

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2019.08.0860

· 论 著 ·

## 白藜芦醇促进巨噬细胞 M2 极化并缓解小鼠急性痛风性关节炎

萧文泽<sup>1,2</sup>, 赵 力<sup>2</sup>, 邹和建<sup>2\*</sup>

1. 复旦大学附属浦东医院内分泌免疫科, 上海 201399
2. 复旦大学附属华山医院风湿免疫科, 上海 200040

**[摘要]** **目的** 观察白藜芦醇对小鼠急性痛风性关节炎的预防效果, 并探讨巨噬细胞 M2 极化是否介导白藜芦醇的作用。**方法** 18 只 C57BL/6 小鼠随机分为 3 组, 每组 6 只: 假手术组、造模+溶剂对照组、造模+白藜芦醇组。假手术组用无菌生理盐水处理小鼠右侧后肢踝关节, 造模+溶剂对照组小鼠右侧后肢踝关节给予单钠尿酸盐 (MSU) 晶体构建急性痛风性关节炎模型, 造模+白藜芦醇组提前给予 DMSO 溶解的白藜芦醇干预再进行 MSU 晶体造模。测定各组小鼠双侧足掌厚度, 采用 H-E 染色观察各组小鼠足掌关节滑膜组织炎症情况。分离、提取正常小鼠腹腔原代巨噬细胞, 给予白藜芦醇干预后以 MSU 晶体刺激, 用蛋白质印迹法检测巨噬细胞 M1 极化标志物诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 的表达, 用实时荧光定量 PCR 检测巨噬细胞中炎症指标肿瘤坏死因子  $\alpha$  ( $TNF-\alpha$ )、白细胞介素  $1\beta$  ( $IL-1\beta$ ) mRNA 的表达水平, 用流式细胞术检测 M2 型巨噬细胞标志物 F4/80、CD163 的表达。**结果** 成功构建小鼠急性痛风性关节炎模型。造模前给予白藜芦醇干预后, 小鼠右侧后肢足掌厚度明显低于溶剂对照组 [(1.98±0.02) mm vs (2.49±0.12) mm,  $P<0.01$ ], 小鼠足掌关节炎滑膜组织中中性粒细胞浸润面积减少。体外实验中, 白藜芦醇显著抑制了小鼠腹腔原代巨噬细胞中 iNOS 蛋白和  $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$  mRNA 的表达水平 ( $P$  均 $<0.01$ ), 提高了 F4/80<sup>+</sup>CD163<sup>+</sup> 细胞比例 ( $P<0.01$ )。**结论** 白藜芦醇可能通过促进巨噬细胞 M2 极化, 抑制炎症因子的产生, 从而有效缓解小鼠急性痛风性关节炎。

**[关键词]** 白藜芦醇; 痛风性关节炎; 巨噬细胞极化; 肿瘤坏死因子  $\alpha$ ; 白细胞介素  $1\beta$

**[中图分类号]** R 971.1; R 684.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2019)08-0860-06

## Resveratrol promotes macrophage M2 polarization and alleviates acute gouty arthritis in mice

XIAO Wen-ze<sup>1,2</sup>, ZHAO Li<sup>2</sup>, ZOU He-jian<sup>2\*</sup>

1. Department of Endocrine and Immunology, Shanghai Pudong Hospital, Fudan University, Shanghai 201399, China
2. Department of Rheumatology and Immunology, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the preventive effect of resveratrol against acute gouty arthritis in mice and whether M2 polarization of macrophage mediates the effect. **Methods** Eighteen C57BL/6 mice were randomly divided into three groups ( $n=6$ ): sham group, model+solvent control group, and model+resveratrol group. The right hind limb ankle joint of mice in the sham group were treated with sterile normal saline. The right hind limb ankle joint of mice in the model+solvent control group were treated with DMSO in advance and then with monosodium urate (MSU) crystals to establish acute gouty arthritis model. Mice in the model+resveratrol group were treated with resveratrol dissolved in DMSO in advance and then with MSU crystals to establish acute gouty arthritis model. The bilateral paw thickness of mice in each group was measured and H-E staining was used to observe the inflammation of synovial tissue of feet and metacarpal joints of mice in each group. The primary macrophages from abdominal cavity of normal mice were extracted, treated with resveratrol, and then stimulated with MSU crystals. The expression of M1-polarized macrophage markers inducible nitric oxide synthase (iNOS) protein and the inflammatory indexes tumor necrosis factor  $\alpha$  ( $TNF-\alpha$ ) mRNA and interleukin  $1\beta$  ( $IL-1\beta$ ) mRNA were detected by Western blotting or qPCR. The expression of M2-polarized macrophage markers F4/80 and CD163 were detected by flow cytometry. **Results** Acute gouty arthritis model of mice was successfully established. The right hind limb thickness

**[收稿日期]** 2019-06-12 **[接受日期]** 2019-07-07

**[基金项目]** 国家自然科学基金(8167060028), 浦东新区科技发展基金(PKJ2018-Y36), 复旦大学浦东医院浦菁人才培养计划(PJ201502). Supported by National Natural Science Foundation of China (8167060028), Science and Technology Development Fund of Pudong New Area (PKJ2018-Y36), and Pujiang Talent Project of Pudong Hospital of Fudan University (PJ201502).

**[作者简介]** 萧文泽, 博士, 主治医师. E-mail: wenzexiao@yahoo.com

\*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-52889999, E-mail: hjzhou@fudan.edu.cn

of mice in the model+resveratrol group was significantly lower than that in the model+solvent control group ([1.98±0.02] mm vs [2.49±0.12] mm,  $P<0.01$ ). The infiltration area of neutrophils in synovial tissue of feet and metacarpal joints in mice of model+resveratrol group were also significantly reduced. *In vitro*, resveratrol significantly inhibited the expression of iNOS protein, *TNF- $\alpha$*  mRNA and *IL-1 $\beta$*  mRNA in primary peritoneal macrophages (all  $P<0.01$ ) and increased the percentage of F4/80<sup>+</sup>CD163<sup>+</sup> in macrophages ( $P<0.01$ ). **Conclusion** Resveratrol may effectively alleviate acute gouty arthritis in mice by promoting M2 polarization of macrophages and inhibiting the expression of inflammatory factors.

**[Key words]** resveratrol; gouty arthritis; macrophage polarization; tumor necrosis factor  $\alpha$ ; interleukin 1 $\beta$

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2019, 40(8): 860-865]

痛风是最常见的炎症性关节炎,在大多数发达国家,特别是在北美洲和欧洲,痛风的患病率超过 1%<sup>[1]</sup>,美国 2007—2008 年国家健康与营养调查结果显示,美国约有 3.9% 的成年人(年龄 $\geq$ 20 岁)有痛风发作<sup>[2]</sup>。此外,痛风还与代谢综合征、心血管疾病和肾脏疾病有关<sup>[3]</sup>。因此,防治痛风有重大的社会经济意义<sup>[4]</sup>。典型的急性痛风炎症是由关节内单钠尿酸盐(monosodium urate, MSU)晶体沉积引起的急性自限性炎症<sup>[5]</sup>。MSU 晶体通过 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)2 和 TLR4 以及 CD14 在单核细胞/巨噬细胞表面表达识别,提供细胞外和细胞内的危险信号,启动单核细胞/巨噬细胞对 MSU 晶体的吞噬<sup>[6]</sup>。由 MSU 晶体刺激的单核细胞可极化为促炎性 M1 型巨噬细胞,其通过完全功能性吞噬 MSU 晶体引发炎症,促进细胞质 NACHT-LRR-PYD 结构域蛋白 3 炎性体的组装,从而释放肿瘤坏死因子  $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )和白细胞介素 1 $\beta$ (interleukin 1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )等高促炎性细胞因子,并促进外周血中性粒细胞流入炎症部位<sup>[7]</sup>。

白藜芦醇是一种含有芪类结构的非黄酮类多酚化合物,广泛存在于自然界植物中,研究表明其具有抗氧化、抗菌消炎、抗血小板聚集作用<sup>[8-9]</sup>。多项研究证明白藜芦醇还具有治疗痛风的作用,但其具体机制尚未阐明<sup>[10-11]</sup>。白藜芦醇是沉默信息调节因子 1(silent mating type information regulation 1, Sirt1)激动剂,既往研究显示, Sirt1 可通过 TLR2/Sirt1/核因子  $\kappa$ B(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)途径对 IL-1 $\beta$  介导的髓核细胞变性发挥抗炎作用<sup>[12]</sup>。本研究通过构建小鼠急性痛风性关节炎模型,从巨噬细胞极化角度探究白藜芦醇对痛风的具体作用机制。

## 1 材料和方法

1.1 主要试剂与仪器 白藜芦醇购自美国 Selleck

公司(货号 S1396); MSU 购自美国 Sigma 公司(货号 U2625、74542); RPMI 1640 培养液、胎牛血清均购自美国 Gibco 公司(货号 12633012、10099); TRIzol 试剂盒、反转录 PCR 试剂盒、SYBR 实时荧光定量(qPCR)试剂盒均购自日本 TaKaRa 公司, ViiA<sup>TM</sup> 7 qPCR 系统购自美国 Applied Biosystems 公司;巨噬细胞 M1 极化标志物诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)兔源多克隆抗体、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)兔源多克隆抗体均购自英国 Abcam 公司(货号 ab15323、ab181602);异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记的巨噬细胞 M2 极化标志物 F4/80 抗体、藻红蛋白(phycoerythrin, PE)标记的巨噬细胞 M2 极化标志物 CD163 兔源多克隆抗体均购自美国 CST 公司(货号 52267、93498)。

1.2 MSU 晶体的配制 将 1 g 尿酸及 0.5 g NaOH 加入 100 mL 双蒸水中,置于水浴锅中 80 °C 加热 20 min 后可得澄清液体,4 °C 过夜,冷却后晶体析出,继续采用滴定法(稀盐酸)将溶液 pH 调整至约 7.2,可见大量晶体析出。偏振光显微镜下观察可见所得晶体呈长度为 5~25  $\mu$ m 的针尖棒状,具有双折光性。将含 MSU 晶体的溶液 1 500 $\times$ g 离心 3 min,弃上清,所得晶体高温干燥后分装并称质量。常温保存。实验时用磷酸盐缓冲液或生理盐水稀释至所需浓度后进行高温、高压灭菌。

1.3 小鼠急性痛风性关节炎模型建立

1.3.1 分组及造模方案 C57BL/6 小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司[实验动物生产许可证号为 SCXK(京)2016-0006,使用许可证号为 SYXK(京)2017-0033],共 26 只,雄性,6~8 周龄,平均体质量为(20.00 $\pm$ 1.04)g。选取 18 只

进行造模,随机平均分为3组,每组6只,分别称质量,并标记各组。造模前先用游标卡尺测量并记录每只小鼠左右足掌的厚度,其足掌厚度基本一致,无显著差异。假手术组:用50  $\mu$ L 无菌生理盐水注射小鼠右侧后肢踝关节。造模+溶剂对照组:造模前7 d连续每天将5% DMSO 0.25 mL注射小鼠腹腔;造模时用50  $\mu$ L 无菌MSU晶体混悬液(含1 mg MSU晶体)注射小鼠右侧后肢踝关节,同时用50  $\mu$ L 无菌生理盐水注射左侧后肢踝关节。造模+白藜芦醇组:造模前7 d连续每天腹腔注射白藜芦醇(0.2 mL,用5% DMSO溶解),每次注射白藜芦醇20 mg/kg体质量;造模方法同造模+溶剂对照组。

1.3.2 小鼠双侧足掌厚度测定及关节滑膜组织H-E染色 用MSU晶体混悬液注射于小鼠右侧后肢踝关节后,关节炎的高峰通常出现于注射后8 h,用游标卡尺测量小鼠双侧后肢的足掌厚度,记录并比较。在炎症高峰期处死小鼠,取右侧后肢足掌关节滑膜组织用4%多聚甲醛溶液固定,脱钙后行H-E染色,观测中性粒细胞浸润面积。

1.4 小鼠腹腔原代巨噬细胞提取与培养 另选取8只小鼠进行腹腔巨噬细胞的分离、提取。每只小鼠提取细胞前2~4 d腹腔注射2 mL 6%淀粉肉汤(将牛肉膏0.3 g、蛋白胨1.0 g及氯化钠0.5 g溶于蒸馏水,加热后加入可溶性淀粉6 g,溶解后高压灭菌,4  $^{\circ}$ C保存。加热过程中不停搅拌,防止结成团块)。然后将小鼠引颈处死,分离并培养小鼠腹腔巨噬细胞。细胞培养于含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液中,在5%  $\text{CO}_2$ 、37  $^{\circ}$ C条件下培养。

调整细胞密度为 $1 \times 10^6$ /mL,并接种于6孔板中,每孔约3 mL,待细胞贴壁后除去未贴壁细胞。各组细胞均以MSU晶体(100  $\mu$ g/mL)刺激,白藜芦醇干预组提前1 h加入白藜芦醇(100  $\mu$ mol/L),对照组未加白藜芦醇干预,检测3、6 h后巨噬细胞M1极化标志物iNOS的蛋白表达及炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 的mRNA表达。

1.5 蛋白质印迹法检测小鼠腹腔原代巨噬细胞中iNOS蛋白的表达 用RIPA裂解液提取细胞总蛋白质,BCA法定量各组蛋白。各取等量样品经10%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后电转移至PVDF膜上,5%脱脂奶粉室温摇床上封闭2 h,加入iNOS、GAPDH一抗抗体(1:1 000稀释),

4  $^{\circ}$ C孵育过夜,加入二抗于37  $^{\circ}$ C温箱孵育1 h,增强化学发光显色,用凝胶成像系统分析处理。以目的蛋白与内参蛋白光密度值的比值作为目的蛋白的相对表达量。实验重复3次。

1.6 qPCR检测小鼠腹腔原代巨噬细胞中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  mRNA的表达 按照TRIzol试剂盒说明书从细胞中提取总RNA,将-70  $^{\circ}$ C冻存组织在液氮中充分研磨后依次加入TRIzol、氯仿、异丙醇,离心取上清后以260 nm处的光密度值定量RNA浓度,并于-80  $^{\circ}$ C冰箱保存。用反转录试剂盒在20  $\mu$ L体系中反转录成cDNA,以此cDNA为模板,用SYBR Green I嵌合荧光法行qPCR。TNF- $\alpha$ 引物序列:上游5'-CTA CTG AAC TTC GGG GTG AT-3',下游5'-GGG CCA TGA AAA CTG GTG TG-3'; IL-1 $\beta$ 引物序列:上游5'-GAA CAC GGC AGT GGC TTT AAC-3',下游5'-TGC TTA GCT CTG TCT GCT TTG C-3'。反应条件:95  $^{\circ}$ C预变性30 s;95  $^{\circ}$ C变性5 s,60  $^{\circ}$ C退火20 s,72  $^{\circ}$ C延伸1 min,40个循环。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计并合成。所有数据均采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行相对定量分析,实验重复3次。

1.7 流式细胞术检测小鼠腹腔原代巨噬细胞M2极化标志物 对照组及白藜芦醇干预组均以MSU晶体(100  $\mu$ g/mL)刺激,干预组提前1 h加入白藜芦醇(100  $\mu$ mol/L),对照组未加白藜芦醇干预,0 h与6 h分别检测M2型巨噬细胞比例。分组处理培养的腹腔原代巨噬细胞经胰酶消化5 min后用细胞刮轻轻刮下来,磷酸盐缓冲液洗涤3次,调整细胞密度为 $1 \times 10^5$ /mL,然后加入F4/80-FITC和CD163-PE抗体各3  $\mu$ L,4  $^{\circ}$ C避光染色30 min,上流式细胞仪检测。

1.8 统计学处理 应用SPSS 19.0软件进行统计学分析,采用GraphPad Prism 5.0软件绘图。数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用为独立样本 $t$ 检验;多组间比较首先进行单因素方差分析,再采用LSD- $t$ 检验进行两两比较。检验水准( $\alpha$ )为0.05。

## 2 结果

2.1 白藜芦醇抑制MSU晶体刺激的小鼠足掌急性炎症 造模后8 h处死小鼠,观察各组小鼠足掌肿胀程度并测量小鼠右侧足掌厚度(图1)。造模+溶剂对照组小鼠足掌肿胀明显,足掌厚



度为 (2.49±0.12) mm, 与假手术组 [(1.81±0.03) mm] 比较差异有统计学意义 ( $P<0.01$ ), 证明小鼠足掌急性炎症模型构建成功。而在造模前给予白藜芦醇干预, 可以显著降低模型小鼠足掌肿胀程度 [(1.98±0.02) mm vs (2.49±0.12) mm,  $P<0.01$ ], 表明白藜芦醇对 MSU 晶体刺激的小鼠足掌急性炎症有预防作用。小鼠足掌关节滑膜组织 H-E 染色后中性粒细胞胞质透亮, 细胞核呈深蓝色, 且为多形性。结果显示白藜芦醇干预降低了小鼠关节滑膜组织中中性粒细胞的浸润面积 (图 2), 与小鼠足掌肿胀程度结果相似, 提示白藜芦醇可以有效预防急性炎症发生。

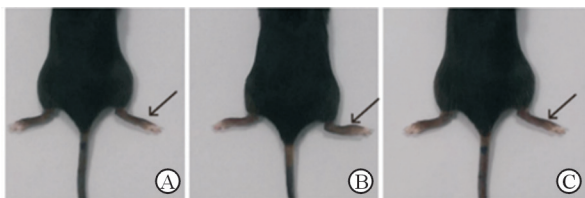


图 1 各组小鼠足掌肿胀程度观察  
Fig 1 Observation on paw swelling degree of mouse in each group

A: Sham group; B: Model+solvent control group; C: Model+resveratrol group. Arrows indicate the sites for establishing acute gouty arthritis model

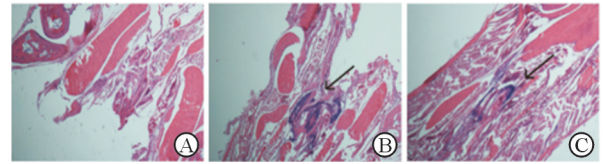


图 2 各组小鼠足掌关节滑膜组织 H-E 染色观察  
Fig 2 H-E staining of synovial tissue of feet and metacarpal joints of mouse in each group

A: Sham group; B: Model+solvent control group; C: Model+resveratrol group. Arrows indicate neutrophil infiltration. Original magnification: ×200

2.2 白藜芦醇降低小鼠腹腔原代巨噬细胞 M1 极化标志物 iNOS 和炎症因子  $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$  mRNA 的表达 蛋白质印迹分析结果显示, iNOS 在白藜芦醇干预后 3 h 时无明显变化, 而在 6 h 时明显降低 ( $P<0.01$ , 图 3A), 说明白藜芦醇可以抑制巨噬细胞 M1 极化, 这一抑制作用在 6 h 时较明显。qPCR 结果则显示白藜芦醇干预后 3 h  $TNF-\alpha$  mRNA (图 3B) 和  $IL-1\beta$  mRNA (图 3C) 表达与对照组相比均明显降低 ( $P$  均  $<0.01$ ), 说明白藜芦醇可以在转录水平明显降低炎症因子的表达。而白藜芦醇干预后 3 h 与 6 h 的  $TNF-\alpha$  mRNA 或  $IL-1\beta$  mRNA 表达差异无统计学意义 ( $P$  均  $>0.05$ ), 说明白藜芦醇对炎症因子的抑制在 3 h 时即可发挥明显作用。

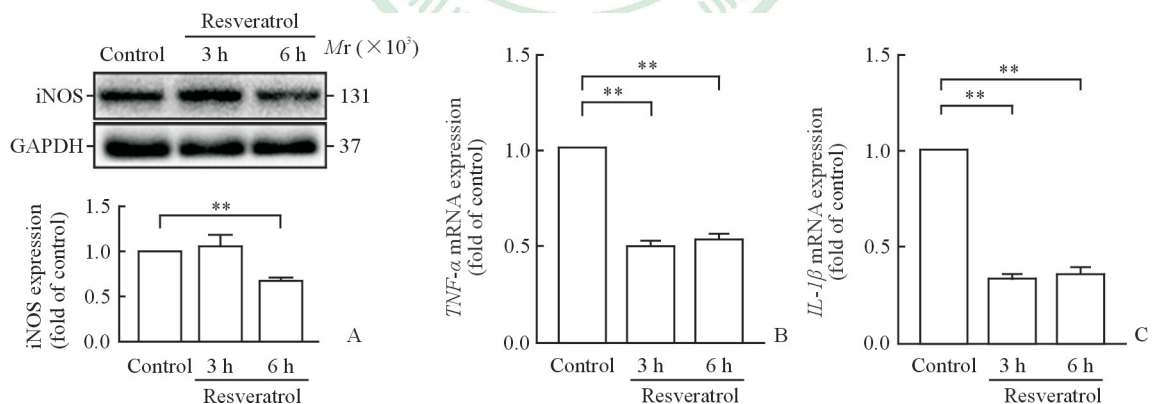


图 3 各组小鼠腹腔原代巨噬细胞中 iNOS 蛋白及  $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$  mRNA 的表达  
Fig 3 Expression of iNOS protein and  $TNF-\alpha$  and  $IL-1\beta$  mRNA in primary macrophages from mouse abdominal cavity in each group

A: Expression of iNOS protein detected by Western blotting; B: Expression of  $TNF-\alpha$  mRNA detected by qPCR; C: Expression of  $IL-1\beta$  mRNA detected by qPCR. iNOS: Inducible nitric oxide synthase;  $TNF-\alpha$ : Tumor necrosis factor  $\alpha$ ;  $IL-1\beta$ : Interleukin 1 $\beta$ . \*\* $P<0.01$ .  $n=3$ ,  $\bar{x}\pm s$

2.3 白藜芦醇促进小鼠腹腔原代巨噬细胞 M2 极化 流式细胞术检测 M2 型巨噬细胞标志物 F4/80 和 CD163 结果显示, 白藜芦醇干预后 F4/80<sup>+</sup>

细胞比例较高; 与对照组相比, 白藜芦醇干预后 F4/80<sup>+</sup>CD163<sup>+</sup> 细胞比例在 6 h 时明显上调 ( $P<0.01$ , 图 4)。

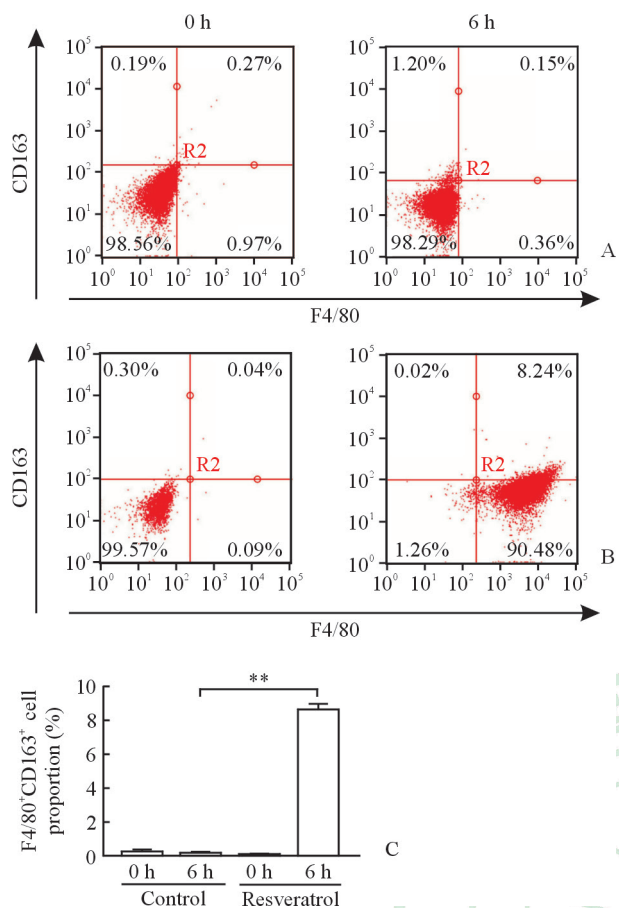


图4 流式细胞术检测小鼠腹腔原代巨噬细胞 M2 极化  
Fig 4 M2-polarization of primary macrophages from mouse abdominal cavity detected by flow cytometry

A: Control group; B: Resveratrol group; C: Quantitatively analysis of M2-polarized macrophage (F4/80<sup>+</sup>CD163<sup>+</sup>).

\*\*P<0.01. n=3,  $\bar{x}\pm s$

### 3 讨论

巨噬细胞根据其分泌的细胞因子和细胞膜表面黏附分子的不同分为不同的亚型,不同亚型巨噬细胞的功能状态具有连续性,目前关注较多的是经典激活型(M1型)和替代激活型(M2型)。M1型巨噬细胞激活后释放促炎性细胞因子,促进炎症反应的持续;而M2型巨噬细胞激活后释放抑制炎症的因子,抑制炎症反应<sup>[13-15]</sup>。抗炎性M2型巨噬细胞可以抑制急性MSU晶体诱导的炎症并抑制caspase-1活化和IL-1 $\beta$ 的产生<sup>[15]</sup>。在痛风炎症发展中,巨噬细胞从M1到M2的极化可能有助于急性炎症的自限性,而极化障碍则导致急性炎症慢性化<sup>[16]</sup>。由此可见巨噬细胞极化在痛风急性炎症调节中起关键作用,但目前这一极化调节的具体机制尚不清楚。

本研究从巨噬细胞极化出发,探究了白藜芦醇预防小鼠急性痛风性关节炎的机制。首先通过MSU晶体刺激成功构建小鼠急性痛风性关节炎模型,并且证明白藜芦醇可以有效缓解模型小鼠的炎症反应。为进一步探究其机制,我们分离、提取了小鼠腹腔原代巨噬细胞,分别体外给予MSU晶体和MSU晶体+白藜芦醇干预后,检测了炎症指标TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 的mRNA表达水平,发现白藜芦醇同时降低了这2项指标的表达。蛋白质印迹分析结果显示白藜芦醇干预组巨噬细胞M1极化标志物iNOS的表达水平降低,而流式细胞术结果显示M2极化标志物F4/80<sup>+</sup>CD163<sup>+</sup>细胞比例上升,说明白藜芦醇促进了M2极化的发生。由此我们认为,白藜芦醇可能通过促进M2极化,抑制炎症因子TNF- $\alpha$ 与IL-1 $\beta$ 的产生,从而对小鼠急性痛风性关节炎起到预防作用。

白藜芦醇是Sirt1激活剂,Sirt1是依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD)的第三类组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC),广泛存在于机体成熟组织中<sup>[17]</sup>。Sirt1作为抗炎的明星分子,主要作用机制之一是抑制NF- $\kappa$ B的亚基P65第310位赖氨酸乙酰化,从而抑制NF- $\kappa$ B核移位,起到广泛的抗炎作用<sup>[18]</sup>。已有研究显示,Sirt1具有抗动脉粥样硬化、抗炎和抗衰老的作用<sup>[19-20]</sup>。进一步的研究表明,Sirt1通过调控巨噬细胞从M1向M2极化从而发挥炎症抑制作用<sup>[21]</sup>。巨噬细胞敲除Sirt1后,发生M1极化,从而促进应激相关炎症<sup>[22]</sup>。而Sirt1髓系敲除的小鼠腹腔巨噬细胞M2型标志物精氨酸酶1(arginase 1, Arg1)表达明显下降<sup>[23]</sup>。因此我们认为白藜芦醇可能是通过激活Sirt1促进巨噬细胞M2极化,抑制炎症因子产生,缓解小鼠急性痛风性关节炎。

### 【参考文献】

[1] KUO C F, GRAINGE M J, ZHANG W, DOHERTY M. Global epidemiology of gout: prevalence, incidence and risk factors[J]. Nat Rev Rheumatol, 2015, 11: 649-662.  
[2] SMITH E, HOY D, CROSS M, MERRIMAN T R, VOS T, BUCHBINDER R, et al. The global burden of gout: estimates from the Global Burden of Disease 2010 study[J]. Ann Rheum Dis, 2014, 73: 1470-1476.  
[3] BEVIS M, BLAGOJEVIC-BUCKNALL M, MALLE

- C, HIDER S, RODDY E. Comorbidity clusters in people with gout: an observational cohort study with linked medical record review[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2018, 57: 1358-1363.
- [4] CHOI H K, MOUNT D B, REGINATO A M; American College of Physicians; American Physiological Society. Pathogenesis of gout[J]. *Ann Intern Med*, 2005, 143: 499-516.
- [5] MARTIN W J, GRAINGER R, HARRISON A, HARPER J L. Differences in MSU-induced superoxide responses by neutrophils from gout subjects compared to healthy controls and a role for environmental inflammatory cytokines and hyperuricemia in neutrophil function and survival[J]. *J Rheumatol*, 2010, 37: 1228-1235.
- [6] LIU-BRYAN R, PRITZKER K, FIRESTEIN G S, TERKELTAUB R. TLR2 signaling in chondrocytes drives calcium pyrophosphate dihydrate and monosodium urate crystal-induced nitric oxide generation[J]. *J Immunol*, 2005, 174: 5016-5023.
- [7] LIU Y F, TU S H, CHEN Z, WANG Y, HU Y H, DONG H. Effects of modified simiao decoction on IL-1 $\beta$  and TNF  $\alpha$  secretion in monocytic THP-1 cells with monosodium urate crystals-induced inflammation[J/OL]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014: 406816. doi: 10.1155/2014/406816.
- [8] SHEU S Y, CHEN W S, SUN J S, LIN F H, WU T. Biological characterization of oxidized hyaluronic acid/resveratrol hydrogel for cartilage tissue engineering[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2013, 101: 3457-3466.
- [9] PARK E J, PEZZUTO J M. The pharmacology of resveratrol in animals and humans[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852: 1071-1113.
- [10] YANG Q B, HE Y L, ZHONG X W, XIE W G, ZHOU J G. Resveratrol ameliorates gouty inflammation via upregulation of sirtuin 1 to promote autophagy in gout patients[J]. *Inflammopharmacology*, 2019, 27: 47-56.
- [11] LI H, OU G, HE Y, REN L, YANG X, ZENG M. Resveratrol attenuates the MSU crystal-induced inflammatory response through the inhibition of TAK1 activity[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 67: 62-68.
- [12] SHEN J, FANG J, HAO J, ZHONG X, WANG D, REN H, et al. SIRT1 inhibits the catabolic effect of IL-1 $\beta$  through TLR2/SIRT1/NF- $\kappa$ B pathway in human degenerative nucleus pulposus cells[J]. *Pain Physician*, 2016, 19: E215-E226.
- [13] MARTINEZ F O, GORDON S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment[J/OL]. *F1000Prime Rep*, 2014, 6: 13. doi: 10.12703/P6-13.
- [14] MILLS C D. M1 and M2 macrophages: oracles of health and disease[J]. *Crit Rev Immunol*, 2012, 32: 463-488.
- [15] PELEGRIN P, SURPRENANT A. Dynamics of macrophage polarization reveal new mechanism to inhibit IL-1 $\beta$  release through pyrophosphates[J]. *EMBO J*, 2009, 28: 2114-2127.
- [16] ITALIANI P, BORASCHI D. From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation[J/OL]. *Front Immunol*, 2014, 5: 514. doi: 10.3389/fimmu.2014.00514.
- [17] VAZIRI H, DESSAIN S K, NG EATON E, IMAI S I, FRYE R A, PANDITA T K, et al. *hSIR2<sup>SIRT1</sup>* functions as an NAD-dependent p53 deacetylase[J]. *Cell*, 2001, 107: 149-159.
- [18] GAO J, ZHOU R, YOU X, LUO F, HE H, CHANG X, et al. Salidroside suppresses inflammation in a D-galactose-induced rat model of Alzheimer's disease via SIRT1/NF- $\kappa$ B pathway[J]. *Metab Brain Dis*, 2016, 31: 771-778.
- [19] GORENNE I, KUMAR S, GRAY K, FIGG N, YU H, MERCER J, et al. Vascular smooth muscle cell sirtuin 1 protects against DNA damage and inhibits atherosclerosis[J]. *Circulation*, 2013, 127: 386-396.
- [20] HUBBARD B P, SINCLAIR D A. Small molecule SIRT1 activators for the treatment of aging and age-related diseases[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2014, 35: 146-154.
- [21] ZHANG Z, XU J, LIU Y, WANG T, PEI J, CHENG L, et al. Mouse macrophage specific knockout of SIRT1 influences macrophage polarization and promotes angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm formation[J]. *J Genet Genomics*, 2018, 45: 25-32.
- [22] PARK S Y, LEE S W, LEE S Y, HONG K W, BAE S S, KIM K, et al. SIRT1/adenosine monophosphate-activated protein kinase  $\alpha$  signaling enhances macrophage polarization to an anti-inflammatory phenotype in rheumatoid arthritis[J/OL]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1135. doi: 10.3389/fimmu.2017.01135.
- [23] HAH Y S, CHEON Y H, LIM H S, CHO H Y, PARK B H, KA S O, et al. Myeloid deletion of SIRT1 aggravates serum transfer arthritis in mice via nuclear factor- $\kappa$ B activation[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9: e87733. doi: 10.1371/journal.pone.0087733.