

金盏花苷 E 通过 ROS 介导的 JAK1-stat3 信号途径抑制 LPS 诱发的炎症反应

汤托^{1,2}, 王胜男^{1,2}, 蔡田雨², 程振宇², 齐世美^{1,2}, 戚之琳^{1,2}

¹皖南医学院生物化学与分子生物学教研室, ²安徽省活性生物大分子重点实验室, 安徽 芜湖 241002

摘要:目的 探讨金盏花苷 E 对脂多糖(LPS)诱导炎症反应的抑制作用及可能的分子机制。方法 CCK-8 实验检测不同浓度(0、2、4、6、8、10、20、25、30 $\mu\text{g/mL}$)的金盏花苷 E 对 RAW264.7 细胞活力的影响;不同浓度的金盏花苷 E(0、6、8、10 $\mu\text{g/mL}$)预处理 RAW264.7 细胞 2 h, 然后用 LPS(100 ng/mL)刺激细胞特定的时间, ELISA 检测炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 释放; Western blotting 检测 iNOS、COX-2 的表达水平及 JAK-stats、MAPKs 及 NF- κ B 信号途径的磷酸化; ROS 检测试剂盒检测 RAW264.7 细胞内 ROS 含量; 激光共聚焦实验检测转录因子 stat3 的核转位。结果 CCK-8 结果显示, 金盏花苷 E 浓度在低于 20 $\mu\text{g/mL}$ 时对 RAW264.7 细胞无明显毒性作用; 金盏花苷 E 浓度依赖性地下调 LPS 诱导的 iNOS 和 COX-2 的表达 ($P < 0.01$ vs LPS 组); 抑制 LPS 诱导的促炎细胞因子 TNF- α 及 IL-1 β 的释放, 且 10 $\mu\text{g/mL}$ 组抑制作用尤为显著 ($P < 0.01$ vs LPS 组); 抑制 LPS 诱导的 JAK1-stat3 信号途径激活及 stat3 的核转位; 降低 LPS 诱发的 ROS 产生 ($P < 0.01$ vs LPS 组)。结论 金盏花苷 E 通过抑制 ROS 介导的 JAK1-stat3 信号途径, 抑制 LPS 诱导的炎症反应。

关键词: 金盏花苷 E; 脂多糖; RAW264.7 细胞; 炎症; JAK1-stat3 信号途径

Calendulose E inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response by inhibiting activation of ROS-mediated JAK1-stat3 signaling pathway in RAW264.7 cells

TANG Tuo^{1,2}, WANG Shengnan^{1,2}, CAI Tianyu², CHENG Zhenyu², QI Shimeng^{1,2}, QI Zhilin^{1,2}

¹Department of Biochemistry and Molecular Biology, ²Anhui Provincial Key Laboratory of Active Biological Macro-molecules, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

Abstract: Objective To investigate the effect of calendulose E on lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammatory response in RAW264.7 cells and explore the underlying molecular mechanism. **Methods** CCK-8 assay was used to examine the effect of different concentrations of calendulose E (0-30 $\mu\text{g/mL}$) on the viability of RAW264.7 cells. The release of the pro-inflammatory cytokines tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) in RAW264.7 cells in response to pretreatment with 6, 8, and 10 $\mu\text{g/mL}$ calendulose E for 2 h followed by stimulation with 100 ng/mL LPS was detected using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The expression levels of iNOS and COX-2 and the activation of JAK-stats, MAPKs and NF- κ B signaling pathways in the treated cells were determined using Western blotting. A reactive oxygen species (ROS) detection kit was used to detect ROS production in the cells, and the nuclear translocation of the transcription factor stat3 was observed by laser confocal microscopy. **Results** Calendulose E below 20 $\mu\text{g/mL}$ did not significantly affect the viability of RAW264.7 cells. Calendulose E dose-dependently decreased the expression levels of iNOS and COX-2 induced by LPS, inhibited LPS-induced release of TNF- α and IL-1 β , and suppressed LPS-induced JAK1-stat3 signaling pathway activation and stat3 nuclear translocation. Calendulose E also significantly reduced ROS production induced by LPS in RAW264.7 cells. **Conclusion** Calendulose E inhibits LPS-induced inflammatory response by blocking ROS-mediated activation of JAK1-stat3 signaling pathway in RAW264.7 cells.

Keywords: calendulose E; lipopolysaccharide; RAW264.7 cells; inflammation; JAK1-stat3 signaling pathway

炎症是机体组织针对有害刺激(如病原体, 受损细胞或刺激物)所产生的复杂生物反应, 是一种涉及免疫细胞, 血管和分子介质的保护性反应^[1]。然而, 过度的炎

症反应常常导致疾病的发生, 如关节炎及脓毒症^[2-4]。脂多糖(LPS), 也称脂聚糖或内毒素, 存在于革兰氏阴性菌的外膜中, 通过与位于细胞表面的脂多糖结合蛋白(LBP)和 CD14 形成复合物激活靶细胞, 诱导胞内多条信号通路的活化, 从而引发多种促炎细胞因子释放和炎症相关蛋白的表达^[5-6]。MAPKs、NF- κ B 及 JAK-stats 等信号途径参与 LPS 诱导的炎症反应^[7-9]。反应活性氧(ROS)作为炎症反应的重要介质, 在炎症相关疾病的发生、发展中发挥非常重要的作用^[10-12]。我们已有的研究发现, LPS 刺激 RAW264.7 细胞, 诱导胞内 ROS 的生成

收稿日期: 2019-05-16

基金项目: 国家自然科学基金(81601380, 81872371); 安徽高校自然科学基金项目重大项目(KJ2016SD59); 安徽省优秀青年人才支持计划重点项目(gxyqZD2016173); 皖南医学院博士启动基金(WK2014RC05)

Supported by National Natural Science Foundation of China (81601380, 81872371).

作者简介: 汤托, 在读硕士研究生, E-mail: 1350902219@qq.com

通信作者: 戚之琳, 博士, 教授, E-mail: qizhilin9123@sohu.com

增加,ROS作为上游信号分子介导NF- κ B, JAK-stats, MAPKs等信号通路的激活,诱发炎症的发生^[7, 13-14]。

越来越多的研究表明,天然活性产物可以拮抗LPS诱导的炎症反应^[15-17]。金盏花苷E又称去葡萄糖竹节参皂苷,从竹节参中提取的五环三萜类化合物。有文献报道金盏花苷E能够保护过氧化氢诱导的心肌细胞凋亡^[18-19]。但金盏花苷E其它的生物学作用尚不清楚。我们的预实验结果发现,金盏花苷E能够抑制LPS诱导的炎症因子释放,提示其具有一定的抗炎作用,但其发挥抗炎作用的分子机制尚不清楚。因此,本研究拟进一步探究金盏花苷E的抗炎作用及可能的分子机制,为金盏花苷E用于炎症相关疾病的治疗提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 药物、试剂及抗体

金盏花苷(HPLC \geq 95%)(上海源叶生物), LPS(Sigma)。兔单克隆抗体iNOS, COX-2, β -actin, p-p38, p-ERK, p-JNK, p-JAK1, p-JAK2(CST), p-stat1, p-stat3(Santa Cruz)。ROS检测试剂盒和WB细胞裂解液(碧云天生物), CCK-8试剂盒(凯基生物)。

1.2 细胞培养及传代

小鼠单核巨噬细胞RAW264.7购买于中科院典型培养物保藏委员会昆明细胞库。细胞使用含10%胎牛血清(南美), 100 U/mL青霉素, 100 μ g/mL链霉素的DMEM高糖培养基(美国Hyclone)常规培养,每2 d传代1次。细胞培养条件为5% CO₂, 37 $^{\circ}$ C,取对数生长期细胞用于实验研究。

1.3 细胞活力检测

RAW264.7细胞接种于96孔细胞培养板,细胞密度为 1×10^4 。不同浓度(2、4、6、8、10、20、25、30 μ g/mL)的金盏花苷E分别作用细胞24 h,每组3个复孔。去除原培养基, PBS清洗1遍之后,将CCK-8原液用培养基按照1:10的比例稀释,每孔加入100 μ L稀释液,在细胞培养箱(37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂)中继续孵育2 h。使用全波段酶标仪(美国Thermo)在450 nm波长处检测各组吸光度($A_{450 \text{ nm}}$)。细胞存活率(%)=($A_{\text{实验组}} - A_{\text{空白组}}$)/($A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}}$) $\times 100\%$ 。

1.4 促炎细胞因子检测

RAW264.7细胞接种于12孔细胞培养板,分别用不同浓度的金盏花苷E(6、8、10 μ g/mL)预处理RAW264.7细胞2 h,然后LPS(100 ng/mL)刺激细胞16 h。收集细胞培养液, 12 000 \times g离心5 min,取上清用于ELISA实验。TNF- α 、IL-1 β ELISA检测试剂盒均为R&D公司产品。具体操作按照厂家提供的说明书进行,每组3个复孔,450 nm波长检测各组的吸光度。

1.5 Western blotting

RAW264.7细胞接种于12孔细胞培养板,设置空

白对照组、金盏花苷E组、LPS组和金盏花苷E与LPS联合作用组。不同浓度的金盏花苷E(6、8、10 μ g/mL)首先预处理RAW264.7细胞2 h,然后用100 ng/mL的LPS继续刺激特定的时间。药物处理后的细胞用预冷的PBS洗涤两次,然后加入含蛋白酶抑制剂的细胞裂解液放置在冰上裂解30 min, 4 $^{\circ}$ C, 12 000 \times g离心10 min,收集上清,并进行蛋白定量。蛋白样品加入SDS上样缓冲液,煮沸5~10 min,取等量蛋白进行SDS-PAGE。电泳分离的蛋白转移至硝酸纤维素膜(PALL, USA),然后用5%脱脂奶粉室温封闭2 h, TBST洗膜3次,每次5 min。加入相应一抗4 $^{\circ}$ C孵育过夜, TBST洗涤3次后,加入相应荧光二抗(LI-COR Biosciences)室温继续孵育1 h。最后使用Odyssey双色红外激光成像系统(LI-COR)检测实验结果, Image J软件用于光密度分析。

1.6 激光共聚焦显微镜观察stat3核转位

磷酸化的stat通过形成二聚体进入细胞核调控炎症相关基因的表达^[20]。因此,我们通过共聚焦实验检测金盏花苷E对LPS诱导stat3核转位的影响。RAW264.7细胞接种在共聚焦激光小皿中,实验分为对照组,金盏花苷E单独处理组, LPS组及金盏花苷E与LPS联合刺激组。药物处理后的细胞,弃去细胞培养基, PBS洗涤后,用4%多聚甲醛室温固定30 min,然后加入含3%牛血清白蛋白的PBS封闭1 h, PBS洗涤3次之后加入stat3一抗(1:100稀释), 4 $^{\circ}$ C孵育过夜。PBS洗涤之后加入Alexa Fluor[®] 555标记的二抗(1:200稀释),室温避光孵育1 h。最后DAPI避光染色细胞核5 min。激光共聚焦显微镜(德国Leica)观察stat3的核转位(630 \times)。

1.7 ROS检测

ROS通过激活转录因子stat在LPS诱导的炎症反应中发挥关键作用,且ROS的生成有助于JAK-stats信号途径的激活^[21]。我们通过检测不同处理条件下RAW264.7细胞中ROS的变化情况,探究金盏花苷E对LPS诱导ROS产生的影响作用。RAW264.7细胞接种于12孔细胞培养板,实验分组同1.5所述。金盏花苷E预处理细胞2 h,然后LPS刺激15 min。按照1:200的比例用无血清DMEM培养基稀释CM-H2DCFDA荧光探针(碧云天),每组加入1 mL CM-H2DCFDA探针稀释液, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂条件下孵育细胞30 min,弃除细胞培养液,用PBS清洗3次,充分洗涤除去未进入细胞的游离探针。在488 nm激发波长, 525 nm发射波长处使用倒置荧光显微镜(Olympus)观察细胞内ROS荧光强度并拍照。

1.8 统计分析

数据以均数 \pm 标准差表示。Prism 6.0软件(GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, 美国)分析实验结果。单因素方差分析(ANOVA)用于实验数据统计分析, $P < 0.05$ 认为组间差异有统计学意义。

2 结果

2.1 金盏花苜E对RAW264.7细胞活力的影响

金盏花苜E在小于20 μg/mL时对RAW264.7细胞活力没有显著影响(图1)。所以,我们选择6、8、10 μg/mL 3个剂量组用于后续实验研究。

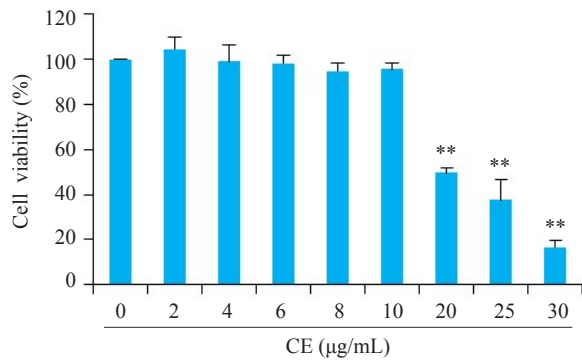


图1 金盏花苜E对RAW264.7细胞活力的影响

Fig.1 Effect of different concentrations of calendulose E (CE) on RAW264.7 cell viability. ** $P < 0.01$ vs control group.

2.2 金盏花苜E抑制LPS诱导的iNOS、COX-2表达和促炎细胞因子释放

金盏花苜E明显下调LPS诱导的RAW264.7细胞中iNOS、COX-2蛋白的表达(图2A),LPS诱导的促炎细胞因子TNF-α、IL-1β释放亦被显著抑制(图2B-C),且抑制作用呈现出浓度依赖性。

2.3 金盏花苜E抑制LPS诱导的JAK1-stat3信号途径的活化

LPS刺激的RAW264.7细胞,p38 MAPK、ERK、JNK及IKK、IκB的磷酸化水平明显升高,而且金盏花苜E对LPS诱导的上述信号途径的激活并无明显影响(图3)。

金盏花苜E明显下调了LPS诱导的JAK1磷酸化而对JAK2的磷酸化并无明显影响(图4A),金盏花苜E虽然对LPS诱导的stat1磷酸化并无显著影响,却抑制了stat3的磷酸化(图4B)。

2.4 金盏花苜E抑制LPS诱导stat3的核转位现象

金盏花苜E预处理RAW264.7细胞2 h,然后LPS刺激4 h,观察细胞质和细胞核中stat3的定位情况(图5),与对照组相比,在LPS的刺激下,stat3明显向胞核转移,而金盏花苜E(10 μg/mL)预处理的细胞,LPS诱导的stat3核转位现象则被显著抑制。

2.5 金盏花苜E抑制LPS诱导的ROS的产生

结果显示,和对照组相比,LPS单独处理组

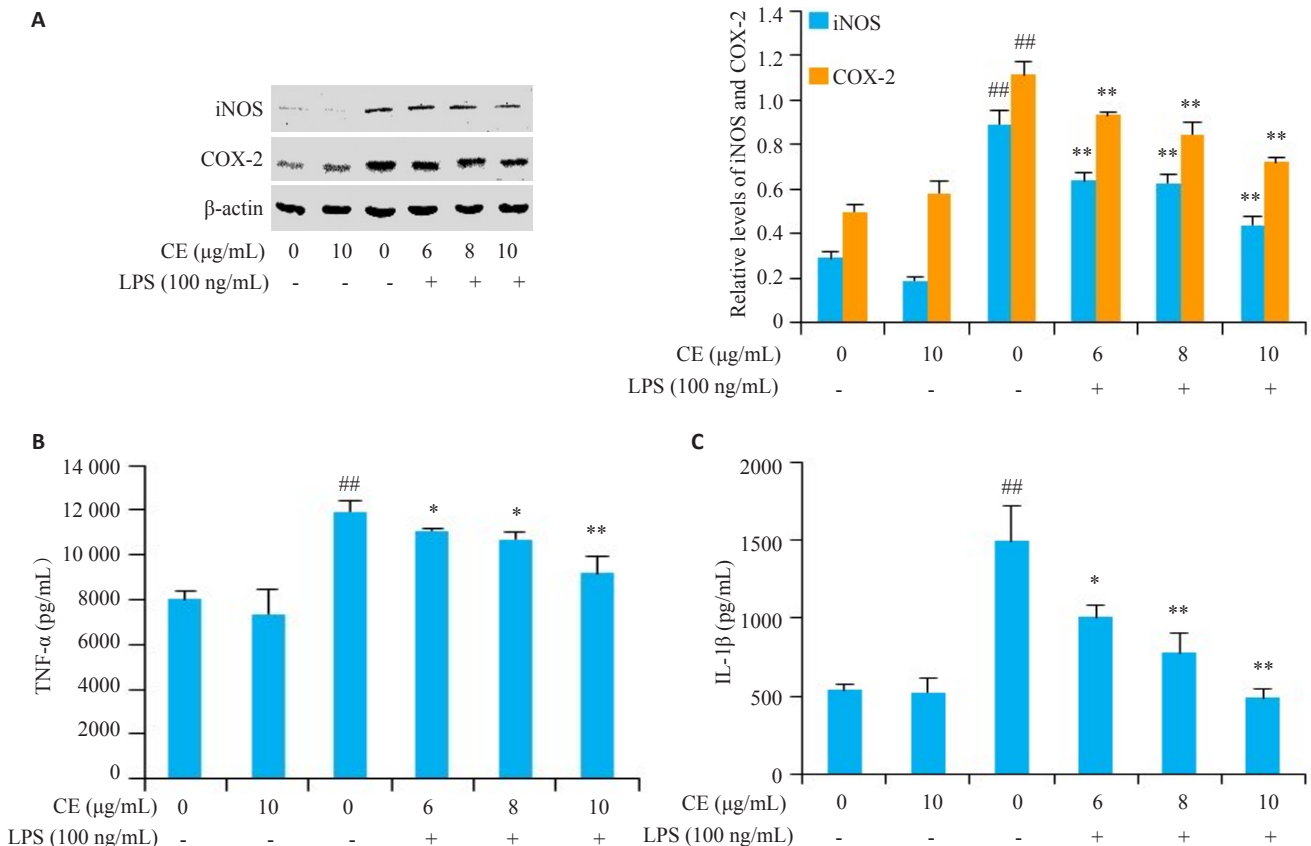


图2 金盏花苜抑制LPS诱导炎症蛋白表达(A)及促炎因子释放(B和C)

Fig.2 Inhibitory effects of CE on LPS-induced inflammatory proteins (A) and inflammatory cytokines (B, C) in RAW264.7 cells.

$P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs LPS group.

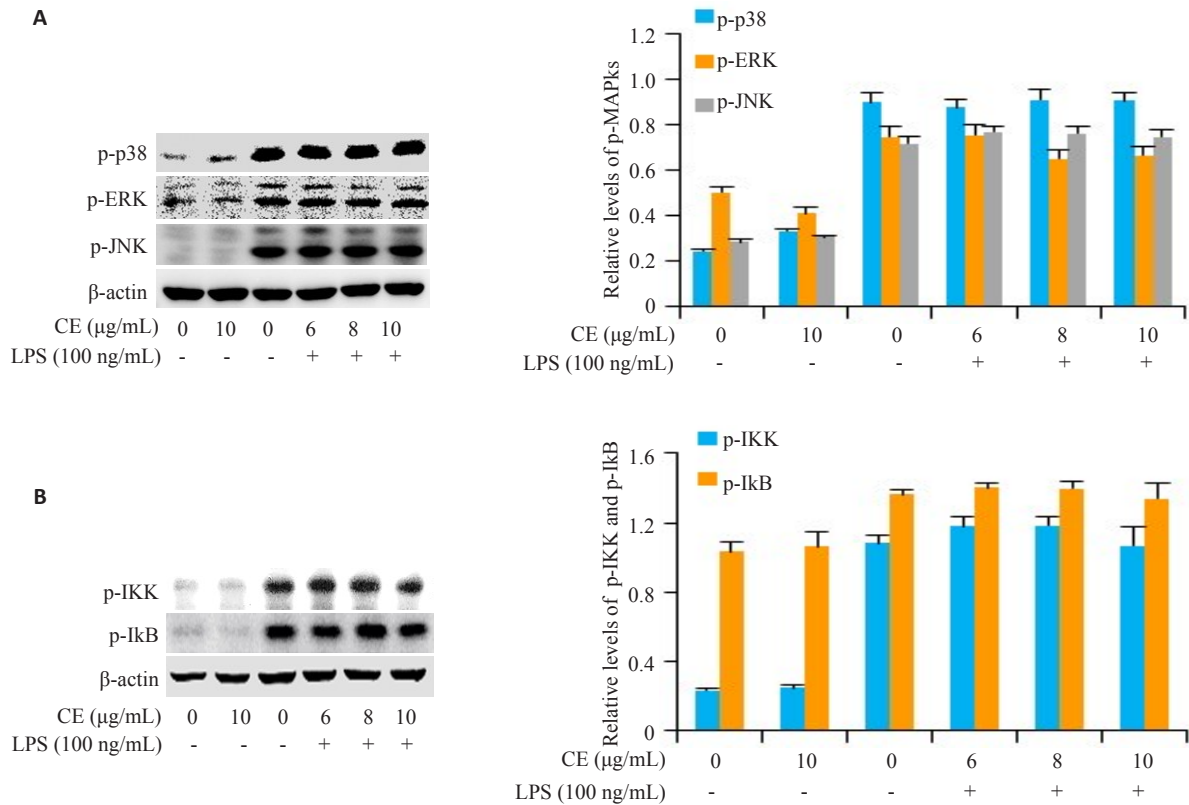


图3 金盏花苷E对LPS诱导的MAPKs及NF-κB信号途径活化的影响

Fig.3 Effects of CE on LPS-induced activation of MAPKs and NF-κB signaling pathways in RAW264.7 cells.

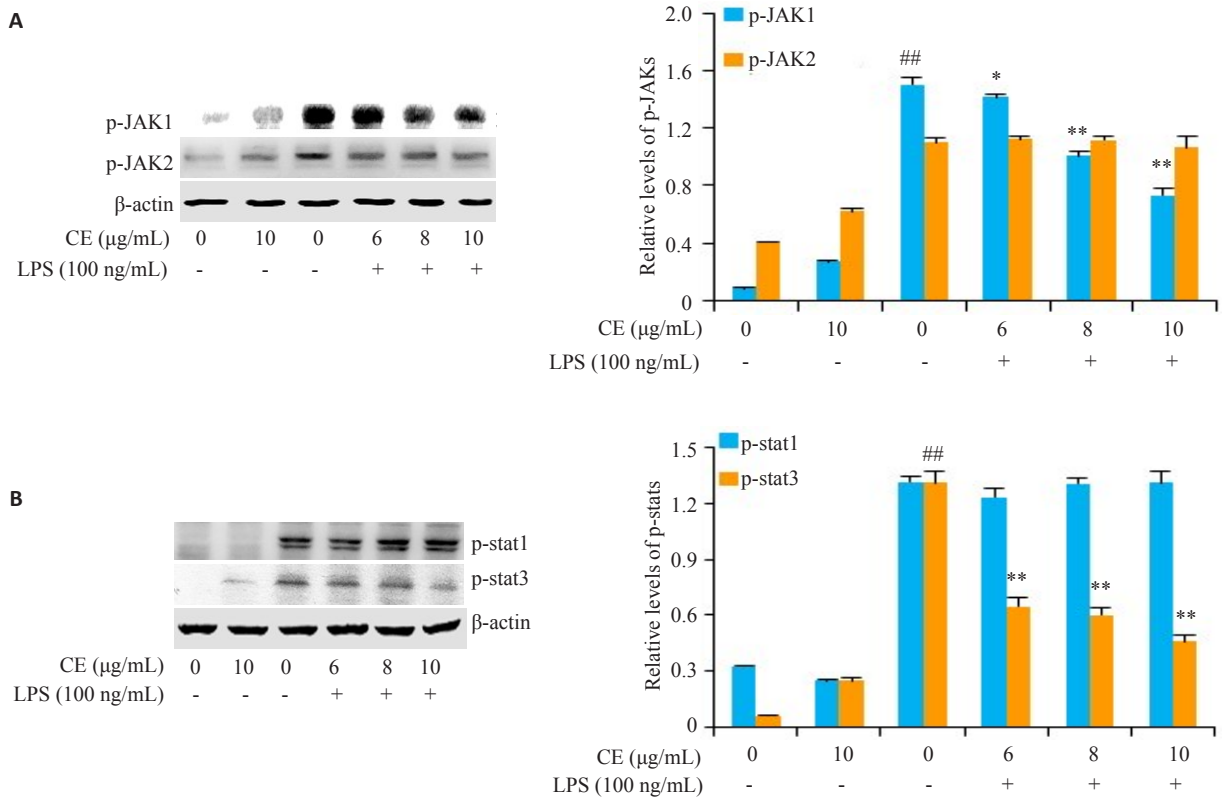


图4 金盏花苷E对LPS诱导JAK-stats信号通路活化的影响

Fig.4 Effects of CE on LPS-induced activation of JAK-stats signaling pathway in RAW264.7 cells. #*P*<0.01 vs control group; **P*<0.05, ***P*<0.01 vs LPS group.

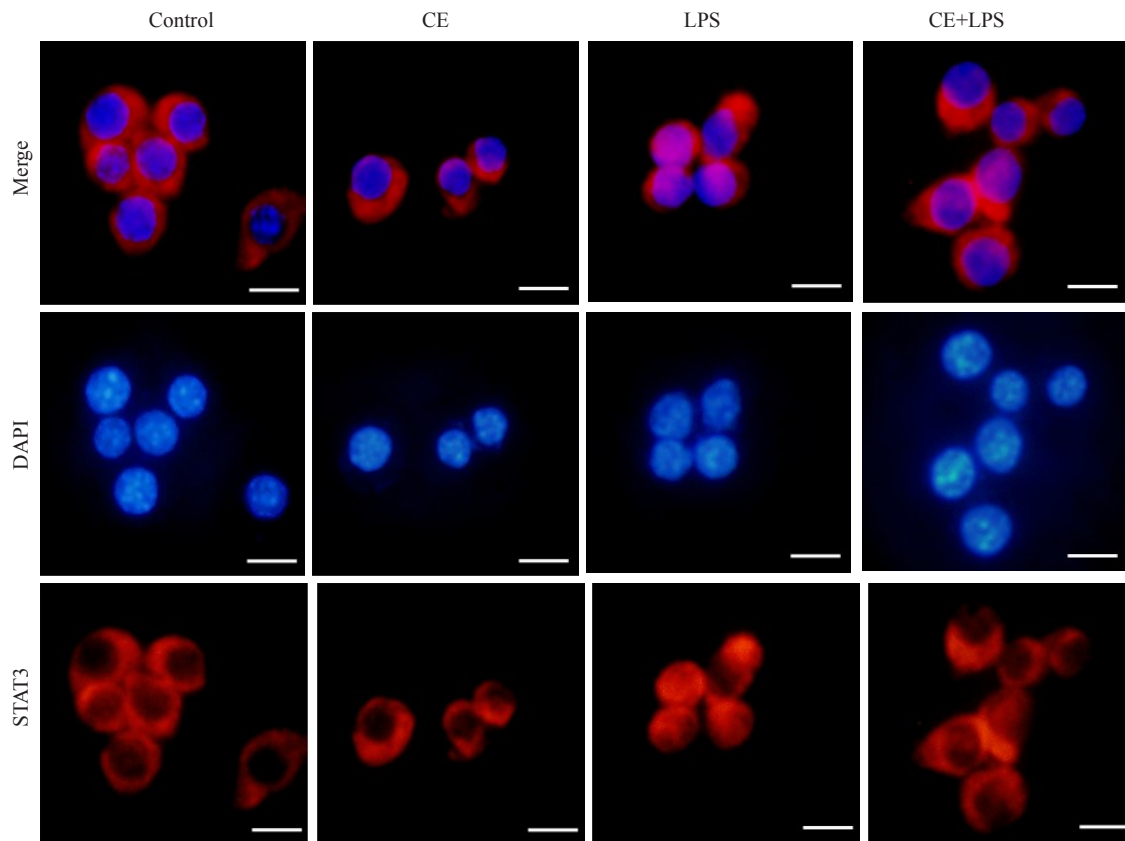


图5 金盏花苷E抑制LPS诱导的stat3核转位

Fig.5 Inhibitory effects of CE on LPS-induced nuclear translocation of stat3 in RAW264.7 cells (Scale bar=25 μm).

RAW264.7细胞中ROS含量明显增多,而金盏花苷E能够明显抑制LPS诱导的ROS生成,尤其是8和10 μg/mL组(图6)。

3 讨论

CCK-8结果显示,金盏花苷E在浓度低于20 μg/mL时对细胞无明显毒性效应。因此,我们选择6、8、10 μg/mL 3个浓度用于后续研究。炎症相关蛋白iNOS、COX-2及促炎细胞因子TNF-α、IL-1β与炎症的发生密切相关^[22]。本研究通过WB和ELISA实验检测金盏花苷E对LPS诱导炎症蛋白表达及促炎细胞因子释放的影响。结果表明,金盏花苷E明显下调LPS诱导的iNOS、COX-2的表达,抑制TNF-α和IL-1β的释放,且抑制效应呈现一定的浓度依赖性。由于MAPKs、NF-κB及JAK-stats信号通路参与炎症的发生^[7-8,20],为了进一步探究金盏花苷E对抗LPS诱导炎症反应的分子机制是否与上述信号通路有关,我们通过WB检测金盏花苷E对LPS诱导上述信号通路活化的影响。结果发现,金盏花苷E对LPS诱导的MAPKs及NF-κB通路的激活无明显影响。

已有的研究表明,LPS刺激RAW264.7细胞,JAK1、JAK2的磷酸化水平约5 min开始升高,10~15 min左右达到最高点;stat1和stat3磷酸化水平在LPS作用

细胞2 h开始升高,约4~6 h达到最高点^[23-24]。根据以上实验结果,我们选择LPS刺激细胞15 min和4 h的条件下,分别检测金盏花苷E对JAK及stats磷酸化的影响。结果发现,金盏花苷E能够明显降低LPS诱导的RAW264.7细胞中JAK1及其下游信号分子stat3的磷酸化,并进一步抑制stat3的核转位现象。总之,以上研究结果意味着,金盏花苷E主要通过抑制JAK1-stat3信号通路的活化及stat3的核转位,抑制LPS诱导的炎症反应。

研究发现,LPS刺激巨噬细胞促进ROS的产生^[25-26],ROS还能够作为第二信使,介导相关信号通路的活化和转录因子的激活,进而调控炎症反应的发生、发展^[27-28]。既然金盏花苷E能够抑制JAK1-stat3信号途径的激活,我们不禁猜测,该抑制效应的产生是否与金盏花苷E调控ROS的生成有关呢?因此,我们继续深入探究金盏花苷E对ROS产生的影响作用。结果发现,金盏花苷E确实能够有效抑制LPS诱导的RAW264.7细胞中ROS的产生。我们前期研究已证明,ROS清除剂NAC(N-乙酰-L-半胱氨酸)能够显著降低JAK-stat通路的磷酸化及iNOS、COX-2的表达^[29-30]。综合以上研究结果,金盏花苷E主要通过抑制ROS的产生及其介导的JAK1-stat3信号通路抑制LPS诱发的炎症反应。

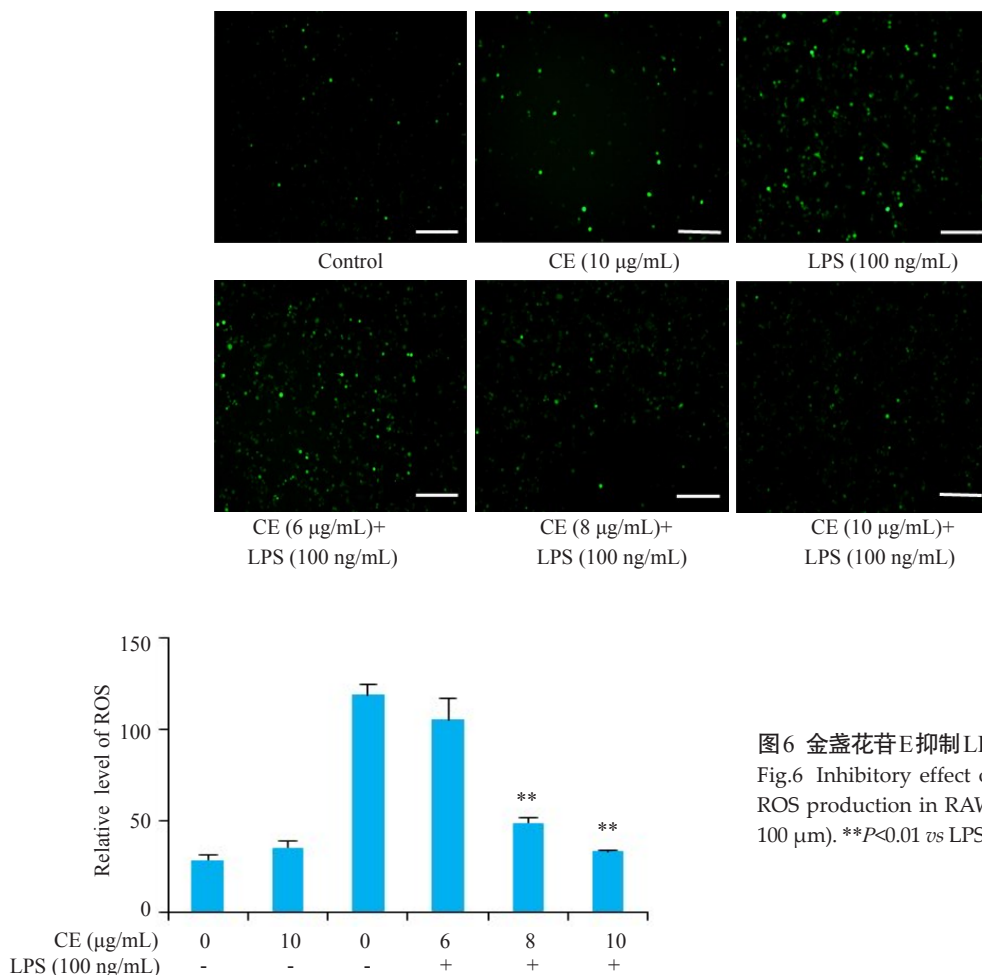


图6 金盏花苷E抑制LPS诱导的ROS产生
Fig.6 Inhibitory effect of CE on LPS-induced ROS production in RAW264.7 cells (Scale bar= 100 µm). **P<0.01 vs LPS group.

然而,金盏花苷E如何调控LPS诱导的胞内ROS的产生及下游信号途径的活化尚不清楚,它是否通过影响细胞表面与LPS结合的受体,或阻止LPS与LBP及CD14分子的结合能力来发挥生物学作用呢? 以上假设也是我们将来探究的重点。

参考文献:

[1] Ferrero-Miliani L, Nielsen OH, Andersen PS, et al. Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 beta Generation[J]. Clin Exp Immunol, 2007, 147(2): 227-35.

[2] Na HS, Song YR, Kim S, et al. Aloin inhibits interleukin (IL)-1β-stimulated IL-8 production in KB cells [J]. J Periodontol, 2016, 87: e108-115.

[3] YU, Qian, ZENG, et al. Ginsenoside Rk1 suppresses pro-inflammatory responses in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells by inhibiting the Jak2/Stat3 pathway[J]. Chin J Nat Med, 2017 (10): 751-7.

[4] Achoui M, Appleton D, Abdulla MA, et al. *In vitro* and *in vivo* anti-inflammatory activity of 17-Oacetylacuminolide through the inhibition of cytokines, NF-κB translocation and IKK β activity [J]. PLoS One, 2010, 5: e15105.

[5] Sweet MJ, Da HM. Endotoxin signal transduction in macrophages [J]. J Leu Biol, 1996, 60(1): 8-26.

[6] Sanghera JS, Weinstein SL, Aluwalia M, et al. Activation of multiple

proline-directed kinases by bacterial lipopolysaccharide in murine macrophages[J]. J Immunol, 1996, 156(11): 4457-65.

[7] Qi S, Xin Y, Guo Y, et al. Ampelopsin reduces endotoxic inflammation *via* repressing ROS-mediated activation of PI3K/Akt/NF-κB signaling pathways[J]. Int Immunopharmacol, 2012, 12(1): 278-87.

[8] Lee SB, Lee WS, Shin JS, et al. Xanthotoxin suppresses LPS-induced expression of iNOS, COX-2, TNF-α, and IL-6 via AP-1, NF-κB, and JAK-STAT inactivation in RAW264.7 macrophages [J]. Int Immunopharmacol, 2017, 49: 21-29.

[9] Byung, Hyuk, Han, et al. Hwangryunhaedoktang exerts anti-inflammation on LPS-induced NO production by suppressing MAPK and NF-κB activation in RAW264.7 macrophages [J]. J Integr Med, 2017, 15(4): 326-36.

[10] Malhotra JD, Miao HZ, Zhang KZ, et al. Antioxidants reduce endoplasmic reticulum stress and improve protein secretion [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(47): 18525-30.

[11] Mitochondria LG, Species RO. Which role in physiology and Pathology[J]. Adv Exp Med Biol, 2012, 942(3): 93-136.

[12] Nathan C, Cunningham-Bussel A. Beyond oxidative stress: an immunologist's guide to reactive Oxygen species [J]. Nat Rev Immunol, 2013, 13(5): 349-61.

[13] Qi ZL, Qi SM, Ling LF, et al. Salidroside attenuates inflammatory response *via* suppressing JAK2-STAT3 pathway activation and preventing STAT3 transfer into nucleus[J]. Int Immunopharmacol,

- 2016, 35: 265-71.
- [14] Ren J, Li LX, Wang YE, et al. Gambogic acid induces heme oxygenase-1 through Nrf2 signaling pathway and inhibits NF-kappa B and MAPK activation to reduce inflammation in LPS-activated RAW264.7 cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 555-62.
- [15] Fylaktakidou KC, Hadjipavlou-Litina DJ, Litinas KE, et al. Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory/antioxidant activities[J]. *Curr Pharm Des*, 2004, 10(30): 3813-33.
- [16] Zhao C, Wang Y, Yuan X, et al. Berberine inhibits lipopolysaccharide-induced expression of inflammatory cytokines by suppressing TLR4-mediated NF-kB and MAPK signaling pathways in rumen epithelial cells of Holstein calves [J]. *J Dairy Res*, 2019, 30: 1-6.
- [17] Yang QX, Luo J, Lv HJ, et al. Pulegone inhibits inflammation via suppression of NLRP3 inflammasome and reducing cytokine production in mice [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2019, 28: 1-8.
- [18] Tian Y, Wang S, Shang H, et al. The clickable activity-based probe of anti-apoptotic calendulose E [J]. *Pharm Biol*, 2019, 57(1): 133-9.
- [19] Tian Y, Du YY, Shang H, et al. Calendulose E analogues protecting H9c2 cardiomyocytes against H₂O₂-Induced apoptosis: design, synthesis and biological evaluation [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 862.
- [20] Schindler C, Levy DE, Decker T. JAK-STAT signaling: From interferons to cytokines[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(28): 20059-63.
- [21] Pan XL, Cao X, Li N, et al. Forsythin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation by suppressing JAK-STAT and p38 MAPK signalings and ROS production[J]. *Inflamm Res*, 2014, 63(7): 597-608.
- [22] Turner MD, Nedjai B, Hurst T, et al. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843(11): 2563-82.
- [23] Ma Y, Tang T, Sheng L, et al. Aloin suppresses lipopolysaccharide-induced inflammation by inhibiting JAK1/STAT1/3 activation and ROS production in RAW264.7 cells[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(4): 1925-34.
- [24] 齐世美, 李强, 姜琦, 等. 白杨素通过JAK-STATs信号通路抑制内毒素诱导的巨噬细胞炎症反应[J]. *南方医科大学学报*, 2018, 38(3): 243-50.
- [25] Han W, Li H, Cai J, et al. NADPH oxidase limits lipopolysaccharide-induced lung inflammation and injury in mice through reduction-oxidation regulation of NF-kB activity [J]. *J Immunol*, 2013, 190(9): 4786-94.
- [26] Moon SW, Ahn CB, Oh Y, et al. Lotus(nelumbo nucifera)seed protein isolate exerts anti-inflammatory and antioxidant effects in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages via inhibiting NF-kB and MAPK pathways, and upregulating catalase activity [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 18(134): 791-7.
- [27] Zhang LL, Mu GG, Ding QS, et al. PTEN represses colon Cancer progression through inhibiting paxillin transcription via PI3K/AKT/NF-kB pathway[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(24): 15018-29.
- [28] Pawate S, Shen Q, Fan F, et al. Redox regulation of glial inflammatory response to lipopolysaccharide and interferongamma [J]. *J Neurosci Res*, 2004, 77(4): 540-51.
- [29] Qi ZL, Yin F, Lu LA, et al. Baicalein reduces lipopolysaccharide-induced inflammation via suppressing JAK/STATs activation and ROS production[J]. *Inflamm Res*, 2013, 62(9): 845-55.
- [30] Qi S, Feng Z, Li Q, et al. Myricitrin modulates NADPH Oxidase-Dependent ROS production to inhibit Endotoxin-Mediated inflammation by blocking the JAK/STAT1 and NOX2/p47phox Pathways[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017: 9738745.

(编辑:吴锦雅)