

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.06.014

实验研究

复方生地合剂对 MRL/lpr 小鼠脾脏组织 Th17/Treg 平衡的影响

陈薇薇¹, 肖小莉¹, 苏励^{2*}, 苏晓¹, 姚重华¹, 张娜¹

1. 上海中医药大学附属市中医医院, 上海市芷江中路 274 号, 200071; 2. 上海中医药大学附属龙华医院

摘要 目的 探讨复方生地合剂治疗系统性红斑狼疮 (SLE) 的可能作用机制。方法 将 30 只 MRL/lpr 小鼠 (狼疮模型鼠) 随机分组为模型组、复方生地合剂组、强的松组, 每组 10 只, 另以 10 只 C57BL/6 小鼠为空白组。复方生地合剂组给予浓度为 2.8 g/ml 的复方生地合剂人临床等效剂量 18.495 ml/(kg·d) 灌胃, 强的松组给予浓度为 1.23 g/ml 强的松片混悬液 10 ml/(kg·d) 灌胃, 模型组和空白组给予生理盐水 10 ml/(kg·d) 灌胃, 各组均每日 1 次。连续灌胃 8 周后检测血清白细胞介素 17A (IL-17A)、转化生长因子 β 1 (TGF- β 1) 水平, 检测脾脏淋巴细胞中辅助性 T 细胞 17 (Th17)、调节性 T 细胞 (Treg) 水平和脾脏组织维甲酸相关核受体 (ROR γ t) 和叉头状转录因子 p3 (Foxp3) mRNA 表达。试验期间观察各组小鼠死亡情况。结果 复方生地合剂组死亡 2 只, 强的松组死亡 1 只, 模型组死亡 3 只, 空白组无死亡。与空白组比较, 模型组小鼠血清 IL-17A 水平、脾脏组织 ROR γ t mRNA 表达升高, 脾脏淋巴细胞 Th17/CD4⁺、Th17/Treg 值亦升高, 血清 TGF- β 1 水平、脾脏组织 Foxp3 mRNA 表达、Treg/CD4⁺ 值降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较, 复方生地合剂组和强的松组小鼠血清 IL-17A 水平、ROR γ t mRNA 表达、Th17/CD4⁺、Th17/Treg 值降低, 血清 TGF- β 1 水平、Treg/CD4⁺ 值升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。复方生地合剂组和强的松组各指标比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 复方生地合剂可以改善脾脏组织 Th17/Treg 平衡, 可能是其治疗 SLE 的作用机制之一。

关键词 系统性红斑狼疮; 复方生地合剂; 脾脏; 辅助性 T 细胞 17; 调节性 T 细胞; 淋巴细胞; 细胞失衡

系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 是自身免疫性疾病, 可累及多系统, 病程迁延反复, 其患病率因性别、年龄、种族和地域的不同存在显著差异^[1]。目前西医治疗在控制急性发作上具有优势, 然而激素与细胞毒药物的长期应用却是 SLE 患者远期死亡的主要原因^[2]。SLE 的发病机制复杂, 涉及机体免疫系统的各个环节, 其中 T 淋巴细胞的异常可能是 SLE 发病的重要因素^[3]。有研究^[4-6]显示, 辅助性 T 细胞 17 (Th17)、调节性 T 细胞 (Treg) 及其平衡失调在 SLE 发病中的作用尤为重要。复方生地合剂是我们临床治疗 SLE 的有效方剂, 前期临床研究^[7-8]显示, 复方生地合剂不仅可改善 SLE 患者临床症状, 减少激素用量, 还能调节免疫、降低抗 ds-DNA。

据此, 本研究从 Th17/Treg 细胞失衡致病层面来探究复方生地合剂治疗 SLE 的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级雌性 MRL/lpr 小鼠 (狼疮模型鼠) 30 只, 12 周龄, 平均体质量 (38.48 ± 3.12) g; SPF 级雌性 C57BL/6 小鼠 10 只, 12 周龄, 平均体质量 (22.85 ± 0.68) g。所有小鼠均由上海斯莱克实验动物有限责任公司供应, 实验动物许可证号为 SCXK (沪) 2017-0005。小鼠以每笼 5 只饲养, 室内温度为 20 ~ 25℃, 湿度为 40% ~ 70%。

1.2 药物

复方生地合剂由生地黄 30 g、石膏 30 g、忍冬藤 30 g 组成, 由上海中医药大学附属市中医医院中药制剂室制备成浓度为 2.8 g/ml 的溶液。强的松片 (批号: 018180403), 上海上药信谊药厂有

基金项目: 国家自然科学基金 (81603563)

* 通讯作者: suli2002@vip.sina.com, (021) 64385700 转 1521

限公司, 将 10 mg 溶于 8.1 ml 纯净水中配制出 1.23 mg/ml 浓度的混悬液。

1.3 主要试剂与仪器

白细胞介素 17A (IL-17A) ELISA 试剂盒 (批号: A217H80652)、转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) ELISA 试剂盒 (批号: A18180642)、佛波酯 (PMA)/离子霉素混合物 (批号: A85520522)、布雷非德菌素 A (BFA)/莫能霉素混合物 (批号: A85530522), 均购自杭州联科生物技术股份有限公司; FITC 标记的大鼠抗小鼠 CD4 抗体 (批号: 6110899)、PE-Cy 标记的大鼠抗小鼠 CD25 抗体 (批号: 7341665)、Alexa Fluor® 647 标记的大鼠抗小鼠 IL-17A 抗体 (批号: 7228737), 均购自美国 BD Pharmingen 公司; PE 标记的大鼠抗小鼠 Foxp3 抗体 (批号: 4307350), 购自美国 eBioscience 公司; 反转录试剂盒 (货号: RR037A)、荧光定量试剂盒 (货号: RR420A), 均购自 TAKARA 公司; Trizol 试剂 (货号: 15596026) 购自 Ambion 公司; 淋巴细胞分离液 (批号: 20181220), 购自北京索莱宝科技有限公司; 台盼蓝染色液 (货号: ST798), 上海碧云天生物技术公司。

正置荧光显微镜 (DM 2500 型, 德国徕卡公司); 流式细胞仪 (CytoFLEX 型, Beckman Coulter 公司); 酶标仪 (Multiskan MK3 型, Thermo 公司); 荧光定量 PCR 仪 (LightCycler® 96 型, 罗氏公司)。

1.4 分组及干预方法

30 只 MRL/lpr 小鼠采用随机数字表法分为复方生地合剂组、强的松组和模型组, 每组 10 只; 10 只 C57BL/6 小鼠设为空白组。复方生地合剂组给予复方生地合剂人临床等效剂量 18.495 ml/(kg·d) 灌胃, 强的松组给予强的松片混悬液 12.3 mg/(kg·d) 灌胃, 模型组和空白组给予生理盐水 10 ml/(kg·d) 灌胃。各组均每天 1 次, 连续灌胃 8 周。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 小鼠死亡情况 实验期间记录各组小鼠死亡数量。

1.5.2 血清 IL-17A 和 TGF- $\beta 1$ 水平 取小鼠眼眶血入 EP 管, 室温静置 2 h, 3000 r/min、4℃ 离心 20 min, 离心半径 8 cm, 收集上清, -80℃ 冰箱保存备用。检测时取适量血清, 按照试剂盒说明书进行操作。

1.5.3 脾脏组织 Th17/Treg 特异性转录因子 mRNA 表达 断颈处死小鼠, 打开腹腔暴露脾脏, 用镊子

轻轻取出脾脏, 分成 3 份, 1 份放入预先装有 PBS 培养液的培养皿中, 置于冰上以备用。2 份装入 1.5 ml EP 管中, 放入 -80℃ 低温冰箱冻存。采用定量聚合酶链反应测定脾组织维甲酸相关核受体 (ROR γ t) 和叉头状转录因子 p3 (Foxp3) mRNA 表达: 取冻存的各组小鼠脾组织匀浆, 提取总 RNA。逆转录合成 cDNA, 以 GAPDH 为内参。引物由华大基因合成, 引物序列: GAPDH: 上游 AGGTCG-GTGTGAACGGATTG, 下游 TGTAGACCATTG-TAGTTGAGGTCA, 产物大小 123bp; Foxp3: 上游 TCTCCAGGACAGACCACACT, 下游 CAGCAGAAG-GTGGTGGGAG, 产物大小 125bp; ROR γ t: 上游 ACCAGGCATCCTGAAGTTGG, 下游 GCATATGG-TACCTCTGGGGC, 产物大小 89bp。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量。

1.5.4 脾脏淋巴细胞中 Th17、Treg 表达 采用流式细胞术检测, 用 Th17/CD4⁺ 和 Treg/CD4⁺ 比值表示 Th17 与 Treg 的数量。将培养皿中的脾脏置于 200 目无菌筛网上, 剪碎后碾磨脾脏至组织颜色发白, 用 PBS 冲洗后收集细胞悬液轻轻加入到淋巴细胞分离液。密度梯度离心后将淋巴细胞吸取该层至新的离心管, 加 PBS 至 10 ml, 2000 r/min、4℃ 离心 10 min, 离心半径 9 cm。清洗 2 次后重悬。台盼蓝染色确保细胞存活率大于 95%。调整细胞浓度至 10×10^6 个/ml。按每孔 500 μ l 分别装于 24 孔细胞培养板中, 加入 2 μ l 的 PMA/离子霉素混合物或 BFA/莫能霉素混合物, 放置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 5 h, 每小时混匀 1 次。Treg 染色: 加入 4 μ l FITC 标记的 CD4 抗体, 5 μ l PE-Cy 标记的 CD25 抗体, 混匀, 孵育, 洗涤, 固定破膜, 再孵育, 洗涤, 加入 2 μ l PE 标记的 Foxp3 抗体, 再孵育, 洗涤, 重悬, 上细胞流式仪检测并用 Cyt Expert 2.0.0.153 软件分析 Treg 百分率。Th17 染色: 加入 4 μ l FITC 标记的 CD4, 4℃ 避光孵育 30 min, 洗涤, 固定破膜, 混匀, 4℃ 避光孵育 45 min, 洗涤、离心, 加入 2 μ l Alexa Fluor® 647 标记的 IL-17A 抗体, 4℃ 避光孵育 45 min, 洗涤、离心, 重悬, 上细胞流式仪检测并应用 CytExpert 2.0.0.153 软件分析。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析。计量数据符合正态分布且方差齐性, 用均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 法。均采用双侧检验, $P < 0.05$ 为差异

有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠死亡情况比较

复方生地合剂组死亡 2 只, 分别于治疗第 2、3 周死亡; 强的松组死亡 1 只, 于治疗第 5 周死亡; 模型组死亡 3 只, 分别于治疗第 1、7、8 周死亡; 空白组无死亡。各组死亡小鼠毛发脱落、皮肤血管炎、浅表淋巴结肿大症状明显, 死亡前 1 周均有体重下降、活动力下降现象。对死亡小鼠解剖发现颈部、腹腔淋巴结肿大明显, 未发现有气管异物等, 考虑疾病发展致死。最终复方生地合剂组 8 只、强的松组 9 只、模型组 7 只和空白组 10 只小鼠存活至实验终点。

2.2 各组小鼠血清 IL-17A 和 TGF- β 1 水平比较

表 1 示, 与空白组比较, 模型组、复方生地合剂组小鼠血清 IL-17A 水平升高, 模型组、复方生地合剂组和强的松组小鼠血清 TGF- β 1 水平降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较, 复方生地合剂组和强的松组小鼠血清 IL-17A 水平降低, TGF- β 1 水平升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。复方生地合剂组和强的松组小鼠血清 IL-17A、TGF- β 1 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组小鼠血清 IL-17A 和 TGF- β 1 水平比较 (pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	IL-17A	TGF- β 1
空白组	10	1.73 $\pm$ 0.50	2206.67 $\pm$ 309.86
模型组	7	4.52 $\pm$ 1.01 **	517.83 $\pm$ 200.12 **
强的松组	9	2.11 $\pm$ 1.53 $\Delta\Delta$	804.50 $\pm$ 157.94 ** Δ
复方生地合剂组	8	2.92 $\pm$ 1.35 * Δ	764.18 $\pm$ 134.42 ** Δ

注: IL-17A, 白细胞介素 17A; TGF- β 1, 转化生长因子 β 1; 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

2.3 各组小鼠脾脏组织 ROR γ t、Foxp3 mRNA 表达比较

表 2 示, 与空白组比较, 模型组小鼠脾脏组织 ROR γ t mRNA 表达升高, 模型组、强的松组和复方生地合剂组小鼠脾脏组织 Foxp3 mRNA 表达降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 复方生地合剂组和强的松组 ROR γ t mRNA 表达降低, 强的松组 Foxp3 mRNA 表达升高 ($P < 0.05$)。复方生地合剂组和强的松组各指标组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.4 各组小鼠脾脏淋巴细胞 Th17/CD4 $^{+}$ 、Treg/CD4 $^{+}$ 、Th17/Treg 值比较

表 3 示, 与空白组比较, 模型组 Th17/CD4 $^{+}$ 、

Th17/Treg 值升高、Treg/CD4 $^{+}$ 值降低, 复方生地合剂组和强的松组 Treg/CD4 $^{+}$ 值降低, 复方生地合剂组 Th17/Treg 值升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较, 复方生地合剂组和强的松组 Th17/CD4 $^{+}$ 、Th17/Treg 值降低, Treg/CD4 $^{+}$ 值升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。复方生地合剂组和强的松组各项比值差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 各组小鼠脾脏组织 ROR γ t、Foxp3 mRNA 表达比较 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	ROR γ t mRNA	Foxp3 mRNA
空白组	10	2.024 $\pm$ 0.724	2.638 $\pm$ 0.778
模型组	7	3.645 $\pm$ 1.020 *	1.628 $\pm$ 0.382 *
强的松组	9	2.372 $\pm$ 1.164 Δ	2.292 $\pm$ 0.221 * Δ
复方生地合剂组	8	2.499 $\pm$ 0.992 Δ	1.990 $\pm$ 0.644 *

注: ROR γ t, 甲酰相关核受体; Foxp3, 叉头状转录因子 p3; 与空白组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

表 3 各组小鼠脾脏淋巴细胞 Th17/CD4 $^{+}$ 、Treg/CD4 $^{+}$ 、Th17/Treg 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	Th17/CD4 $^{+}$	Treg/CD4 $^{+}$	Th17/Treg
空白组	10	0.42 $\pm$ 0.17	11.06 $\pm$ 2.17	0.04 $\pm$ 0.01
模型组	7	0.74 $\pm$ 0.15 **	3.20 $\pm$ 1.41 **	0.28 $\pm$ 0.13 **
强的松组	9	0.40 $\pm$ 0.18 $\Delta\Delta$	6.03 $\pm$ 1.95 ** Δ	0.07 $\pm$ 0.04 $\Delta\Delta$
复方生地合剂组	8	0.53 $\pm$ 0.17 Δ	5.71 $\pm$ 2.20 ** Δ	0.11 $\pm$ 0.04 * $\Delta\Delta$

注: Th17, 辅助性 T 细胞 17; Treg, 调节性 T 细胞; 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

3 讨论

上海市名中医沈丕安教授致力于中医药治疗 SLE 的研究数十年, 将 SLE 的中医名命名为“红斑痹”, 总结其病机特点为真阴不足为本, 瘀热为标, 治疗上养阴滋肾以治本, 清热通络以治标, 标本同治, 提出 SLE “阴虚立论, 从阴论治”的观点^[8]。复方生地合剂方以生地黄为君药, 滋补肾阴、清热凉血, 《神农本草经》中记载生地黄“逐血痹, 填骨髓, 长肌肉, 作汤, 除寒热积聚, 除痹。生者尤良”。现代研究^[9]发现, 生地黄有免疫抑制作用。石膏最早记载见于《神农本草经》, 为清解气分实热之首选, 故将其作为臣药清热凉血, 与凉血分之热的生地黄配伍达气血两清。忍冬藤功能清热解毒, 疏风通络。现代药理研究^[11]发现, 忍冬藤具有抗炎作用。与生地黄、石膏相伍, 可加强清热解毒作用, 作为佐药、引经药, 发挥疏风通络的作用。全方共奏养阴清热、凉血通络之效, 滋阴而不留邪, 清热而不伤正, 凉血而不留瘀。

Th17、Treg 均为 CD4 $^{+}$ T 细胞的亚群, 都来源

于初始 T 细胞, Th17 细胞诱导免疫损伤, 为促炎细胞, 具有中医学“阳”的属性, 而 Treg 细胞介导免疫耐受, 抑制免疫, 具有中医学“阴”的属性^[2]。亦有研究^[3]显示, Th17/Treg 比例的升高可能促进 SLE, Th17/Treg 比例的下降延缓病情, 即 Th17/Treg 细胞平衡破坏可能为 SLE 发病机制中的关键因素。无论体外细胞因子诱导的 Th17 细胞的分化, 还是体内 Th17 细胞介导的炎症反应都需要 ROR γ t 的参与, 从而证实 ROR γ t 是促进 Th17 细胞分化的关键转录调节因子^[4]。而 Foxp3 在 Treg 细胞上特异性表达, 提供 Treg 细胞发育和功能所必需的物质基础, 可直接反映 Treg 的水平和功能活性, 目前 Foxp3 为判断 Treg 细胞的金标准^[5]。故本研究在基因层面通过 ROR γ t 和 Foxp3 的 mRNA 表达来反映 Th17 与 Treg 的平衡。

Th17 细胞的标志性细胞因子是 IL-17, 其中以 IL-17A 最具代表性, 一直被认为是促炎因子, 在 SLE 患者的血清及组织中检测到了 IL-17 的高表达^[6]。而 TGF- β 1 可以增强 Foxp3 对 ROR γ t 的抑制作用, 促进 Treg 细胞的生长发育^[7]。反之, Treg 细胞亦可产生 TGF- β 1 以发挥抑制自身免疫的作用^[8]。故本研究采用小鼠外周血的 IL-17A 和 TGF- β 1 水平反映与 Th17/Treg 的平衡。

本研究结果显示, MRL/lpr 小鼠血清 IL-17A 水平、脾脏组织 ROR γ t mRNA 表达升高, TGF- β 1 水平、脾脏组织 Foxp3 mRNA 表达下降, 脾脏淋巴细胞 Th17/CD4⁺、Th17/Treg 值升高, 而 Treg/CD4⁺ 值下降。而复方生地合剂和强的松均能降低 MRL/lpr 小鼠血清 IL-17A 水平、脾脏组织 ROR γ t mRNA 表达, 升高 TGF- β 1 水平。强的松能升高 MRL/lpr 小鼠脾脏组织 Foxp3 mRNA 表达, 而复方生地合剂不明显。复方生地合剂和强的松均能降低 Th17/CD4⁺、Th17/Treg 值, 提高 Treg/CD4⁺ 值。以上结果说明, 复方生地合剂使倾向于 IL-17A 细胞因子的失衡程度减弱, 利于 Th17/Treg 趋向平衡的建立。复方生地合剂对于通过转录因子 ROR γ t 和 Foxp3 分别活化的 Th17 和 Treg 的影响不一, 分析主要作用可能在于下调转录因子 ROR γ t 而减少 Th17 细胞的活化, 减少一系列级联免疫炎症反应, 改善 Th17/Treg 平衡而阻止和控制 MRL/lpr 小鼠的狼疮样表现。综上, 复方生地合剂可以改善 Th17/Treg 平衡, 可能是其治疗 SLE 的可能作用机制之一。

参考文献

[1] 王苏丽, 吕良敬. 系统性红斑狼疮患者的生活质量研究

现状机遇与挑战并存 [J]. 中华风湿病学杂志, 2018, 22(4): 217-218.

[2] 冷晓梅, 曾晓峰. 规范糖皮质激素在系统性红斑狼疮中的应用 [J]. 中华内科杂志, 2014, 53(6): 431-432.

[3] 苏晓. 风湿病中西医实用手册 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2015: 16-17.

[4] 闫成兰, 张少然, 陈俊伟. 系统性红斑狼疮 Th17/调节性 T 细胞平衡 [J]. 中国药物与临床, 2012, 12(3): 349.

[5] 马纪林, 蔡龙, 施华萍, 等. 系统性红斑狼疮患者外周血调节性 T 细胞与 Th17 细胞失衡的研究 [J]. 医学研究杂志, 2013, 42(3): 27-30.

[6] ZHU M, MO H, LI D, et al. Th17/Treg imbalance induced by increased incidence of atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) [J]. Clin Rheumatol, 2013, 32(7): 1045-1052.

[7] 陈薇薇, 江春春, 唐华燕, 等. 复方生地合剂治疗系统性红斑狼疮(阴虚内热型)的安全性及有效性评价 [J]. 上海中医药大学学报, 2013, 27(1): 34-36.

[8] 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.

[9] 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.

[10] 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.

[11] 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.

[12] YANG J, YANG X, ZOU H, et al. Recovery of the immune balance between Th17 and regulatory T cells as a treatment for systemic lupus erythematosus [J]. Rheumatol, 2011, 50(8): 1366-1372.

[13] 张卓亚, 孔玮, 陈经纬, 等. 脐带间充质干细胞移植调节 Th17/调节性 T 细胞平衡延缓 MRL/lpr 鼠狼疮进展 [J]. 中华风湿病学杂志, 2015, 19(3): 152-155.

[14] 韩根成, 沈倍奋. Th17 细胞分化、调节及效应研究进展 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2008, 35(2): 117-122.

[15] 王照娟, 陈龙华. 丹皮提取物对系统性红斑狼疮模型小鼠的免疫调节作用及其机制研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(13): 1879-1882.

[16] 邵红伟, 杨海林, 梁春梅. 不同培养环境对 PMBC 中 Treg 和 Th17 细胞分化的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2015, 31(7): 874-878.

[17] 王涛, 江超, 李志军. TGF- β 1 与系统性红斑狼疮研究进展 [J]. 国际免疫学杂志, 2019, 42(2): 190-194.

[18] REKIK R, SMITI KHANFIR M, LARBI T, et al. Impaired TGF- β signaling in patients with active systemic lu-

pus erythematosus is associated with an overexpression of
IL-22 [J]. Cytokine, 2018, 108: 182-189. doi: 10.1016/

j. cyto. 2018. 04. 011.

Effects of Compound Shengdi Mixture (复方生地合剂) on Th17/Treg Balance in Splenic Tissue of MRL/lpr Mice

CHEN Weiwei¹, XIAO Xiaoli¹, SU Li², SU Xiao¹, YAO Chonghua¹, ZHANG Na¹

1. Shanghai Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, 200071; 2. Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine

ABSTRACT Objective To explore possible mechanism of Compound Shengdi Mixture (复方生地合剂) in treatment of systemic lupus erythematosus (SLE). **Methods** Totally 30 MRL/lpr mice (lupus model mice) were randomly divided into model group, Compound Shengdi Mixture group and prednisone group, with 10 mice in each group, and 10 C57BL/6 mice were considered as blank group. The Compound Shengdi Mixture group was given 2.8 g/ml Compound Shengdi Mixture with a human clinical equivalent dose of 18.495 ml/(kg · d) by gavage. The prednisone group was given 10 ml/(kg · d) 1.23 g/ml prednisone suspension by gavage. The model group and the blank group were given 10 ml/(kg · d) normal saline by gavage, once a day for each group. After 8 weeks of continuous intragastric administration, interleukin-17A (IL-17A) and transforming growth factor-β1 (TGF-β1) levels in serum were determined. Helper T cell 17 (Th17) and regulatory T cell (Treg) levels in splenic lymphocytes, and mRNA expressions of retinoid acid orphan receptor γt (RORγt) and fox head box protein p3 (Foxp3) in splenic tissue were determined. Death of the mice in each group was observed during the experiment. **Results** There were 2 mice dead in the Compound Shengdi Mixture group, 1 in the prednisone group, 3 in the model group and 0 in the blank group. Compared to the blank group, IL-17A level in mice serum and the mRNA expression of RORγt in splenic tissue in the model group were increased; values of Th17/CD4⁺ and Th17/Treg in splenic lymphocytes were also increased; TGF-β1 level in serum, the mRNA expression of Foxp3 in splenic tissue and the value of Treg/CD4⁺ were decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the model group, the IL-17A levels in mice serum, the mRNA expressions of RORγt, as well as values of Th17/CD4⁺ and Th17/Treg in the Compound Shengdi Mixture group and the prednisone group were decreased, and the TGF-β1 level in serum and the value of Treg/CD4⁺ were increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). There was no statistically significant difference in all indicators in the Compound Shengdi Mixture group and the prednisone group ($P > 0.05$). **Conclusion** Compound Shengdi Mixture can improve Th17/Treg balance in splenic tissue, which may be one of its mechanisms in treating SLE.

Keywords systemic lupus erythematosus; Compound Shengdi Mixture (复方生地合剂); spleen; helper T cell 17; regulatory T cell; lymphocyte; cell imbalance

(收稿日期: 2019-05-29; 修回日期: 2019-10-09)

编辑: 邓 媛

欢迎邮购《中医杂志》光盘合订本

1951—1986 年(4 张光盘) 480 元; 1987—1994 年(1 张光盘) 260 元; 1995—2004 年(1 张光盘) 280 元; 2005—2013 年(1 张光盘) 300 元。

光盘合订本为计算机用数据光盘, 收入了同期出版的全部《中医杂志》内容, 可对所有文章进行任意字检索, 方便实用。

汇款地址: 北京东直门内南小街 16 号中医杂志社, 邮政编码: 100700, 收款人: 杨秋雷

电话: (010) 64035632, 网址: <http://www.jtcm.net.cn>