

【药效学评价】

柚皮苷通过 P38 MAPK/NF- κ B 通路抑制脂多糖致 HaCaT 细胞炎症反应

王梅¹, 孟娜娜², 温以杰³, 李厚忠⁴, 梁媛¹, 孙一峰¹, 张羽飞^{3*}, 马志红^{1*}

1. 牡丹江医学院附属红旗医院 皮肤科, 黑龙江 牡丹江 157011

2. 齐齐哈尔医学院机能实验室, 黑龙江 齐齐哈尔 161006

3. 牡丹江医学院 黑龙江省抗纤维化生物治疗重点实验室, 黑龙江 牡丹江 157011

4. 牡丹江医学院 药学院, 黑龙江 牡丹江 157011

摘要: 目的 探讨柚皮苷通过 P38 MAPK/NF- κ B 通路对脂多糖 (LPS) 致 HaCaT 细胞炎症损伤的抑制作用。方法 LPS (0、0.1、1.0、10.0、20.0 μ g/mL) 孵育 24 h 刺激人永生角质细胞 HaCaT, 模拟银屑病模型, MTT 法观察细胞存活率变化, Western blotting 法检测白介素 (IL)-6 和 NF- κ B 蛋白表达; MTT 法观察柚皮苷 (0、5、10、20、40、80、160、320 μ mol/L) 作用 24 h 对 HaCaT 存活率的影响; 选择 LPS、柚皮苷最佳作用浓度。柚皮苷 (20 和 40 μ mol/L) 作用银屑病模型 HaCaT 细胞 24 h, 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 法检测 IL-6、IL-1 β 、IL-17 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的 mRNA 表达水平变化; Western blotting 法检测细胞核内转录因子 NF- κ B p65、P38 MAPK 磷酸化蛋白水平以及炎症因子 IL-6 蛋白水平。结果 LPS 增加 HaCaT 细胞存活率, 并上调 NF- κ B p65 和 IL-6 蛋白表达, 呈剂量相关性, 炎症反应在 20 μ g/mL 达到高峰; 5~160 μ mol/L 柚皮苷对 HaCaT 细胞无明显毒性作用。与模型组比较, 柚皮苷能够显著抑制炎症因子 IL-6、IL-1 β 、IL-17 和 TNF- α 的转录水平 ($P < 0.05$); 同时能够显著抑制 LPS 诱导的 NF- κ B p65 和 P38 MAPK 磷酸化蛋白水平、抑制 IL-6 蛋白的表达 ($P < 0.05$)。结论 柚皮苷抑制脂多糖致 HaCaT 细胞炎症反应, 发挥改善银屑病的作用, 机制可能与抑制 P38 MAPK/NF- κ B 信号通路有关。

关键词: 银屑病; 柚皮苷; 人永生角质细胞 HaCaT; 脂多糖; 炎症因子; P38 MAPK/NF- κ B 通路

中图分类号: R962.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376 (2019) 06-1081-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.06.005

Naringin inhibits LPS-induced inflammatory response in HaCaT cells through NF- κ B/P38 MAPK signaling pathway

WANG Mei¹, MENG Nana², WEN Yijie³, LI Houzhong⁴, LIANG Yuan¹, SUN Yifeng¹, ZHANG Yufei³, MA Zhihong¹

1. Department of dermatology, The Affiliated Hongqi Hospital of Mudanjiang Medical University, Mudanjiang 157011, China

2. The Laboratory of Functional, Qiqihaer Medical University, Qiqihaer 161006, China

3. The Key Laboratory of Anti-fibrosis Biotherapy, Mudanjiang Medical University, Mudanjiang 157011, China

4. Department of Pharmacy, Mudanjiang Medical University, Mudanjiang 157011, China

Abstract: Objective To investigate the inhibitory effects of naringin on HaCaT cells inflammation induced by lipopolysaccharide (LPS) through NF- κ B/P38 pathway. **Methods** LPS (0, 0.1, 1.0, 10.0, 20.0 μ g/mL) incubated for 24 hours stimulated human immortalized keratinocytes HaCaT to simulate psoriasis model. MTT method was used to observe the changes of cell survival rate, and Western blotting method was used to detect the expression of IL-6 and NF- κ B protein. MTT method was used to observe the effect of naringin (0, 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320 μ mol/L) on the survival rate of HaCaT cells. The optimal concentration of LPS and

收稿日期: 2019-02-12

基金项目: 黑龙江省属高等学校基本科研业务费科研项目 (2015-KYYWF-002); 牡丹江医学院研究生创新科研项目 (2017YJSCX-20MY)

第一作者: 王梅, 硕士研究生, 研究方向为皮肤病理学。E-mail: 1170172235@qq.com

*通信作者: 马志红 E-mail: mazhihong1@126.com

张羽飞 E-mail: yufeizhang@foxmail.com

naringin was selected. Naringin (20 and 40 $\mu\text{mol/L}$) acted on HaCaT cells of psoriasis model for 24 hours. Reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) was performed to determine the mRNA expression levels of IL-6, IL-1 β , IL-17 and TNF- α . Western blotting were used to detect the phosphorylation levels of P38 MAPK and NF- κB p65 and the inflammatory factor IL-6. **Results** LPS increased the survival rate of HaCaT cells, and up-regulated the protein expression of NF- κB p65 and IL-6, which was dose-related, and the inflammatory response peaked at 20 $\mu\text{g/mL}$. 5 ~ 160 $\mu\text{mol/L}$ naringin had no obvious toxic effect on HaCaT cells. Compared with model group, naringin can significantly inhibit the transcription of inflammatory cytokines IL-6, IL-1 β , IL-17 and TNF- α ($P < 0.05$). Meanwhile, naringin can significantly inhibit LPS-induced phosphorylation of P38 MAPK and NF- κB p65, inhibiting the expression of IL-6 protein ($P < 0.05$). **Conclusion** Naringin inhibits inflammation of HaCaT cells induced by lipopolysaccharide and plays a role in improving psoriasis. The mechanism may be related to the inhibition of P38 MAPK/NF- κB signaling pathway.

Key words: psoriasis; naringin; HaCaT; LPS; inflammatory cytokines; P38 MAPK/NF- κB signaling pathway

银屑病是一种常见、慢性、易复发的炎症性皮肤病,机制十分复杂,发病率占全世界人口的3%^[1],临床上主要病理表现为大量炎症细胞的浸润,角质细胞的过度增殖和真皮血管新生等^[2]。控制病理过程中的炎症反应将有助于银屑病疾病的预防和治疗,因此,从抗炎的角度研究和开发具有角质细胞保护作用的药物具有重要意义。p38丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)及核转录因子- κB (NF- κB)是控制炎症反应最重要的蛋白激酶及转录因子,其能够参与多种细胞因子、炎性介质的调控^[3-4]。由此,抑制p38 MAPK/NF- κB 为核心的信号转导途径,可能为防治银屑病开辟新途径。

柚皮苷是柑橘类中的黄酮糖苷的主要成分,药理学研究显示,其具有抗炎、抗氧化及抗凋亡等多种药理作用^[5-7],近年来因其参与局部组织炎症反应及免疫调节作用而被关注。有研究显示,柚皮苷可通过抑制细胞凋亡、炎症反应和氧化性损伤来保护人永生表皮角质形成细胞HaCaT免受UVB损伤的作用^[7],并对趋化因子具有明显的抑制作用^[8]。但柚皮苷对脂多糖(LPS)诱导HaCaT细胞炎症反应的影响尚未见报道。基于此,本研究采用LPS致HaCaT细胞炎症模型,模拟银屑病表皮过度增殖,观察柚皮苷对LPS诱导的炎症反应及对P38 MAPK/NF- κB 信号通路的影响,以期从细胞水平探索柚皮苷对角质形成细胞的作用机制,为柚皮苷在炎症疾病中的开发和临床合理应用提供实验依据。

1 材料

1.1 细胞

人永生表皮角质形成细胞系HaCaT细胞株,来自美国模式菌种收集中心(ATCC)。

1.2 药物及主要试剂

柚皮苷(美国Sigma公司,批号10236-47-2,质量分数>98%);脂多糖(英国Sigma-Aldrich公司);

胎牛血清(德国PAN公司);DMEM高糖培养基(美国Hyclone公司);胰蛋白酶(美国Gibco公司);噻唑蓝(MTT)粉末(北京中生瑞泰科技有限公司);RNA提取试剂盒(美国Omega公司);逆转录试剂盒(美国Roche公司);PCR引物(上海生物工程有限公司);兔多克隆抗体真核细胞转录因子p65(NF- κB p65)、兔多克隆抗体抗白介素6(IL-6)、兔单克隆抗体p38及其磷酸化(p-p38)、兔单克隆抗体抗 β -肌动蛋白(β -actin)(美国Abcam公司);BCA蛋白定量试剂盒(上海碧云天生物技术公司)。

1.3 主要仪器

CO₂培养箱(上海力申科学仪器有限公司);低温高速离心机(美国Sigma公司);超净工作台(苏州净化设备有限公司);PCR扩增仪(美国ABI公司);Nanodrop 2000超微量分光光度计(美国Thermo公司);酶标仪(美国Molecular Devices公司);Western电泳仪;凝胶成像系统(美国BioRad公司)。

2 方法

2.1 细胞培养

HaCaT细胞在含有10%胎牛血清及1%双抗的DMEM培养基中、置于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂饱和湿度恒温培养箱中培养,待细胞长到80%~90%时进行传代。选择生长状态良好的对数生长期细胞用于实验。

2.2 LPS对HaCaT细胞存活率的影响及诱导炎症模型的建立

HaCaT细胞以每孔 5×10^3 个接种于96孔培养板中,每孔100 μL ,贴壁12 h后,加入LPS(0、0.1、1.0、10.0、20.0 $\mu\text{g/mL}$)再继续培养24 h,每孔设置4个复孔。吸去上清液,每孔加入终质量浓度为0.5 mg/mL MTT培养液,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中继续孵育4 h后,每孔再加入150 μL 二甲基亚砷,摇床震荡10 min后,用酶标仪在570 nm处测各孔吸光度(A)值,计算各组

细胞存活率。

取对数生长期细胞,按照每孔细胞数 5×10^3 个接种于6孔板中,加入LPS(0、0.1、1.0、10.0、20.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 孵育24 h,收集细胞,提取总蛋白,Western blotting法检测IL-6和NF- κB 蛋白表达。

2.3 柚皮苷对HaCaT细胞活力的影响

HaCaT细胞以每孔 5×10^3 个接种于96孔培养板中,每孔100 μL ,贴壁12 h后,加入柚皮苷(0、5、10、20、40、80、160、320 $\mu\text{mol}/\text{L}$)继续培养24 h,每孔设置4个复孔。MTT法检测细胞存活率,方法见“2.2”项。

2.4 实时荧光定量PCR(qRT-PCR)法检测炎症相关因子转录的影响

取对数生长期细胞,按照每孔细胞数 5×10^3 个接种于6孔板中,分为对照组(等体积的生理盐水),模型组(20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS),柚皮苷低、高剂量(20、40 $\mu\text{mol}/\text{L}$)组,加入相应药物后孵育时间24 h。RNA提取试剂盒提取细胞总RNA,紫外分光光度计进行RNA定量,再对RNA进行逆转录得到对应cDNA,最后使用SYBR Green染料进行qRT-PCR反应,检测炎症因子转录情况。PCR反应体系为:2 \times SYBR green master mix 10 μL 、上下游引物(10 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$)各1 μL 、 ddH_2O 6 μL 、cDNA 2 μL ,总体积20 μL 。反应条件为:95 $^\circ\text{C}$ 30 s,95 $^\circ\text{C}$ 15 s,60 $^\circ\text{C}$ 30 s,共40个循环,最后做溶解曲线,95 $^\circ\text{C}$ 1 s,65 $^\circ\text{C}$ 15 s。PCR反应结束后,根据PCR获得的融解曲线和扩增曲线分析结果的可靠性并设定阈值,输出 C_t 值。取其 C_t 均值,以 β -actin为内参校正,采用标准曲线法对目的基因的相对表达水平进行统计学分析。引物根据GenBank基因序列设计并合成肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素(IL)-1 β 、IL-6和IL-17基因引物。引物序列见表1。

2.5 Western blotting法检测蛋白表达

细胞接种、分组给药操作同“2.4”项,分别收集各组细胞,提取总蛋白,BCA法测蛋白浓度,取100 μg 蛋白100 $^\circ\text{C}$ 加热10 min后,5%的浓缩胶及10%的分

离胶进行SDS-PAGE电泳后,将凝胶上的蛋白转移至PVDF膜上,5%脱脂奶粉室温封闭1 h后,分别加入抗p38 MAPK(1:1 000)、p-p38MAPK(1:1 000)、NF- κB (1:2 000)、IL-6(1:2 000)、 β -actin(1:2 000)的一抗稀释液中4 $^\circ\text{C}$ 孵育过夜。TBST缓冲液振荡漂洗3次后,加入相应的辣根过氧化物酶标记的二抗(1:5 000)室温孵育2 h,同前TBST漂洗3次,化学发光法显色,显色终止后用凝胶成像仪进行拍照记录,并用Image J图像分析软件进行条带的灰度值分析,以目的蛋白灰度值/内参 β -actin灰度值的比值表示目的蛋白的相对表达水平,并进行统计学分析。

2.6 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用Graphpad Prism 6.0统计软件进行分析,多组间比较采用单因素方差(One-way ANOVA)分析,组内两两比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 LPS诱导HaCaT细胞炎症模型的建立

MTT结果显示,不同浓度LPS(0、0.1、1、10、20 $\mu\text{g}/\text{mL}$)作用HaCaT细胞24 h后,细胞存活率都有不同程度增加,作用呈剂量相关性,与LPS 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组比较,1~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组差异具有显著性意义($P < 0.05$)。Western blotting结果显示,活性蛋白NF- κB p65及炎症因子IL-6等表达也均呈LPS剂量相关性增加,与LPS 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组比较,0.1~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组NF- κB p65、1~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组IL-6差异具有显著性意义($P < 0.05$),表明LPS诱导的HaCaT细胞发生了炎症损伤。本研究最终选用20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS刺激HaCaT细胞,模拟银屑病炎症模型。结果见图1。

3.2 柚皮苷对HaCaT细胞活力的影响

MTT结果显示,与柚皮苷0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组比较,5~160 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 柚皮苷均对细胞无明显毒性作用,柚皮苷320 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 对细胞活性具有显著抑制作用($P < 0.05$),见图2。本研究最终选用中等浓度20、40 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 柚皮苷进行研究。

表1 引物序列

Table 1 Sequence of primer

引物	正向引物(5' -3')	反向引物(5' -3')
TNF- α	CCTCTCTAATCAGCCCTCTG	GAGGACCTGGGAGTAGATGAG
IL-1 β	ATGATGGCTTATTACAGTGGCAA	GTCGGAGATTTCGTAGCTGGA
IL-6	ACTCACCTCTTCAGAACGAATTG	CCATCTTTGGAAGGTTTCAGGTTG
IL-17	TGTCACCTGCTACTGCTGCTGAG	CCTTTTGGGATTGGTATTGGTA
β -actin	CTCCATCCTGGCCTCGCTGT	GCTGTCACCTTCACCGTTCC

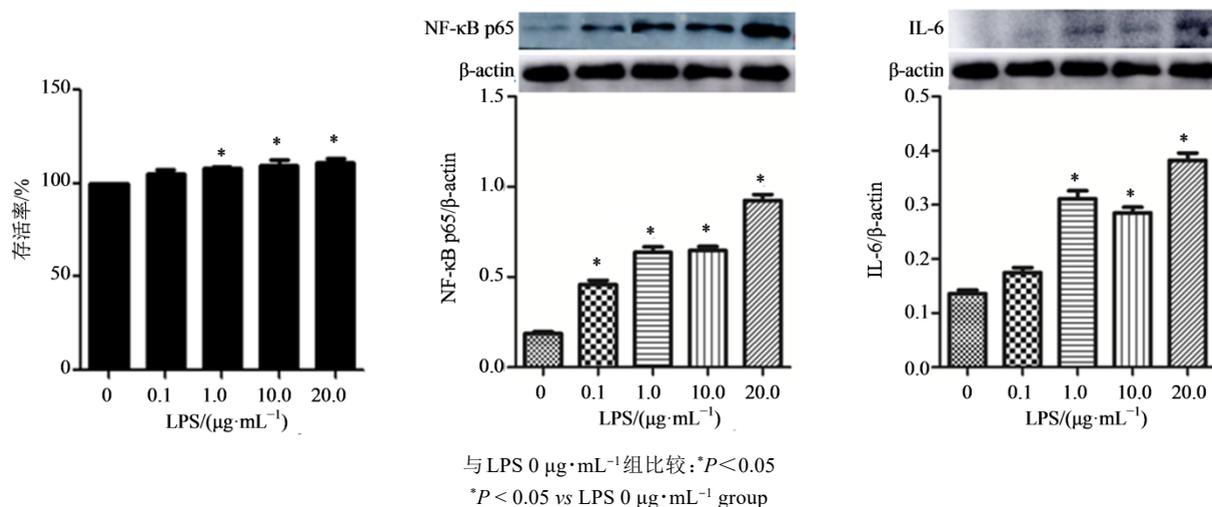


图1 LPS对HaCaT细胞存活率及炎症相关蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 Effects of LPS on viability and expression of protein associated with inflammation in HaCaT cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

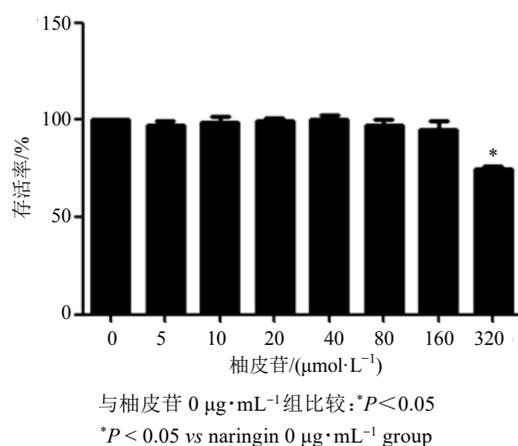


图2 柚皮苷对HaCaT细胞活力的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effects of naringin on viability of HaCaT cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.3 柚皮苷对LPS诱导的HaCaT细胞炎症相关因子mRNA表达的影响

如图3所示,与对照组比较,模型组IL-6、IL-1 β 、

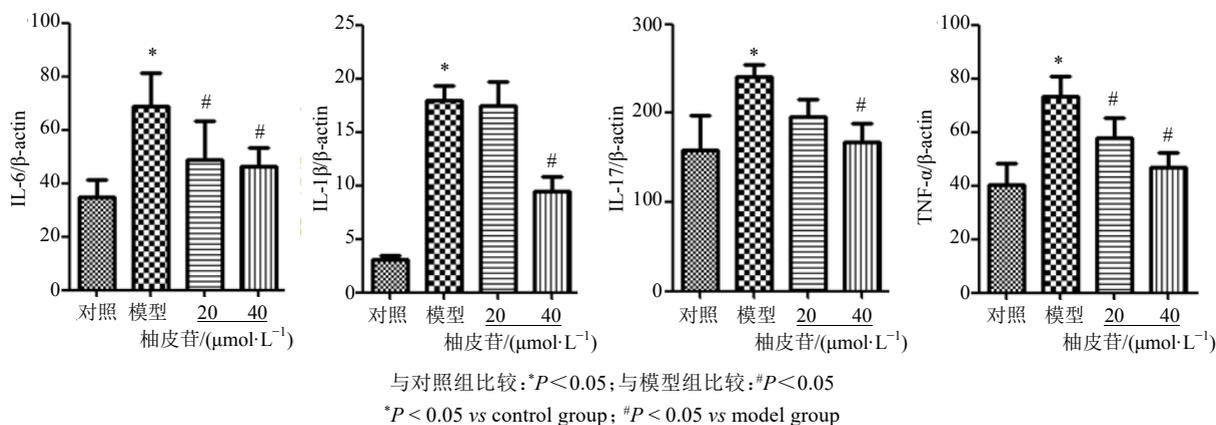


图3 柚皮苷对LPS诱导的HaCaT细胞炎症因子mRNA的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effects of naringin on mRNA of inflammatory factors in LPS-induced HaCaT cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

IL-17和TNF- α 的mRNA水平均显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,柚皮苷能够降低炎症因子IL-1 β 、IL-6、IL-17和TNF- α 的mRNA的水平,其中40 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮苷组均差异显著($P < 0.05$)。结果表明,柚皮苷通过下调炎症因子表达,阻断LPS诱导炎症反应,发挥对角质形成细胞的保护作用。

3.4 Western blotting法检测NF- κ B和p38 MAPK蛋白的表达水平

如图4所示,与对照组比较,模型组细胞内NF- κ B、p38MAPK磷酸化、IL-6蛋白水平均显著升高($P < 0.05$),给予柚皮苷处理后能显著下调NF- κ B、p38MAPK磷酸化、IL-6蛋白水平,与模型组比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结果表明,柚皮苷抑制LPS导致的p38MAPK和NF- κ B活化,抑制IL-6的高表达。提示柚皮苷可能通过阻断p38MAPK/NF- κ B信号通路的激活,参与了调节角质形成细胞的激活及其相关炎症。

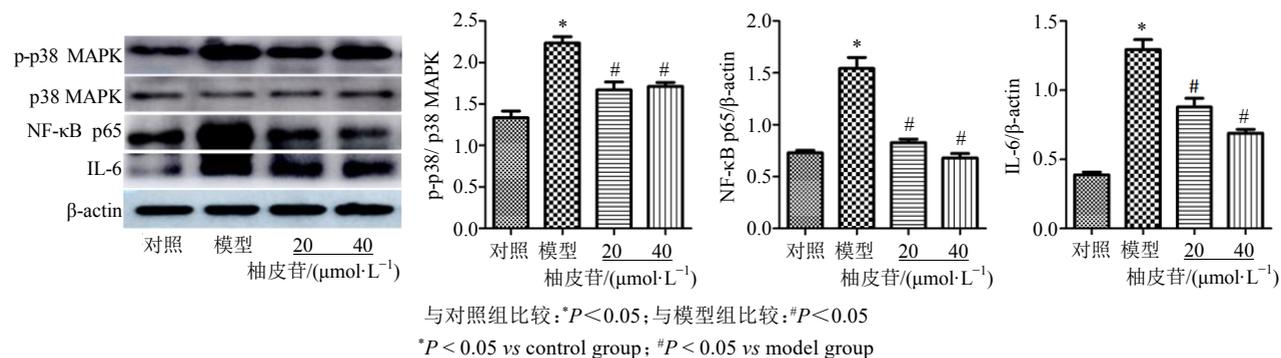


图4 柚皮苷对LPS诱导的HaCaT细胞NF-κB和p38 MAPK磷酸化蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effects of naringin on protein expression of NF-κB and phosphorylation p38 MAPK in LPS-induced HaCaT cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

银屑病是一种慢性反应性炎症性疾病,其发病机制非常复杂,其中角质形成细胞被认为是银屑病皮肤外观改变的病变核心,人永生表皮角质形成细胞HaCaT与正常人角质形成细胞有相似的分化特性,常被用来研究抗炎性药物活性及功能^[9]。银屑病皮肤常表现为角质形成细胞过度增殖的病理状态,已知各种因素可导致角质形成细胞过度增殖。LPS是革兰阴性杆菌细胞壁的一种复合物,在体外其可通过释放内源性介质而导致不同种类的细胞发生异常增殖,研究发现利用LPS能刺激细胞产生炎症反应而致角质形成细胞过度增殖^[10]。冯森玲等^[11]使用LPS刺激HaCaT细胞,建立了增殖模型,本研究中我们也建立了该模型,模拟角质形成细胞过度增殖的病理状态即类银屑病病理模型。研究发现0.1~20 μg/mL LPS,作用时间24 h时均能刺激HaCaT细胞增殖,未对细胞产生毒性作用,并且与炎症相关的因子活化蛋白NF-κB p65和炎症因子IL-6表达均提高,并呈剂量相关性。结合本实验结果,本研究后续试验选用20 μg/mL LPS刺激HaCaT细胞以制备体外模拟银屑病角质细胞增生模型。

柚皮苷又被称多甲氧基黄酮,是一种双氢黄酮单体物质,具有分子量小、提纯方便等特点,目前研究发现,柚皮苷具有降血脂、抗凋亡及抗炎症等多种药理,因此被广泛用于实验研究^[5-7]。有研究证明,外用柚皮苷对光损伤所致的角质形成细胞凋亡具有防护作用^[7],但对LPS诱导HaCaT细胞炎症反应的影响尚未见报道。银屑病是一种慢性炎症性皮肤病,细胞因子在其发病机制中发挥重要作用,在参与炎症反应的众多介质中,TNF-α、IL-1β、IL-6和IL-17都是与炎症密切相关的因子,参与HaCaT

细胞的炎症反应^[10],本实验结果显示,LPS诱导会不同程度的增强HaCaT细胞的相关炎症因子TNF-α、IL-1β、IL-6和IL-17基因的转录水平,给予柚皮苷处理后会不同程度抑制上述相关炎症因子的表达,从而减轻或抑制细胞的炎症反应。

MAPKs是广泛存在于哺乳动物细胞内的一类丝/苏氨酸蛋白激酶,其中p38MAPK是MAPKs家族中控制炎症反应最重要的家族成员之一,其能够促进白细胞的聚集和活化,从而影响转录因子的活性和调控多种细胞因子的表达,对调控炎症反应的起着关键性的作用^[13]。有研究显示,LPS是炎症反应重要的启动因子,它可以激活MAPK家族,使相应蛋白磷酸化而介导炎症反应^[3]。本实验结果显示,当受到LPS刺激后,HaCaT细胞内的p38MAPK被激活,细胞发生了炎症反应。研究表明,阻断p38级联能减轻炎症反应^[3,12]。本实验结果显示,给予柚皮苷后可以明显抑制LPS诱导的p38MAPK的活化,说明柚皮苷抗炎症保护作用与抑制p38MAPK活化有关,与之前研究报道一致^[13-14]。

NF-κB是细胞内的一个重要转录因子,它的激活可诱导一些前炎症细胞因子,例如IL-1β、IL-6和TNF-α等释放增多,在调控免疫反应和炎症反应中具有重要作用^[15]。本研究通过采用Western blotting法观察到,LPS可引起HaCaT细胞核内的NF-κB p65水平升高,表明LPS引起了细胞内NF-κB通路激活。柚皮苷(20、40 μmol/L)处理后核内NF-κB p65均表达降低,提示柚皮苷可能是通过NF-κB通路对HaCaT细胞发挥保护作用。研究指出,NF-κB与p38MAPK关系密切,活化的p38 MAPK可通过促进炎症细胞因子的表达进而活化NF-κB,是p38 MAPK信号途径下游的一个重要位点,若抑制p38 MAPK的表达,NF-κB的激活也会受到影响^[16]。本

研究发现 p38MAPK 和 NF- κ B 活性均能被柚皮苷抑制,提示柚皮苷可通过抑制 p38MAPK 继而抑制 NF- κ B 通路而起到抗炎作用。但要证实这个推断,尚需进一步研究。

本研究通过柚皮苷可降低 LPS 诱导的 HaCaT 细胞 p38 MAPK 磷酸化,抑制 NF- κ B 蛋白的高表达,进而降低 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-17 等多种炎症介质转录水平,提示柚皮苷可以通过调控 p38MAPK/NF- κ B 信号通路,抑制相关炎症因子,从而减轻或者抑制 HaCaT 细胞炎症反应。

参考文献

- [1] Ventura A, Mazzeo M, Gaziano R, et al. New insight into the pathogenesis of nail psoriasis and overview of treatment strategies [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2017, 11: 2527-2535.
- [2] Todke P, Shah V H. Psoriasis: implication to disease and therapeutic strategies, with an emphasis on drug delivery approaches [J]. *Int J Dermatol*, 2018, 57(11): 1387-1402.
- [3] Talwar H, Bauerfeld C, Bouhamdan M, et al. MKP-1 negatively regulates LPS-mediated IL-1 β production through p38 activation and HIF-1 α expression [J]. *Cell Signal*, 2017, 34: 1-10.
- [4] Qu R Z, Chen X M, Hu J, et al. Ghrelin protects against contact dermatitis and psoriasiform skin inflammation by antagonizing TNF- α /NF- κ B signaling pathways[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):1348.
- [5] Alam M A, Subhan N, Rahman M M, et al. Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action[J]. *Adv Nutr*, 2014, 5(4): 404-417.
- [6] Bharti S, Rani N, Krishnamurthy B, et al. Preclinical evidence for the pharmacological actions of naringin: a review [J]. *Planta Med*, 2014, 80(6): 437-451.
- [7] NilamberLal Das R, Muruhan S, Nagarajan R P, et al. Naringin prevents ultraviolet-B radiation-induced oxidative damage and inflammation through activation of peroxisome proliferator-activated receptor γ in mouse embryonic fibroblast (NIH-3T3) cells [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2019, 33(3): e22263.
- [8] 刘 辽, 贾 萍, 杨云霞, 等. 柚皮苷对人皮肤角质细胞分泌趋化因子 RANTES 及其核转录因子- κ B 信号通路影响的实验研究 [J]. *中国药房*, 2010, 21(1): 40-42.
- [9] Varma S R, Sivaprakasam T O, Mishra A, et al. Imiquimod-induced psoriasis-like inflammation in differentiated Human keratinocytes: Its evaluation using curcumin [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 813: 33-41.
- [10] Li S J, Xie R J, Jiang C R, et al. Schizandrin a alleviates LPS - induced injury in human keratinocyte cell Hacat through a MicroRNA-127-dependent regulation [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(6): 2229-2239.
- [11] 冯森玲. 银屑灵对过度增殖人角质形成细胞 STAT3 通路干预的影响 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2013.
- [12] Chen P, Yuan Y, Zhang T Y, et al. Pentosan polysulfate ameliorates apoptosis and inflammation by suppressing activation of the p38 MAPK pathway in high glucose-treated HK-2 cells [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(2): 908-914.
- [13] Ren X L, Shi Y L, Zhao D, et al. Naringin protects ultraviolet B-induced skin damage by regulating p38 MAPK signal pathway[J]. *J Dermatol Sci*, 2016, 82(2): 106-114.
- [14] Jian C Y, Ouyang H B, Xiang X H, et al. Naringin protects myocardial cells from doxorubicin-induced apoptosis partially by inhibiting the p38 MAPK pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(6): 9457-9463.
- [15] Chen X, Xiu M, Xing J J, et al. Lanthanum chloride inhibits LPS mediated expressions of pro-inflammatory cytokines and adhesion molecules in HUVECs: involvement of NF- κ B-Jmjd3 signaling [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(5): 1713-1724.
- [16] 黄翠萍, 杨和平, 张珍祥, 等. p38 蛋白激酶对脂多糖诱导肺泡巨噬细胞 NF- κ B 活化的调控 [J]. *华中科技大学学报: 医学版*, 2007, 36(6): 804-807.