

· 论著 ·

藜生马先蒿苯乙醇苷通过激活 mTOR 信号通路改善高原记忆损伤

汪涛¹, 周保柱^{1,3}, 邱彦², 李茂星³, 刘延彤³ (1. 解放军 105 医院药剂科, 安徽 合肥 230031; 2. 解放军 454 医院药剂科, 江苏 南京 210002; 3. 兰州军区兰州总医院药剂科, 甘肃 兰州 730050)

[摘要] **目的** 探讨藜生马先蒿苯乙醇苷(phenylethanoid glycosides, PhGs)改善高原记忆损伤的机制,明确其是否通过激活 mTOR 信号通路来实现的。**方法** 清洁级雄性 Wistar 大鼠 60 只,随机分为常氧对照组、缺氧组、PhGs 低、中、高剂量组(50、200、400 mg/kg 灌胃给药),常氧对照组和缺氧组给予等体积的灭菌注射用水,连续给药 7 d。给药第 4 天,缺氧组和 PhGs 低、中、高剂量组置于大型低压氧舱模拟高原低压低氧环境(7 500 m, 3 d)。采用 SYBR Green 实时定量聚合酶链式反应(PCR)检测海马组织中 mTOR、P70S6K 和 4E-BP1 mRNA 表达;蛋白质印迹法(Western blot)检测海马组织中 p-mTOR、p-P70S6K 和 p-4E-BP1 蛋白表达。**结果** 与常氧对照组比较,缺氧组海马组织中 mTOR、P70S6K mRNA 表达分别下调达 22.50%、26.00% ($P < 0.05$, $P < 0.01$),4E-BP1 mRNA 表达上调达 41.28% ($P < 0.01$);p-mTOR 和 p-P70S6K 蛋白表达分别降低 42.28% 和 11.70% ($P < 0.05$, $P < 0.01$),p-4E-BP1 蛋白表达升高 111.86% ($P < 0.01$)。与缺氧组比较,PhGs 低剂量组 4E-BP1 mRNA 表达下调达 77.33% ($P < 0.01$),p-P70S6K 蛋白表达升高 32.53% ($P < 0.01$),p-4E-BP1 蛋白表达降低 82.4% ($P < 0.01$);PhGs 中、高剂量组海马组织中 mTOR、P70S6K mRNA 表达分别上调达 64.56%、60.76% 和 14.86%、20.27% ($P < 0.01$),4E-BP1 mRNA 表达分别下调达 72.67%、71.57% ($P < 0.01$),p-mTOR、p-P70S6K 蛋白表达分别升高 65.12%、94.17% 和 56.63%、78.31% ($P < 0.01$),p-4E-BP1 蛋白表达分别降低 57.6% 和 40% ($P < 0.01$)。**结论** 藜生马先蒿苯乙醇苷能够改善高原记忆损伤,其保护机制可能是通过激活 mTOR 信号通路实现的。

[关键词] 藜生马先蒿;苯乙醇苷;mTOR 信号通路;高原记忆损伤

[中图分类号] R96 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2017)03-0238-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.03.011

Phenylethanoid glycosides of *Pedicularis muscicola* ameliorate high altitude-induced memory impairment by activating mTOR signal pathway

WANG Tao¹, ZHOU Baozhu^{1,3}, QIU Yan², LI Maoxing³, LIU Yantong³ (1. Department of Pharmacy, No. 105 Hospital of PLA, Hefei 230031, China; 2. Department of Pharmacy, No. 454 Hospital of PLA, Nanjing 210002, China; 3. Department of Pharmacy, Lanzhou General Hospital of PLA, Lanzhou 730050, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the mechanism of phenylethanoid glycosides of *pedicularis muscicola* Maxim ameliorating high altitude memory impairment by activating mTOR signal pathway. **Methods** 60 clean male Wistar rats were randomly divided into normoxic control group, hypoxia group, PhGs low, medium and high dose groups (50, 200, 400 mg/kg by oral administration). Normoxic control and hypoxia groups were administered with sterile injection water for 7 days. On the fourth day of drug treatment, hypoxia and PhGs groups were exposed to a specially designed animal decompression chamber, which simulated 7 500 m high altitude environment. The expression levels of mTOR, P70S6K and 4E-BP1 mRNA in hippocampus were detected by SYBR Green real-time PCR. The expression levels of p-mTOR, p-P70S6K and p-4E-BP1 protein in hippocampus were detected by Western blot. **Results** For hypoxia group rats, mTOR and P70S6K mRNA repression, p-mTOR and p-P70S6K protein repression were respectively decreased by 22.50%, 26.00%, 42.28% and 11.70% ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 4E-BP1 mRNA repression and p-4E-BP1 protein repression were respectively increased by 41.28%, 111.86% ($P < 0.01$) in comparison to normoxic control group. Compared with hypoxia group, for PhGs low dose group rats, 4E-BP1 mRNA repression and p-4E-BP1 protein repression were respectively decreased by 77.33% and 82.4% ($P < 0.01$), p-P70S6K protein repression was increased by 32.53% ($P < 0.01$). For PhGs medium, high dose groups, mTOR and P70S6K mRNA repression, p-mTOR and p-P70S6K protein repression were respectively increased by 64.56%, 60.76%; 14.86%, 20.27%; 65.12%, 94.17% and

[基金项目] 全军后勤科研“十二五”计划重点项目(BWS12J012);南京军区医学科重点基金项目(15ZD021);军队医药卫生科研项目(CLZ15JA05, CLZ15JB04);甘肃省中医药管理局课题(GZK-2014-1)

[作者简介] 汪涛, 硕士, 副主任药师。研究方向: 临床药理、高原特殊环境损伤与防治。Email: zhoubz2014@sina.com

56.63%, 78.31% ($P < 0.01$), 4E-BP1 mRNA repression and p-4E-BP1 protein repression were respectively decreased by 72.67%, 71.57% and 57.6%, 40% ($P < 0.01$). **Conclusion** Phenylethanoid glycosides of *Pedicularis muscicola* Maxim can ameliorate high altitude-induced memory impairment. This protective mechanism may due to the activation of mTOR signal pathway.

[Key words] *Pedicularis muscicola* Maxim; phenylethanoid glycosides; mTOR signal pathway; high altitude memory impairment

低压低氧可损伤睡眠模式、情绪和记忆等功能,是高原地区一种常见的致病因素^[1]。近年来随着交通基础建设的完善,越来越多的人进入高原地区生活和旅游,预防或改善高原记忆损伤是当前高原医学界研究的热点。高原记忆损伤是多种因素相互作用的结果,涉及到氧化应激、神经元损伤及多种相关信号通路等。目前有关高原记忆损伤的相关信号通路主要有 mTOR 信号通路、GC 信号通路、HIF 信号通路等。mTOR 信号通路是一条经典信号通路,参与蛋白质翻译、细胞凋亡和神经突触可塑性等多种生物学功能。研究发现^[2,3],低压低氧暴露能够抑制 mTOR 信号通路,导致 mTOR 下游底物 P70S6K 和 4E-BP1 脱磷酸,影响 mRNA 翻译和蛋白质合成,最终损伤长时记忆的形成。此外,增加 mTOR-Raptor 的功能可显著提高脑长时记忆^[4]。

藓生马先蒿 (*Pedicularis muscicola* Maxim) 为玄参科马先蒿属植物,是民间常用药材,富含以毛蕊花糖苷为代表的苯乙醇苷类(PhGs)化合物^[5]。药理学研究发现,PhGs 化合物具有显著的抗氧化、抗炎、抗衰老、增强记忆、提高智力等多方面的生物活性。课题组前期发现^[6],藓生马先蒿 PhGs 可减轻氧化应激,抑制细胞损伤,从而改善高原记忆损伤,但藓生马先蒿 PhGs 改善高原记忆损伤的详细机制尚待深入研究。

本研究是基于前期的实验研究,来探讨藓生马先蒿 PhGs 改善高原记忆损伤的机制,明确其是否通过激活 mTOR 信号通路实现的。

1 实验材料

1.1 实验动物 清洁级雄性 Wistar 大鼠 60 只 (200±20) g [兰州军区兰州总医院动物科实验科,许可证号:SCXK(军)2012-0020],控制室温(25±2)℃,每 12 h 明暗交替,标准饲料喂养,自由进水。

1.2 药品与试剂 藓生马先蒿药材于 2014 年 8 月采自甘肃天祝县,由兰州大学药学院马志刚教授鉴定为玄参科藓生马先蒿 (*Pedicularis muscicola* Maxim) 的全草。苯乙醇苷为实验室采用大孔吸附树脂工艺从藓生马先蒿中富集提取,经 HPLC 测

定,以毛蕊花糖苷计含量为 45.82%;BCA 蛋白定量分析试剂盒(批号:Lot # MJ164044)购自 Thermo scientific 公司;柱式法 Total RNA 提取试剂盒(批号:9767)、反转录试剂盒(批号:RR036A)、SYBY Green 染料法荧光定量试剂盒(批号:RR820A)均购自 TaKara 公司;SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒(批号:20140312)、4×蛋白质上样缓冲液(含 DTT)(批号:20150717)、10×TBST 缓冲液(批号:20150107)及 ELC 超敏发光液(批号:20141206)均购自北京索莱宝科技有限公司;100 mmol/L PMSF(批号:ST506-2)、RIPA 裂解液(强)(批号:P0013B)均购自碧云天生物技术研究;小鼠 β-actin 单克隆抗体(批号:D3025)购自 Santa Cruz Blotechnology 公司;兔 p-4E-BP1 (Thr37/46)多克隆抗体(批号:0008)、兔 p-mTOR (Ser2448)多克隆抗体(批号:0020)、兔 p-P70S6K (Thr389)多克隆抗体(批号:16)均购自 Cell Signaling 公司;ZB-2305 辣根酶标记山羊抗小鼠 IgG (H+L)(批号:122011)、ZB-2301 辣根酶标记山羊抗兔 IgG (H+L)(批号:109525)均购自北京中杉金桥生物技术有限公司;0.45 μm PVDF 膜(K3EA8230GD)购自 Immobilon-P® Transfer Membrances。

1.3 仪器 SpectraMax i3 全自动荧光酶标仪(Molecular 公司);Polytron® PT1200E 电动匀浆器(Kinematic AG 公司);System9700 PCR 仪(杭州朗基科学仪器有限公司);ABI7300 实时定量 PCR 仪(Applied Biosystems 公司);Powerpac™ Basic 基础电泳仪电源和小型垂直电泳槽(BIO-RID 公司);Trans-Blot Turbo™ Transfer system 半干转仪(BIO-RID 公司);Tanon-4200F 全自动数码凝胶图像分析系统(上海天能公司)等。

2 方法

2.1 动物分组及给药方式 Wistar 大鼠随机分为 5 组,分别为常氧对照组,缺氧组,PhGs 低、中、高剂量组。每组 12 只,自分组起,连续灌胃 7 d,每天 1 次,常氧对照组和缺氧组给予灭菌注射用水灌胃,PhGs 低、中、高剂量组分别给予 50、200、400 mg/kg

剂量的 PhGs 灌胃。

2.2 高原记忆损伤模型的制备 给药第4天,除常氧对照组外其余各组均置于大型低压氧舱中模拟海拔7 500 m 高原环境(舱内压力:35.9 kPa,氧分压:7.4 kPa),每天上午9:00以10 m/s速度下降至4 000 m(舱内压力:62.1 kPa,氧分压:13.8 kPa),实验人员通过缓冲舱进舱,在舱里灌胃给药,换水食和垫料,连续3 d,每天给药完毕后,将舱内模拟海拔以10 m/s的速度匀速上升到预定海拔7 500 m,在此期间动物自由摄食及进水。常氧对照组大鼠于动物房同时饲养。

2.3 海马组织样本采集 各组大鼠断头剖取海马组织样本,冻存于-80℃冰箱中。各组取6只大鼠海马组织样本用于SYBR Green实时定量PCR mRNA检测,6只大鼠海马组织样本用于Western blot蛋白检测。

2.4 SYBR Green 实时定量 PCR 检测 mRNA 变化 参考柱式法 Total RNA 提取试剂盒说明书提取样本总 RNA,采用紫外分光光度法检测 RNA 纯度及浓度。逆转录 cDNA 采用 10 μl 反应体系,条件为 37℃ 15 min,85℃热失活 5 s。SYBR Green 实时定量 PCR 采用 10 μl 反应体系,条件为 95℃预变性 30 s;95℃反应 5 s,60℃退火 31 s,重复 40 个循环,每个样本做 3 个复孔,以 GAPDH 为内参基因,计算各组大鼠海马组织中 mTOR、P70S6K 和 4E-BP1 的 ΔCt,目的基因的相对表达量采用 2^{-ΔΔCt} 进行计算分析。实验中 mTOR、P70S6K、4E-BP1 和 GAPDH 引物序列见表 1。

表 1 P70S6K、mTOR、4E-BP1 和 GAPDH 引物序列

引物名称	碱基序列
mTOR	上游:5'-CGTGCTGTTGGGTGAGAGAG-3' 下游:5'-TTCGTGTCCATCTTCTTGTCG-3'
4E-BP1	上游:5'-AGAGCTGCACAGCATTACAGG-3' 下游:5'-TAGACAGAGGCACAAGGAGGTAT-3'
P70S6K	上游:5'-GCCTCCCTACCTCACACAAGA-3' 下游:5'-CCACCTTCCGACCCAAAA-3'
GAPDH	上游:5'-GGCAGCTCAAGGCTGAGAATG-3' 下游:5'-ATGGTGGTGAAGACGCCAGTA-3'

2.5 Western blot 检测蛋白变化 海马组织样本用 RIPA 裂解液(含 1% PMSF)提取总蛋白,后用 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量。取蛋白 50 μg 进行 SDS-PAGE 电泳、半干法转膜,5%脱脂牛奶室温封闭 2 h。封闭结束后,孵育一抗,分别加入一抗 β-actin(1:1 000)、p-mTOR(1:1 000)、p-P70S6K

(1:1 000)、p-4E-BP1(1:1 000),4℃过夜。次日 1×TBST 缓冲液洗膜 3 次,加入辣根酶标记山羊抗兔或小鼠 IgG(1:5 000)摇床室温孵育 2 h,再用 1×TBST 缓冲液洗膜 3 次。ECL 显色发光,Tanon-4200F 全自动数码凝胶图像分析系统曝光。应用 Image-Pro Plus 6.0 软件对曝光图片进行灰度扫描测定并对结果进行分析。

2.6 统计学方法 采用 SPSS 16.0 统计软件进行统计学处理,结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,进行正态性检验,符合正态分布的两组间均数比较采用两独立样本 t 检验。P<0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 PhGs 对海马组织中 mTOR、P70S6K 和 4E-BP1 mRNA 表达的影响 与常氧对照组比较,缺氧组海马组织中 mTOR、P70S6K mRNA 表达显著性下调,分别下调达 22.50%、26.00% (P<0.05, P<0.01),4E-BP1 mRNA 表达显著性上调达 41.28% (P<0.01)。

与缺氧组比较,PhGs 低剂量组海马组织中 mTOR、P70S6K mRNA 表达都有上调趋势,但无显著性差异,4E-BP1 mRNA 表达显著性下调达 77.33% (P<0.01);PhGs 中、高剂量组海马组织中 mTOR、P70S6K mRNA 表达均显著性上调,分别上调达 64.56%、60.76% 和 14.86%、20.27% (P<0.01),4E-BP1 mRNA 表达分别显著性下调达 72.67%、71.57% (P<0.01),见表 2。

表 2 PhGs 对海马组织中 mTOR、P70S6K 和 4E-BP1 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	mTOR mRNA (2 ^{-ΔΔCt})	P70S6K mRNA (2 ^{-ΔΔCt})	4E-BP1 mRNA (2 ^{-ΔΔCt})
常氧对照组	1.02±0.18	1.00±0.05	1.01±0.16
缺氧组	0.79±0.05*	0.74±0.02**	1.72±0.24**
低剂量组	0.97±0.19	0.82±0.17	0.39±0.13##
中剂量组	1.27±0.19##	0.85±0.06##	0.47±0.06##
高剂量组	1.30±0.12##	0.89±0.09##	0.49±0.04##

* P<0.05, ** P<0.01,与常氧对照组比较;## P<0.01,与缺氧组比较

3.2 PhGs 对海马组织中 p-mTOR、p-P70S6K、p-4E-BP1 蛋白表达的影响 与常氧对照组比较,缺氧组海马组织中 p-mTOR 和 p-P70S6K 蛋白表达均显著性降低,分别降低 42.28% 和 11.70% (P<0.05, P<0.01), p-4E-BP1 蛋白表达显著性升高 111.86% (P<0.01)。

与缺氧组比较, PhGs 低剂量组海马组织中 p-P70S6K 蛋白表达显著性升高 32.53% ($P < 0.01$), p-4E-BP1 蛋白表达显著性降低 82.4% ($P < 0.01$); PhGs 中、高剂量组海马组织中 p-mTOR、p-P70S6K 蛋白表达均显著性升高, 分别升高 65.12%、94.17% 和 56.63%、78.31% ($P < 0.01$), p-4E-BP1 蛋白表达分别显著性降低 57.6% 和 40% ($P < 0.01$)。见图 1。

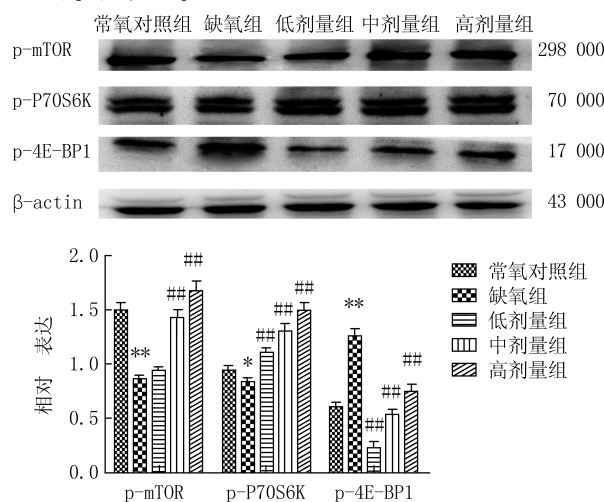


图 1 PhGs 对海马组织中 p-mTOR、p-P70S6K、p-4E-BP1 蛋白表达的影响 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与常氧对照组比较; ## $P < 0.01$, 与缺氧组比较

4 讨论

mTOR 信号通路是调控蛋白质翻译起始阶段的一种蛋白激酶, 是多种信号转导的“整合器”, 参与基因转录、蛋白质翻译起始、核糖体生物合成、细胞凋亡等多种生物学功能^[7]。有研究表明, mTOR 信号通路在神经元突触可塑性和高原记忆损伤中起到重要保护作用。Graber 等^[8]研究发现在海马 CA1 区、齿状区、纹状体等脑亚区, mTOR 信号通路参与了长时程增加效应(LTP)维持阶段, 对晚时相 LTP 也是不可缺少的。Arsham 等^[9]研究发现, 高原低压低氧暴露能够抑制 mTOR 及其下游底物(P70S6K 和 4E-BP1)磷酸化, 导致蛋白质合成受阻, 最终导致记忆损伤。此外, mTOR 信号通路异常与老年性痴呆症、帕金森等神经性疾病的发生有着密切的关联^[10]。

苯乙醇苷类化合物是一类含有(羟基、甲氧基)取代苯乙基和(羟基、甲氧基)取代肉桂酰基的化合物, 通常此化合物与葡萄糖通过酯键及氧苷键构造天然糖苷^[11]。研究发现, 苯乙醇苷对各类记忆损伤模型有显著的改善作用, 且可能的机制与其抗炎、

抗氧化应激有关。Lee 等^[12]发现白棠子树中分离出来的苯乙醇苷及其苷元对谷氨酸诱导的大鼠原代大脑皮层细胞损伤和东莨菪碱所致的记忆损伤具有显著的抑制作用。课题组前期研究发现, 藓生马先蒿 PhGs^[6]通过减轻氧化应激和抑制细胞损伤来改善高原记忆损伤。然而, 藓生马先蒿 PhGs 改善高原记忆损伤的详细保护作用机制尚未完全明确。

本研究中 SYBR Green 实时定量 PCR 和 Western blot 结果显示, 与常氧对照组比较, 缺氧组海马组织中 mTOR、P70S6K mRNA 表达显著性下调, 4E-BP1 mRNA 表达显著性上调, p-mTOR、p-P70S6K 蛋白表达显著性降低, p-4E-BP1 蛋白表达显著性升高, 提示 mTOR 信号通路可能参与了高原记忆损伤过程。与缺氧组比较, PhGs 中、高剂量组海马组织中 mTOR、P70S6K mRNA 表达显著性上调, 4E-BP1 mRNA 表达显著性下调, p-mTOR、p-P70S6K 蛋白表达显著性升高, p-4E-BP1 蛋白表达显著性降低, 提示 PhGs 可能通过激活 mTOR 信号通路来改善高原记忆损伤。

综上所述, 藓生马先蒿苯乙醇苷能够改善高原记忆损伤, 其保护机制可能是通过激活 mTOR 信号通路实现的。本实验进一步加深了我们对藓生马先蒿苯乙醇苷药理作用的理解, 为高原记忆损伤药物防治提供新的靶点和新的方向。

【参考文献】

- [1] de Quino Lemos V, Antunes HK, dos Santos RV, et al. High altitude exposure impairs sleep patterns, mood, and cognitive functions [J]. *Psychophysiology*, 2012, 49 (9): 1298-1306.
- [2] Vadysirisack DD, Ellisen LW. mTOR activity under hypoxia [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 821: 45-58.
- [3] Connolly E, Braunstein S, Formenti S, et al. Hypoxia inhibits protein synthesis through a 4E-BP1 and elongation factor 2 kinase pathway controlled by mTOR and uncoupled in breast cancer cells [J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(10): 3955-3965.
- [4] Ehninger D, DE-Vries PJ, Silva AJ. From mTOR to cognition molecular and cellular mechanisms of cognition impairments in tuberous sclerosis [J]. *J Intell Disabil Ras*, 2009, 53 (10): 838-851.
- [5] Zhang BB, Shi KL, Liao ZX, et al. Phenylpropanoid glycosides and triterpenoid of *Pedicularis Kansuensis* Maxim [J]. *Fitoterapia*, 2011, 82(6): 854-860.
- [6] Zhou BZ, Li MX, Cao XY, et al. Phenylethanoid glycosides of *Pedicularis muscicola* Maxim ameliorate high altitude-induced memory impairment [J]. *Physiol Behav*, 2016, 157: 39-46.
- [7] 周保柱, 栾飞, 李茂星, 等. L-亮氨酸改善高原记忆损伤作

用[J]. 医药导报, 2016, 35(3):237-241.

[8] Graber TE, McCamphill PK, Sossin WS, *et al.* A recollection of mTOR signaling in learning and memory [J]. *Learn Memory*, 2013, 20(10):518-530.

[9] Arsham AM, Howell JJ, Simon MC. A novel hypoxia-inducible factor-independent hypoxic response regulating mammalian target of rapamycin and its targets [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(32):29655-29660.

[10] Ma YQ, Wu DK, Zhang W, *et al.* Investigation of PI3K/PKB/mTOR/S6K1 signaling pathway in relationship of type 2 diabetes and Alzheimer's disease [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(10):18581-18590.

[11] 宋光西, 马玲云, 魏 锋, 等. 苯乙醇苷的分布及药理活性研究进展[J]. *亚太传统医药*, 2011, 7(4):169-171.

[12] Lee KY, Jeong EJ, Lee H, *et al.* Acteoside of *Callicarpa dichotoma* attenuates scopolamine-induced memory impairments [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29(1):71-74.

[收稿日期] 2016-04-12 [修回日期] 2016-07-04
[本文编辑] 顾文华

(上接第 204 页)

[9] Kew K. Long-acting beta2-agonists for chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2006, 3(3): 117-118.

[10] Kornmann O, Dahl R, Centanni S, *et al.* Once daily inhaled versus twice daily salmeterol for COPD: a placebo controlled comparison [J]. *Euro Respir J*, 2011, 37(2): 273-279.

[11] 李 媛, 林 青. 茶碱类药物的研究进展及应用 [J]. *中国医药指南*, 2013, 11(4): 421-422.

[12] Iiboshi H, Ashitani J, Katoh S. Long-term treatment with theophylline reduces neutrophils, interleukin-8 and tumor necrosis factor- α in the sputum of patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2007, 20(1): 46-51.

[13] Barnes PJ. Theophylline: new perspectives for an old drug [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167(6): 813-818.

[14] 赵新云, 孔 辉, 解卫平. 炎症反应与慢性阻塞性肺疾病肺功能分级 [J]. *国际呼吸杂志*, 2013, 33(17): 1343-1346.

[15] 钟伯强, 钱丽芬, 黄宝贤, 等. 不同剂量糖皮质激素对慢性阻塞性肺病患者急性加重期炎症介质的影响及临床意义 [J]. *中华老年医学杂志*, 2014, 33(4): 376-379.

[16] Battaglia S, Cardillo I, Lavorini F, *et al.* Safety considerations of inhaled corticosteroids in the elderly [J]. *Drugs Aging*, 2014, 31(11): 787-796.

[17] 赵 焕, 石寒冰, 毕红霞. 布地奈德联合福莫特罗雾化吸入治疗慢性阻塞性肺疾病的临床疗效观察 [J]. *中国全科医学*, 2013, 15(35): 4219-4221.

[18] Yan JH, Gu WJ, Pan L. Efficacy and safety of roflumilast in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease: a meta-analysis [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2014, 27(1): 83-89.

[19] 宋 毅, 徐莉琼, 李 婵, 等. 孟鲁司特治疗慢性阻塞性肺病 65 例疗效观察 [J]. *四川医学*, 2012, 33(3): 436-438.

[20] 李 强, 邹小新, 饶常红. 孟鲁司特联合噻托溴铵治疗慢性阻塞性肺疾病疗效的研究 [J]. *重庆医学*, 2013, 42(19): 2278-2280.

[21] Albert RK, Connett J, Bailey WC, *et al.* Azithromycin for prevention of exacerbations of COPD [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(8): 689-698.

[22] Neukamm A, Høfseth AD, Einvik G, *et al.* Rosuvastatin treatment in stable chronic obstructive pulmonary disease (RODEO): a randomized controlled trial [J]. *J Intern Med*, 2014, 278(1): 59-67.

[23] 王翠茹, 李 玲, 韩云霞, 等. 慢性阻塞性肺疾病发病机制的研究进展 [J]. *当代医学*, 2011, 17(32): 19-20.

[24] Santus P, Corsico A, Solidoro P, *et al.* Oxidative stress and respiratory system: pharmacological and clinical reappraisal of N-acetylcysteine [J]. *COPD*, 2014, 11(6): 705-717.

[25] Tse HN, Raiteri L, Wong KY, *et al.* High-dose N-acetylcysteine in stable chronic obstructive pulmonary disease: the 1 year, double-blind, randomized, placebo-controlled HIACE study [J]. *Chest*, 2013, 144(1): 106-118.

[26] 张 瑞. 盐酸氨溴索雾化对 COPD 患者氧化应激的影响 [J]. *临床肺科杂志*, 2013, 18(5): 894-895.

[27] Esposito A, Valentino MR, Bruzzese D, *et al.* Effect of carbocysteine in prevention of exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (CAPRI study): an observational study [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2016, 37(1): 85-88.

[28] Sussan TE, Rangasamy T, Blake DJ, *et al.* Targeting Nrf2 with the triterpenoid CDDO-imidazole attenuates cigarette smoke-induced emphysema and cardiac dysfunction in mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(1): 250-255.

[29] Yu W, Fu YC, Wang W. Cellular and molecular effects of resveratrol in health and disease [J]. *J Cell Biochem*, 2012, 113(3): 752-759.

[30] He X, Wang L, Szklarz G, *et al.* Resveratrol inhibits paraquat-induced oxidative stress and fibrogenic response by activating the nuclear factor erythroid 2-related factor 2 pathway [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2012, 342(1): 81-90.

[31] Youn GS, Kwon DJ, Ju SM, *et al.* Curcumin ameliorates TNF- α -induced ICAM-1 expression and subsequent THP-1 adhesiveness via the induction of heme oxygenase-1 in the HaCaT cells [J]. *BMB Rep*, 2013, 46(8): 410-415.

[收稿日期] 2016-09-27 [修回日期] 2017-02-23
[本文编辑] 顾文华