

against elastase, hyaluronidase and UV radiation-induced matrix metalloproteinase expression in human dermal fibroblasts and keratinocytes[J]. *Photochem Photobiol Sci*, 2019, 18(5): 1259-1274.

[16] 高晨曦, 黄 艳, 孙威江. 茶叶中原花青素研究进展[J]. 茶叶科学, 2020, 40(4): 441-453.

[17] 马嘉艺, 郭 砚, 冶 娟, 等. 黑果枸杞原花青素对小鼠皮肤衰老模型的保护作用研究[J]. 中国全科医学, 2019, 22(15): 1851-1854.

[18] 史先花, 张峻岭, 康 元. 葡萄籽原花青素及 UVA 照射对 HaCaT 细胞增殖活性的影响[J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2016, 15(3): 136-138.

[19] Dzobo K, Thomford N E, Senthebane D A. Targeting the versatile Wnt/ β -catenin pathway in cancer biology and therapeutics: from concept to actionable strategy[J]. *OMICS*, 2019, 23(11): 517-538.

[20] Kasoha M, Derneksi C, Seibold A, *et al.* Crosstalk of estrogen receptors and Wnt/ β -catenin signaling in endometrial cancer [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2020, 146(2): 315-327.

[21] Tomar V S, Patil V, Somasundaram K. Temozolomide induces activation of Wnt/ β -catenin signaling in glioma cells *via* PI3K/Akt pathway: implications in glioma therapy [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2020, 36(3): 273-278.

[22] Dong F F, Dong S H, Liang Y, *et al.* miR-20b inhibits the senescence of human umbilical vein endothelial cells through regulating the Wnt/ β -catenin pathway *via* the TXNIP/NLRP3 axis[J]. *Int J Mol Med*, 2020, 45(3): 847-857.

[23] Li Z L, Chen S F, Chen S, *et al.* Moderate activation of Wnt/ β -catenin signaling promotes the survival of rat nucleus pulposus cells *via* regulating apoptosis, autophagy, and senescence[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8): 12519-12533.

基于 ROS/TXNIP/NLRP3 通路探讨槲皮素对 Pg-LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症因子表达的影响

刘兰宁, 唐焕珍, 李晓媛
(南方医科大学中西医结合医院口腔科, 广东 广州 510315)

摘要: **目的** 探讨槲皮素调控活性氧 (ROS) /硫氧还蛋白结合蛋白 (TXNIP) /NOD 样受体相关蛋白 3 (NLRP3) 信号通路对牙龈卟啉单胞菌脂多糖 (Pg-LPS) 诱导 RAW264.7 细胞炎症因子的影响。**方法** 采用 1 mg/L Pg-LPS 刺激 RAW264.7 巨噬细胞构建细胞炎症模型, 分为对照组、模型组及槲皮素低、中、高剂量组 (5、25、50 $\mu\text{mol/L}$), MTT 法检测细胞活力, 倒置显微镜观察各组细胞形态变化, RT-qPCR 法检测炎症因子白细胞介素 (*IL*) -6、*IL*-1 β 、*TNF*- α 、诱导型 NO 合酶 (*iNOS*)、环氧合酶 (*COX*-2) mRNA 表达, 荧光分光光度计检测细胞中 ROS 水平, Western blot 法检测 TXNIP、NLRP3 蛋白表达。**结果** 0~50 $\mu\text{mol/L}$ 槲皮素对 RAW264.7 细胞活力无明显影响 ($P>0.05$)。与对照组比较, 模型组细胞形成伪足所占比例升高 ($P<0.05$), *IL*-6、*IL*-1 β 、*TNF*- α 、*iNOS*、*COX*-2 mRNA 及 TXNIP、NLRP3 蛋白表达上调 ($P<0.05$), ROS 水平增加 ($P<0.05$); 与模型组比较, 槲皮素各剂量组细胞形成伪足所占比例降低 ($P<0.05$), *IL*-6、*IL*-1 β 、*TNF*- α 、*iNOS*、*COX*-2 mRNA 及 TXNIP、NLRP3 蛋白表达下调 ($P<0.05$), ROS 水平减少 ($P<0.05$), 并呈剂量依赖性。**结论** 槲皮素可抑制 Pg-LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症因子表达, 其机制可能与抑制 ROS/TXNIP/NLRP3 信号通路活性有关。

关键词: 槲皮素; 牙龈卟啉单胞菌脂多糖 (Pg-LPS); ROS/TXNIP/NLRP3 通路; 炎症因子

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2022)12-4049-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.12.054

牙周炎是一种慢性、多因素的炎症性疾病, 可能会导致牙齿脱落, 并最终引发全身炎症反应^[1]。牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*, Pg) 定植在龈下部位并分泌毒力因子脂多糖 (LPS), 随后宿主产生炎症和免疫反应, 这是牙周炎产生的主要病因之一^[2]。RAW264.7 是小鼠单核巨噬细胞白血病细胞, 是许多炎症因子的主要来源, 在

牙周炎的发展中起着重要作用^[3]。近年来, 基于炎症信号通路中关键分子筛选抗炎药物受到广泛关注, 其中活性氧 (ROS) /硫氧还蛋白结合蛋白 (TXNIP) /NOD 样受体相关蛋白 3 (NLRP3) 信号通路作为炎症反应的重要信号通路之一^[4], 已被报道在调节脊髓损伤神经炎症中发挥着重要的促进作用^[5]。提示 ROS/TXNIP/NLRP3 通路

相关联，但其如何调节牙周炎免疫细胞中炎症因子的分泌尚不清楚。大量研究显示，黄酮类化合物对 RAW264.7 巨噬细胞具有抑制作用^[6]。槲皮素作为黄酮类化合物，是多种中药的有效成分，其能够抑制牙龈卟啉单胞菌的多种毒力因子^[2]，但槲皮素对牙龈卟啉单胞菌脂多糖（Pg-LPS）诱导 RAW264.7 细胞炎症因子表达的影响尚不清楚。因此，本实验探究槲皮素对 Pg-LPS 刺激的 RAW264.7 细胞炎症因子分泌的影响，并观察其对 ROS/TXNIP/NLRP3 通路的调控作用。

1 材料与方法

1.1 细胞与药物 小鼠巨噬细胞 RAW264.7 购自中国科学院上海细胞库。槲皮素（纯度≥98%，货号 B20527-20 mg）购自上海联硕生物科技有限公司。

1.2 试剂与仪器 DMEM 培养基、蛋白提取试剂盒、BCA 试剂盒、96 孔板均购自河南天驰生物技术有限公司；胎牛血清（FBS）、逆转录试剂盒、TransStart® Green qPCR SuperMix 均购自日本 TaKaRa 公司；TRIzol 试剂、ECL 化学发光试剂盒均购自郑州金图生物科技有限公司；MTT 检测试剂盒购自美国 Sigma 公司；兔抗鼠 TXNIP、NLRP3、GAPDH 一抗、辣根过氧化物酶（HRP）标记的羊抗兔 IgG 二抗均购自上海碧云天生物技术有限公司。ABI 7500 型实时荧光定量 PCR 仪、371 型 CO₂ 培养箱购自美国 Thermo Fisher 公司。

1.3 药物配制 精密称取槲皮素 0.030 2 mg，溶于 1 mL 二甲基亚砜得到 100 μmol/L 母液，于-20 ℃冰箱中保存。以含 10% FBS 的 DMEM 培养基分别将其稀释成 5、25、50 μmol/L 浓度，用于后续实验。

1.4 细胞培养及分组 RAW264.7 细胞用含 10% FBS 的 DMEM 培养基，于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养，当细胞融合度达到 80%~90% 时，进行实验。参照文献 [7-8] 及前期预实验结果，将细胞分为对照组、模型组及槲皮素低、中、高剂量组，对照组只加入培养基；模型组加入含有 1 mg/L Pg-LPS 的培养基刺激 12 h；槲皮素低、中、高剂量组分别加入 5、25、50 μmol/L 槲皮素预处理 2 h 后，再加入含有 1 mg/L Pg-LPS 的培养基刺激 12 h。

1.5 MTT 法检测细胞活力 将 RAW264.7 细胞以每孔 1×10⁵ 个的密度接种于 96 孔板中，加入 100 μL 不同浓度槲皮素（5、15、25、50 μmol/L），空白组（培养基）和对照组（细胞+培养基）加入等量培养基，培养 24 h 后，每孔加入 100 μL MTT 工作液避光孵育 4 h，除去上清液，每孔加入 150 μL 二甲基亚砜，振荡溶解 15 min，用酶标仪测定 490 nm 处的光密度（OD）值，计算细胞活力，每组设置 6 个复孔。

1.6 显微镜下观察细胞形态变化 将细胞密度调整为 1×10⁵/mL，接种于 6 孔板中，培养过夜，细胞按“1.4”项下分组培养，每组设置 6 个复孔，在倒置显微镜下观察细胞形态变化。

1.7 RT-qPCR 法检测细胞炎症因子 mRNA 表达 使用

TRIzol 试剂提取各组细胞的总 RNA，利用超微量分光光度计测定 RNA 浓度。通过逆转录试剂盒进行逆转录形成 cDNA，再进行 PCR 扩增反应，条件为 95 ℃ 30 s；95 ℃ 5 s，60 ℃ 30 s，72 ℃ 10 s，共 40 个循环；4 ℃ 10 min。每组设置 6 个复孔，以 *β-actin* 为内参，采用 2^{-ΔΔCT} 法计算炎症因子 mRNA 相对表达。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	正向引物	反向引物
<i>β-actin</i>	CAGCCTTCCTTCTTGGGTAT	TGGCATAGAGGTCTTTACGG
<i>IL-6</i>	ATGGCATGGCTTACACCACC	TTGGTCCTTAGCCACTCCTTC
<i>IL-1β</i>	GGCTGGACTGTTTCTAATGC	ATGGTTTCTTGTGACCCCTGA
<i>TNF-α</i>	CGTGAACCTGCCAGAAGAGG	AGACAGAAGAGCGTGCTGGC
<i>iNOS</i>	GGAATCTTGGAGCGAGTTG	GTGAGGGCTTGGCTGACTGA
<i>COX-2</i>	GAAGTCTTTGCTCTGCTGCCT	GCTCCTGCTTGACTATGTGC

1.8 ROS 水平检测 收集各组细胞，加入不含 FBS 的培养液，37 ℃孵育 30 min，胰蛋白酶消化，离心收集细胞，用 PBS 洗涤 3 次，收集细胞沉淀物，用无血清培养基将荧光染料 DCFH-DA 稀释为 10 μmol/L，并用该稀释液调整细胞密度为 2×10⁶/mL，接种于 96 孔板中，每孔 100 μL，每组设置 6 个复孔，在激发波长为 485 nm，发射波长为 525 nm 的条件下，利用荧光分光光度计进行 ROS 荧光强度检测。

1.9 Western blot 法检测细胞 TXNIP、NLRP3 蛋白表达 使用预冷的 RIPA 裂解缓冲液提取各组细胞总蛋白，并通过 BCA 蛋白测定试剂盒测定蛋白质浓度。使用 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白质，并转移至 PVDF 膜上，用 5% 脱脂牛奶封闭 2 h，分别添加一抗 TXNIP（1：2 000）、NLRP3（1：2 000）、GAPDH（1：3 000）于 4 ℃下孵育过夜，用 TBST 洗涤 3 次，加入 HRP 标记的二抗（1：2 000）于室温下孵育 2 h，用 TBST 洗涤 3 次，用 ECL 试剂盒显色，分析蛋白条带灰度值，计算目的蛋白相对表达量。

1.10 统计学分析 通过 SPSS 25.0 软件进行处理，数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示，两组间比较采用 *t* 检验，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两组间比较采用 SNK-*q* 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 槲皮素对 RAW264.7 细胞活力的影响 与 0 μmol/L 槲皮素组比较，5、15、25、50 μmol/L 槲皮素组对 RAW264.7 细胞活力无明显影响（*P*>0.05），见表 2。故选择 5、25、50 μmol/L 槲皮素进行后续实验。

表 2 槲皮素对 RAW264.7 细胞活力的影响 ($\bar{x}\pm s$, *n*=6)

槲皮素/(μmol·L ⁻¹)	细胞活力/%
0	100.03±10.25
5	108.16±12.23
15	105.36±10.87
25	98.78±9.68
50	97.69±9.87

2.2 槲皮素对 Pg-LPS 诱导 RAW264.7 细胞形态的影响 与对照组比较，模型组细胞形成伪足所占比例升高

($P<0.05$)；与模型组比较，槲皮素各剂量组细胞形成伪足 所占比例降低 ($P<0.05$)，并呈剂量依赖性，见图 1、表 3。

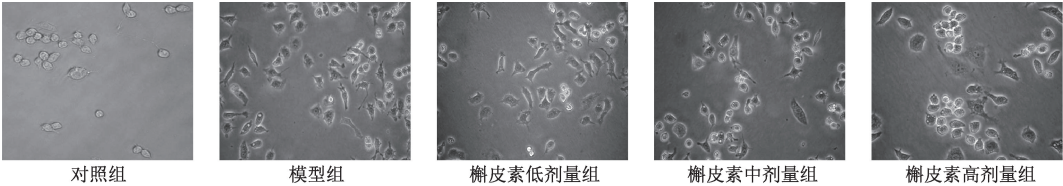


图 1 各组 RAW264.7 细胞的形态 (×200)

表 3 各组细胞形成伪足所占比例比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	形成伪足的细胞比例/%
对照组	2.59±0.13
模型组	93.35±10.82 [#]
槲皮素低剂量组	72.18±8.11 [*]
槲皮素中剂量组	48.39±5.36 ^{*△}
槲皮素高剂量组	12.86±2.12 ^{*△▲}

注：与对照组比较，[#] $P<0.05$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ；与槲皮素低剂量组比较，[△] $P<0.05$ ；与槲皮素中剂量组比较，[▲] $P<0.05$ 。

表 4 各组细胞 *IL-6*、*IL-1β*、*TNF-α*、*iNOS*、*COX-2* mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	<i>IL-6</i>	<i>IL-1β</i>	<i>TNF-α</i>	<i>iNOS</i>	<i>COX-2</i>
对照组	1.05±0.13	1.03±0.15	1.01±0.11	1.04±0.12	1.06±0.14
模型组	3.25±0.42 [#]	2.32±0.32 [#]	3.56±0.47 [#]	2.33±0.31 [#]	3.64±0.38 [#]
槲皮素低剂量组	2.68±0.31 [*]	1.95±0.12 [*]	2.95±0.48 [*]	1.95±0.11 [*]	3.09±0.36 [*]
槲皮素中剂量组	2.13±0.30 ^{*△}	1.58±0.22 ^{*△}	2.03±0.36 ^{*△}	1.63±0.13 ^{*△}	2.48±0.40 ^{*△}
槲皮素高剂量组	1.46±0.28 ^{*△▲}	1.12±0.21 ^{*△▲}	1.38±0.29 ^{*△▲}	1.17±0.15 ^{*△▲}	1.51±0.26 ^{*△▲}

注：与对照组比较，[#] $P<0.05$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ；与槲皮素低剂量组比较，[△] $P<0.05$ ；与槲皮素中剂量组比较，[▲] $P<0.05$ 。

与模型组比较，槲皮素各剂量组细胞 ROS 水平降低 ($P<0.05$)，并呈剂量依赖性，见表 5。

表 5 各组细胞 ROS 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	ROS 水平/%
对照组	100.05±10.18
模型组	213.36±15.88 [#]
槲皮素低剂量组	173.55±14.39 [*]
槲皮素中剂量组	142.22±16.36 ^{*△}
槲皮素高剂量组	108.96±14.35 ^{*△▲}

注：与对照组比较，[#] $P<0.05$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ；与槲皮素低剂量组比较，[△] $P<0.05$ ；与槲皮素中剂量组比较，[▲] $P<0.05$ 。

2.5 槲皮素对 Pg-LPS 诱导 RAW264.7 细胞 TXNIP、NLRP3 蛋白表达的影响 与对照组比较，模型组细胞 TXNIP、NLRP3 蛋白表达升高 ($P<0.05$)；与模型组比较，槲皮素各剂量组细胞 TXNIP、NLRP3 蛋白表达降低 ($P<0.05$)，并呈剂量依赖性，见图 2、表 6。

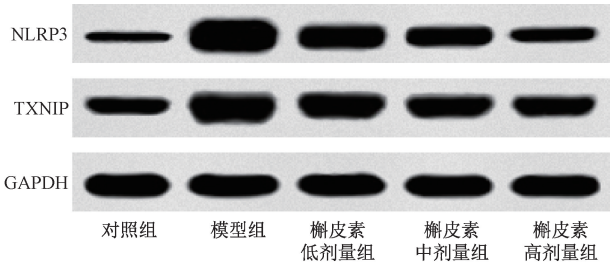


图 2 各组细胞 TXNIP、NLRP3 蛋白条带图

2.3 槲皮素对 Pg-LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症因子 mRNA 表达的影响 与对照组比较，模型组细胞 *IL-6*、*IL-1β*、*TNF-α*、*iNOS*、*COX-2* mRNA 表达升高 ($P<0.05$)；与模型组比较，槲皮素各剂量组细胞 *IL-6*、*IL-1β*、*TNF-α*、*iNOS*、*COX-2* mRNA 表达降低 ($P<0.05$)，并呈剂量依赖性，见表 4。

2.4 槲皮素对 Pg-LPS 诱导 RAW264.7 细胞 ROS 水平的影响 与对照组比较，模型组细胞 ROS 水平升高 ($P<0.05$)；

表 6 各组细胞 TXNIP、NLRP3 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	TXNIP/GAPDH	NLRP3/GAPDH
对照组	0.65±0.12	0.43±0.12
模型组	1.63±0.18 [#]	1.51±0.22 [#]
槲皮素低剂量组	1.25±0.19 [*]	1.15±0.20 [*]
槲皮素中剂量组	1.01±0.10 ^{*△}	0.97±0.14 [*]
槲皮素高剂量组	0.72±0.09 ^{*△▲}	0.55±0.15 ^{*△▲}

注：与对照组比较，[#] $P<0.05$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ；与槲皮素低剂量组比较，[△] $P<0.05$ ；与槲皮素中剂量组比较，[▲] $P<0.05$ 。

3 讨论

牙周炎是由细菌引起的慢性炎症性疾病^[9]，巨噬细胞作为关键的免疫细胞，具有 3 种重要功能，即抗原呈递、吞噬和免疫调节作用^[10-11]。本研究结果显示，0~50 μmol/L 槲皮素对 RAW264.7 细胞活力无明显影响，提示该浓度范围内的槲皮素不影响细胞增殖，无细胞毒性。

伪足形成是巨噬细胞在炎症反应中的特征性形态变化^[12]。本研究结果显示，槲皮素可拮抗 Pg-LPS 对 RAW264.7 细胞形态的影响，并抑制 RAW264.7 细胞伪足形成，且呈剂量依赖性。*IL-1β*、*IL-6*、*TNF-α* 是重要的促炎因子^[13]，*TNF-α* 表达高低可直接反映炎症的严重程度^[14]；*IL-1β* 参与牙周炎的炎症反应^[15]；*IL-6* 具有抗炎和致炎的双向作用^[16]。本研究结果显示，槲皮素各剂量组均可下调炎症因子 *IL-1β*、*IL-6*、*TNF-α* mRNA 表达，并呈剂量依赖性，提示槲皮素可减轻 Pg-LPS 刺激的 RAW264.7 细胞的炎症反应。

在炎症反应中，诱导型 NO 合酶 (iNOS) 和环氧合酶

(COX-2) 这 2 种促炎症酶也起着关键的作用。据报道, iNOS 仅在受到 LPS 等细胞外刺激后才表达, 并产生大量的 NO, 促进炎症性疾病的发生与发展^[17]。而 COX-2 是前列腺素 E₂ 合成过程中的关键酶, 在 LPS 引起的炎症反应中高表达^[18]。本研究结果显示, Pg-LPS 刺激的 RAW264. 7 细胞中 iNOS、COX-2 mRNA 表达升高, 而槲皮素各剂量组均可下调 iNOS、COX-2 mRNA 表达, 并呈剂量依赖性, 提示槲皮素对 Pg-LPS 刺激的 RAW264. 7 细胞炎症因子表达有抑制作用。

近年来, ROS/TXNIP/NLRP3 通路作用受到广泛关注。ROS 的产生对于 NLRP3 激活至关重要, TXNIP 蛋白在 ROS 的刺激下引起 NLRP3 炎性小体的活化, 激活 TXNIP/NLRP3 通路, 发挥其促炎作用^[19]。相关研究表明, TXNIP/NLRP3 信号通路在急性肾损伤模型中处于高度活化状态^[20]; ROS/TXNIP/NLRP3 信号通路促进了慢性间歇性低氧诱导的小鼠心肌损伤^[21]。本研究结果显示, Pg-LPS 刺激的 RAW264. 7 细胞中 ROS 水平和 TXNIP、NLRP3 蛋白表达升高, 而槲皮素各剂量组均可下调 ROS 水平和 TXNIP、NLRP3 蛋白表达, 抑制了 ROS/TXNIP/NLRP3 信号通路的活化。

综上所述, 槲皮素可抑制 Pg-LPS 刺激的 RAW264. 7 细胞炎症因子表达, 其机制可能与抑制 ROS/TXNIP/NLRP3 信号通路活化有关。但是本研究仅探讨了槲皮素对部分炎性因子基因的表达, 未探讨其蛋白表达及其他炎性因子水平, 尚需深入研究。

参考文献:

[1] Papapanou P N, Sanz M, Buduneli N, *et al.* Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions[J]. *J Periodontol*, 2018, 89: S173-S182.

[2] He Z Y, Zhang X, Song Z C, *et al.* Quercetin inhibits virulence properties of *Porphyromas gingivalis* in periodontal disease[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 18313.

[3] 李 潭, 孙一涵, 李国峰. 根皮素对脂多糖诱导的 RAW264. 7 细胞的体外抗炎作用机制[J]. *中国免疫学杂志*, 2021, 37(7): 812-818.

[4] 陈 勇, 范军朝, 庞红利, 等. 七氟醚后处理对脑缺血/再灌注损伤大鼠的脑保护作用及对 ROS/TXNIP/NLRP3 通路的影响[J]. *国际麻醉学与复苏杂志*, 2021, 42(1): 8-14.

[5] Ren Z L, Liang W D, Sheng J, *et al.* Gal-3 is a potential biomarker for spinal cord injury and Gal-3 deficiency attenuates neuroinflammation through ROS/TXNIP/NLRP3 signaling pathway[J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(12): BSR20192368.

[6] Ran X, Li Y H, Chen G X, *et al.* Farrerol ameliorates TNBS-induced colonic inflammation by inhibiting ERK1/2, JNK1/2, and NF-κB signaling pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(7): 2037.

[7] 杨 芳, 陈明月, 胡英英, 等. NALP3 炎性体在牙龈卟啉单胞菌脂多糖刺激 RAW264. 7 细胞中的作用[J]. *中华口腔医*

学杂志, 2017, 52(5): 289-293.

[8] 任改艳, 张步有, 黄剑林. 槲皮素对 LPS 诱导小鼠 RAW264. 7 细胞炎症的保护作用[J]. *中成药*, 2019, 41(8): 1795-1799.

[9] Pathak J L, Fang Y, Chen Y X, *et al.* Downregulation of macrophage-specific Act-1 intensifies periodontitis and alveolar bone loss possibly *via* TNF/NF-κB signaling[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 628139.

[10] Sima C, Viniegra A, Glogauer M. Macrophage immunomodulation in chronic osteolytic diseases-the case of periodontitis [J]. *J Leukoc Biol*, 2019, 105(3): 473-487.

[11] Li L C, Pan Z H, Ning D S, *et al.* Anti-inflammatory effect of Simonsinol on lipopolysaccharide stimulated RAW264. 7 cells through inactivation of NF-κB signaling pathway[J]. *Molecules*, 25(16): 3573.

[12] Han C, Yang J, Song P, *et al.* Effects of *Salvia miltiorrhiza* Polysaccharides on lipopolysaccharide-induced inflammatory factor release in RAW264. 7 cells[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2018, 38(1): 29-37.

[13] 娄 余, 肖运婷, 朱 莹, 等. 基于 NF-κB 信号通路的溃疡宁膏穴位敷贴对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜炎症反应的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2021, 28(4): 75-80.

[14] 汤韵秋, 全云云, 余琳媛, 等. 连翘脂素对 LPS 诱导 RAW264. 7 细胞炎症反应的影响[J]. *天然产物研究与开发*, 2019, 31(7): 1117-1123.

[15] Liukkonen J, Gürsoy U K, Pussinen P J, *et al.* Salivary concentrations of interleukin-1β, -17A, and -23 vary in relation to periodontal status [J]. *J Periodontol*, 2016, 87(12): 1484-1491.

[16] 李秋月, 许海玉, 杨洪军. 促炎因子 TNF-α, IL-1β, IL-6 在神经病理性疼痛中的研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(19): 3709-3712.

[17] Liu P, Li H X, Luan R L, *et al.* Identification of β-carboline and canthinone alkaloids as anti-inflammatory agents but with different inhibitory profile on the expression of iNOS and COX-2 in lipopolysaccharide-activated RAW 264. 7 macrophages[J]. *J Nat Med*, 2019, 73(1): 124-130.

[18] Lee J K, Sayers B C, Chun K S, *et al.* Multi-walled carbon nanotubes induce COX-2 and iNOS expression *via* MAP Kinase-dependent and -independent mechanisms in mouse RAW264. 7 macrophages[J]. *Part Fibre Toxicol*, 2012, 9: 14.

[19] Li L, Lu Q Y, Wei C, *et al.* Vitamin D3 protects against diabetic retinopathy by inhibiting high-glucose-induced activation of the ROS/TXNIP/NLRP3 inflammasome pathway [J]. *J Diabetes Res*, 2018, 2018: 8193523.

[20] Yuan X P, Zheng Y T, Chen C B, *et al.* Anisodamine inhibits endoplasmic reticulum stress-associated TXNIP/NLRP3 inflammasome activation in rhabdomyolysis-induced acute kidney injury[J]. *Apoptosis*, 2017, 22(12): 1524-1531.

[21] 任 静, 郭亚净, 刘 寒, 等. 亚麻木酚素通过调控 TXNIP/NLRP3 信号通路改善 CIH 小鼠心肌损伤[J]. *中国药理学通报*, 2020, 36(8): 1094-1099.