

姜黄素通过调控 PPAR γ /NF- κ B 信号通路减轻 CSE 诱导的人气道上皮细胞氧化应激反应

朱涛¹, 施婵妹², 李鹤¹, 何婧¹, 杨艳丽¹, 王勤¹, 邓欣雨¹, 吴砚樵¹, 王静¹, 赵燕¹, 邓火金²

¹重庆医科大学附属第二医院呼吸内科, 重庆 400010; ²南方医科大学珠江医院呼吸内科, 广东 广州 510280

摘要:目的 探讨姜黄素对香烟烟雾提取物(CSE)诱导的人气道上皮 16HBE 细胞氧化应激和炎症反应的抑制作用及相关的分子机制。方法 使用 shRNA-PPAR γ (shPPAR γ) 转染人气道上皮 16HBE 细胞下调 PPAR γ 表达。将 16HBE 细胞分为 5 组即对照组、姜黄素组、CSE 组、CSE+姜黄素组和 CSE+姜黄素+shRNA-PPAR γ 组。在 0 h 和 24 h 时使用 MTT 法对细胞活性进行检测; 干预 24 h 后使用 qPCR 对细胞 TNF- α 、iNOS 和 PPAR γ mRNA 表达进行检测, 采用 western blot 检测 16HBE 细胞中 iNOS、PPAR γ 蛋白表达以及 NF- κ B p65 磷酸化水平。结果 16HBE 细胞在干预 24 h 后各组之间细胞活性未有明显统计学差异($P>0.05$)。与对照组相比较, CSE 干预 24 h 后 PPAR γ 表达水平明显降低, TNF- α 、iNOS 表达及 NF- κ B p65 磷酸化水平明显升高, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。但 CSE 组较 CSE+姜黄素组和 CSE+姜黄素+shPPAR γ 组 PPAR γ 表达水平下降以及 TNF- α 、iNOS 表达和 NF- κ B p65 磷酸化水平升高更显著, 差异均有统计学意义($P<0.05$); 且 CSE+姜黄素+shPPAR γ 组较 CSE+姜黄素组 PPAR γ 表达水平下降以及 TNF- α 、iNOS 表达和 NF- κ B p65 磷酸化水平升高更明显, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 姜黄素可以通过抑制 PPAR γ /NF- κ B 信号通路减轻 CSE 诱导的人气道上皮 16HBE 细胞的炎症反应及氧化应激。为姜黄素应用于慢性阻塞性肺疾病等疾病的临床治疗奠定了理论基础。

关键词: CSE; 16HBE 细胞; 氧化应激; PPAR γ ; NF- κ B

Curcumin suppresses cigarette smoke extract-induced oxidative stress through PPAR γ /NF- κ B pathway in human bronchial epithelial cells *in vitro*

ZHU Tao¹, SHI Chanmei², LI He¹, HE Jing¹, YANG Yanli¹, WANG Qin¹, DENG Xinyu¹, WU Yanqiao¹, WANG Jing¹, ZHAO Yan¹, DENG Huojin²

¹Department of Respiratory Medicine, Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China; ²Department of Respiratory Medicine, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510280, China

Abstract: Objective To investigate the effect of curcumin against cigarette smoke extract (CSE)-induced oxidative stress in human bronchial epithelial cells and explore the underlying mechanism. **Methods** Human bronchial epithelial cell line 16HBE was treated for 24 h with curcumin, CSE, CSE+curcumin, and CSE+curcumin with transfection by a short hairpin RNA targeting PPAR γ (shPPAR γ). MTT assay was used to observe the changes in the cell viability after the treatments. Quantitative real-time PCR was performed to detect the mRNA expressions of tumor necrosis factor- α (TNF- α), iNOS and PPAR γ in the cells, and the protein expressions of iNOS, PPAR γ and the phosphorylation of NF- κ B p65 were detected using Western blotting. **Results** The treatments did not cause significant changes in the cell viability. Exposure to CSE for 24 h significantly lowered PPAR γ expression and increased TNF- α and iNOS expressions and phosphorylation of NF- κ B p65 in the cells. The effects of CSE were significantly suppressed by curcumin, but transfection of the cells with shRNA-PPAR γ obviously abrogated the suppressive effects of curcumin. **Conclusions** Curcumin suppresses CSE-induced oxidative stress and inflammation via the PPAR γ /NF- κ B signaling pathway in 16HBE cells, suggesting the potential of curcumin in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease.

Keywords: cigarette smoke extract; bronchial epithelial cells; 16HBE cells; oxidative stress; PPAR γ ; nuclear factor- κ B

收稿日期: 2018-05-27

基金项目: 广东省科技计划(2016A020215099, 2014A020212627); 广东省自然科学基金(博士科研启动纵向协同管理试点项目)(2017A030310286); 广州市科学研究专项(一般项目专题)(201707010282)

作者简介: 朱涛, 博士, 博士后, 副主任医师, E-mail: zhutao063020@163.com; 施婵妹, 硕士研究生, E-mail: 775710485@qq.com。朱涛、施婵妹共同为第一作者

通信作者: 邓火金, 硕士, 主任医师, 硕士研究生导师, E-mail: denghj51889@126.com

慢性阻塞性肺疾病(COPD)作为最常见的慢性气道炎症性疾病, 已成为导致人类死亡的第4大疾病, 研究发现烟雾及颗粒诱导的持续性的气道氧化应激和炎症反应是导致 COPD 发生和发展的核心因素^[1-2]。因此抑制过度的氧化应激和炎症反应已成为延缓疾病进展和治疗的关键。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ) 是配体激活的核转录因子, 在机体脂质平衡、糖代谢、炎症反应和免疫反应等方面具有重要的调控作用。研究发现 PPAR γ 具有调节肺免疫反应的作用^[3], 其

还可能作为治疗支气管哮喘和COPD等慢性肺疾病的潜在分子靶点^[4]。姜黄素是从姜黄类植物的根茎中提取的一种具有抑制氧化应激、炎症反应、器官纤维化、调节血糖及调控细胞凋亡等多种生物学活性的酚类化合物^[5-7]。大量研究发现,姜黄素的效应与上调PPAR γ 的表达有关^[8-11]。另外目前研究证实姜黄素调控香烟烟雾介导的炎症反应和氧化应激作用主要包括:直接清除自由基、增强抗氧化防御系统、抑制NF- κ B信号通路、激活核因子E2相关因子2(Nrf2)等,但具体分子机制仍不明确。鉴于PPAR γ 是调控炎症和应激的上游关键因子,那么姜黄素以上的药理作用是否与诱导PPAR γ 表达密切相关呢?本实验将使用姜黄素对香烟烟雾提取物(CSE)诱导的人气道上皮16HBE细胞进行干预,观察其对PPAR γ 和NF- κ B表达和活化的影响,进一步探讨姜黄素对COPD的治疗作用及与PPAR γ /NF- κ B信号通路的关系。

1 材料和方法

1.1 试剂和材料

人气道上皮细胞16HBE细胞株(中国科学院上海细胞库提供);姜黄素(纯度>98%)(西安崇信);总RNA抽提试剂盒(北京百泰克);第一链cDNA合成试剂盒和PCR试剂盒(Takara公司);iQTM5 Multicolor Real-time PCR Detection System(伯乐);shRNA-PPAR γ (sc-44220-V)和shRNA-scrambled(sc-108060,阴性对照shRNA)(Santa Cruz);鼠抗人iNOS抗体、鼠抗人PPAR γ 抗体、鼠抗人NF- κ B p65抗体、鼠抗人phospho-NF- κ B p65抗体和鼠抗人 β -actin抗体(Santa Cruz)。DMEM培养基(Gibco),小牛血清(四季清),甲醇(色谱纯),乙腈(色谱纯, Tedia),DMSO(二甲基亚砷,国药集团),MTT试剂盒(Promega)。其余试剂均为分析纯。

1.2 细胞培养及shRNA-PPAR γ 转染效果鉴定

16HBE细胞常规接种在含10% FBS、100 g/L青霉素、100 g/L链霉素的DMEM培养液中,置于37℃、95%空气、5% CO₂孵箱内培养。每48 h换液、传代1次,取对数生长期细胞用于实验。根据前期研究方法,首先使用shRNA-PPAR γ 和shRNA-scrambled对16HBE细胞干预24 h,观察shRNA-PPAR γ 对于16HBE细胞PPAR γ 表达的抑制作用,在干预24 h后使用qPCR和western blot法对PPAR γ 表达水平进行检测,了解shRNA-PPAR γ 转染效率^[12]。

1.3 细胞分组及干预方法

1.3.1 细胞分组方法 16HBE细胞分为对照组、姜黄素组、CSE组、CSE+姜黄素组和CSE+姜黄素+shRNA-PPAR γ 组。根据文献介绍方法制备CSE^[13-14]。其中对照组细胞加入PBS干预24 h;姜黄素组加入终浓度为

25 μ mol/L的姜黄素溶液进行干预24 h;CSE组加入CSE(终浓度为2%)干预24 h;CSE+姜黄素组加入终浓度为25 μ mol/L的姜黄素溶液进行干预4 h然后再给予CSE(终浓度为2%)干预24 h;CSE+姜黄素+shPPAR γ 组在给予shRNA-PPAR γ 干预24 h后加入终浓度为25 μ mol/L的姜黄素溶液干预4 h,然后再加入CSE(终浓度为2%)干预24 h。在干预结束后提取细胞mRNA和蛋白保存于-80℃备用。

1.3.2 细胞活性分析(MTT比色试验) 取对数生长期细胞消化制成单细胞悬液,接种于96孔培养板中,每孔接种100 μ L约含 5×10^3 个细胞。贴壁后无血清培养细胞16~24 h,使细胞同步化。使用MTT比色试验对0 h和24 h时的细胞生长状态进行测定,重复实验5次。细胞活性(%)=对应时间点(OD干预组/OD对照组) \times 100(%)^[12, 15-16]。

1.3.3 qPCR检测16HBE细胞TNF- α 、iNOS和PPAR γ mRNA表达检测 干预24 h后,按照qPCR试剂盒说明书提取细胞总RNA。引物:TNF- α 正义5'-CTCTTCTCCTTCTGATCGTGG-3',反义5'-CTTGTCACCTCGGGTTCGAG-3';PPAR γ 正义5'-ACTGTCCGGTTTCA GAAGTGC-3',反义5'-ATGGACACCATACTTGAG C-3';iNOS正义:5'-CACAGA ACTGAGGGTACA-3',反义:5'-AGAGAGATCGGGTTCACA-3'; β -actin正义:5'-CTTAGTTGCGTTACACCCTTTCTTG-3',反义:5'-CTGTACCTTCACCGTTCAGTTT-3'。使用 β -actin作为内参基因,使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 公式计算目的基因相对表达量。 $\Delta\Delta Ct=(Ct_{\text{目标}}-Ct_{\beta\text{-actin}})_{\text{干预组}}-(Ct_{\text{目标}}-Ct_{\beta\text{-actin}})_{\text{对照组}}$ ^[17-18]。

1.3.4 Western blot法检测16HBE细胞中iNOS、PPAR γ 蛋白表达以及NF- κ B p65活化 干预24 h后,按照试剂盒操作要求,首先提取细胞总蛋白,并进行聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),然后转移至硝酸纤维素滤膜上,用脱脂奶粉封闭1 h,分别加入鼠抗人单克隆抗体PPAR γ (1:1000)、phospho-NF- κ B p65(1:800)、NF- κ B p65抗体(1:800)和 β -actin(1:1200),4℃孵育过夜,洗膜后加入相应的辣根过氧化物酶标记的二抗(1:2000),用ECL进行显色,用凝胶成像分析系统进行扫描。

1.3.5 统计学方法 计量资料以均数 \pm 标准差表示。采用SPSS17.0进行单因素方差分析,多重比较采用LSD法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 shRNA-PPAR γ 转染后16HBE PPAR γ 的表达水平及细胞活性

16HBE细胞转染shRNA-PPAR γ 和shRNA-scrambled 24 h后,使用qPCR和western blot法对PPAR γ mRNA和蛋白表达进行分析,发现转染shRNA-PPAR γ

后细胞PPAR γ 表达水平较对照组明显下降($P<0.05$,图1,表1),而shRNA-scrambled组和对照组未见显著差异($P>0.05$,图1,表1)。

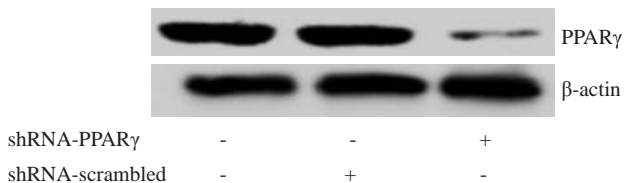


图1 16HBE细胞PPAR γ western blot结果
Fig.1 The western blot results of PPAR γ in 16HBE cells.

表1 16HBE细胞PPAR γ mRNA和蛋白的表达水平

Tab.1 Changes in mRNA and protein expressions of PPAR γ in 16HBE cells transfected with shRNA-PPAR γ ($n=5$, Mean \pm SD)

Group	PPAR γ mRNA	PPAR γ protein
Control	1	0.98 \pm 0.05
shRNA-scrambled	0.98 \pm 0.04	0.96 \pm 0.03
shRNA-PPAR γ	0.18 \pm 0.07 [#]	0.21 \pm 0.11 [#]

[#] $P<0.05$ compared with Control.

2.2 姜黄素对于16HBE细胞活性的影响

16HBE细胞在干预24 h后使用MTT法对各组细胞活性进行检查,发现对照组、姜黄素组、CSE组、CSE+姜黄素组和CSE+姜黄素+shPPAR γ 组之间细胞活性未有明显统计学差异($P>0.05$,表2)。

2.3 姜黄素对于CSE诱导的16HBE细胞TNF- α 和iNOS表达的影响

与对照组相比较,16HBE细胞在CSE干预24 h后iNOS mRNA和蛋白的表达水平及TNF- α mRNA的表达水平明显升高,差异均有统计学意义($P<0.05$,图2,表3)。但CSE组较CSE+姜黄素组和CSE+姜黄素+shPPAR γ 组iNOS和TNF- α 表达水平升高更加显著,差异均有统计学意义($P<0.05$,图2,表3);且CSE+姜黄素+shPPAR γ 组较CSE+姜黄素组升高更加明显,差异均有统计学意义($P<0.05$,图2,表3)。

2.4 姜黄素对于CSE诱导的16HBE细胞PPAR γ 表达的影响

与对照组相比较,16HBE细胞在CSE干预24 h后PPAR γ mRNA和蛋白的表达水平明显降低,差异均有统计学意义($P<0.05$,图2,表4)。但CSE组较CSE+姜黄素组和CSE+姜黄素+shPPAR γ 组PPAR γ 表达水平下降更加显著,差异均有统计学意义($P<0.05$,图2,表4);

表2 MTT比色法测定16HBE细胞活性(0 h and 24 h)

Tab.2 Changes in 16HBE cell viability at different time points of treatments ($n=5$, Mean \pm SD)

Intervention time	0 h	24 h
Control	100%	100%
Curcumin	(99.7 \pm 1.5)%	(103.7 \pm 1.9)%
CSE	(101.3 \pm 2.7)%	(98.6 \pm 2.1)%
CSE+Curcumin	(101.4 \pm 2.6)%	(99.5 \pm 2.8)%
CSE+Curcumin+shPPAR γ	(104.2 \pm 1.9)%	(101.3 \pm 1.3)%

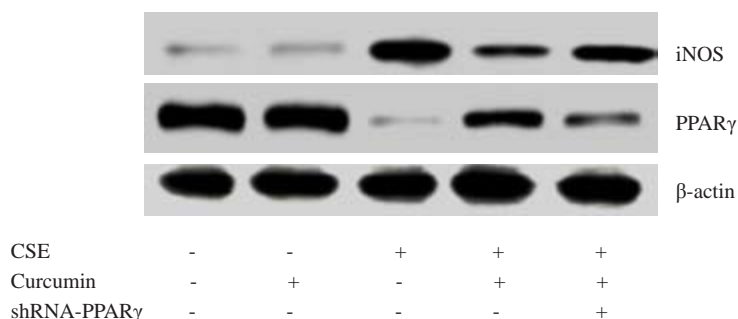


图2 16HBE细胞iNOS和PPAR γ western blot结果
Fig.2 Western blotting of iNOS and PPAR γ in 16HBE cells with different treatments.

表3 16HBE细胞TNF-α和iNOS mRNA的表达水平

Tab.3 The mRNA expression of TNF-α and iNOS in 16HBE cells with different treatments (n=5, Mean±SD)

Group	TNF-α mRNA	iNOS mRNA
Control	1	1
Curcumin	1.05±0.04	1.07±0.06
CSE	12.15±4.18*	13.27±2.17*
CSE+Curcumin	4.52±1.22* [#]	3.58±1.06* [#]
CSE+Curcumin+shPPARγ	8.97±2.41* [#]	6.77±1.62* [#]

*P<0.05 compared with Control; [#]P<0.05 compared with CSE; [†]P<0.05 compared with CSE+Curcumin+shPPARγ.

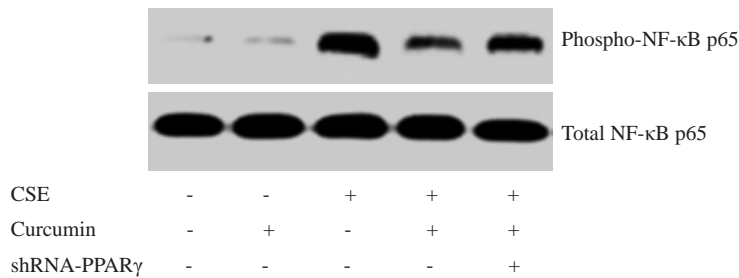


图3 16HBE细胞NF-κB p65磷酸化水平的Western blot结果

Fig.3 Western blotting for assessing activation of NF-κB p65 in 16HBE cells with different treatments.

表4 16HBE细胞PPARγ mRNA和蛋白的表达水平及NF-κB p65活化水平

Tab.4 The mRNA and protein expression of PPARγ and activation of NF-κB p65 in 16HBE cells with different treatments (n=5, Mean±SD)

Group	PPARγ mRNA	PPARγ protein	Phospho-NF-κB p65/NF-κB p65
Control	1	0.98±0.05	0.17±0.04
Curcumin	0.98±0.04	0.96±0.06	0.15±0.03
CSE	0.18±0.07*	0.18±0.08*	0.93±0.04*
CSE+Curcumin	0.69±0.14* [#]	0.81±0.12* [#]	0.35±0.07* [#]
CSE+Curcumin+shPPARγ	0.37±0.12* [#]	0.41±0.11* [#]	0.59±0.09* [#]

*P<0.05 compared with Control; [#]P<0.05 compared with CSE; [†]P<0.05 compared with CSE+Curcumin+shPPARγ.

且CSE+姜黄素+shPPARγ组较CSE+姜黄素组PPARγ表达水平下降更加明显,差异均有统计学意义(P<0.05,图2,表4)。

2.5 姜黄素对于CSE诱导的16HBE细胞NF-κB p65磷酸化水平的影响

与对照组相比较,16HBE细胞在CSE干预24 h后NF-κB p65的磷酸化水平明显升高,差异均有统计学意义(P<0.05,图3,表4)。但CSE组较CSE+姜黄素组和CSE+姜黄素+shPPARγ组NF-κB p65的磷酸化水平升高更加显著,差异均有统计学意义(P<0.05,图3,表4);且CSE+姜黄素+shPPARγ组较CSE+姜黄素组NF-κB p65的磷酸化水平升高更加明显,差异均有统计学意义

(P<0.05,图3,表4)。

3 讨论

慢性阻塞性肺疾病是以持续呼吸道症状和持续气流受限为特征的一种慢性肺病,与气道和肺对有害微粒或气体的异常反应有关。流行病学调查发现近年来我国的COPD发病率呈上升趋势,目前发病率已高达8.6%~13.6%^[1-2]。大量研究证实吸入有害颗粒和烟雾如香烟、生物燃料及空气污染等诱导的中小气道慢性持续性氧化应激及炎症反应是COPD发生和发展的根本原因^[1-2, 19-20]。抑制氧化应激及炎症反应已成为COPD治疗的关键靶点。气道上皮细胞(AECs)作为人体与外界接

触的第一道物理性和生物性屏障,时刻暴露于炎症性和感染性的刺激和损伤,AECs损伤引起的急、慢性炎症浸润是改变和破坏气道局部和整体免疫调节水平的重要因素^[21-22]。本研究通过香烟烟雾提取物(CSE)干预人气管道上皮16HBE细胞模拟吸烟状态下气道上皮细胞的炎症模型,通过姜黄素干预,观察气道上皮细胞的活性和炎症反应程度,探讨了姜黄素对COPD的治疗作用及机制。

本研究结果显示,与对照组比较,CSE干预16HBE细胞24 h后iNOS mRNA和蛋白质及TNF- α mRNA的表达水平明显升高。诱导型一氧化氮合酶(iNOS)属于NOS家族,过度的或病理性氧化应激和炎症反应状态下多种组织细胞均出现高表达^[23]。iNOS的高表达将导致组织细胞内NO(重要的氧自由基分子)的大量合成诱导过度的氧化应激反应,造成组织损伤和炎症反应的持续^[24-25]。Seimetz等^[25]的研究显示在香烟诱导的小鼠肺气肿模型中抑制iNOS表达可有效改善气道炎症反应、肺气肿的发生及肺血管的重塑。而TNF- α 作为重要的炎症介质,在COPD气道炎症反应中扮演者重要的角色^[26]。COPD相关的炎症状态下TNF- α 可由多种组织细胞合成和分泌,TNF- α 既可直接导致气道上皮细胞损伤,也可间接通过趋化中性粒细胞和巨噬细胞等炎症细胞的聚集及活化导致气道炎症和氧化应激反应^[16, 27]。有研究显示气道和血中TNF- α 水平与COPD气道及全身炎症反应程度呈正相关,可作为检查COPD严重程度的标记物^[26]。

研究中在CSE的基础上加用姜黄素干预后,我们发现iNOS和TNF- α mRNA的表达水平明显下降。该结果说明16HBE细胞中姜黄素对CSE诱导的TNF- α 和iNOS表达有显著的抑制作用。表明姜黄素可有效减轻CSE诱导的气道上皮炎症反应和氧化应激反应。NF- κ B在生理状态下与I κ B形成复合物存在于包浆中,当细胞受刺激后,I κ B发生磷酸化并与NF- κ B解离,激活的NF- κ B在核内与特定的 κ B位点结合,引起靶基因表达增强^[16-17]。Yuan等^[28]的研究发现姜黄素可以通过抑制NF- κ B信号通路的活化下调LPS诱导的BEAS-2B细胞COX-2过度表达。在本研究中,与对照组相比较,CES组和CSE+姜黄素组NF- κ B p65的磷酸化水平均升高,但CES组较CSE+姜黄素组升高更为显著。NF- κ B被证实炎症的调控中起到关键性作用^[15, 18],且研究发现TNF- α 和iNOS基因启动子部位存在NF- κ B结合位点。结合本研究可发现,TNF- α 、iNOS的表达水平与NF- κ B p65的磷酸化呈正相关,提示姜黄素可通过抑制NF- κ B信号通路下调炎症相关基因的转录,从而发挥其抗炎、抗氧化作用。

Meng等^[29]的研究发现姜黄素可通过上调PPAR γ 信号通路减轻自发性高血压大鼠模型(SHRs)的心肌纤维化。Liu等^[30]的实验显示姜黄素可通过促进PPAR γ 信号

通路抑制TGF- β 2诱导的肺成纤维细胞向肌成纤维细胞的分化。杨雪梅等^[11]的研究显示姜黄素既可结合PPAR γ ,又可激活PPAR γ ,是PPAR γ 的天然配体。目前大量研究证实PPAR γ 是NF- κ B活化重要的调控因子,在多种病理状态下和不同组织中上调PPAR γ 可导致NF- κ B活化水平下降^[14]。本研究中首先我们发现在CSE诱导的16HBE细胞状态下姜黄素可以明显上调PPAR γ 的表达而下调NF- κ B p65的磷酸化水平。进一步我们在使用shRNA-PPAR γ 转染细胞特异性抑制PPAR γ 表达后发现姜黄素促进PPAR γ 合成及抑制NF- κ B p65磷酸化的作用明显减弱。同时发现姜黄素对TNF- α 和iNOS的抑制作用也被shRNA-PPAR γ 明显阻断。该结果表明姜黄素可通过PPAR γ /NF- κ B信号通路减轻CSE诱导的16HBE细胞TNF- α 和iNOS表达。

综上所述,本研究发现姜黄素可以通过PPAR γ /NF- κ B信号通路减轻CSE诱导的人气管道上皮16HBE细胞的炎症反应及氧化应激,为姜黄素应用于COPD和支气管哮喘等慢性气道炎症性疾病的临床治疗奠定了理论基础。

参考文献:

- [1] Wang C, Xu J, Yang L, et al. Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China (the China Pulmonary Health [CPH] study): a National cross-sectional study [J]. *Lancet*, 2018, 391(1131): 1706-17.
- [2] Fang L, Gao P, Bao H, et al. Chronic obstructive pulmonary disease in China: a nationwide prevalence study [J]. *Lancet Respir Med*, 2018, 6(6): 421-30.
- [3] Nobs SP, Kopf M. PPAR-gamma in innate and adaptive lung immunity [J]. *J Leukoc Biol*, 2018, 104(4): 737-41.
- [4] Hart CM, Roman J, Reddy R, et al. PPAR γ : A novel molecular target in lung disease [J]. *J Investig Med*, 2008, 56(2): 515-7.
- [5] Li HY, Yang M, Li Z, et al. Curcumin inhibits angiotensin II-induced inflammation and proliferation of rat vascular smooth muscle cells by elevating PPAR-gamma activity and reducing oxidative stress [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 39(5): 1307-16.
- [6] 尹海燕, 邱敏珊, 何丹, 等. 姜黄素对脓毒症大鼠肝细胞的保护作用 [J]. *中华危重病急救医学*, 2017, 29(2): 162-6.
- [7] 王翠娟, 尚明, 邹微, 等. 姜黄素诱导NSCLC细胞凋亡机制探讨 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2017, 24(10): 663-9.
- [8] Mohsen M, Ehsan K, et al. Potential effects of curcumin on peroxisome proliferator-activated receptor- γ *in vitro* and *in vivo* [J]. *World J of Methodol*, 2016, 6(1): 112-7.
- [9] Xu S, Jiang B, Wang H, et al. Curcumin suppresses intestinal fibrosis by inhibition of PPAR γ -mediated epithelial-mesenchymal transition [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017: 7876064.
- [10] Cheng KP, Yang AJ, Hu XH, et al. Curcumin attenuates pulmonary inflammation in lipopolysaccharide induced acute lung injury in neonatal rat model by activating peroxisome Proliferator-Activated receptor gamma (PPAR gamma) pathway [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 1178-84.

- [11] 杨雪梅, 邱红梅, 田 蜜, 等. 姜黄素对人过氧化物酶体增殖物激活受体 γ_1 激活作用的研究[J]. 中草药, 2017, 48(15): 3122-6.
- [12] Zhu T, Li C, Zhang X, et al. GLP-1 enhances SP-A expression in LPS-induced acute lung injury through the TTF-1 signaling pathway [J], 2018: 3601454.
- [13] Chen ZH, Kim HP, Sciruba FC, et al. Egr-1 regulates autophagy in cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease [J]. PLoS One, 2008, 3(10): e3316.
- [14] Li D, Hu J, Wang T, et al. Silymarin attenuates cigarette smoke extract-induced inflammation *via* simultaneous inhibition of autophagy and ERK/p38 MAPK pathway in human bronchial epithelial cells [J]. Sci Rep, 2016, 6: 37751.
- [15] Zhu T, Zhang W, Feng SJ, et al. Emodin suppresses LPS-induced inflammation in RAW264.7 cells through a PPAR gamma-dependent pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2016, 34: 16-24.
- [16] Zhu T, Wang DX, Zhang W, et al. Andrographolide protects against LPS-Induced acute lung injury by inactivation of NF-kappa B [J]. PLoS One, 2013, 8(2): e56407.
- [17] Zhu T, Wu XL, Zhang W, et al. Glucagon like peptide-1 (GLP-1) modulates OVA-Induced airway inflammation and mucus secretion involving a protein kinase a (PKA)-Dependent nuclear factor-kappa B (NF-kappa B) signaling pathway in mice [J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(9): 20195-211.
- [18] Zhu T, Li CY, Zhang XE, et al. GLP-1 analogue liraglutide enhances SP-A expression in LPS-Induced acute lung injury through the TTF-1 signaling pathway [J]. Mediators Inflamm, 2018: 3601454.
- [19] 张 毅, 朱 涛, 于化鹏. 全身性和吸入性糖皮质激素治疗对AECOPD 系统性炎症反应水平的影响 [J]. 西部医学, 2018, 30 (1): 52-5.
- [20] 刘 杰, 陈荣昌, 钟南山. 呼出气二氧化碳和体表氧饱和度监测在慢性阻塞性肺疾病呼吸衰竭患者中的应用 [J]. 南方医科大学学报, 2010, 30(7): 1565-8.
- [21] Holt PG, Strickland DH, Wikström ME, et al. Regulation of immunological homeostasis in the respiratory tract [J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(2): 142-52.
- [22] Hallstrand TS, Hackett TL, Altemeier WA, et al. Airway epithelial regulation of pulmonary immune homeostasis and inflammation [J]. Clin Immunol, 2014, 151(1): 1-15.
- [23] Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S, et al. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases [J]. Physiol Rev, 2014, 94(2): 329-54.
- [24] Malerba M, Radaeli A, Olivini A, et al. Exhaled nitric oxide as a biomarker in COPD and related comorbidities [J]. Biomed Res Int, 2014: 271918.
- [25] Seimetz M, Parajuli N, Pichl A, et al. Inducible NOS inhibition reverses Tobacco-Smoke-Induced emphysema and pulmonary hypertension in mice [J]. Cell, 2011, 147(2): 293-305.
- [26] 陈 博, 戴爱国. TNF- α 对老年 COPD 患者调节性 T 细胞 CTLA-4 表达的影响 [J]. 国际呼吸杂志, 2017, 37(21): 1601-9.
- [27] 王林梅, 齐景宪, 冯青青. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期和稳定期患者血清 IL-8、TNF- α 及免疫因子的检测 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2018(2): 255-8.
- [28] Yuan J, Liu R, Ma Y, et al. Curcumin attenuates airway inflammation and airway remodeling by inhibiting NF- κ B signaling and COX-2 in cigarette Smoke-Induced COPD mice [J]. Inflammation, 2018, 41 (5): 1804-14.
- [29] Meng Z, Yu XH, Chen J, et al. Curcumin attenuates cardiac fibrosis in spontaneously hypertensive rats through PPAR-gamma activation [J]. Acta Pharmacol Sin, 2014, 35(10): 1247-56.
- [30] Liu D, Gong L, Zhu H, et al. Curcumin inhibits transforming growth factor β induced differentiation of mouse lung fibroblasts to myofibroblasts [J]. Front Pharmacol, 2016, 7: 419.

(编辑:余诗诗)