

张锐虎,姚茹,史泽雅,等. 莲心碱通过抑制 NF- κ B 激活 Nrf2/HO-1 通路发挥抗炎抗氧化作用 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(2): 191-197.

Zhang RH, Yao R, Shi ZY, et al. Liensinine exerts anti-inflammatory and antioxidant effects by inhibiting nuclear factor- κ B and activating the nuclear factor-erythroid factor 2-related factor 2/heme oxygenase-1 pathway [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(2): 191-197.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.02.006

莲心碱通过抑制 NF- κ B 激活 Nrf2/HO-1 通路发挥 抗炎抗氧化作用

张锐虎^{1,2#}, 姚茹^{1,2#}, 史泽雅^{1,2}, 郭民^{1,2}, 霍怡彤^{1,2}, 侯佳楠^{1,2}, 陈朝阳^{1,2*}

(1. 山西医科大学实验动物中心, 太原 030001; 2. 山西省实验动物与人类疾病动物模型重点实验室, 太原 030001)

【摘要】 目的 探讨莲心碱(liensinine, lie)在脂多糖(lipid polysaccharides, LPS)诱导的 RAW264.7 细胞炎症模型中的抗炎抗氧化作用机制。方法 将细胞分为对照组(Control group), LPS 组(LPS group), 莲心碱(0.5、1、2 μ mol/L)组。采用 CCK-8 法筛选莲心碱的无细胞毒性浓度, Griess 法检测一氧化氮(NO)的浓度, 酶联免疫法(ELISA)检测前列腺素 2(PGE2)的浓度以及促炎因子(TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β)的含量, 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测 COX-2 和 iNOS mRNA 的表达, DCFH-DA 探针检测细胞中活性氧(ROS)含量, 试剂盒检测细胞中超氧化物歧化酶(SOD)的活性以及谷胱甘肽(GSH)和丙二醛(MDA)的含量, 蛋白质免疫印迹法(Western Blot)检测 NF- κ B、MAPK 和 Nrf2/HO-1 通路中关键蛋白的表达情况。结果 0 ~ 4 μ mol/L 莲心碱对细胞活力无影响, 与 LPS 组相比, 莲心碱组(0.5、1、2 μ mol/L)细胞中的促炎因子含量下降($P < 0.05$), NO 和 PGE2 浓度下降($P < 0.05$), COX-2 和 iNOS mRNA 表达降低($P < 0.05$), NF- κ B 和 MAPK 通路被抑制($P < 0.05$), 且具有剂量依赖性, 莲心碱处理后 ROS 和 MDA 的含量显著低于 LPS 组($P < 0.01$), SOD 的活性和 GSH 的含量显著高于 LPS 组($P < 0.01$), Nrf2/HO-1 通路活性也较于 LPS 组显著增加($P < 0.05$)。结论 莲心碱通过抑制 NF- κ B 和 MAPK 通路与激活 Nrf2/HO-1 通路发挥抗炎抗氧化作用。

【关键词】 莲心碱; 脂多糖; RAW264.7 巨噬细胞; 炎症; 氧化应激

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2022) 02-0191-07

Liensinine exerts anti-inflammatory and antioxidant effects by inhibiting nuclear factor- κ B and activating the nuclear factor-erythroid factor 2-related factor 2/heme oxygenase-1 pathway

ZHANG Ruihu^{1,2#}, YAO Ru^{1,2#}, SHI Zeya^{1,2}, GUO Min^{1,2}, HUO Yitong^{1,2}, HOU Jianan^{1,2}, CHEN Zhaoyang^{1,2*}

(1. Laboratory Animal Center of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China. 2. Shanxi Key Laboratory of Experimental Animal Science and Animal Model of Human Disease, Taiyuan 030001)

Corresponding author: CHEN Zhaoyang. E-mail: ccytcn@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the anti-inflammatory and antioxidant effects of liensinine (LIE) derived from lotus on a lipopolysaccharide (LPS)-induced RAW264.7 macrophage inflammatory model, and to study the molecular mechanisms responsible for these effects in relation to the nuclear factor (NF- κ B), mitogen-activated protein kinase

【基金项目】 山西省实验动物专项资金项目(2015K02)。

Funded by the Special Fund Project for Experimental Animals of Shanxi Province(2015K02).

【作者简介】 张锐虎(1978—), 男, 实验师, 硕士, 研究方向: 人类疾病动物模型。Email: 337119092@qq.com;

姚茹(1993—), 女, 硕士, 研究方向: 人类疾病动物模型。Email: m18734116230@163.com。

#共同第一作者

【通信作者】 陈朝阳(1972—), 男, 教授, 硕士, 研究方向: 人类疾病动物模型。Email: ccytcn@163.com

(MAPK), and nuclear factor-erythroid factor 2-related factor 2 (Nrf2)/heme oxygenase (HO)-1 pathways. **Methods** RAW264.7 macrophages were divided into Control group, LPS group and LIE (0.5, 1, 2 $\mu\text{mol/L}$) groups. Cells were subjected to Cell Counting Kit 8 screening of non-cytotoxic concentrations of LIE, nitric oxide (NO) was detected by the Griess method, prostaglandin 2 (PGE2) and pro-inflammatory factors (TNF- α , IL-6 and IL-1 β) were detected by enzyme-linked immunoassay, cyclooxygenase-2 (COX-2) and inducible nitric oxide (iNOS) synthase gene expression were detected by real-time polymerase chain reaction, and reactive oxygen species (ROS) were detected by dichloro-dihydro-fluorescein diacetate assay (which detects superoxide dismutase (SOD) activity and glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) contents), and NF- κB , MAPK, and Nrf2/HO-1 pathway protein expression were detected by Western Blot. **Results** LIE 0 ~ 4 $\mu\text{mol/L}$ had no effect on cell viability. Levels of pro-inflammatory factors levels were significantly lower in the LIE (0.5, 1, 2 $\mu\text{mol/L}$) group compared with the LPS group, NO and PGE2 concentrations and COX-2 and iNOS mRNA expression levels were all decreased, and NF- κB and MAPK pathways were inhibited ($P < 0.05$) in dose-dependent manners. The ROS and MDA contents were also significantly lower and SOD activity and GSH were significantly higher compared with the LPS group ($P < 0.01$), and the activity of the Nrf2/HO-1 pathway was also significantly higher than that of the LPS group ($P < 0.05$). **Conclusions** LIE exerts anti-inflammatory and antioxidant effects by inhibiting the NF- κB and MAPK pathways and activating the Nrf2/HO-1 pathway.

[Keywords] liensinine; lipopolysaccharide; RAW264.7 macrophages; inflammation; oxidative stress

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

氧化应激与炎症是造成许多疾病发生的重要原因,如急性肺损伤等^[1]。因此,寻找同时具有抗炎与抗氧化作用的药物将对此类疾病的治疗具有积极作用。RAW264.7 细胞是小鼠巨噬细胞,巨噬细胞在一些炎性组织损伤中起关键作用,是一种主要的免疫效应细胞^[2]。LPS 是革兰氏阴性菌外膜的主要成分,会通过抑制 Nrf2/HO-1 通路激活 NF- κB 、MAPK 通路刺激巨噬细胞 ROS 含量的增加和炎症介质的生成^[3]。近年来,许多传统药物的活性成分被提取用于疾病的研究^[4],其中莲心碱是一种二苄基四氢异喹啉类生物碱,从莲子中分离得到,具有抗高血压、抗心律失常、血管平滑肌等生物活性^[5]。已报道莲心碱对叔丁基过氧化氢诱导的人肝细胞 HepG2 细胞系氧化应激具有细胞保护作用^[6],还可抑制大鼠灌注后炎症因子 TNF- α 和 IL-1 的表达^[7],但并未报道其抗氧化抗炎作用靶点,前期我们也在动物水平证明了莲心碱通过抗氧化与抗炎作用对急性肺损伤具有显著预防效果^[8]。因此,本研究我们将在细胞水平对莲心碱抗炎抗氧化作用及分子机制进行研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞

RAW264.7 细胞购于上海细胞库。

1.1.2 主要试剂与仪器

莲心碱(HPLC $\geq 98\%$)(北京中科质检生物有

限公司,批号:2586-96-1,中国);脂多糖(Sigma 公司,美国);TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 ELISA 试剂盒(北京四正柏生物科技有限公司,中国);CCK-8、NO、PGE2 试剂盒(碧云天生物技术有限公司);ROS、GSH、MDA、SOD 试剂盒(南京建成生物工程研究所,中国);PrimeScript™ RTMasterMix、SYBR PremixEX Taq II (TaKaRa 公司,日本);一抗、二抗(CST 公司,美国); β -actin、COX-2、iNOS 引物由上海生工合成;化学发光成像仪(G-Box Chemixx9, Syngene 公司,英国);流式细胞仪(FACS-Calibur, BD 公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

RAW264.7 细胞用完全培养基培养(89%的 DMEM 培养基、10%胎牛血清和 1%的 100 IU/mL 青霉素-链霉素)培养在培养箱中(37℃和 5% CO₂)。

1.2.2 CCK-8 毒性检测

将 RAW264.7 细胞接种到 96 孔板(5 × 10⁴ 个细胞/孔)中,培养 24 h 后,加入 100 μL 不同浓度(0、0.25、0.5、1、2、4、8 和 16 $\mu\text{mol/L}$)的莲心碱。24 h 后,倒掉培养基,每孔加入 10 μL 的 CCK-8 和 100 μL 含莲心碱的培养液,孵育 4 h 后在酶标仪 450 nm 下检测吸光度。

1.2.3 细胞炎症相关指标的测定

RAW264.7 细胞被接种到 24 孔板(1 × 10⁵ 个细胞/孔)中,培养 24 h 后,加入 100 μL 不同浓度的莲心碱(0.5、1、2 $\mu\text{mol/L}$) 2 h,用 LPS(2 $\mu\text{g/mL}$)刺激 24 h。将细胞培养液离心(2000 rpm, 10 min)后

吸取上清至新的离心管,在各孔细胞中均加入 50 μL Griess Reagent I、Griess Reagent II 后轻轻振荡,于 540 nm 下检测,以测定 NO 浓度。按 ELISA 试剂盒说明书检测上清液中 PGE2、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的含量。

1.2.4 qRT-PCR

RAW264.7 细胞被接种在 6 孔板(2×10^5 个细胞/孔),培养 24 h,随后用不同浓度的莲心碱(0.5、1、2 $\mu\text{mol/L}$)处理细胞 2 h,用 2 $\mu\text{g/mL}$ LPS 刺激细胞 12 h。采用 TRIzol 试剂裂解细胞提取总 RNA 后进行浓度测定,反转录为 cDNA,进行 qRT-PCR 检测,结果以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 相对表达量表示。引物为:COX-2: F: 5'-CTGGAACATGGACTCACTCAGTTTG-3', R: 5'-AGGCCTTTGCCACTGCTTGTA-3'; iNOS: F: 5'-CAAGCACATTTGGGAATGGAGA-3', R: 5'-CAGAACTGAGGGTACATGCTGGAG-3'; β -actin: F: 5'-CAAGCACATTGGGAATGGAGA-3', R: 5'-CAGAACTGAGGGTACATGCTGGAG-3'。

1.2.5 细胞氧化应激相关指标的测定

RAW264.7 细胞被接种在 6 孔板(2×10^5 个细胞/孔),培养 24 h,随后用不同浓度的莲心碱(0.5、1、2 $\mu\text{mol/L}$)处理细胞 2 h,用 2 $\mu\text{g/mL}$ LPS 刺激细胞 1 h。孵育 30 min(10 $\mu\text{mol/L}$ DCFH-DA, 37 $^{\circ}\text{C}$),收集细胞悬液离心(1000 r/min, 10 min),倒掉上清加 200 μL Binding Buffer 用流式进行检测,结果以平均荧光强度值表示,代表 ROS 含量。

RAW264.7 细胞被接种到 6 孔板(2×10^6 个细胞/孔),培养 24 h 后,加入 100 μL 不同浓度的莲心碱(0.5、1、2 $\mu\text{mol/L}$) 2 h,用 2 $\mu\text{g/mL}$ LPS 刺激 12 h,倒掉上清,收集细胞后根据相应试剂盒说明书测定 MDA、SOD 和 GSH 的含量。

1.2.6 Western Blot

将 3×10^6 细胞接种于 T25 细胞培养瓶,培养 12 h,随后用 0.5、1、2 $\mu\text{mol/L}$ 的莲心碱干预细胞 6 h,2 $\mu\text{g/mL}$ LPS 诱导细胞 1 h。PBS 清洗两次细胞,加入 1 mL 裂解液冰上裂解 30 min,吸至离心管中离心(12 000 rpm, 10 min, 4 $^{\circ}\text{C}$),吸取上清测蛋白浓度,加入 Loading Buffer 后煮沸 5 min。进行凝胶电泳,转膜,封闭,一抗孵育过夜,二抗孵育,曝光,用 Image J 进行条带分析。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 19.0 进行统计学分析,结果以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组比较采用 LSD- t 检

验, $P < 0.05$ 与 $P < 0.01$ 被认为差异具有显著性以及差异极具显著性。

2 结果

2.1 莲心碱对 LPS 刺激的 RAW264.7 细胞具有抗炎作用

当用 0 ~ 4 $\mu\text{mol/L}$ 莲心碱处理时,细胞存活率没有降低,我们在随后的实验中使用了无毒浓度(0.5、1 和 2 $\mu\text{mol/L}$)莲心碱。

如图 1 所示,与对照组相比,LPS 组 NO(表示为亚硝酸盐)、PGE2 和促炎性细胞因子(TNF- α 、IL-6 和 IL-1)的含量显著增加($P < 0.01$),与 LPS 组相比,莲心碱组显著抑制了这些促炎介质的生成($P < 0.01$),且与莲心碱剂量呈依赖性。

2.2 莲心碱抑制了 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞中 COX-2、iNOS mRNA 表达和 NF- κ B、MAPK 通路

qRT-PCR 结果如图 2A、2B 所示,与对照组相比,LPS 组 COX-2 与 iNOS mRNA 表达量显著升高($P < 0.01$),莲心碱处理后,与 LPS 组相比,显著降低了 COX-2 与 iNOS 的 mRNA 表达量($P < 0.01$)。

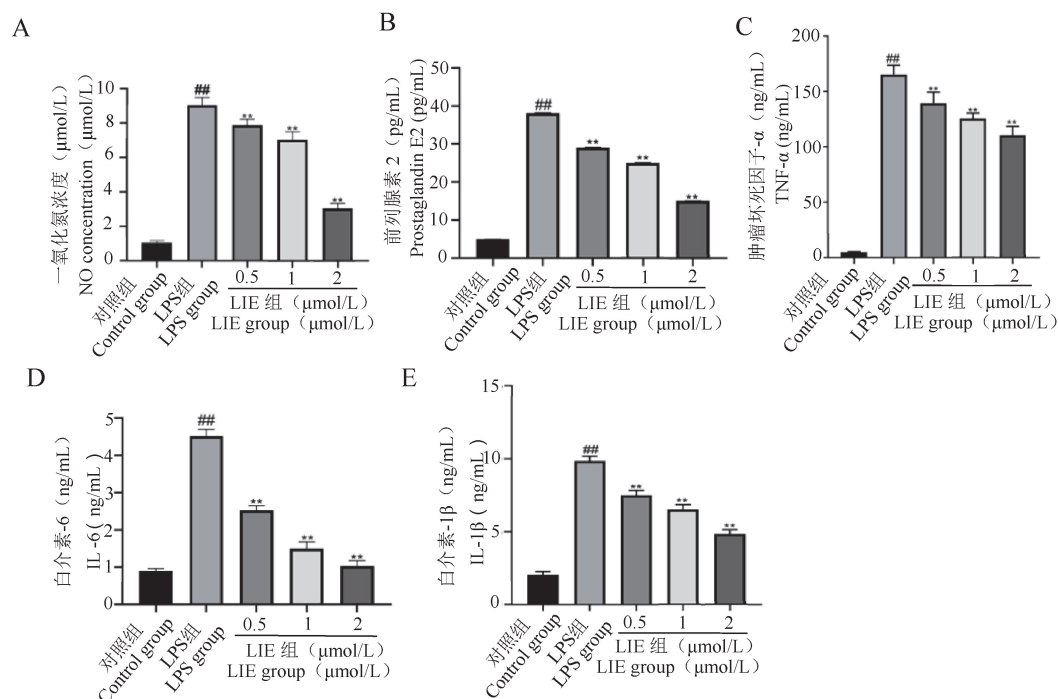
Western Blot 检测结果如图 2C、2D、2E、2F 所示,与对照组相比,LPS 组 I κ B α 显著发生降解和磷酸化,NF- κ B p65、p38、ERK1/2、JNK1/2 显著发生磷酸化($P < 0.05$);与 LPS 组相比,莲心碱组显著抑制了 I κ B α 的降解和磷酸化以及 NF- κ B p65、p38、ERK1/2 和 JNK1/2 的磷酸化($P < 0.05$),这些结果表明莲心碱可以抑制 NF- κ B 和 MAPK 通路。

2.3 莲心碱对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞的抗氧化作用

如图 3 所示,通过对平均荧光值分析表明,与对照组相比,LPS 组的 ROS 生成增加,但使用莲心碱进行处理后,ROS 生成显著减少($P < 0.01$),LPS 组 MDA 含量显著增加,GSH 含量和 SOD 活性显著降低($P < 0.01$),莲心碱进行处理后,MDA 含量显著减少,SOD 活性和 GSH 含量显著增加($P < 0.01$)。

2.4 莲心碱激活了 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞中 Nrf2/HO-1 通路

如图 4 所示,与 LPS 组相比,莲心碱组 Keap1 表达显著降低,并以剂量依赖的方式促进 Nrf2 和 HO-1 表达($P < 0.05$)。这些结果表明,莲心碱有效地激活了 Nrf2/HO-1 通路。



注:与对照组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$;与 LPS 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。(下图同)

图 1 莲心碱对 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞的 NO、PGE₂、TNF-α、IL-6 和 IL-1β 含量的影响

Note. Compared with the control group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$. Compared with the LPS group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. (The same in the following figures)

Figure 1 Effects of LIE on the contents of NO, PGE₂, TNF-α, IL-6 and IL-1β in LPS-induced RAW264.7 Macrophages

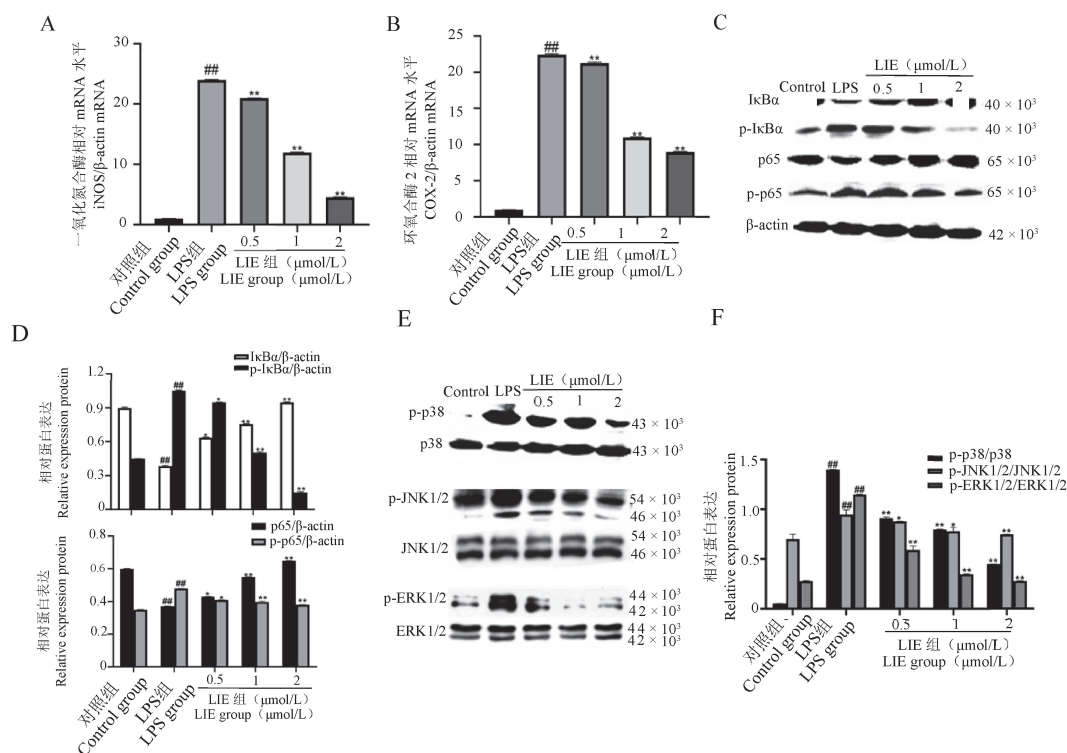


图 2 莲心碱对 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞的 COX-2 和 iNOS 的表达以及 NF-κB 和 MAPKs 通路的影响

Figure 2 Effects of LIE on iNOS mRNA expression and NF-κB and MAPKs pathway in LPS-induced RAW264.7 Macrophages

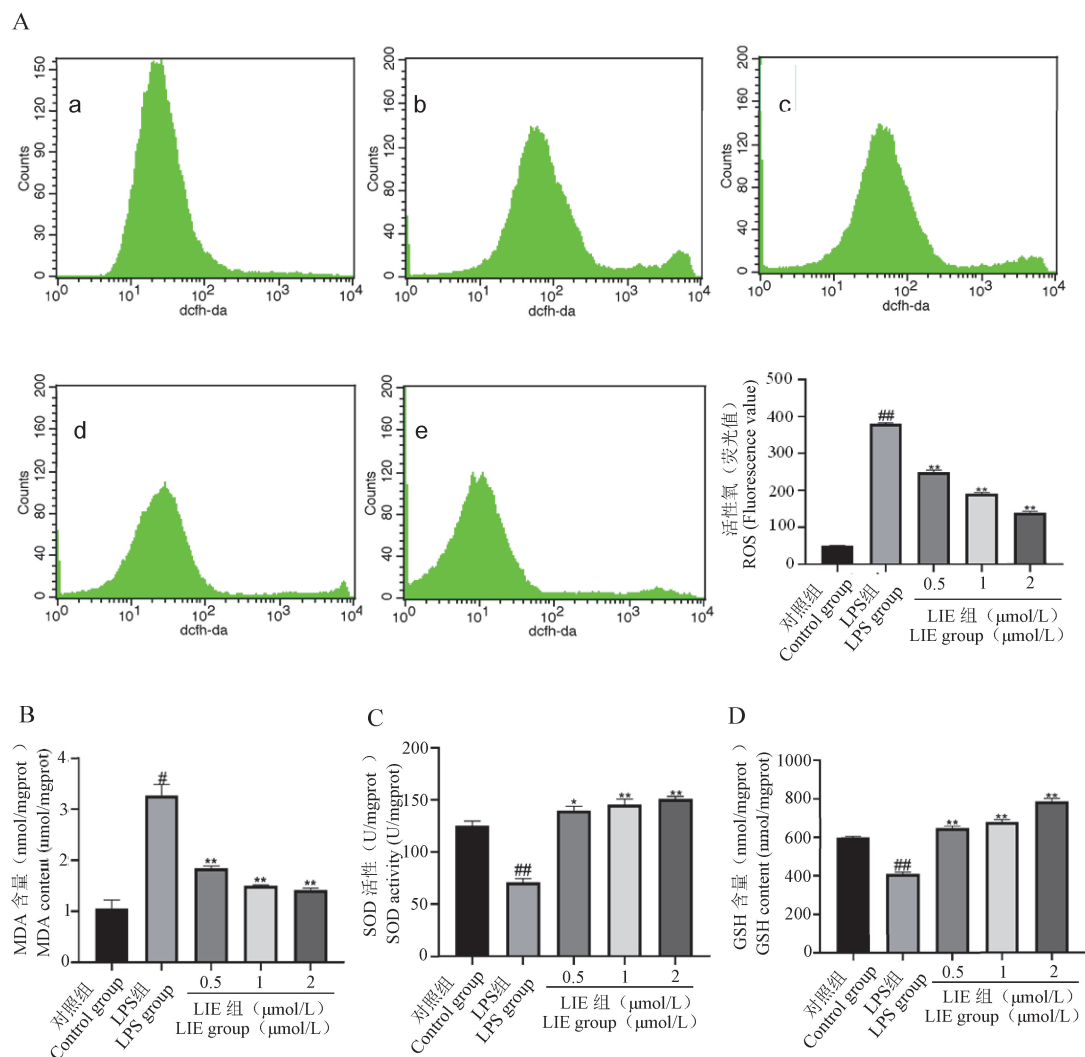


图3 莲心碱对 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞中 ROS、MDA 和 GSH 的含量以及 SOD 活性影响

Figure 3 Effects of LIE on the contents of ROS, MDA, GSH and SOD activity in LPS-induced RAW264.7 macrophages

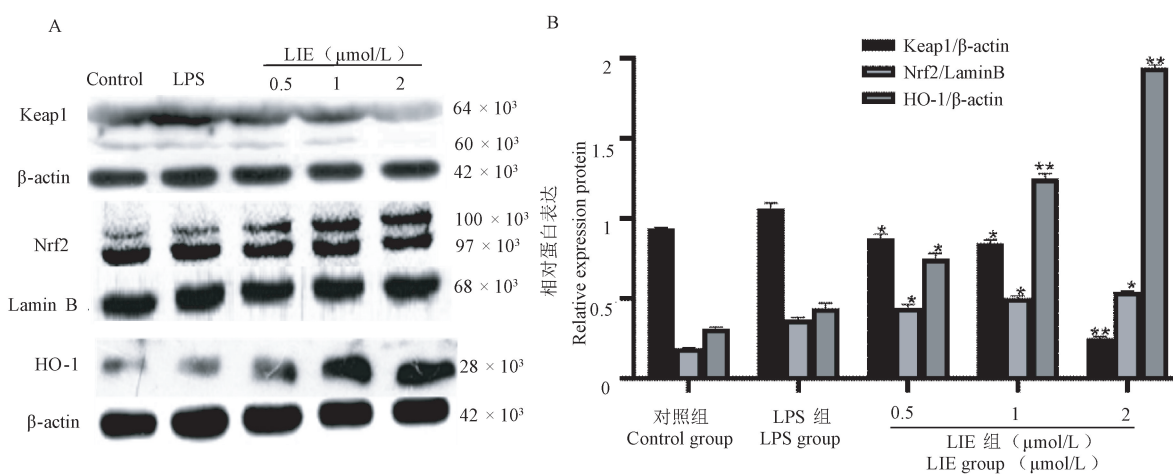


图4 莲心碱对 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞中 Nrf2/HO-1 通路的影响

Figure 4 Effects of LIE on Nrf2/HO-1 pathway in LPS-induced RAW364.7 macrophages

3 讨论

炎症与氧化应激是互相依赖存在的^[9],许多疾病同时伴随着炎症与氧化应激的发生,如急性肺损伤,莲心碱已被证实具有抗炎抗氧化作用^[8],但分子机制尚未明确,因此明确其抗炎抗氧化机制对于此类疾病的治疗具有重要意义。我们通过 LPS 诱导 RAW264.7 细胞不仅验证了莲心碱的抗炎抗氧化作用而且证明了其抗炎抗氧化作用的机制。

PGE2 和 NO 是两种重要的促炎介质^[10];iNOS 向体内传递气体信号并参与 NO 的产生;环氧合酶 COX-2 参与 PGE2 的产生^[11]。我们的研究表明,莲心碱通过降低 COX-2 和 iNOS 的转录水平,显著降低了 PGE2 和 NO 的生成。TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 作为促炎因子可以促进炎症^[12]。我们的研究表明,莲心碱能显著降低 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的释放,从而证实了莲心碱的抗炎活性。LPS 通过促进 I κ B α 的降解,将重要的抗炎分子靶标 NF- κ B 从 I κ B α 中分离出来。许多炎症介质,包括诱导型 iNOS 和 COX-2,将随着 NF- κ B 进入细胞核而增加表达^[13-14]。当 LPS 诱导炎症时,MAPK 信号通路被激活,P38、ERK 和 JNK 被磷酸化,还调节某些基因的转录水平,包括 iNOS 和 COX-2^[15-16]。在我们的研究中,莲心碱阻断了 I κ B α 的降解,并抑制了 p65、p38、ERK 和 JNK 的磷酸化。因此,莲心碱的抗炎作用可能是通过抑制 NF- κ B 和 MAPK 通路来实现的。

当机体发生氧化应激会产生过量的 ROS,破坏抗氧化系统,致使细胞发生氧化性损伤^[17]。MDA 可以破坏细胞膜,这是氧化应激的标志,氧化应激造成的损害可以通过抗氧化酶的活性得到改善,包括 SOD 和 GSH^[18-19]。实验表明,莲心碱能显著降低 LPS 诱导的 ROS 和 MDA 的生成。此外,LPS 诱导巨噬细胞会降低 GSH 水平和 SOD 活性,莲心碱可以有效地逆转这一改变。许多天然植物化合物可以通过 Nrf2/HO-1 途径减轻 LPS 诱导的氧化应激。当抗氧化分子进入细胞时,Nrf2 从 Keap1 分离并移位到细胞核,上调 HO-1 的表达,从而发挥抗氧化作用^[20]。我们的研究表明,用莲心碱处理后显著增加了 Nrf2 和 HO-1 的核表达,降低了 Keap1 的表达。在此,我们证明了莲心碱可能通过激活 Nrf2/HO-1 通路来减轻 LPS 引起的氧化应激。

综上所述,莲心碱通过抑制 NF- κ B 和 MAPK 信号通路,从而抑制 iNOS 和 COX-2 的表达和促炎因

子(TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6)的释放,发挥抗炎作用;通过活化 Nrf2/HO-1 通路,抑制 ROS、MDA 的生成,增加 SOD 的活性和 GSH 的含量,发挥抗氧化作用。本研究对莲心碱抗炎抗氧化作用机制的研究期望可以为伴有炎症与氧化应激的疾病的治疗提供一个新的方向。

参 考 文 献(References)

- [1] Yang H, Song Z, Hong D. CRBN knockdown mitigates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by suppression of oxidative stress and endoplasmic reticulum (ER) stress associated NF- κ B signaling [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 123: 109761.
- [2] Lu YC, Yeh WC, Ohashi PS. LPS/TLR4 signal transduction pathway [J]. Cytokine, 2008, 42(2): 145-151.
- [3] Tang J, Diao P, Shu X, et al. Quercetin and quercitrin attenuates the inflammatory response and oxidative stress in LPS-induced RAW264.7 Cells: *In vitro* assessment and a theoretical model [J]. Biomed Res Int, 2019, 2019: 7039802.
- [4] 苏敏, 龚小见, 周欣. 中药有效成分抗宫颈癌作用机制的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(4): 675-684.
Su M, Gong XJ, Zhou X. Research progress in mechanism of traditional Chinese medicine active ingredients against cervical cancer [J]. Chin J Chin Mater Med, 2019, 44(4): 675-684.
- [5] Dong ZX, Zhao X, Gu DF, et al. Comparative effects of liensinine and neferine on the human ether-a-go-go-related gene potassium channel and pharmacological activity analysis [J]. Cell Physiol Biochem, 2012, 29(3-4): 431-442.
- [6] Xie Y, Zhang Y, Zhang LT, et al. Protective effects of alkaloid compounds from Nelumbinis Plumula on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative stress [J]. Molecules, 2013, 18(9): 10285-10300.
- [7] 余万桂, 邓德明, 张恒文, 等. 莲心碱对大鼠脑缺血再灌注损伤血清中 IL-1、TNF- α 的影响 [J]. 长江大学学报(自科版)医学卷, 2008, 5(4): 1-2, 5.
Yu WG, Deng DM, Zhang HW, et al. Effects of liensinine on serum IL-1 and TNF- α in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. J Yangtze Univ (Nat Sci Edit) Med, 2008, 5(4): 1-2, 5.
- [8] 陈朝阳, 姚茹, 王璐, 等. 莲心碱对 LPS 诱导小鼠急性肺损伤的保护作用 [J]. 中国实验动物学报, 2018, 26(3): 343-348.
Chen ZY, Yao R, Wang L, et al. Protective effects of liensinine on LPS-induced acute lung injury in mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2018, 26(3): 343-348.
- [9] Liu Q, Lv H, Wen Z, et al. Isoliquiritigenin activates nuclear factor erythroid-2 related factor 2 to suppress the NOD-like receptor protein 3 inflammasome and inhibits the NF- κ B pathway in macrophages and in acute lung injury [J]. Front Immunol, 2017, 8: 1518.
- [10] Gil TY, Jin BR, Hong CH, et al. Astilbe Chinensis ethanol

- extract suppresses inflammation in macrophages via NF- κ B pathway [J]. BMC Complement Med Ther, 2020, 20(1): 302.
- [11] Ren J, Su D, Li L, et al. Anti-inflammatory effects of Aureusidin in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages via suppressing NF- κ B and activating ROS and MAPKs-dependent Nrf2/HO-1 signaling pathways [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2020, 387: 114846.
- [12] He J, Han S, Li XX, et al. Diethyl Blechnic exhibits anti-Inflammatory and antioxidative activity via the TLR4/MyD88 signaling pathway in LPS-Stimulated RAW264.7 cells [J]. Molecules, 2019, 24(24): 4502.
- [13] Kim HJ, Joe HI, Zhang Z, et al. Anti-inflammatory effect of *Acalypha australis* L. via suppression of NF- κ B signaling in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages and LPS-induced septic mice [J]. Mol Immunol, 2020, 119: 123–131.
- [14] Zhang Q, Lenardo MJ, Baltimore D. 30 years of NF- κ B: a blossoming of relevance to human pathobiology [J]. Cell, 2017, 168(1–2): 37–57.
- [15] Zhang WB, Yang F, Wang Y, et al. Inhibition of HDAC6 attenuates LPS-induced inflammation in macrophages by regulating oxidative stress and suppressing the TLR4–MAPK/NF- κ B pathways [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 117: 109166.
- [16] Xiong H, Cheng Y, Zhang X, et al. Effects of taraxasterol on iNOS and COX-2 expression in LPS-induced RAW 264.7 macrophages [J]. J Ethnopharmacol, 2014, 155(1): 753–757.
- [17] Niki E. Biomarkers of lipid peroxidation in clinical material [J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1840(2): 809–817.
- [18] Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges [J]. Anal Biochem, 2017, 524: 13–30.
- [19] He L, He T, Farrar S, et al. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 44(2): 532–553.
- [20] Sun XQ, Wu C, Qiu YB, et al. Heme oxygenase-1 attenuates seawater drowning-induced acute lung injury through a reduction in inflammation and oxidative stress [J]. Int Immunopharmacol, 2019, 74: 105634.

[收稿日期] 2022-01-18