



张珊珊, 吴旻, 张晓音, 等. 虾青素对小鼠肝脏原代细胞氧化应激的影响[J]. 华南农业大学学报, 2017, 38(6): 14-19.

虾青素对小鼠肝脏原代细胞氧化应激的影响

张珊珊¹, 吴旻², 张晓音¹, 兰海楠¹, 郑鑫¹

(1 吉林农业大学 动物科学技术学院, 吉林 长春 130118; 2 吉林农业大学 中药材学院, 吉林 长春 130118)

摘要:【目的】研究虾青素对过氧化氢 (H₂O₂) 诱导小鼠肝脏原代细胞产生氧化应激的影响。【方法】原位二步灌流法提取 ICR 小鼠的肝脏原代细胞, 用丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 作为指标, 采用 H₂O₂ 处理建立氧化应激模型。采用流式细胞仪测定细胞中活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 含量及凋亡水平变化, 生物化学法测定细胞中 MDA 和谷胱甘肽 (Glutathione, GSH) 的含量、超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione peroxidase, GSH-Px) 的活性, 用荧光定量 PCR 检测抗氧化酶 SOD、GSH-px mRNA 的相对表达量, Western-blot 检测细胞核中 Nrf2 蛋白相对表达量。【结果】使用 5 μg·mL⁻¹ 虾青素预保护细胞 3 h, 10 μmol·L⁻¹ H₂O₂ 刺激 3 h 的情况下氧化应激模型效果最好。虾青素降低了 H₂O₂ 诱导后小鼠肝脏原代细胞的细胞凋亡率以及 ROS、MDA 和 GSH 含量, 提升了 SOD、GSH-px 的活性以及 SOD、GSH-px 的 mRNA 相对表达量, 抑制了 Nrf2 蛋白的核转移。【结论】虾青素对 H₂O₂ 诱导产生氧化应激的肝脏原代细胞具有保护作用。

关键词: 小鼠肝脏原代细胞; 虾青素; 抗氧化酶; Nrf2 蛋白; H₂O₂
中图分类号: S828 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-411X(2017)06-0014-06

Effects of astaxanthin on oxidative stress response in primary mouse hepatocytes

ZHANG Shanshan¹, WU Min², ZHANG Xiaoyin¹, LAN Hainan¹, ZHENG Xin¹

(1 College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;
2 Chinese Medicinal College, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the effect of astaxanthin on H₂O₂-induced oxidative stress response in primary mouse hepatocytes. 【Method】Primary mouse hepatocytes were isolated by an in situ two-step perfusion technique. The model of oxidative stress response in primary mouse hepatocytes was established using H₂O₂ treatment and malondialdehyde(MDA) as an indicating index. The content of reative oxygen species (ROS) and change in apoptosis rate were measured by flow cytometry. The contents of MDA and glutathione(GSH), and the activities of superoxide dismutase(SOD) and glutathione peroxidase(GSH-px) were measured by biochemical methods. The relative mRNA expression levels of antioxidant enzymes including SOD and GSH-px were measured by fluorescence quantitative PCR. The relative expression of Nrf2 protein was measured by Western-blot. 【Result】The model of oxidative stress response performed the best with the primary mouse hepatocytes pre-protected by 5 μg·mL⁻¹ astaxanthin for 3 h before being exposed to 10 μmol·L⁻¹H₂O₂ for 3 h. Astaxanthin decreased the apoptosis rate and the contents of ROS, MDA and GSH in primary mouse hepatocytes induced by H₂O₂. Astaxanthin increased the activities of SOD and GSH-px as well as the

relative mRNA expression levels of SOD and GSH-px, and inhibited the nuclear transfer of Nrf2 protein.

【Conclusion】Astaxanthin has protective effects on H₂O₂-induced primary mouse hepatocytes with oxidative stress.

Key words: primary mouse hepatocyte; astaxanthin; antioxidant enzyme; Nrf2 protein; H₂O₂

肝脏疾病为高发疾病, 各种类型的肝脏疾病均会造成不同程度的肝损伤, 肝脏疾病的研究也一直是科学界的研究热点。实质性细胞是肝脏中数量最多的功能性细胞, 也是多种损伤因素的靶向细胞。虽然不同类型的肝损伤引起的肝细胞破坏程度往往不同, 但基本都伴随着不同程度的肝细胞死亡^[1]。肝细胞死亡包括细胞凋亡和细胞坏死, 研究表明肝细胞的凋亡在肝损伤中占主导地位, 并且所有类型的肝损伤都会不同程度地伴随着肝细胞凋亡^[2]。线粒体在细胞死亡过程中扮演着重要角色, 几乎在所有死亡的肝细胞中, 都存在线粒体功能失调这一特征。一般情况下, 氧化应激是造成肝细胞线粒体功能失调的重要诱因之一, 说明肝损伤通常与氧化应激有关^[3-4]。天然和人工抗氧化剂均可以抵抗肝脏产生的氧化应激。在本研究中, 我们探索利用天然抗氧化剂虾青素来减轻氧化应激诱导的肝损伤。

虾青素是一种在微藻中普遍存在的酮类类胡萝卜素, 是一种较强的天然抗氧化剂, 广泛存在于自然界中, 大多数甲壳类动物、植物的叶、花果等均含有虾青素^[5-7]。Lee 等^[8]比较了共轭双键数不同的叶黄素、玉米黄质、番茄红素、异玉米黄素和虾青素 5 种类胡萝卜素及其衍生物在豆油光氧化作用中淬灭活性氧的作用, 发现此作用随共轭双键的增加而增加并以虾青素的作用最为明显, 说明作为抗氧化剂, 虾青素比其他类胡萝卜素有更明显的优势^[9]。本试验选择虾青素作为氧化应激模型中的保护剂, 通过检测细胞凋亡率、活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 含量、丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量、谷胱甘肽 (Glutathione, GSH) 含量、抗氧化酶如超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 活性、谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione peroxidase, GSH-px) 活性以及抗氧化通路中相应蛋白的表达等来研究其在 H₂O₂ 诱导小鼠肝脏原代细胞氧化应激过程中对细胞的保护作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 小鼠 8~10 周龄的雄性 ICR 小鼠, 购自长春市亿斯实验动物技术有限责任公司, 小鼠生活在 <http://xuebao.scau.edu.cn>

合适的温度[(18~22) °C]和湿度 (50%~60%) 下, 允许自由采水, 并在使用前适应至少 1 周。

1.1.2 主要试剂 H₂O₂、胶原酶 IV、虾青素、DMSO、台盼蓝 (美国 Sigma 公司), RPMI-1640 培养基、胎牛血清 (Fetal bovine serum, FBS)、Willam'E 培养基 (美国 Gibco 公司), 细胞核蛋白提取试剂盒 (上海碧云天), MDA、SOD、GSH、GSH-px 检测试剂盒 (南京建成生物研究所有限公司), 引物 (上海生工生物), RIPA 裂解液 (北京 Solarbio), Nrf2 抗体、 β -actin 抗体 (美国 CST), HRP 标记的羊抗鼠/兔抗体 (天津三箭)。

1.1.3 主要仪器 高速冷冻离心机 (德国 Sigma), Thermo 酶标仪 (上海赛默飞世尔), 荧光定量 PCR 仪、凝胶成像仪 (美国 BIO-RAD)。

1.2 方法

1.2.1 小鼠肝脏原代细胞提取与培养 用原位两步灌注法提取 ICR 小鼠肝脏原代细胞^[10]。提取的细胞用预冷 RPMI-1640 培养基冲洗, 800 r·min⁻¹ 离心 3 次 (3、20、1 min), 台盼蓝染色, 瞬时成活率为 90%~95%。用冷 RPMI 1640 培养基[含体积分数为 15% 的胎牛血清 (FBS)、青霉素 100 U·mL⁻¹, 链霉素 100 μ g·mL⁻¹]接种到细胞培养瓶中, 接种浓度 5.5×10⁵ mL⁻¹, 置于 CO₂ 体积分数为 5%、37 °C 培养箱中培养, 过夜换 Willam'E 培养基 (含青霉素 100 U·mL⁻¹、链霉素 100 μ g·mL⁻¹、体积分数为 15% 的 FBS), 24 h 换液 1 次, 培养 72 h。根据多次试验, 在本试验条件下小鼠肝脏原代细胞能够存活 1 周, 且第 3 天细胞状态最佳, 可以进行下一步试验。

1.2.2 小鼠肝脏原代细胞氧化应激模型的建立 采用 H₂O₂ 建立氧化应激模型^[11]。MDA 是检测氧化应激一种可靠的、敏感的生物标志物^[10, 12], 本试验通过检测细胞中 MDA 的含量来确定虾青素和 H₂O₂ 的浓度及作用时间。首先将细胞分为 6 组, 即空白组和 H₂O₂ 组 (1、5、10、50 和 100 μ mol·L⁻¹), 分别刺激 1、3、6、12 和 24 h 后测定细胞中 MDA 含量, 确定 H₂O₂ 刺激浓度和时间。再分 8 组细胞即 H₂O₂ 组, 保护组 (0、5、2.5、1.25、0.625、0.1 和 0.05 μ g·mL⁻¹ 虾青素预保护), 每个保护组预保护时长分别采用 1、3、6、12 和 24 h, 通过测定细胞中 MDA 含量进而确定虾青素的预保护时间和质量浓度。

1.2.3 生理指标的测定 细胞提取与培养同“1.2.1”。将细胞分为 4 组，分别为空白组、虾青素组(最佳质量浓度及最佳时间)、H₂O₂ 组(最佳浓度及最佳时间)和保护组(最佳质量浓度和刺激时间的虾青素预保护，最佳浓度和刺激时间的 H₂O₂ 后刺激)，之后根据试剂盒说明书检测 4 组细胞中 MDA、GSH 含量以及 SOD、GSH-px 的活性变化。1 个酶活力单位 (U) 表示每分钟转化 1 μmol 底物的酶量；用流式细胞仪测定细胞中 ROS 含量以及细胞凋亡率。

1.2.4 抗氧化酶的 mRNA 表达 采用荧光定量 PCR 检测虾青素对 H₂O₂ 刺激小鼠肝脏原代细胞产生氧化应激的抗氧化酶 SOD、GSH-px mRNA 相对表达量的影响。细胞培养和分组同“1.2.3”。按照 RNA Lyzol 说明书提取细胞 RNA，样品在-80 ℃ 保存，并取部分样品检测 RNA 质量，D_{260 nm}/D_{280 nm} 在 1.8~2.0 之间，可用于下一步试验。然后按照 cDNA 逆转录试剂盒的步骤将 RNA 转录为 cDNA。荧光定量 PCR 采用 20 μL 的反应体系，Master Mix 10 μL、上下游引物各 1 μL、cDNA 模板 4 μL、ddH₂O 4 μL，反应程序为 95 ℃ 预变性 5 min；95 ℃ 变性 10 s，58 ℃ 退火 60 s，40 个循环。以 18sRNA 作为内参。用 2^{-ΔΔCt}[13]法计算抗氧化酶的相对表达量，引物序列如表 1 所示。

表 1 荧光定量 PCR 引物序列

Tab. 1 Sequences of fluorescence quantitative PCR primers

基因	引物序列(5' → 3')
18sRNA	F:CTCACCACGGGAAACCTCAC
	R:CGCTCCACCAACTAAGAACG
SOD	F:CCACTGCAGGACCTCATTTT
	R:CACCTTTGCCCAAGTCATCT
GSH-px	F:GGTTCGAGCCCAATTTTACA
	R:CCCACCAGGAACTTCTCAA

1.2.5 细胞核中 Nrf2 蛋白表达 采用 Western-blot 法检测虾青素对 H₂O₂ 诱导小鼠肝脏原代细胞氧化应激后细胞核中 Nrf2 蛋白表达的影响。细胞培养和分组同“1.2.3”。细胞用预冷的 PBS 溶液洗涤 2 次，根据细胞核蛋白提取试剂盒说明提取细胞核蛋白，用 BCA 法测蛋白质量浓度。取 15 μg 核蛋白进行 SDS-PAGE 电泳，电转印至 PVDF 膜上，用质量分数为 5% 的脱脂奶粉封闭 1 h，一抗为兔源 Nrf2 抗体(按体积比 1:1 000 稀释)，鼠源的 β-actin 抗体(按体积比 1:3 000 稀释)，4 ℃ 孵育过夜。TBST 洗膜后分别加入相应的二抗：HRP 标记的山羊抗鼠 IgG(按体积比 1:2 000 稀释)和 HRP 标记的山羊抗兔 IgG(按体积比 1:3 000 稀释)，37 ℃ 孵育 1 h。TBST 洗膜后，ECL 显色，目的条带用 Image J 进行灰度分析，用目的条带灰度值比上内参(β-actin)条带灰度值计算出蛋白相对表达量。

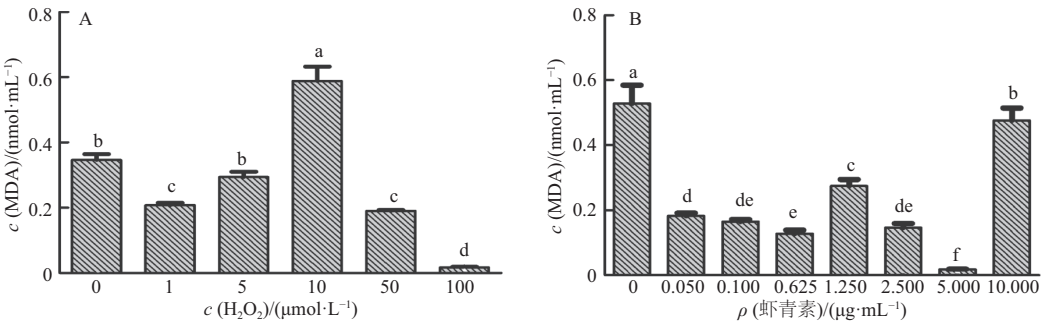
1.3 统计学分析

应用 SPSS19.0 软件进行统计分析，数据均以“平均值±标准误”形式表示，并采用单因素方差分析数据，采用 Duncan’s 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 小鼠肝脏细胞氧化应激模型的建立及生理指标的测定

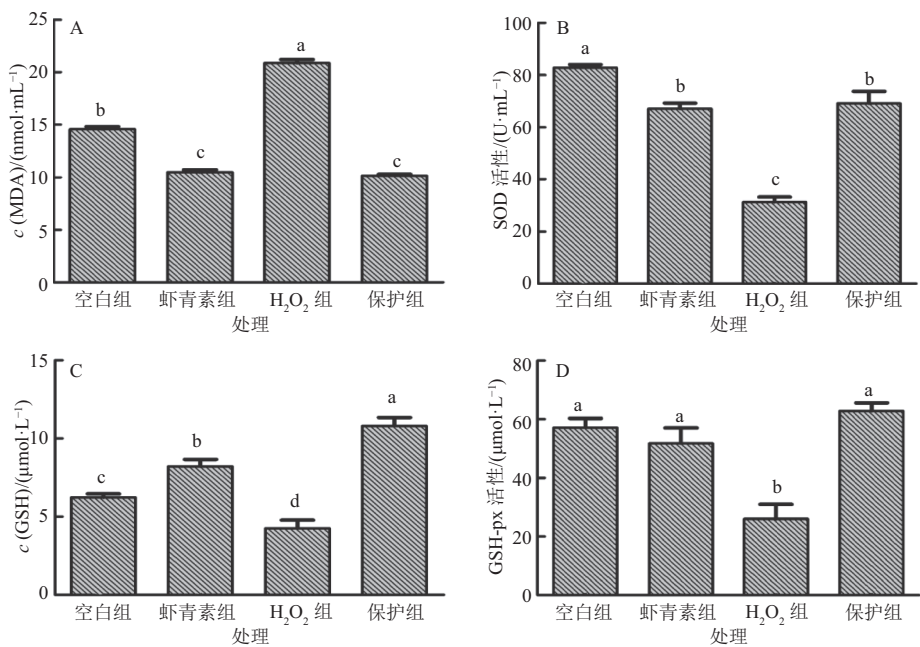
采用 H₂O₂ 处理建立了小鼠肝脏原代细胞氧化应激模型，结果表明，在 10 μmol·L⁻¹ H₂O₂ 作用 3 h 的情况下，产生的 MDA 含量显著高于空白组(P<0.05)(图 1、图 2)，GSH 含量以及 SOD、GSH-px 的活性显著低于空白组(图 2)，表明肝脏原代细胞产生氧化应激，氧化应激模型成功建立。在本试验条件下，使用 10 μmol·L⁻¹ H₂O₂ 刺激 3 h 的情况下氧化应激模型效果最好，其他浓度及时间效果均不理想。虾青素最佳预保护时长为 3 h，最佳质量浓



作用时间均为 3 h；柱子上凡是有相同小写字母者，表示差异不显著 (P>0.05, Duncan’s 法)。

图 1 H₂O₂ 和虾青素作用浓度的确定

Fig. 1 Determination of the concentrations of H₂O₂ and astaxanthin



柱子上凡是有一个相同小写字母者, 表示差异不显著 ($P>0.05$, Duncan's 法)。

图 2 虾青素对小鼠肝脏原代细胞 MDA、GSH 含量及抗氧化酶活性的影响

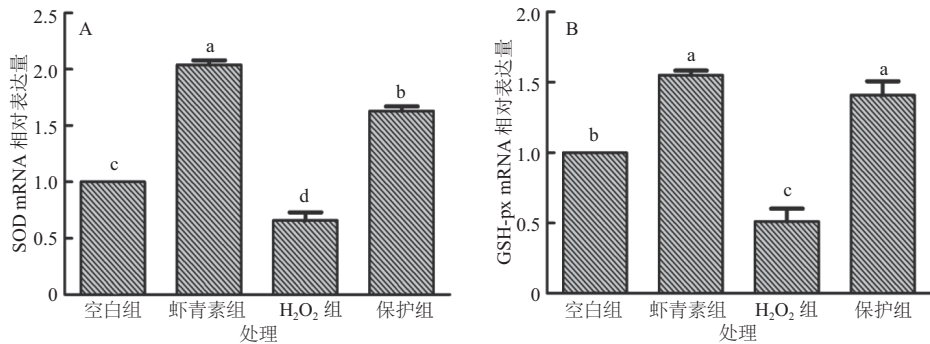
Fig. 2 The effects of astaxanthin on the contents of MDA and GSH and the activities of antioxidant enzymes in primary mouse hepatocytes

度为 $5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 在该虾青素作用条件下, 与 H_2O_2 组 [$\rho(\text{虾青素})$ 为 0] 相比极显著降低了 MDA 含量 ($P<0.01$), 显著提高了 GSH 含量和 SOD、GSH-px 的活性 (图 2)。

2.2 抗氧化酶 SOD、GSH-px 的 mRNA 表达

从 mRNA 水平上进一步分析了虾青素对 H_2O_2

诱导小鼠肝脏原代细胞氧化应激的影响, 如图 3 所示, H_2O_2 组 SOD, GSH-px 的 mRNA 的相对表达量与空白组相比显著降低, 而保护组的 mRNA 相对表达量与 H_2O_2 组相比显著提升。由此看来虾青素能够通过提升 SOD 以及 GSH-px 的 mRNA 相对表达量进而抑制小鼠肝脏原代细胞产生氧化应激。



柱子上凡是有一个相同小写字母者, 表示差异不显著 ($P>0.05$, Duncan's 法)。

图 3 虾青素对小鼠肝脏代细胞抗氧化酶 mRNA 表达的影响

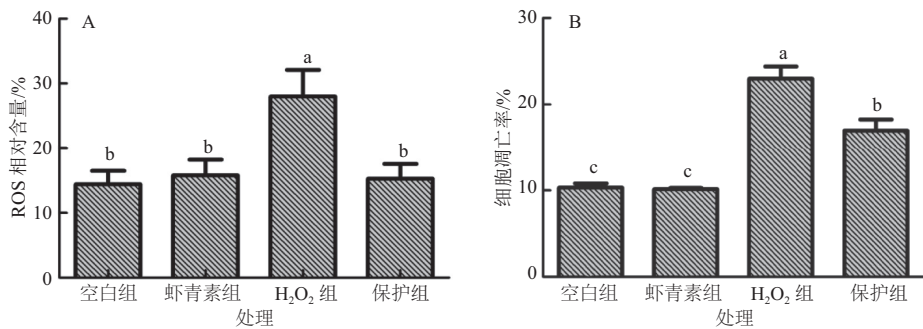
Fig. 3 The effects of astaxanthin on mRNA expressions of antioxidant enzymes in primary mouse hepatocytes

2.3 ROS 含量以及细胞凋亡率

为进一步确定虾青素对小鼠肝脏原代细胞氧化应激的影响, 本研究分析了虾青素对 ROS 以及细胞凋亡率的影响。如图 4A 所示, H_2O_2 组细胞 ROS 含量显著高于空白组, 保护组显著低于 H_2O_2 组; 如图 4B 所示, H_2O_2 组细胞凋亡率极显著高于空白组, 保护组显著低于 H_2O_2 组。

2.4 细胞核中 Nrf2 的蛋白表达

Nrf2 蛋白是参与调节细胞抗氧化功能的核心信号通路分子, 本研究分析了小鼠肝脏原代细胞氧化应激过程中虾青素对 Nrf2 核转移的影响。如图 5 和图 6 所示, 与空白组相比, H_2O_2 组显著促进 Nrf2 蛋白的表达, 从而使其转移至细胞核诱导细胞产生氧化应激; 与 H_2O_2 组相比, 保护组显著降低了 Nrf2



柱子上凡是有一个相同小写字母者,表示差异不显著 ($P>0.05$, Duncan's 法)。

图 4 虾青素对小鼠肝脏原代细胞 ROS 含量和凋亡率的影响

Fig. 4 The effects of astaxanthin on ROS content and apoptosis rate in primary mouse hepatocytes

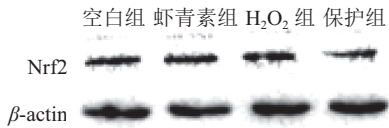
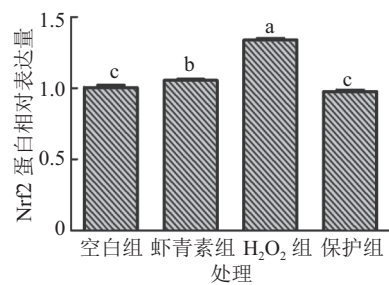


图 5 Nrf2 蛋白表达条带

Fig. 5 Nrf2 protein expression bands



柱子上凡是有一个相同小写字母者,表示差异不显著 ($P>0.05$, Duncan's 法)。

图 6 虾青素对小鼠肝脏原代细胞的细胞核中 Nrf2 蛋白表达的影响

Fig. 6 The effects of astaxanthin on Nrf2 protein expression in nucleus of primary mouse hepatocytes

蛋白的核转移,从而降低 H₂O₂ 诱导小鼠肝脏原代细胞产生的氧化应激。

3 讨论与结论

氧化应激主要通过启动膜脂质过氧化改变生物膜功能、与生物大分子共价结合及破坏酶的活性等在细胞因子的共同作用下引起不同程度的肝损伤。氧化应激在脂肪肝、病毒性肝炎、肝纤维化等肝病中可产生不容忽视的作用^[14]。近年来,寻求天然抗氧化剂成为新的研究热点。虾青素的抗氧化能力强,是维生素 E 的 550 倍、β-胡萝卜素的 10 倍^[15],是天然的强抗氧化剂。小鼠肝脏原代细胞是研究氧化应激的重要体细胞类型。MDA 的生成是由于细胞遭受氧化性物质 (如 H₂O₂ 等) 刺激产生氧化应激生成 ROS, ROS 进而与细胞膜上的磷脂、膜受体等

发生过氧化反应而形成的。MDA 是检测氧化应激一种可靠的、敏感的生物标志物^[10, 12]。当机体发生氧化应激, ROS 产生过多,在这种情况下,动物体内抗氧化防御系统负责清除过多的 ROS,以维持机体正常水平,所以机体抗氧化酶系统的相应抗氧化酶的活性也会相应增强,同时 ROS 含量的增多也会导致细胞凋亡量上升,本试验用 10 μmol·L⁻¹H₂O₂ 刺激小鼠肝脏原代细胞后, GSH 含量以及 SOD 和 GSH-px 的活性显著降低, SOD、GSH-px 的 mRNA 相对表达量明显降低,几乎没有表达,说明细胞已经处于明显氧化应激状态,用 5 μg·mL⁻¹虾青素处理后, GSH 含量和抗氧化酶活性显著升高,说明虾青素对 H₂O₂ 诱导小鼠肝脏原代细胞产生氧化应激具有保护作用。

Keap1-Nrf2-ARE 是调节细胞抗氧化作用最重要的信号通路, Nrf2 是该通路的中枢调节者,是调节抗氧化应激反应的重要核转录因子,是外源性有毒物质和氧化应激的感受器,可清除自由基,上调多种抗氧化酶及解毒酶,提高 GSH 及 SOD 等抗氧化物质的表达水平,维持细胞内氧化还原平衡状态^[16]。正常状态下, Nrf2 与胞浆蛋白伴侣分子 Keap1 蛋白在细胞浆内结合,其活性被抑制。当机体处于氧化应激状态时, Nrf2 与 Keap1 解耦联, Nrf2 转移至细胞核中, Nrf2 蛋白被激活^[17]。有研究表明在溃疡性结肠炎患者结肠组织中 Nrf2 表达与血清总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 活性呈负相关,与 MDA 含量呈正相关,所以在一定程度上, Nrf2 的表达水平可反映疾病的严重程度^[16]。本研究中, H₂O₂ 组细胞核中 Nrf2 蛋白的表达量显著高于空白组,说明此时细胞正处于氧化应激状态,且保护组细胞核中 Nrf2 蛋白显著低于 H₂O₂ 组,表明虾青素能够抑制 H₂O₂ 诱导小鼠肝脏原代细胞产生氧化应激反应。

综上所述, 虾青素可以抑制 H₂O₂ 诱导小鼠肝脏原代细胞产生的氧化应激, 此抑制作用是通过抑

制 Nrf2 蛋白的核转移进而提升细胞中 GSH 含量和 SOD、GSH-px 的活性以及降低 MDA 的含量来实现的。

参考文献:

- [1] MATSUMURA H, SHIMIZU Y, OHSAWA Y, et al. Necrotic death pathway in Fas receptor signaling[J]. *J Cell Biol*, 2000, 151(6): 1247-1256.
- [2] RIBEIRO P S, CORTEZ-PINTO H, SOLA S, et al. Hepatocyte apoptosis, expression of death receptors, and activation of NF-kappaB in the liver of nonalcoholic and alcoholic steatohepatitis patients[J]. *Am J Gastroenterol*, 2004, 99(9): 1708-1717.
- [3] PESSAYRE D, MANSOURI A, HAOUZI D, et al. Hepatotoxicity due to mitochondrial dysfunction[J]. *Cell Biol Toxicol*, 1999, 15(6): 367-373.
- [4] SUSIN S A, ZAMZAMI N, KROEMER G, et al. Mitochondria as regulators of apoptosis: Doubt nomore[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1336(1/2): 151-165.
- [5] GOTO S, KOGURE K, ABE K, et al. Efficient radical trapping at the surface and inside the phospholipid membrane is responsible for highly potent antiperoxidative activity of the carotenoid astaxanthin[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1512(2): 251-258.
- [6] HIGUERA-CIAPARA I, FELIX-VALENZUELA L, GOYCOOLEA F M, et al. Astaxanthin: A review of its chemistry and applications[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2006, 46(2): 185-196.
- [7] LIAO K S, WEI C L, CHEN J C, et al. Astaxanthin enhances pemetrexed-induced cytotoxicity by downregulation of thymidylate synthase expression in human lung cancer cells[J]. *Regul Toxicol Pharm*, 2016, 81: 353-361.
- [8] LEE S H, MIN D B. Effects of quenching mechanism and kinetics of carotenoids in chlorophyll-sensitized photo-oxidation of soybean oil[J]. *J Agric Food Chem*, 1990, 38(8): 1630.
- [9] HIX L M, LOCKWOOD S F, BERTRAM J S, et al. Bioactive carotenoids: Potent antioxidants and regulators of gene expression[J]. *Redox Rep*, 2004, 9(4): 181-191.
- [10] LIU F P, MA X, LI M M, et al. Hepatoprotective effects of *Solanum nigrum* against ethanol-induced injury in primary hepatocytes and mice with analysis of glutathione S-transferase A1[J]. *J Chin Med Assoc*, 2016, 79(2): 65-71.
- [11] YOUNG I C, CHUANG S T, HSU C H, et al. C-phycoerythrin alleviates osteoarthritic injury in chondrocytes stimulated with H₂O₂ and compressive stress[J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 93(Pt A): 852-859.
- [12] SING J, ZHANG H, WANG Z H, et al. Effects of ¹²C⁶⁺ ion radiation and ferulic acid on the zebrafish (*Danio rerio*) embryonic oxidative stress response and gene expression [J]. *Mutat Res*, 2013. doi: [10.1016/j.mrfmmm.2013.03.007](https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2013.03.007).
- [13] LIU H, BEIER J I, ARTEEL G E, et al. Transient receptor potential vanilloid 1 gene deficiency ameliorates hepatic injury in a mouse model of chronic binge alcohol-induced alcoholic liver disease[J]. *Am J Pathol*, 2015, 185(1): 43-54.
- [14] 吴娜, 蔡光明, 何群. 氧化应激与肝脏损伤[J]. *世界华人消化杂志*, 2008(29): 3310-3315.
- [15] ROSENBLAT J D, CHA D S, MANSUR R B, et al. Inflamed moods: A review of the interactions between inflammation and disorders[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2014, 53(1448): 23-24.
- [16] SINGH A, RANGASAMY T, THIMMULAPPA R K, et al. Glutathione peroxidase 2, the major cigarette smoke-inducible isoform of GPX in lungs, is regulated by Nrf2[J]. *Am J Resp Cell Mol*, 2006, 35(6): 639-650.
- [17] COPPLE I M. The Keap1-Nrf2 cell defense pathway: A promising therapeutic target?[J]. *Adv Pharmacol*, 2012, 63: 43-79.

【责任编辑 庄 延】