



Hydroxysafflor Yellow A Improves Collagen-induced Arthritis by Regulating Treg/Th17 Balance in Mice

Xiao-Chen LIU^{1,2}, Xu-Chang LIU³, Jing-Cai XUE⁴ & Shui SUN^{1*}

¹ Department of Joint Surgery, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, 324 Jingwuweiqi Road, Huaiyin District, Jinan 250021, Shandong, China

² Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, 16369 Jingshi Road, Lixia District, Jinan 250014, Shandong, China

³ Emergency Surgery, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, 324 Jingwuweiqi Road, Huaiyin District, Jinan 250021, Shandong, China

⁴ Department of Orthopedics, The Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan, Shandong, China

SUMMARY. To explore the immune mechanism of hydroxysafflor yellow A (HSYA) in the treatment of collagen-induced arthritis (CIA) mice by increasing MEKK2 protein expression in the MAPK signaling pathway, and regulating the Treg/Th17 ratio in spleen lymphocytes, a mouse model of arthritis was induced by chicken type II collagen, and randomly divided into NC group, model group and HSYA group. The degree of pathological injury of mouse joints in each group was compared by using HE staining. Collagen hyperplasia in each group was observed by Masson staining. The Treg/Th17 ratio in spleen lymphocytes was detected with flow cytometry. The mRNA and protein expression of related transcription factors and inflammatory factors including Foxp3, ROR- γ t, and IL-17 were determined using RT-PCR and WB. The expression of MEKK2 protein in spleen lymphocytes was detected. The results showed that HSYA treatment could reduce the severity of arthritis in mice and collagen fiber hyperplasia on the cartilage surface and joints. Compared with the NC group, Treg proportion in spleen lymphocytes decreased while Th17 proportion increased in the model group ($P < 0.01$). After HSYA treatment, Treg proportion was significantly increased ($P < 0.01$) while Th17 proportion was decreased ($P < 0.01$). The expression of MEKK2 protein in spleen lymphocytes of the model group was lower than that of the normal group ($P < 0.01$). After HSYA treatment, the expression of MEKK2 protein increased significantly ($P < 0.01$). Therefore, this study suggests that MEKK2 protein plays an important role in the pathogenesis of model. HSYA may play a role in the treatment of RA by increasing MEKK2 protein expression and affecting the Treg/Th17 ratio.

RESUMEN. Para explorar el mecanismo inmune del hidroxisafflor amarillo A (HSYA) en el tratamiento de ratones con artritis inducida por colágeno (CIA) al aumentar la expresión de la proteína MEKK2 en la vía de señalización MAPK y regular la relación Treg/Th17 en linfocitos de bazo, un modelo de ratón de la artritis fue inducida por colágeno de pollo tipo II, y dividida aleatoriamente en grupo NC, grupo modelo y grupo HSYA. El grado de lesión patológica de las articulaciones del ratón en cada grupo se comparó mediante el uso de tinción HE. La hiperplasia de colágeno en cada grupo se observó mediante tinción de Masson. La relación Treg/Th17 en linfocitos de bazo se detectó con citometría de flujo. El ARNm y la expresión de proteínas de factores de transcripción relacionados y factores inflamatorios que incluyen Foxp3, ROR- γ t e IL-17 se determinaron usando RT-PCR y WB. Se detectó la expresión de la proteína MEKK2 en los linfocitos del bazo. Los resultados mostraron que el tratamiento HSYA podría reducir la gravedad de la artritis en ratones y la hiperplasia de fibra de colágeno en la superficie del cartílago y las articulaciones. En comparación con el grupo NC, la proporción Treg en los linfocitos del bazo disminuyó mientras que la proporción Th17 aumentó en el grupo modelo ($P < 0.01$). Después del tratamiento con HSYA, la proporción Treg aumentó significativamente ($P < 0.01$) mientras que la proporción Th17 disminuyó ($P < 0.01$). La expresión de la proteína MEKK2 en los linfocitos del bazo del grupo modelo fue menor que la del grupo normal ($P < 0.01$). Después del tratamiento con HSYA, la expresión de la proteína MEKK2 aumentó significativamente ($P < 0.01$). Por lo tanto, este estudio sugiere que la proteína MEKK2 juega un papel importante en la patogénesis del modelo. HSYA puede desempeñar un papel en el tratamiento de la AR al aumentar la expresión de la proteína MEKK2 y afectar la relación Treg/Th17.

KEY WORDS: collagen-induced arthritis model, hydroxysafflor yellow A, MEKK2, rheumatoid arthritis, Treg/Th17 balance

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: sunshui1022@hotmail.com