

检测细胞增殖；CBA 法定量细胞因子；Western Blot 法检测 STAT1 信号通路相关分子。

结果：在 EAE 造模过程中每天给小鼠口服不同剂量的 Fc11，发现 Fc11 显著延长 EAE 的发病时间和发病强度，并且减少血清以及浸润炎症细胞中 IFN γ 和 IL-17A 的产生。体外实验结果表明 Fc11 选择性地抑制活化 T 细胞分泌 IFN γ ，而不影响其增殖。另外 Fc11 显著地抑制 STAT1 磷酸化水平，且不被放线菌酮或钒酸钠逆转。

讨论：T 细胞在各种自身免疫病等的发生发展过程中起着主要的致病作用。现阶段许多药物抑制了 T 细胞的活化而产生副作用，例如 CsA 抑制 T 细胞活化导致机体正常免疫功能受到影响。因此抑制 T 细胞效应因子分泌及其功能发挥是免疫抑制药物选择性作用的良好策略。Fc11 选择性抑制 T 细胞产生 IFN- γ ，改善 EAE 模型，其独特的免疫抑制作用可能是通过对 STAT1 信号通路的选择性调控实现。

化合物S5选择性诱导活化T淋巴细胞凋亡及其作用机制的初探

刘海亮¹ 徐建梁¹,李建新², 徐强^{1*}

(¹南京大学医药生物技术国家重点实验室

²南京大学化学化工学院)

目的：探讨新合成的化合物 S5 选择性诱导 T 淋巴细胞凋亡的作用机制。

方法：MTT 法检测 T 淋巴细胞增殖；Annexin-V/PI 双染检测细胞凋亡；JC-1 染色检测线粒体膜电位 ($\Delta\Psi_m$) 变化；Western blot 检测细胞中 PARP、caspase 6 caspase 3 和 bcl-xl 蛋白的表达。

结果：S5 剂量依赖性地抑制 PHA 活化的 Jurkat 细胞或 Con A 活化的小鼠 T 淋巴细胞增殖，20 μ M 抑制率达 75%。S5 明显诱导活化的 T 淋巴细胞凋亡而对非活化的细胞无明显影响。JC-1 染色结果显示活化 T 细胞中线粒体膜电位随着 S5 剂量的增加降低。S5 诱导活化的 T 细胞中 PARP，caspase 6 剪切，增加 caspase 3 和 caspase 6 蛋白表达，并降低 bcl-xl 蛋白表达。

结论：新化合物 S5 可能通过线粒体通路诱导活化的 T 淋巴细胞凋亡。

国家自然科学基金重大研究计划资助项目 (90913023)

中国藜醇选择性下调IFN- γ /STAT1信号通路改善炎症性肠病的机理研究

孙洋，吴兴新，尹业，沈燕，徐强

(南京大学生命科学学院 医药生物技术国家重点实验室

南京市汉口路22号 210093 025-83686552)

目的：调节过度激活的 STAT1 信号被认为是一种治疗包括 Crohn's 疾病在内的炎症性肠病的理想策略，但目前影响此环节的化合物鲜见报道。

方法：采用小鼠结肠内注射 TNBS 诱发免疫性结肠炎模型；采用 ELISA 检测细胞因子水平；采用 ³H 掺入和 CFSE 染色考察细胞增殖；采用抗体染色结合流式细胞术考察细胞活化和胞内蛋白

磷酸化情况；采用凝胶迁移阻滞试验考察核转录因子与 DNA 的结合能力；采用免疫共沉淀和免疫印迹考察相关信号分子磷酸化程度。

结果：一种来源于藏药结血蒿的单体化合物中国藜醇可通过抑制 T 细胞的增殖和活化从而显著性改善 TNBS 诱发的由 CD4⁺ T 细胞介导的小鼠结肠炎。中国藜醇对于细胞因子的调控具有特异性，可选择性下调前炎症因子 IFN- γ 的分泌，而上调负调控因子 IL-10 和 TGF- β 的产生。进一步研究发现，中国藜醇显著抑制结肠炎小鼠结肠组织 CD4⁺ T 细胞的增殖和活化，并且下调 JAK2 和 STAT1 的磷酸化以及 Th1 特异性转录因子 T-bet 的表达。

讨论：中国藜醇改善小鼠免疫性结肠炎与其选择性下调 IFN- γ /STAT1/T-bet 信号通路有关，可作为一种治疗炎症性肠病的候选化合物开展进一步的研究。

Jaceosidin改善迟发型超敏反应（DTH）的机理研究

尹业，孙洋，顾莉蕴，沈燕，徐强
(南京大学医药生物技术国家重点实验室)

研究目的：探讨 Jaceosidin 的免疫抑制活性以及改善 DTH 反应的分子作用机理。

方法：MTT 比色法和 H3-TdR 掺入实验检测 Jaceosidin 对 ConA 或 anti-CD3/anti-CD28 活化的 T 细胞增殖的影响。ELISA 法检测 Jaceosidin 对相关细胞因子的分泌的影响。Western 印迹法检测 Jaceosidin 对 IFN- γ /STAT1/T-bet 信号通路分子的影响。建立 PCL 所致小鼠接触性皮炎考察 Jaceosidin 的治疗效果。

结果：

1. Jaceosidin 抑制活化 T 细胞的增殖而不影响 naïve 的 T 细胞。

采用 ConA 或 anti-CD3/anti-CD28 活化 T 细胞的同时加入不同浓度(1,3,10 μ M)的 Jaceosidin, 24 小时后检测细胞活化标志分子 CD25, CD69 的表达, 发现 Jaceosidin 可以剂量依赖性地抑制 CD25 和 CD69 的表达。72h 后检测 T 细胞的增殖以及上清中的细胞因子水平, 发现 Jaceosidin 可以抑制 T 细胞的增殖以及 IFN γ 的分泌。而在 naïve 的 T 细胞中加入药物共孵, 发现 Jaceosidin 没有明显的细胞杀伤作用。

2. Jaceosidin 抑制 STAT1 的磷酸化水平。

采用 anti-CD3/anti-CD28 活化 T 细胞的同时加入不同浓度(1,3,10 μ M)的 Jaceosidin, 24 小时后提取蛋白, 发现 Jaceosidin 可以剂量依赖性地抑制 STAT1 磷酸化水平, 同时也抑制 STAT1 下游的 T-bet 的表达。

3. Jaceosidin 改善 PCL 所致小鼠接触性皮炎。

在小鼠造模过程中每天给小鼠腹腔注射不同剂量(5, 10, 20 mg/kg)的 Jaceosidin, 发现给药组小鼠耳肿胀被明显抑制。病理分析结果也表明给药组小鼠耳组织中浸润的炎症细胞减少, 水肿和表皮糜烂的状况也明显好于模型组。并且发现 Jaceosidin 明显抑制小鼠引流淋巴结中 STAT1 通路的活化与 T-bet 的表达。

讨论：Jaceosidin 可以选择性作用于活化 T 细胞, 并有效抑制炎症因子 IFN- γ 的产生, 改善 DTH 模型, 其作用机理可能是通过对 IFN- γ /STAT1/T-bet 通路的调控实现的。