

DOI:10.3724/SP.J.1008.2015.00722

人参皂苷代谢产物 Compound K 抑制 TNF- α 诱导的人支气管上皮细胞分泌 RANTES

李群益^{1,2 Δ} , 陈莉^{3 Δ} , 张留弟^{1,2}, 王轶^{1,2}, 钟明康^{1,2}, 施孝金^{1,2*}

1. 复旦大学附属华山医院临床药理学室, 上海 200040
2. 复旦大学附属华山医院北院临床药理学室, 上海 201907
3. 徐汇区中心医院药械科, 上海 200031

[摘要] **目的** 探讨人参皂苷代谢产物 Compound K(CK)对炎症因子 TNF- α 诱导的人支气管上皮细胞 BEAS-2B 分泌调节活化正常 T 细胞表达和分泌趋化因子 (RANTES) 的影响及其机制。**方法** ELISA 法测定 CK 对 BEAS-2B 细胞上清液中 RANTES 含量的影响;采用 RT-PCR 和蛋白质免疫印迹技术检测 RANTES mRNA 及蛋白的表达情况;采用荧光素酶报告基因系统检测 CK 对活化蛋白转录因子 1(activator protein 1, AP-1)和糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)转录抑制或转录激活的影响;运用 GR 拮抗剂米非司酮,验证 CK 对 RANTES 的抑制效应是否由 GR 介导。**结果** 3~30 $\mu\text{mol/L}$ 的 CK 抑制了 TNF- α 诱导的 RANTES 分泌、mRNA 及蛋白水平;CK 抑制 AP-1 的转录激活,在 BEAS-2B 细胞中激活 GR 信号通路;并且,CK 通过 GR 抑制了 BEAS-2B 细胞分泌 RANTES。**结论** CK 能够抑制炎症因子 TNF- α 诱导的支气管上皮细胞分泌 RANTES,其机制可能与激活 GR、抑制 AP-1 对下游靶基因的调控有关。

[关键词] 糖皮质激素受体;人参皂苷类;Compound K;炎症;趋化因子 CCL5;细胞因子类;哮喘

[中图分类号] R 562.25 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2015)07-0722-05

Ginsenoside metabolite Compound K inhibits TNF- α -induced RANTES secretion in human bronchial epithelial cell line

LI Qun-yi^{1,2 Δ} , CHEN Li^{3 Δ} , ZHANG Liu-di^{1,2}, WANG Yi^{1,2}, ZHONG Ming-kang^{1,2}, SHI Xiao-jin^{1,2*}

1. Clinical Pharmacy Laboratory, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China
2. Clinical Pharmacy Laboratory, Huashan Hospital (North branch), Fudan University, Shanghai 201907, China
3. Department of Pharmacy and Instrument, Central Hospital of Xuhui District, Shanghai 200031, China

[Abstract] **Objective** To explore the effects of ginsenoside metabolite Compound K (CK) on TNF- α -induced RANTES secretion in human bronchial epithelial cell line BEAS-2B and to elucidate its possible mechanism. **Methods** BEAS-2B cells were cultured and treated with CK in different dosages, and then the secretion of RANTES in BEAS-2B cells exposed to inflammatory stimuli was measured by ELISA kits. Expressions of RANTES mRNA and protein were detected by RT-PCR and Western blotting analysis, respectively. Reporter gene assay was employed to elucidate the interaction between CK and activator protein 1(AP-1), glucocorticoid receptor (GR). CK antagonist mifepristone was used to observe whether the inhibitory effect of CK against RANTES was mediated by GR. **Results** TNF- α -induced secretion of RANTES in BEAS-2B was markedly inhibited by CK (3-30 $\mu\text{mol/L}$). Treatment with CK also reduced RANTES mRNA and protein expression. Reporter gene assays indicated that CK was a GR agonist and could repress TNF- α -induced AP-1 transactivation. The inhibitory effects of CK on RANTES secretion were antagonized by mifepristone, suggesting a pivotal role of GR. **Conclusion** These results suggest that CK may inhibit TNF- α -induced RANTES secretion in human bronchial epithelial cells, which might be associated with GR pathway activation and AP-1 pathway inhibition.

[Key words] glucocorticoid receptors; ginsenosides; Compound K; inflammation; chemokine CCL5; cytokine; asthma

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2015, 36(7): 722-726]

[收稿日期] 2014-12-03 **[接受日期]** 2015-03-23

[基金项目] 国家自然科学基金(81302853),教育部博士点基金(20110071120071). Supported by National Natural Science Foundation of China (81302853) and Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education of China (20110071120071).

[作者简介] 李群益,博士,副主任药师. E-mail: qyli1234@163.com; 陈莉,博士,主管药师. E-mail: mychenli@hotmail.com

Δ 共同第一作者(Co-first authors).

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-66895004, E-mail: xiaojin_shi@hotmail.com

哮喘是以气道炎性细胞浸润、气道高反应性及气道重塑为主要特征的一种慢性炎症性疾病^[1]。嗜酸粒细胞和 T 淋巴细胞在气道黏膜的浸润是哮喘最重要的组织病理学特征。调节活化正常 T 细胞表达和分泌的趋化因子 (regulated upon activation normal T cell expressed and secreted factor, RANTES) 是趋化性细胞因子 CC 亚家族成员 (CCL5)^[2]。在炎症因子 IL-1 β 或 TNF- α 的刺激下,气道组织可释放 RANTES,对嗜酸性粒细胞和 T 淋巴细胞具有正向趋化作用,因而 RANTES 在哮喘中的作用引起了越来越多的关注^[3]。近来研究表明,RANTES 基因多态性是临床哮喘发生的危险因子之一^[4]。

目前临床上治疗哮喘的药物主要包括 β_2 受体激动剂和糖皮质激素。 β_2 受体激动剂容易引发心血管不良反应,长期应用糖皮质激素可导致糖尿病、继发感染及骨质疏松等^[5]。临床上迫切需要疗效确定、不良反应小的抗哮喘药物。人参 (*Panax ginseng* C. A. Meyer) 是五加科多年生草本植物,最近的研究证实,人参与其提取物能有效改善哮喘实验动物模型的症状,抑制炎症反应^[6-10]。人参皂苷作为人参主要的药效成分,是其治疗哮喘的活性物质基础^[9-10]。其中,人参皂苷 Compound K (CK) 对炎症及免疫应答的调控作用成为研究热点^[11]。CK 属二醇型皂苷,它在天然的人参中几乎并不存在,主要来自其他二醇型人参皂苷在人肠道内的代谢产物^[11]。Yang 等^[12-13] 运用糖皮质激素受体 (GR)-配体竞争性结合实验以及 GR 转录激活实验发现,CK 具有较强的 GR 结合活性和转录激活活性,可调节多种炎症因子的表达。因此,我们推测 CK 可能是人参治疗哮喘的主要活性成分之一。

本研究着重考察 CK 对炎症因子诱导人支气管上皮细胞 BEAS-2B 表达和分泌 RANTES 的影响,然后检测其对活化蛋白转录因子 1 (AP-1) 和 GR 信号通路的影响,最后验证 CK 是否通过 GR 发挥其抑制 RANTES 分泌的效应,为后续研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料 人支气管上皮细胞株 BEAS-2B 购自 ATCC。人参皂苷 CK (纯度 > 97%) 购自上海同田生物技术股份有限公司; DMEM、F12 及胎牛血清 (FBS) 购自 Gibco 公司; Lipofectamine 2000、TNF- α 及 TRIzol 试剂购自 Invitrogen 公司; Human RANTES ELISA Kit 购自 R&D Systems 公司; pAP-1-Luc 质粒及 pGRE-Luc 质粒来自 Stratagene 公司;

RANTES 抗体及 β -actin 抗体购自 Santa Cruz 公司; CCK-8 试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; 地塞米松 (Dex)、米非司酮及二甲亚砜 (DMSO) 购自 Sigma-Aldrich 公司; Oligo (dT) Primer、M-MLV 反转录酶、dNTP 及 Steady-Glo[®] Luciferase Assay system 购自 Promega 公司; 引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。

1.2 人支气管细胞 BEAS-2B 的培养 将 BEAS-2B 细胞种于含有 5% FBS、 10^5 IU/L 青霉素、 10^5 IU/L 链霉素的 DMEM/F12 培养液中,于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的培养箱中培养。BEAS-2B 细胞生长到 80%~90% 融合后,培养液换成不含 FBS 的 DMEM/F12,饥饿 24 h。加入 TNF- α (终浓度 25 ng/mL) 1 h,向细胞中添加 Dex、CK 和 (或) 米非司酮,继续培养 24 h。

1.3 RANTES 酶联免疫检测 收集 BEAS-2B 细胞上清液,按照 RANTES ELISA Kit 说明书进行测定。最后反应体系中加入终止液 (H₂SO₄ 3.6 mol/L),生成的产物用 9602 酶标仪 (北京普朗仪器) 在 450 nm 及 490 nm 分别读取光密度 (D) 值,根据标准曲线计算培养液中 RANTES 的含量 (pg/mL)。

1.4 BEAS-2B 细胞增殖测试 取 BEAS-2B 以细胞密度 5×10^3 / 孔接种至 96 孔板中,5% FBS 培养贴壁后换成含 0.1% FBS 的 DMEM/F12 培养液 (每孔 100 μ L) 培养 24 h; 弃去原培养液,换为 100 μ L 含不同浓度 CK 的 5% FBS DMEM/F12 培养液干预 24 h 后,每孔加入 CCK-8 试剂 10 μ L,置于 37 $^{\circ}$ C 培养箱中孵育 2 h; 以酶标检测仪在单波长 450 nm 处检测 D₄₅₀ 值。

1.5 RNA 抽提、反转录及 PCR 反应 BEAS-2B 细胞处理同 1.2 项下步骤,使用 TRIzol 试剂抽提细胞内的总 RNA,在 260 nm 波长下用 B-600 紫外分光光度计测定其 RNA 含量,按照 M-MLV 反转录酶说明书进行反转录反应,以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。以 β -actin 为对照,PCR 引物序列参考文献^[14],RANTES: 5'-CGC TGT CAT CCT CAT TGC TA-3' (forward), 5'-CAC ACA CTT GGC GGT TCT T-3' (reverse); β -actin: 5'-GAC TAC CTC ATG AAG ATC-3' (forward), 5'-GAT CCA CAT CTG CTG GAA-3' (reverse)。取 10 μ L PCR 扩增产物,进行 1.2% 琼脂糖凝胶电泳分析,紫外线透射下拍照。

1.6 蛋白免疫印迹 用预冷 PBS 洗涤 BEAS-2B 细胞,细胞刮刀收集细胞,加入总蛋白抽提液,置冰

上使其完全裂解。将细胞裂解液转入 1.5 mL EP 管中,在 4℃ 10 000×g 条件下离心 20 min,吸取上清,煮沸 5 min 后冻存于 -80℃ 备用。在 280 nm 波长处用 B-600 紫外分光光度计测定标准和样本蛋白的 *D* 值,根据标准曲线计算相应的各样品蛋白浓度。采用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶进行蛋白质电泳,依次进行半干法转膜,5% 脱脂奶粉封闭,与各自的一抗和二抗孵育,最后使用显影定影试剂盒(碧云天)进行显影定影。

1.7 荧光素酶报告基因的测定 接种 BEAS-2B 细胞于 6 cm 细胞培养皿,6×10⁵/皿,培养液为含 5% 活性炭/葡萄糖处理的 FBS (CDT-FBS) 的 DMEM/F12。37℃,5% CO₂ 继续培养 24 h。用 Lipofectamine 2000 将 pAP-1-Luc 质粒或 pGRE-Luc 质粒(2 μg/皿)转染入 BEAS-2B。转染 8 h 后,细胞消化计数后以每孔 8 000 个细胞均匀接种至 96 孔培养板。加入用 DMSO 配制的化合物进行孵育(DMSO% < 0.5%),培养 24 h 后,用 Steady-Glo[®] Luciferase Assay system 测定细胞中的荧光素酶活性。

1.8 统计学处理 实验数据应用 GraphPad Prism 5.0 软件进行曲线拟合与统计学分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较用 One-way ANOVA,两组比较则采用双侧 *t* 检验,检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 人参皂苷 CK 对 TNF- α 诱导的 BEAS-2B 细胞分泌 RANTES 的影响 25 ng/mL 的 TNF- α 诱导 BEAS-2B 细胞分泌 RANTES,从基础状态的 (245.2 ± 21.7) pg/mL 上升至 (1 449.5 ± 56.3) pg/mL,增加了 491.1%。经典糖皮质激素 Dex 在 0.1 μmol/L 浓度时抑制了 RANTES 的分泌,抑制率达到 94.5% ($P < 0.001$),与文献^[14-15]报道近似。CK 剂量依赖性地抑制 RANTES 的分泌,3 μmol/L 时 CK 对 RANTES 的抑制率达 36.1% ($P < 0.01$); 10 μmol/L 时 CK 对 RANTES 的抑制率达 40.3% ($P < 0.01$); 30 μmol/L 时 CK 对 RANTES 的抑制率达 86.0% ($P < 0.001$)。CCK-8 实验显示,在高浓度(30 μmol/L)时 CK 对 BEAS-2B 细胞具有一定的增殖抑制效应,抑制率为 21.2% ($P < 0.05$);而在 10 μmol/L 及以下浓度时 CK 对 BEAS-2B 细胞没有增殖抑制效应。这些结果表明,CK 对 BEAS-2B 中 RANTES 分泌抑制并不是由细胞增殖抑制引起的。

10,30 μmol/L 人参皂苷 CK 对 BEAS-2B 细胞中 RANTES 分泌有较显著的抑制作用。因此,在后续的

实验中人参皂苷 CK 的剂量为 10,30 μmol/L。

2.2 人参皂苷 CK 对 TNF- α 诱导的 BEAS-2B 细胞 RANTES 的 mRNA 及蛋白表达的影响 RT-PCR 结果显示,10,30 μmol/L 人参皂苷 CK 组 RANTES mRNA 表达量低于 TNF- α 组(图 1A)。蛋白质印迹实验也显示,10,30 μmol/L 人参皂苷 CK 抑制 BEAS-2B 细胞内 RANTES 蛋白水平(图 1B)。这些结果表明,人参皂苷 CK 对 RANTES mRNA 转录水平有抑制效应,进而导致细胞内 RANTES 蛋白翻译下降。

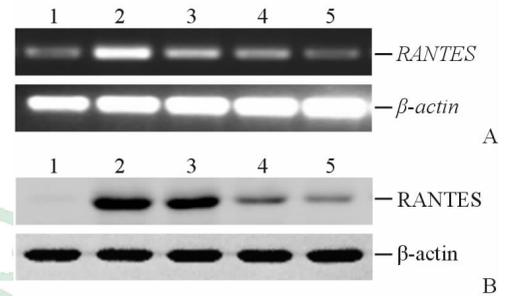


图 1 人参皂苷 CK 对 TNF- α 诱导的 BEAS-2B 细胞 RANTES 的 mRNA 及蛋白表达的影响

Fig 1 Effects of ginsenoside Compound K on RANTES mRNA and protein expression in TNF- α -treated BEAS-2B cells

CK; Compound K; Dex; Dexamethasone. BEAS-2B cells were treated with CK or Dex for 24 h after TNF- α (25 ng/mL) stimulation for 1 h. The mRNA (A) and protein (B) levels of RANTES were detected by RT-PCR and Western blotting analysis, respectively. 1: Control; 2: TNF- α (25 ng/mL) induction; 3: TNF- α plus 10 μmol/L CK; 4: TNF- α plus 30 μmol/L CK; 5: TNF- α plus 0.1 μmol/L Dex

2.3 人参皂苷 CK 对 AP-1 信号通路的影响 应用基因瞬时转染技术,将 pAP-1-Luc 导入 BEAS-2B 细胞,结果发现 10 μmol/L 和 30 μmol/L 人参皂苷 CK 对 AP-1 的活化有抑制效应,10 μmol/L 时抑制率为 30.0% ($P < 0.05$),30 μmol/L 时抑制率达到了 50.4% ($P < 0.001$),推测 CK 可能通过抑制 AP-1 进而下调 RANTES 表达。

2.4 人参皂苷 CK 对 GR 转录激活的影响 结果表明,10 μmol/L 和 30 μmol/L 人参皂苷 CK 可以诱导 BEAS-2B 细胞内 GR 的活化,尽管其 GR 激活效应低于 Dex,CK 在 10 μmol/L 时激活效应上升了 472.5% ($P < 0.05$),在 30 μmol/L 时激活效应上升了 705% ($P < 0.01$)。

2.5 GR 在人参皂苷 CK 抑制 BEAS-2B 细胞分泌 RANTES 中的作用 结果(图 2)表明,在没有米非司酮存在的情况下,CK 有效地抑制 RANTES 的分泌 ($P < 0.01$);在米非司酮存在的情况下,CK 对

RANTES 的分泌抑制被翻转,表明人参皂苷 CK 通过激活 GR 抑制了 BEAS-2B 细胞中 RANTES 的分泌。

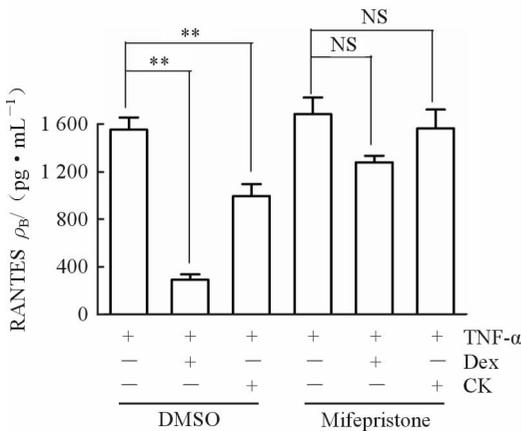


图2 GR 在人参皂苷 CK 抑制 BEAS-2B 细胞分泌 RANTES 中的作用

Fig 2 Role of GR in ginsenoside Compound K (CK)

inhibiting RANTES secretion in TNF- α -treated BEAS-2B cells

The concentration of RANTES in BEAS-2B supernatant was determined by ELISA method. TNF- α (25 ng/mL); Dex (0.1 μ mol/L); CK (10 μ mol/L); Mifepristone (1 μ mol/L). ** $P < 0.01$ vs TNF- α induction. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$

3 讨论

哮喘患者的气道经常出现上皮损伤的现象^[16]。嗜酸性粒细胞是哮喘气道炎症反应中的主要效应细胞。在变态反应性炎症部位,募集的嗜酸性粒细胞及其他效应细胞释放多种炎症因子、毒性蛋白及脂质介质,导致气道局部的组织结构发生病变和损伤^[16]。

研究表明,在以嗜酸性粒细胞富集为特征的炎症性疾病中,支气管上皮细胞可分泌 RANTES^[15]。RANTES 对多种变态反应性炎症细胞如 CD45RO⁺ 记忆 T 淋巴细胞、嗜酸性粒细胞及肥大细胞均具有强力及选择性的趋化效应,能募集嗜酸性粒细胞等迁移至气道管腔黏膜部位,扩大炎症反应。并且, RANTES 通过诱导炎症部位募集嗜酸性粒细胞等来激活 2 型辅助性 T 淋巴细胞^[17]。荟萃分析表明, RANTES 基因多态性与哮喘发作有密切的关联^[4]。因此,抑制 RANTES 的表达、阻断嗜酸粒细胞的生成及活化可能成为治疗哮喘的一种途径。

人参皂苷 CK 作为多种原人参二醇型皂苷 (Rb1, Rb2, Rc) 的体内代谢产物,是体内吸收和发挥药效的真正实体分子^[18]。CK 在多种体内和体外实验模型中表现出良好的抗炎活性^[19-20],我们推测 CK 或许是人参及其提取物治疗哮喘的活性成分之一。

本实验结果显示,在支气管上皮细胞中,CK 剂量依赖性地抑制 TNF- α 诱导的 RANTES 分泌。并且, RANTES mRNA 转录被 CK 有效抑制,表明 CK 至少部分在转录水平上调节 RANTES 的表达。

研究表明, RANTES 基因 5' 侧翼区存在一系列转录调节因子的潜在结合位点,如 AP-1 等^[21-22]。作为一类重要的转录调节因子,AP-1 在炎症反应中介导多种细胞因子的表达。AP-1 由 2 个分别属于 Jun 家族和 Fos 家族的蛋白通过亮氨酸拉链形成同源或异源二聚体。炎症细胞因子(如 TNF- α)通过 JNK 磷酸化 c-Jun,促使 Jun 家族和 Fos 家族形成活性二聚体。活化的 AP-1 与靶基因启动子区域的 AP-1 应答元件结合,激活目标基因的转录^[23]。我们的结果提示,CK 可抑制 AP-1 对其应答元件的结合,进而抑制下游靶基因 RANTES 的转录。

GR 通过与 AP-1 的 c-Jun 亚单位之间以直接的蛋白-蛋白相互作用方式,阻止 AP-1 与其应答元件的结合,从而阻断 AP-1 的信号转导^[23]。GRE 驱动的荧光素酶报告基因结果表明,在支气管上皮细胞中,CK 展现出 GR 激动剂的特质,在 10 μ mol/L 和 30 μ mol/L 浓度时,GR 转录激活活性分别提高了 4.7 倍和 7.1 倍。我们推断,人参皂苷 CK 结合并激活 BEAS-2B 细胞内 GR,活化的 GR 以蛋白-蛋白的相互作用方式抑制 AP-1 的活性,效应之一是抑制了 BEAS-2B 细胞分泌 RANTES。于是,我们应用 GR 拮抗剂米非司酮检验这一假设。本实验运用 GR 强效类固醇类拮抗剂米非司酮,揭示 CK 对 BEAS-2B 细胞中 RANTES 的分泌抑制是由 GR 介导的。这可能是人参及其提取物抑制哮喘、改善炎症的机制之一。当然,CK 对哮喘病理进程中重要的其他炎症致病因子,如 eotaxin、粒-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 等的效应,将是下一步研究的目标。

[参考文献]

- [1] Royce S G, Li X, Tortorella S, Goodings L, Chow B S, Giraud A S, et al. Mechanistic insights into the contribution of epithelial damage to airway remodeling. Novel therapeutic targets for asthma[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2014, 50: 180-192.
- [2] Hu J Y, Zhang J, Cui J L, Liang X Y, Lu R, Du G F, et al. Increasing CCL5/CCR5 on CD4⁺ T cells in peripheral blood of oral lichen planus[J]. Cytokine, 2013, 62: 141-145.
- [3] Marques R E, Guabiraba R, Russo R C, Teixeira M M.

- Targeting CCL5 in inflammation[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2013, 17:1439-1460.
- [4] Wen D, Du X, Nie S P, Dong J Z, Ma C S. Association between RANTES gene polymorphisms and asthma: a meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2014, 9:e90460.
- [5] Barnes C B, Ulrik C S. Asthma and adherence to inhaled corticosteroids: current status and future perspectives[J]. *Respir Care*, 2014, 60:455-468.
- [6] Babayigit A, Olmez D, Karaman O, Bagriyanik H A, Yilmaz O, Kivcak B, et al. Ginseng ameliorates chronic histopathologic changes in a murine model of asthma [J]. *Allergy Asthma Proc*, 2008, 29:493-498.
- [7] Lim Y J, Na H S, Yun Y S, Choi I S, Oh J S, Rhee J H, et al. Suppressive effects of ginsan on the development of allergic reaction in murine asthmatic model[J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2009, 150:32-42.
- [8] Ebeling C, Wu Y, Skappak C, Gordon J R, Ilarraza R, Adamko D J. Compound CVT-E002 attenuates allergen-induced airway inflammation and airway hyperresponsiveness, *in vivo*[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2011, 55:1905-1908.
- [9] Kim D Y, Yang W M. Panax ginseng ameliorates airway inflammation in an ovalbumin-sensitized mouse allergic asthma model[J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 136:230-235.
- [10] Jung I D, Kim H Y, Park J W, Lee C M, Noh K T, Kang H K, et al. RG-Ⅱ from *Panax ginseng* C. A. Meyer suppresses asthmatic reaction[J]. *BMB Rep*, 2012, 45:79-84.
- [11] Li J, Zhong W, Wang W, Hu S, Yuan J, Zhang B, et al. Ginsenoside metabolite compound K promotes recovery of dextran sulfate sodium-induced colitis and inhibits inflammatory responses by suppressing NF-kappaB activation[J]. *PLoS One*, 2014, 9:e87810.
- [12] Yang C S, Ko S R, Cho B G, Shin D M, Yuk J M, Li S, et al. The ginsenoside metabolite compound K, a novel agonist of glucocorticoid receptor, induces tolerance to endotoxin-induced lethal shock[J]. *J Cell Mol Med*, 2008, 12(5A):1739-1753.
- [13] Cuong T T, Yang C S, Yuk J M, Lee H M, Ko S R, Cho B G, et al. Glucocorticoid receptor agonist compound K regulates Dectin-1-dependent inflammatory signaling through inhibition of reactive oxygen species[J]. *Life Sci*, 2009, 85:625-633.
- [14] Momoi A, Murao K, Imachi H, Sayo Y, Nakamura H, Hosokawa H, et al. Thiazolidinedione inhibits production of RANTES in a cytokine-treated human lung epithelial cell line[J]. *FEBS Lett*, 1999, 452:301-304.
- [15] Stellato C, Beck L A, Gorgone G A, Proud D, Schall T J, Ono S J, et al. Expression of the chemokine RANTES by a human bronchial epithelial cell line. Modulation by cytokines and glucocorticoids [J]. *J Immunol*, 1995, 155:410-418.
- [16] Roisman G L, Peiffer C, Lacroque J G, Le Cae A, Dusser D J. Perception of bronchial obstruction in asthmatic patients. Relationship with bronchial eosinophilic inflammation and epithelial damage and effect of corticosteroid treatment[J]. *J Clin Invest*, 1995, 96:12-21.
- [17] Lambrecht B N, Hammad H. Asthma: the importance of dysregulated barrier immunity[J]. *Eur J Immunol*, 2013, 43:3125-3137.
- [18] Lee J, Lee E, Kim D, Lee J, Yoo J, Koh B. Studies on absorption, distribution and metabolism of ginseng in humans after oral administration[J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 122:143-148.
- [19] Park E K, Shin Y W, Lee H U, Kim S S, Lee Y C, Lee B Y, et al. Inhibitory effect of ginsenoside Rb1 and compound K on NO and prostaglandin E2 biosyntheses of RAW264.7 cells induced by lipopolysaccharide[J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28:652-656.
- [20] Liu K K, Wang Q T, Yang S M, Chen J Y, Wu H X, Wei W. Ginsenoside compound K suppresses the abnormal activation of T lymphocytes in mice with collagen-induced arthritis[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2014, 35:599-612.
- [21] Yeligar S M, Machida K, Tsukamoto H, Kalra V K. Ethanol augments RANTES/CCL5 expression in rat liver sinusoidal endothelial cells and human endothelial cells via activation of NF-kappa B, HIF-1 alpha, and AP-1[J]. *J Immunol*, 2009, 183:5964-5976.
- [22] Tavakkoly-Bazzaz J, Amiri P, Tajmir-Riahi M, Javidi D, Khojasteh-Fard M, Taheri Z, et al. RANTES gene mRNA expression and its -403 G/A promoter polymorphism in coronary artery disease[J]. *Gene*, 2011, 487:103-106.
- [23] Ratman D, Vanden Berghe W, Dejager L, Libert C, Tavernier J, Beck I M, et al. How glucocorticoid receptors modulate the activity of other transcription factors: a scope beyond tethering[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2013, 380:41-54.