

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.19.001

· 基础研究 ·

二氢青蒿素对超高分子量聚乙烯颗粒诱导的巨噬细胞源性炎性因子释放的影响*

李鹏飞 曹晓瑞 杨重飞 郭强 于立峰 吴宁 王华溢 张大伟 朱锦宇[△] 朱庆生[△]

(第四军医大学西京医院骨科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:研究二氢青蒿素(Dihydroartemisinin, DHA)对超高分子量聚乙烯(Ultra high molecular weight polyethylene, UHMWPE)颗粒诱导的小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 细胞源性炎性因子释放的影响。**方法:**建立 UHMWPE 颗粒诱导的小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 细胞源性炎性因子释放模型;施加不同浓度的二氢青蒿素观察药物对细胞的影响,酶联免疫分析法(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测细胞培养液上清中 TNF- α , IL-1 β , IL-6 和 IL-10 含量,MTT 法检测细胞毒性反应。**结果:**酶联免疫分析方法结果表明,二氢青蒿素可以显著抑制由 UHMWPE 颗粒诱导的小鼠 RAW264.7 细胞促炎细胞因子 TNF- α , IL-1 和 IL-6 的表达,并显著促进抗炎因子 IL-10 的释放,其效应具有剂量依赖性。**结论:**二氢青蒿素具有显著的抗炎作用,可以抑制 UHMWPE 颗粒诱导的巨噬细胞炎症反应,其在预防人工关节置换术后假体无菌性松动的药物治疗方面具有潜在的作用。

关键词:二氢青蒿素;UHMWPE 颗粒;巨噬细胞;炎性因子

中图分类号:R3, R285.5, R68 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)19-3601-05

The Effects of Dihydroartemisinin on Macrophage-derived Inflammatory Factor Production Induced by UHMWPE Particles*

LI Peng-fei, CAO Xiao-rui, YANG Chong-fei, GUO Qiang, YU Li-feng,

WU Ning, WANG Hua-yi, ZHANG Da-wei, ZHU Jin-yu[△], ZHU Qing-sheng[△]

(The Orthopedics Institute, Xijing Hospital, The fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of dihydroartemisinin on the production of inflammatory factors induced by UHMWPE particles in mouse macrophage cell line RAW264.7. **Methods:** UHMWPE particles were used to establish inflammatory factors production model in RAW264.7 cell and it was treated with dihydroartemisinin on different concentrations. The contents of TNF- α , IL-1, IL-6 and IL-10 in the supernatant of cell culture medium were detected by ELISA. MTT assay was adopted to detect the cytotoxicity of dihydroartemisinin. **Results:** Dihydroartemisinin could significantly inhibit the secretion of TNF- α , IL-1 and IL-6 in RAW264.7 cells induced by UHMWPE particles while promote the content of anti-inflammatory factor IL-10 in a dose-dependent manner. **Conclusions:** Dihydroartemisinin can significantly inhibit the proinflammatory effects of macrophage induced by UHMWPE particles, which indicates that it plays a potential role in drug treatment for prevention of aseptic loosening after artificial joint replacement surgery.

Key words: Dihydroartemisinin; UHMWPE particles; Macrophage; Inflammatory factor

Chinese Library Classification: R3, R285.5, R68 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)19-3601-05

前言

随着人口老龄化及人口预期寿命的增加,人工关节置换术越来越得到广泛的应用。人工关节置换术已经成为治疗终末期骨关节疾病的最有效方法。然而由此出现的新的难题,即如何缓解假体周围骨溶解所带来的不利影响。假体周围骨溶解后所继发的无菌性松动是人工关节置换术后关节翻修的重要原因之一^[1]。在金属-聚乙烯摩擦界面中产生的 UHMWPE 颗粒诱

发假体周围界膜组织内巨噬细胞产生一系列生物学反应,导致假体周围骨溶解,是人工关节无菌性松动最常见的原因之一^[2]。关于破骨细胞生成和活化的最新研究表明,骨髓来源巨噬细胞在人工关节置术后假体周围骨溶解的发病过程中起到双重作用。一方面界膜组织中大量的巨噬细胞吞噬 UHMWPE 颗粒产生 TNF- α , IL-1 和 IL-6 等促炎细胞因子形成炎性正反馈循环,行使细胞宿主防御反应。另一方面在接下来的骨吸收过程中作为破骨细胞前体,进一步分化为具有骨吸收功能的成熟破骨细

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81301541)

作者简介:李鹏飞(1986-),男,硕士研究生,主要研究方向:骨与关节,电话:13720758803, E-mail:13720758803@163.com

[△] 通讯作者:朱庆生, E-mail:Zhuqsh@fmmu.edu.cn; 朱锦宇, E-mail:Zhujinyu@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2013-12-30 接受日期:2014-01-25)

胞,最终导致假体周围骨溶解及无菌性松动的发生^[9]。

根据活化状态和发挥功能的不同,巨噬细胞主要可分为 M1 型即经典活化的巨噬细胞和 M2 型即替代性活化的巨噬细胞。M1 型巨噬细胞可分泌大量的促炎性细胞因子,如 TNF- α , IL-1 和 IL-6 等。而 M2 型巨噬细胞高表达抑炎细胞因子 IL-10^[45]。TNF- α , IL-1 和 IL-6 等促炎性细胞因子可以刺激成骨细胞表达 RANKL 和 M-CSF,通过作用于 RANK-RANKL-OPG 信号通路,促使破骨细胞的形成和活化,导致假体周围骨溶解及骨吸收^[3,6-8]。L-10 可显著抑制由颗粒诱导的 RAW264.7 细胞释放 TNF- α 和 IL-6 等促炎细胞因子,从而抑制破骨细胞的形成和骨吸收^[9]。因此,预防和治疗假体周围骨溶解及无菌性松动的关键就在于抑制巨噬细胞的炎性激活。

青蒿素(artemisinin)是从菊科植物黄花蒿中提取分离出的一种具有过氧桥结构的新型倍半萜内酯类化合物,目前其是我国首创的一类高效低毒的新型抗疟单体^[10]。二氢青蒿素(dihydroartemisinin,DHA)是青蒿素的半合成衍生物,是青蒿素及其他衍生物在体内的代谢产物和有效成份^[11-13]。近年来的研究表明,青蒿素及其他衍生物具有较强的免疫调节及抗炎作用^[14],通过抑制 MAPK 和 NF- κ B 炎性信号通路,可以显著的抑制促炎细胞因子 TNF- α , IL-1, IL-6 等的产生^[10,15-17]。

本实验通过 UHMWPE 颗粒在体外巨噬细胞培养体系中诱导小鼠源性巨噬细胞 RAW264.7 释放炎症因子,观察二氢青蒿素是否可以抑制促炎症因子的释放,并促进抑炎细胞因子的生成,探讨二氢青蒿素在人工关节无菌性松动防治应用中的可能性。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 药物与细胞系 二氢青蒿素(DHA)(纯度>99.9%,sigma 公司,美国),用二甲基亚砜(Dimethyl sulfoxide,DMSO)溶解,超声助溶,-20℃保存。实验前用培养基稀释至所需浓度(DMSO 终浓度小于 0.1%^[17])。小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 购自美国模式培养物保藏所(美国菌种保藏中心,美国)。

1.1.2 主要试剂和仪器 内毒素检测试剂盒、二甲基亚砜、牛 I 型胶原(sigma 公司,美国);RPMI-1640 培养基、胎牛血清、0.25%胰酶消化液、MTT 试剂(Hyclone 公司,美国);酶联免疫试剂盒(R&D 公司,美国);22×22 μ m 盖玻片(上海鼎杰生物科技有限公司);冰醋酸(台山市新宁制药有限公司);SB25-120DT 型超声波清洗机(上海予腾生物科技有限公司);倒置光学显微镜(Olympus,日本);BIO-RAD 550 型酶标仪(Bio-Rad 公司,美国)。

1.1.3 UHMWPE 颗粒 UHMWPE 颗粒有德国的 Mr.Ernst Krendlinger 先生惠赠。经扫描电镜(Hitachi,Osaka,japan)分析证实 UHMWPE 颗粒的直径范围是 0.05-11.06 μ m,其中 90%的颗粒直径小于 9 μ m,平均为 1.74±1.43 μ m。绝大多数颗粒的大小都位于生物活性范围之内^[18]。所有的颗粒都用乙醇冲洗以去除内毒素,并经内毒素检测试剂盒证实无内毒素存留。使用前经 γ 射线 Co-60 照射消毒,-4℃保存。

1.2 方法

1.2.1 UHMWPE 颗粒玻片的制备 由于 UHMWPE 颗粒密度

小于 1 g/cm³,而 RAW264.7 细胞是贴壁细胞。若将其直接置于液体培养基内时,会漂浮于液体培养基表面而无法与贴壁的细胞相接触,因此,根据 Voronov 等人的方法来制备 UHMWPE 颗粒玻片^[9]。方法如下:1 g UHMWPE 颗粒与 0.5 mL DMSO 混悬于无菌的石英研中,用研磨杵混匀。然后用 14.5 mL 储存于 4℃的 0.01%牛 I 型胶原单体溶液重悬。库尔特计数器计数后,将颗粒的终浓度调整到 10⁷/mL,储于 4℃待用。盖玻片(22×22 μ m)用干热消毒法进行消毒。取 10 μ L 的颗粒混悬液(10⁵个/10 μ L)均匀涂于盖玻片表面并转移至室温条件下进行胶原聚合反应。同时将 10 μ L 同样比例混合的 DMSO 和牛 I 型胶原的混合液涂于盖玻片表面作为空白对照。将上述制备好的玻片放置于无菌的 6 孔板内,紫外照射消毒,密封包装,储存于 4℃备用。

1.2.2 细胞培养 小鼠 RAW264.7 细胞加入含 10%胎牛血清,100 IU/ml 青霉素 G,100 μ g/ml 链霉素的 RPMI-1640 培养基,置于 5% CO₂,37℃恒温培养箱中生长。当细胞密度达到 80-90%时,将细胞重悬至终浓度为 5×10⁵个细胞/mL。细胞以 1×10⁶个/2 mL/每孔接种于预先准备好的含有玻片的 6 孔板中,给药组同时分别加入不同浓度的二氢青蒿素(2.5,25,250 μ mol/L)^[20]。同时设立空白对照组,阳性对照组(表 1)。然后培养 24 小时。每次培养结束后,收集培养液上清,-80℃保存。RAW264.7 细胞镜下吞噬情况观察(图 1)。

1.2.3 DHA 对细胞活力影响的测定 采用 MTT 法检测二氢青蒿素对小鼠 RAW264.7 细胞活力的影响。取对数生长期的 RAW264.7 细胞,调整细胞悬液浓度为 1×10⁴个细胞/ml,分别加入到 96 孔板中,每孔 200 μ L,置于 5% CO₂,37℃恒温培养箱培养 2 小时后,用药组分别加入 2.5,25,250 μ mol/L 的二氢青蒿素,每组设 6 个复孔,继续培养至 24 小时。然后每孔加入 20 μ L MTT 溶液(5 mg/ml)。继续培养 4 小时。终止培养,每孔加入 150 μ L 二甲基亚砜,置摇床上低速震荡 10 分钟,使结晶物充分溶解。在酶联免疫检测仪 450 nm 出测量各孔的吸光值。并将空白对照组细胞活力计作 100%。实验重复 3 次。细胞的存活率(%)=(实验孔 OD 值 - 调零孔 OD 值)/(对照孔 OD 值 - 调零孔 OD 值)×100%

1.2.4 细胞因子的检测(ELISA) 培养液上清中 TNF- α ,IL-1,IL-6 和 IL-10 细胞因子的水平用美国 R&D 公司 ELISA 试剂盒按照说明书进行检测。

1.3 统计学分析

所有数据以均数±标准差(\bar{x} ±s)表示。采用 SPSS11.0 软件进行统计分析。使用单因素方差分析的方法(one-way ANOVA)以及 Bonferroni 分析对两组间结果进行比较。P 值<0.05

表 1 RAW264.7 细胞培养分组

Table 1 Grouping of RAW264.7 cells culture

Group	RAW264.7	UHMWPE Particle	Drug Dose (μ mol/L)
Control	(+)	(-)	0
Positive control	(+)	(+)	0
High Dose	(+)	(+)	2.5
Medium dose	(+)	(+)	25
Low Dose	(+)	(+)	250

时提示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 UHMWPE 颗粒对小鼠巨噬细胞源性炎症因子释放的影响

图 1A, 显微镜下, RAW264.7 细胞胞质清亮, 呈圆形或多边形。图 1B 和图 1C, 镜下视野可见巨噬细胞吞噬了大量 UHMWPE 颗粒。用 ELISA 试剂盒检测已经收集取样的细胞上

清液中 TNF- α , IL-1 β , IL-6 和 IL-10 含量(n=12), 如图 3 和图 4 所示, 经 UHMWPE 颗粒刺激的阳性对照组中小鼠 RAW264.7 细胞培养液上清中 TNF- α , IL-1 和 IL-6 的水平与未经 UHMWPE 颗粒刺激的空白对照组相比显著提高(P<0.01)。而 IL-10 阳性对照组的水平与空白对照组相比有所下降。表明 UHMWPE 颗粒可以诱导巨噬细胞炎症激活, 模型建立成功。

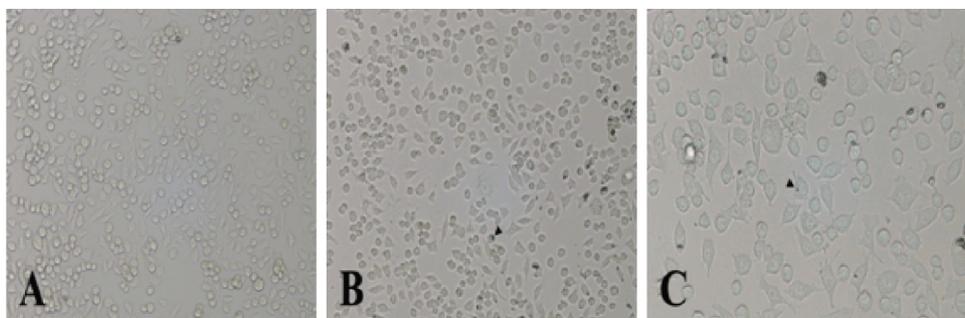


图 1 RAW264.7 吞噬 UHMWPE 颗粒图片

Fig. 1 The effects of RAW264.7 cells phagocytize UHMWPE particles by microscope

注:A:control ($\times 100$);B:positive control ($\times 100$);C:positive control ($\times 200$);▲,吞噬作用

Note:A:control ($\times 100$);B:positive control ($\times 100$);C:positive control ($\times 200$);▲,The phagocytosis of RAW264.7 cells

2.2 二氢青蒿素对细胞活力的影响

MTT 实验结果显示, 二氢青蒿素各浓度组细胞活力与空白对照组相比较无显著差异(P>0.05)。提示, 二氢青蒿素在 2.5-250 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内对小鼠 RAW264.7 细胞的活力无影响, 即在此浓度范围内无药物毒性作用(图 2)。

2.3 二氢青蒿素抑制 RAW264.7 细胞促炎因子 TNF- α , IL-1 和 IL-6 的产生

用 ELISA 试剂盒对已经收集取样的细胞上清液中促炎细胞因子 TNF- α , IL-1, IL-6 进行测定(n=12)。结果如图 3 所示, 经 UHMWPE 颗粒刺激的阳性对照组小鼠 RAW264.7 细胞培养液上清中 TNF- α , IL-1 和 IL-6 的水平与未经 UHMWPE 颗粒刺激的空白对照组相比显著提高(P<0.05)。观察用药组中, 二氢青蒿素可以显著抑制 RAW264.7 细胞中 TNF- α , IL-1 和 IL-6 的表达, 其效应具有剂量依赖性(P<0.05)。

2.4 二氢青蒿素促进 RAW264.7 细胞抗炎因子 IL-10 的释放

用 ELISA 试剂盒对已经收集取样的细胞上清液中抗炎因子 IL-10 进行测定(n=12)。结果如图 4 所示, 经 UHMWPE 颗粒刺激的阳性对照组小鼠 RAW264.7 细胞培养液上清中 IL-10

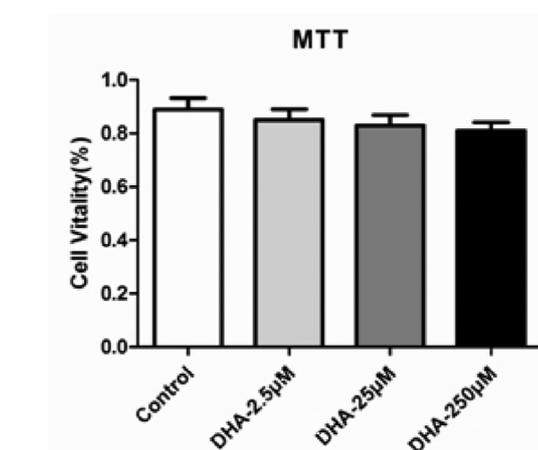


图 2 MTT 实验中各组细胞活力比较($\bar{x} \pm s$, n=15)

Fig. 2 Compaion of the cells vitality in each group by MTT assay

的水平与未经 UHMWPE 颗粒刺激的空白对照组相比有所下降。观察用药组中, 二氢青蒿素可以显著提高 RAW264.7 细胞中 IL-10 的释放, 其效应具有剂量依赖性(P<0.05)。

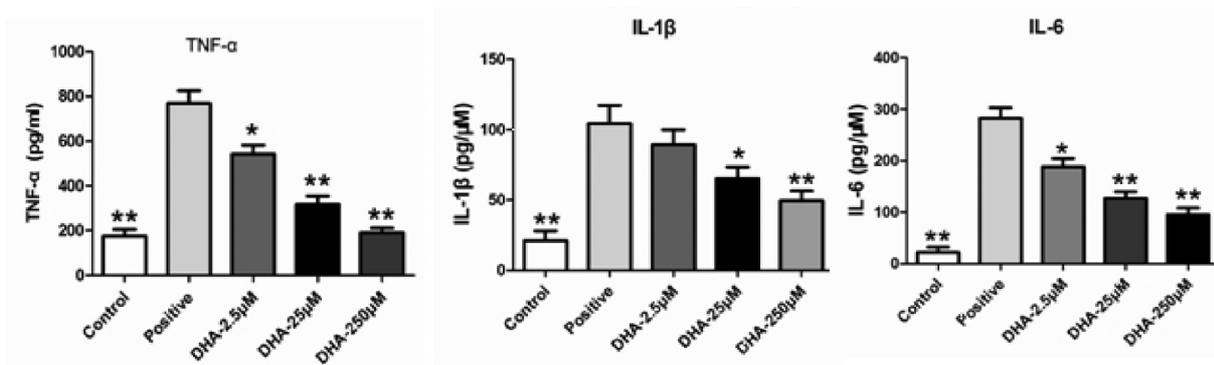


图 3 二氢青蒿素抑制促炎细胞因子 TNF- α , IL-1, IL-6 的释放($\bar{x} \pm s$, n=12)

Fig. 3 Dihydroartemisinin can inhibit the secretion of proinflammatory factors TNF- α , IL-1, IL-6($\bar{x} \pm s$, n=12)

注:*P<0.05, **P<0.05 VS 阳性对照组 Note:*P<0.05, ** P<0.05 VS positive control group

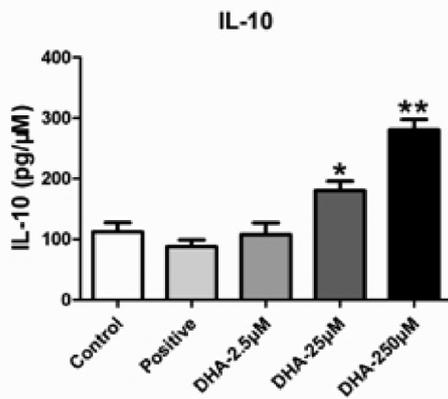


图4 二氢青蒿素促进抑炎细胞因子 IL-10 的释放($\bar{x} \pm s, n=12$)

Fig. 4 Dihydroartemisinin can promote the secretion of anti-inflammatory factor IL-10($\bar{x} \pm s, n=12$)

注:* $P < 0.05$, ** $P < 0.05$ VS 阳性对照组

Note:* $P < 0.05$, ** $P < 0.05$ VS positive control group

3 讨论

人工关节置换术是治疗终末期骨关节疾病的最有效方法,能达到解除关节疼痛、重建活动功能及提高生活质量的目的。假体周围骨溶解导致的无菌性松动是人工关节置换术后关节翻修的重要原因之一^[1-3]。传统的金属-聚乙烯界面的人工关节置换术后假体周围骨溶解的发生与假体周围界膜组织的形成密切相关,界膜组织中浸润有大量的巨噬细胞,炎性因子和UHMWPE颗粒,巨噬细胞占到了界膜组织中细胞数量的60%-80%^[6]。UHMWPE颗粒可以激活人工关节假体周围组织内的巨噬细胞。由磨损颗粒所激活的巨噬细胞可以产生大量的促炎性因子,如TNF- α ,IL-1和IL-6等,并可促使更多的巨噬细胞释放更多的炎性因子,形成一个炎性正反馈循环,从而打破有效关节腔内局部环境的骨代谢平衡稳态。TNF- α ,IL-1和IL-6等促炎性细胞因子可以刺激成骨细胞表达RANKL和M-CSF,通过作用于RANK-RANKL-OPG信号通路,并诱导巨噬细胞分化为破骨细胞前体,促使破骨细胞的形成和活化,导致假体周围骨溶解及骨吸收^[3,6-8]。IL-10抑制促炎性细胞因子的表达,通过抑制NFATc1,c-Fos和c-Jun的表达及阻止NFATc1进入细胞核,从而抑制破骨细胞活化,最终导致假体无菌性松动的发生^[2]。由此可见,UHMWPE颗粒诱导的巨噬细胞的激活在假体周围骨溶解的发病过程中起着极其重要的作用。

目前,有关UHMWPE颗粒作用于巨噬细胞的实验研究鲜有文献报道。因为UHMWPE颗粒密度小于1g/cm³,而RAW264.7细胞是贴壁细胞。若将其直接置于液体培养基内时,会漂浮于液体培养基表面而无法与贴壁的细胞相接触。文献报道的方法有倒置培养法^[2],固体培养基法^[23]和胶原粘附法^[19]。其中,倒置培养法需要设计特殊的实验装置,复杂而难以重复;固体培养基法不能很好地模拟体内的流体环境。本实验采用胶原粘附的方法,成功建立了体外细胞培养模型,有效模拟了人工关节假体置换术后UHMWPE颗粒刺激假体周围界膜组织中巨噬细胞的炎症反应,证实了颗粒对巨噬细胞的生物学作用。

巨噬细胞在假体周围骨溶解中发挥着重要的作用。目前根据活化状态和发挥功能的不同,巨噬细胞主要可分为M1型即经典活化的巨噬细胞和M2型即替代性活化的巨噬细胞。M1型巨噬细胞可由脂多糖和IFN- γ 刺激诱导产生,分泌促炎性细胞因子,有较强的吞噬杀菌作用;而M2型巨噬细胞由IL-4或IL-13诱导产生,高表达抑炎细胞因子IL-10,从而减少促炎细胞因子的分泌,参与终止炎症^[4,5]。Allison等研究表明,UHMWPE颗粒可以刺激人工关节假体周围组织内巨噬细胞的炎性激活,向促炎功能表型M1型巨噬细胞极化,产生大量的促炎细胞因子TNF- α ,IL-1和IL-6等,从而导致假体周围骨溶解及无菌性松动的发生^[24]。因此,我们推测青蒿素可抑制人工关节假体周围组织内的巨噬细胞M1型炎性激活,向抑炎功能表型M2转化,这有待进一步的实验证实。由此可见,调控巨噬细胞功能表型的转化可以成为预防假体周围骨溶解的一个潜在的治疗靶点。

青蒿素是我国首创的一类高效低毒的新型抗疟单体^[10]。二氢青蒿素是青蒿素及其他衍生物在体内的代谢产物和有效成份^[11-13]。研究表明,青蒿素及其衍生物除了具有抗疟作用外,还具有免疫调节及抗炎作用^[14]。在细胞分子水平,青蒿素及其衍生物通过抑制MAPK和NF- κ B炎性信号通路,可以显著的抑制促炎细胞因子TNF- α ,IL-1和IL-6的产生^[10,15,16]。国内外有大量的文献报道,青蒿素及其衍生物应用在变应性接触性皮炎^[14],类风湿性关节炎^[16],狼疮肾炎^[20]等疾病的治疗上。但青蒿素在防治人工关节置换术后假体无菌性松动方面鲜有文献报道。目前,非甾体类抗炎药、二磷酸盐类药物等西药制剂应用于临床防治人工关节置换术后假体无菌性松动,但这些药物不良反应明显,普遍不能长期使用。青蒿素作为一种中草药制剂,有着多年的临床用药史,安全低毒,因此,我们的研究是非常有临床应用价值和科研创新性的。

在本实验中,我们研究了二氢青蒿素对于UHMWPE颗粒所诱导的小鼠巨噬细胞系RAW264.7细胞炎性因子产生的影响。结果表明将RAW264.7细胞与UHMWPE颗粒共培养可以显著的提高促炎性细胞因子TNF- α ,IL-1和IL-6的产生。而二氢青蒿素不仅可以显著的抑制促炎性细胞因子TNF- α ,IL-1和IL-6的升高,同时还可以显著提高抗炎性细胞因子IL-10的释放,并且呈剂量依赖性关系。但本研究只从体外细胞培养体系中证实了二氢青蒿素的抗炎作用,其在人体中的作用有待进一步的体内实验证明。综上所述,本实验从细胞水平发现了一个有关磨损颗粒诱导的假体周围骨溶解防治的潜在的治疗靶点,为临床上应用药物治疗此类疾病提出了新的方向。

参考文献(References)

- [1] Gallo J, Goodman S B, Kontinen Y T, et al. Osteolysis around total knee arthroplasty: a review of pathogenetic mechanisms [J]. Acta Biomater, 2013, 9(9): 8046-8058
- [2] Purdue P E, Koulouvaris P, Potter H G, et al. The cellular and molecular biology of periprosthetic osteolysis [J]. Clin Orthop Relat Res, 2007, 454: 251-261
- [3] Ingham E, Fisher J. The role of macrophages in osteolysis of total joint

- replacement[J]. *Biomaterials*, 2005, 26(11): 1271-1286
- [4] Martinez F O, Sica A, Mantovani A, et al. Macrophage activation and polarization[J]. *Front Biosci*, 2008, 13: 453-461
- [5] Mantovani A, Sica A, Locati M. Macrophage polarization comes of age[J]. *Immunity*, 2005, 23(4): 344-346
- [6] Zupan J, Komadina R, Marc J. The relationship between osteoclastogenic and anti-osteoclastogenic pro-inflammatory cytokines differs in human osteoporotic and osteoarthritic bone tissues[J]. *J Biomed Sci*, 2012, 19: 28-28
- [7] Araujo A A, Lopes D S G, Souza T O, et al. Olmesartan decreases IL-1beta and TNF-alpha levels; downregulates MMP-2, MMP-9, COX-2, and RANKL; and upregulates OPG in experimental periodontitis [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2013, 386(10): 875-884
- [8] Kitaura H, Kimura K, Ishida M, et al. Immunological reaction in TNF-alpha-mediated osteoclast formation and bone resorption in vitro and in vivo[J]. *Clin Dev Immunol*, 2013, 2013: 1818-1849
- [9] Trindade M C, Lind M, Nakashima Y, et al. Interleukin-10 inhibits polymethylmethacrylate particle induced interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha release by human monocyte/macrophages in vitro[J]. *Biomaterials*, 2001, 22(15): 2067-2073
- [10] Wang Y, Huang Z, Wang L, et al. The anti-malarial artemisinin inhibits pro-inflammatory cytokines via the NF-kappaB canonical signaling pathway in PMA-induced THP-1 monocytes [J]. *Int J Mol Med*, 2011, 27(2): 233-241
- [11] Noori S, Hassan Z M, Taghikhani M, et al. Dihydroartemisinin can inhibit calmodulin, calmodulin-dependent phosphodiesterase activity and stimulate cellular immune responses [J]. *Int Immunopharmacol*, 2010, 10(2): 213-217
- [12] Chen H, Sun B, Pan S, et al. Dihydroartemisinin inhibits growth of pancreatic cancer cells in vitro and in vivo [J]. *Anticancer Drugs*, 2009, 20(2): 131-140
- [13] Zhao C, Gao W, Chen T. Synergistic induction of apoptosis in A549 cells by dihydroartemisinin and gemcitabine [J]. *Apoptosis*, 2014, 19(4): 668-681
- [14] Li T, Chen H, Wei N, et al. Anti-inflammatory and immunomodulatory mechanisms of artemisinin on contact hypersensitivity[J]. *Int Immunopharmacol*, 2012, 12(1): 144-150
- [15] Wang J X, Hou L F, Yang Y, et al. SM905, an artemisinin derivative, inhibited NO and pro-inflammatory cytokine production by suppressing MAPK and NF-kappaB pathways in RAW 264.7 macrophages[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2009, 30(10): 1428-1435
- [16] Xu H, He Y, Yang X, et al. Anti-malarial agent artesunate inhibits TNF-alpha-induced production of proinflammatory cytokines via inhibition of NF-kappaB and PI3 kinase/Akt signal pathway in human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2007, 46(6): 920-926
- [17] Kim H G, Yang J H, Han E H, et al. Inhibitory effect of dihydroartemisinin against phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression in macrophages[J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 56: 93-99
- [18] Yang C, Niu S, Yu L, et al. The aqueous extract of *Angelica sinensis*, a popular Chinese herb, inhibits wear debris-induced inflammatory osteolysis in mice[J]. *J Surg Res*, 2012, 176(2): 476-483
- [19] Voronov I, Santerre J P, Hinek A, et al. Macrophage phagocytosis of polyethylene particulate in vitro[J]. *J Biomed Mater Res*, 1998, 39(1): 40-51
- [20] Li W D, Dong Y J, Tu Y Y, et al. Dihydroartemisinin ameliorates lupus symptom of BXSB mice by inhibiting production of TNF-alpha and blocking the signaling pathway NF-kappa B translocation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2006, 6(8): 1243-1250
- [21] Mohamed S G, Sugiyama E, Shinoda K, et al. Interleukin-10 inhibits RANKL-mediated expression of NFATc1 in part via suppression of c-Fos and c-Jun in RAW264.7 cells and mouse bone marrow cells[J]. *Bone*, 2007, 41(4): 592-602
- [22] Fang HW, Ho YC, Yang CB, et al. Preparation of UHMWPE particles and establishment of inverted macrophage cell model to investigate wear particles induced bioactivities [J]. *Biochem Biophys Methods*, 2006, 68(3): 175-187
- [23] Ingram JH, Stone M, Fisher J, et al. The influence of molecular weight, crosslinking and counterface roughness on TNF-alpha production by macrophages in response to ultra high molecular weight polyethylene particles[J]. *Biomaterials*, 2004, 25(17): 3511-3522
- [24] Rao A J, Gibon E, Ma T, et al. Revision joint replacement, wear particles, and macrophage polarization[J]. *Acta Biomater*, 2012, 8(7): 2815-2823