

表儿茶素对脂多糖诱导 RAW264. 7
细胞分泌炎症因子的影响

阮洪生^{1,2*}，牟晋珠²

(1. 浙江医药高等专科学校，浙江 宁波 315100；
2. 黑龙江八一农垦大学 生命科学技术学院，黑龙江 大庆 163319)

〔摘要〕 目的:观察表儿茶素对脂多糖(LPS)诱导小鼠单核巨噬细胞 RAW264. 7 分泌炎症因子的影响,并探讨其作用机制。方法:用脂多糖($1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)刺激生长良好的 RAW264. 7 细胞 24 h 建立体外细胞炎症模型,以噻唑蓝(MTT)比色法测定不同浓度表儿茶素对 RAW 264. 7 细胞的毒性作用,Griess 试剂法检测一氧化氮(NO)含量,酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测细胞上清液中肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-1(IL-1)和白细胞介素-6(IL-6)含量,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测细胞一氧化氮合酶(iNOS)及丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)磷酸化表达。结果:表儿茶素在 $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对 RAW 264. 7 细胞无毒性作用。与空白组比较,LPS 可明显诱导 RAW264. 7 细胞分泌炎症因子 NO,TNF- α , IL-1 和 IL-6($P<0.01$);与 LPS 组比较, $25\sim100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的表儿茶素可以明显降低 LPS 诱导的 RAW 264. 7 细胞释放炎症因子 NO,TNF- α ,IL-1 和 IL-6($P<0.05,P<0.01$),抑制 iNOS 蛋白及 MAPKs 亚族 p38,细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated kinases,ERK)和 c-jun 氨基末端激酶(c-jun terminal kinase,JNK)蛋白磷酸化水平表达,并呈现浓度依赖关系。结论:表儿茶素可以抑制 LPS 诱导的 RAW264. 7 细胞炎症反应,其抗炎作用可能与减少炎症因子 NO,TNF- α ,IL-1 和 IL-6,抑制 iNOS 蛋白表达及 p38MAPK,ERK1/2 和 JNK 的磷酸化水平有关。

〔关键词〕 表儿茶素;脂多糖;肿瘤坏死因子- α ;白细胞介素-1;白细胞介素-6;一氧化氮合酶(iNOS);丝裂原活化蛋白激酶

〔中图分类号〕 R285.5 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2017)04-0159-05

〔doi〕 10. 13422/j. enki. syfx. 2017040159

〔网络出版地址〕 <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161207.1427.068.html>

〔网络出版时间〕 2016-12-07 14:27

Effect of Epicatechin on Inflammatory Cytokines in LPS-induced RAW 264. 7 Cell

RUAN Hong-sheng^{1,2*}，MU Jin-zhu²

(1. Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China;
2. College of Life Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

〔Abstract〕 **Objective:** To study the effects of epicatechin on inflammatory cytokines in lipopolysaccharide (LPS) -induced macrophage model and its mechanism. **Method:** The *in vitro* inflammation model was established by stimulating RAW 264. 7 cells with LPS ($1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) for 24 h. The toxic effect of macrophages were detected by 3-(4, 5-Dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. The content of nitricoxide (NO) was assayed by Griess reagent. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) were used to assay the content of inflammatory mediators, such as tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 (IL-1) and interleukin-6 (IL-6) in cell supernatant. The protein expressions of nitric oxide synthase (iNOS) and

〔收稿日期〕 20160327(002)

〔基金项目〕 黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12511369);黑龙江八一农垦大学学成、引进人才科研启动计划课题项目(XDB2014-02)

〔通讯作者〕 *阮洪生,博士,副教授,硕士生导师,从事中药学的教学与研究工作,Tel:13936859781,E-mail:360535646@qq.com

the related proteins of mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway were tested by Western blot. **Result:** The cell viability was not significantly affected by epicatechin at 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Compared with control group, LPS could significantly induce RAW 264.7 cells to secrete inflammatory mediators, like NO, TNF- α , IL-1 and IL-6 ($P < 0.01$). Compared with model group, 25-100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ of epicatechin in LPS-induced RAW 264.7 cells greatly inhibited the release of inflammatory mediators, such as NO, TNF- α , IL-1 and IL-6 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and inhibit the expressions of iNOS, and the protein expression of p38MAPK, ERK1/2 and JNK in a dose dependent manner. **Conclusion:** Epicatechin can inhibit LPS-induced inflammatory response in RAW 264.7 cells, and its anti-inflammatory effect may be related to reduction of inflammatory cytokines, like NO, TNF- α , IL-1 and IL-6, inhibition of the gene expression of iNOS and phosphorylation of p38MAPK, ERK1/2 and JNK.

[**Key words**] epicatechin; lipopolysaccharide; tumor necrosis factor- α (TNF- α); interleukin-1 (IL-1); interleukin-6 (IL-6); nitric oxide synthase (iNOS); mitogen-activated protein kinase (MAPK)

炎症是机体对感染、组织损伤及伤害性刺激等做出的保护性反应^[1]。炎症伴随着很多疾病的发生和发展,同时又会加重疾病的发展。在炎症分子机制的研究中,已发现核转录因子(NF)- κ B, p38 信号传导及转录激活因子(STAT)-3 等信号通路。通过炎症信号通路中的关键分子筛选抗炎药物是研究的重要手段。金荞麦为蓼科植物金荞麦 *Fagopyrum dibotrys* 的干燥根茎,具有清热解毒、排脓祛瘀的功效,临床用于肺痈吐脓,肺热喘咳,乳蛾肿痛等证的治疗^[2]。研究表明,表儿茶素、原儿茶酸等为金荞麦抗菌、消炎、镇咳的主要成分^[3]。金荞麦乙醇提取物中表儿茶素的含量占 65% ~ 70%^[4],表儿茶素成为金荞麦含量测定的重要指标。此外,表儿茶素对心脑血管也有防治作用,同时能预防肿瘤,具有抗氧化作用。但表儿茶素对炎症因子影响方面的研究鲜见报道。本课题组在金荞麦药效成分研究的基础上^[5-6],为进一步明确表儿茶素的抗炎作用及其机制,以脂多糖(LPS)刺激的小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 为炎症模型,观察表儿茶素对炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-1 (IL-1),白细胞介素-6 (IL-6)和一氧化氮(NO)的影响,同时探讨表儿茶素的抗炎作用与 iNOS 蛋白表达及丝裂原活化蛋白激酶(MAPK, p38, ERK, JNK)信号通路的关系,旨在细胞水平上探讨表儿茶素的抗炎活性,期待为表儿茶素的深度开发提供实验依据。

1 材料

1.1 细胞 小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 株,购自北京博康医药有限公司。

1.2 试药与试剂 表儿茶素(上海谱振生物科技有限公司,纯度 $\geq 98\%$,批号 ZY151110);胎牛血清(美国 Gibco 公司,批号 16000-044);DMEM 高糖培养基(美国 Hyclone 公司,批号 SH30243.01);噻唑

蓝(MTT,美国 Sigma 公司,批号 M5655);LPS(北京索莱宝科技有限公司,批号 L8880);NO 硝酸还原酶检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 A012);IL-1, IL-6, TNF- α 酶联免疫吸附法(ELISA)检测试剂盒(武汉基因美生物科技有限公司,批号分别为 201505, 201505, 201505);iNOS 一抗(美国 CST 公司,批号 2982), p38, JNK, ERK1/2 一抗(美国 Proteintech 公司,批号分别为 14064-1-AP, 24164-1-AP, 11257-1-AP);p-p38, p-JNK 一抗(上海碧云天生物技术有限,批号分别为 AM063, AJ516), p-ERK1/2, 甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)一抗(美国 CST 公司,批号分别为 4376, 5174),羊抗兔 HRP 标记二抗(上海碧云天生物技术有限,批号 A0208)。

1.3 仪器 Mimi protean 3 cell 型电泳仪(美国 Bio-Rad 公司), MK3 型酶标仪(芬兰 Labsystems Multiskan 公司), BHC-1300 II B2 型生物安全柜(苏州金净净化设备公司), Thermo Forma 3111 型 CO₂ 恒温培养箱(美国 Thermo 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 用含 10% 胎牛血清, 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 青霉素, 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 链霉素的 DMEM 培养液于 37 $^{\circ}\text{C}$ 5% CO₂ 恒温培养箱中传代培养^[7]。

2.2 MTT 法检测 RAW264.7 细胞活力 取对数期的 RAW264.7 细胞,调整细胞密度 2×10^5 个/mL,接种于 96 孔板,每孔 100 μL 。细胞贴壁后,将培养基更换为不含或含有 25, 50, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 表儿茶素的 DMEM,每个浓度设 5 个复孔,分别于培养 24, 36, 48 h 时进行 MTT 实验。实验前 4 h,每孔各加入 MTT 10 μL 继续培养 4 h,弃上清,每孔加入二甲基亚砷(DMSO) 150 μL ,置振荡器上振荡 10 min,待结晶充分溶解,在 490 nm 处测定吸光度 A。实验重复

3 次。按细胞存活率 = ($A_{\text{检测孔}}/A_{\text{空白孔}}$) × 100% 计算细胞存活率^[8]。

2.3 表儿茶素对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞 NO,IL-1,IL-6,TNF-α 的影响 取对数生长期的 RAW264.7 细胞悬液,调整细胞密度为 2×10^5 个/mL,接种于 96 孔板,每孔 100 μL,贴壁 4 h 后,分别加入浓度为 25,50,100 μmol·L⁻¹ 表儿茶素 100 μL 和 1 mg·L⁻¹ LPS 25 μL 孵育,设空白组,LPS 组,LPS + 表儿茶素组,每组 3 个复孔,培养 24 h 后,用 Griess 法检测上清 NO 的含量,ELISA 试剂盒检测上清 IL-1,IL-6,TNF-α 的分泌情况^[9]。

2.4 表儿茶素对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 iNOS 蛋白表达和 MARK 信号通路的影响 培养巨噬细胞 RAW264.7,给予 LPS (1 mg·L⁻¹) 和不同浓度 (25,50,100 μmol·L⁻¹) 表儿茶素干预 1 h,收集细胞,蛋白裂解液裂解细胞,收集总蛋白,BCA 法测定总蛋白含量。总蛋白样品 30 μg 进行 12% SDS-PAGE 凝胶电泳,转移到聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜上,将 PVDF 膜置于含 5% 脱脂奶粉中,室温封闭 1 h

后,将各种抗体用封闭液稀释 (iNOS 1:1 000,p38 1:1 000,JNK 1:500,ERK1/2 1:1 000,p-p38 1:1 000,p-JNK 1:1 000,p-ERK1/2 1:1 000,GAPDH 1:1 500),均匀覆盖于 PVDF 膜表面,4 ℃ 孵育过夜,辣根过氧化物酶标记的二抗 (1:1 000) 室温孵育 1 h,ECL 显影,X 光片曝光。以 GAPDH 为内参。应用 Bio-Rad 成像系统对条带进行灰度扫描,半定量分析蛋白的表达。

2.5 统计学分析 采用 SPSS 18.0 软件,实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 表儿茶素对 RAW264.7 细胞活力的影响 不同浓度表儿茶素与细胞共孵育 0 ~ 48 h,细胞存活率并未降低,药物与细胞共同孵育 48 h 时,细胞存活率仍可达到 91.71%,与空白组比较,差异无统计学意义。镜下观察细胞形态良好,无显著差异,未观察到细胞毒性作用。结果表明实验中采用的表儿茶素给药浓度在安全浓度范围之内。见表 1。

表 1 表儿茶素对 RAW264.7 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 Effect of epicatechin on viability rate of RAW 264.7 cell ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

%

组别	浓度/μmol·L ⁻¹	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
空白	-	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
表儿茶素	25	98.74 ± 1.21	97.74 ± 2.57	106.06 ± 0.25	98.13 ± 0.84	97.05 ± 2.82
	50	98.32 ± 1.35	100.64 ± 0.94	111.18 ± 1.46	100.37 ± 0.57	94.11 ± 1.36
	100	98.32 ± 0.97	97.41 ± 2.25	105.36 ± 1.73	108.95 ± 2.52	91.71 ± 2.67

3.2 表儿茶素对 RAW264.7 细胞 NO,IL-1,IL-6,TNF-α 的影响 与空白组比较,LPS 刺激后,细胞上清液中 NO,IL-1,IL-6,TNF-α 释放量显著升高 ($P <$

0.01)。与 LPS 组比较,表儿茶素各浓度组均可以抑制细胞上清液中 NO,IL-1,IL-6,TNF-α 释放量,并呈现浓度依赖性 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2。

表 2 表儿茶素对 RAW264.7 细胞释放 NO,IL-1,IL-6,TNF-α 的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Effect of epicatechin on content of NO, IL-1, IL-6, TNF-α in LPS induced RAW264.7 cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

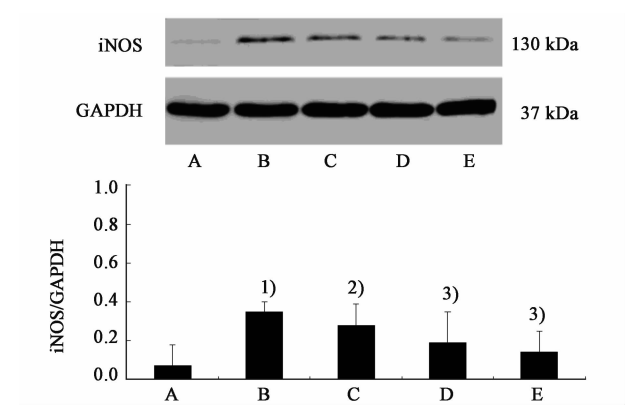
组别	浓度/μmol·L ⁻¹	NO/μmol·L ⁻¹	IL-1/ng·L ⁻¹	IL-6/ng·L ⁻¹	TNF-α/ng·L ⁻¹
空白	-	4.81 ± 0.25	130.66 ± 18.29	99.30 ± 10.37	294.20 ± 16.81
LPS	-	24.05 ± 1.75 ¹⁾	261.34 ± 12.34 ¹⁾	189.72 ± 11.46 ¹⁾	622.24 ± 24.61 ¹⁾
LPS + 表儿茶素	100	8.25 ± 1.46 ³⁾	151.77 ± 13.48 ³⁾	122.86 ± 12.09 ³⁾	408.09 ± 22.53 ³⁾
	50	12.37 ± 1.86 ³⁾	192.36 ± 16.58 ²⁾	139.41 ± 13.45 ²⁾	487.71 ± 19.43 ²⁾
	25	18.90 ± 0.89 ²⁾	221.62 ± 17.72 ²⁾	168.38 ± 12.69 ²⁾	543.69 ± 20.58 ²⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$,与 LPS 组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ (图 1,2 同)。

3.3 表儿茶素对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 iNOS 蛋白表达的影响 未加任何刺激的空白组细胞中,iNOS 蛋白表达较低,而经 LPS 刺激后,与空白组比较,RAW264.7 细胞分泌的 iNOS 蛋白表达显著上调

($P < 0.01$)。与 LPS 组比较,表儿茶素 (100,50,25 μmol·L⁻¹) 呈浓度依赖性下调 iNOS 蛋白表达 ($P < 0.05, P < 0.01$),尤其是表儿茶素高、中浓度组,对下调 iNOS 蛋白表达更为明显 ($P < 0.01$)。说

明表儿茶素通过下调激活 RAW264.7 细胞中 iNOS 蛋白表达,因而降低 NO 炎症介质的产生。见图 1。



A. 空白组;B. LPS($1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)组;C. LPS + 表儿茶素($25\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组;D. LPS + 表儿茶素($50\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组;E. LPS + 表儿茶素($100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组(图 2 同)

图 1 表儿茶素对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞 iNOS 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

Fig.1 Effect of epicatechin on expression of iNOS in LPS-induced RAW264.7 cells($\bar{x}\pm s, n=5$)

3.4 表儿茶素对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 MARK 信号通路的影响 经 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ LPS 刺激后,表儿茶素($25,50,100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)呈浓度依赖性地下调激活 RAW264.7 细胞中 MAPK 通路中 p38,ERK 和 JNK-MAPK 蛋白的磷酸化水平($P<0.01$)。说明表儿茶素通过降低 LPS 刺激引起的 MAPKs 亚族 p38,ERK 和 JNK-MAPK 蛋白磷酸化水平,从而产生抗炎作用。见图 2。

4 讨论

LPS 可诱导巨噬细胞产生一系列炎症反应。在 LPS 刺激下,巨噬细胞通过分泌 NO, TNF- α , IL-1 和 IL-6 等炎性细胞因子参与炎症发生、发展过程^[10]。因此,深入研究 LPS 刺激 RAW264.7 细胞抗炎性细胞因子的变化规律,有助于进一步促进对炎症反应机制的认识。 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ LPS 刺激 RAW264.7 细胞 24 h 后,与空白组比较,LPS 组均可以升高细胞上清液中 NO, IL-1, IL-6, TNF- α 释放量。表明炎症模型造模成功。

NO 是氧化应激反应中的主要介质,氧化应激能参与并加剧炎症反应,因此,NO 的水平与多种炎症疾病的发病机制密切相关^[11]。TNF- α 是一个经典的炎症指标,具有诱导多种炎症因子产生,最终导致细胞凋亡的作用,处于炎症级联反应的中心环节,其表达量的多少可以直接反映炎症的严重程度^[12-13]。IL-1 是机体早期炎症的标志物,在介导炎症反应的同时还能诱导炎性因子如 IL-6, IL-8 等的

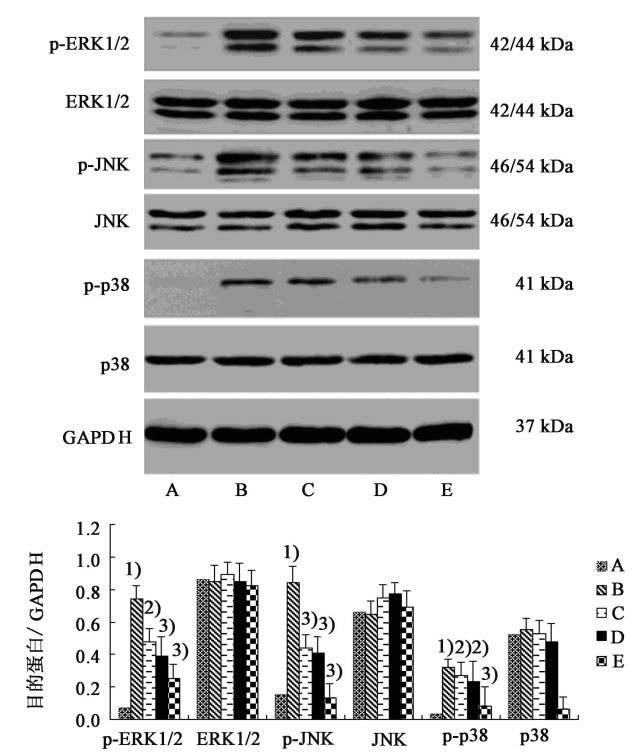


图 2 表儿茶素对 LPS 刺激引起的 MAPK 蛋白磷酸化表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

Fig.2 Effect of epicatechin on p-p38 MAPK, p-ERK, p-JNK expression in LPS induced RAW264.7 cells($\bar{x}\pm s, n=5$)

产生^[14]。IL-6 作为一种多功能细胞因子,具有抗炎和致炎的双向功能,其作用与组织中的含量有关,正常水平的 IL-6 对机体有利,产生过多会引起一系列炎性损伤^[15]。本研究表明表儿茶素高、中、低浓度均可以下调 LPS($1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)激活 RAW264.7 细胞产生的 NO, TNF- α , IL-1 和 IL-6 表达升高,并呈现良好的浓度依赖关系。说明表儿茶素的抗炎作用与抑制炎性细胞因子有关。

iNOS 是 NO 合成酶,它的表达直接决定 NO 分泌量,是炎症反应检测的一个重要指标。目前,调节 NO 的合成及其诱导型合成酶 iNOS 的表达被认为是治疗炎症疾病的重要手段。而 NO 及 iNOS 蛋白表达水平的降低与中和炎症反应密切关系。因此,通过表儿茶素下调 iNOS 的蛋白表达是抗炎反应的一个重要因素。本研究中表儿茶素各浓度组中 iNOS 的表达量明显低于模型组,说明表儿茶素可通过抑制 iNOS 的合成减少 NO 的释放,从而发挥抗炎作用。

MAPKs 通路作为细胞内信号转导的重要途径,参与细胞的增殖、分化、凋亡等生理过程。MAPK 信号通路中 p38MAPK, ERK1/2 和 JNK 是参与炎症反应的主要组成部分。诱导型 iNOS 及其产生的 NO

是炎症通路的重要的靶向因子,激活巨噬细胞的炎症因子使信号通路 MARK 级联激活,活化 iNOS,NO 的产生^[16]。在 LPS 诱导 RAW264.7 细胞的经典炎症模型上,本研究表明 LPS 诱导细胞后,MAPK 信号通路中 p38,ERK1/2 和 JNK 蛋白的磷酸化水平明显增加,表儿茶素能使 p38,ERK1/2 和 JNK 蛋白磷酸化水平显著降低,说明表儿茶素的抗炎机制主要在于抑制 MAPK 信号通路中 p38,ERK1/2 和 JNK 蛋白的磷酸化水平,从而发挥下调 iNOS 蛋白表达的作用。

综上所述,表儿茶素可以抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症反应,其抗炎作用与抑制细胞炎症因子 NO,TNF- α ,IL-1 和 IL-6 生成,下调 iNOS 蛋白表达,介导激活 MARK 信号通路 p38,ERK1/2 和 JNK 蛋白表达的调控有关。

[参考文献]

[1] 李艳红,高志玲,马金妹. 藜芦酸抑制 LPS 刺激的 RAW264.7 细胞中 NO 表达的研究 [J]. 中国免疫学杂志,2014,30(3):326-329.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:218.

[3] 王立波,邵萌,高慧媛,等. 金荞麦抗菌活性研究[J]. 中国微生态学杂志,2005,10(5):330-331.

[4] 姚荣成,黄梅芬,吴友仁,等. 云南产金荞麦根茎抗肿瘤有效部位的化学研究[J]. 云南植物研究,1989,11(2):215-218.

[5] 李沙,蒋闪闪,姜英红,等. 表面活性剂协同微波提取金荞麦总黄酮的工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(9):17-21.

[6] 阮洪生,曹玲,陈志宝,等. 星点设计-效应面法优选金荞麦提取工艺[J]. 医药导报,2013,32(2):226-229.

[7] 袁琴,袁丁,周志勇,等. 竹节参齐墩果烷皂苷对 RAW264.7 巨噬细胞 SIRT1 活性影响及抗炎作用研究[J]. 中国药理学通报,2016,32(3):349-354.

[8] 张东芳,肖鹏,韩晨露,等. 表没食子儿茶素-3-没食子酸酯抑制脂多糖诱导的巨噬细胞促炎因子 TNF- α 和 IL-1 β 基因表达[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2014,30(4):402-408.

[9] 赵凯华,赵烽,刘珂. 腺梗豨薟提取物对脂多糖活化巨噬细胞释放一氧化氮的抑制作用[J]. 烟台大学学报,2009,22(2):137-140.

[10] 王小倩,纪桂元,蒋卓勤. 染料木黄酮对脂多糖诱导的 RAW264.7 细胞炎症因子、腺苷酸激活蛋白激酶磷酸化的影响[J]. 营养学报,2012,34(2):177-180.

[11] 于艳华,石卓,李艳杰,等. 人参皂甙 Rd 抑制 LPS 刺激的 RAW264.7 细胞中 iNOS 及 COX-2 表达的研究[J]. 中国免疫学杂志,2014,30(2):209-212.

[12] 雷贤华,鲍敏,甄海宁. 肿瘤坏死因子- α 对大鼠肺成纤维细胞表达结缔组织生长因子的影响[J]. 中国生化药物杂志,2010,31(5):340-342.

[13] 师钟睿. IL-2、IL-8、TNF- α 和 MMP-9 在慢性阻塞性肺病稳定期的表达[J]. 中国生化药物杂志,2010,31(6):422-423.

[14] 代艳文,杨莉,万静枝,等. 竹节参醇提物对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(2):163-167.

[15] 张晓红,董莉,杨雅欣,等. 紫金龙乙醇组分对脂多糖诱导的 RAW264.7 细胞分泌炎症因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(21):149-152.

[16] 杨晓露,刘朵,卞卡,等. 甘草总黄酮及其成分体外抗炎活性及机制研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(1):99-104.

[责任编辑 张丰丰]