

基础研究

论著

丹酚酸B对人类风湿关节炎滑膜成纤维细胞增殖与凋亡的影响及其作用机制

王慧莲, 展俊平, 苗喜云, 孟庆良*, 马俊福

河南省中医院风湿病科, 郑州 450000

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[DOI]

10.11855/j.issn.0577-7402.2022.04.0334

[声明]

本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文]

王慧莲, 展俊平, 苗喜云, 等. 丹酚酸B对人类风湿关节炎滑膜成纤维细胞增殖与凋亡的影响及其作用机制[J]. 解放军医学杂志, 2022, 47(4): 0334-0339.

[收稿日期] 2021-09-08

[录用日期] 2021-10-29

[上线日期] 2022-03-09

[摘要] **目的** 探讨丹酚酸B对人类风湿关节炎(RA)滑膜成纤维细胞增殖和凋亡的影响及其作用机制。**方法** 以不同浓度的丹酚酸B(0、1、10、20、30、40和50 $\mu\text{mol/L}$)处理人RA滑膜成纤维细胞MH7A, 采用MTT法检测细胞增殖情况, 流式细胞仪检测细胞凋亡情况, 筛选丹酚酸B的最适作用浓度。取MH7A细胞, 设置对照组(正常培养)、丹酚酸B组(加入丹酚酸B培养)与丹酚酸B+3-MA组(加入丹酚酸B和5 mmol/L自噬抑制剂3-MA共培养)。采用MTT法和流式细胞仪检测细胞增殖和凋亡情况; qRT-PCR检测caspase-3 mRNA相对表达水平; Western blotting检测caspase-3、LC3- I、LC3- II、Beclin-1和p62蛋白相对表达水平。**结果** 与0 $\mu\text{mol/L}$ 丹酚酸B组比较, 30、40和50 $\mu\text{mol/L}$ 丹酚酸B处理的MH7A细胞增殖率明显降低($P<0.05$), 凋亡率明显升高($P<0.05$), 据此选择50 $\mu\text{mol/L}$ 丹酚酸B进行后续实验。与对照组比较, 丹酚酸B组细胞增殖率、p62蛋白相对表达水平明显降低, 细胞凋亡率、caspase-3 mRNA和蛋白以及LC3- II/LC3- I、Beclin-1蛋白相对表达水平明显升高($P<0.05$); 与丹酚酸B组比较, 丹酚酸B+3-MA组细胞增殖率($63.47\% \pm 1.94\%$ vs. $51.33\% \pm 4.67\%$)、p62蛋白相对表达水平(0.97 ± 0.06 vs. 0.20 ± 0.02)明显升高, 细胞凋亡率($21.4\% \pm 1.8\%$ vs. $30.4\% \pm 0.6\%$)、caspase-3 mRNA(0.83 ± 0.06 vs. 1.27 ± 0.15)和蛋白(0.64 ± 0.05 vs. 1.10 ± 0.09)、LC3- II/LC3- I (0.29 ± 0.07 vs. 1.23 ± 0.21)、Beclin-1(0.36 ± 0.05 vs. 1.05 ± 0.08)蛋白相对表达水平明显降低($P<0.05$)。**结论** 丹酚酸B可能通过诱导自噬抑制人RA滑膜成纤维细胞的增殖并促进其凋亡。

[关键词] 丹酚酸B; 类风湿关节炎; 滑膜成纤维细胞; 细胞增殖; 细胞凋亡; 自噬

Effect and mechanism of salvianolic acid B on proliferation and apoptosis of human rheumatoid arthritis synovial fibroblasts

Wang Hui-Lian, Zhan Jun-Ping, Miao Xi-Yun, Meng Qing-Liang*, Ma Jun-Fu

Department of Rheumatology, Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

*Corresponding author, E-mail: qingliangmengzz@163.com

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81804050), the Traditional Chinese Medicine Scientific Research Project of Henan Province (20-21ZYZD05), and the Henan Top Traditional Chinese Medicine Talent Training Project

[Abstract] **Objective** To investigate the effect and mechanism of salvianolic acid B (SB) on proliferation and apoptosis of human rheumatoid arthritis (RA) synovial fibroblasts. **Methods** Human RA synovial fibroblasts MH7A cells were treated with different concentrations of SB (0, 1, 10, 20, 30, 40 and 50 $\mu\text{mol/L}$). MTT method was used to detect cell proliferation and flow

[基金项目] 国家自然科学基金(81804050); 河南省中医药科学研究专项课题重大专项(20-21ZYZD05); 河南省中医药拔尖人才培养项目资助

[作者简介] 王慧莲, 硕士研究生, 副主任医师, 从事中西医结合诊疗类风湿关节炎方面的研究

[通信作者] 孟庆良, E-mail: qingliangmengzz@163.com

cytometry was used to detect cell apoptosis, and the optimal concentration of SB was selected. MH7A cells were set as control group (normal cultured cells), SB group (cells cultured with 50 $\mu\text{mol/L}$ SB) and SB+3-MA group (cells cultured with 50 $\mu\text{mol/L}$ SB and 5 mmol/L autophagy inhibitor 3-MA). MTT and flow cytometry were used to detect cell proliferation and apoptosis, qRT-PCR was used to measure the relative expression level of *caspase-3* mRNA. Western blotting was used to detect the relative expression levels of caspase-3, LC3- I , LC3- II , Beclin-1 and p62 protein. **Results** Compared with 0 $\mu\text{mol/L}$ SB group, the proliferation rate decreased obviously ($P<0.05$) and the apoptosis rate increased significantly ($P<0.05$) of MH7A cells treated with 30, 40 and 50 $\mu\text{mol/L}$ SB and 50 $\mu\text{mol/L}$ SB was used for follow-up experiments. Compared with control group, the cell proliferation rate and the relative expression level of p62 protein in SB group decreased significantly, while the apoptosis rate, the relative expression levels of *caspase-3* mRNA and protein, as well as the relative expression levels of LC3- II /LC3- I and Beclin-1 protein increased ($P<0.05$). Compared with SB group, the proliferation rate and the relative expression level of p62 protein increased obviously ($63.47\% \pm 1.94\%$ vs. $51.33\% \pm 4.67\%$; 0.97 ± 0.06 vs. 0.20 ± 0.02) in SB+3-MA group, and the apoptosis rate ($21.4\% \pm 1.8\%$ vs. $30.4\% \pm 0.6\%$), the relative expression levels of *caspase-3* mRNA (0.83 ± 0.06 vs. 1.27 ± 0.15) and protein (0.64 ± 0.05 vs. 1.10 ± 0.09), as well as the relative expression levels of LC3- II /LC3- I (0.29 ± 0.07 vs. 1.23 ± 0.21) and Beclin-1 protein (0.36 ± 0.05 vs. 1.05 ± 0.08) decreased ($P<0.05$). **Conclusion** SB might inhibit the proliferation and promote apoptosis of human RA synovial fibroblast by inducing autophagy.

[Key words] salviolic acid B; rheumatoid arthritis; synovial fibroblast; cell proliferation; cell apoptosis; autophagy

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是以炎性细胞浸润为特征的,滑膜、关节软骨和骨发生退变的系统性自身免疫性疾病^[1],其中滑膜炎是最主要的病理表现^[2]。滑膜成纤维细胞是滑膜的主要组成细胞,在RA发生发展过程中异常增生,并通过分泌炎症介质进一步导致滑膜炎和软骨损伤,是RA治疗的重要靶细胞之一^[3-4]。目前临床上多采用非甾体抗炎药、糖皮质激素、青霉素等药物治疗RA,但易引发恶心、呕吐、中枢神经系统紊乱等不良反应,严重危害患者的健康^[5]。近年来,中药因来源广、毒性小和药效高等特点,成为RA治疗的研究热点^[6-7]。中药丹参常用于心血管疾病、糖尿病、皮肤病和关节炎等的治疗中^[8],其主要活性成分丹酚酸B(salviolic acid B)具有抗肿瘤、免疫调节、抗氧化、抗炎等功效^[9]。但目前丹酚酸B对RA的治疗作用及其机制尚未明确。本研究探讨了丹酚酸B对人RA滑膜成纤维细胞增殖和凋亡的影响及其机制,以期对丹酚酸B在RA中的应用和研究提供参考。

1 材料与方 法

1.1 主要试剂及仪器 丹酚酸B(纯度98%)购自上海源叶生物科技有限公司;DMEM培养基、胎牛血清、Annexin V-FITC/PI凋亡检测试剂盒、Trizol试剂盒、反转录试剂盒购自美国Invitrogen公司;MTT试剂盒购自美国Abcam公司;caspase-3、LC3- I 、LC3- II 、Beclin-1、p62和 β -actin蛋白一抗及二抗购自美国Santa Cruz公司;自噬抑制剂3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine, 3-MA)购自美国Sigma公司。流式细胞仪购自美国Thermo Fisher公司。

1.2 细胞培养 人RA滑膜成纤维细胞MH7A(JNO171-925)购自广州吉妮欧生物有限公司,培

养于含10%胎牛血清、100 U/ml青霉素和链霉素的DMEM培养基中。丹酚酸B用DMEM培养基配制为100 $\mu\text{mol/L}$ 的母液。取对数生长期MH7A细胞,接种于96孔板(2×10^3 个/孔)进行药物处理和分组培养。

1.2.1 MTT法检测细胞增殖情况 MH7A细胞分别加入含终浓度为0、1、10、20、30、40和50 $\mu\text{mol/L}$ 丹酚酸B的培养基中培养48 h,随后加入终浓度为5 mg/ml的MTT,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育4 h;弃上清,加入150 μl DMSO,采用酶标仪检测490 nm波长处的吸光度(OD)值,并计算细胞增殖率。细胞增殖率(%)= $(\text{OD}_{\text{实验组}} - \text{OD}_{\text{空白组}}) / \text{OD}_{\text{空白组}} \times 100\%$ 。

1.2.2 流式细胞仪检测细胞凋亡情况 MH7A细胞分别加入含终浓度为0、30、40和50 $\mu\text{mol/L}$ 丹酚酸B的培养基中培养48 h,随后加入0.5%胰蛋白酶进行消化;离心重悬后,加入Annexin V-FITC和PI避光孵育。采用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.3 细胞分组及处理 取对数生长期MH7A细胞,接种于96孔板(2×10^3 个/孔)中,设置对照组、丹酚酸B组与丹酚酸B+3-MA组。对照组正常培养,丹酚酸B组加入终浓度为50 $\mu\text{mol/L}$ 的丹酚酸B培养,丹酚酸B+3-MA组加入50 $\mu\text{mol/L}$ 丹酚酸B和5 mmol/L自噬抑制剂3-MA共同培养。培养48 h后,检测各组细胞增殖和凋亡情况,*caspase-3* mRNA和蛋白的表达情况,以及自噬相关蛋白LC3- I 、LC3- II 、Beclin-1、p62的表达情况。

1.3.1 各组细胞增殖和凋亡情况检测 按照1.2.1和1.2.2方法检测各组细胞增殖和凋亡情况。

1.3.2 qRT-PCR检测*caspase-3* mRNA相对表达水平 按Trizol试剂盒说明书步骤提取细胞总RNA并测定其浓度。反转录获得cDNA,以cDNA为模板进行PCR扩增。反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 15 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,

56 °C 30 s, 72 °C 45 s, 45个循环; 72 °C 10 min。引物由上海生工生物工程有限公司合成。Caspase-3: 正义链5'-GAATCCACGAGCAGAGTCAA-3', 反义链5'-TAGCCTTCAACAAGCCAACC-3'; β -actin: 正义链5'-CTCCATCCTGGCCTCGCTGT-3', 反义链5'-GCTGTCACCTTCACCGITCC-3'。以 β -actin为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算caspase-3 mRNA的相对表达水平。

1.3.3 Western blotting检测caspase-3及自噬相关蛋白LC3- I、LC3- II、Beclin-1、p62的相对表达水平

加入RIPA裂解液提取细胞总蛋白, 行SDS-PAGE电泳, 转膜1 h, 加入5%脱脂奶粉室温封闭2 h; 加入caspase-3、LC3- I、LC3- II、Beclin-1、p62和 β -actin蛋白一抗(1:1000)4 °C孵育过夜; 漂洗后加入二抗(1:10 000)室温孵育1 h。采用X线胶片曝光, 用Image-Pro Plus 7.0软件分析, 以 β -actin为内参, 计算目的蛋白的相对表达水平。

1.4 统计学处理 采用SPSS 22.0软件进行统计分

析。实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 进一步两两比较采用Bonferroni法。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 丹酚酸B对MH7A细胞增殖和凋亡的影响 MTT法检测结果显示, 与0 $\mu\text{mol/L}$ 组比较, 1、10和20 $\mu\text{mol/L}$ 丹酚酸B处理对MH7A细胞增殖没有明显影响($P>0.05$), 而30、40、50 $\mu\text{mol/L}$ 丹酚酸B组MH7A细胞增殖率明显降低($75.71\% \pm 5.36\%$ 、 $67.33\% \pm 6.32\%$ 、 $53.34\% \pm 2.73\%$ vs. $89.24\% \pm 3.10\%$), 且呈浓度依赖性($P<0.05$, 图1A)。流式细胞仪检测结果显示, 与0 $\mu\text{mol/L}$ 组比较, 30、40和50 $\mu\text{mol/L}$ 丹酚酸B组细胞凋亡率明显升高($15.7\% \pm 0.5\%$ 、 $22.5\% \pm 1.7\%$ 、 $30.1\% \pm 1.5\%$ vs. $11.2\% \pm 1.3\%$, $P<0.05$, 图1B)。据此选择50 $\mu\text{mol/L}$ 丹酚酸B进行后续实验。

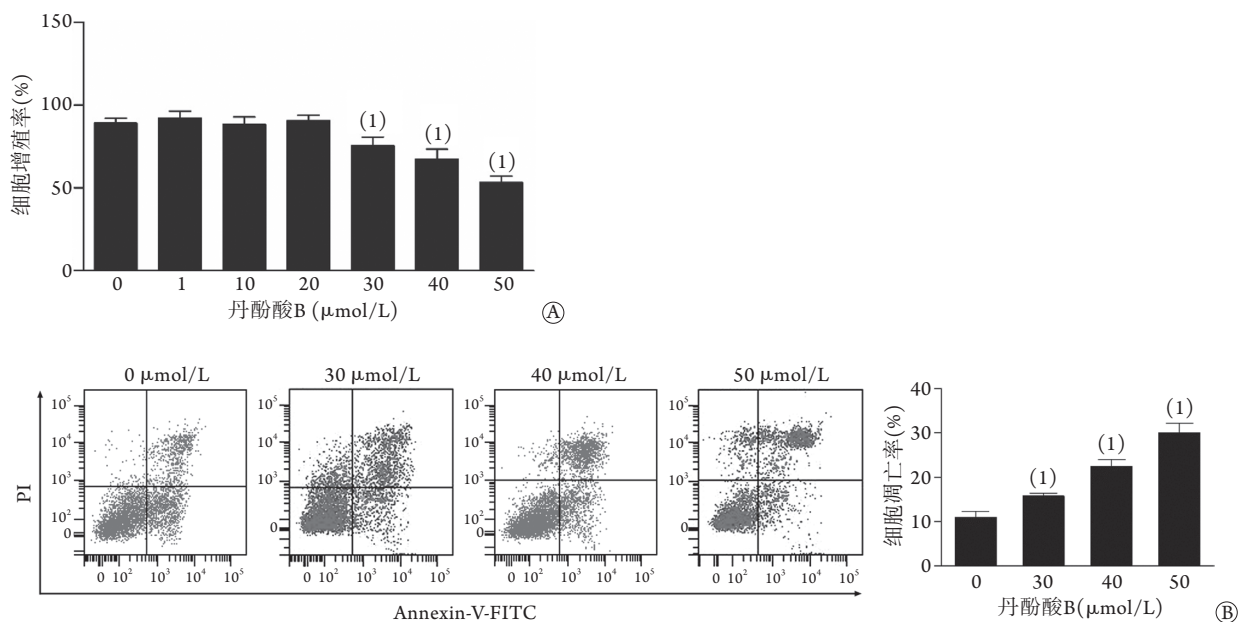


图1 丹酚酸B对MH7A细胞增殖和凋亡的影响

Fig.1 Effect of salviolic acid B on the proliferation and apoptosis of MH7A cells

A. 丹酚酸B对MH7A细胞增殖的影响; B. 丹酚酸B对MH7A细胞凋亡的影响; 与0 $\mu\text{mol/L}$ 组比较, (1) $P<0.05$

2.2 丹酚酸B调节自噬对MH7A细胞增殖和凋亡的影响 与对照组比较, 丹酚酸B组细胞增殖率明显降低, 细胞凋亡率明显升高, 差异有统计学意义($P<0.05$); 与丹酚酸B组比较, 加入自噬抑制剂3-MA处理的MH7A细胞增殖率明显升高($63.47\% \pm 1.94\%$ vs. $51.33\% \pm 4.67\%$), 细胞凋亡率明显降低($21.4\% \pm 1.8\%$ vs. $30.4\% \pm 0.6\%$), 差异有统计学意义($P<0.05$, 图2)。

2.3 丹酚酸B调节自噬对MH7A细胞中caspase-3 mRNA和蛋白以及自噬相关蛋白表达的影响

Western blotting和qRT-PCR检测结果显示, 与对照组比较, 丹酚酸B组MH7A细胞中caspase-3 mRNA(1.27 ± 0.15 vs. 0.61 ± 0.03)和蛋白(1.10 ± 0.09 vs. 0.42 ± 0.07)相对表达水平明显升高, 差异有统计学意义($P<0.05$); 与丹酚酸B组比较, 丹酚酸B+3-MA组MH7A细胞中caspase-3 mRNA(0.83 ± 0.06)和蛋白(0.64 ± 0.05)相对表达水平明显降低, 差异有统计学意义($P<0.05$, 图3A、B)。

Western blotting检测结果显示, 与对照组比较, 丹酚酸B组MH7A细胞中LC3- II /LC3- I

(1.23 ± 0.21 vs. 0.23 ± 0.03)、Beclin-1(1.05 ± 0.08 vs. 0.22 ± 0.04)蛋白相对表达水平升高, p62(0.20 ± 0.02 vs. 1.38 ± 0.08)蛋白相对表达水平降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 与丹酚酸B组比较, 丹酚酸B+3-

MA组MH7A细胞中LC3- II /LC3- I (0.29 ± 0.07)、Beclin-1(0.36 ± 0.05)蛋白相对表达水平降低, p62(0.97 ± 0.06)蛋白相对表达水平升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 图3C)。

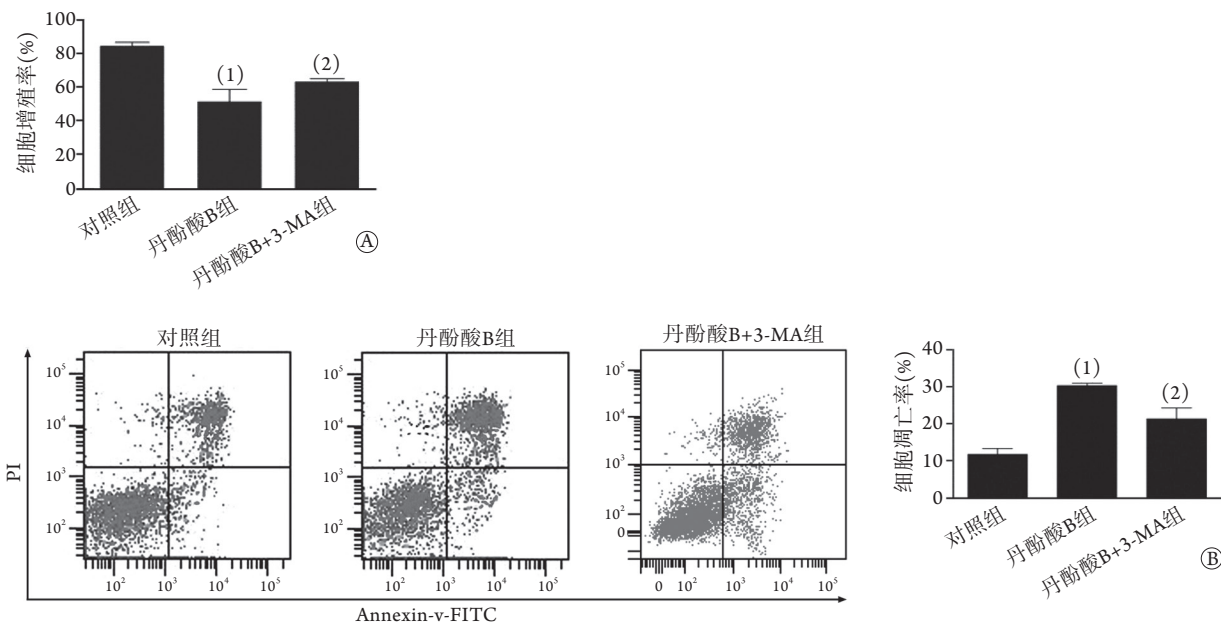


图2 丹酚酸B调节自噬对MH7A细胞增殖和凋亡的影响

Fig.2 Effect of salvianolic acid B on the proliferation and apoptosis of MH7A cells by regulating autophagy

A. 细胞增殖率; B. 细胞凋亡率; 与对照组比较, (1) $P < 0.05$; 与丹酚酸B组比较, (2) $P < 0.05$

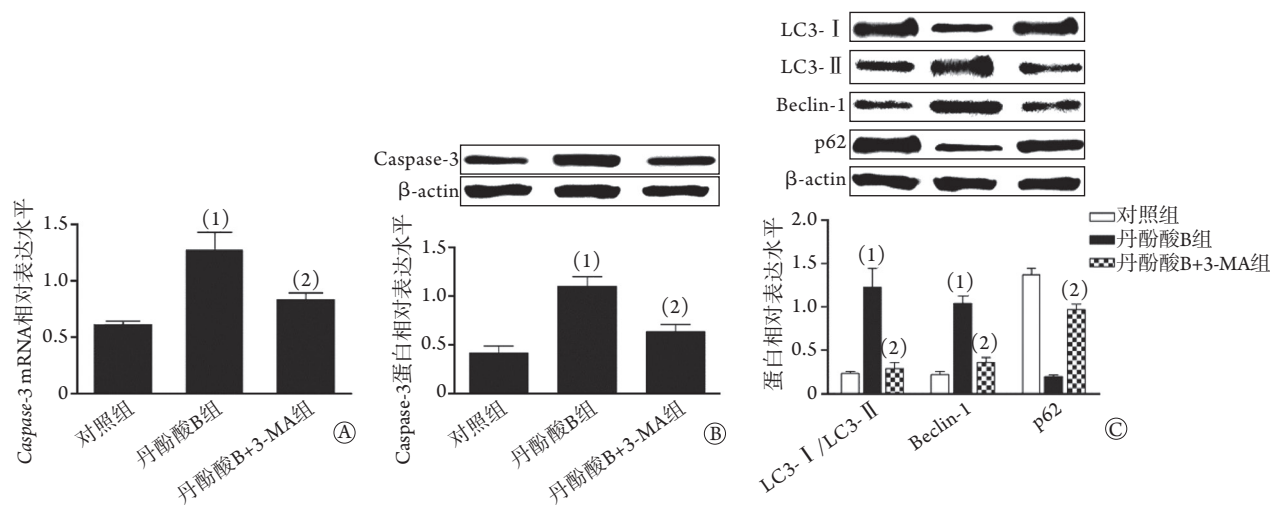


图3 丹酚酸B调节自噬对MH7A细胞中caspase-3及自噬相关蛋白表达的影响

Fig.3 Effect of salvianolic acid B on the expressions of caspase-3 and autophagy related protein in MH7A cells by regulating autophagy

A. Caspase-3 mRNA相对表达水平; B. Caspase-3蛋白相对表达水平; C. 自噬相关蛋白相对表达水平; 与对照组比较, (1) $P < 0.05$; 与丹酚酸B组比较, (2) $P < 0.05$

3 讨论

RA是一种慢性自身免疫性疾病, 临床上该病患者的关节结构发生破坏和畸变, 关节功能受到影响, 严重影响患者的生活质量^[10]。RA滑膜成纤维细胞的增殖与凋亡失衡是引起滑膜增生和关节炎

的主要原因^[11]。一方面, 滑膜成纤维细胞增生对软骨和骨关节等组织进行直接的浸润和破坏; 另一方面, 滑膜成纤维细胞可通过募集免疫细胞并与其相互作用促进机体炎症反应, 间接破坏骨关节^[12]。因此, 调控滑膜成纤维细胞是药物治疗RA的重要机制之一。

丹酚酸B是丹参的主要活性成分^[13]。近年来研究发现,丹酚酸B具有抑制细胞异常增殖、诱导细胞凋亡的作用^[14]。但目前关于丹酚酸B对RA滑膜成纤维细胞作用的研究较少。本研究采用不同浓度的丹酚酸B作用于MH7A细胞,结果显示,低浓度(1、10、20 $\mu\text{mol/L}$)的丹酚酸B对MH7A细胞增殖没有明显影响,而30~50 $\mu\text{mol/L}$ 的丹酚酸B可呈浓度依赖性的抑制MH7A细胞的增殖。进一步检测有效浓度的丹酚酸B对MH7A细胞凋亡的影响,结果显示,丹酚酸B可明显促进MH7A细胞凋亡。由此可见,丹酚酸B能够有效抑制RA滑膜成纤维细胞的增殖并促进其凋亡,提示丹酚酸B可能对RA有治疗作用。

目前RA的病因和发病机制尚未完全明确。有研究发现,细胞自噬是RA进展的重要调节机制之一^[15]。自噬又称为Ⅱ型程序性死亡,是可溶性大分子或细胞器等被运送到溶酶体进行降解的过程,在维持细胞稳态和生存方面发挥着重要作用^[16]。Beclin-1(又称Atg6)是自噬调节的关键因子之一,可与其他Atg蛋白协同调节自噬体的形成,进而调控细胞自噬过程^[17]。LC3是检测自噬活性的标志蛋白^[18]。在自噬过程中,胞质内的Ⅰ型LC3蛋白经过泛素样加工修饰后,与自噬泡膜表面的磷脂酰乙醇胺结合形成Ⅱ型LC3蛋白。LC3-Ⅱ蛋白特异性地结合至自噬泡膜表面,并在自噬体形成过程中发挥重要作用,因此常用LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ比值评估自噬水平^[19]。衔接蛋白p62可与LC3相互结合,是自噬受体和自噬的选择性底物^[20]。有研究发现,丹酚酸B可通过促进细胞自噬减缓肾炎、肾纤维化、帕金森病、结直肠癌等疾病的发展^[21-24]。本研究结果显示,与对照组比较,丹酚酸B组MH7A细胞中LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ、Beclin-1表达上调,p62表达下调,表明丹酚酸B可促进RA滑膜成纤维细胞的自噬过程。

自噬广泛参与心血管疾病、肿瘤、神经退行性疾病和自身免疫性疾病的发生和发展^[25]。许珂等^[26]发现,甲氨蝶呤可通过诱导细胞自噬而促进RA滑膜成纤维细胞的凋亡,提高RA的治疗效果。范紫微等^[27]研究发现,五味子木脂素可通过促进自噬而抑制关节炎大鼠的炎症反应。本研究采用自噬抑制剂3-MA和丹酚酸B共处理MH7A细胞,结果显示,MH7A细胞增殖率明显升高,细胞凋亡率明显降低,表明丹酚酸B对RA滑膜成纤维细胞增殖和凋亡的调控作用可能是通过促进自噬产生的。

综上所述,本研究结果显示,丹酚酸B可通过促进细胞自噬抑制RA滑膜成纤维细胞的增殖并促进其凋亡。但本研究未在RA动物模型中探索丹酚

酸B的药物毒性和适用浓度,后续研究可在骨关节炎动物模型中验证丹酚酸B的作用,并探索其衍生物和适用剂型,为丹酚酸B在临床RA治疗中的应用提供理论依据。

【参考文献】

- Lin YJ, Anzaghe M, Schülke S. Update on the pathomechanism, diagnosis, and treatment options for rheumatoid arthritis[J]. *Cells*, 2020, 9(4): 880.
- Bustamante MF, Garcia-Carbonell R, Whisenant KD, et al. Fibroblast-like synoviocyte metabolism in the pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2017, 19(1): 110.
- Nygaard G, Firestein GS. Restoring synovial homeostasis in rheumatoid arthritis by targeting fibroblast-like synoviocytes[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2020, 16(6): 316-333.
- Liang ZX, He XY, Chang SF, et al. IR-820 loaded phase transition nanoparticles for dual-modal imaging and photodynamic effect on fibroblast-like synoviocytes of rheumatoid arthritis in vitro[J]. *Med J Chin PLA*, 2021, 46(5): 425-431. [梁竹西, 何欣雨, 常淑芳, 等. 载IR-820相变型纳米粒双模态成像及其对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞光动力效应的体外研究[J]. *解放军医学杂志*, 2021, 46(5): 425-431.]
- van der Woude D, van der Helm-van Mil AHM. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of rheumatoid arthritis[J]. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2018, 32(2): 174-187.
- Kong XY, Wen CP. On research progress of Western and Chinese medicine treatment on pre-rheumatoid arthritis[J]. *Chin J Integr Med*, 2019, 25(9): 643-647.
- Zou LH, Hou CF, Chen ZH, et al. Effects of Shuangwuxuanbi granule on the apoptosis of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes and PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Med J Chin PLA*, 2018, 43(9): 721-726. [邹丽华, 侯春福, 陈志煌, 等. 双乌宣痹颗粒对类风湿关节炎滑膜成纤维细胞凋亡及PI3K/Akt信号通路的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2018, 43(9): 721-726.]
- Xu ZR, Ruan X, Yang Y, et al. Effects of Danshen injection on TLR4 protein expression in the renal tubular of diabetic rats[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2019, 41(2): 279-284. [徐仲儒, 阮旭, 杨晔, 等. 丹参注射液对糖尿病大鼠肾小管TLR4蛋白表达的影响[J]. *中成药*, 2019, 41(2): 279-284.]
- Li CL, Liu B, Wang ZY, et al. Salvianolic acid B improves myocardial function in diabetic cardiomyopathy by suppressing IGFBP3[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2020, 139: 98-112.
- Sharif K, Sharif A, Jumah F, et al. Rheumatoid arthritis in review: Clinical, anatomical, cellular and molecular points of view[J]. *Clin Anat*, 2018, 31(2): 216-223.
- de Oliveira PG, Farinon M, Sanchez-Lopez E, et al. Fibroblast-like synoviocytes glucose metabolism as a therapeutic target in rheumatoid arthritis[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1743.
- Ai R, Laragione T, Hammaker D, et al. Comprehensive epigenetic landscape of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1921.
- Feng PP, Fang XS, Zhao SH, et al. Salvianolic acid B decreases interleukin-1beta-induced colitis recurrence in mice[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020, 133(12): 1436-1444.
- Ye SQ, Jin LY, Wang YJ, et al. Effect of salvianolic acid B on

- proliferation, apoptosis and cell cycle of HaCaT cells[J]. *Chin Archi Tradit Med*, 2020, 38(9): 151-154. [叶淑青, 金立阳, 汪英俊, 等. 丹酚酸B对HaCaT细胞增殖, 凋亡及细胞周期的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2020, 38(9): 151-154.]
- [15] Karami J, Masoumi M, Khorramdelazad H, *et al.* Role of autophagy in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: Latest evidence and therapeutic approaches[J]. *Life Sci*, 2020, 254: 117734.
- [16] D'Arcy MS. Cell death: A review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy[J]. *Cell Biol Int*, 2019, 43(6): 582-592.
- [17] Xu HD, Qin ZH. Beclin 1, Bcl-2 and autophagy[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1206: 109-126.
- [18] Li X, He S, Ma B. Autophagy and autophagy-related proteins in cancer[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 12.
- [19] Johansen T, Lamark T. Selective autophagy: ATG8 family proteins, LIR motifs and Cargo receptors[J]. *J Mol Biol*, 2020, 432(1): 80-103.
- [20] Liu WJ, Ye L, Huang WF, *et al.* p62 links the autophagy pathway and the ubiquitin-proteasome system upon ubiquitinated protein degradation[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2016, 21: 29.
- [21] Li HL, Zhou J, Lin H, *et al.* Salvianolic acid B attenuates renal dysfunction in chronic glomerulonephritis through anti-inflammatory, anti-oxidation and promoting autophagy[J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Clin Med*, 2019, 35(5): 34-38. [李红莲, 周桔, 林华, 等. 丹酚酸B通过抗炎、抗氧化和促进自噬减轻慢性肾小球肾炎的肾功能损伤[J]. *中药药理与临床*, 2019, 35(5): 34-38.]
- [22] Wu JZ, Ardah M, Haikal C, *et al.* Dihydromyricetin and Salvianolic acid B inhibit alpha-synuclein aggregation and enhance chaperone-mediated autophagy[J]. *Transl Neurodegener*, 2019, 8: 18.
- [23] Jing Z, Fei W, Zhou J, *et al.* Salvianolic acid B, a novel autophagy inducer, exerts antitumor activity as a single agent in colorectal cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(38): 61509-61519.
- [24] Huang XJ, He Y, Liu BH, *et al.* Salvianolic acid B improves renal fibrosis in UUO mice by regulating autophagy[J]. *J Chin Med Mater*, 2018, 41(9): 2201-2205. [黄小娟, 贺雨, 刘碧好, 等. 丹酚酸B通过调控自噬改善UUO小鼠肾纤维化[J]. *中药材*, 2018, 41(9): 2201-2205.]
- [25] Wu DJ, Adamopoulos IE. Autophagy and autoimmunity[J]. *Clin Immunol*, 2017, 176: 55-62.
- [26] Xu K, Cai YS, Lu C, *et al.* The study on the resistance of autophagy of fibroblast-like synovial cells to apoptosis induced by methotrexate in rheumatoid arthritis[J]. *Chin J Rheumatol*, 2019, 23(2): 106-109. [许珂, 蔡永松, 鲁超, 等. 甲氨蝶呤通过诱导自噬促进类风湿关节炎滑膜成纤维细胞凋亡机制的研究[J]. *中华风湿病学杂志*, 2019, 23(2): 106-109.]
- [27] Fan ZW, Gu H, Zou TQ, *et al.* Anti-inflammatory effect of *Schisandra chinensis* lignans on adjuvant arthritis in rats and its effect on autophagy-related pathways[J]. *Chin J Pharm Toxicol*, 2020, 34(6): 442-450. [范紫薇, 古虹, 邹天琪, 等. 五味子木脂素对佐剂性关节炎大鼠的抗炎作用及对自噬相关通路的影响[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2020, 34(6): 442-450.]

(责任编辑: 纪方方)