

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.18.003

文章编号: 1005-8982(2016)18-0011-07

论著

色胺酮抑制胸腺基质淋巴细胞生成素 促肥大细胞增殖的药理机制*

王福银¹, 杜倩¹, 孔丽娟¹, 程春红¹, 王磊²

(1. 黑龙江省大庆龙南医院 药剂科, 黑龙江 大庆 163453; 2. 河北医科大学, 河北 石家庄 050017)

摘要:目的 探讨色胺酮抑制由胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)促肥大细胞增殖的药理机制,为色胺酮治疗肥大细胞相关过敏性皮炎提供理论依据。**方法** 在 TSLP 刺激人源肥大细胞系-1(HMC-1)细胞增殖的前提下,同步采用色胺酮处理增殖的细胞,观察对细胞增殖的影响和相关蛋白水平变化。噻唑蓝(MTT)比色法检测不同浓度色胺酮处理对细胞活力的影响;溴脱氧尿苷渗入试验和 Ki67 mRNA 水平检测不同处理组细胞增殖情况;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测鼠双微体基因 2(MDM2)、P53、Caspase-3、多聚 ADP-核糖聚合酶(PARP)剪切蛋白水平变化;实时荧光定量聚合酶链反应检测白细胞介素 7 受体 α (IL-7Ra)和 TSLPR mRNA 的含量。**结果** MTT 比色法结果表明,色胺酮无细胞毒性;溴脱氧尿苷渗入试验和 Ki67 mRNA 水平的检测均显示色胺酮抑制 TSLP 刺激的肥大细胞增殖;色胺酮抑制 TSLP 刺激的 HMC-1 中 MDM2 蛋白表达水平,蛋白灰度分析比较差异有统计学意义;色胺酮处理后,HMC-1 细胞中,P53 蛋白和凋亡标志蛋白 Caspase-3、PARP 剪切蛋白水平升高,且蛋白灰度分析比较差异有统计学意义;TSLP 上游调控蛋白 IL-7Ra 和 TSLPR mRNA 水平在色胺酮的作用下受到抑制。**结论** 色胺酮可抑制 TSLP 促肥大细胞增殖,对治疗肥大细胞相关过敏性皮炎有一定的潜力。

关键词: 色胺酮;胸腺基质淋巴细胞生成素;人源肥大细胞系-1 细胞;半胱天冬酶-3;多聚 ADP-核糖聚合酶

中图分类号: R965

文献标识码: A

Pharmacological mechanism of tryptanthrin inhibition of mast cell proliferation promoted by thymic stromal lymphopoietin*

Fu-yin Wang¹, Qian Du¹, Li-juan Kong¹, Chun-hong Cheng¹, Lei Wang²

(1. Department of Pharmacy, Longnan Hospital, Daqing, Heilongjiang 163453, China;

2. Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050017, China)

Abstract: Objective To investigate the pharmacological mechanism of tryptanthrin (TR) in suppressing mast cell proliferation promoted by thymic stromal lymphopoietin (TSLP), so as to provide academic evidence for mast cell induced allergic dermatitis (AD) therapy through TR. **Methods** After HMC-1 cells were stimulated by TSLP, cell proliferation was observed with another treatment of TR, and the relative protein levels were detected as well. The cells were divided into four groups: blank control, TSLP stimulating, TR treating and TSLP combined with TR groups. Cell viability was tested by MTT assay with various concentrations of TR. Cell proliferation effect was verified through BrdU assay and Ki67 mRNA level detection. MDM2, p53, cleaved caspase-3 and cleaved poly-ADP-ribose polymerase (PARP) protein levels were measured by Western blot. IL-7Ra and TSLPR mRNA levels were detected by real-time fluorescent quantitative PCR. **Results** MTT assay showed TR had no cytotoxicity.

收稿日期: 2016-04-13

* 基金项目: 国家自然科学基金(No: 81202401)

BrdU and Ki67 assay indicated that TR evidently suppressed mast cell proliferation promoted by TSLP. After TR treatment, MDM2 protein level decreased in HMC-1 cells and the difference had statistical significance; on the contrary, p53, cleaved caspase and cleaved PARP protein levels significantly elevated. The upstream regulatory protein IL-7Ra and TSLPR mRNA levels were inhibited obviously with TR treatment. **Conclusions** TR could suppress mast cell proliferation promoted by TSLP, and exhibits certain potential in AD therapy.

Keywords: tryptanthrin; thymic stromal lymphopoietin; human mast cell line-1 cell; caspase-3; cleavage of poly-ADP-ribose polymerase

过敏性皮炎是一种由免疫细胞和炎症介质相互作用引发的皮肤免疫系统紊乱^[1],在免疫反应中,细胞因子通过招募活化的免疫细胞到皮肤损伤部位,从而进一步放大并维持紊乱状态^[2],肥大细胞是一种重要的免疫细胞,在内脏黏膜和皮肤下微血管周围广泛分布。另外,其可分泌多种细胞因子,如血小板活化因子,肿瘤坏死因子等,参与免疫调节或过敏反应,并在过敏性皮炎中发挥不可或缺的作用^[3-4]。胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)作为表皮屏障缺陷的标志^[5],经由白细胞介素 7 受体 α (interleukin 7 receptor α chain, IL-7Ra) 和 TSLP 受体(thymic stromal lymphopoietin receptor, TSLPR)在 TSLP 信号通路上游形成异质二聚体进而发挥功能,参与过敏性皮炎的发生、发展,相关报道称 TSLP 在肥大细胞的增殖过程中发挥关键作用^[6-8]。鼠双微体基因 2 (murine double minute 2, MDM2) 是一种 E3 泛素连接酶,可通过泛素降解途径降解 P53 蛋白,进而抑制肿瘤细胞生长,可调控 TSLP 促成的肥大细胞增殖^[8-9]。另外,研究人员发现 MDM2 在抑制细胞增殖的同时还可导致半胱天冬酶 -3 的激活,进而剪切多聚 ADP-核糖聚合酶 (cleavage of poly-ADP-ribose polymerase, PARP) 引发细胞凋亡^[10]。

色胺酮是一种吲哚喹啉类生物碱,存在于多种植物中。有研究报道,色胺酮有抗炎症、抗过敏等药理学功能^[11-13]。因此,笔者猜测色胺酮对过敏性皮炎有一定的治疗作用。笔者通过对 TSLP 信号通路中 MDM2、P53、TSLPR 等进行验证,初步探讨色胺酮在过敏性皮炎中的药理机制,为色胺酮治疗肥大细胞相关过敏性皮炎提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验仪器和试剂

1.1.1 实验仪器 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 设备电泳仪、转膜仪、玻璃胶版等(美国 Bio-rad 公司),聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 仪(美国 Bio-rad 公司),实时荧光定量 PCR 系

统(美国 ABI 公司),倒置显微镜(日本 Olympus 公司),冷冻离心机、酶标仪、NanoDrop 分光光度计(美国 Thermo 公司)。

1.1.2 实验试剂 色胺酮 (Tryptanthrin, TR)(美国 Sigma 公司,纯度 $\geq 98\%$, SML0310),二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)溶解稀释色胺酮,置于 -20°C 冰箱冷冻保存,5-溴脱氧尿嘧啶核苷(5-Bromo-2-deoxy Uridine, BrdU)(美国 Sigma 公司),重组 TSLP(美国 RD Systems 公司),胎牛血清、伊思考夫改良杜尔贝可细胞培养基 (iscover's modified dulbecco's medium, IMDM)(美国 Gibco 公司),BrdU、MDM2、P53、PARP、半胱天冬酶 -3、 β -actin 抗体(美国 Santa 公司),人源肥大细胞系 -1(human mast cell line, HMC-1) 细胞来自美国菌种保藏中心细胞库。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 含 10% 胎牛血清的 IMDM (加青霉素和链霉素)培养 HMC-1 细胞,置于孵箱 37°C 、5% 二氧化碳 CO_2 , 平均 2~3 d 传代 1 次,取对数生长期细胞进行实验。

1.2.2 细胞处理和分组 色胺酮由 DMSO 稀释于 -20°C 冰箱冷冻备用, TSLP 蛋白经转染试剂处理进入肥大细胞。实验细胞主要分为 3 组:空白对照组为 DMSO 空白和空载质粒转染; TSLP 刺激组为转染重组 TSLP 蛋白处理;色胺酮处理组为 TSLP 刺激合并转染重组 TSLP 蛋白后,加入不同浓度色胺酮处理。

1.2.3 溴脱氧尿苷渗入试验 采用台盼蓝细胞计数方法,各处理组细胞 1×10^4 个,设置 3 次重复,加入 BrdU 作用 3 h,磷酸缓冲盐溶液冲洗 1 次,经固定、解链、封闭后,一抗 4°C 孵育过夜,二抗孵育 1 h。通过免疫比色法比较各组细胞增殖情况。

1.2.4 噻唑蓝 [3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide, MTT] 比色法 MTT 比色法检测细胞活力,计数生长对数期的肥大细胞约 1×10^5 个/L,传入 96 孔板,分为空白处理组、0.1、1.0 和 $10.0 \mu\text{mol}$ 共 4 组,每组 8 个复孔,并与

MTT 溶液(5 mg/ml)37℃孵育 4 h。终止培养后,每孔加入 200 μ l DMSO,溶解甲瓩结晶。酶标仪检测各孔在 540 nm 处的吸光度值。

1.2.5 Western blot 检测 收集各处理组的肥大细胞,RIPA 裂解液 4℃裂解 30 min,最大转速离心 5 min,收集蛋白,并进行蛋白定量。5 \times loading 加入蛋白液中 95℃煮 10 min,视定量结果加入样品,经 10%分离胶分离 90 min,100 V 恒压转膜 100 min。5%的脱脂牛奶封闭 1 h,4℃过夜孵育蛋白一抗。第 2 天,TBST 溶液洗膜 3 遍,5 min/次,室温孵育二抗 1 h,洗膜 3 遍,7 min/次;加入 A、B 发光液后,暗室操作曝光。随机选取曝光蛋白条带 3 处位置进行蛋白灰度分析,进行各处理组蛋白水平比较。

1.2.6 实时荧光定量 PCR 反应 采用 Trizol 抽提 RNA 的方法进行总 RNA 的提取,RNA 提取在通风厨中进行。各处理组细胞经 1 ml Trizol 处理后,将裂解物吸置于离心管中,加入 200 μ l 氯仿,颠倒震荡数 10 下。4℃、12 000 r/min 离心 10 min,缓慢吸出 400 μ l 上清液放置于新的离心管中。加入等体积的异丙醇充分混合后,4℃、最大转速离心 10 min。弃上清,加入 75%乙醇 1ml,洗涤沉淀,4℃、12 000 r/min 离心 5 min。弃上清液,吸净酒精,并在通风厨中放置,待残留的酒精液体完全挥发后,视沉淀加适量的无 RNA 酶 H₂O,70℃煮 10 min。测定 RNA 浓度,取 2 μ g RNA 进行反转录 PCR 反应。各处理组设置

3 重复,采用 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 方法对数据进行分析,GAPDH 为内参蛋白。见表 1。

表 1 实时荧光定量 PCR 反应引物序列

基因	引物序列
Ki-67	正向:ATAAACACCCCAACACACACAA
	反向:GCCACTTCTTCATCCAGTTAC
GAPDH	正向:ACCAAATCCGTTGACTCCGACCTT
	反向:TCGACAGTCAGCCGCATCTTCTTT
IL-7R α	正向:GCTCAGGGGAGATGGATCCT
	反向:GTCTTCTTATGATCGGGGAG
TSLPR	正向:CAGAGCAGCGAGACGACATT
	反向:GGTACTGAACCTCATAGAGG

1.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析,计量资料均采用数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间的比较用单因素方差分析,两两比较用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 色胺酮对 HMC-1 肥大细胞活力和增殖的影响

MTT 比色法结果显示,0.1、1.0 和 10.0 μ mol 的色胺酮分别处理 HMC-1 细胞后,各组 OD 值比较,经单因素方差分析,差异无统计学意义($F = 0.785, P = 0.512$),细胞活力未受到影响。见表 2。

表 2 色胺酮对细胞活力的影响 (μ mol, $\bar{x} \pm s$)

色胺酮浓度	0.0	0.1	1.0	10.0	F 值	P 值
OD 值	0.444 \pm 0.009	0.455 \pm 0.021	0.453 \pm 0.021	0.446 \pm 0.012	0.785	0.512

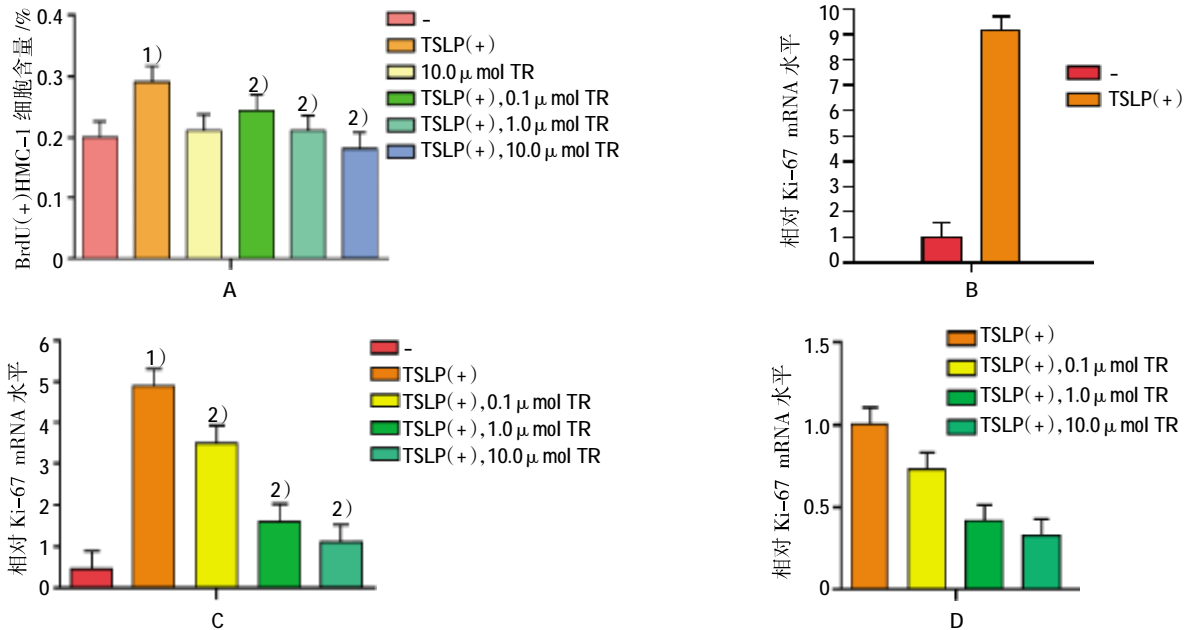
溴脱氧尿苷实验结果显示,TSLP 刺激组与空白对照组渗入 BrdU 的细胞含量比较,经 *t* 检验,差异有统计学意义($t = 8.557, P = 0.001$),TSLP 刺激组比空白对照组含量高;10.0 μ mol 色胺酮单独处理后,色胺酮刺激组和对照组比较,经 *t* 检验,差异无统计学意义($P > 0.05$);在 TSLP 刺激后,并于 1.0 和 10.0 μ mol 色胺酮处理组中,色胺酮处理组和 TSLP 刺激组渗入 BrdU 的细胞含量比较,经 *t* 检验,差异有统计学意义($t = 6.532$ 和 $9.910, P = 0.003$ 和 0.001),0.1 μ mol 色胺酮处理后,差异无统计学意义($P > 0.05$),1.0 和 10.0 μ mol 色胺酮处理组中渗入 BrdU 的细胞含量高于 TSLP 刺激组。见图 1A。

Ki-67mRNA 检测结果显示,TSLP 刺激组与空白对照组比较,经 *t* 检验,相对 Ki-67mRNA 水平,差异有统计学意义($t = 68.663, P = 0.000$),TSLP 刺激组

水平高于空白对照组;经 0.1、1.0 和 10.0 μ mol 色胺酮再次处理后,各组与 TSLP 刺激组相对 Ki-67 mRNA 水平比较,经 *t* 检验,差异有统计学意义[$t = 9.390, 18.164$ 和 $42.819, P = 0.001, 0.000$ 和 0.000],经色胺酮处理后,细胞中相对 Ki-67 mRNA 水平升高。见图 1B ~ D。

2.2 色胺酮抑制 HMC-1 细胞中 MDM2 和 P53 蛋白水平的表达

Western blot 结果表明,在 TSLP 刺激后,HMC-1 细胞中 MDM2 和 P53 蛋白水平升高,经 0.1、1.0 和 10.0 μ mol 色胺酮处理后,MDM2 蛋白水平降低,P53 蛋白水平升高,且浓度越高,变化越大。蛋白灰度结果显示,TSLP 刺激组与空白对照组 MDM2 和 P53 蛋白水平比较,经 *t* 检验,差异有统计学意义($t = 36.947$ 和 $55.118, P = 0.000$),TSLP 刺激后 MDM2 和 P53 蛋



1)与空白对照组比较, $P < 0.05$; 2)与 TSLP 刺激组比较, $P < 0.05$

图 1 色胺酮对 HMC-1 肥大细胞增殖的影响

白水平降低;经 0.1、1.0 和 10.0 μmol 色胺酮处理后,与 TSLP 刺激组比较,经 t 检验,差异有统计学意义 (MDM2 蛋白: $t=52.693, 57.034$ 和 $57.808, P=0.000$; P53 蛋白: $t=42.866, 9.550$ 和 $16.977, P=0.000, 0.001$ 和 0.000), MDM2 蛋白水平受到抑制, P53 蛋白水平升高。见图 2。

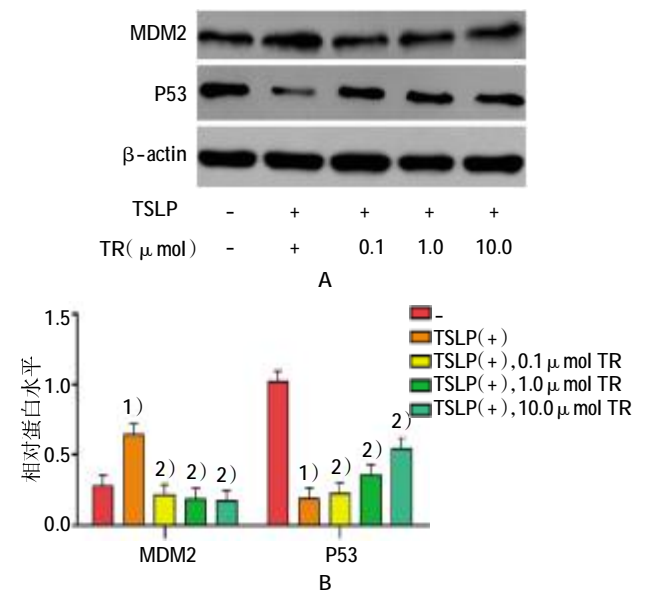
2.3 HMC-1 细胞中凋亡标志蛋白半胱天冬酶 -3 和 PARP 剪切蛋白在色胺酮的作用下的表达

Western blot 结果表明,半胱天冬酶 -3 和 PARP 剪切蛋白水平在 TSLP 的刺激后降低,经 0.1、1.0 和 10.0 μmol 色胺酮处理后,蛋白水平回升。蛋白灰度分析显示,与空白对照组半胱天冬酶 -3 和 PARP 剪切蛋白水平比较,经 t 检验,差异有统计学意义 ($t=8.033$ 和 $27.587, P=0.001$ 和 0.000),半胱天冬酶 -3 和 PARP 剪切蛋白在 TSLP 刺激后水平降低;经 0.1、1.0 和 10.0 μmol 色胺酮处理后,与 TSLP 刺激组半胱天冬酶 -3 和 PARP 剪切蛋白水平比较,经 t 检验,差异有统计学意义 (半胱天冬酶 -3: $t=8.379, 9.273$ 和 $18.864, P=0.001, 0.001$ 和 0.000 ; PARP 剪切蛋白: $t=13.629, 31.576$ 和 $21.330, P=0.000$),半胱天冬酶 -3 和 PARP 剪切蛋白水平升高。见图 3。

2.4 色胺酮降低 TSLP 上游信号通路中 IL-7R α 和 TSLPR mRNA 水平

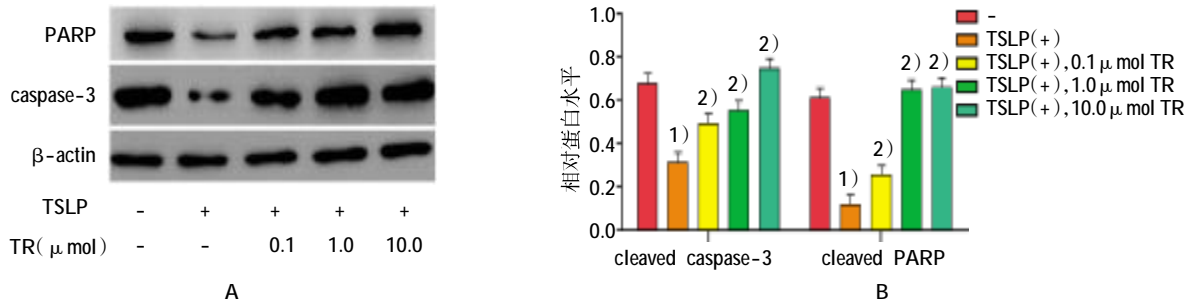
实时荧光定量 PCR 结果显示, TSLP 刺激组与空白对照组 mRNA 水平比较,经 t 检验,差异有统计

学意义 ($t=6.307$ 和 $9.874, P=0.003$ 和 0.001), TSLP 上游信号蛋白 IL-7R α 和 TSLPR mRNA 水平在 TSLP 刺激后均升高;经 0.1、1.0 和 10.0 μmol 色胺酮处理后,色胺酮处理组与 TSLP 刺激组 mRNA 水平比较,经 t 检验,差异有统计学意义 (IL-7R α : $t=3.141, 6.563$ 和 $5.529, P=0.035, 0.003$ 和 0.005 ; TSLPR mRNA: $t=2.948, 8.017$ 和 $7.626, P=0.042, 0.001$ 和 0.002), 两者 mRNA 水平均降低。见图 4。



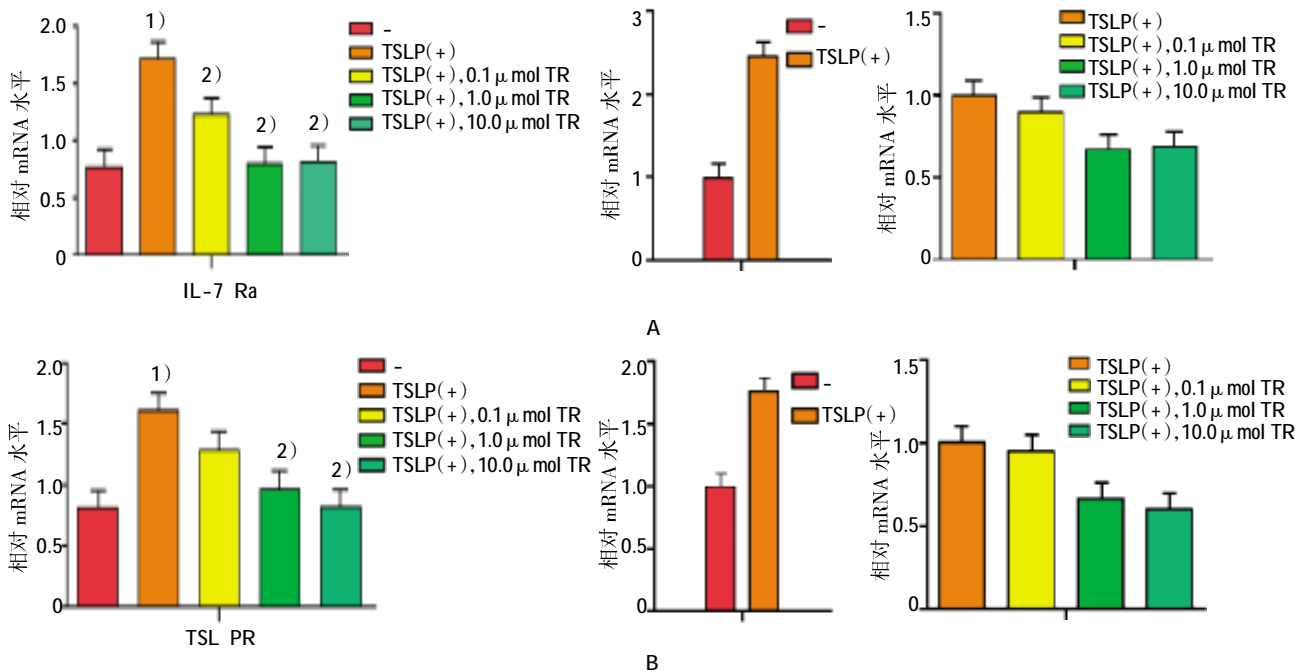
1)与空白对照组比较, $P < 0.05$; 2)与 TSLP 刺激组比较, $P < 0.05$

图 2 色胺酮抑制 HMC-1 细胞中 MDM2 和 P53 蛋白水平的表达



1)与空白对照组比较, $P < 0.05$; 2)与 TSLP 刺激组比较, $P < 0.05$

图 3 HMC-1 细胞中凋亡标志蛋白半胱天冬酶 -3 和 PARP 剪切蛋白在色胺酮的作用下表达升高



1)与空白对照组比较, $P < 0.05$; 2)与 TSLP 刺激组比较, $P < 0.05$

图 4 色胺酮降低 TSLP 上游信号通路中 IL-7Rα 和 TSLPR 蛋白 mRNA 水平

3 讨论

肥大细胞与过敏性皮炎密切相关,在皮肤损伤部位,肥大细胞不断聚集,最终导致皮肤炎症^[14-16];有报道称 TSLP 在过敏性皮炎患者皮肤损伤部位高度表达^[7],近年来,更有研究发现,TSLP 可调控肥大细胞增殖,加剧肥大细胞调节的疾病,如过敏性皮炎^[8]。色胺酮具有潜在的抗过敏药效,因此,笔者对色胺酮在 TSLP 促肥大细胞增殖进程中发挥的药理机制进行探索,以期能为色胺酮治疗过敏性皮炎提供理论依据。本研究结果证实,色胺酮可抑制 TSLP 促 HMC-1 肥大细胞的增殖,初步结果表明,色胺酮可通过抑制 MDM2 蛋白表达,提高 P53 蛋白水平,进而引起凋亡标志蛋白半胱天冬酶 -3 和 PARP 剪切

蛋白水平升高,激活细胞凋亡;另外,通过对 TSLP 上游信号通路的检测发现,IL-7Rα 和 TSLPR mRNA 水平在色胺酮的作用下降低。

BrdU 是一种胸腺嘧啶的衍生物,在 DNA 合成 S 期,可代替胸腺嘧啶参与 DNA 新链合成,并稳定存在细胞核内,供于检测。本研究发现,色胺酮抑制 BrdU 嵌入 TSLP 刺激的肥大细胞。研究报道, Ki-67mRNA 水平的检测可作为细胞增殖活性的一个标志^[9],而笔者对 Ki-67 水平的检测同样证实色胺酮可抑制 TSLP 促肥大细胞增殖。

MDM2 参与 P53 蛋白的降解,并在 P53 蛋白稳态中发挥关键作用^[19]。相关研究结果证实,MDM2 和 P53 通路调节细胞增殖和凋亡^[20]。本实验结果显示,色胺酮抑制 MDM2、P53 蛋白水平升高,表明色胺酮

在 MDM2 和 P53 通路中发挥作用。

半胱天冬酶在调控细胞凋亡进展中发挥关键作用^[21],在细胞凋亡发生时,半胱天冬酶 -3 将 113 kD 的 PARP 蛋白分别剪切至 89 和 24 kD 片段大小^[22],另外,半胱天冬酶 -3 和 PARP 剪切蛋白也被报道参与过敏反应^[23-24];近年来,色胺酮被报道在白血病细胞中发挥抑制细胞增殖并引发细胞凋亡的作用^[25]。本实验通过对半胱天冬酶 -3 和 PARP 剪切蛋白的表达水平检测发现,在 HMC-1 肥大细胞中,色胺酮处理后两者蛋白水平升高,提示色胺酮可加速在肥大细胞中的凋亡进展。

IL-7R α 和 TSLPR 在 TSLP 上游信号通路形成异质二聚体复合物,促使 TSLP 发挥作用^[6],为进一步探索色胺酮在肥大细胞中的药理机制,笔者检测两者 mRNA 水平表达,实时荧光定量 PCR 结果显示,mRNA 水平降低,提示色胺酮可抑制两者在转录水平上的表达。

值得注意的是,实验过程中 0.1 μ mol 色胺酮处理组与 TSLP 刺激组 TSLPR mRNA 水平比较,差异无统计学意义。其原因可能为:①实验操作误差;②低浓度色胺酮药力低效,提示在临床上对色胺酮的使用浓度需谨慎。

综上所述,本研究结果显示,在 TSLP 刺激的 HMC-1 肥大细胞中,色胺酮可抑制促细胞增殖作用,可能的机制是色胺酮通过调控 MDM2 和 P53 蛋白水平的表达,激活凋亡信号,加速细胞凋亡过程,抑制 TSLP 发挥的促进作用。另外,色胺酮也可抑制 TSLP 上游通路中 IL-7R α 和 TSLPR mRNA 水平的表达。

参 考 文 献:

- [1] KIM J Y, JEONG M S, PARK M K, et al. Time-dependent progression from the acute to chronic phases in atopic dermatitis induced by epicutaneous allergen stimulation in NC/Nga mice[J]. *Experimental Dermatology*, 2014, 23(1): 53-57.
- [2] CHURCH M K, LEVI-SCHAFFER F. The human mast cell[J]. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 1997, 99(2): 155-160.
- [3] VOEHRINGER D. Protective and pathological roles of mast cells and basophils[J]. *Nature reviews Immunology*, 2013, 13(5): 362-375.
- [4] LIU F T, GOODARZI H, CHEN H Y. IgE, mast cells, and eosinophils in atopic dermatitis[J]. *Clinical Reviews in Allergy Immunology*, 2011, 41(3): 298-310.
- [5] DEMEHRI S, MORIMOTO M, HOLTZMAN M J, et al. Skin-derived TSLP triggers progression from epidermal-barrier defects to asthma[J]. *PLoS Biology*, 2009, 7 (5): DOI: 10.1371/journal.pbio.1000067.
- [6] LIU Y J. Thymic stromal lymphopoietin and OX40 ligand pathway in the initiation of dendritic cell-mediated allergic inflammation[J]. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2007, 120(2): 238-244.
- [7] YOO J, OMORI M, GYARMATI D, et al. Spontaneous atopic dermatitis in mice expressing an inducible thymic stromal lymphopoietin transgene specifically in the skin[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 2005, 202(4): 541-549.
- [8] HAN N R, OH H A, NAM S Y, et al. TSLP induces mast cell development and aggravates allergic reactions through the activation of MDM2 and STAT6[J]. *The Journal of Investigative Dermatology*, 2014, 134(10): 2521-2530.
- [9] HAUPT Y, MAYA R, KAZAZ A, et al. Mdm2 promotes the rapid degradation of p53[J]. *Nature*, 1997, 387(6630): 296-299.
- [10] ZHANG P, ELABD S, HAMMER S, et al. TRIM25 has a dual function in the p53/Mdm2 circuit[J]. *Oncogene*, 2015, 34 (46): 5729-5738.
- [11] SCOVILL J, BLANK E, KONNICK M, et al. Antitrypanosomal activities of tryptanthrins[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2002, 46(3): 882-883.
- [12] RECIO M C, CERDA-NICOLAS M, POTTERAT O, et al. Anti-inflammatory and antiallergic activity in vivo of lipophilic *Isatis tinctoria* extracts and tryptanthrin[J]. *Planta Medica*, 2006, 72(6): 539-546.
- [13] IWAKI K, OHASHI E, ARAI N, et al. Tryptanthrin inhibits Th2 development, and IgE-mediated degranulation and IL-4 production by rat basophilic leukemia RBL-2H3 cells[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, 134(2): 450-459.
- [14] HORSMANHEIMO L, HARVIMA I T, JARVIKALLIO A, et al. Mast cells are one major source of interleukin-4 in atopic dermatitis[J]. *The British Journal of Dermatology*, 1994, 131 (3): 348-353.
- [15] SUGIURA H, UEHARA M. Mitosis of mast cells in skin lesions of atopic dermatitis[J]. *Acta Dermato-venereologica*, 1993, 73(4): 296-299.
- [16] KAWAKAMI T, ANDO T, KIMURA M, et al. Mast cells in atopic dermatitis[J]. *Current Opinion in Immunology*, 2009, 21(6): 666-678.
- [17] SOUMELIS V, RECHE P A, KANZLER H, et al. Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP[J]. *Nature Immunology*, 2002, 3(7): 673-680.
- [18] KEE N, SIVALINGAM S, BOONSTRA R, et al. The utility of Ki-67 and BrdU as proliferative markers of adult neurogenesis[J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 2002, 115(1): 97-105.
- [19] CHAO C C. Mechanisms of p53 degradation[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2015, 438: 139-147.

- [20] WANG Z, LI B. MDM2 links genotoxic stress and metabolism to p53[J]. *Protein Cell*, 2010, 1(12): 1063-1072.
- [21] COHEN G M. Caspases: the executioners of apoptosis[J]. *The Biochemical Journal*, 1997, 326(1): 1-16.
- [22] LAZEBNIK Y A, KAUFMANN S H, DESNOYERS S, et al. Cleavage of poly (ADP-ribose) polymerase by a proteinase with properties like ICE[J]. *Nature*, 1994, 371(6495): 346-347.
- [23] GAO Z, MA Y, ZHAO D, et al. Neochromine S5 improves contact hypersensitivity through a selective effect on activated T lymphocytes[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2014, 92(2): 358-368.
- [24] FANG F, TANG Y, GAO Z, et al. A novel regulatory mechanism of naringenin through inhibition of T lymphocyte function in contact hypersensitivity suppression[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2010, 397(2): 163-169.
- [25] MIAO S, SHI X, ZHANG H, et al. Proliferation-attenuating and apoptosis-inducing effects of tryptanthrin on human chronic myeloid leukemia K562 cell line in vitro[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2011, 12(6): 3831-3845.

(张蕾 编辑)

欢迎订阅《中国现代医学杂志》

《中国现代医学杂志》创刊于 1991 年,是一本医学综合性学术期刊。由中华人民共和国教育部主管,中南大学湘雅医院承办。创刊以来始终坚持以服务广大医药卫生科技人员、促进国内外医学学术交流和医学事业发展为宗旨,密切关注世界医学发展的新趋势,积极推广国内医药卫生领域的新技术、新成果,及时交流广大医药卫生人员的医学科学理论和业务技术水平,成为国内外医学学术交流的重要园地,已进入国内外多个重要检索系统和大型数据库。如:中文核心期刊(中文核心期刊要目总览 2008、2011 和 2014 版)、中国科技论文与引文数据库即中国科技论文统计源期刊(CSTPCD)、俄罗斯文摘(AJ)、中国学术期刊综合评价数据库、中国期刊网全文数据库(CNKI)、中文科技期刊数据库、中文生物医学期刊文献数据库(CMCC)、超星“域出版”及中国生物医学期刊光盘版等。

《中国现代医学杂志》辟有论著、临床论著、综述、新进展研究、临床报道、学术报告、病例报告等栏目。主要刊登国内外临床医学、基础医学、预防医学以及医学相关学科的新理论、新技术、新成果,以及医院医疗、教学、科研、管理最新信息、动态等内容。主要读者为广大医药卫生科技人员。

《中国现代医学杂志》为半月刊,国际标准开本(A4 幅面),全刊为彩色印刷,无线胶装。内芯采用 90 g 芬欧汇川雅光纸(880 × 1230 mm),封面采用 200 g 紫鑫特规双面铜版纸(635 × 965 mm)印刷,每个月 15、30 日出版。定价 35 元/册,全年 840 元。公开发行,国内统一刊号:CN 43-1225/R;国际标准刊号:ISSN 1005-8982;国内邮发代号:42-143。欢迎新老用户向当地邮局(所)订阅,漏订或需增订者也可直接与本刊发行部联系订阅。

联系地址:湖南省长沙市湘雅路 87 号《中国现代医学杂志》发行部,邮编:410008

电话:0731-84327938;传真:0731-89753837;E-mail:xdyx99@126.com

唯一官网网址:www.zgxdyx.com

手机网址:m.zgxdyx.com

《中国现代医学杂志》编辑部