

# 应用于天然产物抗炎活性研究的主要细胞模型

刘燕芳,刘丹,刘兰,张敏\*

昆明理工大学生命科学与技术学院,昆明 650500

**摘要:**细胞水平的活性筛选技术具有灵敏、快速、经济、高效的特点,已成为先导化合物研究中的重要工具。由于其所需样品量较小,更适用于天然产物的活性筛选。炎症是机体对于外界刺激的一种防御反应,与多种疾病的发生、发展相关。目前,利用相关细胞模型,天然产物在抗炎活性筛选、作用机制等研究方面均取得了很大进展。本文以天然产物的抗炎活性研究为切入点,综述了目前广泛用于该研究的单核/巨噬细胞、中性粒细胞以及其他主要细胞模型,从细胞主要特征、模型建立方法以及模型现实应用几个方面进行阐述,以期对具有抗炎活性的天然先导化合物的研究与开发提供一定参考。

**关键词:**细胞模型;天然药物;抗炎作用;活性筛选

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)5-0874-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.5.022

## Cell models used in the study of anti-inflammatory activities of natural products

LIU Yan-fang, LIU Dan, LIU Lan, ZHANG Mi\*

*Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China*

**Abstract:** Cell-level activity screening technology is sensitive, rapid, economic, and efficient, and has become an important tool in the research of lead compounds. Due to the small amount of sample required, this technology is more suitable for the screening of natural products. Inflammation is a body defense response induced by external stimuli, and is related to the occurrence and development of a variety of diseases. So far, a lot of progress has been achieved in the researches on the screening and action mechanism of anti-inflammatory activity of natural products by the inflammation-related cell models. Taking the research of anti-inflammatory natural products as the starting point, this article summarizes the cell models that are currently widely used to screen natural products with anti-inflammatory activity, including mononuclear/macrophage, neutrophils and other major cell types, and their main characteristics, modeling methods and practical application, in order to provide certain reference for the research and development of such natural lead compounds.

**Key words:** cell model; natural drug; anti-inflammation; activity screening

炎症是人体为了抵御有害刺激并修复受损组织而产生的一种防御反应。据流行病学和临床资料显示,过度的炎症反应会反噬机体,造成二次病理损伤。研究表明:炎症不仅参与多种疾病的发生发展,包括我们熟知的类风湿性关节炎、动脉粥样硬化<sup>[1]</sup>、神经炎、哮喘<sup>[2]</sup>、炎性肠疾病和肾小球肾炎等疾病<sup>[3]</sup>,还可引发自身免疫疾病及癌症,并加速这类疾病的发展<sup>[4]</sup>。因此,研究和开发具有抗炎作用的药物具有重大意义。

先导化合物的发现是药物研究的重要阶段之一。这一阶段离不开灵敏、快速、经济、高效的药理模型来进行潜在的先导化合物的活性筛选。最早的筛选模型主要以动物为基础,可以得到大量的体内实验数据,但考虑到在利用动物模型进行筛选时,劳动密集耗费时间、经济成本高且不利于大规模筛选等因素,同时,动物模型筛选所需样品量较大,而实际工作中大部分先导化合物的前体往往来源于天然产物,它们相较于合成产物而言可谓是极微量的,所以,随着现代药理学的发展,先导化合物的高通量筛选已经更多转向了细胞水平。细胞模型兼具灵敏、快速、经济、高效的特点,重要的是其所需样品量小,更适用于天然产物的活性筛选。

收稿日期:2019-12-27 接受日期:2020-04-24

基金项目:国家自然科学基金(81860618);云南省应用基础研究计划面上项目(2018FB031)

\*通信作者 Tel:86-871-65920738;E-mail:mizhangkmust@126.com

本文综述了目前广泛用于筛选具有抗炎活性天然产物的细胞模型,以期为该类药物先导化合物的研究与开发提供一定参考。

## 1 单核/巨噬细胞模型

巨噬细胞是从血液中的单核细胞分化而来,可以发挥多种功能,包括呈现抗原、清除微生物和肿瘤细胞以及组织重塑。巨噬细胞具有广泛的病原体识别受体,通过吞噬和识别病原体相关分子模式参与先天和适应性免疫应答<sup>[5]</sup>;作为分泌细胞,可以通过激活机体的免疫系统,释放细胞因子,如一氧化氮(NO)、TNF- $\alpha$ 、白细胞介素(IL-1、IL-6)等<sup>[6]</sup>;通过识别表面的特异性抗原,参与T辅助细胞(Th)的激活和炎症细胞因子和趋化因子的产生<sup>[7]</sup>。巨噬细胞还分泌粘附分子,这些分子促使淋巴细胞浸润到炎症病变部位,参与炎症过程。以下将介绍几种常见的单核/巨噬细胞炎症模型。

### 1.1 小鼠巨噬细胞 RAW264.7 模型

RAW264.7是由Abelson鼠白血病病毒诱导BALB/c小鼠产生肿瘤后收集小鼠腹水单核样巨噬细胞得到的细胞株(ATCC Number: TIB-71)。RAW264.7细胞一般为圆形或椭圆形,功能活跃时,可呈多突形。对空间很敏感,喜聚集,成片生长,易吞噬抗原、易老化、易发生形态的变异,等长到更多更密时连成大片,并且会叠加成层。该细胞具有很强的黏附和吞噬抗原的能力,在炎症反应、免疫反应和吞噬反应中发挥着关键的作用,是微生物学、免疫学研究中的常用细胞株<sup>[8,9]</sup>。免疫学研究中常采用脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)刺激RAW264.7细胞构建炎症反应模型,该细胞模型稳定,模型组和空白组的对比明显,促炎细胞因子和抗炎细胞因子的分泌变化显著。例如细胞上清中IL-4、IL-6、TNF- $\alpha$ 、NO、前列腺素E2(PGE2)等炎症因子含量明显上升。因此,可利用该模型进行炎症活性筛选和机制的研究。

目前,天然产物的抗炎活性,以LPS诱导的RAW264.7巨噬细胞作为筛选模型应用非常广泛。通过评价药物对NO释放的影响、以及通过ELISA和Western blotting分析相关炎症因子(IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、PGE2等)和蛋白(诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和环氧化酶(COX-2)等)表达水平,是判断天然产物是否具有潜在的抗炎活性的有效手段。目前,利用该模型,已从很多天然药物中发现一系列活性先导化合物。例如,从荔枝草<sup>[10]</sup>中分离得到的倍

半萜,在LPS诱导的RAW264.7细胞炎症模型中通过抑制NF- $\kappa$ B和细胞外调节蛋白激酶(Erk1/2)信号通路表现出抗炎效果<sup>[11]</sup>。Shin等<sup>[12]</sup>通过该模型研究发现,大蓟中的蓟黄素可抑制IL-6、TNF- $\alpha$ 和NO产生,以及LPS诱导的转录因子如c-fos和信号转导以及转录激活因子3(STAT3)的活化,表现出显著的抗炎活性。从茵陈蒿中提取的精油能显著抑制LPS刺激RAW264.7细胞中NO的产生,研究表明该精油是通过阻断丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)介导的途径并抑制NF- $\kappa$ B的活化来抑制炎症介质的表达和产生<sup>[13]</sup>。中药连翘<sup>[14]</sup>中的连翘脂素可以抑制LPS诱导的RAW264.7细胞释放NO、TNF- $\alpha$ 和IL-6,并呈浓度依赖性下调COX-2和iNOS的蛋白表达<sup>[15]</sup>。从大叶山楝的根皮中提取的二萜二聚体对LPS诱导RAW264.7细胞产生的NO表现出显著的抑制作用<sup>[16]</sup>。初步统计,利用该模型筛选过的天然产物已超过5万。

### 1.2 小鼠巨噬细胞 BMDM 模型

骨髓来源巨噬细胞BMDM(bone marrow derived macrophage)通常是将C57BL/6小鼠的骨髓分离后收集,利用巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)诱导分化得到的<sup>[17-19]</sup>。呈不规则形或梭形,相比其他原代细胞,BMDM是均质的,具有增殖能力,可转染,并且寿命超过一周。目前,BMDM作为原代巨噬细胞,直接来源于机体组织,当生物性状尚未发生较大变化时,在一定程度上能反映体内状态,因此成为活性筛选和机制研究的良好模型。BMDM还可以用作原代细胞培养系统研究体外基因功能(例如消除转基因小鼠中的基因表达),分析扩散改变、功能和基因表达<sup>[20]</sup>。另外,巨噬细胞是免疫系统中的特化细胞,执行许多任务如吞噬、抗原呈递、细胞因子产生和迁移等,这也是大多数免疫学研究选择BMDM作为炎症模型的主要原因<sup>[21]</sup>。

LPS诱导的基因表达在BMDM中具有高度选择性,研究表明多个转录因子家族可能都参与了BMDM的调控<sup>[22]</sup>。Ji等<sup>[23]</sup>利用LPS刺激BMDM细胞建立的体外炎症模型,研究了桃金娘科植物蓝桉总提物的活性,结果显示,该提取物可通过减弱IL-1 $\beta$ 来抑制单钠尿酸盐(MSU)诱导的腹膜炎,为其传统应用提供了科学支持。Lee等<sup>[24]</sup>利用偶发分枝杆菌感染BMDM细胞引起炎症反应的细胞模型研究发现,Toll样受体2(TLR2)-髓样分化初级应答基因88的信号传导可触发BMDM中TNF- $\alpha$ 和IL-6的

表达,并快速诱导炎症因子 A20 (TNFAIP3) 的表达。另有研究发现,中药黄芪<sup>[25]</sup>可抑制 LPS 刺激 BMDM 促炎因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的产生<sup>[26]</sup>,桦木科的昌化鹅耳枥叶的甲醇提取物对 R848 (Toll-like receptor7/8 激动剂)刺激的 BMDM 细胞产生的促炎细胞因子 IL-12 p40、IL-6 和 TNF- $\alpha$  具有剂量依赖性抑制作用<sup>[27]</sup>。

### 1.3 J774A.1 细胞模型

小鼠单核巨噬细胞 J774A.1 来源于 BABL/cN 小鼠,属于贴壁细胞,呈圆形或椭圆形,有抗体依赖的吞噬作用,硫酸葡聚糖、PPD 和 LPS 可抑制其生长,并产生 IL-1 $\beta$  和大量的溶菌酶。J774A.1 细胞是免疫系统中功能多样的效应细胞,在炎症反应的不同阶段发挥着不同甚至相反的功能<sup>[28]</sup>。

研究表明,大环内酯类抗生素对某些参与炎症过程的介质和细胞因子的产生具有一定的影响,其中罗红霉素和红霉素可以直接抑制 6-酮-前列腺素 F- $\alpha$  和 NO<sup>[29,30]</sup>。大环内酯可抑制 LPS 刺激 J774A.1 细胞产生的 IL-6 和 PGE2,但 Munić 等<sup>[31]</sup>利用该模型筛选大环内酯类抗炎活性化合物的研究显示:LPS 刺激的 J774A.1 细胞不能作为评估临床试验中的大环内酯抗炎潜力的代表性细胞模型。Jing 等<sup>[32]</sup>利用该模型研究灯盏花乙素对 ATP 诱导的炎症小体活化和细胞焦亡的影响及其机制,发现灯盏花乙素通过调节 PKA 活性,抑制 NLRP3 炎症小体的活化与细胞凋亡,从而发挥抗炎作用。此外,黄连解毒汤的主要成分黄连素、汉黄芩素能显著抑制该模型中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的表达以及和 COX-2 蛋白的表达<sup>[33]</sup>,马鞭草科的圆锥大青根则可显著抑制该模型中的 NO、TNF- $\alpha$  和 PGE2 产生,从而发挥抗炎效果<sup>[34]</sup>。

### 1.4 NR8383 细胞模型

NR8383 细胞来源于正常大鼠肺灌洗时的肺泡巨噬细胞<sup>[35]</sup>,属半悬浮细胞,呈圆形或椭圆形。NR8383 细胞作为高响应肺泡巨噬细胞的均一来源,可以用于巨噬细胞相关活性的体外研究,尤其是肺部炎症<sup>[36,37]</sup>。NR8383 细胞在博莱霉素刺激下,会分泌 TNF- $\beta$  前体,且 TNF- $\beta$  mRNA 表达也会上升;NR8383 细胞对内毒素也很敏感,10 ng/mL 的 LPS 对该细胞的增生抑制率可达 50%。

黄芩具有多种生物活性<sup>[38]</sup>,利用 NR8383 细胞炎症模型,发现其中的汉黄芩素能够抑制 TNF- $\alpha$  和单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) 的转录和表达,降低

PGE2、磷脂酶 A2 (PLA2)、白三烯 B4 (LTB4)、丙二醛 (MDA) 的浓度以及 NO 的产生和 iNOS 的活性,并通过抑制 Toll 样受体 (TLR7) 介导的髓样分化因子 (MyD88) 依赖性信号通路 NF- $\kappa$ B 的核转位和表达来减少流感感染的炎症反应<sup>[39,40]</sup>。有文献<sup>[41]</sup>报道,鼠麴草能够降低 LPS 刺激的 NR8383 细胞中的 NO 水平,同时降低 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 COX-2 的水平,以及降低 NR8383 细胞中磷酸化的 p65 和 I $\kappa$ B $\alpha$  的水平。此外,利用该模型研究发现冬虫夏草菌丝体甲醇提取物可拮抗 LPS 诱导的 NR8383 细胞中 p38 和 I $\kappa$ B 磷酸化,下调 p-p38 和 p-I $\kappa$ B 水平,并阻滞 LPS 诱导的 NF- $\kappa$ B 的核转位,下调 LPS 诱导的 iNOS 和 PGE2 合成限速酶的高表达,对炎症反应表现出抑制活性<sup>[42]</sup>。

### 1.5 THP-1 细胞模型

THP-1 来源于急性单核细胞白血病患者的人单核细胞系,在一定剂量的佛波酯 (PMA) 诱导下成为成熟的 THP-1 巨噬细胞,由悬浮状转变为贴壁状,细胞形态由圆形转变为梭形、不规则形、椭圆形。当 THP-1 细胞受到 LPS 刺激后,THP-1 细胞内 NF- $\kappa$ B、MAPKs 通路活化,p-ERK、p-p38、p-JNK、p-I $\kappa$ B $\alpha$  表达明显增加,相应的 ERK、p38、JNK、I $\kappa$ B 表达下降,并产生大量细胞炎症因子 (IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8 和 TNF- $\alpha$ )<sup>[43-45]</sup>。TNF- $\alpha$  作为细胞因子产生的诱导剂,其在 10 pM 的浓度下也可以诱导该细胞内 NF- $\kappa$ B 的活化<sup>[46]</sup>,因此,该细胞炎症模型可应用于药物的抗炎作用研究。

Wang 等<sup>[47]</sup>以 THP-1 细胞为载体,研究荆芥挥发油抗炎作用及与 NLRP3 炎症小体激活相关的调控作用机制,发现荆芥挥发油能抑制 ATP、Nigericin、CPPD 或 CaCl<sub>2</sub> 诱导的 THP-1 巨噬细胞 IL-1 $\beta$  高分泌,抑制 ATP 或 Nigericin 诱导下 THP-1 巨噬细胞裂解液中 NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 、IL-1 $\alpha$ 、IL-6 mRNA 的高表达,其抗炎作用的发挥与干预 NLRP3 炎症小体的激活有关。突尼斯木瓜果皮中的多酚提取物通过调节 THP-1 细胞中蛋白激酶 B (Akt)、p38MAPK、NF- $\kappa$ B 三种信号通路来达到抗炎效果的<sup>[48]</sup>。另有研究表明,丹参<sup>[49]</sup>中的紫草酸和丹酚酸 B 可显著下调 LPS 诱导的 THP-1 细胞中 TLR4、p-p65 和 p-I $\kappa$ B $\alpha$  的表达<sup>[50]</sup>;白花丹参根提取中的丹参酮能显著抑制 LPS 刺激的 THP-1 细胞中的 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-8 的 mRNA<sup>[51]</sup>。该细胞具有更类似于人原代单核细胞的表型及功能特征,又具有比人原

代单核细胞如外周血单个核细胞更广泛且稳定的来源和基因背景,故是迄今研究人原代单核细胞/巨噬细胞功能应用最普遍的体外模型细胞<sup>[52-54]</sup>。

## 2 中性粒细胞模型

中性粒细胞(neutrophil)来源于骨髓的造血干细胞,该细胞核呈杆状或2~5分叶状,叶与叶间有细丝相连,胞浆内含有大量既不嗜碱也不嗜酸的中性细颗粒。这些颗粒多是溶酶体,内含髓过氧化物酶、溶菌酶、碱性磷酸酶和酸性水解酶等丰富的酶类,与细胞的吞噬和消化功能有关,在瑞氏(Wright)染色血涂片中,胞质呈无色或极浅的淡红色,有许多弥散分布的细小的(0.2~0.4微米)浅红或浅紫色的特有颗粒。中性粒细胞具趋化作用、吞噬作用和杀菌作用。嗜中性粒细胞被认为是急性炎症的中枢细胞,在发炎过程中,可明显观察到嗜中性粒细胞的数量、寿命、活动性、组织流入能力和吞噬能力的增加<sup>[55,56]</sup>。

多形核中性粒细胞(polymorphnuclear leulocyte, PMN)是一种小吞噬细胞,在发挥防御作用时,其胞浆内的细胞毒性物质既可杀伤外来入侵的病原微生物,也可造成自身组织的损伤。其自发性凋亡的机制既避免了炎症反应扩大化,又减少了自身组织细胞损伤<sup>[57]</sup>。炎症反应发生时,其体内溶酶体以脱颗粒的形式释放多种酶,这些酶可被选择性的释放到胞外,其中最主要的为弹性蛋白酶。中性粒细胞弹性蛋白酶(enutorphil elastase, NE)即由中性粒细胞所释放,是丝氨酸蛋白酶家族的重要成员,对炎症的发生及病原菌的清除具有重要作用。它是一种杂食性酶,可溶解多种蛋白,但最适底物是弹性蛋白。NE具有双重作用,生理条件下,NE参与调节炎症反应,促进吞噬细胞消除有害病菌,构成机体防御系统的重要部分。但是,炎症情况下,过量释放NE能降解胶原蛋白、层粘连蛋白和其他内皮组织的细胞外基质,增加组织通透性,促进中性粒细胞渗出,炎症因子释放,降解细胞基质,催化caspase-3诱导的细胞凋亡。NE的活性受到多种蛋白酶抑制剂的调控<sup>[58]</sup>。中性粒细胞弹性蛋白酶抑制剂(neutrophil elastase inhibitors, NEI)抑制NE活性,调节炎症细胞因子和趋化因子的释放,抑制炎细胞激活、跨膜迁移及组织毒性物质释放,发挥多层次的抗炎效应,并能调节机体先天免疫功能。因此,筛选具有NE抑制功能NEI的是发现具有抗炎活性的天然产物的有效手段。

Granica等<sup>[59]</sup>利用LPS刺激从人的血液中分离的中性粒细胞,建立了体外炎症模型,通过ELISA的方法,筛选出对口腔炎症(包括粘膜炎,牙龈炎和牙周病)具有显著疗效的天然成分——木水杨梅根的提取物及其主要成分水杨梅鞣质(gemin A),并且发现gemin A通过减少黏附分子CD11b的表面表达,抑制活性氧和蛋白酶(弹性蛋白酶, MMP-9),趋化因子和细胞因子(IL-8和IL-1 $\beta$ )的释放,显著影响到由LPS刺激的嗜中性粒细胞的功能。此外,在Gomes等<sup>[60]</sup>人对N-甲酰甲硫氨酸-亮氨酸-苯丙氨酸(fMLP)触发的嗜中性粒细胞进行体外趋化性的研究中发现,桃金娘烯醇相对于施用角叉菜胶的赋形剂组对细胞迁移有所改善,可阻止fMLP引发的嗜中性粒细胞趋化性。因此,建立中性粒细胞体外炎症模型,寻找有效的弹性蛋白酶抑制剂治疗炎症相关疾病,是一种有前景的方法。

## 3 其他类型细胞模型

### 3.1 P388D1 细胞模型

小鼠淋巴瘤细胞(P388D1)来源于甲基胆蒽诱导形成的淋巴瘤,呈淋巴母细胞样,悬浮生长。在LPS和佛波酯的诱导下,该细胞可以产生IL-1和溶菌酶,并可以吞噬酵母多糖和乳胶微球。P388D1细胞可分泌弹性蛋白酶,胶原酶和纤溶酶原激活剂,其活性与体内炎性刺激引起的巨噬细胞活性相当。研究表明,抗炎性糖皮质激素可选择性和可逆的抑制P388D1细胞3种蛋白酶的分泌,但不抑制由该细胞产生的组成型溶菌酶的分泌。每个P388D1细胞约含有4000个可饱和的糖皮质激素结合位点,糖皮质激素与P388D1细胞系之间的这种相互作用为建立基于中性蛋白酶分泌调节的巨噬细胞模型<sup>[61]</sup>提供了基础。

### 3.2 L929 细胞模型

成纤维上皮细胞(L929)是从雄性C3H/An小鼠的正常皮下疏松结缔组织入脂肪组织中建立了亲本细胞系,经毛细血管法分离单细胞而得到的。细胞贴壁生长,呈梭形或短梭形,细胞核呈圆形或卵圆形,核较小,单层生长,细胞质嗜弱碱性,集落清晰,形态分为致密型和疏散型两种<sup>[62]</sup>,并且增殖速度快,耐受力强,易接受转染。作为TNF- $\alpha$ 细胞毒作用的敏感靶细胞,可用于筛选TNF- $\alpha$ 的拮抗剂来研究抗炎药物。

Tian等<sup>[63]</sup>以LPS为刺激物建立L929细胞体外炎症模型,发现木瓜的乙酸乙酯部位具有良好的抗

炎作用。在 Oh 等<sup>[64]</sup>的研究中,用干扰素- $\gamma$  处理小鼠成纤维细胞 L929 细胞,继而导致过量的 NO 生成和 iNOS 基因表达,利用该模型筛选发现视黄酸可显著抑制 NO 生成和 iNOS 基因表达,并呈剂量依赖性,同时,9-顺式-视黄酸也会抑制 NO 的生成。另有研究发现,脂质体制剂对作为线粒体代谢评估的 L929 成纤维细胞活力具有正面影响,包埋脂质体的硫酸软骨素可有效降低  $H_2O_2$  刺激的 L929 成纤维细胞中 TNF- $\alpha$  的产生并且具有与抑制 IL-8 相似的活性<sup>[65]</sup>。成纤维细胞增殖是组织再生伤口愈合中的重要步骤。心叶凹唇姜根茎的氯仿提取物可显著增强 L929 成纤维细胞生长,通过划痕试验,还观察到其乙醇提取物及其中组分对 L929 的迁移效果也显著增强,即心叶凹唇姜根茎的氯仿和乙醇部位可参与成纤维细胞的增殖和迁移,并刺激胶原蛋白的生产,且具有抗炎作用,是创伤愈合增强的重要因素<sup>[66]</sup>。此外,通过 TNF- $\alpha$  诱导的 L929 细胞模型发现:竹黄抑制该模型 COX-2 蛋白的表达,并在一定浓度范围内诱导 BCL-2 表达上调,其中的有效成分主要通过 COX-2、BCL-2 信号途径影响 TNF- $\alpha$  信号网络<sup>[67]</sup>。实际上,L929 细胞是一株对 TNF- $\alpha$  高度敏感的细胞株。从旋覆花中分离得到的倍半萜内酯二聚体可与 TNF- $\alpha$  直接结合,选择性抑制 TNF- $\alpha$  与 I 型受体(TNFR1)的相互作用,在 TNF- $\alpha$  刺激的细胞中有效地阻断 TNFR1 介导的信号,在体外拮抗 TNF- $\alpha$  的促炎活性<sup>[68]</sup>,从而发挥抗炎作用。

### 3.3 小鼠胚胎成纤维细胞 NIH/3T3 模型

NIH/3T3 细胞是从 Swiss 小鼠胚胎培养物中建立的高度接触性抑制的胚胎成纤维细胞系,呈纤维细胞样,贴壁生长。该细胞对肉瘤病毒转化灶形成和白血病毒病的繁殖高度敏感,对 DNA 转化及转染研究十分有用,并且在基础医学和临床医学研究中较广泛的运用于各种外来因子对细胞的损伤或修复研究。TNF- $\alpha$  能刺激该细胞的增殖并能上调其中 Syndecan-4 蛋白的表达,介导炎症反应<sup>[69,70]</sup>。

从杏香兔耳风分离得到的木犀草素、木犀草苷、绿原酸、3,5-二咖啡酰基奎宁酸和 4,5-二咖啡酰基奎宁酸五种中药单体可浓度依赖性降低细胞内 PGE2 的生成,且浓度越大,PGE2 的含量越低<sup>[71]</sup>。有文献<sup>[72]</sup>报道,白藜芦醇是一种有效的组蛋白去乙酰化酶(Sirt1)激活剂,具有抗炎作用,利用该模型研究发现其抗炎活性主要依赖于 Sirt1 和 Sirt1 对炎症产生负面调节而发挥作用。

## 4 结论

炎症是身体对于有害的刺激和条件引起的适应性反应。在生理条件下,炎症能够消除感染、修复机体,可防止进一步的损伤;在病理条件下,炎症可导致组织破坏和器官功能障碍,这在许多人类疾病的发展中起着重要作用。炎症是先天免疫系统对有害刺激,组织损伤或感染的复杂生物反应,其特征在于热、肿胀、发红、疼痛和功能障碍<sup>[73]</sup>。然而,慢性炎症已被认为是包括动脉硬化、神经退行性疾病、哮喘和癌症在内的多种疾病的常见原因<sup>[74-77]</sup>。

很多天然药物具有良好的抗炎效果,且资源丰富、副作用小、应用历史悠久,因此具有很好的开发价值和前景,选择合适的筛选模型尤为重要。由于动物模型筛选抗炎药物存在规模小、成本高、耗时长,尤其是对样品的需求较大等不利因素,而细胞模型快速、高效、成本低,且能对药物作用的分子靶点及机制做出解释,因此细胞模型在筛选抗炎药物的过程中显得极其重要。以往的综述主要集中在天然药物的抗炎机制方面,但有关抗炎天然药物细胞筛选模型的总结很少有报道,本文综述了近年来在抗炎药物筛选过程中应用的一些细胞模型,以期天然药物的抗炎活性及机制研究提供参考。

## 参考文献

- 1 Lawrence T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation[J]. CSH Perspect Biol,2009,1:a001651.
- 2 Kurakula K, et al. Nuclear receptor Nur77 attenuates airway inflammation in mice by suppressing NF- $\kappa$ B activity in lung epithelial cells[J]. J Immunol,2015,195:1388-1398.
- 3 Zheng LL, et al. Biological anti-inflammatory effects in active components of flos chrysanthemi indicii[J]. Tianjin J Tradit Chin Med(天津中医药),2011,28:251-253.
- 4 Lin WW, et al. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer[J]. J Clin Invest,2007,117:1175-1183.
- 5 Geissmann F, et al. Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells[J]. Science(New York, N. Y.),2010,327:656-661.
- 6 Suzuki H, et al. A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection[J]. Nature,1997,386:292-296.
- 7 Nyati KK, et al. TH1 and TH2 Response to campylobacter jejuni antigen in Guillain-Barré syndrome[J]. Arch Neurol,2011,68:445-452.
- 8 Lee SJ, et al. Phytoglycoprotein inhibits interleukin-1beta and

- interleukin-6 via p38 mitogen-activated protein kinase in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells [J]. *N-S Arch Pharmacol*, 2008, 377:45-54.
- 9 Andreyev AY, et al. Subcellular organelle lipidomics in TLR-4-activated macrophages [J]. *J Lipid Res*, 2010, 51: 2785-2797.
  - 10 Lu RM, et al. Chemical constituents of *Salvia plebaia* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 2011, 42:859-862.
  - 11 Zou YH, et al. Anti-inflammatory sesquiterpenoids from the traditional Chinese medicine *Salvia plebeia*: regulates pro-inflammatory mediators through inhibition of NF- $\kappa$ B and Erk1/2 signaling pathways in LPS-induced Raw264.7 cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 210:95-106.
  - 12 Shin MS, et al. Anti-inflammatory effects and corresponding mechanisms of cirsimaritin extracted from *Cirsium japonicum* var. *maackii* Maxim [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27: 3076.
  - 13 Cha JD, et al. The essential oil isolated from *Artemisia capillaris* prevents LPS-induced production of NO and PGE<sub>2</sub> by inhibiting MAPK-mediated pathways in RAW 264.7 macrophages [J]. *Immunol Invest*, 2009, 38:483-497.
  - 14 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Vol I (中华人民共和国药典: 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 170-171.
  - 15 Tang YQ, et al. Effect of phillygenin on inflammatory response in LPS-induced RAW264.7 cells [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2019, 7:1117-1123.
  - 16 Zhang HJ, et al. Anti-inflammatory diterpene dimers from the root barks of *Aphanamixis grandifolia* [J]. *Org Biomol Chem*, 2015, 13:7452-7458.
  - 17 Wang YQ. Generation of bone marrow-derived macrophages and the effect of histone methylation modifications on the release of IL-6 and TNF- $\alpha$  by macrophages [D]. Guangdong: Southern Medical University (南方医科大学), 2015.
  - 18 Zhang J. Effects of *Astragalus membranaceus* on the production of inflammatory cytokines in BMDM cells [D]. Hebei: Hebei Medical University (河北医科大学), 2017.
  - 19 Weischenfeldt J, et al. Bone marrow-derived macrophages (BMM): isolation and applications [J]. *CSH Protoc*, 2008, 3 (12):pdb. prot5080.
  - 20 Weischenfeldt J, et al. NMD is essential for hematopoietic stem and progenitor cells and for eliminating by-products of programmed DNA rearrangements [J]. *Gene Dev*, 2008, 22: 1381-1396.
  - 21 Marim FM, et al. A method for generation of bone marrow-derived macrophages from cryopreserved mouse bone marrow cells [J]. *PLoS One*, 2010, 5:e15263.
  - 22 Das A, et al. Dual transcriptome sequencing reveals resistance of TLR4 ligand-activated bone marrow-derived macrophages to inflammation mediated by the BET inhibitor JQ1 [J]. *Sci Rep*, 2015, 5:16932.
  - 23 Ji YE, et al. *Eucalyptus globulus* inhibits inflammasome-activated pro-inflammatory responses and ameliorate monosodium urate-induced peritonitis in murine experimental model [J]. *Am J Chin Med*, 2018, 46:423-433.
  - 24 Lee GJ, et al. Mycobacterium fortuitum induces A20 expression that impairs macrophage inflammatory responses [J]. *Pathog Dis*, 2016, 74(3):ftw015.
  - 25 Zhang Q, et al. Chemical composition and pharmacological activities of *Astragali radix* [J]. *Chin J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2012, 37:3203-3207.
  - 26 Li W, et al. Flavonoids from *Astragalus membranaceus* and their inhibitory effects on LPS-stimulated pro-inflammatory cytokine production in bone marrow-derived dendritic cells [J]. *Arch Pharm Res*, 2014, 37:186-192.
  - 27 Kang SH, et al. Anti-inflammatory activity of *Carpinus tschonoskii* leaves extract in R848-stimulated bone marrow-derived macrophages and dendritic cells [J]. *J Bacteriol Virol*, 2012, 42:77-82.
  - 28 Tang B, et al. Replicative kinetics of porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus and inflammatory cytokine expression in macrophages [J]. *Chin J Vet Sci (中国兽医学报)*, 2015, 35:680-685.
  - 29 Ianaro A, et al. Anti-inflammatory activity of macrolide antibiotics [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2000, 292:156-163.
  - 30 Michie C. Anti-inflammatory activity of macrolide antibiotics [J]. *Trends Mol Med*, 2002, 8:547.
  - 31 Munić V, et al. Intensity of macrolide anti-inflammatory activity in J774A.1 cells positively correlates with cellular accumulation and phospholipidosis [J]. *Pharmacol Res*, 2011, 64: 298-307.
  - 32 Jing YY, et al. Influences of scutellarin on ATP-induced inflammasome activation and pyroptosis in J774A.1 macrophages [J]. *Chin Pharmacol Bull (中国药理学通报)*, 2018, 34: 174-180.
  - 33 Hu SP, et al. Study on *in vitro* anti-inflammatory mechanism of the essential component of huanglian jiedu decoction [J]. *Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药理学)*, 2014, 31: 1171-1174.
  - 34 Phuneerub P, et al. *In vitro* anti-inflammatory, mutagenic and antimutagenic activities of ethanolic extract of *Clerodendrum paniculatum* root [J]. *J Adv Pharm Technol Res*, 2015, 6:48-52.

- 35 Helmke RJ, et al. A continuous alveolar macrophage cell line: comparisons with freshly derived alveolar macrophages [J]. *In Vitro Cell Dev Biol*, 1989, 25(1): 44-48.
- 36 Diabaté S, et al. *In vitro* effects of incinerator fly ash on pulmonary macrophages and epithelial cells [J]. *Int J Hyg Envir Heal*, 2002, 204: 323-326.
- 37 Gao H, et al. Stat3 activation in acute lung injury [J]. *J Immunol*, 2004, 172: 7703-7712.
- 38 Shang X, et al. The genus *Scutellaria*, an ethnopharmacological and phytochemical review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 128: 279-313.
- 39 Wu Y, et al. Effects of wogonin on inflammation-related factors in alveolar macrophages infected with influenza virus [J]. *Chin J Pathophysiol (中国病理生理杂志)*, 2011, 27: 533-538.
- 40 Wu Y, et al. Effect and mechanism of wogonin on NF- $\kappa$ B nuclear translocation and expression in NR8383 cells infected by influenza virus [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志)*, 2012, 18: 161-165.
- 41 Huang DD, et al. Anti-inflammatory effects of the extract of *Gnaphalium affine* D. Don *in vivo* and *in vitro* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 176: 356-364.
- 42 Zhang YZ. The anti-inflammatory activity of a methanolic extract from *Ophiocordyceps sinensis* mycelia in LPS-stimulated NR8383 rat alveolar macrophages [D]. Shanghai: Shanghai Normal University (上海师范大学), 2013.
- 43 Kong TY, et al. Protective effect of galangin on the LPS-induced inflammation in THP-1 cells [J]. *Chin J Crit Care Med (中国急救医学)*, 2016, 36: 362-366.
- 44 Jian L, et al. Interleukin-21 enhances Toll-like receptor 2/4-mediated cytokine production via phosphorylation in the STAT3, Akt and p38 MAPK signalling pathways in human monocytic THP-1 cells [J]. *Scand J Immunol*, 2019, 86(6): e12761.
- 45 Zhang D, et al. Lipopolysaccharide (LPS) of porphyromonas gingivalis induces IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and IL-6 production by THP-1 cells in a way different from that of *Escherichia coli* LPS [J]. *Innate Immunity*, 2008, 14: 99-107.
- 46 Aikawa Y, et al. An anti-rheumatic agent T-614 inhibits NF- $\kappa$ B activation in LPS- and TNF- $\alpha$ -stimulated THP-1 cells without interfering with I $\kappa$ B $\alpha$  degradation [J]. *Inflamm Res*, 2002, 51: 188-194.
- 47 Wang F, et al. Effect of essential oil from *Schizonepeta tenuifolia* on the mechanism of NLRP3 inflammasome activation in THP-1 cells [J]. *Chin Med Mater (中药材)*, 2017, 40: 689-694.
- 48 Essafi-Benkhadir K, et al. Quince (*Cydonia oblonga* miller) peel polyphenols modulate LPS-induced inflammation in human THP-1-derived macrophages through NF- $\kappa$ B, p38MAPK and Akt inhibition [J]. *Biochem Bioph Res Co*, 2012, 418: 180-185.
- 49 Xue J, et al. Simultaneous determination of salvianolic acid D, rosmarinic acid, lithospermic acid and salvianolic acid B in the salvianolic acid extract by HPLC [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志)*, 2013, 19: 70-73.
- 50 Liu HM, et al. Anti-inflammatory activities and potential mechanisms of phenolic acids isolated from *Salvia miltiorrhiza* f. *alba* roots in THP-1 macrophages [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 222: 201-207.
- 51 Ma S, et al. Evaluation of the anti-inflammatory activities of tanshinones isolated from *Salvia miltiorrhiza* var. *alba* roots in THP-1 macrophages [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 188: 193-199.
- 52 Lund ME, et al. The choice of phorbol 12-myristate 13-acetate differentiation protocol influences the response of THP-1 macrophages to a pro-inflammatory stimulus [J]. *J Immunol Methods*, 2016, 430: 64-70.
- 53 Chanput W, et al. THP-1 cell line: an *in vitro* cell model for immune modulation approach [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 23: 37-45.
- 54 Shiratori H, et al. THP-1 and human peripheral blood mononuclear cell-derived macrophages differ in their capacity to polarize *in vitro* [J]. *Mol Immunol*, 2017, 88: 58-68.
- 55 Quinn MT, et al. Structure and regulation of the neutrophil respiratory burst oxidase; comparison with nonphagocyte oxidases [J]. *J Leukoc Biol*, 2004, 76: 760-781.
- 56 Freitas M, et al. Optical probes for detection and quantification of neutrophils' oxidative burst. A review [J]. *Anal Chim Acta*, 2009, 649: 8-23.
- 57 Wright HL, et al. Neutrophil function in inflammation and inflammatory diseases [J]. *Rheumatology*, 2010, 49: 1618-1631.
- 58 Zhang HX, et al. Roles of neutrophil elastase inhibitors in disease [J]. *Med Recapit (医学综述)*, 2008, 14: 919-921.
- 59 Granica S, et al. Effects of *Geum urbanum* L. root extracts and its constituents on polymorphonuclear leucocytes functions. Significance in periodontal diseases [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 188: 1-12.
- 60 Gomes BS, et al. Anti-inflammatory effect of the monoterpene myrtenol is dependent on the direct modulation of neutrophil migration and oxidative stress [J]. *Chem-Biol Interact*, 2017, 273: 73-81.
- 61 Werb Z, et al. Glucocorticoid receptors and glucocorticoid-sensitive secretion of neutral proteinases in a macrophage

- line[J]. *J Immunol*,1978,121:115-121.
- 62 Wang CL, et al. Biological characteristics of L929 cell live [J]. *J Exp Hematol*(中国实验血液学杂志),1995,3:380-384.
- 63 Tian HQ, et al. Study on anti-inflammatory activity of the extracts of *Chaenomeles speciosa* [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药理学杂志),2015,3:287-288.
- 64 Oh GS, et al. Inhibitory effect of retinoic acid on expression of inducible nitric oxide synthase gene in L929 cells[J]. *Immunopharm Immunot*,2001,23:335-342.
- 65 Craciunescu O, et al. Liposomal formulation of chondroitin sulfate enhances its antioxidant and anti-inflammatory potential in L929 fibroblast cell line[J]. *J Liposome Res*,2013,23:145-153.
- 66 Sudsai T, et al. Evaluation of the wound healing property of *Boesenbergia longiflora* rhizomes [J]. *J Ethnopharmacol*,2013,150:223-231.
- 67 Li L. Research on the mechanism of *Shiraiia bambusicola* intervening in TNF- $\alpha$  signaling network [D]. Hunan: Central South University(中南大学),2011.
- 68 Wang D. Study on the Interaction between TNF- $\alpha$  and sesquiterpene lactones from *I. jaonica* and their anti-inflammatory effects[D]. Shanghai: Second Military Medical University (第二军医大学),2013.
- 69 Woods A, et al. Syndecan-4 and focal adhesion function[J]. *Curr Opin Cell Biol*,2001,13:578-583.
- 70 Zuo Q. Recombinant human interleukin-10 regulates expression of syndecan-4 protein in cultured rat vascular smooth muscle cells and NIH/3T3 cells induced by tumor necrosis factor- $\alpha$  in vitro [D]. Guangdong: Southern Medical University(南方医科大学),2009.
- 71 Xie B, et al. Effect of five kinds of monomer in *Ainslians fragrans* Champ on PGE<sub>2</sub> generation of NIH3T3 cells[J]. *Asia-Pac Tradit Med*(亚太传统医药),2016,12:9-11.
- 72 Zhu XX, et al. Activation of Sirt1 by resveratrol inhibits TNF- $\alpha$  induced inflammation in fibroblasts[J]. *PLoS One*,2011,6:e27081.
- 73 Lawrence T, et al. Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation[J]. *Nat Rev Immunol*,2002,10:787-805.
- 74 Libby P, et al. Inflammation in atherosclerosis[J]. *J Am Coll Cardiol*,2009,54:2129-2138.
- 75 Chung HY, et al. Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases[J]. *Ageing Res Rev*,2009,8:18-30.
- 76 Edwards MR, et al. Targeting the NF- $\kappa$ B pathway in asthma and chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Pharmacol Therapeut*,2009,121:1-13.
- 77 Read SA, et al. Virus induced inflammation and cancer development[J]. *Cancer Lett*,2014,345:174-181.
- 
- (上接第 866 页)
- 13 Zhou H, Zou QX, Hu L, et al. Isolation and identification of *Bacillus tequilensis* JN-369 and antimicrobial substance analysis[J]. *Chin J Pest Sci*(农药学报),2019,21(1):52-58.
- 14 Zhao N, Zhang HX, Xie YH, et al. Screening and identification of a high monacolin K producing *Monascus purpureus* and fermentation condition optimization [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发),2019,31:1326-1331.
- 15 Qiu C, Meng LY, Zhang PY. Optimization of fermentation medium and conditions of antibiotic active substances production by the *Erwinia* sp. 5-8 isolated from Guangxi mangrove [J]. *Chin J Antibio*(中国抗生素杂志),2015,40:823-827.