

刘恋, 刘佳丽, 黄永熙, 等. 熊果酸通过 JAK1/STAT3 缓解脂多糖诱导的 BALB/c 小鼠炎症反应 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (10): 39-48.
LIU L, LIU J L, HUANG Y X, et al. Ursolic acid alleviates LPS-induced inflammation in BALB/c mice by regulating JAK1/STAT3 and inflammatory factors [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (10): 39-48.

熊果酸通过 JAK1/STAT3 缓解脂多糖诱导的 BALB/c 小鼠炎症反应

刘恋, 刘佳丽, 黄永熙, 余捷, 汤锋, 白若男, 刘满,
朱君, 郭利伟*, 刘国平, 杨小林
(长江大学动物科学技术学院, 湖北 荆州 434000)

摘要: 旨在通过脂多糖 (LPS) 建立 RAW264.7 细胞与 BALB/c 小鼠炎症模型进行体内外试验, 探讨熊果酸对 LPS 诱导炎症的保护作用。体外采用 MTT 法测定熊果酸和 LPS 对 RAW264.7 细胞活力的影响, 中性红测试熊果酸对 LPS 刺激 RAW264.7 细胞吞噬能力的影响, Griess 法测定 NO 释放水平; 荧光定量 PCR (RT-qPCR) 测定 JAK 激酶 1 (JAK1) /信号转导子和转录激活子 3 (STAT3) 信号通路和炎症因子 mRNA 表达水平。BALB/c 小鼠灌胃熊果酸分为 25 mg/kg 的低剂量组 (UA-L)、50 mg/kg 的中剂量组 (UA-M) 和 100 mg/kg 的高剂量组 (UA-H), 每只小鼠 200 μ L/d, 灌胃 7 d, 腹腔注射 LPS 诱导炎症反应后采集脾脏, 计算脾脏指数, 使用流式细胞术测定脾脏 T 细胞分化和 Th17/Treg 平衡, RT-qPCR 方法验证 α 肿瘤坏死因子 (TNF- α)、白细胞介素 (IL) -1、JAK1 和 STAT3 的 mRNA 表达水平。结果: 熊果酸在 12.5 μ g/mL 范围内对细胞活力无影响 ($P>0.05$), LPS 浓度为 1 μ g/mL 时, 细胞存活率为 54.55%; LPS 刺激后 RAW264.7 细胞吞噬能力显著下降 ($P<0.05$), NO 释放水平显著上升 ($P<0.05$); 熊果酸干预后, 细胞吞噬能力呈剂量依赖式上升, NO 释放水平下降。RT-qPCR 结果表明, RAW264.7 细胞经 LPS 刺激后, 一氧化氮合酶 (iNOS)、IL-1、IL-6、TNF- α 、JAK1 和 STAT3 的 mRNA 表达水平均显著上升 ($P<0.05$); 熊果酸干预后, 上述因子 mRNA 表达水平均显著下降 ($P<0.05$)。体内试验结果表明, 腹腔注射 LPS 后, 小鼠脾脏指数显著高于空白对照组 ($P<0.05$), CD4⁺/CD8⁺ 和 Th17/Treg 细胞出现失衡; 不同剂量熊果酸干预后脾脏指数均显著降低 ($P<0.05$), 对小鼠 CD4⁺ 和 CD8⁺ 细胞分化具有明显促进作用, 同时改善 Th17/Treg 失衡; 腹腔注射 LPS 的小鼠脾脏 IL-1、TNF- α 、JAK1 和 STAT3 的 mRNA 表达水平均显著上升 ($P<0.05$), 提前饲喂熊果酸能改善这一情况。综上, 熊果酸通过调节炎症因子、改善 T 细胞分化失衡, 从而降低由 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞和小鼠的炎症反应。

关键词: 熊果酸; 脂多糖; 炎症; JAK1/STAT3; Th17/Treg

中图分类号: S852.3 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2024)10-0039-10

Ursolic acid alleviates LPS-induced inflammation in BALB/c mice by regulating JAK1/STAT3 and inflammatory factors

LIU Lian, LIU Jiali, HUANG Yongxi, YU Jie, TANG Feng, BAI Ruonan, LIU Man,
ZHU Jun, GUO Liwei*, LIU Guoping, YANG Xiaolin
(College of Animal Science and Technology, Yangtze University, Jingzhou 434000, China)

Abstract: This study was to establish an inflammatory model of RAW264.7 cells and BALB/c mice by LPS, and to detect the protective effect of ursolic acid on LPS-induced inflammation in mice by *in vivo* and *in vitro* experiments. The effects of ursolic acid and LPS on the viability of RAW264.7 cells were measured by MTT assay *in vitro*. Then, the effect of ursolic acid on the phagocytosis of RAW264.7 cells stimulated by LPS was detected by neutral red test, and RT-qPCR was used to measure the mRNA expression of the JAK1/STAT3 signaling pathway and inflammatory factors. Next, BALB/c mice were divided into the low dose group (UA-L, 25 mg/kg), the middle dose group (UA-M, 50 mg/kg) and the high dose group (UA-H, 100 mg/kg) by gavage of ursolic acid. Each mouse was treated with 200 μ L/d by gavage for 7 days. Flow cytometry was used to measure the differentiation of splenic T cells and Th17/Treg balance. Finally, RT-qPCR was used to verify the mRNA expression levels of TNF- α , IL-1, JAK1 and STAT3. The results were as follows: Ursolic acid had no effect on cell viability in the range of 12.5 μ g/mL ($P>0.05$). When the concentration of LPS was 1 μ g/mL, the cell survival rate was 54.55%. After

收稿日期: 2023-09-17; 修回日期: 2024-08-12

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目 (31602099); 湖北省重点研发计划项目 (2023BBB045)

第一作者: 刘恋, 女, 硕士研究生

* 通信作者: 郭利伟, 副教授, 研究方向为中兽医药学, E-mail: guolw@yangtzeu.edu.cn.

LPS stimulation, the phagocytic ability of the RAW264.7 cells decreased significantly ($P < 0.05$), and the release of NO increased significantly ($P < 0.05$). After ursolic acid intervention, the phagocytic ability of the RAW264.7 cells increased in a dose-dependent manner, and the release of NO decreased. The results of RT-qPCR showed that the mRNA expression levels of iNOS, IL-1, IL-6, TNF- α , JAK1 and STAT3 in the RAW264.7 cells were significantly increased after LPS stimulation ($P < 0.05$), and the mRNA expression levels of the above were significantly decreased after ursolic acid intervention ($P < 0.05$). The results of in vivo experiment showed that, after intraperitoneal injection of LPS, the spleen index of the mice was significantly higher than that of the blank control group ($P < 0.05$), and the imbalance of CD4⁺/CD8⁺ and Th17/Treg cells was observed. After intervention with ursolic acid at different doses, the spleen index was significantly decreased ($P < 0.05$), which promoted the differentiation of CD4⁺ and CD8⁺ cells and improved the imbalance of Th17/Treg in the mice. The mRNA expressions of IL-1, TNF- α , JAK1 and STAT3 in the spleen of the mice with intraperitoneal injection of LPS were increased ($P < 0.05$), and early feeding of ursolic acid could improve the situation. In conclusion, ursolic acid reduced the LPS-stimulated inflammatory response in RAW264.7 cells and in mice by regulating inflammatory factors, and restoring the imbalance of T cell differentiation.

Keywords: ursolic acid; LPS; inflammation; JAK1/STAT3; Th17/Treg

炎症是机体对受伤组织的局部保护反应,同时也是维持机体稳态的关键反应^[1]。炎症的发生是由多种因素引起的,包括微生物感染、异种生物过敏反应、营养失衡、应激和遗传等^[2-4]。这些因素能够促进血液中白细胞、组织内巨噬细胞和肥大细胞分化,并产生大量炎性介质,从而引发炎症反应。在动物养殖中,由于管理不当、药物滥用等因素均可引起动物的炎症反应^[5]。例如,仔猪在生长过程中因受外界环境影响,能够过度表达促炎因子,导致仔猪长期处于病理状态,严重者可引起生长停滞^[6-7];养殖环境不佳容易导致鸡群感染厌氧梭状芽胞杆菌引起溃疡性肠炎,治疗难度大且致死率较高^[8]。因此,炎症对养殖行业的危害巨大。

中草药来源广泛、成本低廉、绿色安全且无药物残留,常作为饲料添加剂应用于动物饲料中,能够增强动物免疫能力,提高饲料转化率,在一定程度上改善了饲料资源短缺状态^[9]。熊果酸是一种五环三萜类的天然活性成分,广泛存在于各种蔬菜、水果和中草药之中,目前已从34科108种植物中均能分离到。同样,熊果酸是中草药中应用广泛的萜类化合物,属于三萜类化合物,现对于五环三萜类的深入研究则是以熊果酸或者齐墩果酸为研究对象而进行的^[10]。熊果酸作为一种中药单体,具有广泛的药理活性,包括抗炎、抗菌、抗肿瘤、降血糖、保护心脏、保肝、镇静等作用^[11-14]。

JAK 激酶 1 (JAK1) / 信号转导子和转录激活子 3 (STAT3) 信号通路是细胞因子信号传导的重要部分,参与细胞增殖、分化、凋亡以及免疫调节等^[15]。当前,关于熊果酸抗炎的主要研究集中在 NF- κ B 信号通路,关于 JAK1/STAT3 信号通路尚未见报道,因此,本研究拟采用体内体外试验探讨熊果酸对脂多糖 (LPS) 诱导小鼠炎症的保护作用及 JAK1/STAT3 在其中发挥的作用,为其临床开发与应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

RAW264.7 小鼠巨噬细胞,购自武汉普诺赛生命科技有限公司; RPMI 1640 培养基、胎牛血清、含 0.25% EDTA 胰酶 (Gibco), 购自赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司; 熊果酸 (纯度 $\geq 98\%$), 购自麦克林生化科技股份有限公司 (上海); LPS (纯度 $\geq 98\%$)、DMSO (纯度 $\geq 99.5\%$), 购自索莱宝科技有限公司 (北京); NO 检测试剂盒 (S0021S), 购自碧云天生物技术有限公司 (上海); Axgen 总 RNA 提取试剂盒 (AP-MN-MS-RNA-250), 购自康为世纪生物科技有限公司 (苏州); cDNA 逆转录酶、2 \times SYBR Green Fast qPCR Mix (RK20433, RK21203), 购自爱博泰克生物科技有限公司 (武汉); CD3e、CD4、CD8e 抗体, 购自 BD 公司 (美国)。细胞培养箱 (MCO-15AC), 购自三洋电机有限公司 (日本); 多功能酶标仪 (SpectraMax iD3), 购自美谷分子仪器有限公司 (美国); 荧光定量 PCR 仪 (CXT96), 购自伯乐生命医学产品有限公司 (上海); BD FACSAriaTM Fusion 细胞分选仪, 购自 Becton, Dickinson and Company (美国)。

1.2 熊果酸、LPS 对 RAW264.7 细胞活力影响

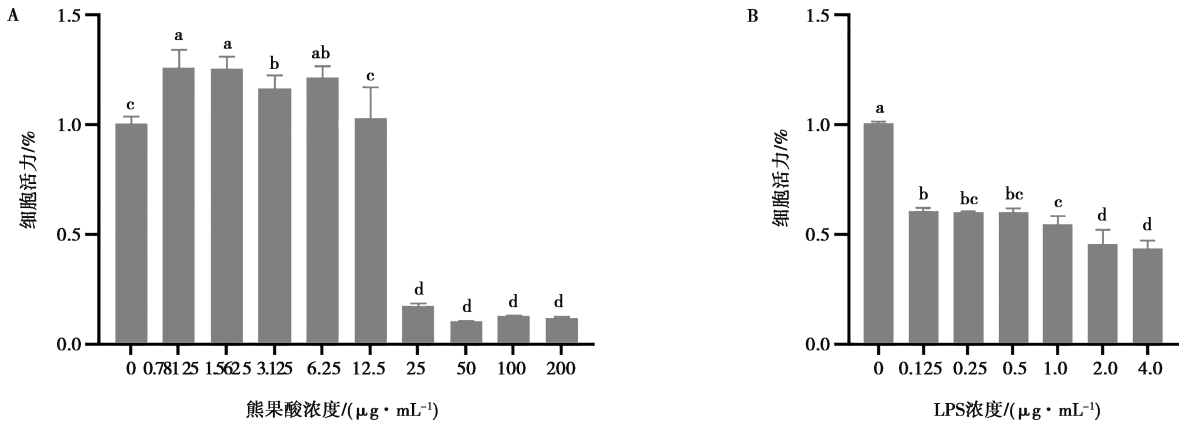
RAW264.7 细胞, 培养于 RPMI 1640 完全培养基 (89% RPMI 1640+10%胎牛血清+1%双抗) 中, 待其生长密度达到 80%~90%, 使用含 0.25% EDTA 胰酶消化并接种 96 孔板, 使用 RPMI 1640 基础培养基稀释熊果酸和 LPS, 加入培养板中, 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下培养 20 h, 每孔加入 20 μ L MTT 溶液 (5 mg/mL), 再次避光孵育 4 h, 弃上清液, 加入 150 μ L DMSO 溶解甲瓚结晶, 使用酶标仪测量 570 nm 处的 OD 值, 并计算细胞存活率, 确定熊果酸和 LPS 对 RAW264.7 细胞的安全浓度范围。存活率 = 试验孔 OD / 对照组 OD $\times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 熊果酸和 LPS 使用的细胞安全浓度范围

熊果酸、LPS 对 RAW264.7 细胞活力的影响如图 1 所示，与对照组相比，熊果酸浓度在 0.781 25 ~

6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内，细胞存活率显著上升 ($P < 0.05$)。与对照组相比，LPS 浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时，细胞存活率为 54.55%，差异显著 ($P < 0.05$)，因此，选择熊果酸 0.781 25、1.562 5、3.125 和 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，LPS 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 作为后续试验浓度。



注：不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)，字母相同表示差异不显著 ($P > 0.05$)，下同。

图 1 不同浓度熊果酸 (A) 和 LPS (B) 对 RAW264.7 细胞活力的影响

2.2 熊果酸对 LPS 刺激 RAW264.7 细胞吞噬能力和 NO 释放量的影响

细胞吞噬试验如图 2A 所示，与对照组相比，LPS 组作用后 RAW264.7 细胞吞噬能力显著下降 ($P < 0.05$)；与 LPS 组相比，熊果酸干预组在 0.781 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时无显著差异 ($P > 0.05$)，但呈上升趋势，而在 1.562 5 ~ 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内，熊果酸

干预组呈剂量依赖式增强 LPS 抑制的 RAW264.7 细胞吞噬能力 ($P < 0.05$)。LPS 刺激 RAW264.7 细胞 NO 释放结果如图 2B 所示，与对照组相比，LPS 组 NO 释放量显著增加 ($P < 0.05$)；相较 LPS 组，熊果酸干预组在 0.781 25 ~ 1.562 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内对 NO 释放量无显著影响 ($P > 0.05$)，但随熊果酸剂量增加，NO 释放量显著降低 ($P < 0.05$)。

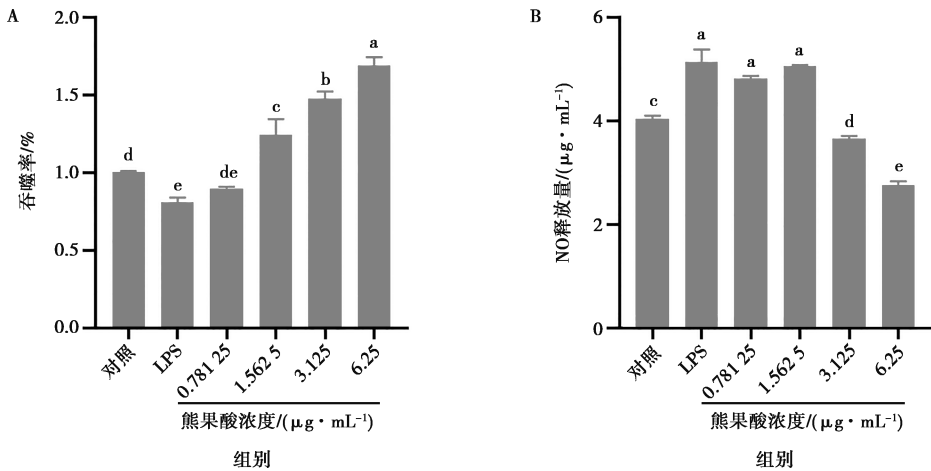


图 2 LPS 刺激和熊果酸干预对 RAW264.7 细胞吞噬能力 (A) 和 NO 释放量 (B) 的影响

2.3 熊果酸对细胞炎症因子和 JAK1/STAT3 信号通路相关因子 mRNA 表达水平的影响

LPS 刺激和熊果酸干预后 RAW264.7 细胞炎症因子相关 mRNA 表达水平如图 3 所示，与对照组相比，LPS 刺激后，RAW264.7 细胞 iNOS、IL-1、IL-6、

TNF- α 、JAK1 和 STAT3 表达水平均显著上调 ($P < 0.05$)，同时，在熊果酸干预后，与 LPS 组相比，除 0.781 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 熊果酸组外，其余各浓度组均呈现显著下调趋势 ($P < 0.05$)。

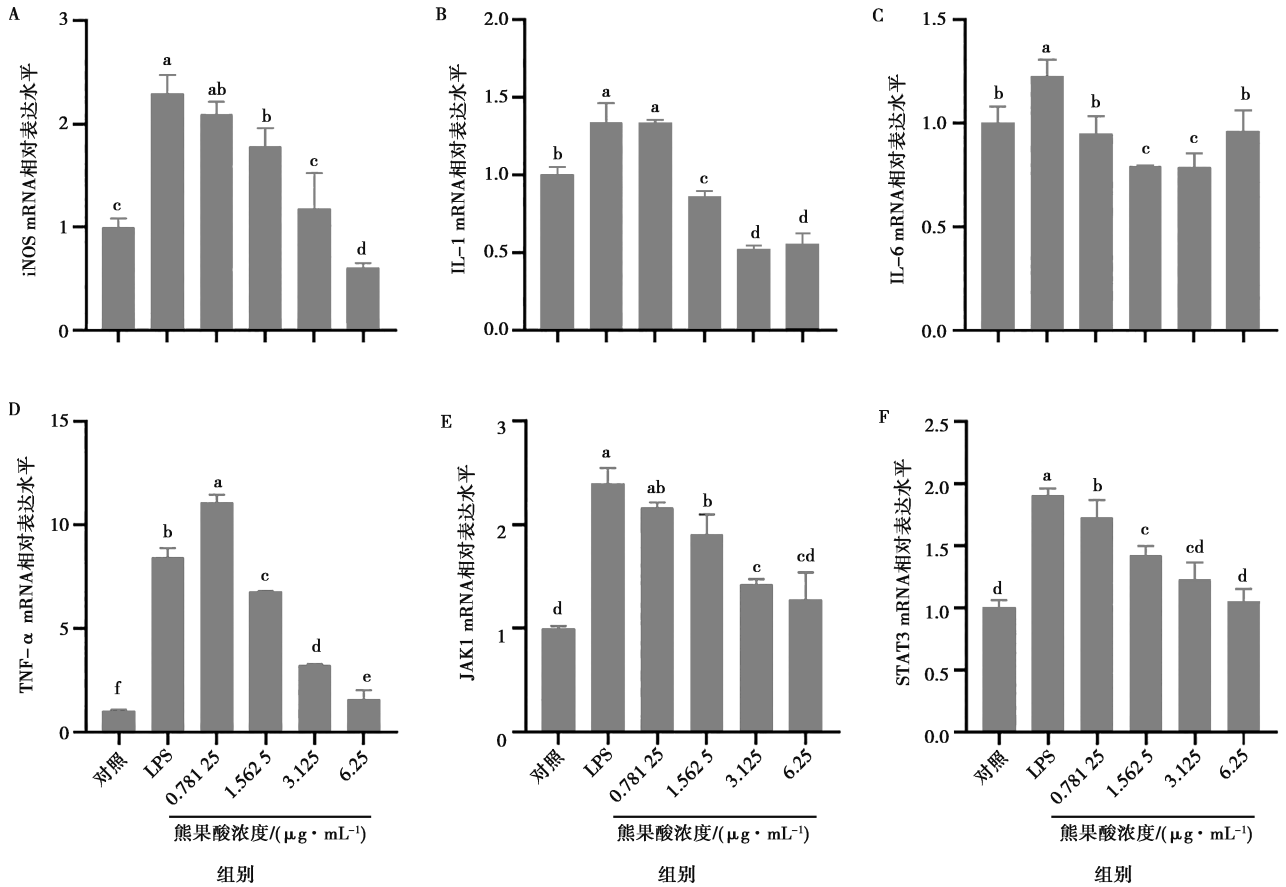


图3 LPS刺激和熊果酸干预后RAW264.7细胞iNOS (A)、IL-1 (B)、IL-6 (C)、TNF-α (D)、JAK1 (E) 和SATA3 (F) mRNA相对表达水平

2.4 熊果酸对小鼠脾脏指数的影响

如图4所示,相较于对照组,LPS组的脾脏指数显著上升 ($P < 0.05$);而在经过不同剂量的熊果酸的前期给药后,脾脏指数与LPS组相比明显下降,且呈剂量依赖性趋势。此外,高剂量的熊果酸组脾脏指数与对照组无明显差异 ($P > 0.05$)。

2.5 熊果酸对T细胞分化和Th17/Treg平衡的影响

2.5.1 T细胞分化

熊果酸灌胃和LPS注射后小鼠T细胞分化结果如图5所示,与对照组相比,LPS组和低中高3组浓度熊果酸均显著促进CD3⁺细胞的增殖 ($P < 0.05$)。同时,LPS组的CD4⁺细胞数量显著增加 ($P < 0.05$),CD8⁺细胞数量显著下降 ($P < 0.05$),而CD4⁺/CD8⁺比值也显著高于对照组 ($P < 0.05$),表明细胞主要往CD4⁺方向分化。与LPS组相比,熊果酸同时促进了CD4⁺和CD8⁺的分化,表明熊果酸提高了小鼠的免疫

能力;与对照组相比,熊果酸组小鼠的CD4⁺/CD8⁺显著下降 ($P < 0.05$),熊果酸对LPS导致的小鼠CD4⁺/CD8⁺失衡具有恢复作用。

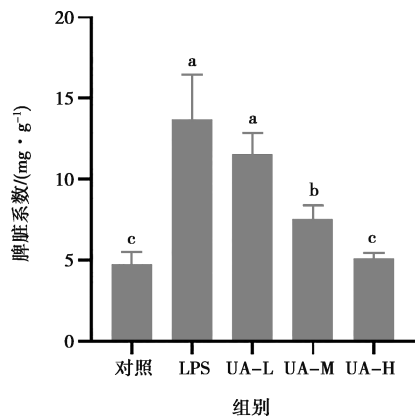
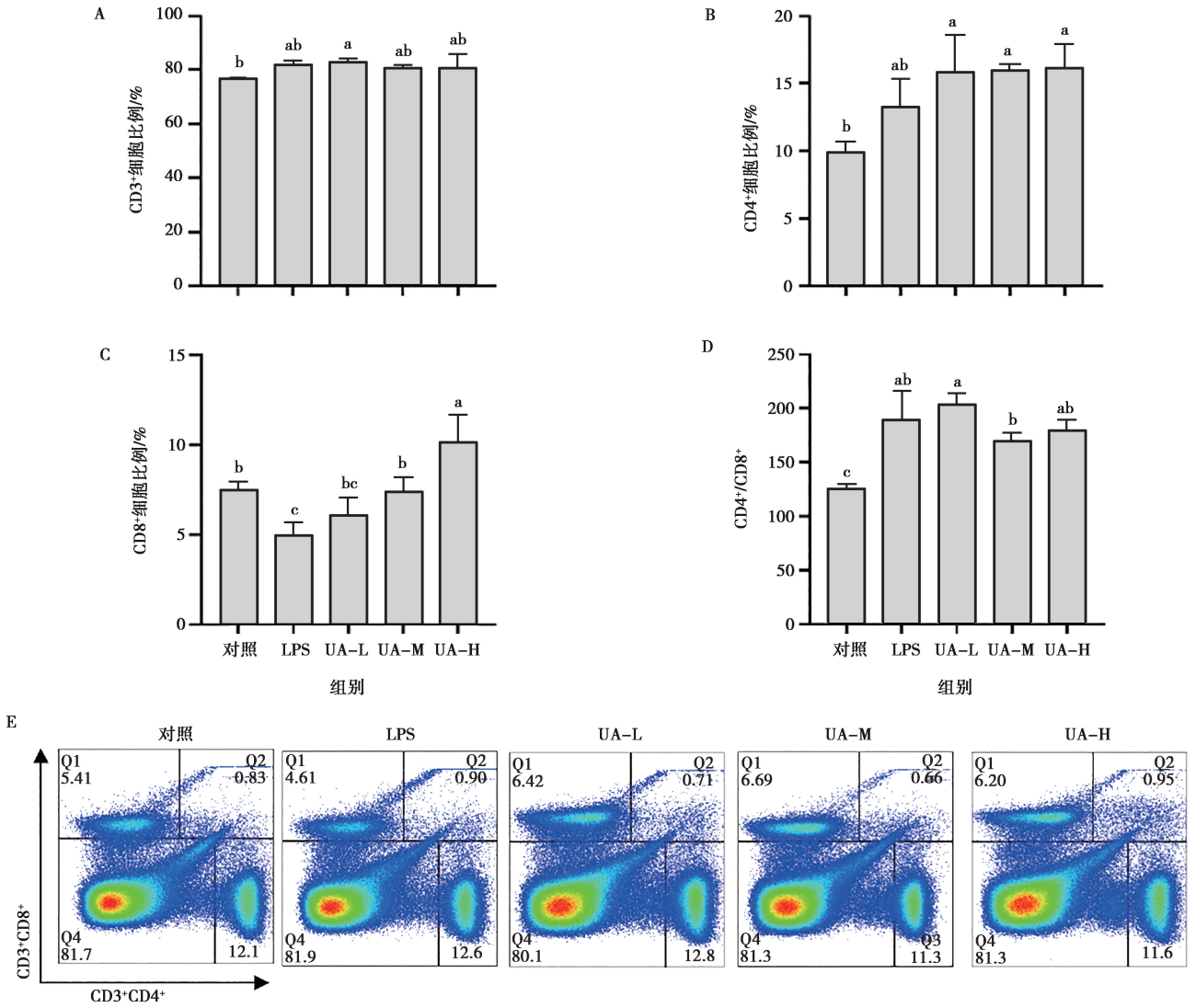


图4 熊果酸饲喂和LPS刺激后小鼠脾脏系数



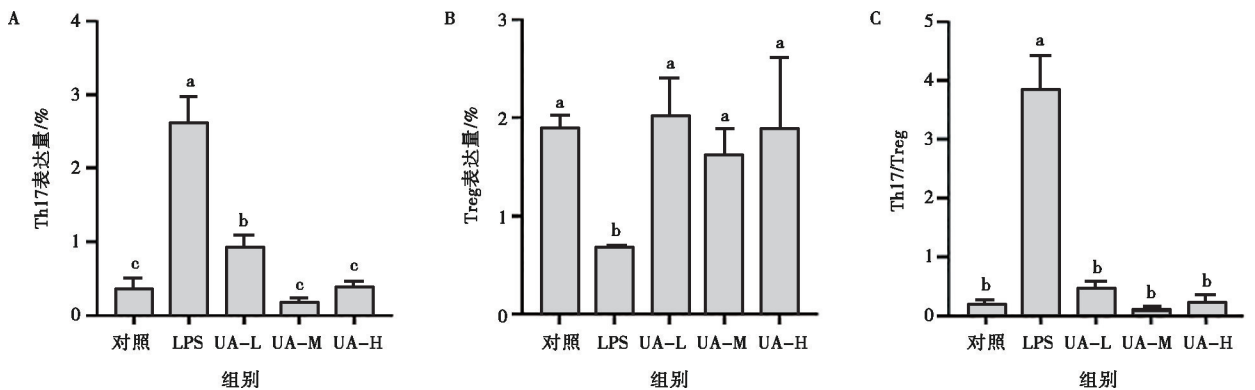
A. CD3⁺细胞比例; B. CD4⁺细胞比例; C. CD8⁺细胞比例; D. CD4⁺/CD8⁺比值; E. 流式细胞术分区。

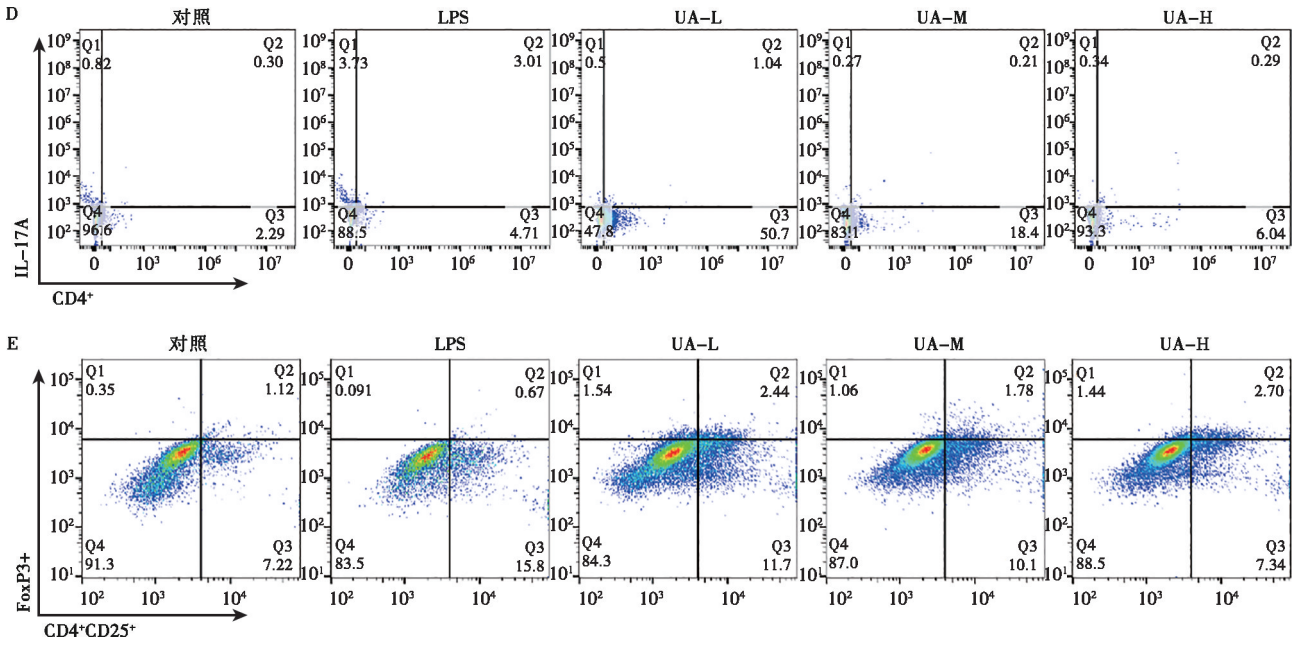
图 5 灌胃熊果酸和 LPS 刺激后 T 细胞分化结果

2.5.2 Th17/Treg 平衡情况

LPS 刺激后, LPS 组的 Th17 表达量显著上升 (图 6A) ($P < 0.05$), Treg 的分化显著减少 (图 6B) ($P < 0.05$), TH17/Treg 平衡轴往 Th17 方向分化 (图 6C) ($P < 0.05$), 出现 Th17/Treg 失衡。与 LPS 组相比, 在不同浓度熊果酸作用下, Th17 的分化与表达

受到抑制, 数量显著下降 ($P < 0.05$), 其中, 中剂量组和低剂量组与对照组无差异 ($P > 0.05$); 熊果酸对于 Treg 细胞的分化与表达具有促进作用, 其数量明显增多。结果表明熊果酸对于 LPS 导致的 Th17/Treg 平衡轴的失衡具有恢复作用。





A. Th17 表达水平; B. Treg 表达水平; C. Th17/Treg; D. Th17 流式细胞图; E. Treg 流式细胞图。

图 6 灌胃熊果酸和 LPS 刺激后 Th17/Treg 平衡情况

2.6 熊果酸对脾脏相关炎症因子 mRNA 相对表达水平的影响

如图 7 所示, 与对照组相比, 经 LPS 处理后的小鼠脾脏中 IL-1、TNF- α 、JAK1 和 STAT3 的 mRNA 相对表达水平均显著上调 ($P < 0.05$), 表明腹腔注射

LPS 对小鼠造成了炎症损伤, 同样激活 JAK1/STAT3 信号通路; 与 LPS 组相比, 熊果酸低、中和高剂量组均能显著降低上述细胞因子 mRNA 相对表达水平 ($P < 0.05$), 并呈剂量依赖下降趋势。

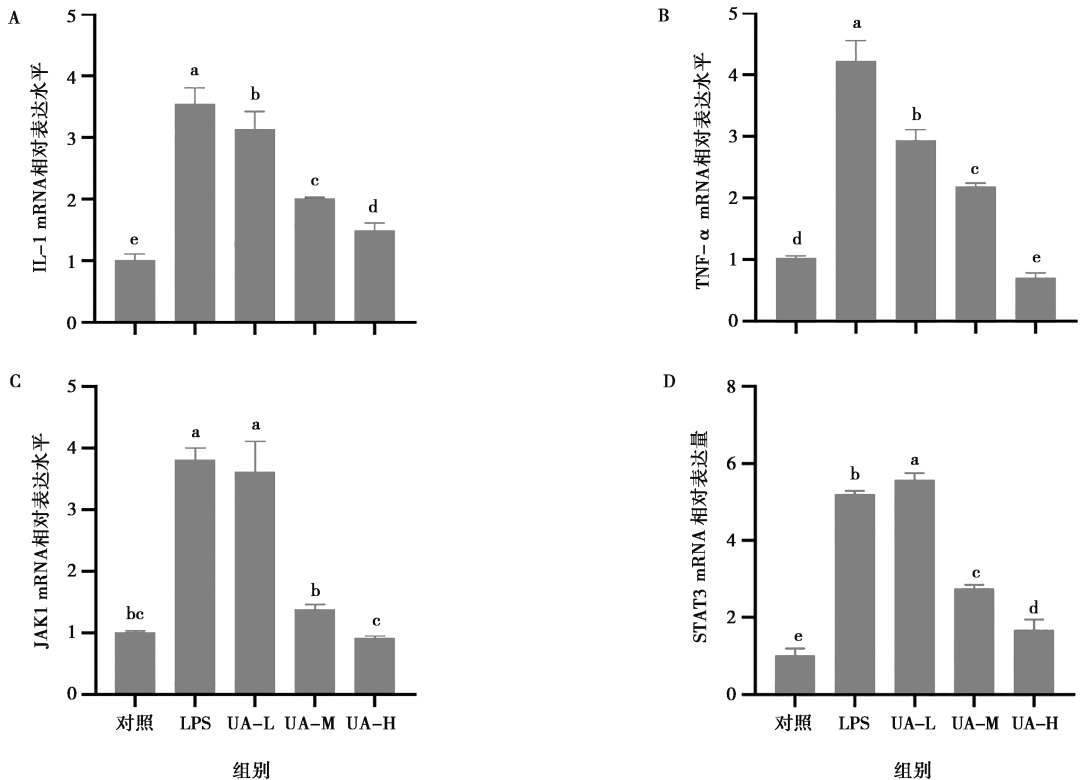


图 7 脾脏相关炎症因子 IL-1 (A)、TNF- α (B)、JAK1 (C) 和 STAT3 (D) mRNA 相对表达水平

3 讨论

熊果酸是一种常见的天然抗炎物质, 已知对炎症、氧化应激和溃疡有效, 是一种具有应用前景的抗炎药物^[17]。研究表明, 熊果酸能通过阻断 NF- κ B 信号通路, 从而抑制炎症介质和细胞因子的释放^[18]。在 LPS 诱导的小鼠脑炎模型中, 熊果酸组同样显著降低 I κ B α 的磷酸化水平、减少 NF- κ B 的入核率, 由此可见, 熊果酸介导的 I κ B α 磷酸化水平下降抑制 NF- κ B 的激活, 这可能是熊果酸抗炎的作用机制之一^[19]。巨噬细胞等免疫细胞对于免疫系统功能的正常运行具有至关重要的作用^[20]。当病原微生物入侵时, 巨噬细胞能够启动吞噬功能, 并将抗原呈递给 T 细胞, 启动特异性免疫^[21]。此外, 巨噬细胞吞噬凋亡细胞同样作为炎症消解的途径之一^[22]。因此衡量巨噬细胞的吞噬功能不仅能够作为其活力的佐证, 同样是机体免疫功能激发的特征。在本研究中中性红试验中, LPS 刺激的 RAW264.7 细胞吞噬能力下降, 在补充熊果酸后恢复并伴随吞噬能力增强, 这可能与熊果酸促进机体免疫相关^[23]。大量研究表明, NO 已经成为机体炎症产生的标志物, 这可能与 NO 具有免疫抑制功能相关, 当细胞受到病毒或其他致命威胁时, 分泌的 NO 水平会提高, 然而随着 NO 浓度的增加, 细胞毒性作用随之增强, 这将导致细胞死亡和炎症产生^[24]。Zhu 等^[25]研究发现荷叶碱可以降低 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞释放 NO, 这可能与炎症减轻相关。在本试验中, LPS 刺激后小鼠巨噬细胞 NO 释放量显著增加, 表明细胞形成损伤, 同时在熊果酸干预后 NO 释放量降低, 这一结果与前人研究一致。

iNOS、IL-1、IL-6 和 TNF- α 是细胞炎症因子的代表^[26]。当细胞炎症信号通路激活, 促炎细胞因子 IL-1、IL-6 和 TNF- α 等首先诱导细胞产生大量诱导型 iNOS, 然而 iNOS 的产生是在消耗大量精氨酸原料的基础上完成的, 在精氨酸不足的情况下促使细胞产生大量 NO, 致使细胞本身陷入缺氧循环, 释放大量的活性氧 (ROS), ROS 通过胞质、核孔进入核内后将造成线粒体损伤, 因此, 抑制炎症因子的释放对于抗炎至关重要^[27]。在本研究中, LPS 刺激后, RAW264.7 细胞和 BALB/c 小鼠脾脏都出现上述炎症因子的 mRNA 水平高度表达, 在补充熊果酸后, 这一情况都得到了改善, 表明熊果酸能够抑制 LPS 刺激的机体炎症因子的释放。JAK1/STAT3 是调节细胞生长、分化、病原抵抗和炎症产生的关键信号通路之一, 这一通路的激活涉及 IL-6 受体家族^[28], 有研究表明, 通过抑制 JAK1/STAT3 信号通路的表达, 能够显著降低 LPS 诱导的支气管上皮细胞炎症, 这一途

径是通过降低细胞炎症因子 IL-6 和 IL-1 实现的。在本研究中, LPS 刺激后的 RAW264.7 细胞和炎症小鼠脾脏中, 同样发现 JAK1/STAT3 高度表达, 而在提前灌胃熊果酸后, JAK1/STAT3 表达水平显著降低, 表明熊果酸可通过抑制 JAK1/STAT3 信号通路的激活降低炎症反应。

研究表明, T 细胞亚群紊乱可能与局部炎症和全身的免疫反应发生有关^[29], CD4 分子属于免疫球蛋白超家族, 主要表达于胸腺细胞、部分 B 细胞、部分 T 细胞、单核巨噬细胞、EB 病毒转化的 B 细胞以及特定区域的脑细胞表面^[30], 大量的 CD4⁺ 细胞出现时, 能够促进单核和巨噬细胞活化, 从而吞噬入侵病原体。在本研究中, 熊果酸灌胃后小鼠 CD4⁺ 细胞表达显著上升, 提示 CD4⁺ 细胞在炎症反应中发挥了一定的作用。CD8⁺ 细胞又称 T8 细胞, 是机体免疫与炎症反应的重要组成部分, CD8⁺ 细胞的正常表达能够有效阻断过度免疫反应^[31]。本研究发现, LPS 刺激后, CD8⁺ 细胞表达显著降低, 这可能与免疫系统遭到破坏相关^[32]。CD4⁺/CD8⁺ 比值往往能够作为慢性免疫激活的标志物, 在临床可用于识别为炎症相关的慢性免疫疾病^[33]。本研究中发现, 腹腔注射 LPS 能够显著降低 CD4⁺/CD8⁺ 比值。同样, 在糖尿病患者的一项调查中发现, CD4⁺/CD8⁺ 比值与糖化血红蛋白测试 (HbA1c) 高度相关, 糖尿病患者 CD4⁺/CD8⁺ 的比值较对照组出现显著下调, 这可能与氧化应激反应和炎症激活相关^[34]。Th17/Treg 平衡受炎症因子和各种代谢因子的调节, 在人体和动物模型上进行的多项研究表明, Th17/Treg 在炎症相关慢性疾病中具有显著差异和重要作用^[35]。Th17 细胞能够促进组织的炎症反应, Treg 细胞抑制自身免疫。有研究表明, 在炎症性肠病中, Th17/Treg 失衡加剧该病的进一步发展^[36]。同样在结核分枝杆菌感染过程中, 对患者胸膜壁活检发现, Th17 细胞和 Treg 细胞高度分化, 造成 Th17/Treg 失衡加剧胸膜炎患者的病程^[37]。此外, 在甘露聚糖结合凝集素对抗白色念珠菌感染的报道中, 同样呈现了 Th17 细胞比例增加, 同时 Th17/Treg 失衡^[38], 这一结果与本研究一致。

4 结论

熊果酸可以显著降低 LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症模型中 NO 的含量, 提升细胞吞噬能力。此外, 熊果酸可以通过调节 JAK1/STAT3 信号通路和 Th17/Treg 平衡, 降低炎症相关细胞因子 mRNA 表达水平, 减轻 LPS 诱导的小鼠炎症反应。

参考文献:

- [1] MUELLER K. Inflammation's yin-yang [J]. *Science*, 2013, 339 (6116): 155.
- [2] MEDZHITOV R. The spectrum of inflammatory responses [J]. *Science*, 2021, 374 (6571): 1070-1075.
- [3] UPTON J E M, GRUNEBaum E, SUSSMAN G, et al. Platelet activating factor (PAF): a mediator of inflammation [J]. *Biofactors*, 2022, 48 (6): 1189-1202.
- [4] WELLS J C, SAWAYA A L, WIBAEK R, et al. The double burden of malnutrition: aetiological pathways and consequences for health [J]. *Lancet*, 2020, 395 (10217): 75-88.
- [5] HE Z, MA Y, CHEN X, et al. Protective effects of intestinal gallic acid in neonatal dairy calves against extended - spectrum β - lactamase producing enteroaggregative *Escherichia coli* infection; modulating intestinal homeostasis and colitis [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 864080.
- [6] VANNUCCI F A, FOSTER D N, GEBHART C J. Laser microdissection coupled with RNA - seq analysis of porcine enterocytes infected with an obligate intracellular pathogen (*Lawsonia intracellularis*) [J]. *BMC Genomics*, 2013, 14: 421.
- [7] SMITH S H, WILSON A D, VAN ETTINGER I, et al. Down-regulation of mechanisms involved in cell transport and maintenance of mucosal integrity in pigs infected with *Lawsonia intracellularis* [J]. *Vet Res*, 2014, 45 (1): 55.
- [8] XU W, WANG H, LIU L, et al. Prevalence and characterization of *Clostridium perfringens* isolated from different chicken farms in China [J]. *Anaerobe*, 2021, 72: 102467.
- [9] 罗德强. 发酵复方中药对肉牛生产性能、营养物质消化及血液指标的响 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023.
- [10] SHARMA H, KUMAR P, DESHMUKH R R, et al. Pentacyclic triterpenes: new tools to fight metabolic syndrome [J]. *Phytomedicine*, 2018, 50: 166-177.
- [11] TASNEEM S, LIU B, LI B, et al. Molecular pharmacology of inflammation: medicinal plants as anti-inflammatory agents [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 139: 126-140.
- [12] YIN R, LI T, TIAN J X, et al. Ursolic acid, a potential anticancer compound for breast cancer therapy [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2018, 58 (4): 568-574.
- [13] SYCZ Z, TICHACZEK-GOSKA D, WOJNICZ D. Anti-planktonic and anti-biofilm properties of pentacyclic triterpenes-asiatic acid and ursolic acid as promising antibacterial future pharmaceuticals [J]. *Biomolecules*, 2022, 12 (1): 98.
- [14] JANG S-M, KIM M-J, CHOI M-S, et al. Inhibitory effects of ursolic acid on hepatic polyol pathway and glucose production in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. *Metabolism*, 2010, 59 (4): 512-519.
- [15] 郑舒方. 硒蛋白 O 靶向 JAK1 诱导巨噬细胞外诱捕网释放调控小鼠溃疡性结肠炎发生的机制研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2022.
- [16] 朱依玲. 荷叶碱体内外抗炎及对 DSS 诱导肠炎小鼠的保护作用研究 [D]. 荆州: 长江大学, 2022.
- [17] LEE J Y, CHOI J K, JEONG N-H, et al. Anti-inflammatory effects of ursolic acid-3-acetate on human synovial fibroblasts and a murine model of rheumatoid arthritis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 49: 118-125.
- [18] HWANG Y-J, SONG J, KIM H-R, et al. Oleonic acid regulates NF- κ B signaling by suppressing MafK expression in RAW264.7 cells [J]. *BMB Rep*, 2014, 47 (9): 524-529.
- [19] LUO J, HU Y-L, WANG H. Ursolic acid inhibits breast cancer growth by inhibiting proliferation, inducing autophagy and apoptosis, and suppressing inflammatory responses via the PI3K/AKT and NF- κ B signaling pathways *in vitro* [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14 (4): 3623-3631.
- [20] 张朝莹, 文兆海, 张玥, 等. 旋毛虫钙网蛋白对小鼠巨噬细胞和 大鼠 PBMC 免疫功能的影响 [J]. *南京农业大学学报*, 2024, 47 (1): 1-8.
- [21] GENTEK R, MOLAWI K, SIEWEKE M H. Tissue macrophage identity and self-renewal [J]. *Immunol Rev*, 2014, 262 (1): 56-73.
- [22] KOURTZELIS I, HAJISHENGALLIS G, CHAVAKIS T. Phagocytosis of apoptotic cells in resolution of inflammation [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 553.
- [23] RENDA G, GÖKKAYA İ, ŞÖHRETOĞLU D. Immunomodulatory properties of triterpenes [J]. *Phytochem Rev*, 2022, 21 (2): 537-563.
- [24] MOILANEN E, VAPAATALO H. Nitric oxide in inflammation and immune response [J]. *Ann Med*, 1995, 27 (3): 359-367.
- [25] ZHU Y, ZHAO Q, HUANG Q, et al. Nuciferine regulates immune function and gut microbiota in DSS-induced ulcerative colitis [J]. *Front Vet Sci*, 2022, 9: 939377.
- [26] GAO J, LI C, WANG X, et al. Oridonin attenuates lung inflammation and fibrosis in silicosis via covalent targeting iNOS [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 153: 113532.
- [27] LI Y, XU Y, PAN C, et al. TRIF is essential for the anti-inflammatory effects of *Astragalus polysaccharides* on LPS-infected Caco2 cells [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 159: 832-838.
- [28] 张靖, 彭鼎, 陈凯, 等. 百合多糖免疫活性研究进展 [J]. *中国动物传染病学报*, 2021, 29 (3): 114-118.
- [29] 豆春峰, 王芳, 胡序明, 等. 二甲双胍对鸡巨噬细胞 HD11 天然免疫相关基因表达影响及其抗禽白血病毒能力分析 [J]. *中国动物传染病学报*, 2019, 27 (3): 22-26.
- [30] HOLOSHITZ J, KONING F, COLIGAN J E, et al. Isolation of CD4-CD8-mycobacteria-reactive T lymphocyte clones from rheumatoid arthritis synovial fluid [J]. *Nature*, 1989, 339 (6221): 226-229.
- [31] SCOAZEC J Y, FELDMANN G. Both macrophages and endothelial cells of the human hepatic sinusoid express the CD4 molecule, a receptor for the human immunodeficiency virus [J]. *Hepatology*, 1990, 12 (3 Pt 1): 505-510.
- [32] YU Y, MA X, GONG R, et al. Recent advances in CD8⁺ regulatory T cell research [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15 (6): 8187-8194.
- [33] 首姣琴, 程晓蕾, 王霄畅, 等. 替唑尼特对脂多糖诱导 RAW264.7 细胞氧化应激及炎症因子的影响 [J]. *中国动物传染病学报*, 2019, 27 (2): 71-77.
- [34] HSU H C, SHI J, YANG P, et al. Activated CD8⁺ T cells from aged mice exhibit decreased activation-induced cell death [J]. *Mech Ageing Dev*, 2001, 122 (15): 1663-1684.

[35] STENTZ F B, KITABCHIA E. Activated T lymphocytes in type 2 diabetes: implications from *in vitro* studies [J]. *Curr Drug Targets*, 2003, 4 (6): 493-503.

[36] 毛旭明, 孙英杰, 武玮, 等. 线粒体调控先天性免疫机制研究进展 [J]. *中国动物传染病学报*, 2019, 27 (1): 104-109.

[37] YAN J-B, LUO M-M, CHEN Z-Y, et al. The function and role of the Th17/Treg cell balance in inflammatory bowel disease [J]. *J Immunol Res*, 2020, 2020: 8813558.

[38] CARAMORI G, LASAGNA L, CASALINI A G, et al. Immune response to *Mycobacterium tuberculosis* infection in the parietal pleura of patients with tuberculous pleurisy [J]. *PLoS One*, 2011, 6 (7): e22637.

· 信息 ·

21 种畜牧、兽医科学类中国科技核心期刊中《畜牧与兽医》综合评价总分排名第 10

《2023 年版中国科技期刊引证报告（核心版）自然科学卷》以《中国科技论文与引文数据库》（CSTPCD）为基础，采用科学客观的研究方法与评价方式，遴选中国自然科学领域各学科分类重要期刊作为统计来源期刊。2023 年版引证报告共收录了中国（不含港澳台）正式出版的 1 996 种中文期刊和 155 种英文期刊，其中畜牧、兽医科学类期刊共收录 21 种，包括 19 本中文期刊和 2 本英文期刊，《畜牧与兽医》综合评价总分排名第 10。21 种期刊主要指标详见附表。

附表 2023 年畜牧、兽医科学类期刊主要指标

序号	刊名	核心总被引频次			核心影响因子			综合评价总分		学科扩 散指标	学科影 响指标	红点 指标
		数值	排名	离均差率	数值	排名	离均差率	数值	排名			
1	ANIMAL NUTRITION	591	19	-0.66	1.160	4	0.29	43.6	6	4.95	0.76	0.00
2	JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY	958	14	-0.45	1.451	2	0.61	48.3	2	6.67	0.86	0.00
3	蚕业科学	618	18	-0.64	0.475	20	-0.47	30.5	15	7.48	0.29	0.14
4	动物医学进展	1 540	9	-0.11	0.644	16	-0.29	41.7	7	16.24	0.86	0.58
5	动物营养学报	7 147	1	3.12	2.100	1	1.33	77.6	1	15.00	1.00	0.80
6	家畜生态学报	1 253	11	-0.28	0.827	12	-0.08	39.3	9	8.48	0.95	0.47
7	经济动物学报	259	21	-0.85	0.583	18	-0.35	29.7	16	4.14	0.67	0.48
8	粮食与饲料工业	823	15	-0.53	0.633	17	-0.30	28.8	19	7.48	0.67	0.22
9	饲料工业	2 088	6	0.20	0.885	9	-0.02	41.0	8	10.33	0.90	0.74
10	饲料研究	2 872	4	0.66	1.169	3	0.30	29.1	17	10.14	0.90	0.70
11	畜牧兽医学报	2 391	5	0.38	1.041	7	0.15	44.6	5	11.90	0.95	0.58
12	畜牧与兽医	1 487	10	-0.14	0.699	15	-0.22	38.7	10	10.24	0.90	0.60
13	畜牧与饲料科学	741	16	-0.57	0.502	19	-0.44	32.8	13	8.52	0.86	0.48
14	中国动物传染病学报	654	17	-0.62	1.071	5	0.19	28.3	20	5.76	0.76	0.55
15	中国家禽	1 877	8	0.08	0.866	10	-0.04	33.9	12	7.71	0.86	0.58
16	中国兽药杂志	524	20	-0.70	0.418	21	-0.54	24.3	21	8.33	0.81	0.30
17	中国兽医科学	1 007	13	-0.42	0.786	13	-0.13	31.3	14	7.00	0.90	0.54
18	中国兽医学报	1 924	7	0.11	0.832	11	-0.08	38.1	11	11.24	0.86	0.56
19	中国畜牧兽医	3 203	3	0.85	0.984	8	0.09	46.9	3	14.86	0.95	0.60
20	中国畜牧杂志	3 301	2	0.91	1.052	6	0.17	45.5	4	13.33	0.95	0.65
21	中国预防兽医学报	1 171	12	-0.32	0.755	14	-0.16	28.9	18	6.43	0.81	0.48
21 种期刊平均值		1 735			0.902							

注：数据来自中国科学技术信息研究所《2023 年版中国科技期刊引证报告（核心版）自然科学卷》。