·实验研究·

标准桃金娘油对慢性阻塞性肺疾病大鼠 Nrf2/HO-1 通路的影响

林　琦[1,2,3],李紫如[2],郭锦玲[2],严晓萍[2],郑伟男[3],林群英[4]

(1 莆田学院附属医院药学部,莆田 351100;2 莆田学院药学与医学技术学院,莆田 351100;3 肿瘤转化医学福建省高校重点实验室,莆田 351100;4 莆田学院附属医院呼吸与危重症医学科,莆田 351100)

[**摘要**] **目的**:观察标准桃金娘油(myrtol standardized,MS)对慢性阻塞性肺疾病(COPD)大鼠核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)/血红素加氧酶 1(HO-1)通路的影响,探讨标准桃金娘油治疗 COPD 可能的作用机制。**方法**:将 Wistar 大鼠随机分为 4 组,1 组为空白对照组(CON),另外 3 组首先使用香烟(CS)慢性暴露 90 d 建立 COPD 模型,1 组给予持续 CS 暴露(CSM)、1 组停止 CS 暴露(QSM)、1 组停止 CS 暴露并给予 MS 处理(MSM),持续 30 d。造模结束后,分别检测大鼠呼吸功能、血清炎症因子[白介素 6(IL6)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)]、肺组织抗氧化应激指标[总超氧化物歧化酶(T-SOD)和丙二醛(MDA)]、肺组织 HE 染色观察、蛋白质印迹(WB)检测肺组织 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达。**结果**:CSM 组呼吸功能明显减退($P<0.05$),QSM 和 MSM 组呼吸功能有所改善($P<0.05$);MSM 组的 IL6 和 TNF-α 显著低于 CSM 组($P<0.05$),T-SOD 显著升高($P<0.05$),MDA 显著下降($P<0.05$);HE 染色可见 CSM 组出现肺气肿样改变,MSM 组可见肺组织结构异常的改善;同时 MSM 组 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达相对于 CSM 和 QSM 组升高($P<0.05$),接近于 CON 组($P>0.05$)。**结论**:MS 可显著改善 COPD 大鼠的呼吸功能、减少炎症浸润、减弱氧化应激,其内在机制与 Nrf2/HO-1 通路激活密切相关。

[**关键词**] 慢性阻塞性肺疾病;标准桃金娘油;核因子 E2 相关因子 2;血红素加氧酶 1;氧化应激

[**中图分类号**] R974.1　　[**文献标志码**] A　　[**文章编号**] 1003－3734(2021)22－2105－06

Study on the effect of standardized myrtle on Nrf2/HO-1 pathway in chronic obstructive pulmonary disease rats

LIN Qi[1,2,3], LI Zi-ru[2], GOU Jin-ling[2], YAN Xiao-ping[2], ZHENG Wei-nan[3], LIN Qun-ying[4]

(1 *Department of Pharmacy, The Affiliated Hospital of Putian University, Putian* 351100, *China*, 2 *School of Pharmacy an Medical Technology, Putian University, Putian* 351100, *China*; 3 *Key Laboratory of Translational Tumor Medicine in Fujian Province, Putian University, Putian* 351100, *China*; 4 *Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, The Affiliated Hospital of Putian University, Putian* 351100, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To observe the influence of myrtol standardized (MS) on the Nrf2/HO-1 pathway in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) rats, and explore the possible mechanism of MS in treating COPD. **Methods**: Wistar rats were randomly divided into four groups: one was control group (CON), while the other three groups were exposed to cigarettes (CS) for 90 d to establish a COPD model firstly, then one group was given CS exposure (CSM) continuously, one group was quitted CS exposure (QSM), the other one group was quitted CS exposure and then given MS treatment (MSM), all the operations lasted for 30 d. After the modeling, the respiratory

[**基金项目**] 福建省自然科学基金面上项目(2020J011251);福建省卫生健康科技计划资助项目(2020GGA078);福建省教育厅中青年教师教育科研立项资助项目(JAT190563);莆田市科技计划资助项目(2019S3F002);莆田学院校级教育教学改革研究立项项目(JG202047);福建省大学生创新训练资助项目(S202111498007)

[**作者简介**] 林琦,男,副主任医师,副教授,医学博士,主要从事药物毒理学、药物动力学等临床药学研究。E-mail:linqitc@hotmail.com。

[**通讯作者**] 林群英,女,二级教授,主任医师,主要从事呼吸病学的诊治与研究。联系电话:(0594)2292660,E-mail:linqyin@126.com。

function, serum inflammatory factors (IL6, TNF-α), and lung tissue anti-oxidative stress indicators (T-SOD, MDA) were detected, HE staining of lung tissue was observed, and the expressions of Nrf2 and HO-1 in lung tissue by WB were analyzed. **Results**: The respiratory function of the CSM group decreased significantly ($P<0.05$), and the respiratory function of the QSM and MSM groups improved ($P<0.05$); the IL6 and TNF-α levels of the MSM group were significantly lower than those of the CSM group ($P<0.05$), and the T-SOD level increased ($P<0.05$), MDA decreased ($P<0.05$); HE staining showed emphysema-like forms in the lung tissues of the CSM group, MSM group could improve the abnormal structure of lung tissue. Meanwhile, the expressions of Nrf2 and HO-1 protein in the MSM group were relatively increased than the CSM and QSM groups ($P<0.05$), which was close to the CON group ($P>0.05$). **Conclusion**: MS could significantly improve the respiratory function of COPD rats, reduce inflammation and infiltration, and weaken oxidative stress. Its internal mechanism is closely related to the activation of the Nrf2/HO-1 pathway.

[**Key words**] chronic obstructive pulmonary disease; myrtol standardized; nuclear factor erythroid 2 related factor 2; heme oxygenase 1; oxidative stress

我国约有13.6%的40岁以上人群患有慢性阻塞性肺疾病(COPD)[1-3],临床上COPD患者常表现为反复咳嗽、咳痰伴气喘发作。病理特征上表现为不完全可逆、持续性的气流受限,其主要发病机制包括炎症浸润、氧化应激失调、蛋白酶/抗蛋白酶失衡等[3-4]。

标准桃金娘油(myrtol standardized, MS)临床上可用于急性支气管炎、慢性支气管炎、气管炎、鼻炎、鼻窦炎等多种上呼吸道、下呼吸道疾病的治疗[5-7]。有研究[5,7-9]表明MS的治疗作用与其祛痰、抗炎、抗氧化以及抗菌作用有关,但具体作用机制尚不明确。核因子E2相关因子2(Nrf2)/血红素加氧酶1(HO-1)通路是机体调控氧化应激损伤的重要途径之一[10],在COPD的发病机制中发挥重要作用[11]。刘立立等[5]研究表明,MS提高COPD的治愈率,改善COPD患者的肺功能,但尚未有研究对MS通过其抗氧化作用治疗COPD开展研究,同时MS抗氧化作用是否与Nrf2/HO-1通路有关都有待进一步研究。因此有必要利用动物实验研究MS是否通过Nrf2/HO-1通路发挥治疗COPD的作用,本研究也可以为COPD的诊疗提供参考依据。

材料与方法

1 材料

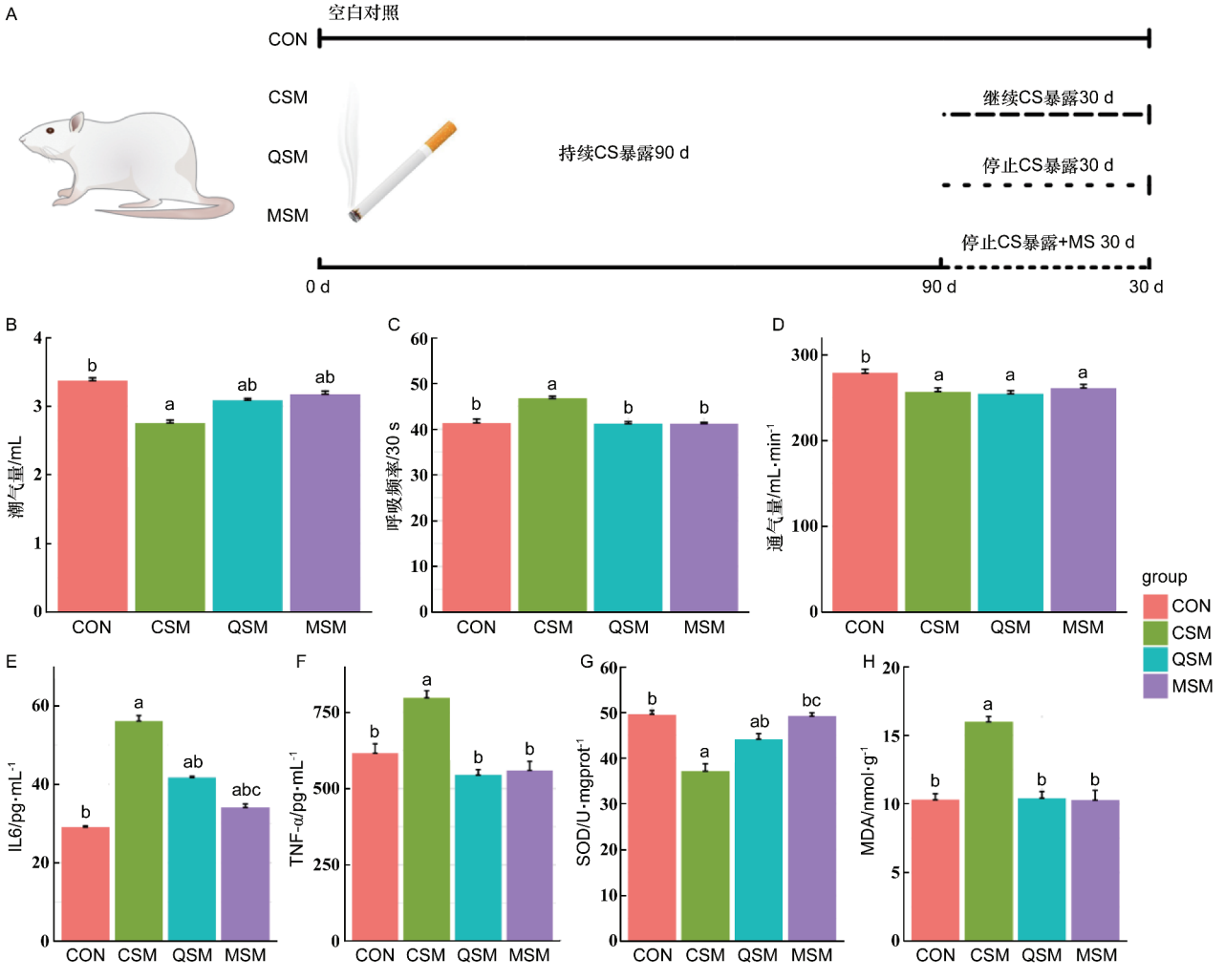
1.1 实验动物 清洁级40只健康Wistar大鼠,雄性,6~8周,体重(180±20) g。饲养环境温度20~25 ℃,湿度(50±10)%,光照周期12/12,大鼠自由活动、摄食饮水。来源:上海斯莱克实验动物有限责任公司,许可证号:SCXK(沪)2017-0005。

1.2 主要仪器 自制烟熏箱(体积96 L, 60 cm×40 cm×40 cm),RM6240B型多道生理信号采集处理系统(成都仪器厂),Thermo Multiskan FC酶标仪器(美国Thermo Fisher公司),UV-1800紫外分光光度计(上海美谱达公司),DM1L倒置显微镜(德国Leica公司),电泳、转膜装置(美国Bio-Rad公司),凝胶成像系统(美国UVP公司)。

1.3 主要试剂 石狮牌香烟(福建中烟工业有限责任公司出品,焦油量10 mg·支$^{-1}$,烟气烟碱量0.8 mg·支$^{-1}$),标准桃金娘油胶囊(德国保时佳大药厂,269751),大鼠IL6和TNF-α检测试剂盒(武汉恒远公司,HB952-Ra和HB004-Ra),T-SOD检测试剂盒(Elabsciense公司,E-BC-K019-M),MDA检测试剂盒(中国索莱宝公司,BC0025),苏木精(美国Uni-CHEM公司,GD18080706),伊红(天津天新精细化工公司,20210105),Nrf2抗体(美国Immunoway公司,YT3189),HO-1抗体(美国Cloud Clone公司,RPA584Ra01),β-actin抗体(中国碧云天公司,AF5003)。

2 方法

2.1 动物模型的建立与分组 本实验通过莆田学院附属医院伦理审查,批件号:201924。将Wistar大鼠以随机数字表法随机分为4组,1组为空白对照组(CON);另外3组首先在自制烟熏箱中使用香烟(CS,6支·次$^{-1}$,4次·d^{-1})慢性暴露90 d构建COPD模型[12-13]。造模结束后,其中1组(CSM)继续CS染毒30 d;1组(QSM)停止CS染毒30 d;1组(MSM)停止CS染毒同时使用MS(300 mg·kg^{-1}·d^{-1}),持续30 d,见图1A。



A:动物模型建立流程;B:4 组动物模型潮气量的检测结果;C:4 组动物模型呼吸频率的检测结果;D:4 组动物模型每分钟通气量的检测结果;E:4 组动物模型白介素 6(IL6)的检测结果;F:4 组动物模型肿瘤坏死因子-α(TNF-α)的检测结果;G:4 组动物模型羟胺法的检测结果;H:4 组动物模型 MDA 的检测结果;$n=6$,单因素方差分析,a: vs CON, $P<0.05$; b: vs CSM, $P<0.05$;c: MSM vs QSM, $P<0.05$

图 1 COPD 动物模型建立与呼吸功能、炎症因子、氧化应激指标检测

2.2 呼吸功能检测 采用多道生理信号采集处理系统分析动物模型的呼吸功能,3% 戊巴比妥(0.1 mL·100 g^{-1})腹腔注射麻醉大鼠,剪开大鼠颈部,小心分离主支气管,然后在气管下约 1/3 处用眼科剪剪出 T 型口,使用气管插管连接 HX200 型呼吸流量换能器,然后连接多道生理信号采集处理系统的通道 1 经由生理信号处理系统测得潮气量(V_T)、呼吸频率(f)及每分钟通气量(MV)。

2.3 炎症因子与抗氧化应激指标检测 采用 ELISA 法检测大鼠血清 IL6 和 TNF-α 浓度,严格按照各检测试剂盒说明书进行,在酶标仪检测,检测波长为 450 nm。以梯度浓度标准孔的光密度(OD)做标准曲线,然后根据待测样品 OD 在标准曲线上计算相应浓度。采用紫外分光光度法检测大鼠肺组织中 T-SOD(羟胺法)和 MDA 浓度,严格按照说明书操作步骤进行,SOD 检测波长为 570 nm;MDA 检测波长为 450,532,600 nm。分别使用说明书提供的计算公式计算 T-SOD 和 MDA 的浓度。

2.4 病理学观察 取出大鼠双肺,计算肺系数 = 肺组织质量/动物质量 × 100%。于 10% 中性福尔马林中固定 48 h,制作肺组织病理切片并进行 HE 染色,镜检。对 HE 染色病理片分析肺组织的平均肺泡数(MAN)与平均内衬间隔(MLI):每组动物随机选择 1 个 HE 染色组织切片,每片随机取 3 个视野并拍照,每张照片正中心划十字交叉线,计算与交叉线相交的肺泡隔数(Ns)和每张照片中的肺泡数

(Na),测量十字线总长(L)和每张照片的面积(S),分别计算 MAN(MAN = Na/S)与 MLI(MLI = L/Ns)。

2.5 蛋白印迹(WB)检测 提取肺组织蛋白,BCA 法测定蛋白含量,上样于 SDS-PAGE 凝胶后电泳,转膜于 PVDF 膜上,脱脂奶粉常温封闭,分别以相应的 Nrf2(1∶1 000),HO-1(1∶1 000)一抗孵育过夜,清洗后加入二抗孵育,再次洗膜,ECL 化学发光显影。在 UVP 全自动凝胶成像系统成像采集图像,Image J 软件计算灰度值。

3 统计学分析

采用 Excel 采集数据,并用 R 统计软件(4.1)进行统计学分析。对于符合正态分布并方差齐的计量资料以均数 ± 标准差描述;不符合正态分布或方差不齐的计量资料以中位数(四分位距)描述;计数资料则以率/构成比描述。计量数据差异性分析分别采用单因素方差分析或 Kruskal-Wallis 检验,两两比较使用 Tukey 检验或 Nemeyi 检验;计数资料差异性分析采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法检测,以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 动物模型一般情况观察

CON 组大鼠在实验周期中活动、饮食良好,毛发相对光滑。CSM,QSM 及 MSM 等 3 组大鼠 CS 暴露 90 d 后,活动、食量减少,反应迟缓,精神萎靡,毛发蜡黄,存在弓背、喘息等症状。QSM 组停止 CS 暴露 30 d 后,可观察到大鼠呼吸困难症状有所好转,饮食有所恢复;MSM 组大鼠较少出现呼吸困难症状,活动较其他大鼠相对活跃。

2 MS 改善动物模型呼吸功能

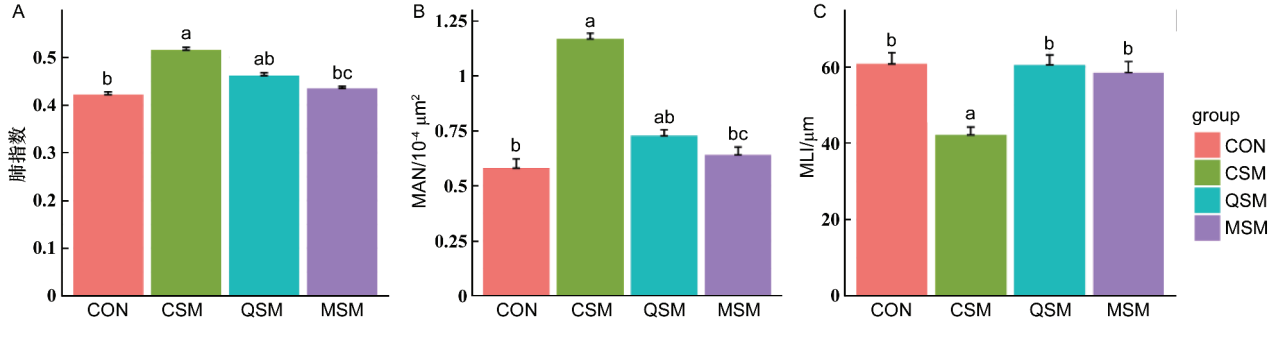
单因素方差分析表明,与 CON 组相比,CSM 组大鼠的 V_T 和 MV 明显下降,f 加快(P < 0.05);QSM 与 MSM 组的 V_T 和 MV 有相对提高,f 相对降低(P < 0.05),具体见图 1B ~ D。提示 QSM 与 MSM 相对于 CSM 呼吸功能有明显改善。

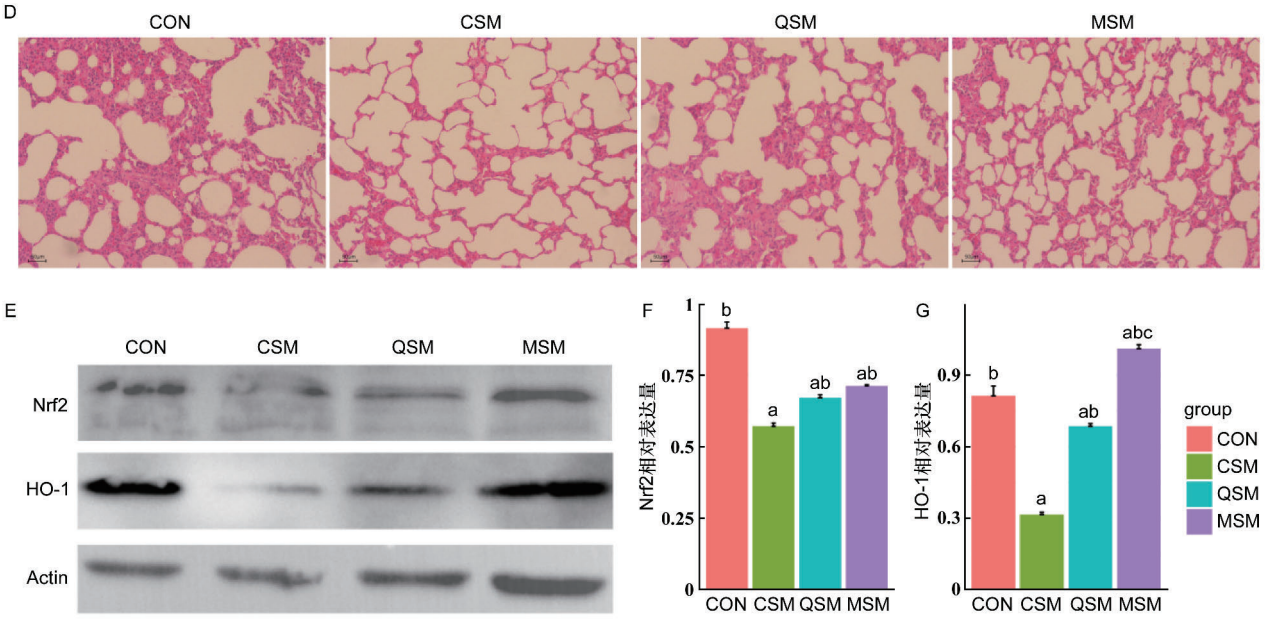
3 MS 减少动物模型炎症浸润与氧化应激

CSM 组大鼠血清中的 IL6 和 TNF-α 明显升高(P < 0.05),QSM 和 MSM 组的炎症因子相较于 CSM 明显下降(P < 0.05),MSM 组的 IL6 水平相较于 QSM 有所降低(P < 0.05);QSM 和 MSM 组的 TNF-α 与 CON 组差异无统计学意义(P > 0.05),见图 1E ~ F。抗氧化应激指标方面,CSM 的 T-SOD 降低(P < 0.05),MDA 升高(P < 0.05),MSM 组与 CON 组的 T-SOD 水平比较差异无统计学意义(P > 0.05),MSM 组与 QSM 的 T-SOD 水平差异具有统计学意义(P = 0.03);CON,QSM 及 MSM 组的 MDA 水平比较差异无统计学意义(P > 0.05),具体见图 1G ~ H。提示 MSM 可以有效改善炎症浸润与氧化应激现象。

4 MS 改善动物模型肺组织形态

对比各组肺组织形态,可见 CON 组大鼠肺组织表面较光滑平整,呈淡红色,弹性较好。而 CSM 组大鼠肺组织表面出现白色大泡,肺体积相对增大,部分肺表面散在局灶性坏死,符合肺气肿表现。QSM 组和 MSM 组肺组织少见白色大泡,MSM 组肺组织颜色呈粉红色。计算各组肺系数,可见 CSM 肺系数升高(P < 0.05),MSM 组与 CON 组肺系数差异无统计学意义(P > 0.05),见图 2A。HE 染色图像:CON 组肺泡形态、大小相对完整,未见明显的炎症细胞浸润;CSM 组可见肺泡增大,肺泡壁变薄、破裂,炎症细胞浸润等现象;QSM 组与 MSM 组炎症细胞浸润减少,MSM 组肺泡更为完整,见图 2D。计算 MAN 与 MLI,CSM 的 MAN 最大(P < 0.05),MLI 最小(P < 0.05),MSM 组与 CON 组和 QSM 组的 MAN 及 MLI 差异无统计学意义(P > 0.05),QSM 与 CON 组的 MAN 差异具有统计学意义(P = 0.03),具体见图 2B ~ C。提示 CS 可以导致肺组织形态改变,出现肺泡增大、炎症细胞浸润;MS 则可以改善炎症细胞浸润。





A:4 组动物模型的肺系数检测结果;B:4 组动物模型的 MAN 计算分析;C:4 组动物模型的 MLI 计算分析;D:4 组动物模型的肺组织 HE 染色分析(×100);E:4 组动物模型的 WB 图像;F:4 组动物模型的 Nrf2 相对表达情况;G:4 组动物模型的 HO-1 相对表达情况;A ~ C:$n=6$;F ~ G:$n=3$,单因素方差分析:a:vs CON,$P<0.05$;b:vs CSM,$P<0.05$;c:MSM vs QSM,$P<0.05$

图 2 动物模型肺组织形态改变与 Nrf2/HO-1 表达情况

5 MS 影响 Nrf2/HO-1 通路表达

如图 2E 所示,CSM 组肺组织 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达相对于 CON 组降低,QSM 与 MSM 组 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达相对于 CSM 组升高,其中 MSM 组 HO-1 表达高于 CON 组与 QSM 组($P<0.05$),见图 2F ~ G。提示 MS 可以升高 Nrf2/HO-1 表达,降低 CS 暴露引起的氧化应激失调,改善肺组织细胞状态。

讨　论

COPD 是一种不可逆的以气流受限为主要特点的慢性肺疾病,与肺组织细胞炎症浸润和氧化应激有关[3,14-15]。有研究表明香烟、$PM_{2.5}$等多种有害物质中氧自由基、细颗粒物等物质可以诱使肺组织细胞释放大量氧化应激因子,加剧细胞内的氧化应激反应,另一方面,活性氧等多种氧化物的释放也可以诱发炎症反应[16],从而使得患者肺功能进一步下降[14-16],病情加重。近年来,以控制/减少肺组织细胞氧化应激成为预防/治疗 COPD 的重要研究方向[17]。

MS 是一种脂溶性挥发油,是桃金娘科树叶的提取物。具有促进呼吸道的黏液纤毛清除系统的清除功能,可通过增强黏液纤毛运动、增加黏液移动速度进而溶解黏液,促进痰液排出。刘立立等[5]Meta 分析表明:MS 可显著提高 COPD 治疗有效率,提高氧分压并降低二氧化碳分压,同时改善肺功能,减少临床症状与急性发作次数。目前多认为 MS 治疗 COPD 的基础是其强大的祛痰作用[5-6]。同时有研究[7-8]发现 MS 具有抗炎和抗氧化作用:一方面可以有效降低肺巨噬细胞中 TNF-α 的释放[7],通过降低肺组织细胞核内 NF-κB 水平减少炎症反应[8]。另一方面,MS 可以抑制 ROS 从而减少感染、环境因子而引起的氧化应激损伤[9]。但 MS 如何抑制氧化应激从而减少肺组织损伤的机制尚不明确。

Nrf2/HO-1 通路与 COPD 发病机制密切相关[11,18]。Nrf2 在人体的多种组织细胞中均有表达,是调控细胞氧化损伤的重要因子[10]。Nrf2 可以通过诱导如过氧化氢酶、T-SOD 及 HO-1 等多种抗氧化酶高表达,从而保护组织细胞免受氧化应激损伤[10,19-23]。近年来研究发现 Nrf2 表达下调可能是 COPD 发病的重要原因之一[10],那么 MS 是否通过激活 Nrf2 表达从而减少氧化应激损伤,进而改善 COPD 症状是值得研究的方向。

本实验参考文献[12-13]的方法,采用慢性 CS 暴露 90 d 构建 COPD 大鼠模型,再进行分组,分别对比

CSM,QSM 及 MSM 组的呼吸功能、炎症因子及抗氧化应激指标,发现 MSM 组呼吸功能有明显改善,IL6 和 TNF-α 指标相较于 CSM 明显下降($P<0.05$),T-SOD 相较于 CSM 显著升高($P<0.05$),MDA 显著下降($P<0.05$),另一方面,对比 QSM 组,MSM 组的 IL6 明显降低($P<0.05$),MSM 组的 T-SOD 接近于 CON 组($P=0.09$)。进一步 WB 实验发现 MSM 组 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达相对于 CSM 及 QSM 组升高($P<0.05$),接近于 CON 组($P>0.05$)。

综上,本实验发现 MS 能激活 Nrf2/HO-1 通路,减弱的肺组织细胞氧化应激反应,减轻其炎症反应,改善了肺泡结构与形态异常,进而改善肺功能,对肺组织细胞具有保护作用。

[参 考 文 献]

[1] FANG L, GAO P, BAO H, *et al*. Chronic obstructive pulmonary disease in China: a nationwide prevalence study[J]. *Lancet Respir Med*, 2018, 6(6): 421 – 430.

[2] WANG C, XU J, YANG L, *et al*. Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China (the China Pulmonary Health [CPH] study): a national cross-sectional study [J]. *Lancet*, 2018, 391(10131): 1706 – 1717.

[3] CANTOR JO, TURINO GM. COPD pathogenesis: finding the common in the complex[J]. *Chest*, 2019, 155(2): 266 – 271.

[4] YUAN C, CHANG, LU G, *et al*. Genetic polymorphism and chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2017, 12: 1385 – 1393.

[5] 刘立立, 陈路佳, 占美, 等. 标准桃金娘油治疗慢性支气管炎和 COPD 的系统评价[J]. 中国药房, 2012, 23(16): 1496 – 1500.

[6] 杜宁, 刘小强, 段争. 标准桃金娘油减轻 PM2.5 致大鼠气道黏液纤毛的损伤[J]. 基础医学与临床, 2020, 40(3): 356 – 362.

[7] RANTZSCH U, VACCA G, DÜCK R, *et al*. Anti-inflammatory effects of myrtol standardized and other essential oils on alveolar macrophages from patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Eur J Med Res*, 2009, 14(Suppl 4): S205 – S209.

[8] 周建娅, 唐法娣, 王砚, 等. 二氧化硫吸入致大鼠肺组织核因子 κB 的激活及蓝桉油的抑制作用[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2003, 26(5): 311 – 312.

[9] GRAßMANNA J, HIPPELIA S, DORNISCHA K, *et al*. Antioxidant properties of essential oils: possible explanations for their anti-inflammatory effects[J]. *Arzneim Forsch*, 2000, 50(2): 135 – 139.

[10] MOI P, CHAN K, ASUNIS I, *et al*. Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the beta-globin locus control region[J]. *PNAS*, 1994, 91(21): 9926 – 9930.

[11] FRATTA PASINI AM, STRANIERI C, FERRARI M, *et al*. Oxidative stress and Nrf2 expression in peripheral blood mononuclear cells derived from COPD patients: an observational longitudinal study[J]. *Respir Res*, 2020, 21(1): 37 – 48.

[12] JONES B, DONOVAN C, LIU G, *et al*. Animal models of COPD: what do they tell us? [J]. *Respirology*, 2017, 22(1): 21 – 32.

[13] WRIGHT JL, CHURG A. Animal models of cigarette smoke-induced COPD[J]. *Chest*, 2002, 122(6): S301 – S306.

[14] KIRKHAM PA, BARNES PJ. Oxidative stress in COPD[J]. *Chest*, 2013, 144(1): 266 – 273.

[15] BOUKHENOUNA S, WILSON MA, BAHMED K, *et al*. Reactive oxygen species in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 5730395.

[16] ZUO L, WIJEGUNAWARDANA D. Redox role of ROS and inflammation in pulmonary diseases[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1304: 187 – 204.

[17] BERNARDO I, BOZINOVSKI S, VLAHOS R. Targeting oxidant-dependent mechanisms for the treatment of COPD and its comorbidities[J]. *Pharmacol Ther*, 2015, 155: 60 – 79.

[18] DANG X, HE B, NING Q, *et al*. Alantolactone suppresses inflammation, apoptosis and oxidative stress in cigarette smoke-induced human bronchial epithelial cells through activation of Nrf2/HO-1 and inhibition of the NF-κB pathways[J]. *Respir Res*, 2020, 21(1): 95.

[19] ESPINOSA-DIEZ C, MIGUEL V, MENNERICH D, *et al*. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress [J]. *Redox Biol*, 2015, 6: 183 – 197.

[20] 曾梦莹, 马晓丽. 基于 Keap1-Nrf2/ARE 信号通路研究牛磺酸对胰岛素抵抗模型大鼠氧化应激的影响[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(22): 2703 – 2707.

[21] 崔磊. 平喘养肺汤联合布地奈德治疗 COPD 稳定期患者的疗效与安全性研究[J]. 世界中医药, 2020, 15(14): 2097 – 2100.

[22] 谭亲友, 刘兵, 张靖, 等. 基于 Nrf2 信号通路探讨异甘草酸镁对雷公藤甲素损伤 L-02 细胞中相关蛋白表达的影响[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(2): 138 – 142.

[23] 张永华, 谷伟, 毛山, 等. 慢性阻塞性肺疾病稳定期治疗药物的优化选择[J]. 世界临床药物, 2021, 42(8): 675 – 679.

编辑:杨青/接受日期:2021 – 08 – 22