

# 143 抑制 LPS 诱导的细胞炎症反应

张广芹, 马梦娇, 于晓璐, 温传俊

(南京师范大学生命科学学院, 分子细胞生物学研究所, 江苏 南京 210023)

**[摘要]** 机体异常炎症反应与各种疾病的发生息息相关. 实验室通过前期工作, 筛选出抗炎效果较好的化合物, 并将其命名为 143. 通过 LPS 诱导 RAW264.7 细胞和 BV2 细胞作为炎症细胞模型, 用不同浓度的 143 处理细胞, 观察其抗炎效应. 用 MTS 检测不同浓度 143 对细胞活力的影响, NO 试剂盒检测细胞培养上清 NO 含量的变化, Western blot 检测 NF- $\kappa$ B p-p65, iNOS、COX-2 蛋白的表达情况. 结果显示, 143 在浓度小于 10  $\mu$ mol/L 时对两种细胞活力没有影响; 143 在浓度为 10  $\mu$ mol/L 时能显著抑制细胞上清中 NO 的含量, 并显著抑制细胞中炎症相关蛋白因子 NF- $\kappa$ B p-p65, iNOS、COX-2 的表达.

**[关键词]** 143, 炎症反应, iNOS, COX-2, NF- $\kappa$ B

**[中图分类号]** Q291 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2019)01-0095-07

## The Inhibitory Effect of 143 on LPS-Induced Cellular Inflammatory Response

Zhang Guangqin, Ma Mengjiao, Yu Xiaolu, Wen Chuanjun

(School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Institute of Molecular and Cell Biology, Nanjing 210023, China)

**Abstract:** Inflammatory abnormalities are a large group of disorders that underlie a vast variety of human diseases. We have previously screened a compound, named as 143, with efficient anti-inflammatory effects. The present study aimed to examine its effects based on LPS-induced inflammatory cell models in RAW264.7 and BV2 cells. MTS was used to detect the effect of different concentrations of 143 on cell viability. The NO kit was used to detect the change of NO content in cell culture supernatant. The expression of NF- $\kappa$ B p-p65, iNOS and COX-2 protein was detected by Western blot. The results showed that 10  $\mu$ mol/L 143 had no effect on the cell viability but significantly inhibited the release of NO in LPS-stimulated cells. In addition, 143 significantly inhibited the expression of inflammation-related protein factors, such as NF- $\kappa$ B p-p65, iNOS, COX-in LPS-stimulated cells.

**Key words:** 143, inflammatory response, iNOS, COX-2, NF- $\kappa$ B

炎症反应对机体来说是一把双刃剑. 炎症反应是机体常见的一种抵御外界不良致病因子的一种反应. 但是, 过度的炎症反应是一些疾病的发病基础, 如在一些自身免疫性疾病以及神经系统病变的疾病中, 炎性相关因子的表达都上升. 此外, 有研究表明, 外周炎症也能通过一定的途径引起中枢神经系统的炎症<sup>[1]</sup>. 因此, 寻找可以抑制过度炎症反应的药物及其可能的作用机制对于临床上炎症相关疾病的治疗具有重要意义.

本实验室通过前期工作, 筛选出一种抗炎效果较好的化合物, 并命名为 143(图 1), 通过研究发现 143 可以通过抑制炎症信号通路中核因子- $\kappa$ B(nuclear factor-kappa B, NF- $\kappa$ B)的表达来抑制细胞炎症, 此外, 其下游相关的炎性蛋白表达也降低, 进而推测 143 在细胞炎症的治疗方面可能具有一定的作用.

研究以小鼠单核巨噬细胞(RAW264.7)和小鼠小胶质细胞(BV2)作为实验细胞, 体外用 LPS 诱导这两种细胞来分别模拟外周炎症和中枢神经系统炎症, 研究 143 对 LPS 诱导的细胞炎症的作用.

收稿日期: 2018-06-20.

基金项目: 国家自然科学基金(2012104GZ30057).

通讯联系人: 温传俊, 副教授, 研究方向: 肿瘤分子细胞生物学. E-mail: wenchuanjun@hotmail.com

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

合成的化合物 143,纯度大于 98%,将其粉末形式溶于 DMSO 中,浓度为 10 mmol/L,并在 -20 ℃ 下保存;高糖 DMEM 和胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自美国 Gibco 生物公司;100 U/mL 青霉素(penicillin)、100 U/mL 链霉素(Streptomycin)和含 0.25%的 EDTA 胰蛋白酶购自维森特公司;RIPA 裂解液和 Acr-Bis 购自凯基生物科技有限公司;P-p65、iNOS、COX-2 抗体购自 CST 公司; $\beta$ -actin 抗体购自迅贝生物科技有限公司;ECL 发光液、二抗(兔抗)购自 Biosharp 公司;MTS 购自 Promega 公司。

小鼠单核巨噬细胞白血病细胞(RAW264.7)和小鼠小胶质细胞(BV2)为本实验室保存。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 RAW264.7 和 BV2 细胞培养及分组

将冻存的细胞株快速复苏至含有适量培养基(含 10%胎牛血清和 1%双抗的高糖 DMEM 完全培养基)的培养皿中并轻轻混匀细胞。置于含有 5%的二氧化碳、37 ℃ 培养箱中培养。待细胞贴壁后, PBS 清洗换掉含有 DMSO 的培养基,此后每 2 d 换一次培养液。当细胞密度达到 80%左右,用 1 mL 0.25%胰蛋白酶(含 EDTA)进行消化传代。

细胞分组:分别接种 RAW264.7 以及 BV2 细胞于 6 孔板中,预培养后将细胞分组处理。①对照组:细胞不做任何处理,用 0  $\mu$ mol/L、3  $\mu$ mol/L、10  $\mu$ mol/L 浓度的 143 处理细胞 20 h;②实验组:用 0  $\mu$ mol/L、3  $\mu$ mol/L、10  $\mu$ mol/L 浓度的 143 预处理细胞 1 h,之后用 2  $\mu$ g/mL 的 LPS 持续刺激细胞共同作用细胞 20 h。

#### 1.2.2 MTS 检测细胞增殖

取对数期的细胞消化后均匀地接种于 96 孔板中;设置不同浓度梯度,每个浓度设置 5 个复孔,每孔加入 100  $\mu$ L 培养基,置于细胞培养箱中培养 48 h 后,将板内培养基吸走,用 PBS 清洗一遍,每孔加入 100  $\mu$ L 培养基和 20  $\mu$ L MTS/PMS 混合液(MTS:PMS=20:3,现配现用),继续培养 3 h,将板子置于酶标仪上在 490 nm 处检测各孔的吸光值(OD 值)。

#### 1.2.3 上清 NO 含量检测

分别取对数生长期的 RAW264.7 细胞和 BV2 细胞接种于 6 孔板,细胞分组及处理方法同 1.2.1,细胞培养结束后收集上清,按照 NO 检测试剂盒说明书进行操作来检测 NO 的释放情况,酶标仪 540 nm 测定吸光度。

#### 1.2.4 Western blot 检测相关蛋白表达

分别取对数生长期的 RAW264.7 细胞和 BV2 细胞接种于 6 孔板,细胞分组及处理方法同 1.2.1,细胞培养结束后提取蛋白质,弃去培养基,用预冷的 PBS 清洗 2 遍,每孔中加入 150  $\mu$ L 裂解液(RIPA 强裂解液,100 $\times$ PMSF,10 $\times$ cocktail)置于冰上裂解 30 min,每 5 min 晃动一次使其充分裂解;收集细胞裂解液至 1.5 mL 的离心管中;在 4 ℃ 离心机中,12 000 rpm 离心 15 min,吸取上清到新的离心管中,5 $\times$ Sample Buffer 漩涡震荡混匀,99 ℃ 煮样 10 min,10%、12%的 SDS-PAGE 恒压 80 V 电泳,当 Marker 在分离胶中分辨出条带,将电压调至 120 V;恒流 330 mA,90 min 将蛋白转移到 PVDF 膜上;5%的脱脂牛奶室温封闭 2 h;一抗,4 ℃ 孵育过夜。室温孵育二抗 2 h;用 ECL 发光液显色,在凝胶成像系统中曝光成像。

#### 1.2.5 统计学分析

采用 GraphPad 6.02 软件对 NO 的检测数据进行分析,数据以均值( $\pm$ SE)表示。Image J 软件对 Western Blot 结果进行灰度分析,采用 Origin 8.0 软件对实验数据进行统计学分析并作图,组间差异用单因素方差分析进行比较,数据以均值( $\pm$ SE)表示,检验  $P < 0.05$  为差异显著, $P < 0.001$  为差异极显著。

## 2 实验结果

### 2.1 MTS 检测 143 分别对 RAW264.7 细胞以及 BV2 细胞生长的作用

用不同浓度的 143 分别处理 RAW264.7 细胞以及 BV2 细胞 48 h,MTS 检测药物对细胞生长的影响。如图 1(a)所示,在 RAW264.7 细胞中,与对照组相比,当 143 浓度低于 10  $\mu$ mol/L 时,对细胞的生长没

有明显的抑制作用;当 143 浓度为 20  $\mu\text{mol/L}$  时,对细胞的生长具有一定的抑制作用 ( $P<0.001$ );当药物浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$  时,对 RAW264.7 细胞生长具有极明显的抑制作用 ( $P<0.001$ ).

BV2 细胞中药物对其生长作用如图 1(b) 所示,与对照组相比,143 浓度在 20  $\mu\text{mol/L}$  浓度内对细胞生长没有抑制作用;在 40  $\mu\text{mol/L}$  时已经对细胞生长有极显著的抑制作用 ( $P<0.001$ ). 此外,检测 143 在 RAW264.7 以及 BV2 细胞中的  $\text{IC}_{50}$  值,如图 1(c) 所示,在 RAW264.7 细胞中的  $\text{IC}_{50}$  值为 31.84  $\mu\text{mol/L}$ ,图 1(d) 显示 BV2 细胞中的  $\text{IC}_{50}$  值为 56.78  $\mu\text{mol/L}$ . 结合以上实验结果,在后续的实验 中处理细胞的最大浓度设置为 10  $\mu\text{mol/L}$ ,对细胞的生长活力没有明显影响作用.

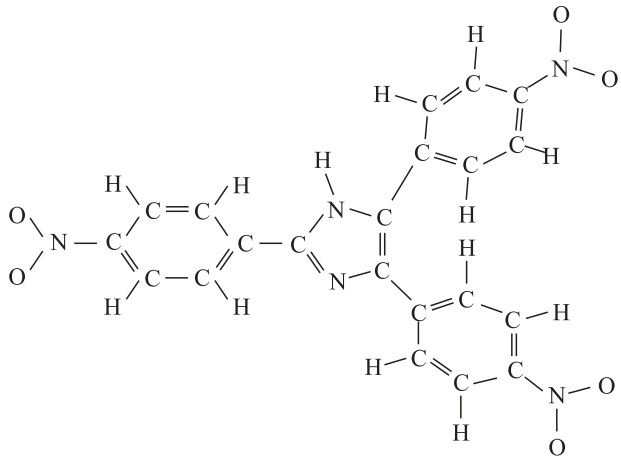
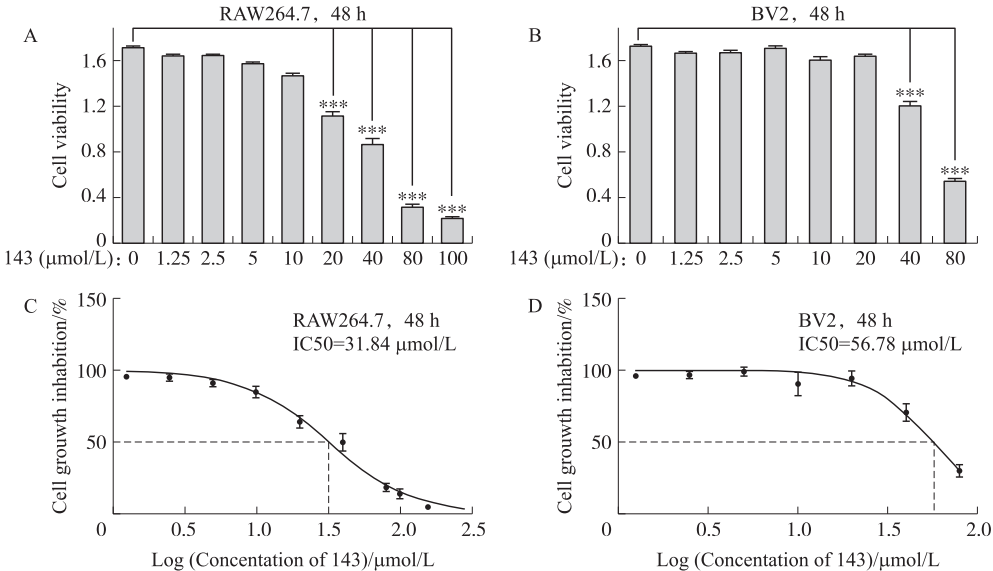


图 1 143 的结构

Fig. 1 The structure of 143(2,4,5-tris(4-nitrophenyl)-1H-imidazole)



A:不同浓度 143 对 RAW264.7 细胞活力影响;B:不同浓度 143 对 BV2 细胞活力影响;C:143 对 RAW264.7 细胞作用的  $\text{IC}_{50}$  值;D:143 对 BV2 细胞作用的  $\text{IC}_{50}$  值;\*\*\*:与空白对照组相比( $P<0.001$ ,  $n=6$ ).

图 2 143 对细胞活力影响

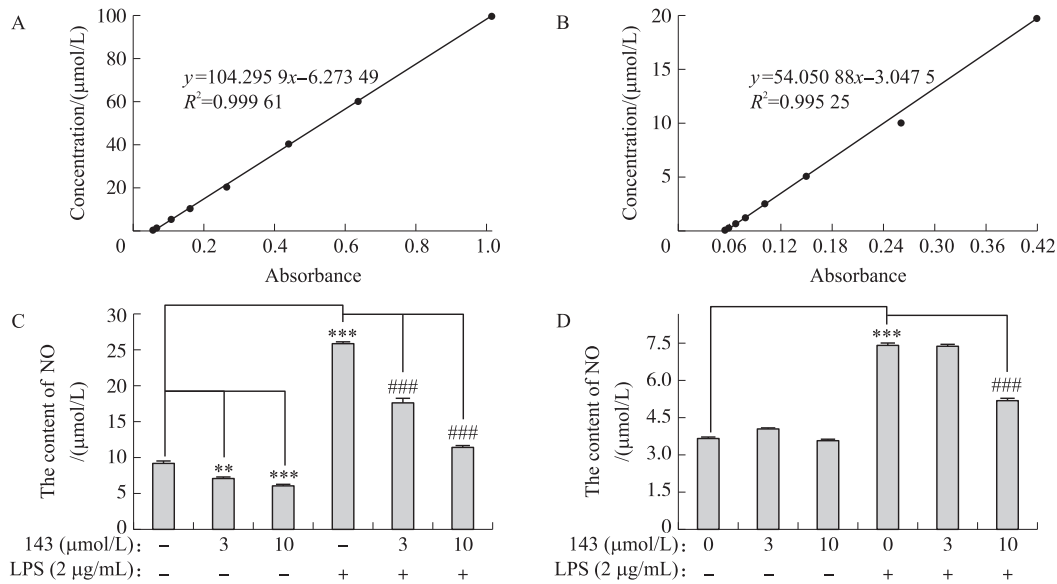
Fig. 2 The effects of 143 on the cells viability

2.2 143 对细胞培养上清中 NO 含量的影响

一氧化氮(nitric oxide, NO)作为一种“明星分子”被人们所熟知,其生成依赖于 一氧化氮合成酶( nitric oxide synthase, NOS). 诱导型一氧化氮合成酶( inducible nitric oxide synthase, iNOS) 是一氧化氮合成酶( NOS)同工酶的 3 种亚型之一,也能够催化 NO 的生成. 当机体产生异常炎症时,细胞中 iNOS 蛋白的表达就会上升,进而由其合成的 NO 含量就会异常增加,而大量的 NO 会参与巨噬细胞、淋巴细胞的毒性作用,加重细胞的炎症反应,此外 NO 还与肿瘤的发生转移等密切相关<sup>[2]</sup>. 因此检测细胞上清中 NO 的含量可以一定程度上反映细胞产生炎症的程度. 本实验中利用 NO 检测试剂盒来检测 143 对细胞培养上清中 NO 释放含量的影响.

如图 3C 所示,用 143 处理 RAW264.7 细胞,与空白对照组相比,加入 143 浓度为 3  $\mu\text{mol/L}$  时上清中 NO 释放量降低( $P<0.01$ ),加入 143 浓度为 10  $\mu\text{mol/L}$  时上清中 NO 的含量显著性降低( $P<0.001$ );经 143 预处理 1 h 之后再 用 LPS 刺激细胞 20 h 之后,与非 143 预处理组相比,细胞培养的上清中 NO 含量显著性降低( $P<0.001$ ),说明 143 对 LPS 诱导的细胞释放 NO 具有抑制作用.

此外,还在 BV2 细胞中检测了 143 对上清中 NO 含量的影响,如图 3D 所示,用 143 预处理细胞 1 h 之后再加入 LPS 刺激细胞 20 h,与非预处理组相比,143 在浓度 10  $\mu\text{mol/L}$  时对细胞中 LPS 诱导的细胞释放 NO 具有抑制作用( $P<0.001$ ).



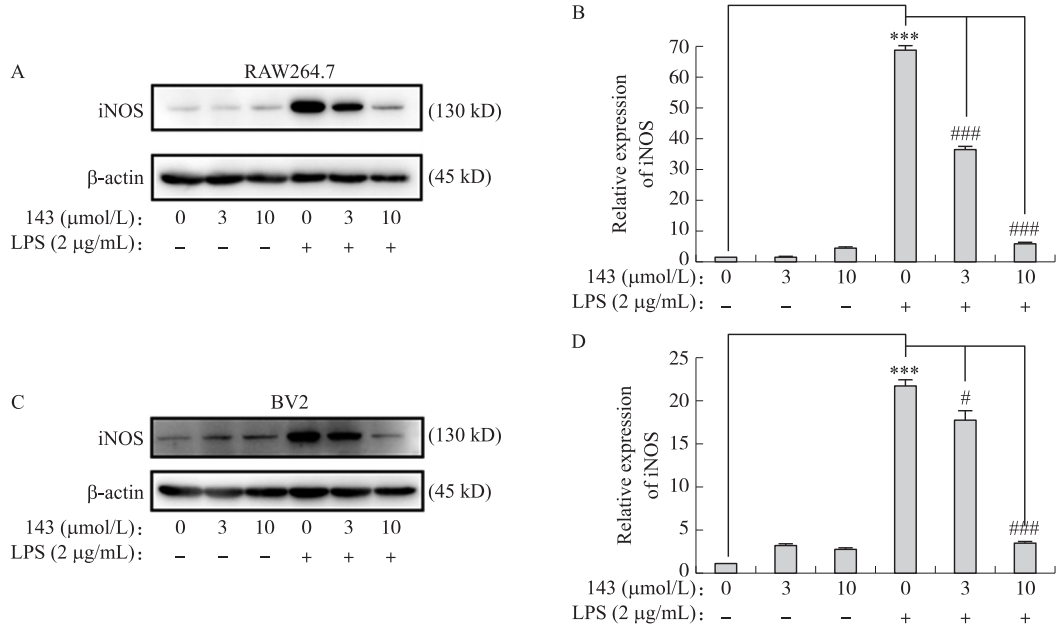
A: RAW264.7 细胞中 NO 释放标准曲线; B: BV2 细胞中 NO 释放标准曲线; C: 143 对 RAW264.7 细胞 NO 释放影响; D: 143 对 BV2 细胞 NO 释放影响; \*: 与空白对照组相比 ( $P<0.01$ ); \*\*: 与空白对照组相比 ( $P<0.001$ ); ###: 与空白对照组相比 ( $P<0.001$ ).

图 3 143 对细胞释放 NO 的影响  
Fig. 3 The effects of 143 on the release of NO in RAW264.7 and BV2 cells

2.3 143 对细胞中炎症相关蛋白表达的影响

2.3.1 143 对细胞中 iNOS 和 COX-2 蛋白表达的影响

分别在两种细胞中,利用 Western Blot 检测与炎症相关的 iNOS 以及 COX-2 蛋白的表达情况.



A: 143 对 RAW264.7 细胞中 iNOS 蛋白的表达影响; B: 灰度分析 iNOS/ $\beta$ -actin 相对表达量; C: 143 对 BV2 细胞中 iNOS 蛋白的表达影响; D: 灰度分析 iNOS/ $\beta$ -actin 相对表达量; \*\*\*: 与空白对照组相比 ( $P<0.001$ ); #: 与空白对照组相比 ( $P<0.05$ ); ###: 与空白对照组相比 ( $P<0.001$ ).

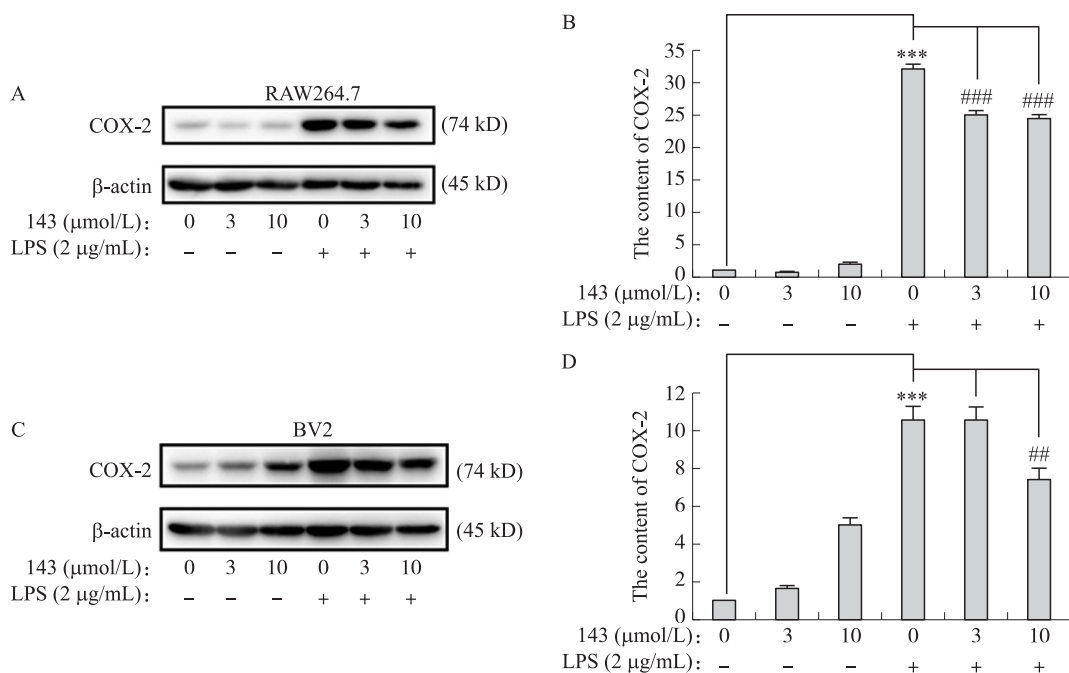
图 4 143 对细胞中 iNOS 蛋白表达的影响  
Fig. 4 The effect of 143 on the expression of iNOS protein in cells

如图4A所示,在RAW264.7细胞中,正常情况下,iNOS蛋白的表达水平较低,加入2  $\mu\text{g/mL}$ 的LPS刺激细胞之后,细胞中该蛋白的表达明显增加,分别用3  $\mu\text{mol/L}$ 和10  $\mu\text{mol/L}$ 浓度的143预处理细胞1h之后再加入LPS刺激细胞,发现相较于非143预处理组,iNOS蛋白的表达均有不同程度的下降,并且用浓度为10  $\mu\text{mol/L}$ 的143预处理的细胞中该蛋白表达下降的更明显。

在BV2细胞中,如图4C所示,iNOS蛋白在正常情况下表达是较低的,经143预处理后再用LPS刺激后,与未用143处理组对比,iNOS蛋白的表达水平有所降低。

从图中可以看出,143对LPS诱导的两种细胞中iNOS蛋白的表达都有抑制作用,但是在浓度为3  $\mu\text{mol/L}$ 时,BV2细胞中的抑制作用没有RAW264.7细胞中明显。推测可能与这两种细胞各自的特质有关,BV2细胞参与神经系统抵御各种不良外界刺激,而RAW264.7细胞是外周系统的免疫细胞,两种细胞对该化合物的吸收效率不同可能会使结果有所差异。

环氧化酶2(cyclooxygenase 2,COX-2)是环氧化酶(cyclooxygenase,COX)的两种亚型之一。已有研究表明,COX-2基因的启动子上具有NF- $\kappa$ B的结合位点。当NF- $\kappa$ B被激活之后入核,引起下游与炎症相关靶蛋白表达的上调,而COX-2作为靶蛋白之一也被激活,进一步加剧炎症反应。因此,利用Western Blot检测COX-2蛋白的表达情况来观察143对炎症反应的作用。如图5A和5C所示,两种细胞在正常情况下COX-2蛋白表达水平都较低,加入LPS诱导之后,细胞中COX-2蛋白的表达显著增加,分别用3  $\mu\text{mol/L}$ 和10  $\mu\text{mol/L}$ 浓度的143预处理细胞1h之后再加入LPS刺激细胞,两种细胞中该蛋白的表达均下降,并且在浓度为10  $\mu\text{mol/L}$ 时的抑制效果更加明显。提示143对LPS诱导的细胞炎症反应具有一定的抑制效应。



A:143对RAW264.7细胞中COX-2蛋白的表达影响;B:灰度分析COX-2/ $\beta$ -actin相对表达量;C:143对BV2细胞中COX-2蛋白的表达影响;D:灰度分析COX-2/ $\beta$ -actin相对表达量;\*\*\*:与空白对照组相比( $P<0.001$ );##:与空白对照组相比( $P<0.01$ );###:与空白对照组相比( $P<0.001$ )。

图5 143对细胞中COX-2蛋白表达的影响

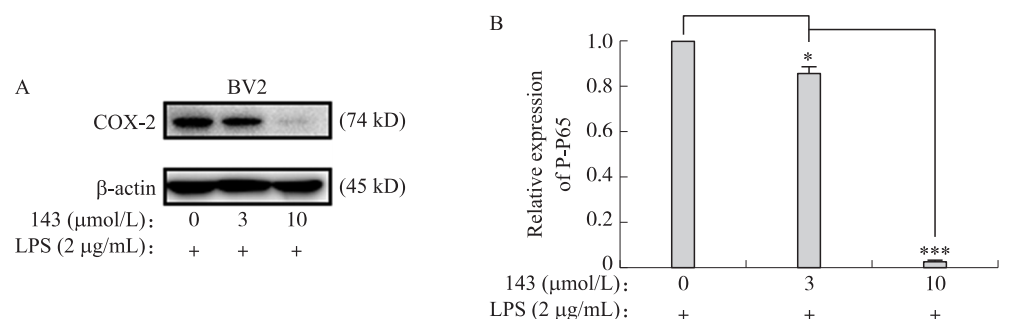
Fig. 5 The effect of 143 on the expression of COX-2 protein in cells

### 2.3.2 143对LPS诱导的细胞中NF- $\kappa$ B P-P65蛋白表达的影响

NF- $\kappa$ B核转录因子下游有众多的靶基因,如:与免疫相关的受体,炎症相关的因子等,因此参与了免疫细胞激活、细胞凋亡、炎症反应及自身免疫性疾病等多个过程<sup>[3]</sup>。在哺乳动物中,NF- $\kappa$ B通常以p50-p65二聚体的形式维持静息状态,在炎症刺激下被激活之后,其抑制蛋白I $\kappa$ B对该二聚体的抑制作用解除,NF- $\kappa$ B入核参与下游转录反应,因此检测p65反映了NF- $\kappa$ B在炎症刺激下的激活情况。在检测完NF- $\kappa$ B下游的相关蛋白分子后,我们用143预处理RAW264.7细胞1h,之后用LPS诱导该细胞,共同作用细胞20h后检测NF- $\kappa$ B P-P65蛋白的表达情况,由图6可知,143在浓度为3  $\mu\text{mol/L}$ 时对NF- $\kappa$ B P-P65的蛋



白表达有一定的抑制作用,在浓度为 10  $\mu\text{mol/L}$  时,NF- $\kappa\text{B}$  P-P65 的蛋白表达已经明显下降.



A: 143 对 RAW264.7 细胞中 P-P65 蛋白的表达影响;B: 灰度分析 P-P65/ $\beta$ -actin 相对表达量; \*: 与空白对照组相比( $P<0.05$ ); \*\*\*: 与空白对照组相比( $P<0.001$ )

图 6 143 对 RAW264.7 细胞 P-P65 蛋白表达的影响

Fig. 6 The effect of 143 on the expression of P-P65 protein in RAW264.7 cells

### 3 讨论

慢性炎症与肿瘤的关系最早是在 1863 年由 Rudolf Virchow 教授在人类肿瘤中发现有淋巴细胞浸入的现象而提出,随着研究深入,炎症已被列为癌症的七大特征之一<sup>[4-5]</sup>. 近年来,越来越多的研究表明,外周炎症与中枢神经系统的炎症有着密切的关系. 手术等各种外伤引发的外周炎症会激活中枢神经系统炎症,造成认知功能障碍等<sup>[6]</sup>. 所以本实验中选取小鼠单核巨噬细胞(RAW264.7)和与神经中枢有密切关系的小鼠小胶质细胞(BV2)两种细胞作为炎症实验模型,观察 143 对这两种细胞炎症的抑制作用.

NF- $\kappa\text{B}$  是一种普遍存在的转录因子,因其在先天免疫反应中的作用而众所周知. 众多的研究表明该蛋白是炎症信号通路中的经典蛋白. 正常情况下,NF- $\kappa\text{B}$  在胞质中以二聚体的形式维持静息状态,当被活化后,NF- $\kappa\text{B}$  恢复转录活性并转移到细胞核内,进而引起下游相关因子的转录激活<sup>[7]</sup>. 通过实验,推测 143 可能是通过抑制 NF- $\kappa\text{B}$  的表达来缓解细胞炎症反应.

NF- $\kappa\text{B}$  信号通路下游的诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和环氧合酶-2(COX-2)是参与炎症反应的关键的调节因子. 在正常生理情况下,各组织细胞的 iNOS 活性几乎不表达,病理状况下主要受一些细胞因子的诱导而激活,如干扰素- $\alpha$ /肿瘤坏死因子- $\beta$ 、脂多糖(LPS)、白介素-1 等可激活 NF- $\kappa\text{B}$ 、蛋白激酶等,诱导 iNOS 表达引起一氧化氮(NO)合成增加<sup>[2]</sup>. NO 的过量表达又会反作用于 iNOS,使得炎症反应更剧烈. 此外,实验中显示 143 对 iNOS 表达影响较强,而对 NO 的释放影响较弱,这与 NO 的不稳定性密切相关. NO 是一种不稳定的自由基气体,携带一个未配对的电子,生物半衰期只有 3 s~5 s,因此检测到的 NO 和诱导其产生的蛋白的表达相比,含量会有所降低.

环氧合酶(COX)是前列腺素(PGs)合成过程中重要的限速酶<sup>[2]</sup>. 其中环氧合酶 2(COX-2)在 LPS 的诱导下表达会上调,进而引起 PGE<sub>2</sub>/PGF<sub>2</sub> 等前炎症因子的含量升高,使得机体产生炎症<sup>[8]</sup>. 反过来,这些前炎症因子又可以使 iNOS 以及 COX-2 蛋白表达上升,使得炎症反应进一步加强<sup>[9]</sup>. 已有研究表明,iNOS 基因上有 NF- $\kappa\text{B}$  的应答元件,COX-2 基因的启动子上也具有 NF- $\kappa\text{B}$  的结合位点<sup>[10]</sup>. 这表明 NF- $\kappa\text{B}$  可能通过直接作用于这两个靶蛋白进而调节下游因子的转录与激活. 但是实验中 143 对 COX-2 蛋白的抑制作用并没有 iNOS 蛋白的抑制作用明显,推测虽然二者都是 NF- $\kappa\text{B}$  下游的靶蛋白,但是其参与调控的功能可能侧重不同,iNOS 更多的是参与机体炎症反应,而更多的报道显示 COX-2 蛋白与癌症的发生密切相关.

机体产生炎症反应是一个复杂的过程,NF- $\kappa\text{B}$  信号通路在有关炎症治疗方面的研究热度也一直居高不下. 本实验表明 143 能抑制 NF- $\kappa\text{B}$  的激活,进而抑制下游相关靶蛋白 iNOS 和 COX-2 的表达来抑制炎症反应. 这为该化合物作为抑制炎症反应的作用做了初步的探讨,但是 143 抑制 NF- $\kappa\text{B}$  的作用机制以及与该通路相关的可能上游蛋白分子还有哪些问题则有待于进一步研究.

143 是咪唑化合物,含有 3 个硝基,咪唑环是产生组胺、组氨酸生物活性并在生物体中起生理作用的重要基团. 咪唑环是在结构中含有 2 个氮原子的五元芳香族氮杂环,并且可能产生各种非共价相互作用,例如氢键,与金属离子的配位和  $2\pi$  键相互作用. 目前,许多咪唑化合物已被临床用作抗炎、杀菌、抗癌等

药物,如咪唑斯汀、左旋咪唑、硝基咪唑、替莫唑胺等<sup>[11-13]</sup>。研究提示 143 有望作为一种抗炎化合物来抑制炎症反应,而这种含有 3 个硝基的咪唑化合物在体内作用的安全性以及药物毒性还有待研究。

#### [参考文献]

- [1] NK R, S B, SK V, et al. Frontline science: aspirin-triggered resolvins D1 controls herpes simplex virus-induced corneal immunopathology[J]. *Journal of leukocyte biology*, 2017, 102(5): jlb.3HI1216-511RR.
- [2] 王菊勇, 胡兵, 徐振晔, 等. NF- $\kappa$ B/iNOS-COX-2 信号转导通路与肺癌[J]. *肿瘤防治研究*, 2009, 36(4): 342-345.
- [3] ATCHISON M L, PERRY R P. The role of the kappa enhancer and its binding factor NF-kappa B in the developmental regulation of kappa gene transcription[J]. *Cell*, 1987, 48(1): 121.
- [4] 周峰, 刘子杰, 段勇. 炎症在肿瘤发生过程中所起作用研究进展[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2018(9): 84-85.
- [5] IM N. Inflammation and cancer[J]. *Nature*, 2002, 420(6917): 860-867.
- [6] TERRANDO N, MONACO C, MA D, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  triggers a cytokine cascade yielding postoperative cognitive decline[J]. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 2010, 107(47): 20518-20522.
- [7] GHOSH S, KARIN M. Missing pieces in the NF-kappaB puzzle[J]. *Cell*, 2002, 109(4): S81-S96.
- [8] RASK K, ZHU Y, WANG W, et al. Ovarian epithelial cancer: a role for PGE2-synthesis and signalling in malignant transformation and progression[J]. *Molecular cancer*, 2006, 5(1): 62.
- [9] VACAS S, DEGOS V, TRACEY K J, et al. High-mobility group box 1 protein initiates postoperative cognitive decline by engaging bone marrow-derived macrophages[J]. *Anesthesiology*, 2014, 120(5): 1160.
- [10] YAMAMOTO K, ARAKAWA T, UEDA N, et al. Transcriptional roles of nuclear factor kappa B and nuclear factor-interleukin-6 in the tumor necrosis factor alpha-dependent induction of cyclooxygenase-2 in MC3T3-E1 cells[J]. *Journal of biological chemistry*, 1995, 270(52): 31315-31320.
- [11] 吴念江, 吴立新, 吴忆宇. 咪唑斯汀的临床应用新进展[J]. *西北药学杂志*, 2009, 24(1): 80-80.
- [12] 成兰. 咪唑斯汀的临床应用[J]. *临床医学*, 2002, 22(4): 56-56.
- [13] 陈启信, 沈卫峰, 罗邦尧. 左旋咪唑治疗类风湿性关节炎[J]. *国外医学参考资料: 内科学分册*, 1978(2): 25.
- [14] XIONG H, CHENG Y, ZHANG X, et al. Effects of taraxasterol on iNOS and COX-2 expression in LPS-induced RAW 264.7 macrophages[J]. *Journal of ethnopharmacology*, 2014, 155(1): 753-757.
- [15] KARIN M, GRETEN F R. NF-kappaB: linking inflammation and immunity to cancer development and progression[J]. *Nature reviews immunology*, 2005, 5(10): 749-759.
- [16] 尹兆宝, 吴洪梅, 林松华, 等. 炎症与阿尔茨海默病[J]. *国际老年医学杂志*, 1998(6): 247-250.
- [17] SARGSYAN S A, THURMAN J M. Molecular imaging of autoimmune diseases and inflammation[J]. *Molecular imaging*, 2012, 11(3): 251-264.
- [18] PARK S W, LEE S G, SONG S H, et al. The effect of nitric oxide on cyclooxygenase-2(COX-2) overexpression in head and neck cancer cell lines[J]. *International journal of cancer*, 2010, 107(5): 729-738.
- [19] ESCÁRCEGA R O, FUENTES A S, GARCÍA C M, et al. The transcription factor nuclear factor-Kappa B and cancer[J]. *Clinical oncology*, 2007, 19(2): 154-161.
- [20] KIM J B, HAN A R, PARK E Y, et al. Inhibition of LPS-induced iNOS, COX-2 and cytokines expression by poncirin through the NF-kappaB inactivation in RAW 264.7 macrophage cells[J]. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 2007, 30(12): 2345-2351.
- [21] VACAS S, DEGOS V, TRACEY K J, et al. High-mobility group box 1 protein initiates postoperative cognitive decline by engaging bone marrow-derived macrophages[J]. *Anesthesiology*, 2014, 120(5): 1160.
- [22] WANG D, DUBOIS R N. The role of COX-2 in intestinal inflammation and colorectal cancer[J]. *Oncogene*, 2010, 29(6): 781.
- [23] XU Y, WANG C, WU L, et al. Comparison of inhibitory effects of nine flavonoids on prostaglandin E2 production and COX-2 expression in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages[C]//International Conference on Biomedical Engineering and Biotechnology. Macao: ICBE, 2012: 981-984.
- [24] MCGEER P L, ITAGAKI S, BOYES B E, et al. Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains[J]. *Neurology*, 1988, 38(8): 1285.

[责任编辑: 黄 敏]