

龙胆苦苷通过TGF- β 1/Smad信号通路调控人瘢痕疙瘩成纤维细胞的增殖及胶原蛋白的产生

郑丽君, 李红红*, 刘轩达

安徽医科大学第二附属医院整形外科, 安徽 合肥

收稿日期: 2025年11月4日; 录用日期: 2025年11月29日; 发布日期: 2025年12月5日

摘要

目的: 探讨龙胆苦苷(Gentiopicroside, GPS)对人瘢痕疙瘩成纤维细胞(Human keloid fibroblasts, HKF)增殖、迁移、细胞外基质(ECM)相关蛋白表达以及TGF- β 1/Smad通路的影响。方法: 利用成品HKF进行培养。将HKF分为空白对照组、DMSO组、龙胆苦苷浓度组(分别为2.5、5、7.5、10、12.5、15、17.5、20、22.5 $\mu\text{g/mL}$), 每组培养24 h后, 采用MTT实验检测HKF增殖情况。利用细胞划痕实验检测20 $\mu\text{g/mL}$ 龙胆苦苷在不同时间段下(0 h、24 h、48 h)对HKF迁移能力的影响。根据MTT的结果, 将实验分为空白对照组, 20 $\mu\text{g/mL}$ 龙胆苦苷组, 通过Western blot实验分别检测Collagen I、Collagen III、纤连蛋白(FN)及相关蛋白 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)的表达情况。而后再将其分为对照组(HKF)、模型组(HKF + TGF- β 1)、实验组(HKF + TGF- β 1 + GPS)。对照组不加任何处理因素, 用完全培养基培养细胞; 模型组: 向完全培养基内加10 ng/ml TGF- β 1培养细胞; 实验组向GPS处理后的细胞加入10 ng/ml TGF- β 1培养细胞, 培养24 h, 通过Western blot实验探索龙胆苦苷对TGF- β 1/Smad信号通路蛋白的表达情况。结果: 根据MTT实验法得出龙胆苦苷处理HKF 24 h后, 随着浓度的增加, 细胞存活率呈现下降趋势, 在药物浓度为20 $\mu\text{g/mL}$ 作用24 h后, 抑制HKF效果最为显著。细胞划痕实验显示, 与空白对照组相比, 20 $\mu\text{g/mL}$ 龙胆苦苷组HKF迁移能力受到显著抑制($P < 0.01$); Western blot显示龙胆苦苷可下调Collagen I、Collagen III、FN1、 α -SMA蛋白表达, 并且可降低TGF- β 1/Smad通路中Smad2及Smad3磷酸化蛋白表达。结论: 龙胆苦苷可能通过TGF- β 1/Smad信号通路, 抑制HKF增殖、迁移及细胞外基质相关蛋白的表达。

关键词

瘢痕疙瘩, 龙胆苦苷, 成纤维细胞, TGF- β 1/Smad信号通路, 细胞外基质相关蛋白

Gentiopicroside Regulates the Proliferation and Collagen Production of Human Keloid Fibroblasts via the TGF- β 1/Smad Signaling Pathway

*通讯作者。

文章引用: 郑丽君, 李红红, 刘轩达. 龙胆苦苷通过 TGF- β 1/Smad 信号通路调控人瘢痕疙瘩成纤维细胞的增殖及胶原蛋白的产生[J]. 临床医学进展, 2025, 15(12): 990-997. DOI: 10.12677/acm.2025.15123495

Lijun Zheng, Honghong Li*, Xuanda Liu

Department of Plastic Surgery, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei Anhui

Received: November 4, 2025; accepted: November 29, 2025; published: December 5, 2025

Abstract

Objective: To investigate the effects of gentiopicroside (GPS) on the proliferation, migration, expression of extracellular matrix (ECM)-related proteins, and TGF- β 1/Smad signaling pathway in human keloid fibroblasts (HKF). **Methods:** Commercially available HKF were cultured and divided into blank control group, DMSO group, and GPS concentration groups (2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5, 20, 22.5 μ g/mL). After 24 h of culture, MTT assay was used to detect HKF proliferation. Cell scratch assay was performed to assess the effect of 20 μ g/mL GPS on HKF migration ability at different time points (0 h, 24 h, 48 h). Based on the MTT results, the experiment was further divided into blank control group and 20 μ g/mL GPS group; Western blot assay was used to detect the expression levels of Collagen I, Collagen III, fibronectin (FN), and α -smooth muscle actin (α -SMA). Subsequently, cells were divided into control group (HKF), model group (HKF + TGF- β 1), and experimental group (HKF + TGF- β 1 + GPS). The control group was cultured in complete medium without any treatment; the model group was cultured in complete medium with 10 ng/mL TGF- β 1; the experimental group was pretreated with GPS followed by 10 ng/mL TGF- β 1 for 24 h. Western blot assay was used to explore the effect of GPS on protein expression in the TGF- β 1/Smad signaling pathway. **Results:** MTT assay showed that after 24 h of GPS treatment, HKF viability exhibited a decreasing trend with increasing GPS concentration, and the inhibitory effect on HKF was most significant at 20 μ g/mL. Cell scratch assay revealed that compared with the blank control group, the migration ability of HKF in the 20 μ g/mL GPS group was significantly inhibited ($P < 0.01$). Western blot demonstrated that GPS down-regulated the protein expression of Collagen I, Collagen III, FN, and α -SMA, and reduced the phosphorylated protein expression of Smad2 and Smad3 in the TGF- β 1/Smad pathway. **Conclusion:** GPS may inhibit HKF proliferation, migration, and the expression of ECM-related proteins through the TGF- β 1/Smad signaling pathway.

Keywords

Keloid, Gentiopicroside, Fibroblasts, TGF- β 1/Smad Signaling Pathway, Extracellular Matrix-Related Proteins

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

疤痕疙瘩主要表现为真皮层纤维细胞的异常增殖和细胞外基质的过度沉积, 且具有超出原始损伤区的浸润性生长特点, 作为一种病理性纤维化疾病, 近年来的研究表明, 通过激活 Smad2/3 信号通路, 促进成纤维细胞分化, 形成 I 型胶原, 在疤痕疙瘩病变的发展过程中起着至关重要的调节作用, 是 TGF- β 1 的重要转化生长因子, 也是 TGF- β 1 的主要作用之一, 是 TNF- β 2 的主要作用, 也是 TNF- β 3 的主要作用[1][2]。此外, 作为先天免疫反应的关键效应分子, NLRP3 炎症小体通过 caspase-1 依赖的途径, 促使 IL-1 β 前体裂解为具有活性的形态, 进而诱发局部慢性炎症微环境的产生, 这种炎症 - 纤维化的级联反应

被视作促进瘢痕疙瘩发展的重要病理机制,如龙胆草、Gentiana、GPS,是天然的环烯醚酰胺类化合物,从龙胆草等龙胆科植物中提取,是典型的代表苦苣类活性成分[3]。GPS是天然抗氧化剂,具有多种功能,对炎症、癌症、纤维化等具有有效的抵抗作用[4]。目前,GPS在人皮肤瘢痕疙瘩的治疗中,已经得到广泛的应用。因此,为了更好地了解GPS对人皮肤瘢痕疙瘩的形态和作用的调控,我们将利用这一技术,进行一系列体外试验,从而发现更多有益的治疗手段。

2. 材料与方法

2.1. 主要试剂与仪器

我们的实验室使用了多种不同的仪器和药物,包括龙胆苦苣(GPS, MedChemExpress 公司)、HKF, 上海富衡有限公司、MTT 和 ECL 超敏化学发光试剂盒,以及 TRIzol RNA (美国赛默飞世尔科技公司)、 α -平滑肌肌动蛋白、Collagen I、Collagen III、FN1、p-Smad2、NLRP3、Smad3、p-Smad3、TGF- β 1 和 ASC。这些实验用品都是从新贝有限公司采集的,并使用了美国罗氏诊断公司的荧光定量 PCR 仪和美国赛默飞世尔科技公司的 CO₂ 进行实验。

2.2. 实验方法

2.2.1. MTT 法研究龙胆苦苣对 HKF 的增殖作用

MTT 法研究龙胆苦苣对 HKF 的增殖作用,为此,我们从 96 孔细胞培养板上收集了 HKF,其中包括 2.5、5、7.5、10、15、15、20、22.5 $\mu\text{g/mL}$ 的细胞悬液,以此来评估龙胆苦苣的效果。此外,我们还将其与空白对照组、DMSO 组以及龙胆苦苣处理组进行比较,以确定其最佳效果。在 37℃ 的温室环境下,先把培养皿放在 5% CO₂ 的环境下,经过 24 小时的孵化,再在每个孔隙内添加 10 μL MTT,并在室内保持黑暗状态 1 h。最终,使用酶标仪在 450 nm 的波长范围内对所有孔隙的吸收率(OD 值)进行监控。细胞活力(%) = [实验组 OD 值 - 空白组 OD 值] / [对照组 OD 值 - 空白组 OD 值] $\times$ 10%。

2.2.2. 细胞划痕实验检测龙胆苦苣对瘢痕疙瘩成纤维细胞迁移的影响

细胞划痕实验检测龙胆苦苣对瘢痕疙瘩成纤维细胞迁移的影响将 HKF 按 2×10^5 个细胞/孔的密度接种于 6 孔细胞培养板,每组设 2 个复孔。待细胞生长至近融合状态(约 90%~100%汇合)时进行划痕操作:吸去孔内旧培养基,用无菌 200 μL 枪头尖端,沿直尺垂直于孔板底部在每孔中央划一直线划痕(确保枪头垂直,防止倾斜),随后以无菌 PBS 轻柔洗涤孔板 2 次,以清除划痕产生的脱落细胞及碎片。根据 MTT 实验的结果,我们添加了一种含有 20 $\mu\text{g/mL}$ 龙胆苦苣的处理液。此外,我们还设立了一个空白对照组,其中没有药物,并且添加了同样量的无血清培养基。将培养板放回 5% CO₂、37℃ 培养箱中继续培养。使用倒置显微镜,在划痕发生后的 0 h(即刻)、24 h 和 48 h,以 $\times 40$ 或 $\times 100$ 的放大倍数进行拍摄,以记录下不同时间段的细节。

2.2.3. Western blot 法龙胆苦苣对 HKF 中 Collagen I、Collagen III、FN 及 α -SMA 表达的影响

Western blot 法检测龙胆苦苣对 HKF 中 Collagen I、Collagen III、FN 及 α -SMA 表达的影响将 HKF 细胞接种于 6 孔板,每孔接种细胞数约 2×10^5 个。MTT 实验的研究表明,龙胆苦苣的含量分别被分成两类:0 (空白对照)和 20 $\mu\text{mol/L}$ (龙胆苦苣)。24 小时之后,我们从样本中抽样,分离出蛋白质,然后使用 BCA 方法检测,接着使用 SDS-PAGE 凝胶电泳将蛋白质分离出来,最终将其置于 4℃ 环境中,然后将其放置于一次性培养皿中,第二天使用 ECL 化学发射仪观察,最终使用 Image J 算子来计算出蛋白质的分布情况。

2.2.4. 通过 Western blot 技术检测龙胆苦苷对 HKF 细胞中 TGF- β 1/Smad 信号通路关键蛋白表达的影响

实验时, HKF 细胞接种于 6 孔板中, 每孔细胞数量约 2×10^5 个, 待细胞融合度达到 60%~70%时, 随机分为 3 个处理组: 对照组(仅 HKF 细胞, 完全培养基培养, 无额外处理)、模型组(HKF 细胞 + 10 ng/ml TGF- β 1, 完全培养基培养)及实验组(HKF 细胞经 GPS 预处理后, 加入 10 ng/ml TGF- β 1 继续培养)。在 24 小时的实验期间, 我们从每个细胞中抽样出一种总蛋白, 并按照 1.2.3 节的步骤, 通过 SDS-PAGE 电泳、转移、封装和特异性抗原受体培养来评估 p-Smad2、p-Smad3、ASC 和 NLRP3 的表达量。

2.3. 统计学方法

使用 GraphPad Prism 9.5 软件对三组统计学分析结果进行了深入的研究, 其中计量资料的平方根和标准差($\bar{x} \pm s$)被作为衡量指标, 两组之间的差异则通过 t 检验来确定, 而多组之间的差异则通过单因素方差分析来确定。通过 GraphPad Prism 9.0.0 创建的数据可视化图表, 其中的 $P < 0.05$ 值小于等于 $P < 0.05$, 表明其存在显著的统计学变量。

3. 结果

3.1. 采用 MTT 法检测龙胆苦苷 HKF 增殖的影响结果

结果显示, 与空白对照组相比, 龙胆苦苷作用 24 h 后, 2.5~20 $\mu\text{g/mL}$ 各浓度均能显著抑制 KFs 增殖 ($P < 0.05$)。当龙胆苦苷浓度为 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 时, 细胞活力开始呈现浓度依赖性降低趋势, 差异具有统计学意义($t = 3.572, 5.099, 6.017, 8.621, 6.403, 18.97, 19.40, 16.63$, 均 $P < 0.05$)。然而, 当龙胆苦苷浓度 22.5 $\mu\text{g/mL}$ 时, 药物毒性增加, 细胞活力明显降低($t = 0.049, P > 0.05$)。因此, 后续实验选用 20 $\mu\text{g/mL}$ 龙胆苦苷进行观察(图 1)。

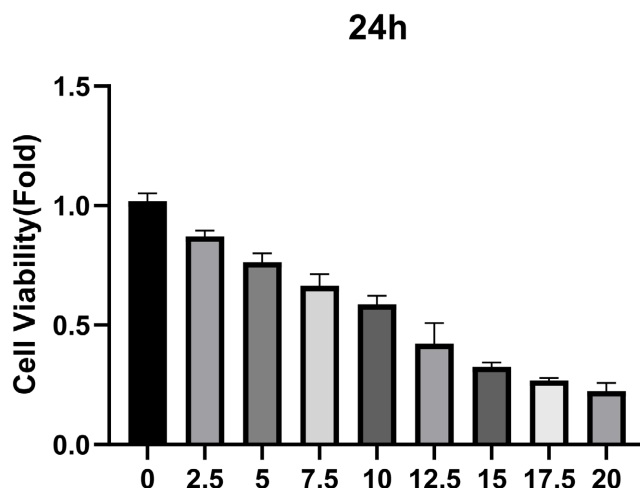


Figure 1. The effect of different concentrations of GPS on HKF proliferation after 24-hour treatment
图 1. 不同浓度 GPS 作用 24 h 后对 HKF 增殖的影响

3.2. 采用细胞划痕实验检测 20 $\mu\text{g/mL}$ 龙胆苦苷对 KFs 迁移能力的影响结果。

结果显示: 培养 24 h 后, 与空白对照组相比, 20 $\mu\text{g/mL}$ 龙胆苦苷组细胞划痕间距略宽; 培养 48 h 后, 空白对照组划痕间距明显变窄, 而 20 $\mu\text{g/mL}$ 龙胆苦苷划痕间距仍较明显, 虽较 24 h 时有一定愈合倾向, 但与同时点空白对照组相比, 愈合速度显著减慢。且差异有统计学意义(24 h: $t = 15.13, P < 0.01$; 48 h: $t = 22.41, P < 0.05$)。由结果可知上述结果表明, 龙胆苦苷可显著抑制 HKF 的迁移能力(图 2)。

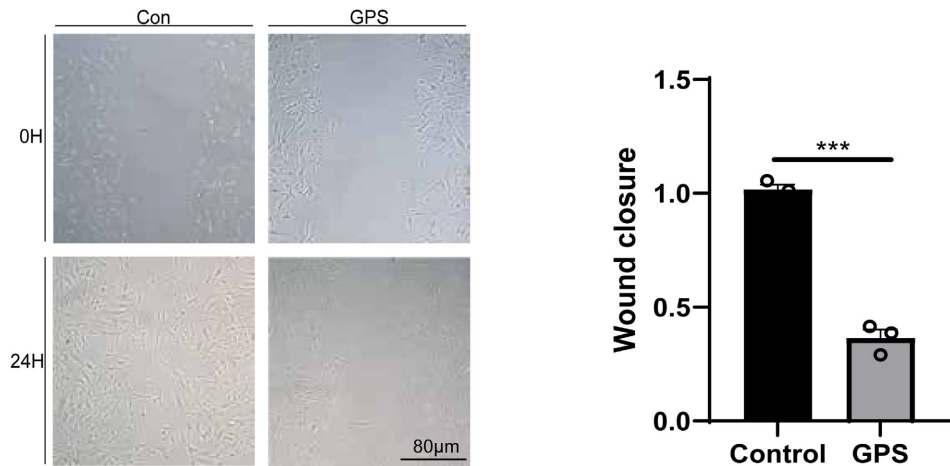


Figure 2. The effect on HKF migration before and after GPS treatment
图 2. GPS 处理前后对 HKF 迁移的影响

3.3. 采用 Western Blot 法检测不同浓度龙胆苦苷对 HKF 中细胞外基质(ECM)相关蛋白 Collagen I、Collagen III 及纤维连接蛋白(FN)表达的影响结果

结果显示：差异有统计学意义($t_{FN1} = 7.737$, $P < 0.01$; $t_{\alpha-SMA} = 11.81$, $P < 0.01$; $t_{COL I} = 4.539$, $P < 0.05$; $t_{COL III} = 5.182$, $P < 0.01$)。Western blot 结果显示：与对照组相比，实验组 FN1、 α -SMA、COL I、COL III 蛋白表达量显著降低(图 3)。

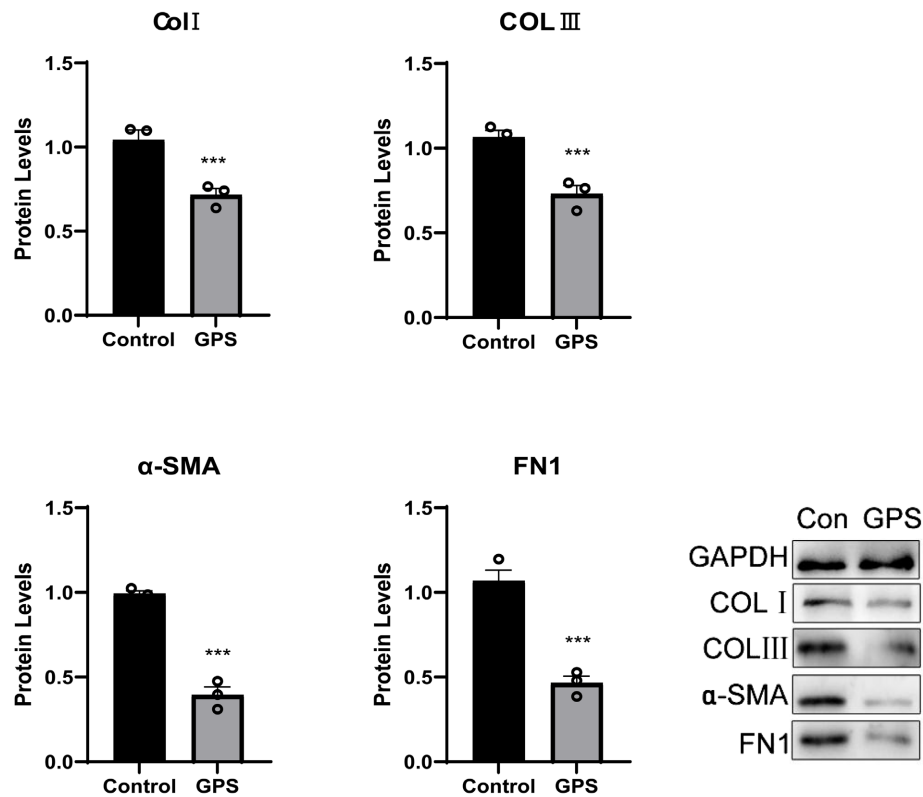


Figure 3. The effect on HKF migration before and after GPS treatment
图 3. GPS 对 HKF 细胞外基质形成相关蛋白表达水平的影响

3.4. 通过 Western Blot 技术检测龙胆苦苷对 HKF 细胞中 TGF-β1/Smad 信号通路关键蛋白表达的影响结果

经 Western blot 检测，模型组 HKF 中的 NLRP3、ASC、Smad2、Smad3、p-Smad2 和 p-Smad3 蛋白的表达量明显高于对照组；而 TGF-β1 + GPS 组的 HKF 蛋白的表达量则有所下降。差异有统计学意义 (FASC = 11.66, P < 0.01; FNLRP3 = 7.950, P < 0.01; FSmsd2 = 7.982, P < 0.01; FSmad3 = 6.948, P < 0.01; Fp-smad2 = 6.001, P < 0.01; Fp-smad3 = 7.026, P < 0.01) (图 4)。

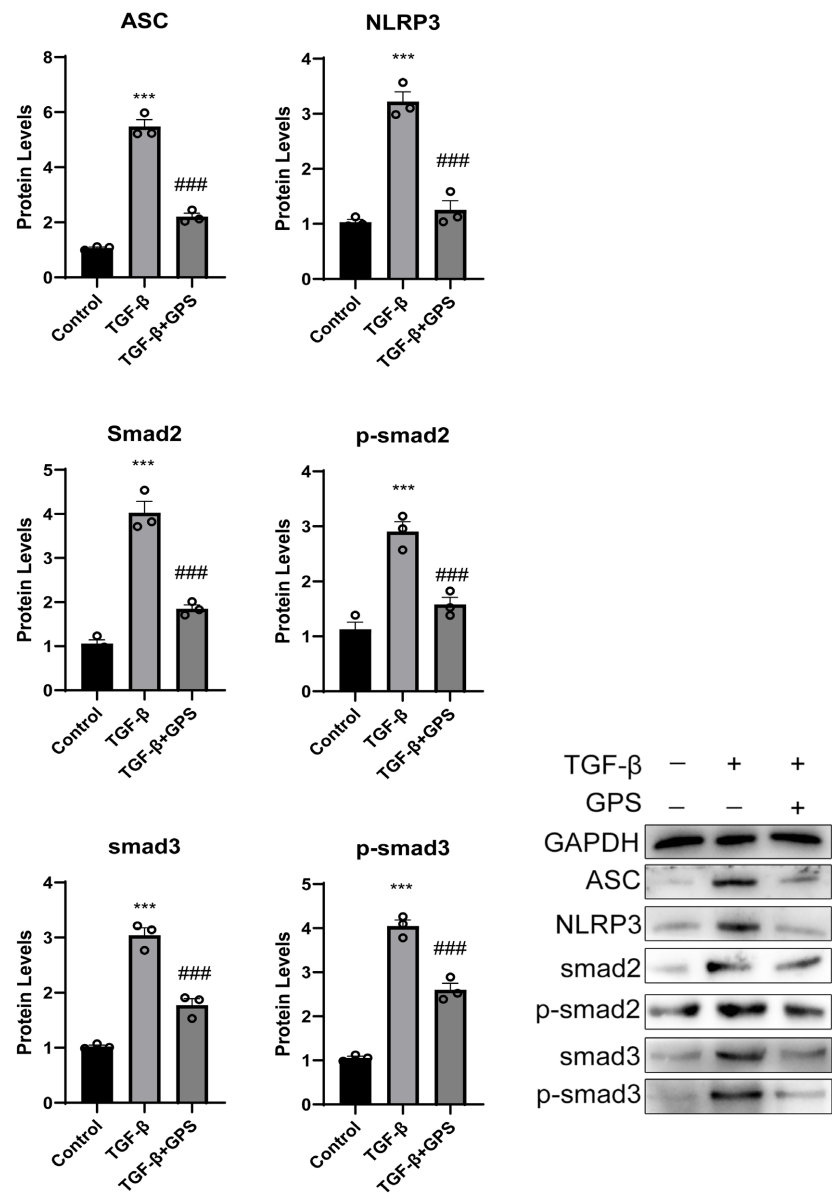


Figure 4. The effect of GPS on the expression levels of extracellular matrix formation-related proteins in HKF
图 4. GPS 对 HKF 内 TGF-β1 诱导的相关蛋白表达水平的影响

4. 讨论

当前，瘢痕疙瘩的临床治疗手段涵盖手术、药物干预、放射治疗、激光疗法及压迫治疗等，临床实

践中多采用联合治疗方案,然而其复发率居高不下,仍是临床治疗领域的一大难题[5]。瘢痕疙瘩的发生发展以 HKF 的异常激活为关键驱动因素,该细胞呈现肿瘤样生物学特性,具体表现为不受调控的增殖活性、侵袭性迁移能力及凋亡抵抗现象[6]。与普通瘢痕不同,瘢痕疙瘩被部分学者称为“良性真皮肿瘤”,TGF- β 1/Smad 作为参与瘢痕疙瘩发病机制中的经典信号通路,在瘢痕和纤维化中都发挥了关键作用[7][8]。本实验结果显示,龙胆苦苷可呈浓度依赖性降低 HKF 的存活率,并抑制其划痕愈合能力;其通过阻断 HKF 的过度增殖与迁移过程,从而限制瘢痕疙瘩突破原始损伤边界的侵袭性生长。TGF- β 和 Smad 信号通路被认为是调节瘢痕疙瘩纤维化的重要机制,前者的作用更为显著,可以将 Smad2/3 蛋白的磷酸化反应引发,从而促使纤维化相关的基因被正确的调控[9]。经过这项研究,我们发现龙胆苦苷对于阻止疤痕形成的纤维细胞生长起到了重要作用,这很可能是由于它对 TGF- β 1/Smad 信号传导的调节。细胞外基质(ECM)的过度沉积是瘢痕疙瘩的典型病理特征,主要与 I 型胶原(Collagen I)、III 型胶原(Collagen III)、纤维连接蛋白 1(FN1)及 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)的异常合成与降解失衡相关。本实验中,龙胆苦苷被证实可降低瘢痕疙瘩成纤维细胞中 Collagen I、III 的表达水平,并抑制 α -SMA 阳性肌成纤维细胞的活化,进而减轻瘢痕疙瘩的纤维化程度。根据最新的研究结果,龙胆苦苷能够有效地降低 TGF- β 1 的表达,从而有效地阻止 Smad2/3 的磷酸化和核转位[10];此外,它还能够有效地阻止 T β RI/II 受体和 Smad 蛋白之间的交互,从而降低 Collagen I 的基因表达。

炎症反应可以被视为促使瘢痕形成的关键机理,而 NLRP3 炎症细胞的活跃可以促使促炎物质(如 IL-1 β 和 IL-18)的产生,从而增强 HKF 和 ECM 的沉积[11]。龙胆苦苷可以显著降低 NLRP3 炎症细胞的表达,从而缓解痛风性关节炎和溃疡性结肠炎的炎症状况[12]-[14]。本实验结果显示,龙胆苦苷可降低瘢痕疙瘩模型中 NLRP3、ASC 蛋白的表达水平,提示其可能通过抑制 NLRP3 炎症小体介导的“炎症-纤维化”正反馈环路,实现抗炎与抗纤维化的协同作用。这一效应可能与 TGF- β /Smad 通路的抑制存在交叉调控:NLRP3 炎症小体的活化可上调 TGF- β 1 的表达,而 TGF- β 1 也能反式激活 NLRP3 [15],因此龙胆苦苷对二者的同步抑制可能更有效地阻断瘢痕疙瘩的病理进展。

本研究证实,龙胆苦苷可通过抑制 KFs 的增殖与迁移、减少 ECM 沉积、调控 TGF- β /Smad 通路及 NLRP3 炎症小体,发挥抗瘢痕疙瘩作用,为临床治疗提供了新的天然药物候选。与传统药物相比,龙胆苦苷来源广泛、毒性较低,且具有多靶点协同作用的优势,有望解决单一靶点治疗易产生耐药性的问题[16]。不过,本研究仍存在一定局限性:瘢痕疙瘩作为人类特有的病理性瘢痕,体外培养的成纤维细胞与体内微环境中的细胞在生物学行为上可能存在差异,这主要与其所处的复杂生物学微环境(如细胞外基质、局部代谢状态等)及细胞因子网络调控密切相关。因此,龙胆苦苷在瘢痕疙瘩发病机制中的具体调控作用及分子机制,仍需后续更深入、系统的实验研究来进一步阐明。下一步研究可通过动物模型(如兔耳瘢痕模型、裸鼠人瘢痕疙瘩移植模型)验证其体内疗效。

基金项目

安徽医科大学临床科学基金(编号:2021xkj170)《IGF1 通过抑制 Notch 信号通路介导血管瘤干细胞成脂分化的研究》。

参考文献

- [1] Berman, B., Maderal, A. and Raphael, B. (2017) Keloids and Hypertrophic Scars: Pathophysiology, Classification, and Treatment. *Dermatologic Surgery*, 43, S3-S18. <https://doi.org/10.1097/dss.0000000000000819>
- [2] 王若涵, 张霄霏, 孙佳, 等. TGF- β 及 Smad 家族在瘢痕疙瘩形成中作用的研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2022, 44(10): 2051-2056.
- [3] 刘丹, 李玲霞, 吴锦艳, 等. NLRP3 炎症小体及其调控机制研究进展[J]. 动物医学进展, 2020, 41(12): 90-95.

- [4] 刘滨, 郭大东. 龙胆苦苷治疗免疫相关疾病的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(11): 5999-6002.
- [5] Ud-Din, S. and Bayat, A. (2020) Keloid Scarring or Disease: Unresolved Quasi-Neoplastic Tendencies in the Human Skin. *Wound Repair and Regeneration*, **28**, 422-426. <https://doi.org/10.1111/wrr.12793>
- [6] Wu, Z., Zhang, H., Zhou, Z., Li, Z., Liao, S., Wu, Z., *et al.* (2021) The Effect of Inhibiting Exosomes Derived from Adipose-Derived Stem Cells via the TGF- β 1/SMAD Pathway on the Fibrosis of Keloid Fibroblasts. *Gland Surgery*, **10**, 1046-1056. <https://doi.org/10.21037/gs-21-4>
- [7] 王继绪, 朱英斌, 陈茂丽, 等. 龙胆苦苷通过调节肝星状细胞中 MIF-SPP1 信号通路预防巨噬细胞介导的肝纤维化机制研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2025, 41(7): 593-602.
- [8] Harre, U. and Schett, G. (2017) Cellular and Molecular Pathways of Structural Damage in Rheumatoid Arthritis. *Seminars in Immunopathology*, **39**, 355-363. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0634-0>
- [9] Gandhi, T., Patel, A., Gupta, D., Pandya, H. and Chandel, A. (2023) Repositioning Glibenclamide in Cardiac Fibrosis by Targeting TGF- β 1-pSmad2/3-NLRP3 Cascade. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **478**, 2281-2295. <https://doi.org/10.1007/s11010-023-04659-6>
- [10] Zhang, T., Wang, X., Wang, Z., Lou, D., Fang, Q., Hu, Y., *et al.* (2020) Current Potential Therapeutic Strategies Targeting the TGF- β /Smad Signaling Pathway to Attenuate Keloid and Hypertrophic Scar Formation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **129**, Article ID: 110287. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110287>
- [11] Safiri, S., Kolahi, A.A., Hoy, D., Smith, E., Bettampadi, D., Mansournia, M.A., *et al.* (2019) Global, Regional and National Burden of Rheumatoid Arthritis 1990-2017: A Systematic Analysis of the Global Burden of Disease Study 2017. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **78**, 1463-1471. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2019-215920>
- [12] 谢小倩, 李贺, 王亚乐, 等. 龙胆苦苷对佐剂性关节炎大鼠的抗炎作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(6): 58-63.
- [13] 赵传怡. 牛白藤中龙胆苦苷治疗类风湿关节炎及其代谢组学研究[D]: [硕士学位论文]. 汕头: 汕头大学, 2021.
- [14] Ahmad Khan, M., Sarwar, A.H.M.G., Rahat, R., Ahmed, R.S. and Umar, S. (2020) Stigmasterol Protects Rats from Collagen Induced Arthritis by Inhibiting Proinflammatory Cytokines. *International Immunopharmacology*, **85**, Article ID: 106642. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106642>
- [15] Schett, G., Zwerina, J. and Firestein, G. (2008) The P38 Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) Pathway in Rheumatoid Arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **67**, 909-916. <https://doi.org/10.1136/ard.2007.074278>
- [16] Wang, M., Li, H., Wang, Y., Hao, Y., Huang, Y., Wang, X., *et al.* (2020) Anti-Rheumatic Properties of Gentiopicroside Are Associated with Suppression of Ros-NF- κ B-NLRP3 Axis in Fibroblast-Like Synoviocytes and NF- κ B Pathway in Adjuvant-Induced Arthritis. *Frontiers in Pharmacology*, **11**, Article 515. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00515>