

## 苦参水提物激活 Nrf2/HO-1 信号通路抑制炎症和氧化应激机制研究

张丽华<sup>1</sup>, 陈燕<sup>2</sup>, 范莹盈<sup>1</sup>, 陈灏文<sup>1</sup>, 黄小玲<sup>3</sup>, 汪锦才<sup>3</sup>, 郭嘉亮<sup>1,3\*</sup>

1. 佛山科学技术学院医药工程学院, 广东 佛山 528000

2. 广东省第二人民医院, 广东 广州 5103172

3. 暨南大学药学院, 广东 广州 510632

**摘要:** 目的 研究苦参水提物 (WSF) 抑制脂多糖 (LPS) 诱导大鼠巨噬细胞 RAW264.7 炎症和氧化应激的分子机制。方法 采用 CCK-8 法检测 WSF 对 RAW264.7 细胞的最佳给药质量浓度; 以 LPS 刺激 RAW264.7 细胞制备体外炎症模型, 随机分为对照组、模型组、WSF 组和 WSF 对照组, 流式细胞术检测活性氧 (ROS) 及一氧化氮 (NO) 水平, 通过荧光定量 PCR (qRT-PCR) 和 Western blotting 检测诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)、环氧合酶-2 (COX-2)、核转录因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 和血红素加氧酶-1 (HO-1) 在分子水平上的变化; 最后检测细胞培养上清中细胞因子白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 和 IL-10 的含量。结果 通过 CCK-8 实验确定 WSF 质量浓度为 0.01 mg/mL 对细胞无毒性。与对照组比较, LPS 刺激能够显著地增加细胞中 NO 和 ROS 产生, IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平也明显升高, iNOS 和 COX-2 蛋白表达水平明显提高 ( $P < 0.01, 0.001$ ), 而 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平降低 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, WSF 干预后细胞 NO、ROS、IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平显著降低, iNOS 和 COX-2 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ), Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平和 IL-10 水平显著升高 ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ )。结论 WSF 可通过激活 Nrf2/HO-1 通路在 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症和氧化应激反应中发挥保护效应。

**关键词:** 苦参; 苦参水提物; 炎症; 氧化应激; Nrf2/HO-1

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)01-0157-06

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.01.021

## Inhibitory effect of water extract of *Sophora flavescens* on inflammation and oxidative stress through activating Nrf2/HO-1 signaling pathway

ZHANG Li-hua<sup>1</sup>, CHEN Yan<sup>2</sup>, FAN Ying-ying<sup>1</sup>, CHEN Hao-wen<sup>1</sup>, HUANG Xiao-ling<sup>3</sup>, WANG Jin-cai<sup>3</sup>, GUO Jia-liang<sup>1,3</sup>

1. School of Medical Engineering, Foshan University, Foshan 528000, China

2. Guangdong Second Provincial General Hospital, Guangzhou 510317, China

3. School of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou 510632, China

**Abstract: Objective** To study the molecular mechanisms of antioxidant effect and anti-inflammatory of water extract of *Sophora flavescens* (WSF) in lipopolysaccharide (LPS)-induced RAW264.7 cells. **Methods** The optimum concentration of WSF was evaluated by CCK-8 assay. The inflammatory model was established with LPS by stimulating RAW264.7 cells *in vitro*. Then all cells were divided into control group, model group, WSF group and WSF control group. The levels of ROS and NO were analyzed with flow cytometry. Subsequently, the expression of iNOS, COX-2, Nrf2, and HO-1 was detected with qRT-PCR and Western blotting. Finally, the pro-inflammatory cytokines IL-6, TNF- $\alpha$  and anti-inflammatory cytokine IL-10 were detected by ELISA. **Results** The CCK-8 assay revealed that 0.01 mg/mL WSF did not affect the cell viability. Compared with control group, the LPS-induced inflammatory response could significantly increase the production of NO and ROS, and the IL-6 and TNF- $\alpha$  were also significantly increased ( $P < 0.05, 0.01, \text{ and } 0.001$ ). Furthermore, the expression of iNOS and COX-2 were significantly increased ( $P < 0.01, 0.001$ ), but the

收稿日期: 2019-09-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81872832); 广东省科技计划项目 (2016A020226004); 广东省基础与应用基础研究基金自然科学基金项目 (2019A1515010806); 广东省普通高校特色创新类项目 (2017GXJK184); 广东省中医药建设专项资金项目 (20161068); 佛山科学技术学院博士启动项目 (gg040952); 大学生创新训练项目

作者简介: 张丽华, 实验师, 研究方向为中药药物作用机制。E-mail: 635072356@qq.com

\*通信作者 郭嘉亮, 副教授, 研究方向为新药研究与活性筛选。E-mail: janalguo@126.com

expression of Nrf2 and HO-1 were inhibited ( $P < 0.05$ ). However, compared with model group, the WSF group not only significantly decreased the levels of NO, ROS, IL-6, and TNF- $\alpha$ , but also decreased the expression of iNOS and COX-2 ( $P < 0.05, 0.01, \text{ and } 0.001$ ). In contrast, the the level of IL-10 and the expression of Nrf2 and HO-1 were significantly increased ( $P < 0.05, 0.01, \text{ and } 0.001$ ).

**Conclusion** These results suggested that SF exerted protective effect against LPS-induced inflammatory and oxidative responses in RAW 264.7 cells by the activation of the Nrf2/HO-1 pathway.

**Key words:** *Sophora flavescens* Ait.; water extract of *Sophora flavescens*; inflammation; oxidative stress; Nrf2/HO-1

炎症会引起多种疾病的发生, 伴随这一过程会出现氧化应激进而加剧病症程度。近年, 中西医结合对炎症的综合治疗成为了研究热点之一, 并且中药日渐凸显了独特的治疗优势。苦参 *Sophora flavescens* Ait. 具有清热燥湿、杀虫、利尿等效果, 传统常用于治疗阴肿阴痒、湿疹、湿疮等疾病。苦参及其主要活性成分已被报道具有显著抗炎效果<sup>[1-4]</sup>。然而, 关于苦参发挥抗炎、抗氧化作用的机制没有完全被阐述清楚。

脂多糖 (LPS) 是革兰阴性细菌细胞壁的一种成分, 能够激发炎症反应和氧化应激作用, 被普遍应用于细胞炎症模型制备, 以评价药物的药效。巨噬细胞在 LPS 的作用下能够产生大量的促炎细胞因子如白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、IL-1 $\beta$  等及促炎介质一氧化氮 (NO), 也能引起细胞发生氧化应激效应, 产生活性氧 (ROS)。因此, 抗炎和抗氧化是当前治疗炎症的主要途径之一, 抑制炎症信号通路核转录因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), 激活核转录因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 和血红素加氧酶 1 (HO-1) 能够缓解炎症和氧化应激损伤<sup>[5-6]</sup>。大量报道证实了中药及其主要活性成分可通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路抑制炎症和氧化应激。因此, 本研究采用苦参水提物 (water extract of *S. flavescens*, WSF) 干预炎症细胞模型, 检测炎症因子、炎症介质、ROS 及相关分子在 mRNA 和蛋白水平上的变化, 进一步评价苦参的药效, 为相关药物开发提供理论支撑。

## 1 材料

### 1.1 细胞

小鼠巨噬细胞 RAW264.7 来自中国科学院细胞库。

### 1.2 药物与试剂

苦参药材购自广东杏林药业有限公司, 批号 20131203, 经佛山科学技术学院李海燕副教授鉴定为苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根; RPMI 1640 培养基、LPS (批号 L2880)、胎牛血清 (FBS)、

RIPA 裂解液 (强)、CCK-8 试剂盒、Trizol (总 RNA 抽提试剂)、ROS 检测试剂盒均购自碧云天生物技术有限公司; 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 试剂盒, SYBR Premix ExTaqKit 公司; IL-6、IL-10、TNF- $\alpha$  ELISA 试剂盒均购自深圳达科为生物技术有限公司; 兔 HO-1 单克隆抗体、兔环氧合酶-2 (COX-2) 单克隆抗体、兔诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 单克隆抗体、兔 Nrf2 单克隆抗体购自 CST 公司; 鼠  $\beta$ -actin 单克隆抗体及辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG(H+L)、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG(H+L) 二抗购自碧云天生物技术有限公司。

### 1.3 仪器

EPICS XL 流式细胞仪 (美国 Beckman-Coulter 公司); A2320 离心机 (上海安弋仪器有限公司生产); BS-600L 电子天平 (上海友声衡器有限公司生产); 318C+酶标仪 (上海沛欧分析仪器有限公司生产); qRT-PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司); Mini-PROTEAN Tetra cell 小型垂直电泳槽 (上海沃塘医疗科技有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 药物的制备

根据文献方法<sup>[3]</sup>配制得到 5 g/mL WSF, 经热压灭菌后冷藏保存留用。采用高效液相色谱技术, 参考文献报道<sup>[3]</sup>, 检测并控制 WSF 中主要成分氧化苦参碱质量浓度为 151 mg/mL, 苦参碱质量浓度为 11 mg/mL。

### 2.2 细胞培养

RAW264.7 细胞培养于 RPMI 1640 完全培养基 (含 10% FBS 和双抗), 置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中, 待细胞生长融合度达到 90% 左右, 收集细胞用 0.25% 胰酶消化处理细胞获得单个细胞悬液用于后续实验。

### 2.3 细胞活力检测

调整细胞浓度接种于 96 孔板中, 5 000 个/孔, 接种后 24 h 向细胞中加入不同质量浓度 (0、0.001、0.01、0.1、1 mg/mL) WSF, 24 h 后每孔加入 10  $\mu$ L

CCK-8 溶液, 于细胞培养箱培养 2 h, 使用酶标仪在 450 nm 下测定吸光度 ( $A$ ) 值, 计算细胞活力。

$$\text{细胞活力} = (A_{\text{药物}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

#### 2.4 NO 水平检测

将 RAW 264.7 细胞以  $2 \times 10^5$  个/孔接种于 12 孔板中, 设置对照组、模型组 (LPS 100 ng/mL)、WSF 组 (LPS 100 ng/mL+WSF 0.01 mg/mL) 及 WSF 对照组 (WSF 0.01 mg/mL), 先加入 LPS 对细胞进行预处理 30 min, 随后加入 WSF 共培养 24 h。根据 NO 检测试剂盒说明书操作, 于 540 nm 检测  $A$  值。

#### 2.5 ROS 水平检测

RAW264.7 细胞以  $3 \times 10^5$  个/孔接种于 6 孔板中, 在细胞培养箱中培养 24 h, 分组及处理同“2.4”项下, 随后各组细胞加入 CM-H2DCF-DA ( $10$

$\mu\text{mol/L}$ ), 于细胞培养箱中孵育 30 min, 收集各组细胞, 流式细胞仪上机检测各组细胞中 ROS 水平。

#### 2.6 qRT-PCR 检测 iNOS、COX-2、Nrf2、HO-1 mRNA 表达

细胞分组及处理同“2.4”项下, 采用 Trizol 抽提各组总 RNA, 超微量核酸检测仪测定总 RNA 浓度, 利用 TaKaRa 试剂盒根据说明书逆转为 cDNA, SYBR Premix Ex Taq II  $10 \mu\text{L}$ 、上下游引物各  $1 \mu\text{L}$ 、DNA 模板  $2 \mu\text{L}$ 、双蒸水  $6 \mu\text{L}$ , 共  $20 \mu\text{L}$ , 混合均匀, 进行逆转录, 将得到的 cDNA 产物根据试剂盒说明书配制如下反应体系: 预变性  $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 、30 s; PCR 反应  $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 、5 s,  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 、30 s,  $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 、15 s, 反应重复 35 个循环。以  $\beta\text{-actin}$  为内参, 采用  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  法分析基因表达量。引物序列见表 1。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Sequences of PCR primers

引物名称	引物序列 (5'→3')	产物长度/bp
HO-1	正向: AAGCCGAGAAATGCTGAGTTCA	100
	反向: GCCGTGTAGATATGGTACAAGGA	
iNOS	正向: TGCAGACACGTGCGTTACTCC	130
	反向: GGTAGCCAGCATAGCGGATG	
Nrf2	正向: TAGATGACCATGAGTCGCTTGC	156
	反向: GCCAAACTTGCTCCATGTCC	
COX-2	正向: CAGCCAGGCAGCAAATCC	55
	反向: ACATTCCCCACGGTTTTGAC	
$\beta\text{-actin}$	正向: AGCCATGTACGTAGCCATCC	228
	反向: CTCTCAGCTGTGGTGGTGAA	

#### 2.7 Western blotting 法检测 iNOS、COX2、Nrf2 和 HO-1 蛋白的表达

细胞分组及处理同“2.4”项下, 收集细胞, RAPI 裂解提取总蛋白, BCA 试剂盒测定蛋白浓度, 采用 12% SDS-PAGE 胶电泳转膜, 将 PVDF 膜放入 5% 脱脂奶粉中封闭 2 h, TBST 洗膜 3 次, 每次 5 min, 加入稀释的一抗 iNOS、COX2、Nrf2 和 HO-1 ( $1:1000$ ) 室温孵育 2 h, PBST 洗膜 3 次, 每次 5 min, 加入稀释的辣根过氧化物酶标记的二抗 ( $1:5000$ ), 反应 1 h, 洗膜 3 次, 每次 5 min, 曝光。蛋白条带采用 Quantity one 软件分析灰度值与  $\beta\text{-actin}$  蛋白条带灰度值进行比较, 分析待测蛋白表达水平。

#### 2.8 炎症因子检测

细胞分组及处理同“2.4”项下, 收集各组细胞培养上清, ELISA 实验分别检测 IL-6、IL-10 和 TNF- $\alpha$  在细胞培养上清中的水平。根据试剂盒说明书绘制标准曲线, 利用双抗夹心法, 并通过酶标仪

检测各组细胞上清中的细胞因子水平。

#### 2.9 统计学方法

用 SPSS 13.0 软件和 GraphPad Prism 6 进行统计分析, 每个实验均进行 3 次重复, 数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组之间的比较采用方差分析。

### 3 结果

#### 3.1 WSF 对 RAW264.7 细胞活力的影响

不同质量浓度 (0、0.001、0.01、0.1、1 mg/mL) WSF 处理 24 h 后, 采用 CCK-8 实验检测各组 RAW264.7 细胞的活力, 结果表明 WSF 质量浓度低于 0.01 mg/mL 对细胞无毒性影响 (图 1)。因此, 选择 0.01 mg/mL WSF 进行后续实验。

#### 3.2 WSF 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 NO 产生的影响

结果如图 2 所示, 与对照组比较, 模型组 NO 产生量显著增加 ( $P < 0.001$ )。与模型组比较, WSF 能够显著抑制 RAW264.7 细胞 NO 的产生 ( $P < 0.01$ )。

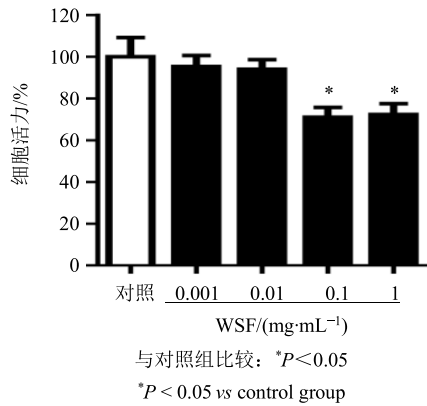


图 1 WSF 对 RAW264.7 细胞活力的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
 Fig. 1 Effects of WSF on cell viability of RAW264.7 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

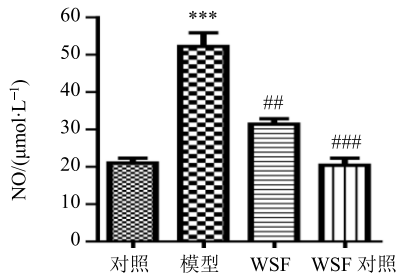


图 2 WSF 对 RAW264.7 细胞 NO 产生的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
 Fig. 2 Effects of WSF on NO production in RAW264.7 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

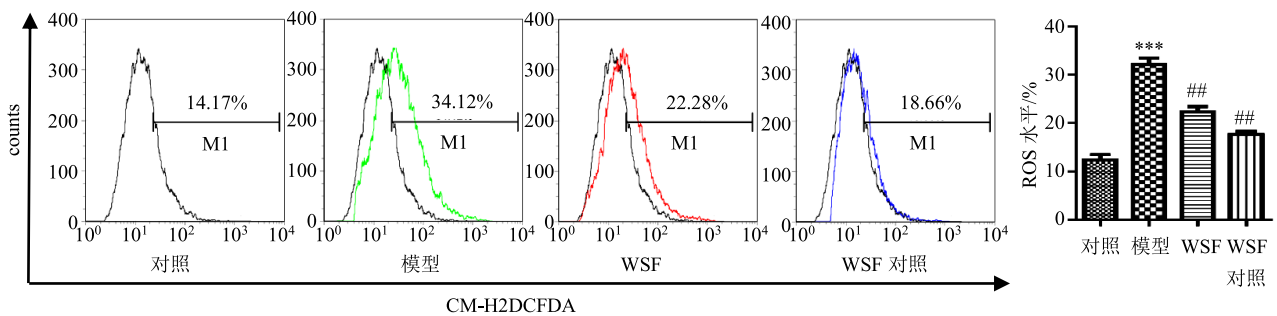


图 3 WSF 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞中 ROS 产生的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
 Fig. 3 Effects of WSF on ROS production in RAW264.7 cells induced by LPS ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

表达, 明显激活 Nrf2/HO-1 信号发挥抗氧化作用。  
**3.6 WSF 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症因子释放的影响**

利用 ELISA 法检测细胞培养上清中促炎细胞因子和抑炎细胞因子水平。结果显示, 与对照组比较, 模型组细胞促炎因子 IL-6 和 TNF-α 水平显著

**3.3 WSF 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 ROS 产生的影响**

利用 DCFH-DA 分子探针采用流式细胞术检测不同处理组 ROS 含量的变化。研究表明, 与对照组比较, 模型组细胞 ROS 水平显著升高 ( $P < 0.001$ )。与模型组比较, WSF 作用后显著降低细胞 ROS 水平 ( $P < 0.01$ ), 见图 3。

**3.4 WSF 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 iNOS、COX-2、Nrf2、HO-1 mRNA 表达的影响**

与对照组比较, 模型组细胞 iNOS、COX-2 mRNA 表达水平显著升高 ( $P < 0.001$ ), Nrf2、HO-1 mRNA 表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, WSF 能够显著降低 iNOS、COX-2 mRNA 表达水平 ( $P < 0.01$ ), 显著提高 Nrf2、HO-1 mRNA 表达水平 ( $P < 0.01$ ), 见图 4。说明 WSF 能够明显抑制氧化应激相关基因的表达, 促进 Nrf2、HO-1 基因的表达。

**3.5 WSF 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 iNOS、COX-2、Nrf2、HO-1 蛋白表达的影响**

通过 Western blotting 实验检测 iNOS、COX2、NRF2 和 HO-1 蛋白表达水平。结果表明 (图 5), 与对照组比较, 模型组细胞 iNOS 和 COX-2 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.001$ ), Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, WSF 组细胞 iNOS 和 COX-2 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.01$ ), Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ )。说明 WSF 能够明显抑制细胞氧化应激反应相关蛋白的

升高 ( $P < 0.001$ ), 抑炎因子 IL-10 水平无明显变化 (图 6)。与模型组比较, WSF 能够显著降低 IL-6 和 TNF-α 水平 ( $P < 0.01$ ), 升高 IL-10 水平 ( $P < 0.05$ ), 说明 WSF 具有抗炎功效。

**4 讨论**

炎症是一种自我保护的生理过程, 然而活化的

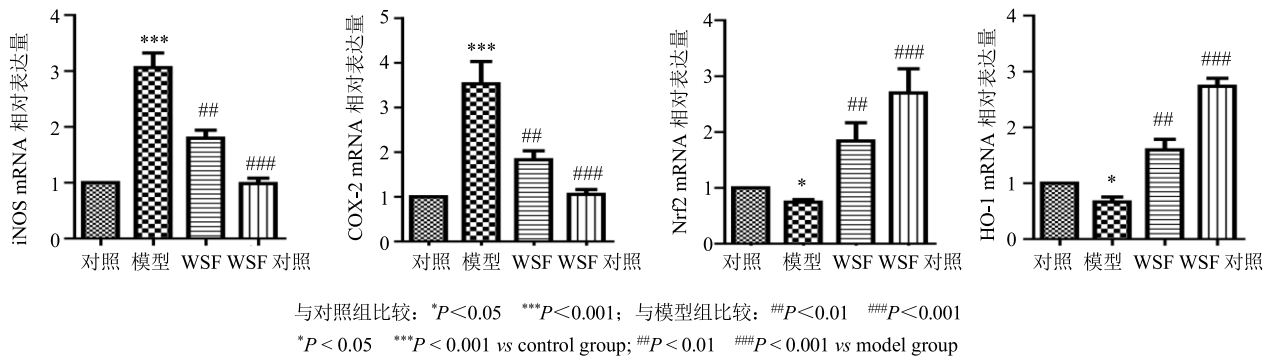


图 4 WSF 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 iNOS、COX-2、Nrf2、HO-1 mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 4 Effects of WSF on mRNA expression of iNOS, COX2, Nrf2, and HO-1 in RAW264.7 cells induced by LPS ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

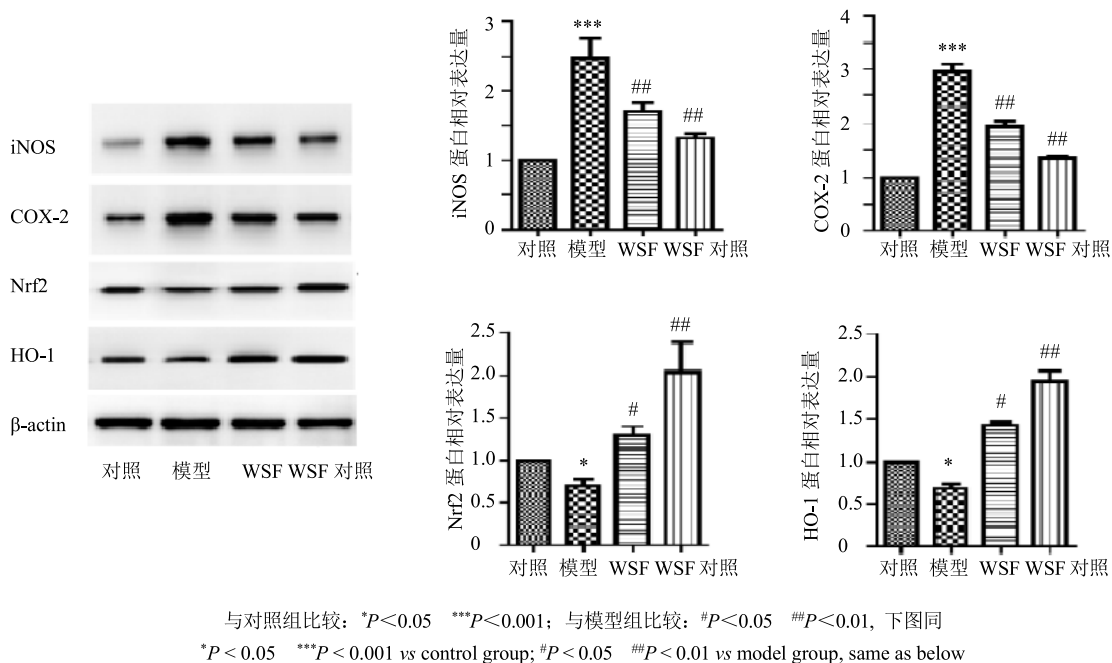


图 5 WSF 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 iNOS、COX-2、Nrf2、HO-1 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 5 Effects of WSF on expression of iNOS, COX2, NRF2, and HO-1 proteins in RAW264.7 cells induced by LPS ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

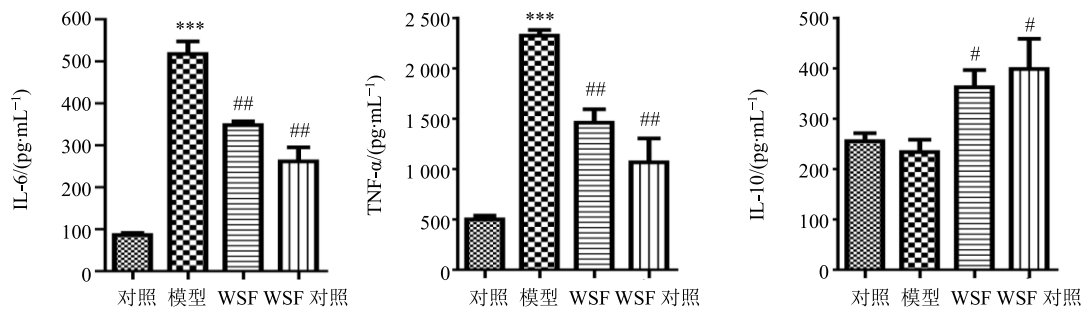


图 6 WSF 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症因子释放的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 6 Effects of WSF on release of proinflammatory cytokines in RAW264.7 cells induced by LPS ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

巨噬细胞和单核细胞过度释放促炎介质会引起系统性炎症反应。巨噬细胞在固有免疫和适应性免疫中发挥着极其重要的作用，尤其是在机体发生炎症反

应的过程中释放大量的促炎介质、炎性细胞因子、氧化应激因子等<sup>[1]</sup>。本研究采用 LPS 刺激 RAW264.7 细胞制备体外炎症细胞模型，LPS 能够显著促进细

胞产生炎症因子 IL-6 和 TNF- $\alpha$ ；同时，细胞中的 ROS 和 NO 水平明显升高。而 WSF 处理细胞后能够显著降低 IL-6 和 TNF- $\alpha$  分泌水平，提高 IL-10 水平，同时使细胞中 ROS 和 NO 水平显著下降。说明 WSF 能发挥抗炎作用，并且能降低 LPS 引起的细胞氧化应激反应。有研究表明苦参提取物苦参酮<sup>[2]</sup>和黄酮<sup>[2]</sup>在巨噬细胞抗炎中发挥作用，并且苦参水提取物和醋酸乙酯提取物在体外 LPS 诱导的炎症细胞模型和体内动物模型中可降低炎症细胞因子的分泌，发挥抗炎作用<sup>[4]</sup>。以上研究表明苦参可发挥抗炎作用，但是其作用机制尚未完全揭示。

为了进一步阐明 WSF 在介导炎症和氧化应激过程中的分子机制，通过 Western blotting 和 qRT-PCR 实验从分子水平上检测 WSF 对细胞 iNOS、COX-2、Nrf2 和 HO-1 表达的影响。结果表明 LPS 能够显著促进 iNOS 和 COX-2 在 mRNA 和蛋白水平的表达，相应的炎症介质 NO 的产生也明显的增加，而 Nrf2 和 HO-1 表达水平在 LPS 作用下则出现降低趋势。WSF 可显著降低 iNOS 和 COX-2 在 mRNA 和蛋白水平表达，增加 Nrf2 和 HO-1 表达量，同时降低 ROS 和 NO 水平，说明 WSF 能够通过促进 Nrf2 和 HO-1 表达，抑制 iNOS 和 COX-2 表达，进而降低细胞炎症反应，减少细胞 ROS 产生，对细胞起到保护作用。WSF 能够影响 Nrf2/HO-1 信号通路的激活发挥抗氧化作用。研究表明 Nrf2/HO-1 作为上下游调节分子，在抗炎和抗氧化应激方面发挥重要的作用，如五味子 A 能够激活 Nrf2/HO-1 信号通路，抑制炎症和氧化应激反应<sup>[6-7]</sup>。

综上所述，WSF 能够通过 Nrf2/HO-1 信号通路抑制 LPS 激活的 RAW264.7 细胞炎症反应和氧化应激作用。本研究进一步提示 WSF 具有作为抗炎、

抗氧化药物的潜在研究价值，为苦参药物的开发及临床应用提供实验依据，也为后续研究奠定基础。

#### 参考文献

- [1] Lucas K, Maes M. Role of the Toll like receptor (TLR) radical cycle in chronic inflammation: Possible treatments targeting the TLR4 pathway [J]. *Mol Neurobiol*, 2013, 48(1): 190-204.
- [2] Jin J H, Kim J S, Kang S S, *et al.* Anti-inflammatory and anti-arthritic activity of total flavonoids of the roots of *Sophora flavescens* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 127(3): 589-595.
- [3] 张丽华, 陈 燕, 危荧靖, 等. 中药苦参水提物对慢性湿疹模型豚鼠炎症反应的影响 [J]. *中药新药与临床药理*, 2019, 30(2): 168-172.
- [4] Ma H, Huang Q, Qu W, *et al.* *In vivo* and *in vitro* anti-inflammatory effects of *Sophora flavescens* residues [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, doi: 10.1016/j.jep.2018.06.019.
- [5] Bao L, Li J, Zha D, *et al.* Chlorogenic acid prevents diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress and inflammation through modulation of the Nrf2/HO-1 and NF-kB pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, doi: 10.1016/j.intimp.2017.11.021.
- [6] Kwon D H, Cha H J, Choi E O, *et al.* Schisandrin A suppresses lipopolysaccharide-induced inflammation and oxidative stress in RAW264.7 macrophages by suppressing the NF-kappa B, MAPKs and PI3K/Akt pathways and activating Nrf2/HO-1 signaling [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(1): 264-274.
- [7] Shi Y, Sun Y, Sun X, *et al.* Up-regulation of HO-1 by Nrf2 activation protects against palmitic acid-induced ROS increase in human neuroblastoma BE(2)-M17 cells [J]. *Nutr Res*, 2018, doi: 10.1016/j.nutres.2018.02.003.