

血根碱对脂多糖致 H9c2 细胞氧化损伤的改善作用

王玲¹, 干学东^{2*} (1. 武汉大学医院内科, 武汉 430072; 2. 武汉大学中南医院, 武汉 430071)

摘要: 目的 观察血根碱(sanguinarine, SAN)对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的 H9c2 细胞氧化应激的影响, 并对其与 HO-1/NOX2 途径之间的关系进行探讨。方法 不同因素干预 H9c2 细胞后, 采用细胞活性试剂盒检测不同浓度 SAN 和/或 LPS 对 H9c2 细胞生存的影响; 酶标仪及荧光显微镜检测 SAN 对 LPS 诱导细胞产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)的影响; Real time RT-PCR 检测 SAN 对 LPS 诱导的 *NOX2*、*P47PHOX*、*HO-1*、*SOD1*、*SOD2* 基因表达的影响; MDA 检测试剂盒检测 MDA 的变化。结果 单用 SAN 对 H9c2 细胞活性无影响, LPS 可显著降低细胞活性, 而 SAN 与 LPS 共同干预则可呈浓度依赖性地提高细胞活性, 降低 ROS 产生。LPS 处理 12 h 上调 H9c2 细胞 *NOX2*、*p47phox* mRNA 表达、下调 *HO-1* mRNA 表达; SAN 预处理后, 细胞内 *NOX2*、*p47phox* mRNA 下调、*HO-1* mRNA 上调, 而 SAN 与锌原卟啉 IX 预处理则可逆转这种现象。SAN 上调 *SOD1* 及 *SOD2* mRNA 表达, 降低 MDA 产生。结论 SAN 可通过活化 HO-1/NOX2 途径, 抑制 ROS 的产生, 从而使 H9c2 细胞免受 LPS 介导的损伤, 提高细胞活力。

关键词: 血根碱; 脂多糖; 氧化应激; 活性氧; H9c2 细胞

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2018)10-1451-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.10.004

引用本文: 王玲, 干学东. 血根碱对脂多糖致 H9c2 细胞氧化损伤的改善作用[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(10): 1451-1456.

Sanguinarine Attenuates H9c2 Cardiomyocytes Oxidative Stress *in Vitro* Induced by Lipopolysaccharide

WANG Ling¹, GAN Xuedong^{2*} (1. Department of Internal Medicine, Hospital of Wuhan University, Wuhan 430072, China; 2. Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the efficiency of sanguinarine(SAN) acting on oxidative stress of H9c2 cell *in vitro* induced by lipopolysaccharide(LPS), and investigate its relationship with HO-1/NOX2 pathway. **METHODS** After H9c2 cells received intervention by different factors, cell growth was determined by CCK8 assay, reactive oxygen species(ROS) generation was detected by a Micro plate reader and Fluorescence microscopy, the mRNA expression of *NOX2*, *P47PHOX*, *SOD1*, *SOD2* and *HO-1* were determined by real time RT-PCR, MDA detection kit was determined to test the change of MDA. **RESULTS** SAN alone had no effect on cell activity; LPS reduced cell viability significantly, while co-treated the H9c2 cells with SAN and LPS could reverse this condition, improve cell activity and reduce ROS; the mRNA expression of *NOX2*, *p47phox* were increased and *HO-1* decreased after LPS treated for 12 h, pre-treated with SAN, the mRNA expression of *NOX2*, *p47phox* were decreased and *HO-1* was increased, while, pre-treated with SnPPIX and SAN could reverse this condition. SAN could increase the mRNA expression of *SOD1* and *SOD2*, decrease the MDA level. **CONCLUSION** SAN inhibits the ROS generation induced by LPS via activate the HO-1/NOX2 pathway and also enhance ROS scavenging ability of H9c2 cell, and enhance the cell activity in the end.

KEY WORDS: sanguinarine; lipopolysaccharide; oxidative stress; SOD; H9c2 cell

败血症是指致病菌侵入血循环引起全身系统性的炎症反应, 继而引发进展性的多器官功能障碍, 在世界范围内的发病率和死亡率均较高^[1], 属于临床危急重症。革兰阴性杆菌细胞壁的脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是内毒素的主要成分, 是革兰阴性杆菌造成败血症或脓毒性休克最重要的致病因素。LPS 引发的感染性心功能不全在感染性休克中较为常见, 同时也是导致死亡率增加的主要原因^[2]。既往大量研究证实, 改善败血症患

者的心功能可大大提高患者生活质量, 降低死亡率^[3], 而活性氧(reactive oxygen species, ROS)则在败血症相关的心肌功能障碍中起着举足轻重的作用^[4-5]。

LPS 可增加心肌细胞 NADPH 氧化酶的表达, 产生大量的 ROS, 继而破坏线粒体, 而线粒体也是 ROS 产生的主要细胞器, 线粒体受损后产生的 ROS 对线粒体产生二次损伤, 因此 LPS 导致的心肌细胞氧化损伤是心肌损伤的重要机制^[5-6]。血红

作者简介: 王玲, 女, 硕士 Tel: 18995607183 E-mail: wangling012345678@126.com
医师 Tel: 13971487929 E-mail: dhgxd319@163.com

*通信作者: 干学东, 男, 博士, 副主任

素加氧酶-1(HO-1)具有抗氧化作用,其过表达可使各种体内外模型免受氧化应激损伤。

血根碱(sanguinarine, SAN, $[C_{20}H_{14}NO_4]^+$)来源于罂粟科植物博落回的果实,具有杀菌、抗增殖、抗炎、抗氧化应激和增加免疫力的功效^[7]。近年来研究显示, SAN 可以通过增加细胞凋亡、抑制细胞增殖从而发挥抗肿瘤作用^[8-9]。研究发现, SAN 通过调节 COX-2 能够保护 LPS 诱导的内毒素性休克^[7]; 研究还发现, SAN 能够保护血管紧张素 II 刺激引起的心肌细胞凋亡^[3]; 研究人员还证实, SAN 在多种模型中具有广泛抗氧化应激的作用^[7-9]。但是, SAN 是否能在心肌细胞中抑制 LPS 诱导的氧化应激, 目前还没有研究报道。本研究采用 LPS 诱导 H9c2 细胞造成感染性心功能不全的模式, 研究 SAN 是否可通过 HO-1/NOX2 途径改善 LPS 诱导的 H9c2 细胞氧化损伤, 从而改善心功能不全。

1 材料与方法

1.1 材料

SAN(上海融禾医药科技发展有限公司, 批号: 5578-73-4; 纯度 $\geq 98\%$); DMEM basic 培养基、新生小牛血清(NBS)、双抗(Penicillin Streptomycin, PS)、胰酶均购自 Gibco; 2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐(2',7'-dichlorofluorescein diacetate, DCFH-DA)、LPS 购自 Sigma; 细胞毒性检测试剂盒(Cell Counting Kit assay, CCK-8)购自日本同仁化学研究所; RT-PCR 试剂盒购自 Roche; 细胞 MDA 检测试剂盒购自南京建成; 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)购自 Thermo Scientific; 锌原卟啉 IX(SnPPIX)购自美国 Tocris Bioscience 公司。

1.2 仪器

Synergy HT 多功能微孔板检测系统(美国 BioTek 公司); 恒温培养箱(日本 Sanyo 公司); NANODROP 2000c 紫外分光光度计(Thermo scientific); Veriti 96 well Thermal Cycler RT 反转录仪器(Applied Biosystems 公司); Light Cycler 480 实时定量 PCR 仪(Roche 公司); DP72 倒置相差显微镜(日本 Olympus)。

1.3 细胞

大鼠 H9c2 细胞系(中科院上海细胞库), 细胞培养在 37 °C 恒温、5%的 CO₂ 培养箱中; 培养细胞所用的培养基成分为 DMEM basic+10% FBS+

1% PS, 当细胞密度铺满 80%的培养皿底($2 \times 10^5 \cdot mL^{-1}$)时, 采用 0.25%胰酶消化后进行传代。在对细胞采取刺激因素之前, 将培养细胞所用的基础培养基更换为无血清培养基(DMEM basic+0.5% PS)行饥饿处理 18 h, 以减少血清对刺激因素的影响, 同时饥饿处理也可使所有细胞处于同步化。

1.4 分组

实验分空白对照组、LPS 10 $\mu g \cdot mL^{-1}$ 组、LPS 10 $\mu g \cdot mL^{-1}$ +SAN 0.25 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 组、LPS 10 $\mu g \cdot mL^{-1}$ +SAN 0.5 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 组、LPS 10 $\mu g \cdot mL^{-1}$ +SAN 1 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 组、LPS 10 $\mu g \cdot mL^{-1}$ +SAN 0.25 $\mu mol \cdot L^{-1}$ +SnPPIX 10 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 组和 SAN 1 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 组。

1.5 细胞毒性实验

采用 CCK-8 毒性检测试剂盒对不同刺激条件下细胞的活力进行检测。细胞被接种至 96 孔板中, 每孔 100 μL , 密度大约为 $2 \times 10^5 \cdot mL^{-1}$, 置于恒温箱继续培养 24 h。将培养基更换为无血清的培养基饥饿 18 h。采用不同处理因素干预 12 h 后, 将 96 孔板中的培养基换为含有 10 μL CCK-8 的无血清培养基 100 μL , 继续在恒温箱中孵育 2~2.5 h 后置酶标仪下(波长 450 nm)检测。

1.6 ROS 检测

将细胞等密度的接种至 96 孔板中, 每孔 100 μL , 密度大约为 $2 \times 10^5 \cdot mL^{-1}$, 置于恒温箱继续培养 24 h 后将培养基更换为无血清的培养基饥饿 18 h, 采用不同处理因素干预 6 h, 将 96 孔板中的培养基换为含有 10 $\mu mol \cdot L^{-1}$ DCFH-DA 的培养基继续孵育 20 min, 之后将培养基吸出, 使用 PBS 清洗 96 孔板 3 次, 以排除未进入细胞内部的 DCFH-DA 的干扰, 最后再次加入 PBS 100 μL , 置于酶标仪下检测, 激发光波长为 485 nm, 发射光波长为 525 nm。ROS 水平(倍数)=干预组荧光值/对照组荧光值。

采用不同的干预因素刺激 6 h 后, 将 24 孔板中的培养基换为含有 10 $\mu mol \cdot L^{-1}$ DCFH-DA 的培养基继续孵育 20 min, 用 PBS 清洗 3 遍后将爬片捞出, DAPI 封片后使用荧光显微镜进行观察。

1.7 Real-time RT-PCR

细胞以不同因素处理后, 弃去培养基, 以 TRIzol 法提取细胞总的 RNA, 采用 UV 测定其含量与纯度。取大约 5 μg 总 RNA 逆转录为 cDNA。以 GAPDH 为内参照, 采用 20 μg 体系进行 PCR 扩增。反应条件为: Cycle 94 °C 2 min; 25~

35 Cycles 94 °C 40 s, 50~65 °C 40 s, 72 °C 1 min; Cycle 72 °C 5 min. 所用的引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequence

基因	引物	序列 5'-3'
SOD1	SOD1-F	GCGTCATTCACCTTCGAGCAGA
	SOD1-R	GGACCGCCATGTTTCTTAGAGT
SOD2	SOD2-F	AGCCTCCCTGACCTGCCTTA
	SOD2-R	CGCCTCGTGGTACTTCTCCTC
NOX2	NOX2-F	TGAATCTCAGGCCAATCACCATT
	NOX2-R	AATGGTCTTGAACCTCGTTATCCC
P47PHOX	P47phox-F	CCTTCATTCGCCACATCA
	P47phox-R	CATCATACCACCTGGGAGC
HO-1	HO-1-F	CGCATGAACACTCTGGAGATG
	HO-1-R	TGTGAGGGACTCTGGTCTTTGT
GAPDH	GAPDH-F	GACATGCCGCTGGAGAAAC
	GAPDH-R	AGCCAGGATGCCCTTTAGT

1.8 细胞内 MDA 含量测定

细胞经过不同因素处理后, 弃去上清, 用细胞刮将细胞刮下, 将其转移至 1.5 mL 离心管中, 按照试剂盒说明对样本进行处理后采用酶标仪进行读数(波长 530 nm), 计算公式为: MDA(倍数)=OD(干预组)/OD(对照组)。

1.9 统计学方法

应用 SPSS 17.0 统计软件包进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间均数比较采用单因素方差分析, 组间两两均数比较采用 S-N-K 法(方差齐)或 Dunnett's T3(方差不齐)检验, $P < 0.05$ 为差异具有显著性。

2 结果

2.1 SAN 可增加细胞活性

不同处理因素干预 12 h, CCK8 结果显示, 与空白对照组相比, 不同浓度 SAN 单独干预 H9c2 细胞对其活力无影响; LPS 干预 H9c2 细胞后引起细胞活性显著下降($P < 0.01$), SAN 与 LPS 同时干预 H9c2 细胞则可呈现浓度依赖性地提高细胞活性($P < 0.01$)。见图 1。

2.2 SAN 可降低 LPS 诱导的 ROS

与空白对照组相比, LPS 处理 6 h 后可显著增加 H9c2 中 ROS 水平($P < 0.01$), 而 SAN 与 LPS 同时作用细胞则可显著抑制 ROS 的产生($P < 0.01$), 且 SAN 的这种抑制作用具有浓度依赖性, SAN 单独干预 H9c2 细胞则对 ROS 的表达无影响。见图 2。

与空白对照组相比, LPS 干预 30, 60, 120 min 可逐级增加细胞内 ROS 水平; 而 SAN 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 LPS 同时作用于细胞 60, 120 min 所产生的 ROS 水平则显著低于同期单 LPS 干预组。见图 2。

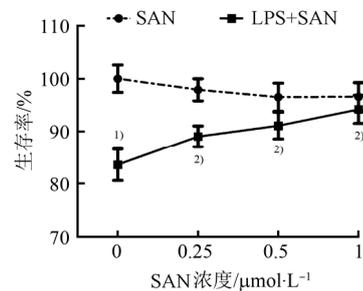


图 1 SAN 可增加细胞活性

与空白对照组相比, ¹⁾ $P < 0.01$, 与 LPS 组相比, ²⁾ $P < 0.01$ 。

Fig. 1 Effects of SAN on cell activity

Compared with normal control group, ¹⁾ $P < 0.01$; compared with LPS group, ²⁾ $P < 0.01$.

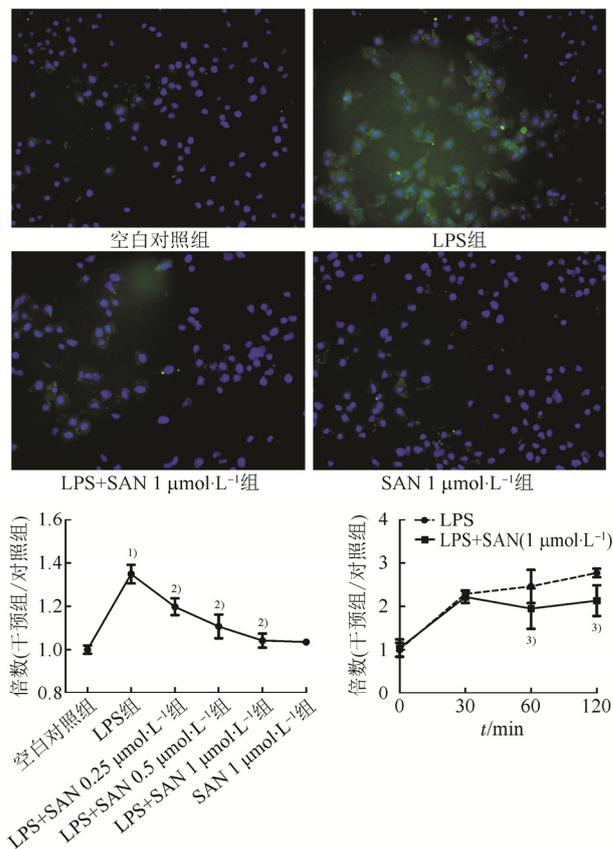


图 2 SAN 可抑制 ROS 的产生

与空白对照组相比, ¹⁾ $P < 0.01$, 与 LPS 组相比, ²⁾ $P < 0.01$; 与同时时间点 LPS 组相比, ³⁾ $P < 0.01$ 。

Fig. 2 Effects of SAN on ROS generation

Compared with normal control group, ¹⁾ $P < 0.01$; compared with LPS group, ²⁾ $P < 0.01$; compared with the LPS group at the same time point, ³⁾ $P < 0.01$.

2.3 SAN 对 NOX2、p47phox 和 HO-1 mRNA 水平的影响

Real time RT-PCR 结果显示, LPS 作用 12 h 后, H9c2 细胞中 NOX2 及其亚单位 p47phox 的 mRNA 水平均显著增高($P<0.01$), HO-1 的 mRNA 水平显著下降($P<0.01$); SAN $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 LPS 同时作用则可显著抑制 NOX2 及 p47phox 的表达($P<0.01$), 上调 HO-1 mRNA 表达($P<0.01$), 联合 SAN 和 SnPPIX 预处理组与 LPS+SAN 组相比, NOX2 与 p47phox mRNA 表达上调($P<0.01$), 而 HO-1 的 mRNA 表达水平则下调($P<0.01$)。见图 3。

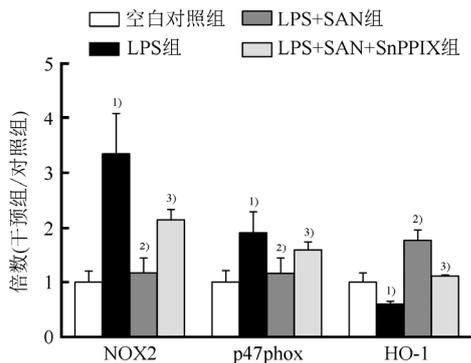


图 3 SAN 对 NOX2、p47phox 和 HO-1 mRNA 水平的影响与空白对照组相比, ¹⁾ $P<0.01$, 与 LPS 组相比, ²⁾ $P<0.01$, 与 LPS+SAN 组相比, ³⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 3 Effects of SAN on mRNA levels of NOX2, p47phox and HO-1

Compared with normal control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with LPS group, ²⁾ $P<0.01$; compared with LPS+SAN group, ³⁾ $P<0.01$.

2.4 SAN 增加 H9c2 细胞的抗氧化能力

LPS 干预细胞 12 h 后, 细胞内 SOD1、SOD2 mRNA 水平显著下降($P<0.01$); SAN $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 LPS 同时干预 H9c2 细胞后, SOD1、SOD2 的 mRNA 水平则呈显著上调($P<0.01$)。见图 4。

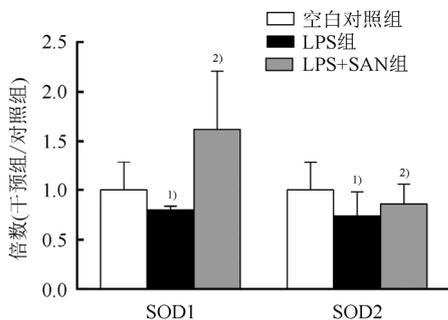


图 4 SAN 对细胞抗氧化应激能力的影响与空白对照组相比, ¹⁾ $P<0.01$, 与 LPS 组相比, ²⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 4 Effects of SAN on antioxygenic ability Compared with normal control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with LPS group, ²⁾ $P<0.01$.

2.5 SAN 可降低细胞损伤

LPS 干预细胞 12 h 后, 细胞内 MDA 含量显著增加($P<0.01$); 而 SAN 与 LPS 同时作用则可降低 MDA 的含量($P<0.01$)。见图 5。

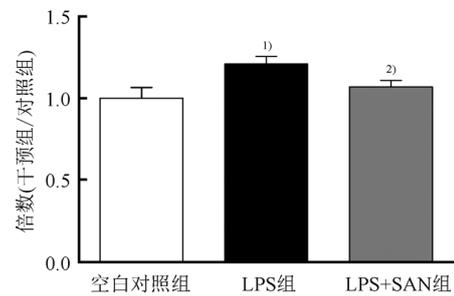


图 5 SAN 对细胞损伤的影响与空白对照组相比, ¹⁾ $P<0.01$, 与 LPS 组相比, ²⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 5 Effects of SAN on cell damage Compared with normal control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with LPS group, ²⁾ $P<0.01$.

3 讨论

本研究结果显示, LPS 可引起细胞内 ROS 及细胞脂质过氧化物 MDA 水平显著上升, 心肌细胞膜的 NADPH 氧化酶 NOX2 及其亚单位 p47phox 的基因表达也显著上调, 而 SOD1、SOD2 及 HO-1 的下调则说明 H9c2 细胞的抗氧化能力下降; SAN 干预可抑制细胞 ROS 的产生、降低 MDA 水平, NOX2 与 p47phox 的基因表达及细胞的抗氧化指标 SOD1、SOD2 及 HO-1 均显著上调。这些结果均提示, SAN 可抑制 LPS 诱导的 H9c2 细胞氧化应激损伤反应。

3.1 ROS 与心肌细胞炎症及凋亡的关系

ROS 在体内少量存在, 对维持机体的正常生理功能发挥着重要作用。败血症发生时, 细菌在血液中产生大量的内毒素, 通过调节心脏中 NADPH 氧化酶、黄嘌呤氧化酶和对线粒体的直接损伤以及二次损伤作用产生大量的 ROS, 进而对心肌的其他细胞器、蛋白、细胞核以及细胞膜造成损伤, 继而引起细胞炎症或凋亡^[10]。本研究结果显示, LPS 可以引起细胞内 ROS 的产生, 抑制细胞活性。国内外的一些研究证实, 给予 LPS 诱导的 H9c2 细胞抗氧化应激药物处理后, 可抑制 NF- κ B 的核转位, 改善炎症反应, 减少细胞的凋亡, 降低 LPS 诱导的小鼠心肌组织氧化损伤^[4-5,11]。

3.2 SAN 的药理作用

SAN 属苜蓿基异喹啉类生物碱, 其药效作用主

要包括抗菌、杀虫、抗氧化、增强免疫力、改善肝脏功能等作用^[12]。近些年的研究发现，SAN 作用于肿瘤细胞如卵巢癌、结肠癌、前列腺癌等，可发挥强有力的促肿瘤细胞氧化应激及凋亡的作用，从而抑制肿瘤细胞生长、转移和浸润，促进其凋亡^[8,13]。在心血管系统中，吴茂旺等^[14]研究发现 SAN 能影响心肌细胞中 Ca^{2+} 的流动，诱导心肌细胞凋亡，此外，SAN 还可以加强心脏活动，发挥外周抗肾上腺素交感神经的作用，但笔者所在课题组之前的研究发现^[15]，SAN 可通过抑制 NF- κ B 信号通路从而显著改善压力负荷诱导的心室重构，这与吴茂旺的研究相悖，需要再次实验证实。

3.3 SAN 通过抑制 HO-1/NOX2 进而抑制 ROS 的产生

LPS 或内毒素诱导的心肌细胞炎症反应主要通过位于心肌细胞膜上的 TLR4 受体以及下游的 NF- κ B 信号通路来传导，而心肌细胞中 NADPH 氧化酶的激活以及产生的大量 ROS 是 TLR4 受体活化的前提和必要条件^[16]。NADPH 氧化酶的 NOX 家族是许多非吞噬细胞中 ROS 的主要来源，生理情况下，机体通过此种途径产生的 ROS 主要参与维持机体正常的生理功能以及细胞内信号传导^[17]。当细胞受到刺激时，NOX 家族表达上调，ROS 大量产生，从而诱导机体发生病变。在心肌细胞中主要有 NOX2 及 NOX4，两者任一表达上调均引起的心肌细胞内 ROS 水平上调，从而发挥调控心肌细胞肥大、凋亡、纤维化以及线粒体功能障碍的作用^[18]。此外，HO-1 在各种氧化应激情况下均可被诱导激活，催化血红素降解，产物都有抗氧化损伤功能，在许多疾病如败血症和动脉粥样硬化中发挥着重要的保护作用，在血管平滑肌中，HO-1 过表达可抑制 NADPH 氧化酶的活性，减轻心血管疾病的氧化应激，本研究证明 HO-1 可调节 NOX2 的基因表达水平，SAN 对细胞损伤的保护作用可被 HO-1 抑制剂 SnPPiX 抑制，HO-1 表达水平的上调可有效减轻 LPS 诱导的 H9c2 细胞氧化应激损伤，显著引起 NOX2 及位于细胞质内的调节亚基 p47phox mRNA 的表达下调。因此，笔者推断，SAN 可通过抑制心肌细胞中 HO-1/NOX2 继而发挥抗 ROS 的作用，从而提高细

胞活性。

3.4 SAN 通过增加细胞抗氧化应激能力清除过多的 ROS

正常机体存在各种抗氧化酶和小分子抗氧化剂，具有直接对抗 ROS 的作用。SOD 在体内广泛分布，是人体防御内外环境中超氧离子损伤的重要酶。哺乳动物细胞有 3 种 SOD 同工酶，在细胞外、细胞质中的 SOD，其活性中心含 Cu/Zn 离子，称 SOD1(Cu/Zn-SOD)，线粒体中的 SOD 活性中心含 Mn^{2+} ，成为 SOD2(Mn-SOD)。本研究结果显示，LPS 可大大降低 H9c2 细胞中抗氧化指标 SOD1、SOD2 的水平，而 SAN 与 LPS 同时作用则可逆转这种现象。说明 SAN 可显著增加 H9c2 细胞的总体抗氧化能力，胞浆和线粒体中清除 ROS 的能力显著增强，也进一步降低了 ROS 对线粒体的损伤，进一步减少 ROS 对细胞的损伤，从而提高细胞活力。

本研究结果显示，SAN 可减少 LPS 诱导产生的 ROS，同时又可增强 H9c2 细胞清除 ROS 的能力，降低 ROS 对细胞的损伤，为进一步探讨 SAN 的临床治疗提供基础实验研究证据。但本研究未能进一步明确线粒体的电位变化，未能阐明 SAN 改善细胞活力，降低 ROS 下游信号通路的机制，也未能阐明 SAN 对其他抗氧化分子的作用。接下来的实验需要继续深入探讨 SAN 对 H9c2 细胞作用的具体信号传导通路，以及与凋亡、炎症的具体关系。

REFERENCES

- [1] ANGUS D C, PEREIRA C A, SILVA E. Epidemiology of severe sepsis around the world [J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2006, 6(2): 207-212.
- [2] MERX M W, WEBER C. Sepsis and the heart [J]. *Circulation*, 2007(116): 793-802.
- [3] ZHOU H, QIAN J, LI C, et al. Attenuation of cardiac dysfunction by HSPA12B in endotoxin-induced sepsis in mice through a PI3K-dependent mechanism [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 89(1): 109-118.
- [4] 刘丹, 尹东, 曾妹, 等. 川芎嗪对 LPS 致心肌细胞损伤的影响及机制研究 [J]. *中国药理学通报*, 2012, 28(11): 1531-1535.
- [5] 刘玲, 刘新伟, 梁灿鑫, 等. 白藜芦醇对脂多糖诱导的 H9c2 心肌细胞损伤的影响 [J]. *中国医科大学学报*, 2013, 42(4): 339-343.
- [6] ZHANG Z H, YU Y, WEI S G, et al. Centrally administered lipopolysaccharide elicits sympathetic excitation via NAD(P)H oxidase-dependent mitogen-activated protein kinase signaling

- [J]. *J Hypertens*, 2010, 28(4): 806-816.
- [7] CHATURVEDI M M, KUMAR A, DARNAY B G, et al. Sanguinarine (pseudochelerythrine) is a potent inhibitor of NF-kappaB activation, IkappaBalpha phosphorylation, and degradation [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(48): 30129-30134.
- [8] AHMAD N, GUPTA S, HUSAIN M M, et al. Differential antiproliferative and apoptotic response of sanguinarine for cancer cells versus normal cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(4): 1524-1528.
- [9] BURGEIRO A, BENTO A C, GAJATE C, et al. Rapid human melanoma cell death induced by sanguinarine through oxidative stress [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 705(1-3): 109-118.
- [10] FERNANDES C J J R, DE ASSUNCAO M S. Myocardial dysfunction in sepsis: a large, unsolved puzzle [J]. *Crit Care Res Pract*, 2012(2012): 896430.
- [11] SEBAI H, SANI M, AOUBANI E, et al. Cardioprotective effect of resveratrol on lipopolysaccharide-induced oxidative stress in rat [J]. *Drug Chem Toxicol*, 2011, 34(2): 146-150.
- [12] CHATURVEDI M M, KUMAR A, DARNAY B G, et al. Sanguinarine (pseudochelerythrine) is a potent inhibitor of NF-kappaB activation, IkappaBalpha phosphorylation, and degradation [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(48): 30129-30134.
- [13] BURGEIRO A, BENTO A C, GAJATE C, et al. Rapid human melanoma cell death induced by sanguinarine through oxidative stress [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 705(1-3): 109-118.
- [14] WU M W, ZHU J H, ZHANG D Y, et al. Activity of Ca^{2+} .Mg²⁺-ATPase and SDH in myocardium of rat induced by macleaya cordata and ultrastructures [J]. *Chin J Foreign Med(中国法医学杂志)*, 2008, 23(3): 154-156.
- [15] DENG W, FANG Y, LIU Y, et al. Sanguinarine protects against pressure overload-induced cardiac remodeling via inhibition of nuclear factor-kappaB activation [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(1): 211-216.
- [16] PAWATE S, SHEN Q, FAN F, et al. Redox regulation of glial inflammatory response to lipopolysaccharide and interferon gamma [J]. *J Neurosci Res*, 2004, 77(4): 540-551.
- [17] HAN X Y. NOX family of NADPH oxidase and diseases [J]. *J Inter Pathol Clin Med(国际病理科学与临床杂志)*, 2010, 33(6): 513-517.
- [18] NABEEBACCUS A, ZHANG M, SHAH A M. NADPH oxidases and cardiac remodelling [J]. *Heart Fail Rev*, 2011, 16(1): 5-12.

收稿日期: 2017-11-13
(本文责编: 曹粤锋)