

姜文清,戚艳,沙若荷,等. PTEN 在多烯磷脂酰胆碱下调 LPS 诱导巨噬细胞炎症反应中的抑制作用 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(8): 44-49.

Jiang WQ, Qi Y, Sha RH, et al. Inhibitory effect of PTEN on polyene phosphatidylcholine in downregulating LPS-induced macrophage inflammatory response [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(8): 44-49.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.08.007

PTEN 在多烯磷脂酰胆碱下调 LPS 诱导巨噬细胞炎症反应中的抑制作用

姜文清^{1,2,3#}, 戚艳^{1,2,3#}, 沙若荷^{1,2,3}, 章欣^{1,2,3}, 陈静越^{1,2,3}, 潘伟^{1,3}, 孙芬芬^{1,3*}

(1.江苏省免疫与代谢重点实验室,病原生物学与免疫学教研室; 2.临床医学系; 3.基础医学国家级实验教学示范中心;徐州医科大学,江苏 徐州 221004)

【摘要】 目的 研究临床护肝药—多烯磷脂酰胆碱(polyene phosphatidyl choline, PPC)对 LPS 诱导巨噬细胞(macrophages, M ϕ)炎症的调控作用以及第 10 号染色体上缺失的磷酸酶-张力蛋白同系物(phosphate and tension homology deleted on chromosome ten, PTEN)在上述过程中的作用,初步明确 PPC 的抗炎效果及机制。**方法** 将 Raw264.7 细胞铺于细胞培养板,分别加入 PPC(20 μ g/mL)、LPS(100 ng/mL)、PPC(20 μ g/mL)+LPS(100 ng/mL)、PPC(20 μ g/mL)+SF1670(PTEN 抑制剂,150 ng/mL)、PPC(20 μ g/mL)+LPS(100 ng/mL)+SF1670(150 ng/mL)以及等体积 PBS,培养 24 h 后,收集细胞沉淀及培养上清,ELISA 法检测上清中 IL-6、IL-10、TNF- α 含量;RT-PCR 检测细胞中 IL-6 的 mRNA 相对表达量;Western blot 检测细胞中 PTEN 的蛋白表达情况。**结果** 相比 PBS 组,PPC 组 TNF- α 、IL-6、IL-10 分泌量无明显差异;相比 LPS 组,PPC+LPS 组培养上清中 TNF- α 、IL-6 水平明显降低($P<0.001$),而 IL-10 水平明显升高($P<0.001$)。相比 LPS 组,PPC+LPS 组 PTEN 蛋白表达量明显上高。相比 PPC 组,PPC+SF1670 组 TNF- α 、IL-6 分泌或表达量明显升高($P<0.05$);相比 PPC+LPS 组,PPC+LPS+SF1670 组 TNF- α 、IL-6 分泌或表达水平明显升高($P<0.05$),而 IL-10 分泌量明显降低($P<0.05$)。**结论** PPC 可通过上调 PTEN 表达以抑制 LPS 诱导 M ϕ 炎症反应。

【关键词】 多烯磷脂酰胆碱;巨噬细胞;PTEN;炎症因子

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019)08-0044-06

Inhibitory effect of PTEN on polyene phosphatidylcholine in downregulating LPS-induced macrophage inflammatory response

JIANG Wenqing^{1,2,3#}, QI Yan^{1,2,3#}, SHA Ruohu^{1,2,3}, ZHANG Xin^{1,2,3}, CHEN Jingyue^{1,2,3}, PAN Wei^{1,3}, SUN Fenfen^{1,3*}

(1. Jiangsu Key Laboratory of Immunity and Metabolism, Department of Pathogenic Biology and Immunology;
2. Department of Clinical Medicine; 3. National Experimental Teaching Demonstration Center for Basic Medicine;
Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, China)

【Abstract】 Objective To investigate the regulatory role of the clinical hepatinica, polyene phosphatidylcholine (PPC), on LPS-induced macrophage inflammatory response and whether phosphate and tension homology deleted on

[基金项目] 国家自然科学基金(81871670);国家级大学生创业创新训练计划项目(201710313023Z,201710313023);江苏省博士后科研资助计划(2019K063)。

[作者简介] 姜文清(1996—),女,本科生,研究方向:炎性疾病发病的分子机制研究。E-mail: 2331213952@qq.com

戚艳(1994—),女,本科生,研究方向:炎性疾病发病的分子机制研究。E-mail: 11148183259@qq.com #共同第一作者

[通信作者] 孙芬芬(1984—),女,硕士,实验师,研究方向:炎性疾病发病的分子机制研。E-mail: fen_1208@163.com

chromosome ten (PTEN) is involved in the process. The study also preliminarily determined the anti-inflammatory effect of PPC and its underlying mechanisms. **Methods** Raw 264.7 cells were inoculated on cell culture plates and divided into six groups, which were labeled and induced as follows: PPC (20 $\mu\text{g/mL}$), LPS (100 ng/mL), LPS (100 ng/mL) + PPC (20 $\mu\text{g/mL}$), PPC (20 $\mu\text{g/mL}$) + SF1670 (150 ng/mL), PPC (20 $\mu\text{g/mL}$) + SF1670 (150 ng/mL) + LPS (100 ng/mL) or an equal volume of phosphate-buffered saline (PBS) groups. The cells and supernatants were collected after 24 h. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect the levels of IL-6, IL-10 and TNF- α . RT-PCR was applied to detect the mRNA expression of IL-6. Western blot was performed to confirm the PTEN protein expression. **Results** TNF- α and IL-10 levels in the supernatants did not significantly differ between the PBS and PPC groups. Compared with the LPS group, the TNF- α and IL-6 levels in culture supernatants of the PPC+LPS group decreased significantly ($P<0.001$), while the IL-10 level increased significantly ($P<0.001$). PTEN protein expression in the PPC+LPS group was significantly higher than that of the LPS group. Compared with the PPC group, the TNF- α levels and IL-6 mRNA expression in the PPC+SF1670 group were significantly increased ($P<0.05$). The PPC+LPS+SF1670 group showed elevated TNF- α and IL-6 production ($P<0.001$) but lower IL-10 production ($P<0.001$) than that of the PPC+LPS group. **Conclusions** PPC inhibits LPS-induced macrophage inflammatory response by upregulating PTEN expression.

【Keywords】 polyene phosphatidylcholine; macrophage cells; PTEN; inflammatory cytokine

磷脂酰胆碱 (phosphatidyl choline, PC), 亦称卵磷脂, 是细胞膜和细胞器膜的重要组成部分^[1]。传统用法上, PC 作为一种保健品, 具有安神补脑、美容养颜、减肥与清理血管内垃圾等功能。但新近发现该成分亦具有免疫调节作用^[2-3]。研究证实, tuftsin-PC 复合物可改善小鼠类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 病情, 其机制可能与诱导调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Tregs) 和调节性 B 细胞 (regulatory B cells, Bregs) 增多有关^[4]; 不仅如此, 该化合物还可通过诱导 DC 细胞产生 IL-10 以改善小鼠炎症性肠炎病情^[3]。

多烯磷脂酰胆碱 (polyene phosphatidyl choline, PPC), 是一种护肝药, 临床上广泛应用于各种肝病类型的治疗^[5-8], 包括酒精所致肝纤维化、肝细胞脂肪变性及非酒精性脂肪性肝炎等。PPC 的主要成分为 PC, 提示 PPC 可能具有抗炎作用。课题组前期研究发现 PPC 可下调 LPS 诱导的巨噬细胞 (macrophages, M ϕ) 炎症反应, 并能改善大鼠类风湿性关节炎病情^[9]。这提示 PPC 具有治疗炎症性疾病的潜力。深入探讨 PPC 的作用机制将为开发 PPC 作为抗炎药提供理论基础, 但目前尚不明确。

第 10 号染色体缺失的张力蛋白-磷酸酶同系物 (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN), 是 1997 年人类发现的第一个具有磷酸化酶功能的抑癌基因^[10]。其编码蛋白可调控细胞生长发育、凋亡、迁移、信号传递等^[11-12]。那么, PTEN 是否参与了 PPC 的抗炎过程, 尚不明确。本研究以小鼠 M ϕ 系 Raw264.7 为模型, 探讨 PPC 对 LPS 诱导 M ϕ 炎症的调控作用以及

PTEN 在上述过程中的作用, 研究结果将为开发 PPC 作为抗炎药奠定实验依据。

1 材料和方法

1.1 巨噬细胞细胞系

Raw 264.7 细胞株由本实验室保存。

1.2 主要试剂与仪器

DMEM/HIGH Glucose 培养基 (美国 Hyclone 公司), 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) (美国 Gibco 公司), PTEN 及 β -actin 抗体 (英国 Abcam 公司), 抗兔二抗 (武汉 ABclonal 公司), 小鼠 IL-6、IL-10、TNF- α ELISA 检测试剂盒 (美国 eBioscience 公司), 多烯磷脂酰胆碱注射液 (赛诺菲安万特 (北京) 制药有限公司), PrimeScriptTM RT Master Mix (日本 Takara 公司), TransStart Top Green qPCR SuperMix (北京金式全生物有限公司), LPS (美国 Sigma 公司), SF1670 (PTEN 抑制剂, 美国 ApexBio 公司), ECL 化学发光试剂盒 (德国 Millipore 公司), 青霉素、链霉素溶液 (美国 Gibco 公司)。

荧光定量 PCR 仪 (德国 Roche Light[®] Cycler480 II), 分光光度计 (Nanodrop Lite), 酶标仪 (美国 Biotek 酶标仪), Western blot 电泳转系统 (美国 Bio-Rad 公司), CO₂ 细胞培养箱 (德国 Thermo Scientific), TRIzol (碧云天)。

1.3 实验方法

1.3.1 巨噬细胞系培养

RAW264.7 细胞以 $5 \times 10^5/\text{mL}$ 铺于 6 孔板, 每孔 2 mL 完全培养基 (含 10% 胎牛血清、青霉素 100 U/mL 和链霉素 100 $\mu\text{g/mL}$)。于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 培

养箱中进行培养及实验。

1.3.2 实验分组

(一)PPC 对 LPS 诱导 M ϕ 炎症反应的调控作用研究

实验分为 4 组:PBS 组、PPC 组(20 μ g/mL)、LPS 组(100 ng/mL)、LPS(100 ng/mL)+PPC(20 μ g/mL)组。每组 3 个重复孔。加入上述刺激培养 24 h 后,收集上清后,向细胞中加入 Trizol,反复吹打,待细胞裂解充分后,收集细胞裂解液。以上样本置于-80℃冰箱备用。

(二)PTEN 在 PPC 调控 LPS 诱导 M ϕ 炎症反应中的作用研究

实验分为 6 组:PBS 组、PPC 组(20 μ g/mL)、LPS 组(100 ng/mL)、LPS(100 ng/mL)+PPC(20 μ g/mL)组、PPC(20 μ g/mL)+SF1670(150 ng/mL)、LPS(100 ng/mL)+PPC(20 μ g/mL)+SF1670(150 ng/mL)。每组 3 个重复孔。加入上述刺激培养 24 h 后,样本收集同前。

1.3.3 实时荧光定量 RT-PCR 检测 IL-6 mRNA 表达情况

收集上述各组 TRizol 裂解细胞,抽提 RNA,用 TransStart Top Green qPCR SuperMix 试剂盒反转录 cDNA 后,运用实时荧光定量 PCR 检测 IL-6 mRNA 表达情况。引物序列见表 1。荧光定量 PCR 反应体系(20 μ L 体系)为:上游引物:10 μ mol/L,1 μ L;下游引物:10 μ mol/L,1 μ L;SYBR Green I:10 μ L;ddH $_2$ O:7 μ L;cDNA:1 μ L。荧光定量 PCR 扩增条件为:预变性 95℃ 5 min;PCR 反应 95℃ 15 s,60℃ 15 s,75℃ 15 s,共 45 个循环。以 GAPDH 作为内参,校正目标基因的表达量,应用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法计算各基因的相对表达量。

表 1 用于实时荧光定量 RT-PCR 的引物序列
Table 1 The primer sequences used for quantitative real-time RT-PCR

基因 Gene	引物序列(5'-3') Primer sequence
IL-6	Forward: CCACGGCCTTCCTAC
	Reverse: AAGTGCATCATCGTTGT
GAPDH	Forward: CAACTTTGGCATTTGTGGAAGG
	Reverse: ACACATTGGGGTAGGAACAC

1.3.4 Western blot 检测 PTEN 表达

收集各组细胞沉淀,加入 RIPA 裂解液后,抽提总蛋白,定量后,进行蛋白电泳及转膜。转膜后,用 5%脱脂牛奶室温封闭 2 h,分别用稀释浓度为 1:1000 的 PTEN、 β -actin 抗体孵育 4℃ 过夜。Washing

buffer 洗 3 次,每次 15 min。稀释度为 1:5000 抗兔二抗室温孵育 2 h, washing buffer 洗 3 次,每次 15 min,ECL 显影后用 Image Lab 软件进行图片分析。

1.3.5 ELISA 检测炎症相关因子蛋白含量

采用美国 eBioscience 公司 ELISA 试剂盒检测培养上清中 IL-6、IL-10、TNF- α 水平。具体操作按照说明书进行。

1.4 统计学方法

采用 GraphPad 软件 6.0 进行作图及统计学分析。数据统计结果用平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。多组样本之间采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PPC 对 LPS 诱导 M ϕ 炎症因子的影响

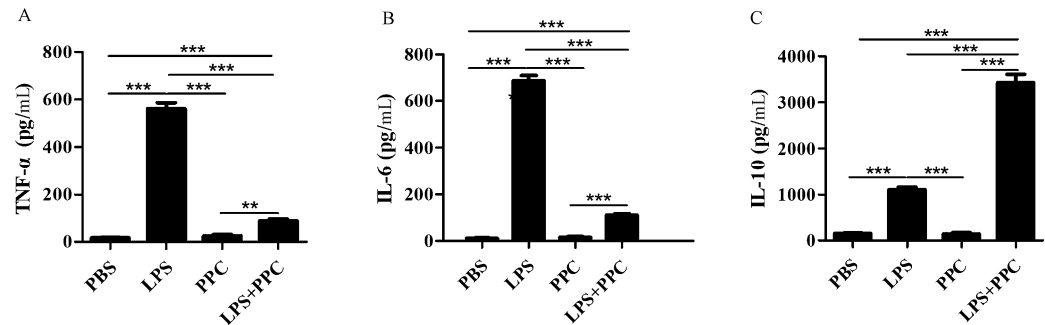
为探讨 PPC 对炎症反应的调控作用,用 ELISA 检测培养上清中炎症相关因子的含量(图 1)。PPC 组 TNF- α 、IL-6、IL-10 的含量分别为(26.007 $\pm$ 7.764) pg/mL、(15.181 $\pm$ 5.619) pg/mL、(138.809 $\pm$ 44.789) pg/mL,与 PBS 组的(17.827 $\pm$ 3.704) pg/mL、(10.565 $\pm$ 1.709) pg/mL、(153.822 $\pm$ 14.277) pg/mL,无明显统计学差异($P>0.05$)。LPS+PPC 组炎症相关因子 TNF- α 、IL-6 的含量分别为(87.977 $\pm$ 13.374) pg/mL、(109.875 $\pm$ 11.029) pg/mL,显著低于 LPS 组炎症相关因子含量(561.402 $\pm$ 42.748) pg/mL、(686.887 $\pm$ 37.841) pg/mL($P<0.001$),而 LPS+PPC 组 IL-10 为(3433.795 $\pm$ 302.731) pg/mL,显著高于 LPS 组的(1105.894 $\pm$ 92.478) pg/mL($P<0.001$)。以上结果表明,PPC 能显著抑制 LPS 诱导的 M ϕ 炎症反应。

2.2 PPC 对 LPS 活化 M ϕ 细胞中 PTEN 表达的影响

为探讨 PPC 调控炎症的信号通路,利用 Western blot 检测上述各组 PTEN 蛋白表达情况(图 2)。相比 PBS 组,LPS 组 PTEN 表达下降($P<0.05$);PPC 组 PTEN 表达升高($P<0.001$)。相对 LPS 组,PPC+LPS 组 PTEN 表达量显著升高($P<0.001$)。以上结果提示,PPC 可能通过作用于上调 PTEN 抑制 LPS 诱导的 M ϕ 炎症反应。

2.3 SF1670 对 PPC 调控 M ϕ 炎症因子的影响

为明确 PTEN 是否参与 PPC 下调 LPS 诱导的 M ϕ 炎症反应,向上述培养体系中加入 PTEN 抑制剂 SF1670,ELISA 及实时荧光定量 RT-PCR 检测炎症

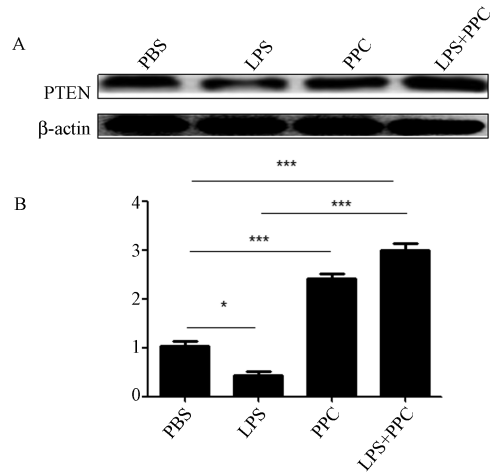


注:图中四组 bar 依次代表巨噬细胞经过 PBS、LPS、PPC、LPS+PPC 处理后上清中 TNF-α、IL-6 及 IL-10 的含量。与 LPS 组比较, ** $P<0.01$; *** $P<0.001$ 。

图 1 PPC 对 LPS 诱导 M ϕ 细胞炎症因子分泌的影响

Note. The four groups of bars in the figure show the content of TNF-α, IL-6 and IL-10 in supernatant of macrophages treated with PBS, LPS, PPC and LPS+PPC. Compared with the PPC group, ** $P<0.01$; *** $P<0.001$.

Figure 1 The effects of PPC on the secretion of inflammatory cytokines in macrophages induced by LPS



注:图中 A 代表性 Western blot,图中 B 四组 bar 依次代表巨噬细胞经过 PBS、LPS、PPC、LPS + PPC 处理后 PTEN 的相对表达量。与 LPS 组比较, ** $P<0.01$; *** $P<0.001$ 。

图 2 PPC 对 LPS 活化 Raw264.7 细胞中 PTEN 表达的影响

Note. Figure 2A, Western blot. Figure 2B, The relative expression of PTEN in macrophages treated with PBS, LPS, PPC and LPS+PPC. Compared with the PPC group, ** $P<0.01$; *** $P<0.001$.

Figure 2 The effects of PPC on the PTEN expression of Raw 264.7 cells activated by LPS.

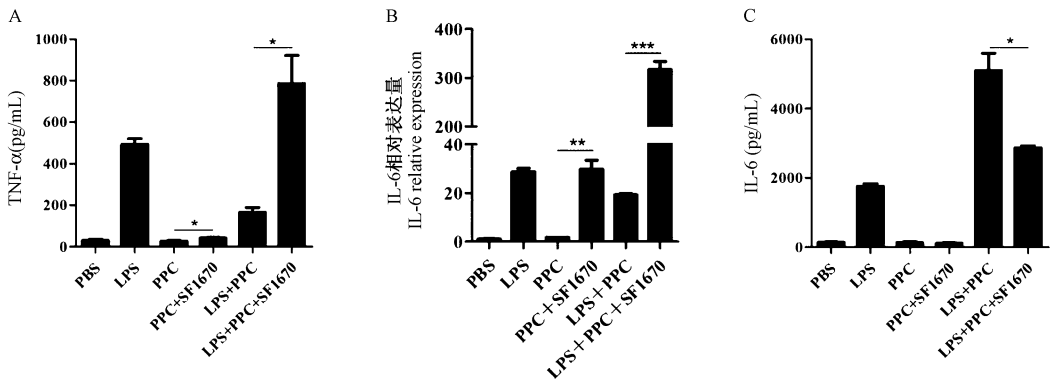
因子的表达变化(图 3)。PPC+SF1670 组 TNF-α 含量为(42.286 ± 5.737) pg/mL,显著高于 PPC 组($P<0.05$); PPC 组为 IL-6 相对表达量为(1.690 ± 0.251),显著低于 PPC + SF1670 组的(29.627 ± 6.469)($P<0.001$);而 PPC 组 IL-10 含量与 PPC + SF1670 组无明显差异($P>0.05$)。PPC + LPS + SF1670 组 TNF-α 含量为(786.876 ± 234.499) pg/

mL,显著高于 PPC + LPS 组的(165.310 ± 40.763) pg/mL($P<0.05$); PPC + LPS + SF1670 组 IL-6 的表达量为(316.695 ± 23.262),显著高于 PPC + LPS 组($P<0.001$); PPC + LPS + SF1670 组 IL-10 含量为(2869.317 ± 106.722) pg/mL,显著低于 PPC + LPS 组的(5100.46 ± 856.631) pg/mL($P<0.05$)。以上结果表明,PTEN 参与了 PPC 下调 LPS 诱导 M ϕ 炎症反应。

3 讨论

本研究发现 PPC 能下调 LPS 诱导的巨噬细胞炎症反应,并证明 PTEN 参与 PPC 的抗炎作用。作为一种经典护肝药物,近些年来发现 PPC 也可治疗重症胰腺炎^[13]、急性脓毒症^[14]、类风湿性关节炎^[3]等非肝脏疾病;但其抗炎机制需进一步探讨。

本研究发现,PPC 并不会诱导正常 M ϕ 细胞产生炎症反应,与课题组前期报道 PPC 对 M ϕ 细胞的增殖与凋亡均无明显影响相符^[9]。但 PPC 能明显抑制 LPS 诱导的 M ϕ 细胞释放促炎因子 IL-6、TNF-α 的分泌,并促进抗炎因子 IL-10 的分泌。在 M ϕ 细胞炎症反应中,TNF-α 与 IL-6 是主要的炎性因子。其中,TNF-α 可通过介导 T 细胞的激活与增殖来促进炎症反应,而 IL-6 可通过淋巴细胞的激活与增值、B 细胞的分化、白细胞的募集以及肝内急性蛋白反应来促进炎症活动,从而在炎性疾病发生发展中发挥着重要作用^[15]。IL-10 主要由单核细胞和淋巴细胞产生,被认为是最重要的抗炎因子之一^[16]。目前,针对 IL-6、TNF-α 的抗体及受体阻断剂已被开发用于治疗自身免疫性疾病^[17-18]。本研究结果提示,



注:上清中 TNF-α、IL-10 的含量及细胞中 IL-6 的相对表达量。与 LPS+PPC 组比较, ** $P<0.01$; *** $P<0.001$ 。

图 3 PTEN 抑制后 PPC 对 LPS 诱导 M ϕ 细胞炎症反应的影响

Note. The content of TNF-α and IL-10 in supernatant and relative expression of IL-6 in macrophages. Compared with the LPS +PPC group, ** $P<0.01$; *** $P<0.001$.

Figure 3 The effects of PPC on LPS induced inflammatory response in macrophages after inhibition of PTEN

PPC 具有较好的抗炎潜力,可能用于治疗炎性疾病。

本研究还证实,PPC 发挥抗炎作用与其上调 PTEN 有关。PPC 能显著上调 M ϕ 细胞 PTEN 表达,而采用抑制剂 SF1670 抑制 PTEN 表达,PPC 不能下调 LPS 诱导的炎症反应。有研究显示,PTEN 可通过催化 3, 4, 5-三磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate, PIP3)去磷酸化拮抗 PI3K 活性^[19],下调 PI3K/AKT 通路从而抑制下游信号分子 NF-κB 与 mTOR 的激活^[20-21]。PI3K 是由一个催化亚基(p110α/β/γ/δ)和一个调节亚基(p85α/β)组成的杂二聚体蛋白^[22]。在细胞被生长因子或细胞因子激活后,PI3K 催化 D3 位的 4,5-二磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP2)转化生成 PIP3。AKT 通过血小板同源结构域(pleckstrin homology domain, PH domain)与 PIP 3 结合,引起 AKT 构象的改变,随后 AKT 在 Ser473/474 被磷酸肌醇依赖性激酶 2 (phosphoinositide-dependent kinase-2, PDK-2)激活^[23]。AKT 能激活多种基因的转录,特别是那些参与免疫激活、细胞增殖、凋亡和细胞存活的基因。已有研究证明 PI3K/AKT 参与 NF-κB 活化及 NF-κB 依赖性细胞因子的表达,激活各种炎症基因的转录,促进炎症因子生成,诱发炎症反应^[24]。此外,下调 PI3K/AKT 信号轴也可能促进 M ϕ 细胞向 M2 型分化^[25]。在 CCl₄ 诱导小鼠肝纤维化进展逆转模型中,PTEN 可以下调 PI3K/AKT/STAT6 信号通路,促进巨噬细胞向 M2 型分化^[26]。结合前人研究,本研究推测

PPC 可能通过上调 PTEN 表达,下调 PI3K/AKT 通路,以抑制 M ϕ 细胞释放炎症因子,但具体机制尚需进一步证实。

参考文献:

[1] 王镜岩,朱圣庚,徐长法. 生物化学 [M]. 第 3 版. 北京: 高等教育出版社; 2010.

[2] Feige E, Mendel I, George J, et al. Modified phospholipids as anti-inflammatory compounds [J]. Curr Opin Lipidol, 2010, 21 (6): 525-529.

[3] Ben-Ami Shor D, Bashi T, Lachnish J, et al. Phosphorylcholine-tuftsins compound prevents development of dextran sulfate-sodium-salt induced murine colitis: implications for the treatment of human inflammatory bowel disease [J]. J Autoimmun, 2015, 56: 111-117.

[4] Bashi T, Shovman O, Fridkin M, et al. Novel therapeutic compound tuftsins-phosphorylcholine attenuates collagen-induced arthritis [J]. Clin Exp Immunol, 2016, 184(1): 19-28.

[5] Li L, Zhang XJ, Lan Y, et al. Treatment of non-alcoholic fatty liver disease by Qianggan Capsule [J]. Chin J Integr Med, 2010, 16(1): 23-27.

[6] Lieber CS, Robins SJ, Li J, et al. Phosphatidylcholine protects against fibrosis and cirrhosis in the baboon [J]. Gastroenterology, 1994, 106(1): 152-159.

[7] 王涛,陈东风.多烯磷脂酰胆碱通过过氧化物酶体增殖物激活受体 α/肉碱棕榈酰基转移酶 1A 通路影响肝细胞脂肪变性 [J]. 中华肝脏病杂志, 2016, 24(4): 291-296.

[8] Cao M, Li X, Zhang B, et al. The effect of polyene phosphatidylcholine intervention on nonalcoholic steatohepatitis and related mechanism [J]. Am J Transl Res, 2016, 8(5): 2325-2330.

[9] Pan W, Hao WT, Xu HW, et al. Polyene Phosphatidylcholine inhibited the inflammatory response in LPS-stimulated macrophages and ameliorated the adjuvant-induced rat arthritis

- [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(9): 4206–4216.
- [10] Li J, Yen C, Liaw D, et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer [J]. *Science*, 1997, 275(5308): 1943–1947.
- [11] Makker A, Goel MM, Mahdi AA. PI3K/PTEN/Akt and TSC/mTOR signaling pathways, ovarian dysfunction. and infertility: an update [J]. *J Mol Endocrinol*, 2014, 53(3): R103–118.
- [12] Qi Y, Liu J, Saadat S, et al. PTEN induces apoptosis and cavitation via HIF-2-dependent Bnip3 upregulation during epithelial lumen formation [J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22(5): 875–884.
- [13] Li X, Wu Z, Sha H, et al. Protective effects of polyenylphosphatidylcholine in rats with severe acute pancreatitis [J]. *Pancreas*, 2015, 44(4): 596–601.
- [14] Demirbilek S, Ersoy MO, Demirbilek S, et al. Effects of polyenylphosphatidylcholine on cytokines, nitrite/nitrate levels, antioxidant activity and lipid peroxidation in rats with sepsis [J]. *Intensive Care Med*, 2004, 30(10): 1974–1978.
- [15] Stenvinkel P, Ketteler M, Johnson RJ, et al. IL-10, IL-6, and TNF- α : central factors in the altered cytokine network of uremia—the good, the bad, and the ugly [J]. *Kidney Int*, 2005, 67(4): 1216–1233.
- [16] Nishimoto N, Sasai M, Shima Y, et al. Improvement in Castleman’s disease by humanized anti-interleukin-6 receptor antibody therapy [J]. *Blood*, 2000, 95(1): 56–61.
- [17] Maini RN, Taylor PC. Anti-cytokine therapy for rheumatoid arthritis [J]. *Annu Rev Med*, 2000, 51: 207–229.
- [18] Palladino MA, Bahjat FR, Theodorakis EA, et al. Anti-TNF- α therapies: the next generation [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2003, 2(9): 736–746.
- [19] Moore MN. Do airborne biogenic chemicals interact with the PI3K/Akt/mTOR cell signalling pathway to benefit human health and wellbeing in rural and coastal environments? [J]. *Environ Res*, 2015, 140: 65–75.
- [20] Cantley LC, Neel BG. New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(8): 4240–4245.
- [21] Chen L, Guo D. The functions of tumor suppressor PTEN in innate and adaptive immunity [J]. *Cell Mol Immunol*, 2017, 14(7): 581–589.
- [22] Fresno Vara JA, Casado E, de Castro J, et al. PI3K/Akt signalling pathway and cancer [J]. *Cancer Treat Rev*, 2004, 30(2): 193–204.
- [23] Blume-Jensen P, Hunter T. Oncogenic kinase signalling [J]. *Nature*, 2001, 411(6835): 355–365.
- [24] Li J, Li J, Yue Y, et al. Genistein suppresses tumor necrosis factor α -induced inflammation via modulating reactive oxygen species/Akt/nuclear factor κ B and adenosine monophosphate-activated protein kinase signal pathways in human synoviocyte MH7A cells [J]. *Drug des Devel Ther*, 2014, 8: 315–323.
- [25] Hyam SR, Lee IA, Gu W, et al. Arctigenin ameliorates inflammation in vitro and in vivo by inhibiting the PI3K/AKT pathway and polarizing M1 macrophages to M2-like macrophages [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 708(1–3): 21–29.
- [26] Cheng Y, Tian Y, Xia J, et al. The role of PTEN in regulation of hepatic macrophages activation and function in progression and reversal of liver fibrosis [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2017, 317: 51–62.

[收稿日期]2019-01-25

(上接第 16 页)

- [8] 吴可人. 高浓度 CO₂ 与内生菌互作对超积累东南景天生长、镉吸收积累及微生物群落结构的影响 [D]. 杭州: 浙江大学, 2018.
- [9] 赵笑枫. 肠道菌群结构变化与结直肠癌相关性的研究 [D]. 昆明: 昆明医科大学, 2017.
- [10] 薛越, 王青青. 肠道菌群与恶性肿瘤的研究进展 [J]. *实用肿瘤杂志*, 2016, 31(1): 9–13.
- [11] Topping DL, Clifton PM. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides [J]. *Physiol Rev*, 2001, 81(3): 1031–1064.
- [12] 许芳, 赵阳, 武其文. 高通量测序技术在检测循环肿瘤细胞中的应用 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2018, 10(1): 56–60, 72.
- [13] Zackular JP, Baxter NT, Chen GY, et al. Manipulation of the gut microbiota reveals role in colon tumorigenesis [J]. *mSphere*, 2016, 1(1): e00001–15.
- [14] 朱华, 肖冲, 尚海泉, 等. 基于高通量测序的不同年龄恒河猴肠道菌群结构差异分析 [J]. *中国实验动物学报*, 2019, 27(1): 72–78.
- [15] 孜白旦·阿不来提, 阿孜尔古丽·阿布都克日木, 德力夏提·依米提. 乳腺癌患者肠道菌群高通量测序初步探索 [J]. *新疆医科大学学报*, 2017, 40(6): 839–843.
- [16] 杨立娜, 朱力杰, 王勃, 等. 肠道微生物调控肠道肿瘤的相关性研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2017, 38(7): 371–375.
- [17] Duhamel GE. Comparative pathology and pathogenesis of naturally acquired and experimentally induced colonic spirochetosis [J]. *Anim Health Res Rev*, 2001, 2(1): 3–17.
- [18] 杨婧, 朱金芬, 孟灵, 等. 糖尿病患者糖脂代谢、炎症反应与乳酸杆菌水平的相关性研究 [J]. *内科*, 2018, 13(4): 581–583, 595.
- [19] 姜洋, 赵秋枫, 王实, 等. 基于 16S rRNA 序列分析肠道菌群失调与溃疡性结肠炎的相关性 [J]. *世界华人消化杂志*, 2017, 25(36): 3191–3202.
- [20] 廖秦平, 牛小溪. 人体微生态研究现状与展望 [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2017, 33(8): 777–778.

[收稿日期]2019-06-03