Лютеолин-гадолиниум нэгдлийн C48/80-өөр өдөөгдсөн HMC-1 шигүү мөхлөгт эсийн үрэвслийн урвалд үзүүлэх нөлөөг судалсан дүн

А.Суруй (A SuRui)[1,2], Я.Энхтөр[1], Ө.Дугармаа[1]

[1]АШУҮИС, Анагаах Ухааны Сургууль, Арьс судлалын тэнхим
[2]БНХАУ-ын Бугатын Анагаах Ухааны Их Сургуулийн Нэгдүгээр Хараат Эмнэлэг
Цахим шуудан: dugarmaa@mnums.edu.mn, Утас: 99105763

Түлхүүр үг:
Лютеолин-гадолиниум
Чонон хөрвөс
Шигүү мөхлөгт эс
Үрэвслийн эсрэг үйлдэл

Товч утга:
Үндэслэл: Чонон хөрвөс өвчний эмгэг жамд шигүү мөхлөгт эсийн идэвхжил болон үрэвслийн медиаторын ялгаралт голлох үүрэгтэй. Лютеолин нь үрэвслийн болон харшлын эсрэг үйлдэлтэй бөгөөд Lut-Gd нь макрофагийн үрэвслийн загварт үрэвслийн эсрэг идэвх үзүүлсэн нь тогтоогдсон. Гэвч лютеолин-гадолиниум нэгдлийн шигүү мөхлөгт эсэд үзүүлэх нөлөө одоогоор тодорхойгүй байна. **Зорилго:** C48/80-өөр өдөөгдсөн HMC-1 шигүү мөхлөгт эсийн загварт Lut-Gd-ийн эсийн аюулгүй байдал болон үрэвслийн медиаторын ялгаралтад үзүүлэх нөлөөг үнэлэх. **Арга, аргачлал:** Бид HMC-1 эсийг 48/80 нэгдэл (Compound 48/80, C48/80)-ээр өдөөн загвар үүсгэж, CCK-8 болон LDH аргаар эсийн амьдрах чадвар, эсийн мембраны гэмтлийг үнэлэв. Гистамин, IL-1β, IL-6 болон TNF-α-ийн түвшинг ELISA аргаар тодорхойлов. **Үр дүн:** C48/80 (10 мкг/мл), Lut (2.5 мкг/мл) болон Lut-Gd (10 мкг/мл) нь илэрхий эсийн хоруу чанар үүсгээгүй. C48/80 нь HMC-1 эсээс гистамин, IL-1β, IL-6 болон TNF-α-ийн ялгаралтыг мэдэгдэхүйц нэмэгдүүлсэн бол Lut болон Lut-Gd нь эдгээр үрэвслийн медиаторын түвшинг статистикийн ач холбогдолтойгоор бууруулж байгаа нь тодорхойлогдлоо ($p<0.05$). **Дүгнэлт:** Lut-Gd нь эсийн хоруу чанар үүсгэхгүй концентрацид C48/80-өөр өдөөгдсөн HMC-1 эсийн үрэвслийн медиаторын ялгаралтыг дарангуйлж, шигүү мөхлөгт эсийн үрэвслийн эсрэг үйлдэлтэй болох нь тодорхойлогдлоо.

Үндэслэл: Чонон хөрвөс нь түгээмэл тохиолддог үрэвсэл болон харшлын гаралтай арьсны өвчин бөгөөд ихэвчлэн арьсны загатнаа, түр зуурын бэлцрүүгээр илэрдэг.[1] Шигүү мөхлөгт эсийн идэвхжил болон тэдгээрээс ялгарах медиаторууд нь чонон хөрвөс өвчний үүсэл, хөгжлийн явцад голлох үүрэгтэй.[2] Шигүү мөхлөгт эс идэвхжихэд гистамин зэрэг урьдчилан хуримтлагдсан медиаторууд богино хугацаанд ялгарч, улмаар IL-1β, IL-6, TNF-α зэрэг үрэвслийн цитокинуудын нийлэгжилт болон ялгаралт нэмэгдэн үрэвслийн урвалыг өдөөж, үргэлжлүүлэхэд оролцдог.[3] Одоогоор эмчилгээнд хэрэглэгдэж буй хоёрдугаар үеийн H1-антигистамин эм болон бусад эмчилгээ нь өвчтний эмнэлзүйн шинж тэмдгийг хянах боломжтой боловч, зарим өвчтөнд эмчилгээний үр нөлөө хангалтгүй хэвээр байна.[2,4,5] Иймд шигүү мөхлөгт эсийн идэвхжил болон үрэвслийн урвалыг чиглэсэн шинэ эмчилгээний стратегийг цаашид судлах шаардлагатай байна.

Лютеолин нь үрэвслийн болон харшлын эсрэг идэвхтэй байгалийн флавоноид нэгдэл бөгөөд өмнөх судалгаанд түүний шигүү мөхлөгт эсийн идэвхжил болон үрэвслийн медиаторуудын ялгаралтыг дарангуйлах үйлдэлтэй болохыг тогтоосон. [6,7] Лютеолин-гадолиниум нэгдэл (LutGdRCS) нь LPS-ээр өдөөгдсөн макрофагийн загварт үрэвслийн эсрэг идэвх үзүүлсэн.[8] Иймд энэхүү судалгаанд 48/80 нэгдэл (Compound 48/80, C48/80)-ээр өдөөгдсөн HMC-1 эсийг ашиглан, Лютеолин-гадолиниум нэгдлийн эсийн амьдрах чадвар, эсийн хоруу чанар, гистамины ялгарал болон IL-1β, IL-6, TNF-α-ийн ялгаруулалтад үзүүлэх нөлөөг үнэлж, түүний шигүү мөхлөгт эсийн үрэвслийн эсрэг үйлдлийн талаарх туршилтын үндэслэлийг бүрдүүлэхийг зорилоо.

Зорилго: C48/80-өөр өдөөгдсөн HMC-1 эсийн загварт лютеолин-гадолиниум нэгдлийн эсийн аюулгүй байдал болон үрэвслийн медиаторын ялгаралтад үзүүлэх нөлөөг үнэлэх.

Зорилт:

1. C48/80, Lut болон LutGdRCS-ийн HMC-1 эсийн

амьдрах чадварт үзүүлэх нөлөөг CCK-8 аргаар тодорхойлох.
2. Lut болон LutGdRCS-ийн HMC-1 эсийн мембраны гэмтэлд үзүүлэх нөлөөг LDH ялгаралтаар үнэлэх.
3. C48/80-өөр өдөөгдсөн HMC-1 эсийн гистамин, IL-1β, IL-6 болон TNF-α-ийн ялгаралтад LutGdRCS-ийн үзүүлэх нөлөөг үнэлэх.

Арга, аргачлал:

Эсийн өсгөвөр: HMC-1 хүний шигүү мөхлөгт эсийг 10% FBS, 1% пенициллин-стрептомицин агуулсан IMDM тэжээлт орчинд 37 ℃, 5% CO_2 нөхцөлд өсгөвөрлөж, логарифмын өсөлтийн шатанд туршилтад ашиглав.

Урвалж ба боловсруулалт: LutGdRCS-ийг Бугатын Ховор Шорооны Судалгааны Хүрээлэнгээс, Lut-ийг Macklin, C48/80-ийг Sigma-Aldrich компаниас тус тус авсан. LutGdRCS-ийг бүрэн тэжээлт орчинд, Lut-ийг DMSO-д уусган ажлын концентрацид шингэлж, DMSO-ийн эцсийн концентрацийг 0.1%-иас бага байлгав.

CCK-8 шинжилгээ: HMC-1 эсийг 96 нүхтэй хавтанд 4×10^3 эс/цооног суулгаж, C48/80 (2.5-40 мкг/мл), Lut болон LutGdRCS (1.25-40 мкг/мл)-оор 48 цаг боловсруулав. Дараа нь CCK-8 урвалж нэмж, 450 nm-т шингээлтийг хэмжин эсийн амьдрах чадварыг тооцоолов.

LDH шинжилгээ: HMC-1 эсийг C48/80 (10 мкг/мл), Lut (40 мкг/мл), LutGdRCS (40 мкг/мл), мөн C48/80 (10 мкг/мл)+ Lut (2.5 мкг/мл), C48/80 (10 мкг/мл)+ LutGdRCS (10 мкг/мл)-оор 48 цаг боловсруулж, өсгөврийн дээд шингэнд LDH-ийн идэвхийг үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу тодорхойлов.

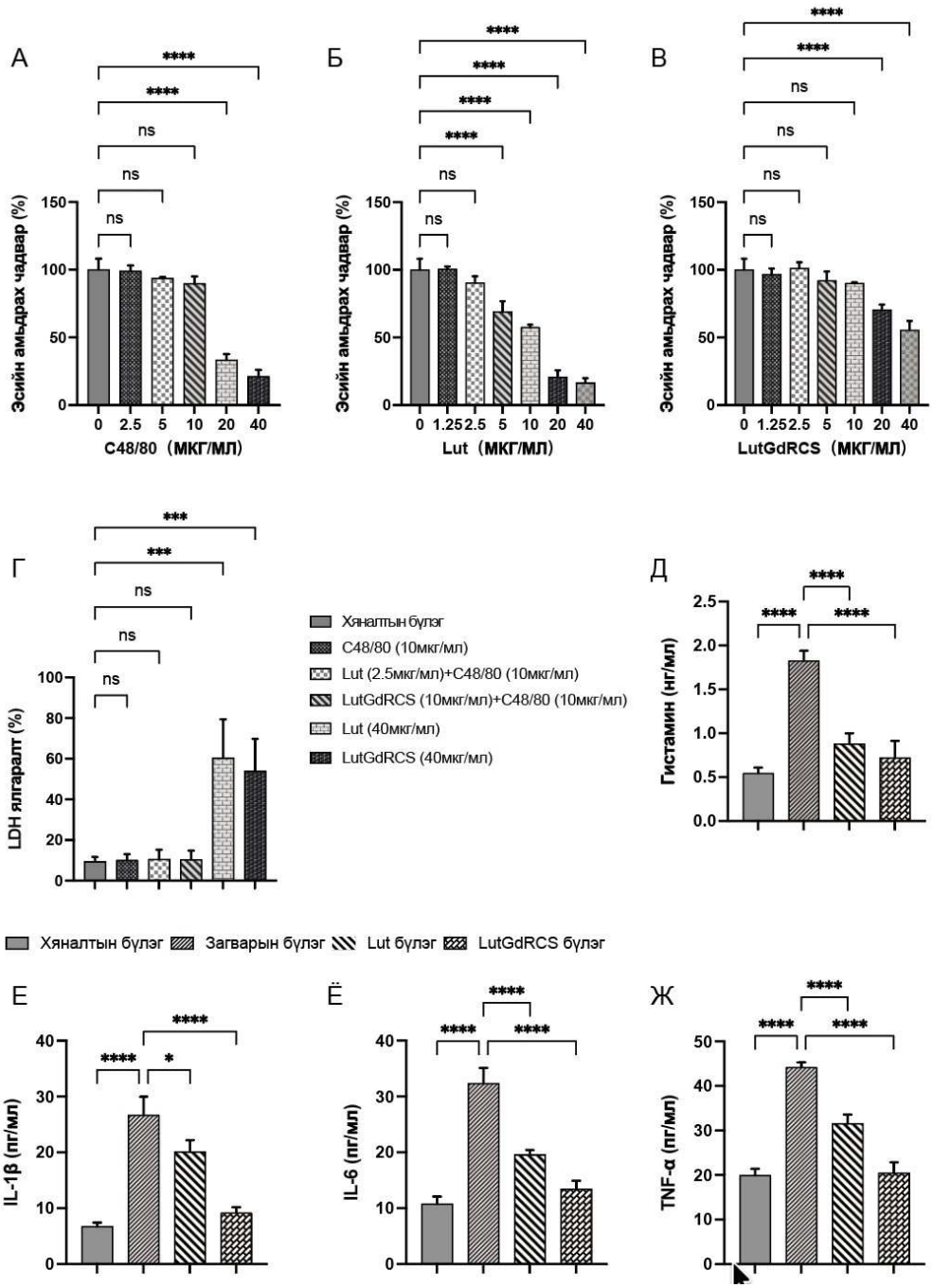
Гистамин ба үрэвслийн цитокины шинжилгээ: HMC-1 эсийг 6 нүхтэй хавтанд 1×10^6 эс/цооног суулгаж, хяналтын бүлэг, загварын бүлэг (C48/80, 10 мкг/мл), Lut бүлэг [C48/80 (10 мкг/мл) + Lut (2.5 мкг/мл)] болон Lut-Gd бүлэг [C48/80 (10 мкг/мл) + Lut-Gd (10 мкг/мл)] гэсэн 4 бүлэгт хуваан боловсруулав. Боловсруулснаас хойш 1 цагийн дараа гистамины, 48 цагийн дараа IL-1β, IL-6 болон TNF-α-ийн түвшинг ELISA аргаар тодорхойлов.

Статистикийн боловсруулалт: Өгөгдлийг GraphPad Prism 10.3 программ ашиглан боловсруулж, дундаж±стандарт хазайлтаар илэрхийлэв. Олон бүлгийг one-way ANOVA болон Dunnett-ийн олон дахин харьцуулах сорилоор үнэлж, $p < 0.05$ үед статистикийн ач холбогдолтой гэж үзэв. Бүх *in vitro* туршилтыг 3 удаа бие даан давтав.

Үр дүн: CCK-8 шинжилгээний үр дүнгээр C48/80 нь 2.5-10 мкг/мл, Lut нь 1.25-2.5 мкг/мл, LutGdRCS нь 1.25-10 мкг/мл концентрацийн хүрээнд HMC-1 эсийн амьдрах чадварт статистикийн ач холбогдол бүхий нөлөө үзүүлээгүй бол илүү өндөр концентрацийн боловсруулалт нь эсийн амьдрах чадварыг мэдэгдэхүйц бууруулсан (Зураг 1A-B). LDH шинжилгээний үр дүнгээр дараагийн туршилтад сонгосон C48/80 (10 мкг/мл), Lut (2.5 мкг/мл), LutGdRCS (10 мкг/мл) боловсруулалтын нөхцөлд эсийн мембраны илэрхий гэмтэл ажиглагдаагүй (Зураг 1Г).

Хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад C48/80 өдөөлт нь HMC-1 эсээс гистамин, IL-1β, IL-6 болон TNF-α ялгарах хэмжээг мэдэгдэхүйц нэмэгдүүлсэн. Харин Lut болон LutGdRCS боловсруулалт нь дээрх үрэвслийн медиаторуудын түвшинг мэдэгдэхүйц бууруулж байв (Зураг 1Д-Ж).

Иймд LutGdRCS нь илэрхий эсийн хоруу чанар үүсгэхгүй концентрацид C48/80-өөр өдөөгдсөн HMC-1 эсийн үрэвслийн медиаторуудын ялгаралтыг дарангуйлах үйлдэлтэй болох нь тус тус тодорхойлогдлоо.



Зураг 1. C48/80, Lut болон LutGdRCS-ийн HMC-1 эсийн амьдрах чадвар, эсийн мембраны гэмтэл болон үрэвслийн медиаторын ялгаралтад үзүүлэх нөлөөг тодорхойлсон дүн.

Тайлбар: А-В. C48/80, Lut болон LutGdRCS-ийн HMC-1 эсийн амьдрах чадварт үзүүлэх нөлөөг CCK-8 аргаар тодорхойлов. Г. Эсийн мембраны гэмтлийг LDH ялгаралтаар үнэлэв. Д. Гистамины түвшин. Е. IL-1β, Ё. IL-6, Ж. TNF-α-ийн түвшинг ELISA аргаар тодорхойлов. Өгөгдлийг дундаж±стандарт хазайлт (mean±SD)-аар илэрхийлэв, n=3. ns, статистикийн ач холбогдолгүй; *p < 0.05, ***p < 0.001, ****p < 0.0001.

Хэлцэмж: Энэхүү судалгаанд C48/80-өөр HMC-1 эсийг идэвхжүүлж, LutGdRCS-ийн эсийн амьдрах чадвар, эсийн гэмтэл болон үрэвслийн медиаторын ялгаралтад үзүүлэх нөлөөг үнэлэв. Судалгаанд сонгосон концентрациудад C48/80, Lut болон LutGdRCS нь илэрхий эсийн хоруу чанар үүсгээгүй. Харин C48/80 өдөөлтийн дараа HMC-1 эсээс гистамин, IL-1β, IL-6 болон TNF-α-ийн ялгаралт мэдэгдэхүйц нэмэгдсэн бол Lut болон LutGdRCS боловсруулалт нь дээрх үрэвслийн медиаторуудын түвшинг бууруулсан. Энэ нь LutGdRCS нь шигүү мөхлөгт эстэй холбоотой үрэвслийн урвалыг дарангуйлах боломжтойг харуулж байна. Шигүү мөхлөгт эс идэвхжихэд гистамин зэрэг урьдчилан хуримтлагдсан медиаторууд богино хугацаанд ялгарч, улмаар олон төрлийн үрэвслийн цитокины нийлэгжилт болон ялгаралт нэмэгддэг.[3,9] Гистамин нь чонон хөрвөсийн үеийн загатнаа болон бэлцрүү үүсэхэд голлох үүрэгтэй бөгөөд IL-6, TNF-α зэрэг үрэвслийн цитокинууд нь үрэвслийн урвалыг өдөөж, үргэлжлүүлэхэд оролцдог.[10-12] Бидний судалгаанд C48/80 өдөөлтийн дараа дээрх үрэвслийн медиаторуудын ялгаралт мэдэгдэхүйц нэмэгдсэн бөгөөд энэ нь уг загвар HMC-1 эсийн үрэвслийн идэвхжлийн төлөвийг илэрхийлж болохыг харуулж

байна. Лютеолин нь шигүү мөхлөгт эсийн идэвхжил, мөхлөггүйжилт болон үрэвслийн медиаторын ялгаралтыг дарангуйлах замаар харшлын болон үрэвслийн урвалыг бууруулдаг болохыг өмнөх судалгаанууд харуулсан. Мөн LutGdRCS нь LPS-ээр өдөөгдсөн макрофагийн загварт IL-6, IL-1β зэрэг үрэвслийн медиаторын илэрхийлэл болон ялгаралтыг бууруулж, үрэвслийн эсрэг идэвх үзүүлсэн байна.[6,8] Манай судалгаанд Lut болон LutGdRCS нь C48/80-өөр өдөөгдсөн HMC-1 эсээс гистамин, IL-1β, IL-6 болон TNF-α-ийн ялгаралтыг бууруулсан үр дүнтэй байгаа нь дээрх судалгааны үр дүнтэй дүйж байна. Ялангуяа LutGdRCS-ийн үзүүлсэн энэхүү нөлөө нь түүний үрэвслийн эсрэг идэвх шигүү мөхлөгт эсийн үрэвслийн урвалд мөн илэрч болохыг харуулж байна.

Гэсэн хэдий ч энэхүү судалгаанд тодорхой хязгаарлагдмал талууд байна. Нэгдүгээрт, зөвхөн HMC-1 эсийн *in vitro* загварыг ашигласан тул хүний арьсны шигүү мөхлөгт эсийн биологийн онцлогийг бүрэн төлөөлөхгүй. Хоёрдугаарт, судалгаанд үрэвслийн медиаторын ялгаралтыг голлон үнэлсэн бөгөөд LutGdRCS-ийн үйлдлийн молекул механизмыг нарийвчлан судлаагүй. Иймд цаашид бусад шигүү мөхлөгт эсийн загвар болон молекул механизмын судалгаагаар үр дүнг баталгаажуулах шаардлагатай гэж үзэж байна.

Дүгнэлт: LutGdRCS нь эсийн хоруу чанар үүсгэхгүй концентрацид C48/80-өөр өдөөгдсөн HMC-1 эсийн гистамин болон үрэвслийн цитокины ялгаралтыг дарангуйлж, шигүү мөхлөгт эсийн үрэвслийн эсрэг үйлдэлтэй болох нь тодорхойлогдлоо.

Талархал: Энэхүү судалгааг БНХАУ-ын Байгалийн Шинжлэх Ухааны Үндэсний Сангийн төслийн (NSFC, төслийн дугаар: 8236120373) дэмжлэгтэйгээр гүйцэтгэв. Судалгаанд ашигласан лютеолин-гадолиниум нэгдлийн эх үүсвэр болсон Бугатын Ховор Шорооны Судалгааны Хүрээлэнд талархал илэрхийлье.

Ном зүй:

1. *Zuberbier T, Abdul Hameed Ansari Z, Abdul Latiff AH, et al. The International Guideline for the Definition, Classification, Diagnosis and Management of Urticaria. Allergy. Published online February 6, 2026:all.70210. doi:10.1111/all.70210*
2. *Zuberbier T, Abdul Latiff AH, Abuzakouk M, et al. The international EAACI/GA²LEN/EuroGuiDerm/APAAACI guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria. Allergy. 2022;77(3):734-766. doi:10.1111/all.15090*
3. *Moon TC, Befus AD, Kulka M. Mast cell mediators: Their differential release and the secretory pathways involved. Front Immunol. 2014;5. doi:10.3389/fimmu.2014.00569*
4. *Kolkhir P, Bonnekoh H, Metz M, Maurer M. Chronic spontaneous urticaria: A review. JAMA. 2024;332(17):1464. doi:10.1001/jama.2024.15568*
5. *Pathania YS. Treatment options in refractory chronic spontaneous urticaria. Current Opinion in Allergy & Clinical Immunology. 2024;24(5):416-418. doi:10.1097/ACI.0000000000001006*
6. *Hao Y, Che D, Yu Y, et al. Luteolin inhibits FcεRI - and MRGPRX2 -mediated mast cell activation by regulating calcium signaling pathways. Phytotherapy Research. 2022;36(5):2197-2206. doi:10.1002/ptr.7447*
7. *Kimata, Shichijo, Miura, Serizawa, Inagaki, Nagai. Effects of luteolin, quercetin and baicalein on immunoglobulin E-mediated mediator release from human cultured mast cells. Clin Experimental Allergy. 2000;30(4):501-508. doi:10.1046/j.1365-2222.2000.00768.x*
8. *Zhang H, Tian H, Yu Y, et al. Differential expression of lysine-acetylated proteins in the anti-inflammatory effects of luteolin-gadolinium on macrophages. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2025;773:152072. doi:10.1016/j.bbrc.2025.152072*
9. *Rivera J, Gilfillan AM. Molecular regulation of mast cell activation. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2006;117(6):1214-1225. doi:10.1016/j.jaci.2006.04.015*
10. *Elieh-Ali-Komi D, Metz M, Kolkhir P, et al. Chronic urticaria and the pathogenic role of mast cells. Allergology International. 2023;72(3):359-368. doi:10.1016/j.alit.2023.05.003*
11. *Saini SS, Asero R, Cugno M, Park HS, Oliver ET. Pathogenesis of chronic spontaneous urticaria with or without angioedema. The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice. 2025;13(9):2221-2228. doi:10.1016/j.jaip.2025.07.025*
12. *Kim HB, Um JY, Chung BY, Park CW, Kim HO. Advances in pathophysiology and therapeutic paradigm shifts in chronic spontaneous urticaria: A narrative review. Dermatol Ther (Heidelb). 2026;16(2):763-788. doi:10.1007/s13555-025-01600-1*

Effects of the Luteolin-gadolinium complex on C48/80-induced inflammatory responses in HMC-1 mast cells

Surui A[1,2], Enkhtur Y[1], Dugarmaa U[1]

[1]Department of Dermatology, School of Medicine, Mongolian National University of Medical Sciences
[2]Department of Dermatology, The First Affiliated Hospital of Baotou Medical College,
Inner Mongolia University of Science and Technology
E-mail: dugarmaa@mnums.edu.mn, Tel: +976-99105763

Abstract:
Background: Mast cell activation and the release of inflammatory mediators play central roles in the pathogenesis of urticaria. Luteolin possesses anti-inflammatory and anti-allergic properties, whereas the luteolin-gadolinium complex (Lut-Gd) has demonstrated anti-inflammatory activity in macrophage models. However, the effects of Lut-Gd on mast cell activation remain unclear.
Aim: To evaluate the effects of Lut-Gd on cell viability, cytotoxicity, and inflammatory mediator release in Compound 48/80 (C48/80)-stimulated HMC-1 cells.
Materials and Methods: HMC-1 cells were stimulated with C48/80 and treated with either luteolin or Lut-Gd. Cell viability and membrane integrity were assessed using CCK-8 and lactate dehydrogenase (LDH) release assays, respectively. Histamine, IL-1β, IL-6, and TNF-α concentrations in culture supernatants were quantified by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).
Results: At the concentrations selected for subsequent experiments, C48/80 (10 μg/mL), luteolin (2.5 μg/mL), and Lut-Gd (10 μg/mL) did not induce significant cytotoxicity. C48/80 stimulation significantly increased the release of histamine, IL-1β, IL-6, and TNF-α from HMC-1 cells. Treatment with either luteolin or Lut-Gd significantly reduced the levels of these inflammatory mediators ($p < 0.05$).
Conclusion: Lut-Gd suppressed C48/80-induced release of histamine and inflammatory cytokines from HMC-1 cells without inducing significant cytotoxicity, supporting its potential anti-inflammatory activity in mast cell-mediated inflammation.

Keywords: luteolin-gadolinium; urticaria; mast cells; anti-inflammatory activity