

Anti-Inflammatory Effect of *Echinacea purpurea* Polysaccharide (EPS) on the Pulmonary Macrophage cell line Raw264.7 in Mice

Qing-hui JIA ¹, Qiao-ling LI ², Tong-lei WU ², Zhi-qiang ZHANG ², Qiu-mei SHI ² & Zhong-jie LIU ¹ *

¹ Department of Veterinary Clinic Medicine, College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Yuanmingyuanwest road No. 2, 100193, Haidian District, Beijing, China

² College of Animal Science and Technology, Hebei Normal University of Science and Technology, Hebei street No. 360, 066004 Qinhuangdao, Hebei, China

SUMMARY. *Echinacea purpurea* polysaccharide (EPS) has anti-inflammatory and immunomodulatory effects on macrophages and many cytokines involved in immune regulation or inflammatory response. To prove that EPS have inhibiting pneumonia effects on Raw264.7 cells and how these effects work, we used enzyme-linked immunosorbent assay, real-time fluorescence quantitative PCR and western blot assays. After Raw264.7 cells treatment with EPS 12 h, and stimulated by lipopolysaccharide(LPS) for 6 h, the concentrations and the relative mRNA expression level of TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-8 were increased compared with control group ($p < 0.01$, $p < 0.05$), while EPS group could significantly inhibited the increase of proinflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-8) compared with LPS group ($p < 0.05$), while it could significantly inhibit the relative mRNA expression of proinflammatory cytokines (TNF- α and IL-1 β). The western blot results showed that EPS promoted the protein levels of NF- κ Bp65, p38, and inhibited the protein levels of p-ERK ($p < 0.01$), NF- κ Bp-p65 ($p < 0.05$), p-p38 ($p < 0.05$), I κ B- α , p-I κ B- α , JNK, p-JNK, and ERK compared with LPS group. The effects of inflammatory response by EPS may be related to the effective inhibition the secretion of proinflammatory cytokines, the expression of NF- κ Bp-p65, and the activation of MAPK signaling pathway.

RESUMEN. El polisacárido de *Echinacea purpurea* (EPS) tiene efectos antiinflamatorios e inmunomoduladores sobre los macrófagos y muchas citocinas involucradas en la regulación inmune o la respuesta inflamatoria. Para demostrar que EPS ha inhibido los efectos de la neumonía en las células Raw264.7 y cómo funcionan estos efectos, utilizamos el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas, la PCR cuantitativa de fluorescencia en tiempo real y los ensayos de Western Blot. Después del tratamiento de células Raw264.7 con EPS por 12 h, y estimuladas por lipopolisacárido (LPS) durante 6 h, las concentraciones y el nivel relativo de expresión de ARNm de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-8 aumentaron en comparación con el grupo control ($p < 0.01$, $p < 0.05$), mientras que el grupo EPS podría inhibir significativamente el aumento de citoquinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-8) en comparación con el grupo LPS ($p < 0.05$), y podría inhibir significativamente la expresión relativa de mRNA de citoquinas proinflamatorias (TNF- α , e IL-1 β). Los resultados de Western Blot mostraron que EPS promovió los niveles de proteína de NF- κ Bp65, p38, e inhibió los niveles de proteína de p-ERK ($p < 0,01$), NF- κ Bp-p65 ($p < 0,05$), p-p38 ($p < 0,05$), I κ B- α , p-I κ B- α , JNK, p-JNK y ERK en comparación con el grupo LPS. Los efectos de la respuesta inflamatoria de los polisacáridos de *Echinacea* se relacionaron quizás con la inhibición efectiva de la secreción de citocinas proinflamatorias, la expresión de NF- κ Bp-p65 y la activación de la vía de señalización de MAPK.

KEY WORDS: *Echinacea purpurea* polysaccharide (EPS), lipopolysaccharide, proinflammatory cytokines, mRNA, protein expression, signal pathway.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: zhongjieliu@cau.edu.cn