

基于 NF- κ B/STAT3 信号通路探讨甘草查尔酮 A 对 HaCaT 细胞炎症反应的影响

万志若^{1,2}, 高翠芸², 孟雨婷², 刘 燕², 薛玉叶^{2*}, 袁海龙^{1,2*}

(1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137; 2. 空军军医大学空军特色医学中心药学部, 北京 100142)

摘要: **目的** 探讨甘草查尔酮 A 对 TNF- α 和 IFN- γ 联合诱导的人永生角质形成细胞 (HaCaT) 炎症因子分泌的影响及其抗炎机制。**方法** CCK8 法筛选甘草查尔酮 A 作用质量浓度。将细胞分为正常组、模型组 (10 ng/mL TNF- α 和 10 ng/mL IFN- γ) 和甘草查尔酮 A 组 (5、10 μ g/mL)。CCK8 法检测细胞活性, ELISA 法和 RT-qPCR 法检测炎症因子及相关趋化因子的分泌和 mRNA 表达, Western blot 法检测 TNF- α 、IL-6、NF- κ B p65、p-NF- κ B p65、STAT3、p-STAT3、JAK1、p-JAK1 蛋白表达, DCFH-DA 荧光探针法、流式细胞术分别检测细胞活性氧 (ROS) 水平和细胞凋亡情况。**结果** 甘草查尔酮 A 质量浓度在 10 μ g/mL 及以下时对 HaCaT 细胞活性无显著影响 ($P>0.05$), 且在 5、10 μ g/mL 时对 HaCaT 细胞炎症性损伤具有保护作用 ($P<0.01$)。与模型组比较, 甘草查尔酮 A 可降低 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平, TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、RANTES、TARC、MDC mRNA 表达, TNF- α 、IL-6、p-NF- κ B p65、p-STAT3 和 p-JAK1 蛋白表达, ROS 水平和凋亡率 ($P<0.01$)。**结论** 甘草查尔酮 A 能够减轻 TNF- α 和 IFN- γ 诱导的 HaCaT 细胞炎症反应, 其机制可能与抑制 NF- κ B/STAT3 信号通路活化, 进而抑制相关炎症因子表达和 ROS 水平有关。

关键词: 甘草查尔酮 A; 特应性皮炎; NF- κ B/STAT3 信号通路; 炎症因子; ROS; 凋亡

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)06-2032-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.06.043

特应性皮炎是一种慢性、反复发作且持续不愈的皮肤病, 临床上表现为瘙痒、皮肤增厚、红斑、鳞状皮肤病变等^[1]。研究表明特应性皮炎患者生活质量严重下降, 睡眠障碍、焦虑或抑郁的可能性增加^[2]。目前特应性皮炎治疗药物如局部类固醇和局部钙调磷酸酶抑制剂虽然有效, 但有严重的副作用, 如毛囊炎、皮肤萎缩、条纹、红斑和感染等^[3-4]。因此, 对安全有效的特应性皮炎治疗药物存在大量需求, 特别是来自植物中的天然活性成分^[5]。

甘草为豆科甘草属植物乌拉尔甘草、光果甘草和胀果甘草的干燥根和根茎, 具有清热解毒、缓急止痛、调和诸药等作用。现代药理学研究表明, 甘草具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化等作用^[6]。甘草的活性成分主要是三萜类化合物和黄酮类化合物, 甘草查尔酮 A 是甘草的一种酚类查耳酮化合物, 是甘草的特征性查耳酮, 具有抗炎、抗菌、抗氧化等多种生物活性^[7]。本研究通过探索甘草查尔酮 A 对 HaCaT 特应性皮炎细胞增殖和凋亡以及相关炎症因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的影响, 进一步揭示 NF- κ B/STAT3 信号通路磷酸化与 HaCaT 细胞增殖、凋亡以及炎症因子的关系, 阐明甘草查尔酮 A 的活性及作用机制, 为其下一步应用提

供理论支撑, 对于推动临床特应性皮炎治疗药物的发展具有重要的意义。

1 材料

1.1 细胞 人永生角质形成细胞 HaCaT 细胞, 购自上海富衡生物科技有限公司。HaCaT 细胞置于含 10% 胎牛血清、1% 青-链霉素高糖 DMEM 培养基中, 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 恒温培养箱进行贴壁培养。按 1:2 比例传代培养, 待细胞生长状态良好且处于对数生长期时可进行下一步实验。

1.2 药物与试剂 甘草查尔酮 A (宝鸡市辰光生物科技有限公司, 批号 58749-22-7, 纯度 98%); DMEM 高糖基础培养基、PBS 缓冲液、胎牛血清、青霉素-链霉素溶液 (武汉普诺赛生命科技有限公司, 批号 WH0022U061、WH0022G259、164210-50、WH0622C291); 0.25% 胰蛋白酶 (美国 Gibco 公司, 批号 25200-072); TNF- α 、IFN- γ (美国 Peprotech 公司, 批号 300-01A-50UG、300-02-100UG); CCK8 试剂、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、人 TNF- α 、IL-6、IL-1 β ELISA 试剂盒 (武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司, 批号 E-CK-A362、E-BC-K318-M、202303、202303、202303); TRIzol 试剂 (美国 Corning 公司, 批号

收稿日期: 2023-12-25

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81873092, 82174074); 空军军医大学空军特色医学中心优秀青年人才项目 (22YXQN027)

作者简介: 万志若 (1999—), 女, 硕士生, 研究方向为中药制剂新技术。Tel: 13281006198, E-mail: 1589852437@qq.com

* **通信作者:** 薛玉叶 (1996—), 女, 硕士, 研究方向为中药药理。Tel: 13629206520, E-mail: 1585414032@qq.com

袁海龙 (1970—), 男, 博士, 研究员, 研究方向为中药新型给药系统。Tel: (010) 66928505, E-mail: yhlpharm@126.com

368702); PrimeScript™ RT Master Mix (日本 TaKaRa 公司, 批号 RR036A); 2×T5 Fast qPCR Mix (SYBR Green I) (北京擎科生物科技股份有限公司, 批号 TSE202); RIPA 裂解液(强)、蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(上海碧云天生物技术有限公司, 批号 P0013B、P1045); SurePAGE™ Bis-Tris (金斯瑞生物科技股份有限公司, 批号 M00666); 一抗 NF-κB p65、p-NF-κB p65、STAT-3、p-STAT-3、p-JAK1 抗体(英国 Abcam 公司, 批号 ab32536、3033T、ab68153、ab32143、ab138005); JAK1 抗体(美国 Proteintech 公司, 批号 66466-1-Ig); β-actin 抗体(北京博奥森生物技术有限公司, 批号 bs-0061R); TNF-α、IL-6 抗体(沈阳万类生物技术有限公司, 批号 R05311581、R06202841); 辣根酶标记山羊抗兔 IgG 蛋白二抗、辣根酶标记山羊抗鼠 IgG 蛋白二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司, 批号 ZB-2301、ZB-2305); 彩虹 180 广谱蛋白 Marker、ECL 超敏发光液、活性氧检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司, 批号 PR1910、PE0010、S0033S); PVDF 膜(美国 Millipore 公司, 批号 0000201424)。

1.3 仪器 超净工作台(苏净集团安泰公司, 型号 BCM-1300); CO₂ 恒温培养箱(日本 SANYO 公司, 型号 MCO-15AC); 立式压力蒸汽灭菌器(江阴滨江医疗设备有限公司, 型号 Ls-B35L-I); 超纯水一体机(扬州森科科技有限公司, 型号 LabonovaDirect); 倒置荧光显微镜[蔡司科技(苏州)有限公司, 型号 Primovert]; 医用低速离心机(北京白洋离心机有限公司, 型号 160C); 制冰机(山东欧莱博仪器有限公司, 型号 IMS40); 电热恒温水槽、电热恒温培养箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂, 型号 SSW-600-2S、HPX-9052 MBE); 超微量分光光度计(瑞士 Mettler Toledo 公司, 型号 UV5Nano); PCR 仪、CFX96 荧光定量 PCR 仪、全能型成像仪(美国 Bio-Rad 公司, 型号 T100、CFX96、ChemiDoc MP Imaging System); 高速冷冻离心机(美国 Thermo Fisher 公司, 型号 Micro21R); 多功能酶标仪(美国 BioTek 公司, 型号 Synergy H1); 电泳仪(北京六一仪器厂有限公司, 型号 DYY-7C); 水平摇床(深圳沃德生命科技有限公司, 型号 WD-9405B); 倒置荧光显微镜(德国徕卡公司, 型号 DMI3000)。

2 方法

2.1 CCK8 法筛选甘草查尔酮 A 作用质量浓度 取对数生长期的 HaCaT 细胞, 以每孔 1×10⁴ 个的密度接种于 96 孔板, 37 ℃ 孵育 24 h, 分别加入 0、1.25、2.5、5、10、20、40、80 μg/mL 甘草查尔酮 A, 继续培养 24 h 后, 每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 37 ℃ 继续培养 2 h。取出培养板, 检测 450 nm 波长处光密度(OD)值, 并计算细胞存活率。

2.2 细胞处理与分组 CCK8 筛选得到甘草查尔酮 A 给药质量浓度为 5、10 μg/mL。将 HaCaT 细胞随机分为正常组、模型组(10 ng/mL TNF-α 和 10 ng/mL IFN-γ 联合处理)和甘草查尔酮 A 5、10 μg/mL 组, 甘草查尔酮 A 组先加入甘草查尔酮 A 预处理 1 h, 再用 TNF-α 和 IFN-γ 联合处理

24 h。处理结束后收集细胞, 按“2.1”项下方法检测 HaCaT 细胞活性。

2.3 ELISA 法检测细胞培养上清液 TNF-α、IL-6、IL-1β 水平 按“2.2”项下方法收集细胞培养上清液, 按照 ELISA 试剂盒说明书检测各组细胞上清液中炎症因子 TNF-α、IL-6、IL-1β 水平。

2.4 RT-qPCR 法检测 TNF-α、IL-6、IL-1β、MDC、RANTES、TARC mRNA 表达 按“2.2”项下方法收集 HaCaT 细胞, 在细胞内添加 1×PBS 溶液洗涤 2 次, 然后吸取 1 mL TRIzol 试剂添加到细胞内, 提取细胞总 RNA。由北京擎科生物科技股份有限公司依据荧光定量 PCR 引物设计原则设计并合成引物, 引物序列见表 1。参照逆转录试剂说明书进行逆转录获得 cDNA 产物, 置于-20 ℃ 冰箱中保存。按照试剂说明书进行扩增反应, 采用 2^{-ΔΔCT} 法对 RT-qPCR 结果进行分析。

表 1 引物序列

基因	引物序列
<i>β-actin</i>	正向 5'-CACCATTGGCAATGAGCGGTTTC-3' 反向 5'-AGGTCTTTTGCGGATGTCCACGT-3'
<i>TNF-α</i>	正向 5'-CTCTTCTGCGCTGCTGCACTTTG-3' 反向 5'-ATGGGCTACAGGCTTGCTCACTC-3'
<i>IL-6</i>	正向 5'-AGACAGCCACTCACCTCTTCAG-3' 反向 5'-TTCTGCCAGTGCCCTCTTTGCTG-3'
<i>IL-1β</i>	正向 5'-CCACAGACCTTCCAGGAGAATG-3' 反向 5'-GTGCAGTTCAGTGATCGTACAGG-3'
<i>RANTES</i>	正向 5'-CCTGCTGCTTTGCCTACATTGC-3' 反向 5'-ACACACTTGGCGGTTCTTTCCGG-3'
<i>TARC</i>	正向 5'-TTCTCTGCAGCACATCCACGCA-3' 反向 5'-CTGGAGCAGTCTCTCAGATGTCT-3'
<i>MDC</i>	正向 5'-TCCTGGGTTCAAGCGATTCTCC-3' 反向 5'-GTCAGGAGTTCAAGACCAGCCT-3'

2.5 Western blot 法检测 NF-κB/STAT3 信号通路相关蛋白及 TNF-α、IL-6 蛋白表达 按“2.2”项下方法收集 HaCaT 细胞, 将细胞取出后吸去培养液, 用预冷的 1×PBS 洗涤 2 次, 吸去 PBS, 采用 RIPA 裂解液提取蛋白, 通过 BCA 试剂盒进行蛋白定量, 将各组样品用 12% SDS-PAGE 电泳, 电转至 PVDF 膜。5% 脱脂奶粉溶液室温封闭 2 h, 洗膜 3 次, 分别加入兔抗 NF-κB p65、p-NF-κB p65、STAT3、p-STAT3、JAK1、p-JAK1、TNF-α、IL-6、β-actin 一抗(1:1 000), 在 4 ℃ 下孵育过夜, 洗膜 3 次, 加入辣根过氧化物酶标记二抗(1:10 000)室温孵育 1 h。洗膜 3 次后, 将膜放置在暗室中, 加入 ECL 发光液, 曝光, 以 β-actin 为内参蛋白, 采用 Image J 软件分析各蛋白条带灰度值。

2.6 DCFH-DA 荧光探针法检测细胞 ROS 水平 细胞按“2.2”项下方法处理后, 用 PBS 清洗 3 次, 每孔加入含 10 μmol/L DCFH-DA 的无血清培养基, 37 ℃ 避光孵育 20 min, 用无血清细胞培养基洗涤细胞 3 次, 使用荧光倒置显微镜观察细胞并拍照记录。

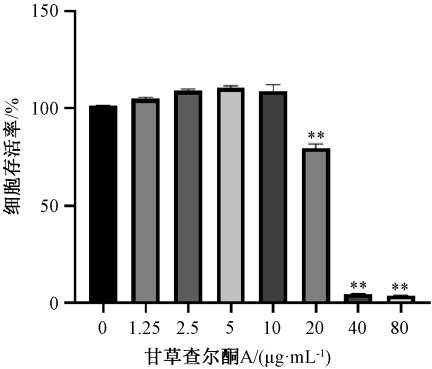
2.7 流式细胞仪检测 HaCaT 细胞凋亡情况 细胞按“2.2”项下方法处理后, 胰酶消化收集, 300×g 离心 5 min, 弃上

清, 用 1 mL 1×Annexin V binding buffer 洗涤 1 次, 300×*g* 离心 5 min, 弃上清。再用 100 μL 1×Annexin V binding buffer 重悬细胞, 每管加入 5 μL Annexin V-FITC 避光孵育 10 min, 然后每管再加入 5 μL PI 和 400 μL 1×Annexin V binding buffer 继续避光孵育 5 min, 1 h 内上机检测。

2.8 统计学分析 通过 GraphPad Prism 9.00 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。*P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

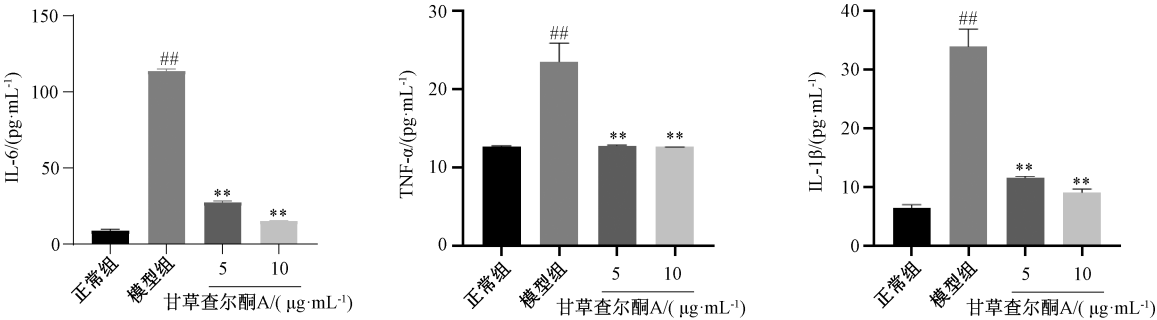
3 结果

3.1 甘草查尔酮 A 对 HaCaT 细胞活性的影响 如图 1 所示, 不同质量浓度甘草查尔酮 A 分别作用于 HaCaT 细胞 24 h 后, 与正常组 (0 μg/mL) 比较, 质量浓度为 20 μg/mL 时即出现细胞毒性作用 (*P* < 0.01), 因此选择质量浓度为 5、10 μg/mL 的甘草查尔酮 A 进行后续实验。



注: 与正常组 (0 μg/mL) 比较, ** *P* < 0.01。

图 1 甘草查尔酮 A 对 HaCaT 细胞活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 3)



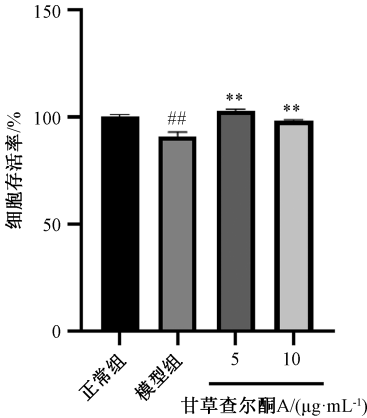
注: 与正常组比较, ## *P* < 0.01; 与模型组比较, ** *P* < 0.01。

图 3 甘草查尔酮 A 对 TNF-α 和 IFN-γ 联合诱导的 HaCaT 细胞炎症介质产生的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 3)

3.4 甘草查尔酮 A 对 TNF-α 和 IFN-γ 联合诱导的 HaCaT 细胞炎症因子和趋化因子 mRNA 表达影响 如图 4 所示, 与正常组比较, 模型组细胞 *TNF-α*、*IL-6*、*IL-1β*、*RANTES*、*TARC*、*MDC* mRNA 表达升高 (*P* < 0.01); 与模型组比较, 甘草查尔酮 A 各质量浓度组细胞 *TNF-α*、*IL-6*、*IL-1β*、*RANTES*、*TARC*、*MDC* mRNA 表达均降低 (*P* < 0.01)。

3.5 甘草查尔酮 A 对 TNF-α 和 IFN-γ 联合诱导的 HaCaT 细胞 NF-κB/STAT3 信号通路的影响 如图 5 所示, 与正常组比较, 模型组细胞 NF-κB p65、STAT3 和 JAK1 蛋白磷酸化水平升高 (*P* < 0.01); 与模型组比较, 甘草查尔酮 A 5

3.2 甘草查尔酮 A 对 TNF-α 和 IFN-γ 联合诱导 HaCaT 细胞活性的影响 如图 2 所示, 与正常组比较, 模型组细胞存活率降低 (*P* < 0.01); 与模型组比较, 甘草查尔酮 A 各质量浓度组细胞存活率均升高 (*P* < 0.01), 表明甘草查尔酮 A 对 TNF-α 和 IFN-γ 联合诱导后的 HaCaT 细胞炎症损伤具有一定的保护作用。



注: 与正常组比较, ## *P* < 0.01; 与模型组比较, ** *P* < 0.01。

图 2 甘草查尔酮 A 对 TNF-α 和 IFN-γ 联合诱导的 HaCaT 细胞活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 3)

3.3 甘草查尔酮 A 对 TNF-α 和 IFN-γ 联合诱导的 HaCaT 细胞炎症介质产生的影响 如图 3 所示, 与正常组比较, TNF-α 和 IFN-γ 联合诱导的 HaCaT 细胞培养上清液中 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 水平升高 (*P* < 0.01); 与模型组比较, 甘草查尔酮 A 各质量浓度组细胞培养上清液中 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 水平降低 (*P* < 0.01)。

μg/mL 组细胞 NF-κB p65、JAK1 蛋白磷酸化水平降低 (*P* < 0.01), 甘草查尔酮 A 10 μg/mL 组细胞 NF-κB p65、STAT3 和 JAK1 蛋白磷酸化水平均降低 (*P* < 0.01), 提示 TNF-α 联合 IFN-γ 刺激增强了 NF-κB/STAT3 信号通路的活化, 甘草查尔酮 A 处理抑制了 TNF-α 联合 IFN-γ 刺激的 HaCaT 细胞中的 NF-κB/STAT3 通路活化。

3.6 甘草查尔酮 A 对 TNF-α 和 IFN-γ 联合诱导的 HaCaT 细胞 TNF-α 和 IL-6 蛋白表达的影响 如图 6 所示, 与正常组比较, 模型组细胞 TNF-α 和 IL-6 蛋白表达升高 (*P* < 0.01); 与模型组比较, 甘草查尔酮 A 各质量浓度组细胞 TNF-α 和

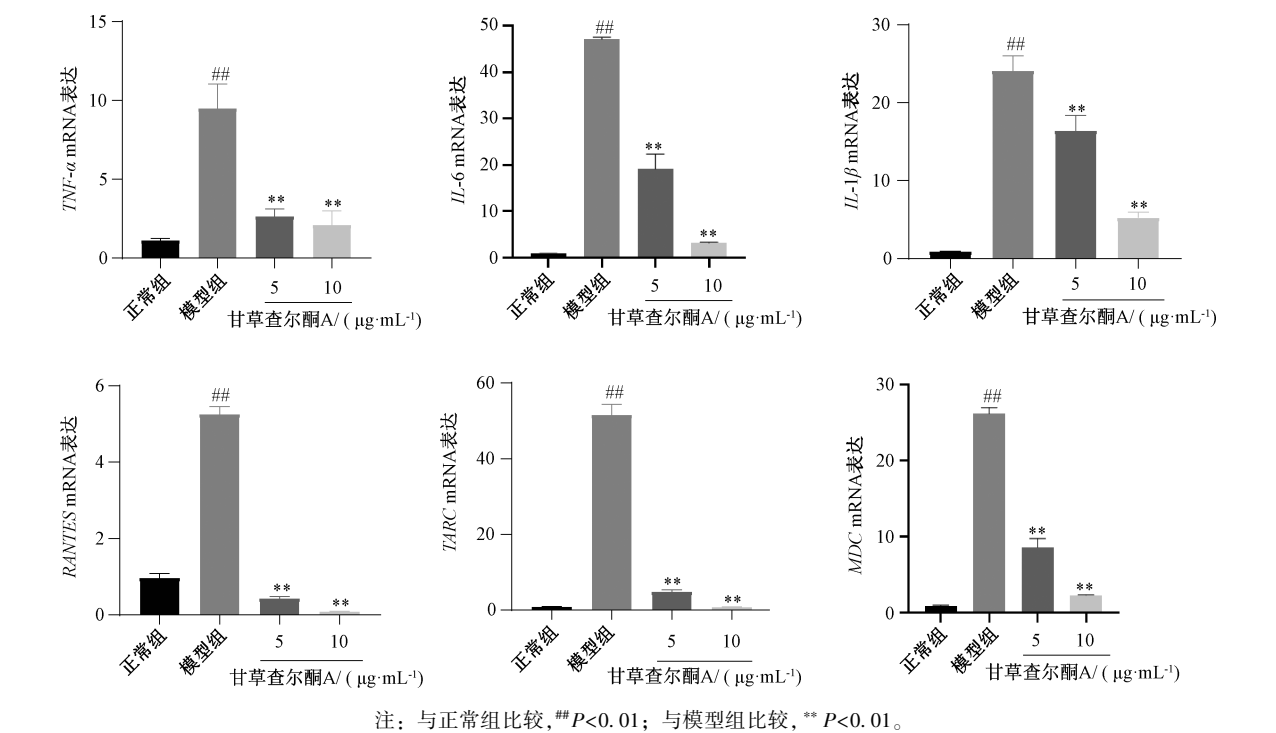


图 4 甘草查尔酮 A 对 TNF- α 和 IFN- γ 联合诱导的 HaCaT 细胞相关炎症因子和趋化因子 mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

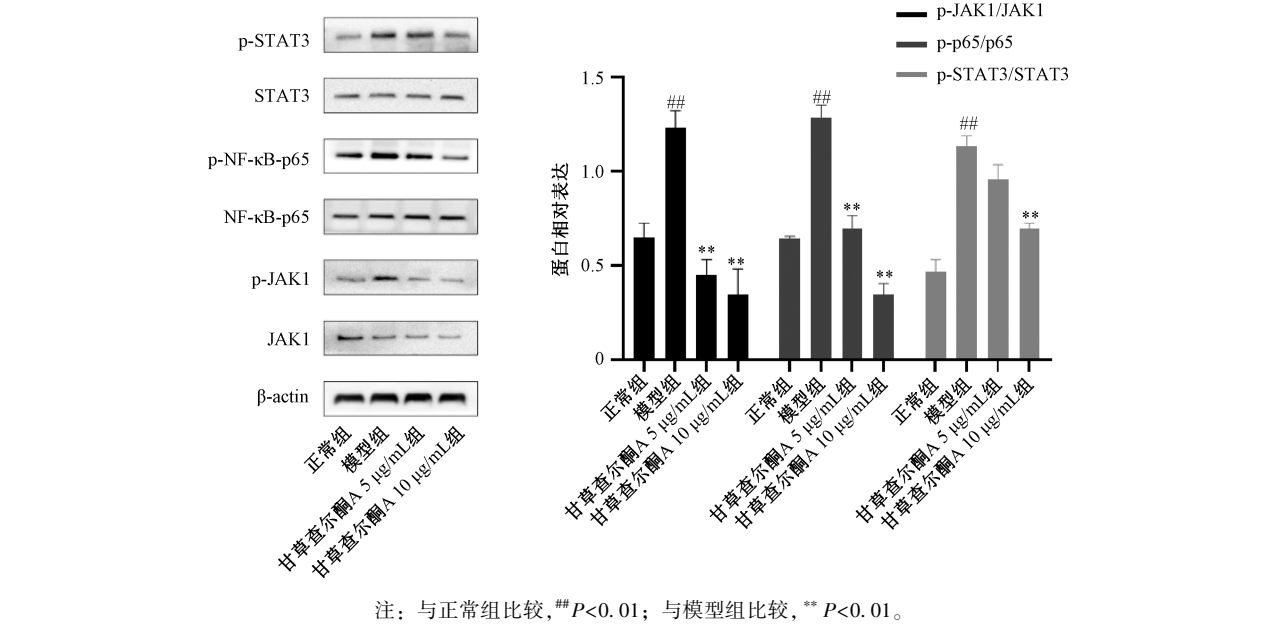


图 5 甘草查尔酮 A 对 TNF- α 和 IFN- γ 联合诱导的 HaCaT 细胞 NF- κ B/STAT3 信号通路的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

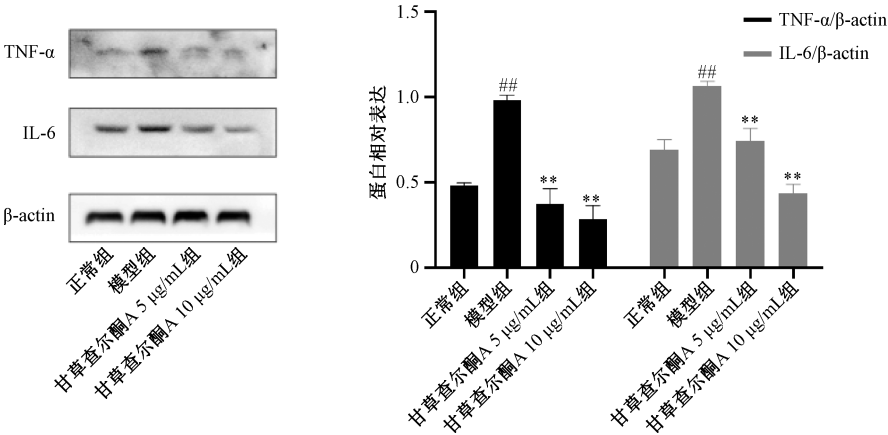
IL-6 蛋白表达降低 ($P<0.01$)。

3.7 甘草查尔酮 A 对 TNF- α 和 IFN- γ 联合诱导的 HaCaT 细胞中 ROS 水平的影响 如图 7 所示，与正常组比较，模型组绿色荧光逐渐增强，细胞内 ROS 水平升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，甘草查尔酮 A 各质量浓度组细胞 ROS 水平降低 ($P<0.01$)。

3.8 甘草查尔酮 A 对 TNF- α 和 IFN- γ 联合诱导的 HaCaT 细胞凋亡的影响 如图 8 所示，与正常组比较，模型组 HaCaT 细胞凋亡率升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，甘草查尔酮 A 各质量浓度组 HaCaT 细胞凋亡率降低 ($P<0.01$)。

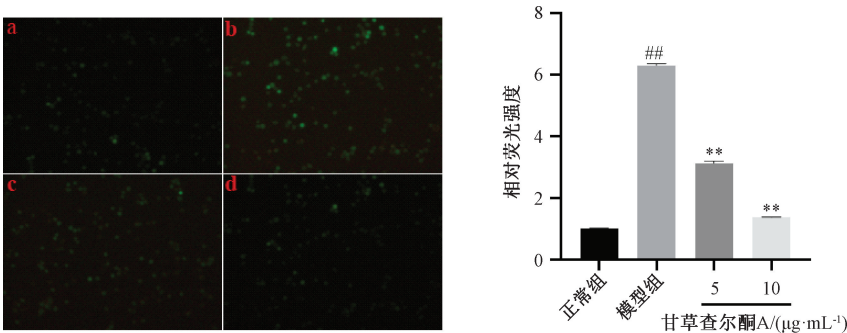
4 讨论

特应性皮炎是一种慢性、复发性的炎症性皮肤病，近年来，发病率出现持续升高的趋势^[8]，可导致失眠、睡眠障碍和心理疾病，降低患者的生活质量^[9]。甘草查尔酮 A 是甘草中的重要活性成分，具有抗炎、抗氧化、抑菌等药理作用^[10]，可用于治疗特应性皮炎，但目前作用机制尚不明确。本研究通过 CCK8 法检测了甘草查尔酮 A 对 HaCaT 细胞增殖的影响，发现 5、10 $\mu\text{g/mL}$ 甘草查尔酮 A 对



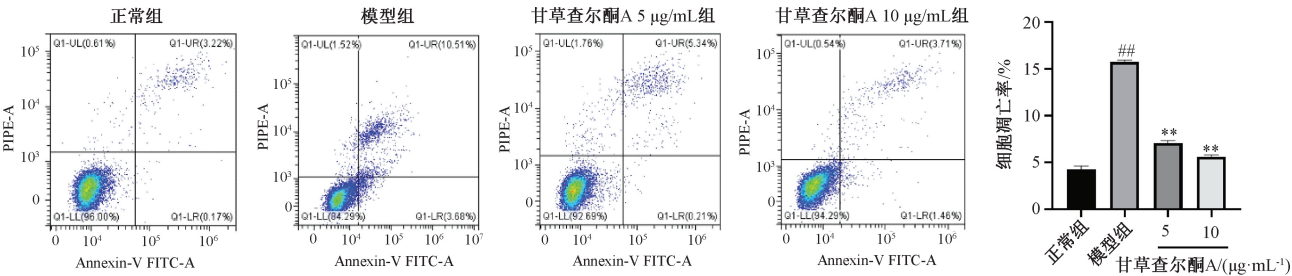
注：与正常组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

图 6 甘草查尔酮 A 对 TNF-α 和 IFN-γ 联合诱导的 HaCaT 细胞 TNF-α 和 IL-6 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)



注：与正常组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

图 7 甘草查尔酮 A 对 TNF-α 和 IFN-γ 联合诱导的 HaCaT 细胞中 ROS 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)



注：与正常组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

图 8 甘草查尔酮 A 对 TNF-α 和 IFN-γ 联合诱导的 HaCaT 细胞凋亡的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

HaCaT 细胞炎症损伤具有一定的保护作用。

TNF-α 和 IFN-γ 通过刺激表皮细胞激活多条信号转导通路，进而引发炎症^[11]。当表皮屏障受损时，角质形成细胞会受到刺激，导致炎症因子（IL-1β 和 IL-6）和趋化因子（TARC 和 MDC）过量表达^[12]。本研究结果发现，TNF-α 和 IFN-γ 可诱导 HaCaT 细胞分泌过量的 TNF-α、IL-6 和 IL-1β，并诱导细胞内相关炎症因子和趋化因子 mRNA 表达升高，上调 TNF-α、IL-6、p-NF-κB、p-STAT3 和 p-JAK1 蛋白表达，表明经 TNF-α 和 IFN-γ 刺激后，成功诱导了 HaCaT 细胞的炎症模型。

Janus 激酶（JAK）信号转导和转录激活因子（STAT）通路在调节特异性皮炎发病机制涉及的多个免疫轴中

2036

起着重要作用^[13-14]。JAK 还可以激活 NF-κB 信号通路，进一步导致炎症细胞因子的释放，加重炎症^[15]。NF-κB 是一种重要的转录调节因子，可调节参与多种靶标转录的免疫和炎症应答，包括参与免疫和炎症应答启动的炎症因子、趋化因子和生长因子^[16-17]。已有研究表明，IFN-γ 和 TNF-α 可以激活 NF-κB 信号通路，促进炎症因子和趋化因子的表达^[18]。且 NF-κB 在诱导 TARC/CCL17 和 MDC/CCL22 的产生中起关键作用^[19]。本研究发现甘草查尔酮 A 能够降低 JAK1、STAT3 和 NF-κB p65 的磷酸化水平，表明其可能通过抑制 JAK1/STAT3/NF-κB 信号通路改善炎症，从而减轻细胞炎症损伤，降低相关炎症因子 TNF-α、IL-6、IL-1β 和趋化因子 RANTES、TARC 和 MDC mRNA 表达，减少炎症因

子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的分泌。

正常水平的活性氧（ROS）作为重要的第二信使介导细胞反应，激活免疫细胞；但过多的 ROS 会诱发高氧化应激，导致细胞凋亡，加重特应性皮炎的病情^[20]。在特应性皮炎模型中，ROS 的产生会增加并激活多条信号通路，如 NF- κ B、JAK 和 STAT 等，促进炎症相关基因的转录和表达^[21]。本研究结果显示，甘草查尔酮 A 能够降低 ROS 水平，抑制细胞凋亡及下游通路的激活并减轻炎症反应。

综上所述，甘草查尔酮 A 可通过抑制 NF- κ B/STAT3 信号通路激活，降低相关炎症因子及 ROS 水平，从而改善 HaCaT 细胞的炎症反应，为甘草查尔酮 A 在治疗特应性皮炎方面的深入开发和临床应用提供参考。

参考文献：

[1] Avena-Woods C. Overview of atopic dermatitis[J]. *Am J Manag Care*, 2017, 23(8 Suppl): S115-S123.

[2] Chiesa Fuxench Z C, Block J K, Boguniewicz M, *et al.* Atopic dermatitis in America study: A cross-sectional study examining the prevalence and disease burden of atopic dermatitis in the US adult population [J]. *J Invest Dermatol*, 2019, 139 (3) : 583-590.

[3] Draeos Z, Nayak A, Pariser D, *et al.* Pharmacokinetics of topical calcineurin inhibitors in adult atopic dermatitis: A randomized, investigator-blind comparison [J]. *J Am Acad Dermatol*, 2005, 53(4): 602-609.

[4] Hussain Z, Thu H E, Shuid A N, *et al.* Phytotherapeutic potential of natural herbal medicines for the treatment of mild-to-severe atopic dermatitis: A review of human clinical studies[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 93: 596-608.

[5] Dawid-Pa $\acute{c}$ R. Medicinal plants used in treatment of inflammatory skin diseases [J]. *Postepy Dermatol Alergol*, 2013, 30 (3) : 170-177.

[6] Bisht D, Rashid M, Arya R K K, *et al.* Revisiting liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) as anti-inflammatory, antivirals and immunomodulators; Potential pharmacological applications with mechanistic insight [J]. *Phytomed Plus*, 2022, 2 (1) : 100206.

[7] Chen X, Liu Z, Meng R, *et al.* Antioxidative and anticancer properties of Licochalcone A from licorice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 198: 331-337.

[8] Torres T, Ferreira E O, Gon $\c$ alo M, *et al.* Update on atopic dermatitis. [J]. *Acta Med Port*, 2019, 32(9): 606-613.

[9] Silverberg J I, Gelfand J M, Margolis D J, *et al.* Patient burden and quality of life in atopic dermatitis in US adults: A

population-based cross-sectional study-ScienceDirect [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2018, 121(3): 340-347.

[10] Shu J, Cui X, Liu X, *et al.* Licochalcone A inhibits IgE-mediated allergic reaction through PLC/ERK/STAT3 pathway [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2022, 36: 1-10.

[11] Mehta N N, Teague H L, Swindell W R, *et al.* IFN- γ and TNF- α synergism may provide a link between psoriasis and inflammatory atherogenesis[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 13831.

[12] Qi X F, Kim D H, Yoon Y S, *et al.* The adenylyl cyclase-cAMP system suppresses TARC/CCL17 and MDC/CCL22 production through p38 MAPK and NF- κ B in HaCaT keratinocytes[J]. *Mol Immunol*, 2009, 46(10): 1925-1934.

[13] Wang L, Xian Y F, Loo S K F, *et al.* Baicalin ameliorates 2, 4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis-like skin lesions in mice through modulating skin barrier function, gut microbiota and JAK/STAT pathway [J]. *Bioorg Chem*, 2022, 119: 105538.

[14] Mohassab A M, Hassan H A, Abdelhamid D, *et al.* STAT3 transcription factor as target for anti-cancer therapy [J]. *Pharmacol Rep*, 2020, 72(5): 1101-1124.

[15] Platanitis E, Decker T. Regulatory networks involving STATs, IRFs, and NF κ B in Inflammation [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2542.

[16] Liu T, Zhang L, Joo D, *et al.* NF- κ B signaling in inflammation [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2017, 2 (1) : 17023.

[17] Liu X, Xing Y, Li M, *et al.* Licochalcone A inhibits proliferation and promotes apoptosis of colon cancer cell by targeting programmed cell death-ligand 1 *via* the NF- κ B and Ras/Raf/MEK pathways [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 273: 113989.

[18] Aggarwal B B. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword [J]. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3 (9) : 745-756.

[19] Ju S M, Song H Y, Lee S J, *et al.* Suppression of thymus- and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) production by 1, 2, 3, 4, 6-penta-*O*-galloyl-b-d-glucose *via* blockade of NF- κ B and STAT1 activation in the HaCaT cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 387(1): 115-120.

[20] Brieger K, Schiavone S, Miller F J, *et al.* Reactive oxygen species: from health to disease [J]. *Swiss Med Wkly*, 2012, 142: w13659.

[21] Yan C, Ying J, Lu W, *et al.* MiR-1294 suppresses ROS-dependent inflammatory response in atopic dermatitis *via* restraining STAT3/NF- κ B pathway [J]. *Cell Immunol*, 2022, 371: 104452.