

## • 实验研究 •

## 毛蕊异黄酮抑制成纤维样滑膜细胞迁移侵袭的机制研究

颜清华<sup>1</sup> 齐浩宏<sup>1</sup> 汤照明<sup>1△</sup>

**[摘要]** 目的:探讨毛蕊异黄酮调节 TLR9/MyD88 信号通路对人类风湿关节炎(RA)成纤维样滑膜细胞(FLS细胞)迁移和侵袭的影响。方法:将类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞分为对照组(正常培养细胞)、低剂量毛蕊异黄酮组(5  $\mu\text{mol/L}$ )、中剂量毛蕊异黄酮组(10  $\mu\text{mol/L}$ )、高剂量毛蕊异黄酮组(20  $\mu\text{mol/L}$ )和 CpG 1826(1  $\mu\text{g/mL}$ ) + 高剂量毛蕊异黄酮(20  $\mu\text{mol/L}$ )组。类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞活性、凋亡、迁移、侵袭及 MMP-2、MMP-9、TLR9、MyD88 蛋白表达的检测分别用 CCK-8 法、流式细胞术、划痕实验、Transwell 法及 Western Blot 法进行。结果:与对照组比较,低/中/高剂量毛蕊异黄酮组细胞光密度(OD)值、划痕愈合率、侵袭细胞数及 MMP-2、MMP-9、TLR9、MyD88 蛋白水平显著降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),细胞凋亡率升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与高剂量毛蕊异黄酮组比较,CpG 1826 + 高剂量毛蕊异黄酮组升高细胞 OD 值、划痕愈合率、侵袭细胞数及 MMP-2、MMP-9、TLR9、MyD88 蛋白水平,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),降低细胞凋亡率,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论:毛蕊异黄酮可能通过抑制 TLR9/MyD88 信号通路,进而抑制类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞的迁移和侵袭。

**[关键词]** 毛蕊异黄酮;成纤维样滑膜细胞;信号通路;迁移;侵袭

**[中图分类号]** R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2025)04-0016-05

**DOI:** 10.20085/j.cnki.issn1005-0205.250404

## Research on the Mechanism of Calycosin Inhibiting the Migration and Invasion of Fibroblast-Like Synoviocytes

YAN Qinghua<sup>1</sup> QI Haohong<sup>1</sup> TANG Zhaoming<sup>1△</sup>

<sup>1</sup> Zhuzhou Traditional Chinese Medicine Orthopedics Hospital, Zhuzhou 412000, Hunan China.

**Abstract Objective:** To investigate the impacts of Calycosin on the migration and invasion of human rheumatoid fibroblast-like synoviocytes (RA-FLS cells) by regulating the TLR9/MyD88 signaling pathway. **Methods:** RA-FLS cells were assigned into control group (normal cultured cells), low-dose Calycosin group (5  $\mu\text{mol/L}$ ), medium-dose Calycosin group (10  $\mu\text{mol/L}$ ), high-dose Calycosin group (20  $\mu\text{mol/L}$ ), and CpG 1826 (1  $\mu\text{g/mL}$ ) + high-dose Calycosin group (20  $\mu\text{mol/L}$ ). The activity, apoptosis, migration, invasion of RA-FLS cells, and the expression of MMP-2, MMP-9, TLR9, and MyD88 proteins were detected using CCK-8 assay, flow cytometry, scratch assay, Transwell assay, and Western Blot, respectively. **Results:** Compared with the control group, the OD value, scratch healing rate, number of invasive cells, the protein levels of MMP-2, MMP-9, TLR9, and MyD88 were greatly reduced ( $P < 0.05$ ), and the apoptosis rate was increased ( $P < 0.05$ ) in the low-dose Calycosin group, medium-dose Calycosin group, and high-dose Calycosin group. Compared with the high-dose Calycosin group, the OD value, scratch healing rate, number of invasive cells, the protein levels of MMP-2, MMP-9, TLR9, and MyD88 were greatly increased ( $P < 0.05$ ), and the apoptosis rate was reduced ( $P < 0.05$ ) in CpG 1826 + high-dose calycosin group. **Conclusion:** Calycosin can inhibit the migration and invasion of RA-FLS cells, and its mechanism may be related to the TLR9/MyD88 signaling pathway.

**Keywords:** calycosin; fibroblast-like synoviocytes; signaling pathway; migration; invasion

基金项目:湖南省中医药科研计划项目(D2022126)

<sup>1</sup> 株洲市中医伤科医院(湖南 株洲, 412000)

<sup>△</sup>通信作者 E-mail: 171895916@qq.com

类风湿关节炎(Rheumatoid Arthritis, RA)是常见慢性自身免疫性疾病,会破坏骨骼关节及软骨等,使

患者关节肿胀,严重者可造成患者死亡<sup>[1-2]</sup>。类风湿关节炎会造成成纤维样滑膜细胞(Fibroblast-Like Synoviocytes, FLS)增生<sup>[3]</sup>。在全球范围内,类风湿关节炎患病人数占比达到 0.5%~1.0%,中国类风湿关节炎患病率为 0.42%,严重威胁人们健康<sup>[4]</sup>。李金益等<sup>[5]</sup>研究发现,类风湿关节炎患者出现关节处滑膜增生及侵袭的主要原因为成纤维样滑膜细胞的异常迁移及侵袭。因此,抑制成纤维样滑膜细胞的迁移和侵袭对改善类风湿关节炎患者症状至关重要。毛蕊异黄酮是从黄芪干燥根中提取的具有抗炎、抗氧化及抗肿瘤等不同药理活性的黄酮类化合物<sup>[6-7]</sup>,研究发现毛蕊异黄酮对骨关节炎关节软骨损伤具有预防作用<sup>[8]</sup>。Toll 样受体 9(Toll-Like Receptor 9, TLR9)属于 Toll 样受体家族成员之一,而髓样分化因子 88(Myeloid Differentiation Factor 88, MyD88)是 TLR9 的一种接头蛋白,MyD88 与 TLR9 相互作用<sup>[9]</sup>。Xu 等<sup>[10]</sup>研究发现,激活 TLR9/MyD88 通路会促进类风湿关节炎的成纤维样滑膜细胞炎症反应加重。但毛蕊异黄酮对类风湿关节炎的影响机制未见报道,因此本研究探讨毛蕊异黄酮调节 TLR9/MyD88 通路对成纤维样滑膜细胞迁移和侵袭的影响,现报告如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞(RA-FLS, 货号为 IM-H439, 厦门逸漠); DMEM 培养基(货号为 PM150210B, 普诺赛); 毛蕊异黄酮(货号为 20575-57-9, MedChemExpress); CCK-8 试剂盒(货号为 BY-Q50356, 艾美捷); TLR9 激动剂(CpG 1826, 货号为 HY-146245, MedChemExpress); AnnexinV-FITC/PI 试剂盒(货号为 P-CA-201, 普诺赛); BCA 试剂盒(货号为 D2154-01, 深圳子科); 基质金属蛋白酶(Matrix Metalloproteinase, MMP)-2、MMP-9、TLR9、MyD88、GAPDH 抗体及山羊抗兔二抗(Abcam, 货号为 ab181286, ab137867, ab211012, ab219413, ab181602, ab205718); 酶标仪(型号为 Multiskan SkyHigh, 赛默飞); CO<sub>2</sub> 细胞培养箱(型号为 CellXpert C170i, Eppendorf); 光学显微镜(型号为 EVOS M5000, 赛默飞); 流式细胞仪(型号为 NL-CLC, Cytex Biosciences); 凝胶成像仪(型号为 iBright™ CL750, 赛默飞)等。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养与分组** 将类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞置于 DMEM 培养基(10% 胎牛血清)培养(37℃, 5% CO<sub>2</sub>)。其中对照组正常培养细胞; 低/中/高剂量毛蕊异黄酮组分别加入不同浓度(5, 10, 20 μmol/L)<sup>[11]</sup>的毛蕊异黄酮处理培养基; TLR9 激动剂(CpG 1826)+高剂量毛蕊异黄酮组分别加入

1 μg/mL<sup>[12]</sup> CpG 1826 和 20 μmol/L 毛蕊异黄酮共同处理培养基, 24 h 后进行后续实验。

**1.2.2 CCK-8 试剂盒检测细胞活性** 将对数生长期的细胞接种于 96 孔板中, 细胞密度为 5×10<sup>3</sup> 个/孔, 进行处理让其贴壁培养, 48 h 后在每个孔中加入 CCK-8 试剂 10 μL, 接着培养 4 h, 用酶标仪检测 450 nm 光密度(OD<sub>450 nm</sub>)。

**1.2.3 流式细胞术检测细胞凋亡** 用胰蛋白酶对收集的每组细胞进行消化、离心(3 000 r/min, 6 min), 在沉淀中加入结合缓冲液重悬细胞, 各加入 5 μL AnnexinV-FITC 和 PI 孵育 10 min。用流式细胞仪测定细胞的凋亡率。

**1.2.4 划痕实验检测细胞迁移** 各组类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞以 2×10<sup>5</sup> 个/孔接种于 6 孔板, 24 h 后滑动 6 孔板拍照, 之后继续培养 24 h, 置于光学显微镜下观察细胞的迁移情况, 计算划痕愈合率。

**1.2.5 Transwell 法检测细胞侵袭** 收集细胞并重悬, 重悬后的细胞浓度为 4×10<sup>4</sup> 个/mL, 取 100 μL 加入含有 Matrigel 的 Transwell 上室, 并取 600 μL 含血清的 DMEM 培养基加入 Transwell 下室, 置于细胞培养箱培养, 多聚甲醛固定 20 min, 0.2% 结晶紫染色 30 min。用显微镜随机观察统计 5 个视野的细胞数量。

**1.2.6 Western Blot 法检测 TLR9/MyD88 通路相关蛋白检测** 收集每组类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞置于 RIPA 裂解物中分离总蛋白, 用 BCA 定量检测浓度。在 10% SDS-PAGE 孔槽中加入蛋白, 电泳、转膜、封闭。随后用 MMP-2、MMP-9、TLR9、MyD88 一抗和内参 GAPDH 4℃下培养 24 h, 与二抗 37℃下孵育 2 h。用 Image Lab™ 定量检测蛋白条带。

### 1.3 统计学方法

用 SPSS 25.0 分析数据。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  形式表示, 单因素方差分析用于多组比较, SNK-*q* 检验用于两两比较。

## 2 结果

### 2.1 毛蕊异黄酮降低类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞活性

低/中/高剂量毛蕊异黄酮组较对照组细胞光密度(OD)值呈剂量依赖性降低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); CpG 1826+高剂量毛蕊异黄酮组较高剂量毛蕊异黄酮组 OD 值显著增加, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 见表 1。

### 2.2 毛蕊异黄酮对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞凋亡的影响

低/中/高剂量毛蕊异黄酮组较对照组细胞凋亡率呈剂量依赖性升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ );

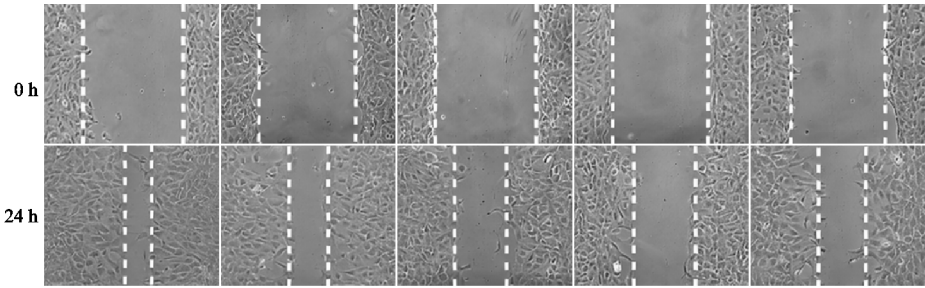
表 1 毛蕊异黄酮对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞活性的影响( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	OD 值
对照组	$1.51 \pm 0.20$
低剂量毛蕊异黄酮组	$1.19 \pm 0.15^{1)}$
中剂量毛蕊异黄酮组	$0.82 \pm 0.13^{1)2)}$
高剂量毛蕊异黄酮组	$0.55 \pm 0.07^{1)2)3)}$
CpG 1826+高剂量毛蕊异黄酮组	$1.21 \pm 0.17^{4)}$

注:1)与对照组相比, $P<0.05$ ;2)与低剂量毛蕊异黄酮组相比, $P<0.05$ ;3)与中剂量毛蕊异黄酮组相比, $P<0.05$ ;4)与高剂量毛蕊异黄酮组相比, $P<0.05$ 。

CpG 1826+高剂量毛蕊异黄酮组较高剂量毛蕊异黄酮组细胞凋亡率显著降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 2。

2.3 毛蕊异黄酮对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞迁移的影响



注: A-对照组; B-低剂量毛蕊异黄酮组; C-中剂量毛蕊异黄酮组; D-高剂量毛蕊异黄酮组; E-CpG 1826+高剂量毛蕊异黄酮组  
图 1 各组类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞的迁移能力(划痕实验)

表 3 毛蕊异黄酮对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞迁移的影响( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	划痕愈合率/%
对照组	$76.25 \pm 7.71$
低剂量毛蕊异黄酮组	$60.92 \pm 6.12^{1)}$
中剂量毛蕊异黄酮组	$49.01 \pm 5.02^{1)2)}$
高剂量毛蕊异黄酮组	$36.31 \pm 3.71^{1)2)3)}$
CpG 1826+高剂量毛蕊异黄酮组	$63.93 \pm 6.43^{4)}$

注:1)与对照组相比, $P<0.05$ ;2)与低剂量毛蕊异黄酮组相比, $P<0.05$ ;3)与中剂量毛蕊异黄酮组相比, $P<0.05$ ;4)与高剂量毛蕊异黄酮组相比, $P<0.05$ 。

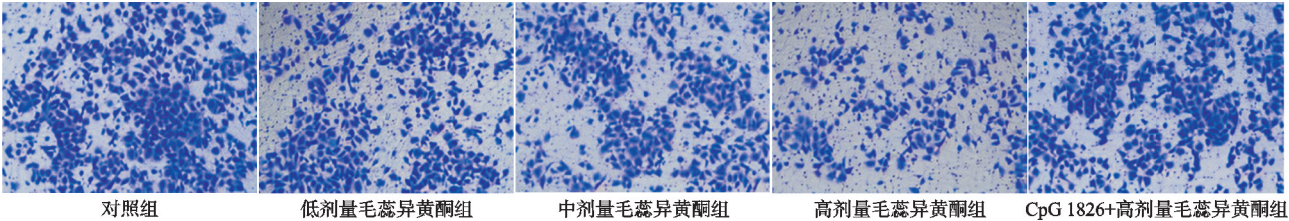


图 2 各组类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞的侵袭能力( $\times 200$ )

MMP-2、MMP-9、TLR9、MyD88 蛋白水平均降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),且随着毛蕊异黄酮浓度的增加,MMP-2、MMP-9、TLR9、MyD88 蛋白表达量逐渐减少,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与高剂量毛蕊异黄酮组比较,CpG 1826+高剂量毛蕊异黄酮组

表 2 毛蕊异黄酮对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞凋亡的影响( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	凋亡率/%
对照组	$7.92 \pm 0.81$
低剂量毛蕊异黄酮组	$12.76 \pm 1.35^{1)}$
中剂量毛蕊异黄酮组	$17.33 \pm 1.86^{1)2)}$
高剂量毛蕊异黄酮组	$22.71 \pm 2.39^{1)2)3)}$
CpG 1826+高剂量毛蕊异黄酮组	$10.66 \pm 1.17^{4)}$

注:1)与对照组相比, $P<0.05$ ;2)与低剂量毛蕊异黄酮组相比, $P<0.05$ ;3)与中剂量毛蕊异黄酮组相比, $P<0.05$ ;4)与高剂量毛蕊异黄酮组相比, $P<0.05$ 。

低/中/高剂量毛蕊异黄酮组较对照组划痕愈合率呈剂量依赖性减少,差异有统计学意义( $P<0.05$ );CpG 1826+高剂量毛蕊异黄酮组较高剂量毛蕊异黄酮组划痕愈合率显著上升,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见图 1 和表 3。

2.4 毛蕊异黄酮对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞侵袭的影响

低/中/高剂量毛蕊异黄酮组较对照组侵袭细胞数呈剂量依赖性减少,差异有统计学意义( $P<0.05$ );CpG 1826+高剂量毛蕊异黄酮组较高剂量毛蕊异黄酮组侵袭细胞数显著增加,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见图 2 和表 4。

2.5 毛蕊异黄酮对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞中 TLR9/MyD88 信号通路的影响

与对照组比较,低/中/高剂量毛蕊异黄酮组

MMP-2、MMP-9、TLR9、MyD88 蛋白水平显著升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见图 3 和表 5。

3 讨论

类风湿关节炎是一种慢性、主要表现为炎性滑膜炎的疾病,其特征为手等小关节处出现一定程度的关



表 4 毛蕊异黄酮对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞侵袭的影响( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	侵袭细胞数/个
对照组	173.81±18.23
低剂量毛蕊异黄酮组	139.59±14.27 <sup>1)</sup>
中剂量毛蕊异黄酮组	122.88±13.52 <sup>1)2)</sup>
高剂量毛蕊异黄酮组	79.37±8.03 <sup>1)2)3)</sup>
CpG 1826+高剂量毛蕊异黄酮组	144.92±15.11 <sup>4)</sup>

注:1)与对照组相比, $P<0.05$ ;2)与低剂量毛蕊异黄酮组相比, $P<0.05$ ;3)与中剂量毛蕊异黄酮组相比, $P<0.05$ ;4)与高剂量毛蕊异黄酮组相比, $P<0.05$ 。

表 5 各组类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞中 TLR9、MyD88、MMP-2、MMP-9 蛋白水平( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

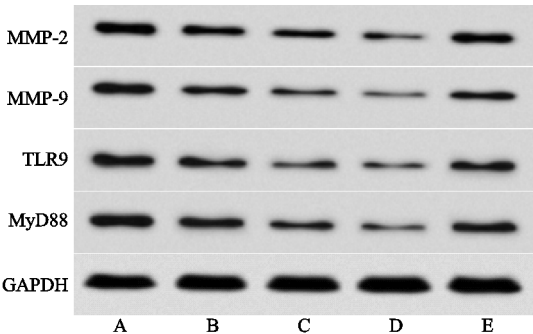
组别	TLR9/GAPDH	MyD88/GAPDH	MMP-2/GAPDH	MMP-9/GAPDH
对照组	0.89±0.12	0.81±0.10	0.96±0.12	0.92±0.11
低剂量毛蕊异黄酮组	0.71±0.09 <sup>1)</sup>	0.64±0.07 <sup>1)</sup>	0.67±0.07 <sup>1)</sup>	0.73±0.09 <sup>1)</sup>
中剂量毛蕊异黄酮组	0.53±0.06 <sup>1)2)</sup>	0.46±0.05 <sup>1)2)</sup>	0.43±0.05 <sup>1)2)</sup>	0.46±0.05 <sup>1)2)</sup>
高剂量毛蕊异黄酮组	0.34±0.04 <sup>1)2)3)</sup>	0.24±0.03 <sup>1)2)3)</sup>	0.21±0.03 <sup>1)2)3)</sup>	0.25±0.03 <sup>1)2)3)</sup>
CpG 1826+高剂量毛蕊异黄酮组	0.76±0.11 <sup>4)</sup>	0.66±0.09 <sup>4)</sup>	0.71±0.08 <sup>4)</sup>	0.77±0.10 <sup>⑥</sup>

注:1)与对照组相比, $P<0.05$ ;2)与低剂量毛蕊异黄酮组相比, $P<0.05$ ;3)与中剂量毛蕊异黄酮组相比, $P<0.05$ ;4)与高剂量毛蕊异黄酮组相比, $P<0.05$ 。

节炎。据相关资料显示,82%的中国类风湿关节炎患者有中度以上的疾病活动,病程在 5~10 年的患者中 43.48%有一些关节畸形,这一比例随着病程的延长而逐渐增加<sup>[13]</sup>。甘珮荣等<sup>[14]</sup>研究发现,类风湿关节炎患者在炎症的作用下成纤维样滑膜细胞会发生肿瘤样细胞转化,使成纤维样滑膜细胞增殖、迁移及侵袭能力增强,促进一些炎症因子的分泌,进一步加重关节的破坏。因此,通过对成纤维样滑膜细胞不正常的增殖、迁移甚至侵袭进行抑制,是对类风湿关节炎疾病进行有效干预的方法之一。

近年来,由于中草药提取物具有副作用小、较易吸收等优点,研究者对其兴趣越来越大。毛蕊异黄酮是一种从中草药植物中提取得到、具有多种生物活性的有效活性物质<sup>[6-7]</sup>。已有研究证实,毛蕊异黄酮可以缓解由于损伤而造成的炎症反应,也可以减轻损伤对微环境的破坏<sup>[15-16]</sup>。Shi 等<sup>[17]</sup>研究发现,在软骨细胞中毛蕊异黄酮可以减轻其炎症反应。本研究用不同浓度的毛蕊异黄酮处理类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞,发现毛蕊异黄酮呈现剂量依赖性降低类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞的 OD 值、划痕愈合率和侵袭细胞数,增加了细胞凋亡率,表明毛蕊异黄酮呈剂量依赖性地促进了类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞的凋亡,抑制了类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞的增殖、迁移和侵袭。

MMP-2 和 MMP-9 属于 MMPs 家族成员之一,会通过对胶原及明胶的降解,进一步破坏骨关节,并且可以介导一些肿瘤细胞发生不正常迁移和侵袭,也可



注: A-对照组; B-低剂量毛蕊异黄酮组; C-中剂量毛蕊异黄酮组; D-高剂量毛蕊异黄酮组; E-CpG 1826+高剂量毛蕊异黄酮组

图 3 Western Blot 法检测蛋白表达

以作为细胞迁移及侵袭的标志物<sup>[18-19]</sup>。本研究发现,毛蕊异黄酮对 MMP-2 和 MMP-9 表达具有降低作用,提示毛蕊异黄酮对类风湿关节炎的干预可能是通过抑制类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞迁移及侵袭来实现的。已有相关研究发现,MyD88 作为 TLR9 的适配器,二者结合后会对其下游因子进行激活,进一步促使炎症因子大量表达,从而加剧炎症反应,因此通过抑制 TLR9/MyD88 信号通路的激活可以减轻炎症<sup>[20]</sup>。Li 等<sup>[21]</sup>研究发现,一些物质可以通过 TLR9/Myd88/NF- $\kappa$ B 信号通路来减弱大鼠结肠炎。Cao 等<sup>[22]</sup>研究发现,中草药成分氧苦参碱可以通过 TLR9-MyD88-STAT3 信号通路调节滤泡调节性 T 细胞(Tfr)/Tfh 细胞平衡,进一步改善类风湿关节炎症状。最新研究发现,TLR9/MyD88 信号通路在巨噬细胞的极化及其炎症反应中发挥调节作用<sup>[23]</sup>。本研究结果显示,类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞在毛蕊异黄酮的作用下,显著降低 TLR9 及 MyD88 蛋白表达,说明毛蕊异黄酮可能抑制 TLR9/MyD88 信号通路。为了对这一猜测进行验证,本研究设计实验,在 TLR9 激动剂(CpG 1826)的作用下进行对照实验发现,与高剂量毛蕊异黄酮组比较,CpG 1826+高剂量毛蕊异黄酮组细胞 OD 值、划痕愈合率、侵袭细胞数、MMP-2 和 MMP-9 及 TLR9/MyD88 信号通路相关蛋白水平均升高,但降低了细胞凋亡率,因此推测毛蕊异黄酮对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞迁移及侵袭的影响可能与抑制 TLR9/MyD88 信号通路相关。

综上所述,本研究表明毛蕊异黄酮可能通过对

TLR9/MyD88 信号通路进行调控,从而进一步抑制类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞增殖、迁移、侵袭,并促进类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞的凋亡。但是本研究也存在一些不足之处,例如只是在细胞上进行了体外验证,并未进行动物体内验证,针对这一不足,后续会进一步开展相关实验。

## 参考文献

- [1] LIN Y J, ANZAGHE M, SCHULKE S. Update on the pathomechanism, diagnosis, and treatment options for rheumatoid arthritis[J]. *Cells*, 2020, 9(4): 880-891.
- [2] JANG S, KWON E J, LEE J J. Rheumatoid arthritis: pathogenic roles of diverse immune cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(2): 905-918.
- [3] BAGHERNIYA M, DARAND M, ASKARI G, et al. The clinical use of curcumin for the treatment of rheumatoid arthritis: a systematic review of clinical trials[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1291(1): 251-263.
- [4] PULLEN R L, HAMMOND L. Rheumatoid arthritis[J]. *Nursing Made Incredibly Easy*, 2023, 21(4): 10-19.
- [5] 李金益, 田杰祥, 宋敏, 等. 骨痹愈康丸通过 JAK/STAT 信号通路对类风湿关节炎大鼠滑膜组织的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2023, 39(8): 1475-1482.
- [6] DENG M, CHEN H, LONG J, et al. Calycosin: a review of its pharmacological effects and application prospects[J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2021, 19(7): 911-925.
- [7] 陈雨菡, 石小鹏, 马善波, 等. 黄芪中毛蕊异黄酮的脑保护作用研究进展[J]. *中国急救医学*, 2021, 41(11): 1004-1008.
- [8] GUO X, PAN X, WU J, et al. Calycosin prevents IL-1 $\beta$ -induced articular chondrocyte damage in osteoarthritis through regulating the PI3K/AKT/FoxO1 pathway[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2022, 58(6): 491-502.
- [9] 罗蕙雨, 张翠娟, 林金凤. MUC1-1、TLR4 在不同程度宫颈病变组织中的表达及临床意义[J]. *中外医学研究*, 2020, 18(35): 71-73.
- [10] XU L, NIU X, LIU Y, et al. ST3GAL3 promotes the inflammatory response of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis by activating the TLR9/MyD88 pathway[J]. *Mediators Inflamm*, 2022, 10(1): 4258742-4258756.
- [11] 王维, 张路阳, 赵子龙, 等. 毛蕊异黄酮抑制胶质瘤细胞增殖的机制研究[J]. *沈阳药科大学学报*, 2020, 37(8): 725-729.
- [12] 李鹏, 张艳婷, 胡莹, 等. TLR9 激动剂 CpG-ODN 对 HepG2 肝癌细胞增殖及侵袭的影响[J]. *宁夏医科大学学报*, 2015, 37(4): 397-399.
- [13] TIAN X, LI M, ZENG X. The current status and challenges in the diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis in China: an annual report of 2019[J]. *Rheumatol Immunol Res*, 2021, 2(1): 49-56.
- [14] 甘珮荣, 刘超, 吴虹, 等. HIF-VEGF-Ang-2 信号转导介导的滑膜血管新生在类风湿关节炎中的作用[J]. *药理学报*, 2021, 56(5): 1246-1252.
- [15] YU S, WU K, LIANG Y, et al. Therapeutic targets and molecular mechanism of calycosin for the treatment of cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(12): 16804-16815.
- [16] HSU C C, KUO T W, LIU W P, et al. Calycosin preserves BDNF/TrkB signaling and reduces post-stroke neurological injury after cerebral ischemia by reducing accumulation of hypertrophic and TNF- $\alpha$ -containing microglia in rats[J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2020, 15(2): 326-339.
- [17] SHI X, JIE L, WU P, et al. Calycosin mitigates chondrocyte inflammation and apoptosis by inhibiting the PI3K/AKT and NF- $\kappa$ B pathways[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 28(1): 115536-115549.
- [18] LI Z, CHEN M, WANG Z, et al. Berberine inhibits RAFLS cell proliferation and adhesion by regulating RAS/MAPK/FOXO/HIF-1 signal pathway in the treatment of rheumatoid arthritis[J]. *Bone Joint Res*, 2023, 12(2): 91-102.
- [19] 谢瑜, 黎承平, 武坤, 等. TGF- $\beta$ 1 对 M2 型巨噬细胞诱导淋巴瘤细胞增殖的影响[J]. *中国比较医学杂志*, 2018, 28(6): 72-78.
- [20] ZYZAK J, MITKIEWICZ M, LESZCZYNSKA E, et al. HSV-1/TLR9-mediated IFN $\beta$  and TNF $\alpha$  induction is Maldependent in macrophages[J]. *J Innate Immun*, 2020, 12(5): 387-398.
- [21] LI S, FENG G, ZHANG M, et al. Oxymatrine attenuates TNBS-induced colinitis in rats through TLR9/Myd88/NF- $\kappa$ B signal pathway[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2022, 41(1): 78866-78879.
- [22] CAO G, MAO Z, NIU T, et al. Oxymatrine ameliorates rheumatoid arthritis by regulation of Tfr/Tfh cell balance via the TLR9-MyD88-STAT3 signaling pathway[J]. *J Sci Food Agric*, 2023, 103(12): 6017-6024.
- [23] KANG Y F, BAI X, WANG K Y, et al. Zhilong Huoxue Tongyu capsule regulates the macrophage polarization and inflammatory response via the let-7i/TLR9/MyD88 signaling pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 10(330): 118208-118223.

(收稿日期: 2024-09-14)