

寡聚原花色素通过激活 Nrf2 拮抗慢性阻塞性肺疾病大鼠的氧化应激

褚婉婷¹, 张淑香², 褚星霞¹

(1. 固原市人民医院呼吸科, 宁夏固原 756000; 2. 宁夏医科大学总医院呼吸与危重症医学科, 宁夏银川 750004)

摘要:【目的】观察寡聚原花色素(OPC)对慢性阻塞性肺疾病(COPD)模型大鼠氧化应激的调节作用。【方法】将30只Wistar大鼠随机分为5组,即正常组,模型组,OPC低、高剂量组,地塞米松(DXM)组,每组6只。除正常组,其他组别大鼠采用注入脂多糖(LPS)联合暴露于香烟烟雾法建立COPD模型。成功造模后,OPC低、高剂量组与DXM组分别给予对应药物灌胃治疗,正常组和模型组给予相同体积的生理盐水灌胃。给药结束后,测量大鼠的肺功能,检测肺组织匀浆液中脂质过氧化物标记物丙二醛(MDA)和谷胱甘肽(GSH)水平,观察肺组织病理变化并测定平均线性截距(MLI)、平均肺泡数(MAN),采用免疫组织化学法检测肺组织8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)表达水平,蛋白免疫印迹(Western Blot)法检测肺组织醌氧化还原酶(NQO1)、血红素氧合酶1(HO1)和核因子E2相关因子2(Nrf2)的表达水平。【结果】与正常组比较,模型组大鼠肺功能指标第0.3秒用力呼气容积/用力肺活量(FEV_{0.3}/FVC)、最大呼气中段流量(MMF)、呼气峰值流量(PEF)速率和动态肺顺应性(Cydn)降低,肺组织出现明显病理损害,MLI增加,MAN降低,肺组织8-OHdG平均光密度升高,肺组织匀浆MDA水平明显升高、GSH水平明显降低,肺组织Nrf2、HO1和NQO1的表达水平显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与模型组比较,OPC高剂量组可明显改善上述指标($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。【结论】OPC治疗COPD可能通过激活Nrf2缓解氧化应激反应,从而减轻COPD大鼠的肺气肿症状。

关键词:寡聚原花色素;慢性阻塞性肺疾病;核因子E2相关因子2(Nrf2);氧化应激;大鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)02-0373-06

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.02.027

Oligomeric Proanthocyanidins Inhibit Oxidative Stress in Rats with Chronic Obstructive Pulmonary Disease through Activating Nrf2

CHU Wan-Ting¹, ZHANG Shu-Xiang², CHU Xing-Xia¹

(1. Dept. of Respiratory, Guyuan People's Hospital, Guyuan 756000 Ningxia, China; 2. Dept. of Respiratory and Critical Care, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004 Ningxia, China)

Abstract: Objective To observe the regulation effects of oligomeric proanthocyanidins (OPC) on oxidative stress in rats with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Methods** Thirty Wistar rats were randomly divided into 5 groups, namely normal group, model group, low- and high- dose OPC groups, dexamethasone (DXM) group, 6 rats in each group. Apart from the normal group, the rat model of COPD was established by pernasal dripping with lipopolysaccharide (LPS) combined with exposure to cigarette smoke in the other groups. After successful modeling, the rats in the low- and high- dose OPC groups and DXM group were respectively given intragastric administration of corresponding drug, and the normal group and model group were given intragastric administration of the same volume of normal saline. After medication, the rat pulmonary function was measured, levels of lipid peroxidation marker malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) in lung homogenate were measured, pathological feature of lung tissue was observed as well as mean linear intercept (MLI) and mean alveolarnumbers (MAN) were measured, and the expression level of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) in lung tissue was determined by immunohistochemistry, and expression levels of NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1), heme oxygenase 1 (HO1) and nuclear factor erythroid-2-related factor 2 (Nrf2) in lung tissue were

收稿日期: 2019-12-25

作者简介: 褚婉婷(1985-),女,主治医师; E-mail: taipingzhu01@126.com

通讯作者: 褚星霞(1970-),女,主任医师; E-mail: taipingzhu01@126.com

examined by Western blotting assay. **Results** Compared with the normal group, the levels of pulmonary function index ratio of forced expiratory volume in 0.3 second to forced vital capacity ($FEV_{0.3}/FVC$), maximal midexpiratory flow curve (MMF), peak expiratory flow (PEF), dynamic lung compliance (C_{dyn}) were decreased in the model group, and the pathological injury in lung tissue was seen, MLI was increased and MAN was decreased, average optical density of 8-OHdG in lung tissue was enhanced, level of MDA in lung homogenate was raised and GSH level was lowered, and expression levels of Nrf2, HO1, NQO1 in lung tissue were reduced ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the model group, the all above indexes were improved in the high-dose OPC group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$ or $P < 0.001$). **Conclusion** OPC has effects on relieving oxidant stress response through activating Nrf2 contributing to alleviating symptoms of emphysema lung in COPD rats.

Keywords: oligomeric proanthocyanidins; chronic obstructive pulmonary disease (COPD); nuclear factor erythroid-2-related factor 2 (Nrf2); oxidative stress; rats

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种缓慢进展的呼吸系统疾病,伴有慢性肺部炎症和不可逆的气流受限^[1]。探讨COPD的发生机制和治疗方法具有重要的意义。有研究^[2-3]报道, Nrf2的下调与COPD患者肺部氧化应激的增强和发病机理有关。核因子E2相关因子2(Nrf2)是碱性亮氨酸拉链转录因子Cap'n'Coall家族的成员,在上皮和肺泡巨噬细胞中表达^[4-5]。Nrf2是调节抗氧化剂基因表达与细胞存活之间的重要链接,其上调和激活可增强抗氧化剂基因的表达,并保护细胞免受氧化损伤^[6]。从葡萄籽和松树皮中提取的寡聚原花色素(oligomeric proanthocyanidins, OPC)可减轻哮喘气道炎症反应,增强COPD患者的抗氧化能力并改善脂谱^[7-9]。因此,本研究拟观察OPC通过激活Nrf2对香烟烟雾和脂多糖(LPS)联合诱导的COPD模型大鼠氧化应激的调节作用,以为OPC临床治疗COPD提供依据,现将研究结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 动物 30只雄性Wistar大鼠,体质量(200 ± 20)g,购自上海SIPPR/BK实验动物有限公司,动物质量合格证号:SCXK 2008-0016。将动物饲养在温度为(25 ± 20) $^{\circ}\text{C}$,湿度为(50 ± 2)%,光照12 h/黑暗12 h的环境中。暴露前后,所有动物均可自由饮水和进食。所有动物实验均按照美国国立卫生研究院关于实验动物的护理和使用的准则进行。

1.2 药物、试剂与仪器 OPC(纯度 $> 99.80\%$)购自天津一方科技有限公司,批号:XR170314;地

塞米松(DXM)购自上海信谊药厂有限公司,批号:18032。非过滤嘴香烟(每支香烟含有1.3 mg尼古丁、13 mg焦油碳和14 mg一氧化碳)(湖南中研实业有限公司);LPS冻干粉(美国Sigma公司);其他所有化学品和试剂均为分析级;丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)试剂盒(南京建成生物工程研究所);兔抗8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)抗体(英国Abcam Technology公司);细胞质和核提取试剂盒(碧云天生物技术研究所);兔抗醌氧化还原酶(NQO1)抗体、兔抗血红素氧合酶1(HO1)抗体、兔抗Nrf2抗体、兔抗GAPDH抗体(美国Santa Cruz Biotechnology公司)。WT40检测器(上海威泰科技有限公司);AniRes2005动物肺功能系统(北京贝兰博科技有限公司);CX31显微镜(日本Olympus公司)。

1.3 分组、动物建模与给药 将大鼠随机分为5组,即正常组、模型组、OPC低剂量组、OPC高剂量组、DXM组,每组6只。除正常组外,其他各组大鼠均建立COPD模型^[10]。方法:将大鼠置于与真空泵相连的240-L有机玻璃室中,把6支香烟的烟气抽入室中,每天保持60 min,持续4周。用WT40检测器测量室内一氧化碳浓度,使保持在1 000~1 200 ppm之间。第1、14天,氯胺酮/二甲苯胺麻醉大鼠,经鼻滴注LPS(2 mg/kg),然后使大鼠保持直立位置15 s,以促进LPS在肺部的分布。依据症状、肺功能和肺组织病理等确定模型成功与否^[11]。参照研究^[12]报道,OPC低、高剂量组大鼠从第1~28天分别给予OPC 20.0、80.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 连续灌胃。DXM组大鼠从第8天开始灌胃DXM

0.2 mg·kg⁻¹·d⁻¹, 持续3周。正常组采用新鲜空气和生理盐水代替。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 肺功能评价 第29天, 大鼠麻醉后气管插管, 使用 AniRes2005 动物肺功能系统检测肺功能。该软件自动记录的参数包括: 第0.3秒用力呼气容积/用力肺活量(FEV_{0.3}/FVC)、最大呼气中段流量(MMF)、呼气峰值流量(PEF)速率和动态肺顺应性(Cydn)。

1.4.2 肺标本采集 对大鼠进行肺功能评价后, 从心脏针刺放血。在大鼠停止呼吸后, 收集肺组织, 用冰(4℃)生理盐水灌洗, 立即转移到液氮中。

1.4.3 氧化应激状态评价 应用相关试剂盒测定肺组织匀浆液中脂质过氧化物标记物MDA、GSH水平。

1.4.4 组织病理学评价 取大鼠右下肺组织用40 g/L多聚甲醛固定24 h, 在酒精中脱水12 h, 包埋在石蜡中, 切片, 用苏木素-伊红染色, 并固定在载玻片上。应用显微镜进行观察与拍摄, 测定反映肺泡大小的指标——平均线性截距(MLI)和反映肺泡密度的指标——平均肺泡数(MAN)来评估肺气肿的程度。针对每个指标, 均随机选择6个视野计算平均值。

1.4.5 免疫组织化学评价 将石蜡包埋肺组织切片, 脱蜡和再水化后, 在蒸汽压力锅中用柠檬酸缓冲液进行抗原修复2 min, 切片迅速冷却至室温。用体积分数3%过氧化氢(H₂O₂)封闭内源性过氧化物酶。加入抗8-OHdG抗体(1:300稀释)后于4℃培养过夜。于室温用二抗孵育20 min。使用二氨基联苯胺(DAB)溶液对切片进行显影, 并用苏木素复染。应用显微镜随机选择5个视野进行观察。

1.4.6 蛋白免疫印迹(Western Blot)分析 用冰裂解缓冲液[含有50 mmol/L Tris-HCl(pH 7.4), 150 mmol/L NaCl, 1%NP-40、0.1%十二烷基硫酸钠(SDS), 1 mmol/L蛋白酶抑制剂混合物和蛋白质磷酸酶抑制剂]裂解细胞, 于4℃匀浆15 s 4~5次, 将细胞裂解物于4℃、以12 000×g离心30 min除去细胞碎片。用细胞质和核提取试剂盒制备细胞质和核裂解物, 用二喹啉甲酸(BCA)蛋白质测定试剂盒测定蛋白质浓度。在8%~10%SDS-聚丙烯酰

氨凝胶电泳(PAGE)分离等量的蛋白质(20~60 mg), 并转移到聚偏氟乙烯(PVDF)膜上。于室温将膜在50 g/L脱脂牛奶中封闭2 h。分别加入NQO1抗体(1:500稀释)、HO1抗体(1:1 000稀释)、Nrf2抗体(1:500稀释)和GAPDH抗体(1:2 000稀释)于4℃孵育过夜。加入辣根过氧化物酶偶联的二抗室温孵育2 h。用电化学发光(ECL)试剂对蛋白条带进行可视化。最后使用Quantity One软件(美国Bio-Rad实验室)对条带密度进行定量。

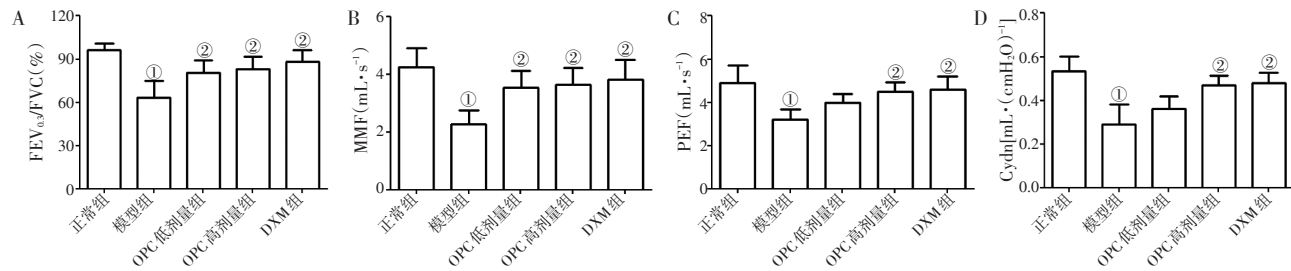
1.5 统计方法 采用SPSS 22.0统计软件进行数据分析。实验数据以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采用单因素方差分析进行组间比较, 然后进行Tukey事后检验或Games-Howell检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OPC改善COPD大鼠肺功能 图1结果显示: 与正常组比较, 模型组大鼠的FEV_{0.3}/FVC、MMF、PEF、Cydn均显著降低($P < 0.05$)。与模型组比较, OPC高剂量组与DXM组大鼠肺功能指标FEV_{0.3}/FVC、MMF、PEF、Cydn均升高($P < 0.05$), 且各治疗组间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 OPC减轻COPD引起的肺气肿 图2-A结果显示: 正常组肺部无明显病变, 支气管上皮组织和肺泡壁完好无损, 偶见炎性细胞浸润。模型组肺部出现明显的病变, 可见大量炎性细胞(特别是中性粒细胞)浸润组织, 许多浆细胞浸润肺泡间隙, 肺泡壁增厚, 肺泡扩张, 支气管上皮组织脱落并缺失。与模型组比较, OPC低、高剂量组肺组织病变程度明显减轻, 高剂量组轻于低剂量组。此外, 采用MAN和MLI评估肺气肿的严重程度。图2-B、-C结果显示: 与正常组比较, 模型组大鼠MLI显著增加, MAN显著降低(均 $P < 0.01$); 与模型组比较, OPC低、高剂量组与DXM组MLI显著降低, MAN显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且各治疗组间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

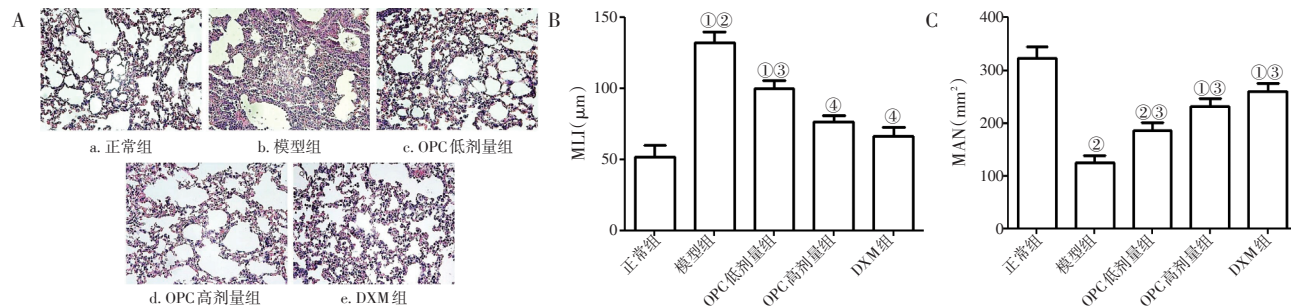
2.3 OPC减轻COPD大鼠的氧化应激 图3结果显示: 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织8-OHdG平均光密度显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较, OPC低、高剂量组与DXM组大鼠肺组织8-OHdG平均光密度显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且各



① $P < 0.05$, 与正常组比较; ② $P < 0.05$, 与模型组比较

图1 各组大鼠肺功能指标 $FEV_{0.3}/FVC$ (A)、 MMF (B)、 PEF (C)、 $Cydn$ (D)值比较

Figure 1 Comparison of $FEV_{0.3}/FVC$ (A), MMF (B), PEF (C) and $Cydn$ (D) values in various groups

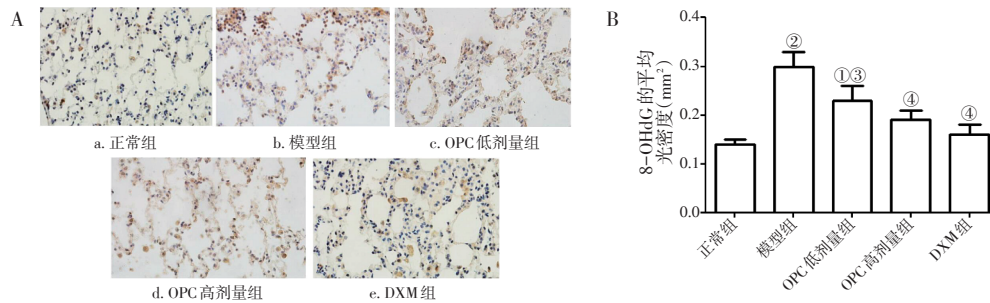


A. 肺组织病理改变(HE染色, $\times 200$); B. 平均线性截距(MLI); C. 平均肺泡数(MAN)

① $P < 0.05$, ② $P < 0.01$, 与正常组比较; ③ $P < 0.05$, ④ $P < 0.01$, 与模型组比较

图2 各组大鼠肺气肿指标比较

Figure 2 Comparison of rat emphysema lung indexes in various groups



A. 肺组织8-OHdG阳性细胞分布(免疫组织化学法, $\times 200$); B. 8-OHdG平均光密度

① $P < 0.05$, ② $P < 0.01$, 与正常组比较; ③ $P < 0.05$, ④ $P < 0.01$, 与模型组比较

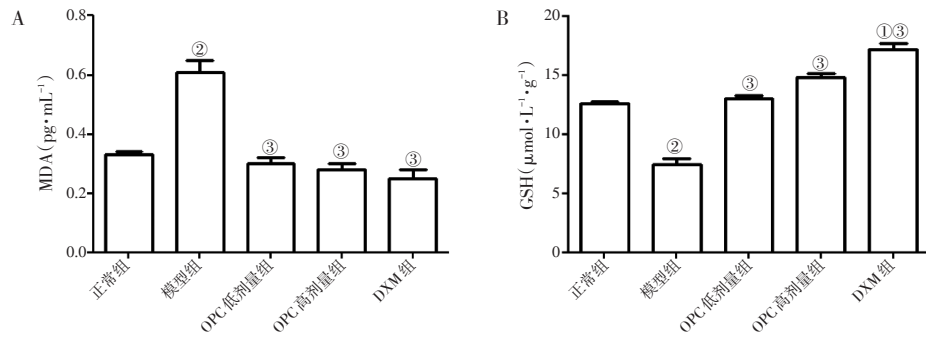
图3 各组大鼠肺组织中8-OHdG表达比较

Figure 3 Comparison of the expression level of 8-OHdG in lung tissue of various groups

治疗组之间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。图4结果显示: 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织MDA水平升高, GSH水平降低(均 $P < 0.01$); 与模型组比较, OPC低、高剂量组与DXM组大鼠肺组织MDA水平降低, GSH水平升高(均 $P < 0.01$), 且治疗组间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.4 OPC激活Nrf2及其下游蛋白HO1和NQO1表达并拮抗氧化应激 图5结果显示: 与正常组

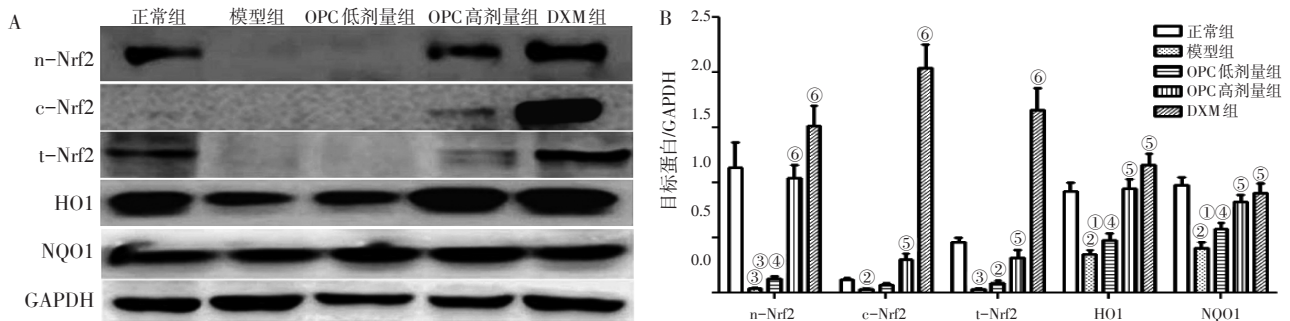
比较, 模型组大鼠肺组织Nrf2的细胞质、核和全细胞裂解物蛋白表达(分别为n-Nrf2、c-Nrf2和t-Nrf2)、HO1和NQO1的表达水平显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。与模型组比较, OPC低、高剂量组与DXM组n-Nrf2、c-Nrf2、t-Nrf2、HO1、NQO1的表达水平显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。



① $P < 0.05$, ② $P < 0.01$, 与正常组比较; ③ $P < 0.01$, 与模型组比较

图4 各组肺组织匀浆中MDA(A)、GSH(B)水平比较

Figure 4 Comparison of the levels of MDA and GSH in lung homogenate of various groups



A. n-Nrf2、c-Nrf2、t-Nrf2、HO1、NQO1 的 Western Blot 电泳条带; B. n-Nrf2、c-Nrf2、t-Nrf2、HO1、NQO1 相对表达量

① $P < 0.05$, ② $P < 0.01$, ③ $P < 0.001$, 与正常组比较; ④ $P < 0.05$, ⑤ $P < 0.01$, ⑥ $P < 0.001$, 与模型组比较

图5 各组大鼠肺组织 Nrf2 活化及其下游蛋白 HO1、NQO1 表达的比较

Figure 5 Comparison of Nrf2 activation and its downstream protein HO1, NQO1 expression in lung tissue of various groups

3 讨论

慢性阻塞性肺疾病(COPD)的发病机制非常复杂, 目前仍不完全清楚, 但它与氧化应激、蛋白酶-抗蛋白酶失衡和炎症反应有关。LPS 和香烟烟雾已成为研究 COPD 的首选刺激物^[13]。吸烟是造成 COPD 的最重要因素, 主要表现为小气道疾病和肺气肿。香烟烟雾中含有大量的氧化剂和有毒物质, 可引起慢性炎症, 其被认为是导致 COPD 发生和发展的关键机制。LPS 是空气污染物中革兰氏阴性菌细胞壁的一个组成部分。细菌侵入生物体后, 其细胞壁的 LPS 触发单核细胞、巨噬细胞释放炎症因子, 在气道和肺组织中诱发炎症反应。本研究采用吸入烟雾和气管内滴注 LPS 的方法建立大鼠 COPD 模型, 结果显示模型组大鼠的 FEV_{0.3}/FVC、MMF、PEF、Cyd_n 水平较正常组均显著降低, 并可见肺组织受到严重损害, 存在支气管黏膜上皮细胞坏死和变性, 肺泡间隙浆液性渗出, 支气管壁炎性细胞浸润和肺气肿, MLI 较正常组增

加, MAN 较正常组降低, 与临床观察到的 COPD 症状相似, 表明采用吸入烟雾和气管内滴注 LPS 的方法可成功建立 COPD 大鼠模型。

Nrf2 是调控细胞氧化应激反应的重要转录因子。Nrf2 及其下游目标抗氧化剂基因的功能已被证明对于细胞抗氧化剂损伤具有非常重要的作用^[14]。Nrf2 信号通路被认为在香烟烟雾引起的肺气肿中起关键作用。暴露于香烟烟雾中的 Nrf2 缺陷小鼠表现出较早发作和更严重的肺气肿^[15]。体内和体外接触香烟烟雾后, Nrf2 表达均增强, 这意味着 Nrf2 有助于维持健康适应性^[16]。然而, COPD 患者肺实质细胞和肺泡巨噬细胞中的 Nrf2 均下调, 这可能是 COPD 患者体内稳态失衡的原因^[17]。本研究结果显示, 香烟烟雾和 LPS 联合诱导下调 COPD 大鼠肺组织 Nrf2 蛋白的表达、减少 Nrf2 分子的核进入, 同时下调 Nrf2 转录调控的抗氧化酶 HO1 和解毒酶 NQO1 的表达, 并增加氧化应激诱导的 DNA 损伤标志物 8-OHdG 和脂质过氧化标志物 MDA 水

平, 以及降低大鼠肺组织的抗氧化应激标志物 GSH 活性。这些数据与既往研究^[13]一致, 表明 Nrf2 下调在介导香烟烟雾和 LPS 诱导的肺细胞氧化应激甚至肺气肿的发生中具有驱动作用。

在本研究中, 我们首先观察了寡聚原花色素 (OPC) 对香烟烟雾和 LPS 引起肺气肿的潜在作用, 结果表明, OPC 干预可有效改善 COPD 大鼠的肺功能, 明显缓解肺气肿症状, 且高剂量 OPC 疗效与地塞米松相当。本研究结果还表明, 以低、高剂量 OPC 干预后均可上调 COPD 大鼠肺组织 Nrf2 蛋白的表达, 增加 Nrf2 的核进入, 并增强抗氧化酶 HO1 和解毒酶 NQO1 的转录调控。同时, 不同剂量的 OPC 能够下调氧化应激诱导的 DNA 损伤标志物 8-OHdG 与脂质过氧化标志物 MDA 水平, 这与肺气肿的缓解程度有关。因此, 推测 OPC 可能通过激活肺组织 Nrf2, 上调 HO1、NQO1 的表达, 减轻香烟烟雾和 LPS 诱导的 COPD 氧化应激。值得注意的是, 本研究发现, 模型组大鼠肺组织中不仅 Nrf2 的核移位下调, 而且胞质 Nrf2 的表达也下调, 这种现象可以解释为香烟烟雾和 LPS 所致 COPD 大鼠肺细胞 Nrf2 的不稳定性, OPC 的作用可能是通过稳定肺细胞 Nrf2 分子来维持机体在克服吸烟和 LPS 慢性暴露中的健康适应。

综上所述, OPC 治疗可有效缓解大鼠 COPD, 其机制可能是通过激活 Nrf2 缓解氧化应激反应, 从而减轻香烟烟雾和 LPS 诱发的 COPD 大鼠的肺气肿症状。

参考文献:

- [1] 陈启宪, 刘朝晖, 梁志科. Nrf2-ARE 途径调控慢性阻塞性肺疾病肺泡巨噬细胞功能的研究进展[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2018, 17(2): 210-213.
- [2] SUGIYAMA Y, ASAI K, YAMADA K, et al. Decreased levels of irisin, a skeletal muscle cell-derived myokine, are related to emphysema associated with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2017, 12: 765-772.
- [3] 周小果. Nrf2 基因多态性与 COPD 的相关性及噻托溴铵粉雾剂联合布地奈德/福莫特罗的干预效果[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(15): 2448-2452.
- [4] 吴洁, 姚兆敏, 方伟, 等. 烟雾所致轻度稳定期 COPD 小鼠肺组织中 MRP1 表达增加与 Nrf2 信号通路有关[J]. 中国药理学通报, 2019, 35(2): 129-134.
- [5] BEWLEY M A, BUDD R C, RYAN E, et al. Opsonic phagocytosis in chronic obstructive pulmonary disease is enhanced by Nrf2 agonists [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, 198(6): 739-750.
- [6] TASAKI M, KUROIWA Y, INOUE T. Lack of Nrf2 results in progression of proliferative lesions to neoplasms induced by long-term exposure to non-genotoxic hepatocarcinogens involving oxidative stress [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2014, 66(1): 19-26.
- [7] LI Y, YU Q, ZHAO W, et al. Oligomeric proanthocyanidins attenuate airway inflammation in asthma by inhibiting dendritic cells maturation [J]. *Mol Immunol*, 2017, 91: 209-217.
- [8] MOLAN A L, DE S, MEAGHER L. Antioxidant activity and polyphenol content of green tea flavan-3-ols and oligomeric proanthocyanidins [J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2009, 60(6): 497-506.
- [9] LU M C, Yang M D, LI P C, et al. Effect of oligomeric proanthocyanidin on the antioxidant status and lung function of patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *In Vivo*, 2018, 32(4): 753-758.
- [10] 毛静, 王丽丽, 李亚, 等. 补肺健脾方对 COPD 大鼠骨骼肌 TNF- α 、Caspase-8 及 Caspase-3 的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(6): 2373-2377.
- [11] JIN M, XUE C J, WANG Y, et al. Protective effect of hydroxysafflor yellow A on inflammatory injury in chronic obstructive pulmonary disease rats [J]. *Chin J Integr Med*, 2018, 25(10): 750-756.
- [12] JIN H, LIU M, ZHANG X, et al. Grape seed procyanidin extract attenuates hypoxic pulmonary hypertension by inhibiting oxidative stress and pulmonary arterial smooth muscle cells proliferation [J]. *J Nutr Biochem*, 2016, 36: 81-88.
- [13] HERR C, HAN G, LI D, et al. Combined exposure to bacteria and cigarette smoke resembles characteristic phenotypes of human COPD in a murine disease model [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2015, 67(3): 261-269.
- [14] 杨静, 吴凤芝, 李瑜霞, 等. 银杏叶提取物缓释剂穴位埋药线对局灶性脑缺血再灌注大鼠脑组织损伤及 Nrf2/HO-1 信号通路的影响 [J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(1): 31-37.
- [15] HIZUKA T, ISHII Y, ITOH K, et al. Nrf2-deficient mice are highly susceptible to cigarette smoke-induced emphysema [J]. *Genes Cells*, 2010, 10(12): 1113-1125.
- [16] YAN B, MA Z, SHI S, et al. Sulforaphane prevents bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice by inhibiting oxidative stress via nuclear factor erythroid 2-related factor-2 activation [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(6): 4005-4014.
- [17] SUZUKI M, BETSUYAKU T, ITO Y, et al. Down-regulated NF-E2-related factor 2 in pulmonary macrophages of aged smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2008, 39(6): 673-682.

【责任编辑: 侯丽颖】