

# 桔梗总皂苷治疗大鼠佐剂性关节炎的作用及其对 GRP78/XBP1/CHOP 信号通路的影响

陈昭琳<sup>1</sup>, 李俊<sup>2,3,4</sup>, 马陶陶<sup>2,3,4</sup>, 黄成<sup>2,3,4</sup>, 沈爱宗<sup>1</sup>, 唐丽琴<sup>1</sup>, 张善堂<sup>1</sup>, 朱鹏里<sup>1</sup>

**摘要** 目的 探讨桔梗总皂苷(CKS)对佐剂性关节炎(AA)大鼠的作用及部分机制研究。方法 60只SD大鼠随机分为6组,每组10只,分别为正常组、模型组、CKS低、中、高剂量组(50、100、200 mg/kg)及阳性药来氟米特组(2 mg/kg)。采用弗氏完全佐剂注射左后足趾皮内建立AA大鼠模型,观察各组大鼠足肿胀度、多发性关节炎指数并进行组织病理学检查;ELISA试剂盒检测血清中肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和白介素1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )的水平;Real-time PCR和Western blot法检测各组大鼠滑膜组织中葡萄糖调节蛋白78(GRP78)、X盒结合蛋白1(XBP1)、CCAAT增强子结合蛋白同源蛋白(CHOP)、TNF- $\alpha$  mRNA和蛋白表达的情况。结果 CKS(100、200 mg/kg)可显著抑制大鼠继发性足肿胀并减轻其膝关节炎的病理变化;可将大鼠血清中TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 的水平明显降低( $P < 0.05$ );同时可以下调GRP78、XBP1、CHOP、TNF- $\alpha$  mRNA和蛋白的表达( $P < 0.05$ )。结论 CKS对AA大鼠具有一定的治疗作用,其机制可能是与抑制内质网应激GRP78/XBP1/CHOP信号通路,从而抑制滑膜细胞分泌和表达的TNF- $\alpha$ 有关。

**关键词** 桔梗总皂苷;佐剂性关节炎;TNF- $\alpha$ ;内质网应激

**中图分类号** R 285; R 364.5

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2018)03-0395-06  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.03.014

2017-11-19 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81473268、81602344);安徽省高校自然科学基金(编号:KJ2016A365)

作者单位:<sup>1</sup>安徽医科大学附属省立医院药剂科,合肥 230001

<sup>2</sup>安徽医科大学药学院,合肥 230032

<sup>3</sup>安徽医科大学重大自身免疫学疾病安徽省重点实验室,合肥 230032

<sup>4</sup>安徽省创新药物产业共性技术研究院,合肥 230032

作者简介:陈昭琳,女,博士,药师;

李俊,男,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: lj@ahmu.edu.cn

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以持续、反复发作、全身性关节肿痛等为主要特征的慢性自身免疫性疾病<sup>[1]</sup>。目前临床上治疗RA的药物虽可有效缓解RA患者的症状,但普遍存在长期使用所伴随的毒副作用,因此寻找高效低毒的药物就成为临床迫在眉睫的需求。

桔梗为桔梗科植物桔梗[*Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A. DC]的干燥根,桔梗皂苷(*Platycodon grandiflorum* total saponins, CKS)是其主要的药理活性成分,具有抗炎、免疫调节等作用<sup>[2-3]</sup>。近年大量研究<sup>[4-5]</sup>显示,RA发病过程中有内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)的参与。目前关于ERS与CKS在RA中的实验研究尚未见报道。因此该课题利用弗氏完全佐剂诱导的AA大鼠模型,通过灌胃给予CKS干预后,观察其对AA大鼠的治疗作用并深入探讨其作用机制,为CKS在类风湿性关节炎临床治疗上的应用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 动物** 60只清洁级SD雄性大鼠,体质量(180±20)g,实验动物均购自安徽医科大学实验动物中心。

**1.1.2 药物与试剂** CKS由安徽医科大学药学院提取纯化,总皂苷含量>80%;弗氏完全佐剂购自美国sigma公司;来氟米特购自苏州长征-欣凯制药有限公司;肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor, TNF- $\alpha$ )和白介素1 $\beta$ (interleukin 1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )试剂盒均购自美国R & D公司;蛋白裂解液(RIPA)、一抗稀释液购自上海碧云天生物技术有限公司;GRP78抗体购自美国Abcam公司;CHOP抗体购自美国

the protein level of p65 and p62 was decreased by combination treatment with bergapten and cisplatin. **Conclusion**

Bergapten could strengthen the anti-tumor activity of cisplatin by suppressing p62/NF- $\kappa$ B pathway in hepatocellular carcinoma *in vitro*.

**Key words** bergapten; hepatocellular carcinoma; cisplatin; p62/NF- $\kappa$ B pathway

Bioworld 公司; XBP1、TNF- $\alpha$ 、 $\beta$ -actin 抗体购自美国 Cell signal 生物技术公司; 二抗均购自北京中杉金桥生物技术有限公司; TRIzol Reagent RNA 提取试剂购自美国 Invitrogen 公司; SYBR Green 逆转录试剂盒购自大连宝生物工程有限公司; PCR 引物均由上海生工生物工程有限公司合成。其他试剂为国产分析纯。

**1.1.3 仪器** 电子天平 FA2004A(上海精天电子仪器厂); 足趾容积测量仪 PV-200(成都泰盟科技有限公司); 全波长酶标仪(美国 Biotek 公司); DL-5000B 低速冷冻离心机(上海安亭公司); 5415R 型高速冷冻离心机、Mastercycle epgradient Eppendorf PCR 仪(德国 Eppendorf 公司); NIB-100 倒置显微镜(宁波永新公司); Power-Pac Basic 电泳仪、半干转仪(美国伯乐公司); ABI9700 型 PCR 仪(美国 ABI 公司)。

**1.2 方法**

**1.2.1 AA 大鼠模型的建立** 所有大鼠购进之后进行适应性饲养 1 周,待大鼠适应环境后开始实验。实验采用弗氏完全佐剂(0.1 ml)注射大鼠左后足趾皮内造模使其致炎,正常组给予同等体积的生理盐水。

**1.2.2 实验分组与给药方案** 60 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、CKS 低、中、高剂量组(50、100、200 mg/kg) 和阳性药来氟米特组(2 mg/kg), 每组 10 只。自致炎后第 12 天开始,采用灌胃方式给药,每日 1 次,连续 12 d 给药,同时,正常组和模型组分别给予与给药组等体积的 0.5% 羧甲基纤维素钠灌胃,于第 28 天处死大鼠检测各项指标。

**1.2.3 大鼠继发性足肿胀的测定及多发性关节炎指数(polyarthritis index, PI) 评分** 于给药前 1 天用足肿胀测量仪测量大鼠非致炎侧(右侧)后足爪容积,并分别于给药开始即造模后第 12、16、20、24、28 天测定大鼠右后足爪容积,计算大鼠足肿胀度的变化情况,足肿胀度计算公式为:  $\Delta ml = \text{致炎后足趾容积的平均值} - \text{致炎前足趾容积的平均值}$ ; 同时,观察各组大鼠在第 12、16、20、24、28 天全身关节病变程度,按照 5 级评分法评分,计算出 PI: 0 = 无红肿; 1 = 趾关节红肿; 2 = 趾关节和足趾肿胀; 3 = 踝关节以下的足爪肿胀; 4 = 包括踝关节在内的全部足爪肿胀。累积四肢的评分即为每只大鼠的 PI,其最大值为 12。

**1.2.4 血清中指标检测** 造模后第 28 天,股动脉处死各组大鼠并取血,采用离心管收集后于 4 °C 离

心(3 000 r/min, 10 min),取上层血清按照 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  ELISA 试剂盒操作步骤检测血清中 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  的含量。

**1.2.5 病理形态学** 每组随机选取 2 只大鼠,处死后取左后足爪置于 10% 的福尔马林中固定,随后根据病理流程常规操作,最后进行石蜡包埋切片和苏木精-伊红染色。显微镜下观察病理组织学变化并拍摄照片。

**1.2.6 大鼠滑膜组织的分离** 大鼠股动脉取血处死后,置于 0.1% 新洁尔灭溶液浸泡 15 min 后取出,大鼠平置后,于膝关节正中纵向切开皮肤,分离肌肉等组织至可见平滑光亮的滑膜组织,分离滑膜层与纤维层后取出滑膜层组织。采集大鼠双侧滑膜组织,每只大鼠可取滑膜组织 10 ~ 15 mg。

**1.2.7 大鼠滑膜组织总 RNA 提取和 qRT-PCR** 各组大鼠随机选取滑膜组织约 30 mg 充分剪碎研磨,提取 RNA,按照逆转录试剂盒步骤逆转录为 cDNA,随后按照荧光定量染料 SYBR Green 试剂盒说明书制备反应混合体系,设置反应条件,上机检测。实时定量 PCR 引物的基因序列。见表 1。

表 1 实时定量 PCR 引物的基因序列

基因	基因序列(5'-3')
GRP78	F: GAACACAGTGGTGCCTACCAAGAA R: TCCAGTCAGATCAAATGTACCCAGA
CHOP	F: GGGAAACAGCGCATGAAGGA R: GCGTGATGCTGCTGGGTACA
XBP1	F: ATCGTCGACCCGGACTACAGGACCAATA R: GCGCAAGCTTATGTGATGCTCAGGGAAAAGG
TNF- $\alpha$	F: TCTACTGAACTTCGGGGTGATCG R: CGTGGGCTACAGGCTTGTGA
$\beta$ -actin	F: GCCAACACAGTCTGTCTCTCG R: CTCAGGAGGCAATGATCTTG

**1.2.8 Western blot 分析大鼠滑膜组织中 GRP78、XBP1、CHOP、TNF- $\alpha$  蛋白的表达** 分别取各组大鼠滑膜组织 50 mg 于 1 ml 蛋白裂解液(含有 10  $\mu$ l PMSF)中,置于冰上裂解 30 min。离心机预冷至 4 °C,裂解后置于离心机中离心(12 000 r/min, 30 min)取上清液。样本采用 BCA 蛋白浓度检测试剂盒进行蛋白定量,计算各组样本取样量与蛋白上样缓冲液混匀后 100 °C 加热 10 min。处理后的蛋白样本采用十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳,转印至 PVDF 膜,TBST 清洗 3 遍每次 5 min后,5% 脱脂牛奶封闭膜 4 h。TBST 清洗后,分别与 GRP78、XBP1、CHOP、TNF- $\alpha$  和  $\beta$ -actin 一抗

表2 CKS对佐剂性大鼠多发性关节炎指数评分的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 (mg/kg)	关节炎指数评分				
		第12天	第16天	第20天	第24天	第28天
模型	-	4.510 ± 1.120	7.505 ± 1.348	9.720 ± 2.618	10.115 ± 3.528	10.860 ± 2.494
CKS	50	4.212 ± 0.093	6.480 ± 2.070	7.310 ± 3.363	7.743 ± 2.194	8.020 ± 2.919
	100	3.878 ± 1.122	6.210 ± 2.131	5.630 ± 1.603*	5.076 ± 2.171**	5.356 ± 1.138*
	200	3.745 ± 0.853	6.050 ± 1.012	5.432 ± 2.303*	4.560 ± 1.620**	5.020 ± 1.040**
来氟米特	2	3.704 ± 1.039	5.821 ± 0.992	5.126 ± 1.402*	4.203 ± 2.011**	4.778 ± 2.132**
P值		0.799	0.731	0.175	0.055	0.021
F值		0.409	0.508	1.970	3.346	4.761

与模型组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

4 °C 孵育过夜,一抗浓度均为 1 : 500。TBST 清洗 3 次,每次 10 min,用 ECL 发光试剂盒显影,扫描结果用 Image J 软件分析( $\beta$ -actin 作为内参)。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,大鼠足爪肿胀、关节炎指数等数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示, $t$  检验分析各组组间差异,方差分析检验多组间差异。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

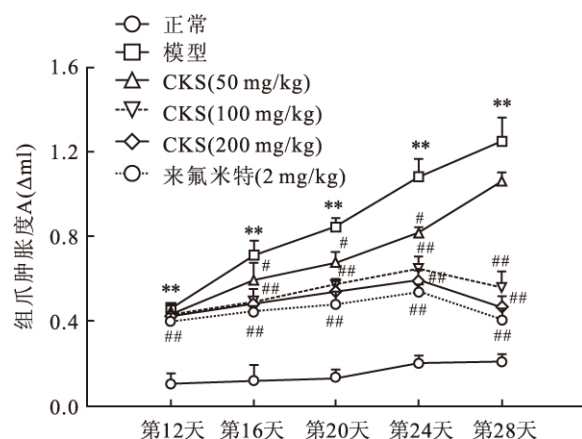
## 2 结果

**2.1 CKS对AA大鼠继发性足肿胀及关节炎指数的影响** 各组大鼠于左后足注射弗式佐剂致炎后 12 d 左右出现右侧足爪继发性肿胀。模型组 28 d 时足趾肿胀度为  $(1.25 \pm 0.110) \Delta\text{ml}$ , 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 说明实验造模成功; 与模型组相比,CKS 低剂量组 (50 mg/kg) 具有一定的抑制作用,足爪肿胀度为  $(1.06 \pm 0.039) \Delta\text{ml}$ , 差异无统计学意义。CKS 中剂量 (100 mg/kg) 和高剂量 (200 mg/kg) 治疗效果较好,足趾肿胀度分别为  $(0.56 \pm 0.078, 0.47 \pm 0.048) \Delta\text{ml}$ , 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。模型组 28 d 时关节炎指数为  $(10.860 \pm 2.494)$ ; 与模型组相比,CKS 低剂量组 (50 mg/kg) 具有一定的抑制作用,关节炎指数为  $(8.020 \pm 2.919)$ , 差异无统计学意义。CKS 中剂量 (100 mg/kg)、高剂量 (200 mg/kg) 以及来氟米特组的关节炎指数分别为  $(5.356 \pm 1.138)$ 、 $(5.020 \pm 1.040)$ 、 $(4.778 \pm 2.132)$ , 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。由此可见,CKS 中高剂量组与来氟米特组有较相似的效果,可以明显降低 AA 大鼠的足肿胀度。见图 1、表 2。

### 2.2 CKS对大鼠踝关节滑膜组织病理学的影响

各组取滑膜组织苏木精-伊红染色对比可知: 正常组大鼠细胞排列整齐,踝关节软骨表面光滑,滑膜组织结构无破坏,无血管增生、炎性细胞浸润等现象; 模型组大鼠踝关节软骨组织结构遭到破坏,滑膜组

织增生变形、细胞排列紊乱,存在炎性细胞浸润的情况并伴随滑膜血管翳形成; CKS 给药组病理结果对比发现,CKS (50 mg/kg) 组大鼠踝关节滑膜组织病变等症状无明显改善,CKS (100、200 mg/kg) 组可改善大鼠踝关节软骨表面破坏情况,并且未出现滑膜细胞形态紊乱等症状,效果与来氟米特组相似。见图 2。

图1 CKS对大鼠继发性足肿胀的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

与正常组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与模型组比较: #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$

**2.3 CKS对大鼠血清中炎症因子的影响** 与正常组相比,模型组大鼠血清中炎症因子  $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$  水平显著高,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 与模型组相比,CKS 给药组大鼠血清中  $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$  水平显著降低,其中 CKS (100、200 mg/kg) 剂量组效果尤其突出,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。见表 3。

**2.4 CKS对AA大鼠滑膜组织中 GRP78、XBP1、CHOP 和  $\text{TNF-}\alpha$  mRNA 表达的影响** qRT-PCR 结果显示,在模型组中,GRP78、XBP1、CHOP、 $\text{TNF-}\alpha$  mRNA 的相对表达量较正常组均显著提高,分别为正常组的 2.37、3.08、1.57 和 2.90 倍。CKS 各剂量组经给药治疗后比较结果显示: CKS (50 mg/kg) 剂

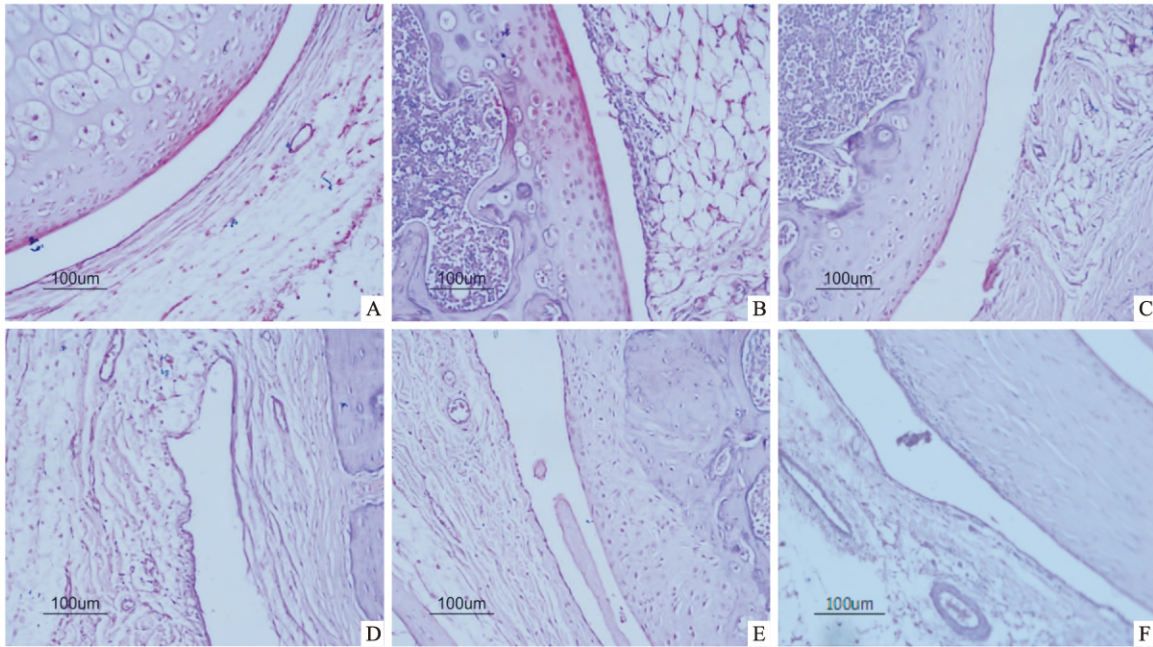


图2 CKS对AA大鼠膝关节组织病理学的影响 ×100

A: 正常组; B: 模型组; C: CKS(50 mg/kg)组; D: CKS(100 mg/kg)组; E: CKS(200 mg/kg)组; F: 来氟米特组

量组相对于AA大鼠模型组无显著变化,CKS(100、200 mg/kg)剂量组则不同程度的降低GRP78、XBP1、CHOP、TNF-α mRNA水平,差异有统计学意义(P < 0.05)。见图3。

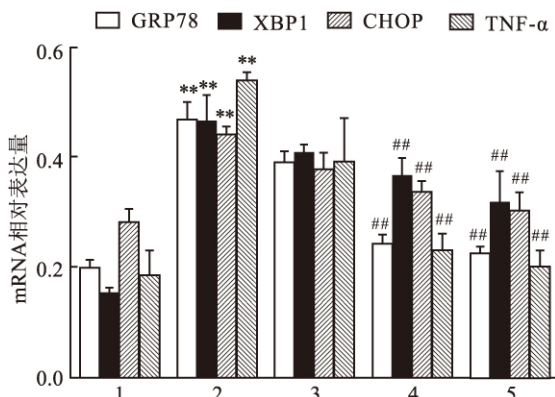


图3 CKS对AA大鼠滑膜组织中GRP78、XBP1、CHOP和TNF-α mRNA表达的影响

1: 正常组; 2: 模型组; 3: CKS(50 mg/kg)组; 4: CKS(100 mg/kg)组; 5: CKS(200 mg/kg)组; 与正常组相比: \* P < 0.05, \*\* P < 0.01; 与模型组比较: # P < 0.05, ## P < 0.01

**2.5 CKS对AA大鼠滑膜组织中GRP78、XBP1、CHOP和TNF-α蛋白表达的影响** 与正常组比较,模型组中GRP78、XBP1、CHOP、TNF-α蛋白表达水平均明显增高(P < 0.01)。与模型组相比,给予CKS(100、200 mg/kg)后可以不同程度的降低GRP78、XBP1、CHOP、TNF-α的表达,而CKS(50

mg/kg)剂量组却差异无统计学意义。由此可知CKS(100、200 mg/kg)对GRP78、XBP1、CHOP、TNF-α表达有抑制作用,且具有剂量依赖性(P < 0.05)。见图4。

表3 CKS对AA大鼠血清中炎症因子的影响(̄x ± s, n = 10)

组别	剂量 (mg/kg)	TNF-α (pg/ml)	IL-1β (pg/ml)
正常	-	170.56 ± 28.09	21.71 ± 4.02
模型	-	261.33 ± 44.50**	38.54 ± 5.73**
CKS	50	246.77 ± 34.58	30.81 ± 8.07#
	100	211.10 ± 21.54##	27.65 ± 5.12##
	200	192.34 ± 30.40##	25.23 ± 4.35##
来氟米特	2	182.25 ± 22.30##	24.88 ± 3.67##
P值		0.021	0.030
F值		4.076	3.677

与正常组比较: \* P < 0.05, \*\* P < 0.01; 与模型组比较: # P < 0.05, ## P < 0.01

### 3 讨论

RA是一种慢性全身性免疫性疾病,在其发病过程中主要以关节滑膜病变为特征,表现为滑膜细胞异常增生、滑膜炎症和关节滑膜处血管翳的生成等,进而导致关节和软骨的破坏[6]。AA大鼠模型作为典型的免疫性炎症模型,主要采用以足跖皮内注射弗氏完全佐剂而诱导大鼠关节出现类似RA的模型[7-8]。因此本实验选择AA大鼠模型代替RA

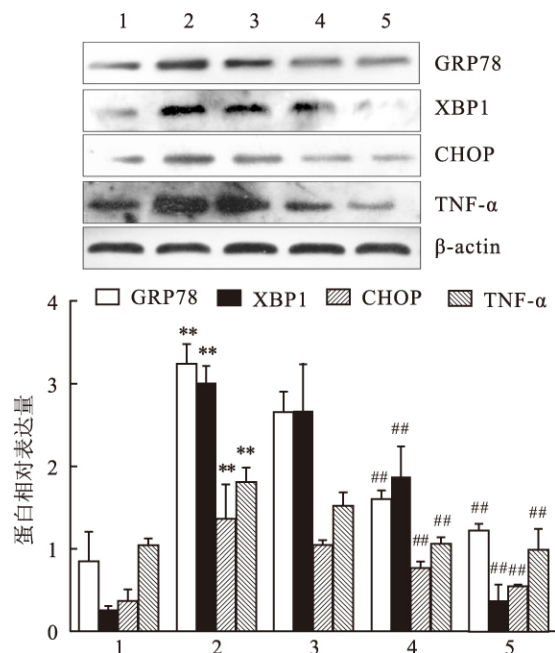


图4 CKS对AA大鼠滑膜组织中GRP78、XBP1、CHOP和TNF- $\alpha$ 蛋白表达的影响

1: 正常组; 2: 模型组; 3: CKS(50 mg/kg)组; 4: CKS(100 mg/kg)组; 5: CKS(200 mg/kg)组; 与正常组相比: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与模型组比较: #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$

患者,研究CKS对AA大鼠炎症的保护作用并深入探讨其与ERS之间的关系。实验结果显示,CKS可以明显抑制AA大鼠继发性足爪肿胀度和降低多发性关节炎指数,同时关节病理组织学检查发现CKS可以减轻大鼠关节的滑膜增生、炎症细胞浸润和血管翳增加等现象,提示CKS对AA大鼠继发性炎症有明显的改善作用。

TNF- $\alpha$ 是一种破坏性促炎性细胞因子,在RA滑膜炎症及骨质破坏中发挥着重要作用。研究<sup>[9]</sup>显示TNF- $\alpha$ 不仅能促进滑膜成纤维细胞和软骨细胞增殖并表达金属蛋白酶破坏软骨组织,还会影响RA滑膜血管的新生及血管翳的形成。同时,TNF- $\alpha$ 还可以诱导RA滑膜细胞分泌多种炎症细胞因子(如IL-1 $\beta$ 、IL-6)、环氧化酶和胶原酶等,因此抑制TNF- $\alpha$ 可能是治疗RA的潜在靶点<sup>[9-10]</sup>。本实验结果初步证明了CKS可以有效降低AA大鼠血清中TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 的含量,显著抑制AA大鼠滑膜组织中TNF- $\alpha$ 的表达,提示CKS可能是通过降低促炎细胞因子的产生,从而减轻AA大鼠关节组织的损伤。

现有研究<sup>[4]</sup>已证实,在RA的疾病发展过程中存在着内质网应激。内质网是维持细胞正常功能的

重要细胞器,是蛋白质合成、修饰、加工并参与代谢以及细胞信号处理的场所。未折叠蛋白或错误蛋白在内质网腔内堆积或钙流失会使细胞产生内质网应激(ERS)。IRE1蛋白是介导ERS的内质网跨膜蛋白之一,在ERS产生的情况下,IRE1与GRP78解离并自身磷酸化被激活,激活的IRE1从XBP1 mRNA上剪接下一段含26个核苷酸的内含子,随后翻译编码为有活性的转录因子XBP1s并启动IRE1通路<sup>[11]</sup>。因此GRP78的急速升高也是ERS发生的标志性特征。同时,促凋亡转录因子CHOP在ERS发生过程中也发挥着重要的作用,有研究<sup>[12-13]</sup>显示IRE1通路可以激活并促进CHOP的表达。Hofmann et al<sup>[14]</sup>发现在类风湿性关节炎中GRP78表达量明显升高,下调GRP78表达水平后可以看到TNF- $\alpha$ 诱导的滑膜细胞增殖水平也随之明显降低。因此,ERS与炎症信号通路转导以及炎症因子的释放密切相关。本课题研究结果显示,与正常组相比,AA模型组中GRP78表达水平显著上升,诱导下游IRE1的活化产生大量的XBP1,并导致CHOP表达升高,最终促使TNF- $\alpha$ 的分泌和表达均增高。当给予CKS处理后,显示CKS中高剂量组则能够明显下调GRP78、CHOP和XBP1 mRNA和蛋白表达,降低TNF- $\alpha$ 的表达水平。该结果提示CKS对弗氏完全佐剂诱导的大鼠关节炎模型的缓解作用可能与抑制GRP78/XBP1/CHOP信号转导通路有关。

综上所述,本课题显示AA大鼠的发病过程中发生了一系列的改变引起ERS,从而能影响GRP78的表达,继而诱导XBP1/CHOP信号转导通路的异常活化引起滑膜组织中炎症因子的释放,而CKS可以下调GRP78/XBP1/CHOP信号通路控制炎症的产生。该研究结果提示CKS对弗氏完全佐剂诱导的大鼠关节炎模型有显著的抑制作用,其机制可能与调节炎症因子的分泌以及抑制ERS信号通路密切相关。

#### 参考文献

- [1] Blair H A, Deeks E D. Abatacept: a review in rheumatoid arthritis [J]. *Drugs*, 2017, 77(11): 1221-33.
- [2] Nyakudya E, Jeong J H, Lee N K, et al. Platycosides from the roots of platycodon grandiflorum and their health benefits [J]. *Prev Nutr Food Sci*, 2014, 19(2): 59-68.
- [3] Jang K J, Kim H K, Han M H, et al. Anti-inflammatory effects of saponins derived from the roots of Platycodon grandiflorum in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglial cells [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 31(6): 1357-66.

- [4] Li X, Wang X, Wang Y, et al. Inhibition of transient receptor potential melastatin 7 (TRPM7) channel induces RA FLSs apoptosis through endoplasmic reticulum (ER) stress [J]. *Clin Rheumatol*, 2014, 33(11): 1565–74.
- [5] Cao S S, Luo K L, Shi L. Endoplasmic reticulum stress interacts with inflammation in human diseases [J]. *J Cell Physiol*, 2016, 231(2): 288–94.
- [6] Yau A C, Holmdahl R. Rheumatoid arthritis: identifying and characterising polymorphisms using rat models [J]. *Dis Models Mech*, 2016, 9(10): 1111–23.
- [7] Wu H, Huang Q, Qi Z, et al. Irreversible inhibition of BTK kinase by a novel highly selective inhibitor CHMFL-BTK-11 suppresses inflammatory response in rheumatoid arthritis model [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 466.
- [8] Toyoda Y, Tabata S, Kishi J, et al. Thymidine phosphorylase regulates the expression of CXCL10 in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2014, 66(3): 560–8.
- [9] Diamantopoulos A P, Larsen A I, Omdal R. Is it safe to use TNF- $\alpha$  blockers for systemic inflammatory disease in patients with heart failure? Importance of dosage and receptor specificity [J]. *Int J Cardiol*, 2013, 167(5): 1719–23.
- [10] Bustamante M F, Garcia-Carbonell R, Whisenant K D, et al. Fibroblast-like synoviocyte metabolism in the pathogenesis of rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2017, 19(1): 110.
- [11] Parmar V M, Schröder M. Sensing endoplasmic reticulum stress [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2012, 738: 153–68.
- [12] Grootjans J, Kaser A, Kaufman R J, et al. The unfolded protein response in immunity and inflammation [J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(8): 469–84.
- [13] Pellegrino M W, Nargund A M, Haynes C M. Signaling the mitochondrial unfolded protein response [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833(2): 410–6.
- [14] Hofmann S R, Rösen-Wolff A, Tsokos G C, et al. Biological properties and regulation of IL-10 related cytokines and their contribution to autoimmune disease and tissue injury [J]. *Clin Immunol*, 2012, 143(2): 116–27.

## Therapeutic potential of *Platcodon grandiflorum* total saponins and its effect on GRP78/XBP1/CHOP signaling pathway in adjuvant-induced arthritis rats

Chen Zhaolin<sup>1</sup>, Li Jun<sup>2,3,4</sup>, Ma Taotao<sup>2,3,4</sup>, et al

(<sup>1</sup>*Dept of Pharmacy, The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001;*

<sup>2</sup>*School of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032;* <sup>3</sup>*Anhui Province Key Laboratory of Major Autoimmune Diseases, Hefei 230032;* <sup>4</sup>*Anhui Institute of Innovative Drugs, Hefei 230032)*

**Abstract Objective** To explore the effect of *Platcodon grandiflorum* total saponins (CKS) in adjuvant-induced arthritis (AA) rats and its possible mechanisms. **Methods** Sixty SD rats were randomly divided into six groups: normal group, model group, CKS(50 mg/kg), CKS(100 mg/kg), CKS(200 mg/kg) group and leflunomide (2 mg/kg) group. AA animal model was induced by complete Freund's adjuvant method, then the paw swelling, polyarthritis index and histopathological changes were observed. Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) from blood serum were detected by ELISA. The mRNA and protein expressions of 78-KD glucose regulated protein (GRP78), X-box binding protein 1 (XBP1), CCAAT/enhancer binding protein homologous (CHOP) and TNF- $\alpha$  were evaluated by real-time PCR and Western blot assay. **Results** *In vivo*, our data showed that CKS (100, 200 mg/kg) could obviously suppress the secondary paw swelling, improve the morphologic changes of articular cartilages and synovium, and decrease TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  serum levels ( $P < 0.05$ ). The real-time PCR and Western blot results displayed that CKS could significantly inhibit GRP78, XBP1, CHOP and TNF- $\alpha$  expressions in AA group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** This study indicates that CKS could improve the adjuvant-induced arthritis in a dose-dependent manner. The inhibition of GRP78/XBP1/CHOP/TNF- $\alpha$  signaling pathways is involved in CKS-mediated modulation of inflammation.

**Key words** *Platcodon grandiflorum* total saponins; adjuvant arthritis; TNF- $\alpha$ ; endoplasmic reticulum stress