF 24.68、12.34、6.17 g 生药/kg 组、THHT 组,每组 10 只,按组别给予相应药物,空白对照组给予纯化水,给药体积为 0.2 mL/10 g 体重,给药 1 次。药后 1 h 各给药组给小鼠右耳涂抹二甲苯 0.03 mL/只,20 min 后脱颈处死动物,打孔器打下动物左右耳,精密称取耳片重量,计算耳肿胀率。计算公式如下:

$$\text{肿胀率} = (\text{右耳重量} - \text{左耳重量}) / \text{左耳重量} \times 100\%$$

2.3 对醋酸致小鼠扭体试验的影响^[3]

将 KM 小鼠随机分组(具体分组同 2.2),每组 10 只。按组别给予相应药物,空白对照组给予纯化水,给药体积为 0.2 mL/10g 体重,给药 1 次。药后 1 h,每只小鼠腹腔注射 0.7% 醋酸溶液 0.2 mL,观察并记录小鼠扭体发作潜伏期(S)并计数 15 min 内小鼠出现的扭体反应(伸展后肢、腹部内凹和臀部抬高)次数。

2.4 对佐剂性关节炎大鼠模型的影响

参照文献方法^[4]进行模型制备:取 CCII 25 mg 溶解于 0.1 mol/L 醋酸溶液 6.25 mL 中,置于 4 °C 冰箱内过夜。实验当天取 CCII 与等体积 FCA 混合乳化,制成胶原质量浓度为 2 mg/mL 的乳化剂,乳化过程保持胶原冰冷。对造模大鼠单侧足跖 sc 上述乳剂 100 μ L/只,1 周后,造模大鼠尾根部 sc 新配制的上述乳化剂(胶原质量浓度为 2 mg/mL,100 μ L/只)。加强免疫 1 周后,将造模成功的大鼠根据关节肿胀度分为 5 组,即模型对照组、SJF 12.34、6.17、3.08 g 生药/kg 组、THHT 组,每组 10 只,另取 10 只未做处理大鼠为空白对照组。分组当日各组开始 ig 给予相应药物,空白对照组、模型对照组给予纯化水,给药体积为 1 mL/100 g 体重,每日给药 1 次,连续给药 14 d。于给药当天、给药 7、14 d 用游标卡尺检测踝关节肿胀度;对全身各个关节进行评价,即 0 分,无红肿;1 分,趾关节红肿;2 分,趾关节和足跖肿胀;3 分,踝关节以下的足爪肿胀;4 分,包括踝关节在内的全部足爪肿胀。根据评分结果计算多发性关节炎指数(AI,AI = 四肢关节评分之和)。末次给药后 1 h,对大鼠麻醉后腹主动脉采血,分离血清,采用 ELISA 法测定血清 IL-1 β 、TNF- α 、INF- γ 和 IL-10 水平;采血后处死动物,每组取注射侧踝关节,10% 福尔马林溶液浸泡后以 5% 甲酸-福尔马林

液脱钙,经脱水、浸蜡、包埋、切片等处理,HE染色,光镜下($\times 40$)观察。

2.5 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS13.0软件进行统计学分析,组间数据采用one way-ANOVA。

3 实验结果

3.1 对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响

与空白对照组相比,给药后松节方提取物各剂量组、昆明山海棠片组均能明显抑制二甲苯所致的小鼠耳部肿胀。见表1。

表1 松节方提取物对二甲苯致小鼠耳肿胀率的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effect of SJF on ear swelling induced by xylene in mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	耳肿胀率 Swelling rate (%)
空白对照组 Control	-	170.78 \pm 51.54
SJF 高剂量 SJF-H	24.68	110.38 \pm 48.82 * *
SJF 中剂量 SJF-M	12.34	104.47 \pm 38.12 * *
SJF 低剂量 SJF-L	6.17	139.77 \pm 58.64 *
昆明山海棠片 THHT	1.40	114.36 \pm 44.38 * *

注:与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

Note:Compared with Control group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$.

3.2 对醋酸致小鼠扭体试验的影响

与空白对照组相比,松节方提取物各剂量组、昆明山海棠片组均能明显减少醋酸所致小鼠扭体次

数,24.68、12.34 g 生药/kg 剂量组能明显延长潜伏期,其作用呈剂量相关性。见表2。

表2 松节方提取物对醋酸致小鼠扭体潜伏期及扭体次数的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect of SJF on pain model induced by acetic acid in mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	潜伏期 Latent time (min)	扭体次数 Twisting (number)
空白对照组 Control	-	193.20 \pm 34.56	23.80 \pm 3.90
SJF 高剂量 SJF-H	24.68	301.80 \pm 78.01 * *	9.80 \pm 3.27 * *
SJF 中剂量 SJF-M	12.34	265.34 \pm 58.94 *	13.36 \pm 4.74 * *
SJF 低剂量 SJF-L	6.17	226.17 \pm 45.07	15.40 \pm 5.50 * *
昆明山海棠片 THHT	1.40	288.00 \pm 93.24 * *	13.00 \pm 1.79 * *

注:与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

Note:Compared with Control group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$.

3.3 对 CCH 诱导的大鼠关节炎的影响

3.3.1 对关节肿胀度的影响

与模型对照组相比,松节方提取物 12.34、6.17

g 生药/kg 剂量组、昆明山海棠片组在给药第 14 d 能明显抑制 CCII 致大鼠的关节肿胀,但松节方 3.08 g 生药/kg 剂量组作用不明显。见表3。

表3 松节方提取物对关节炎大鼠关节肿胀度的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of SJF on the degree of joint swelling in arthritic rats($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	关节肿胀度 Degree of joint swelling (mm)		
		给药前 Before dosing	7 7 d	14 14 d
空白对照组 Control	-	6.73 \pm 0.86 * *	6.79 \pm 0.61 * *	6.64 \pm 0.45 * *
模型对照组 Model	-	9.86 \pm 0.40	8.67 \pm 0.35	8.70 \pm 0.41

续表 3 (Continued Tab. 3)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	关节肿胀度 Degree of joint swelling (mm)		
		给药前 Before dosing	7 7 d	14 14 d
SJF 高剂量 SJF-H	12.34	9.72 ± 0.99	8.15 ± 0.69	8.16 ± 0.60 * *
SJF 中剂量 SJF-M	6.17	9.88 ± 0.84	8.39 ± 0.28	8.24 ± 0.36 *
SJF 低剂量 SJF-L	3.08	10.00 ± 1.07	8.70 ± 0.68	8.50 ± 0.39
昆明山海棠片 THHT	0.69	9.73 ± 0.45	8.44 ± 0.54	8.16 ± 0.44 * *

注:与模型对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with Model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

3.3.2 对 AI 的影响

与模型对照组相比,松节方提取物 12.34、6.17 g 生药/kg 剂量组、昆明山海棠片组在给药第 14 d

能明显降低 CCI 致大鼠关节炎的 AI,但松节方提取物 3.08 g 生药/kg 剂量组作用不明显。见表 4。

表 4 松节方提取物对关节炎大鼠 AI 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of SJF on AI in arthritic rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	AI	
		7 d	14 d
空白对照组 Control	-	0	0
模型对照组 Model	-	4.25 ± 1.04	4.38 ± 0.52
SJF 高剂量 SJF-H	12.34	3.50 ± 0.93	2.63 ± 1.06 * *
SJF 中剂量 SJF-M	6.17	3.88 ± 0.64	3.50 ± 0.93 *
SJF 低剂量 SJF-L	3.08	4.00 ± 0.76	3.75 ± 1.04
昆明山海棠片 THHT	0.69	3.50 ± 0.76	2.63 ± 0.74 * *

注:与模型对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with Model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

3.3.3 对细胞因子的影响

与模型对照组相比,给药后松节方提取物 12.34 g 生药/kg 剂量组能明显降低血清 INF- γ 、IL-1 β 水平,升高血清 IL-10 水平;6.17 g 生药/kg 剂

量组、昆明山海棠片组能明显降低血清 INF- γ 、IL-1 β 、TNF- α 水平,升高血清 IL-10 水平;3.08 g 生药/kg 剂量组能降低血清 INF- γ 、水平,升高血清 IL-10 水平。见表 5。

表 5 松节方提取物对关节炎大鼠细胞因子的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effect of SJF on the cytokine level in arthritic rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	INF- γ (ng/mL)	IL-1 β (ng/mL)	TNF- α (ng/mL)	IL-10 (ng/mL)
空白对照组 Control	-	11.05 ± 2.04 * *	7.03 ± 0.83 * *	37.07 ± 5.09 * *	10.45 ± 0.56 * *
模型对照组 Model	-	14.02 ± 1.49	8.35 ± 0.93	46.56 ± 4.80	8.50 ± 1.54
SJF 高剂量 SJF-H	12.34	12.16 ± 0.92 * *	7.14 ± 1.14 * *	43.95 ± 5.22	9.98 ± 1.21 * *
SJF 中剂量 SJF-M	6.17	11.79 ± 1.10 * *	7.46 ± 0.63 *	38.68 ± 4.57 * *	9.68 ± 1.22 * *
SJF 低剂量 SJF-L	3.08	12.89 ± 1.03 * *	7.98 ± 0.99	43.89 ± 2.78 *	9.81 ± 1.23 * *
昆明山海棠片 THHT	0.69	12.14 ± 1.23 * *	7.15 ± 1.08 * *	40.08 ± 4.83 * *	9.86 ± 0.83 * *

注:与模型对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with Model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

3.3.4 对踝关节组织病理学的影响

光镜($\times 40$)观察结果显示,空白对照组大鼠滑

膜组织结构正常,未见明显病理变化;模型对照组大鼠滑膜细胞明显增生,较多血管翳形成,周围结缔组

织大量急慢性炎细胞浸润;松节方提取物 12.34、6.17 g 生药/kg 剂量组、昆明山海棠片组大鼠局部滑膜细胞轻度增生,周围结缔组织少量慢性炎细胞浸

润;3.08 g 生药/kg 剂量组大鼠局部滑膜细胞轻度增生,少量血管翳形成,周围结缔组织较多慢性炎细胞浸润。见图 1。

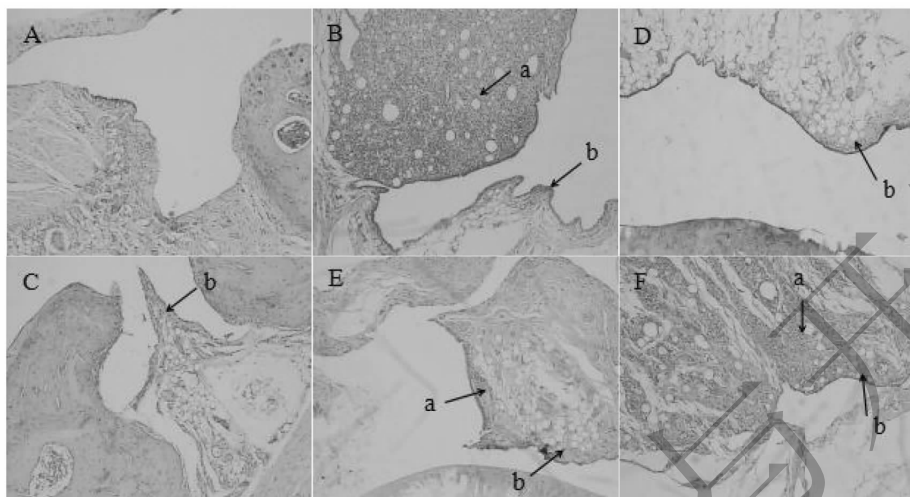


图 1 空白对照组(A)、模型对照组(B)、SJF 高剂量组(C)、SJF 中剂量组(D)、SJF 低剂量组(E)及昆明山海棠片组(F)大鼠踝关节组织 HE 染色病理图($\times 40$)

Fig. 1 Histopathological observation of the ankle joint of rats from Control group (A), Model group (B), SJF-H group (C), SJF-M group (D), SJF-L group (E) and THHT group (F) (HE staining, $\times 40$)

注:a-炎细胞浸润;b-滑膜细胞增生

Note:a-the infiltration of inflammatory cells;b-the proliferation of synovial cells

4 讨论

近年来,对关节炎的治疗的研究(特别是类风湿性关节炎的研究)发展迅速,新药和新疗法层出不穷,但其发病机制复杂,至今尚无特效疗法,仍停留于对炎症及后遗症的综合治疗。西药目前的一线用药仍是非甾体类抗炎免疫药,但存在副作用大、作用单一及有较多禁忌症等缺点^[5]。中药治疗关节炎具有独特优势,目前中药抗关节炎作用已成热点,常见有效成分有苷类、生物碱、黄酮及萜类等,研究发现有明显的抗炎镇痛、免疫调节作用,中药复方的效果同样显著,但由于其化学成分多样,药理活性广泛,因此缺乏相对明确的产生药理作用的物质基础,其治疗关节炎是偏于抗炎作用还是免疫作用缺乏明确阐述^[5]。目前市面常见中成药集中在治疗寒湿痹阻、淤血阻络等方面,多为大复方,大多辛热燥烈,作用较猛,且有较强的毒性,如附子、乌头可引起乌头碱中毒,马钱子可引起全身肌肉强直性痉挛、惊厥,严重者甚至导致死亡;以单味药入药的有雷公藤、昆明山海棠等,有明显的生殖毒性。长期应用这类药物,会导致机体防御能力严重下降。

松节方属古典经方,针对目前中药研究现状,研究其对关节炎的作用物质基础,有助于发现新的治疗药物。本实验通过小鼠耳肿胀、小鼠扭体、大鼠佐剂性关节炎实验发现,松节方提取物能明显抑制二甲苯所致的小鼠耳部肿胀,减少醋酸所致小鼠扭体次数,延长小鼠扭体潜伏期,同时能明显抑制佐剂性关节炎模型大鼠的关节肿胀,减轻关节炎指数,明显保护关节滑膜组织形态,抑制细胞及血管增生。结果说明松节方提取物有明显的抗炎、镇痛作用。

关节炎归属于风湿学科疾病,细胞因子异常产生及其相互作用在其病程中起着非常重要的作用。研究发现 Th1/Th2 平衡紊乱在 RA 的发病中起重要作用,RA 患者 Th1/Th2 型细胞因子发生偏移,从而导致 Th1 细胞及其分泌的 TNF- α 、IL-1 β 、INF- γ 增高,促进破骨细胞的溶骨作用,损伤局部血管,从而加重局部组织炎性细胞浸润和炎性水肿;而 IL-10 是 Th2 型抗炎细胞因子,主要通过抑制核因子 KB 进而抑制 Th1 细胞产生致炎因子,从而抑制 RA 关节炎炎症^[7-12]。通过本试验发现松节方提取物在降低造模后血清 INF- γ 、IL-1 β 、TNF- α 水平的同时,升高血清 IL-10 水平。说明松节方提取物通过调节抗

炎/促炎细胞因子来达到对关节炎模型大鼠的关节、滑膜组织的保护作用。在本实验中,已初步证明松节方提取物对佐剂性关节炎大鼠有明显的治疗保护作用,对其具体主要作用成分及作用机制有待进一步研究。

参考文献

- Xie HY(谢惠艳), Wang YH(王英豪), Wang RR(王蓉蓉), *et al.* Optimization of extraction technology for codecoction of *Notopterygii Rhizoma et Radix* and *Angelicae Pubescentis Radix* by orthogonal test[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2014, 20(12):10-13.
- Chen Q(陈奇). Research Methodology of TCM Pharmacology, Version 2(中药药理研究方法学第2版)[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2006:347.
- Chen Q(陈奇). Research Methodology of TCM Pharmacology, Version 2(中药药理研究方法学第2版)[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2006:350.
- Zhang TQ(张天齐), Xuan LL(玄玲玲), Jiang RT(姜仁涛), *et al.* Inhibition of component TZT-5 from leaves of *Tripterygium wilfordii* on rheumatoid arthritis in rats[J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*(中草药), 2013, 44:1628-1634.
- Chi LQ(迟里群), Zhou B(周彬), Gao WY(高文远), *et al.* Research progress of drugs commonly used to anti-rheumatoid arthritis[J]. *Chin J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2014, 39:2851-2858.
- Cheng W(程维), Zhang YH(张玉辉). Influence of Duhuo-

- jisheng decoction on cytokines from joint synovial fluid in patients with knee osteoarthritis[J]. *J Liaoning Univ TCM*(辽宁中医药大学学报), 2011, 13(10):216-217.
- Wang ZQ(王芝琴). Effect of Guizhishaoyaozhimu decoction on TNF- α , IL-17 and IL-10 in rats of CIA[J]. *Zhejiang Clin Med J*(浙江临床医学), 2015, 17:1694-1696.
- Chen XJ(陈小军), Gu LG(顾立刚), Zhao H(赵慧), *et al.* Effect of Guizhishaoyaozhimu decoction on IFN- γ and IL-4 in rats with collagen II induced arthritis[J]. *J Beijing Univ TCM*(北京中医药大学学报), 2007, 30:618-620.
- Zhao H(赵慧), Gu LG(顾立刚), Chen XiJ(陈小军), *et al.* Effect of Guizhishaoyaozhimu decoction on serum activity of TNF- α , IL-1 β in rats with C II-induced arthritis[J]. *Chin J Infor TCM*(中国中医药信息杂志), 2005, 12(11):27-29.
- Verhoef CM, Roon JAGV, Lafeber FPJG, *et al.* T1/T2 cell balance in rheumatoid arthritis[J]. *Clin Appl Immunol Rev*, 2001, 1:153-161.
- Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease[J]. *Altern Med Rev*, 2003, 8:223-246.
- Zhang H(张浩), Zhu P(朱平), Wang YH(王彦宏). Study on the Th1/Th2 cytokine profile in joints of patients with rheumatoid arthritis and its clinical significance[J]. *J Cell Mol Immunol*(细胞与分子免疫学杂志), 2000, 16:238-240.

(上接第343页)

- Deng YT(邓韵婷), *et al.* NF- κ B pathway and cellular senescence[J]. *Chem of Life*(生命的化学), 2013, 33:401-406.
- Cai WJ(蔡外娇), *et al.* The basic study on the extension of healthy life of epimedium[C]. Proceedings of the fourth academic conference on aging and anti-aging in China(第四届中国衰老与抗衰老学术大会), 2013:162-162.
- Cai WJ, *et al.* Icarin and its derivative icariside II extend healthspan via Insulin/IGF-I pathway in *C. elegans*[J]. *PLoS One*, 2011; 6(12):e28835.
- Xiong ZG(熊正国), *et al.* Advances of WNT/ β -catenin signaling pathway in skin senescence[J]. *Shandong Med J*(山东医药), 2016, 56(29):105-107.
- Guo QJ(郭庆军), *et al.* Effects of icariin preconditioning on inflammatory responses in myocardial ischemia-reperfusion

- injury[J]. *Chin J Pathophysiol*(中国病理生理杂志), 2013, 29:2034-2038.
- Yang RH(杨如会), *et al.* Icarin ameliorates LPS/TLR4 induced hepatic stellate cell activation and autophagy via FXR[J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2016, 51:708-714.
- Ping J(平键), *et al.* Research on effects of icariin in suppressing hepatic stellate cell activation by regulating NF- κ B expression[J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*(辽宁中医杂志), 2013, 40:2188-2191.
- Rayess H, *et al.* Cellular senescence and tumor suppressor gene p16[J]. *Int J Cancer*, 2012, 130:1715-1725.
- Li J(李靳), *et al.* Protective effect of total saponins of *Panax notoginseng* combined with total flavonoids of epimedium on D-galactose-induced senescence of H9c2 cell[J]. *Chin J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2017, 42:555-561.