

姜黄素减轻兔单肺通气导致的肺损伤

李慧婷¹, 林文前^{1*}, 谭红鹰¹, 操隆辉¹, 李靖², 曾维安¹

(1.华南肿瘤学国家重点实验室//中山大学肿瘤防治中心 麻醉科, 广东 广州 510060; 2.中山大学药学院, 广东 广州 510000)

摘要:【目的】观察姜黄素对兔单肺通气导致的肺损伤的影响。【方法】12 只新西兰白兔随机分为单肺通气组(组 I)和单肺通气+姜黄素组(组 II), 每组 6 只。于实验前 7 d 开始灌胃给药, 组 I 给予对照剂, 组 II 给予姜黄素 40 mg/kg, 每天早晚各 1 次。两组动物均气管切开插入单腔气管导管(ID: 3.5 mm)建立右侧单肺通气模型, 采用容量通气模式(潮气量 12 mL/kg, 呼吸频率 40 min⁻¹, I:E=1:2)并模拟左侧开胸手术。先双肺通气 30 min, 再单肺通气 3 h, 恢复双肺通气 30 min。监测两组兔血气及气道峰压, 计算氧合指数(OI, PaO₂/FiO₂)。实验结束后处死动物, 分别取左、右肺组织观察形态学变化并评分, 测定左右侧支气管肺泡灌洗液中蛋白含量并进行中性粒细胞计数, 检测肺组织中一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)水平及超氧化物歧化酶(SOD)活力。【结果】与组 I 相比, 组 II 氧合指数显著升高($P < 0.01$)、双侧肺损伤评分、肺组织中 NO 及 MDA 水平均降低($P < 0.05$), SOD 活力升高($P < 0.05$)。同组内左侧肺损伤评分、NO、MDA 水平高于右肺($P < 0.05$), SOD 活力低于右肺($P < 0.05$)。【结论】单肺通气可导致兔肺氧化应激损伤, 且非通气侧肺损伤程度较通气侧肺严重; 姜黄素预先给药可减轻单肺通气所致的双侧肺损伤。

关键词:姜黄素; 机械通气; 单肺通气; 肺损伤; 呼吸窘迫综合征; 兔; 动物

中图分类号:R323.2

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2011)06-0735-06

Curcumin Attenuates Lung Oxidative Injury Induced by One Lung Ventilation in Rabbits

LI Hui-ting¹, LIN Wen-qian^{1*}, TAN Hong-ying¹, CAO Long-hui¹, LI Jin², ZENG Wei-an¹

(1. Department of Anesthesiology, State Key Laboratory of Oncology in Southern China// Cancer Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510000, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the effect of curcumin on lung injury induced by one-lung ventilation (OLV) in rabbits. 【Methods】Twelve New Zealand white rabbits were randomly allocated into two groups: OLV group (group I, $n = 6$), and OLV+curcumin group (group II, $n = 6$). Rabbits in group I were given 1% sodium carboxymethylcellulose as placebo, while rabbits in group II were received curcumin 40 mg/kg which dissolved in 1% sodium carboxymethylcellulose via gastric tube for seven consecutive days before the operation. All rabbits in two groups were tracheostomized and inserted a ID 3.5 mm trachea tube into the right bronchus to establish one lung ventilation. The rabbits were mechanically ventilated using the volume-control mode (V_T 12 mL/kg, RR40 bpm, I:E = 1:2) after imitating the thoracic surgery. Firstly, they were received two-lung ventilation for 30 min, then one-lung ventilation for 3h, and finally return to two-lung ventilation for 30 min. Blood gases and airway pressure were monitored and the oxygenation (PaO₂/FiO₂) was calculated before and after the ventilation, respectively. At the end of ventilation, the rabbits were killed and two lungs tissue were sampled respectively for HE stain to assess lung injury degree and get lung damage score. Lungs were excised and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were collected for measurement of protein concentration and neutrophil counts. The contents of nitric oxide (NO), malondialdehyde (MDA), and superoxide dismutase (SOD) in the lung tissue were measured. 【Results】The oxygenation of rabbits in group II was significantly higher ($P < 0.05$), and the right and left lung damage score, BALF protein concentration and neutrophil counts in group II were significantly lower ($P < 0.05$), as compared with group I. The content of MDA and NO in both sides of lung tissue in group II were lower than those in group I ($P < 0.05$), the activity of SOD in group II was significantly higher than that in group I ($P < 0.05$). In each group, the lung damage score, protein concentration in BALF, neutrophil

收稿日期: 2011-05-22

基金项目: 广东省科技计划项目(2008B030301323)(2009B030801152)

作者简介: 李慧婷, 在读硕士研究生, E-mail: lihuiting270050448@126.com; * 通信作者: 林文前, 副主任医师, 硕士生导师, E-mail: wenqianlin@21cn.com

counts and the contents of NO and MDA of the left (non-ventilated) lung were all higher than those of the right (ventilated) lung ($P < 0.05$), and the activity of SOD in the left lung was lower than that in the right lung ($P < 0.05$). 【Conclusion】 OLV can cause lung oxidative injury in rabbits and the degree of injury in the non-ventilated lung is more serious than that in the ventilated lung. Curcumin pretreatment attenuates OLV induced oxidative injury in rabbits.

Key words: curcumin; mechanical ventilation; one-lung ventilation; lung injury; respiratory distress syndrome; rabbit; animal
[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2011, 32(6): 735-740]

单肺通气技术常规应用于开胸手术中。研究发现单肺通气可引起肺组织氧化应激及炎症反应,导致肺损伤^[1-4]。但对其进行防治的相关药物研究报道较少。姜黄素是从姜科植物姜黄中提取出的一种酚类色素,研究发现其具有较强的抗氧化、抗炎及抗肿瘤的作用,它在大鼠放射诱导的肺纤维化^[5],胰腺缺血再灌注引起的肺损伤^[6],大鼠误吸导致的肺损伤^[7]等研究中,显著提高肺组织抗氧化酶活性,提高组织抗氧化能力;并抑制炎性细胞浸润,减轻炎症反应,减轻肺损伤。但它是否减轻开胸手术单肺通气所致的肺损伤尚无报道。本研究模拟临床开胸手术及通气设置,建立兔单肺通气模型,观察肺损伤的程度及特点,并探讨姜黄素预先给药干预对肺损伤的影响,为临床防治单肺通气肺损伤提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 实验动物及分组 健康清洁级雄性新西兰白兔 12 只,中山大学动物实验中心提供(许可证号为 SCXK(粤)20080020),体质量(2.52 ± 0.18) kg,动物随机分为组 I (单肺通气组)和组 II (单肺通气+姜黄素组),每组 6 只。

1.1.2 主要设备 动物呼吸机 HX-200(成都泰盟科技有限公司),多导生理记录仪(6240B/C,成都仪器厂),分光光度计(BECKMAN 公司,型号 DUT30),离心机(Eppendorf 公司,型号 5424),水浴锅(上海一恒科技有限公司,型号 DK-600A),组织匀浆器(QIAGEN 公司,型号 TissueLyser II)

1.1.3 药品及试剂 姜黄素购自 Sigma-Aldrich 公司,20%乌拉坦,顺式阿曲库铵(葛兰素史克公司,批号 0007B)。考马斯亮蓝蛋白、SOD、NO 及 MDA 测定试剂盒均购于南京建成生物工程研究所(批号分别为 20100722,20100722,20100720,20100720)。

1.2 实验方法

1.2.1 预处理 两组动物于实验前 7 d 开始灌胃给药,每天早晚各 1 次,组 II 每次给予姜黄素 40 mg/kg (溶于 2 mL 1% 羧甲基纤维素钠中)^[7-8];组 I 每次仅给予空白对照剂(2 mL 1% 羧甲基纤维素钠)。所有实验兔均右侧耳缘静脉注射 20%乌拉坦 5 mL/kg 麻醉,气管切开插入单腔气管导管(ID:3.5 mm)至右主支气管行右侧单肺通气。游离右侧股动脉置管采集动脉血用作血气分析和监测平均动脉压。微量注射泵从右颈内静脉以 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 的速度持续输注乳酸林格液,并输注 0.05 mg/kg 顺式阿曲库铵维持肌松。实验中连续监测血压及呼吸力学参数(气道平台压及峰压)。稳定 10 min 所有动物均右侧卧位后开始机械通气。通气参数设置为: FiO_2 0.9,潮气量 12 mL/kg,呼吸频率 40 min^{-1} ,I:E = 1:2,氧流量为 1 L/min。两组均先双肺通气 30 min(通气参数不变,将气管导管退至气管内),然后单肺通气 3 h,再双肺通气 30 min。同时两组均在左侧约 5~6 肋间开一小口至胸腔,观察左肺萎陷及膨胀情况并挤压肺组织以模拟手术。两组动物单肺通气 3 h 后停止输注顺式阿曲库铵,恢复自主呼吸(双肺)并停止机械通气,观察动物存活情况,然后放血处死动物。

1.2.2 检测指标及标本留取 分别于双肺通气前(0 h)和实验结束前(4 h)抽取动脉血用作血气分析计算氧合指数($\text{OI}, \text{PaO}_2/\text{FiO}_2$)。处死动物后,立即从隆突处离断左、右肺,分别行左、右支气管肺泡灌洗。10 mL 5℃ 生理盐水反复肺灌洗 3 次,将回收得到的灌洗液用双层无菌纱布过滤,1 503 ×g 离心 15 min。细胞沉渣重新悬浮于 1 mL 生理盐水中,涂片瑞氏染色计数中性粒细胞。上清液按照说明书步骤以考马斯亮蓝法测定蛋白浓度。分别取左、右下肺叶约 1.0 cm 肺组织置入 40 g/L 多聚甲醛溶液中固定,常规石蜡包埋切片,HE 染色光镜下观察肺损伤程度并评分。分别取左、右上肺叶约 1.0 cm 组织存于-80℃冰箱中用于后续匀浆测定 NO、SOD 和 MDA 含量。

1.2.3 肺组织匀浆的制备 取 0.1 g 肺组织加入 0.9 mL PBS 缓冲液(pH = 7.4),在冰浴下用组织匀浆器制成 10%肺组织匀浆,745 ×g,离心 10 min 后取上清测定匀浆中 NO,MDA 的含量,并留取适量组织匀浆上清再用生理盐水按 1:9 稀释成 1%匀浆,用于测定 SOD 的含量。所有操作均严格按照试剂盒说明进行。

1.2.4 肺损伤评分 肺损伤参考文献的方法从 4 方面改变判断:肺泡水肿、肺间质水肿、肺泡充血、中性粒细胞浸润;按程度计分:无改变 0 分,轻度改变 1 分,中度改变 2 分,中度改变 3 分,极重度改变 4 分,然后累计总分。每张切片观察 10 个高倍视野,取 10 次评分均值,以每组标本的均值作为该组的肺损伤评分^[9]。

1.3 统计处理

所有数据均以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 13.0 软件包进行检验。用两独立样本 *t* 检验或两独立样本秩和检验测定差异显著性, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

实验过程中两组动物均无死亡。组 I 和组 II 两组动物间体重、术前 pH、动脉氧分压、动脉二氧化碳分压和碳酸氢根的差异无统计学意义。

2.2 氧合指数比较

两组氧合指数在术前相比无统计学差异,单肺通气 3 h 后均显著低于通气前($P < 0.05$);两组之间比较,组 II 术后氧合指数 > 300 mmHg,明显高于组 I 指标($P < 0.05$;表 1)。

表 1 两组氧合指数的比较

Table 1 Comparison of oxygenation index between the two groups ($\bar{x} \pm s$, mmHg)

	<i>n</i>	0 h	4 h
Group I	6	423 ± 92	239 ± 32 ¹⁾
Group II	6	461 ± 65	301 ± 27 ¹⁾²⁾
<i>P</i>		0.460	0.007

Compared to 0 h, 1) $P < 0.05$; Compared to Group I, 2) $P < 0.05$

Group I: one-lung ventilation (OLV); Group II: OLV + curcumin

2.3 BALF 中中性粒细胞计数和蛋白含量比较

组 II 及组 I 内左侧肺 BALF 中的蛋白含量和

中性粒细胞数目均多于同组内右侧肺($P < 0.05$);组间相比,组 II 左右肺中蛋白含量和中性粒细胞数目均少于组 I 同侧肺($P < 0.05$;图 1,2)。

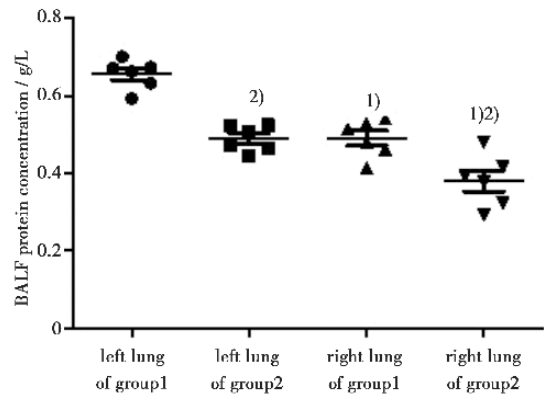


图 1 两组左右侧肺支气管肺泡灌洗液中蛋白浓度的比较

Fig.1 Comparison of BALF protein concentration between the two groups

Compared to left lung, 1) $P < 0.05$; Compared to Group 1, 2) $P < 0.05$. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$.

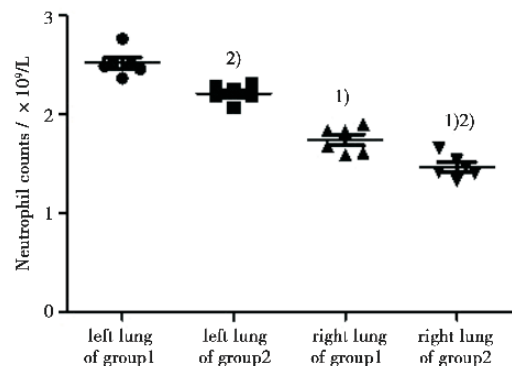


图 2 两组左右侧肺组织中中性粒细胞计数的比较

Fig.2 Comparison of neutrophil counts between the two groups

Compared to left lung, 1) $P < 0.05$; Compared to Group 1, 2) $P < 0.05$. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$.

2.4 肺组织病理学观察

光镜下组 I 左侧肺肺泡结构基本完整,肺泡腔内渗出明显,出血多,间质明显增厚,炎性细胞浸润显著增多;组 I 右侧大部分肺泡结构破坏,肺泡腔内少量渗出物,出血少,间质尚正常,炎性细胞浸润较少;组 II 左侧肺泡结构基本完整,部分肺泡腔内有渗出,出血较少,炎性细胞较多,间质轻度增厚;组 II 右侧肺泡结构破坏较多,肺泡腔内渗出物少,未见出血,间质正常,浸润的炎性细胞少。

两组组内左侧肺损伤评分均显著大于右侧肺($P < 0.05$)。组间比较组 II 左右侧肺损伤评分均小于组 I 相应侧评分($P < 0.05$;图 3,4)。

2.5 氧化应激指标比较

肺组织匀浆中氧化应激指标组内比较, 组 I

和组 II 左侧肺组织中 NO 含量和 MDA 水平均高于右侧 ($P < 0.05$),SOD 活力均低于右侧 ($P < 0.05$); 与组 I 相比, 组 II 左右侧肺组织中 NO 和 MDA 含量均显著降低 ($P < 0.05$),SOD 活力均显著升高($P < 0.05$;图 5-7)。

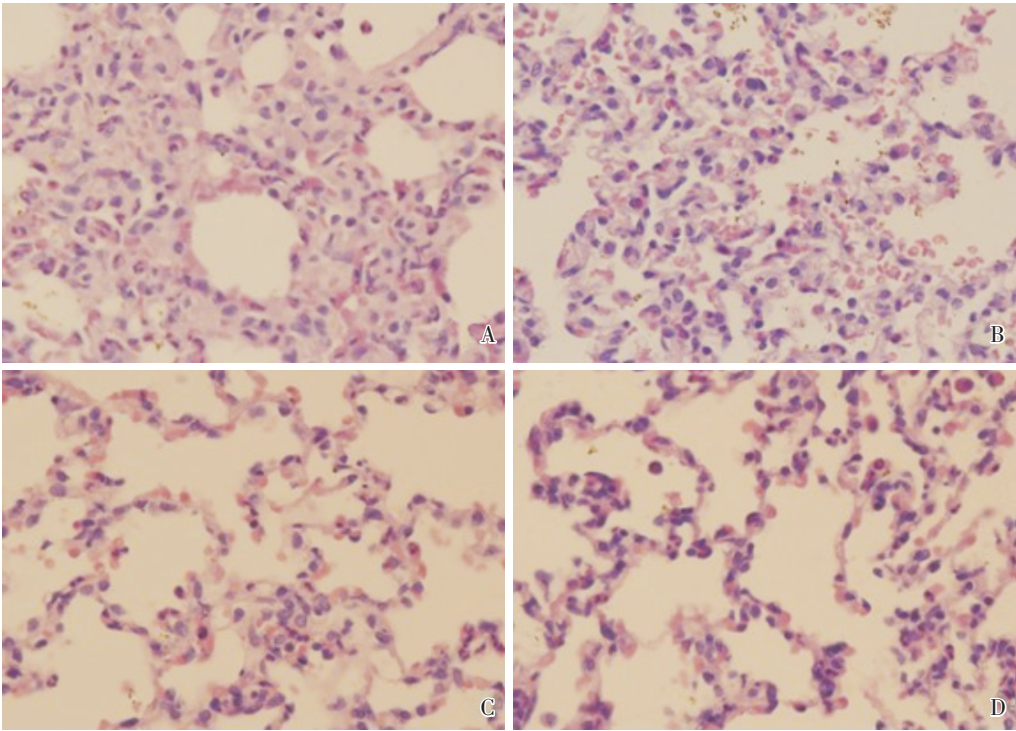


图 3 I 组及 II 组兔左右侧肺组织 HE 染色病理学

Fig.3 Pathology of the left(non-ventilated)and the right(ventilated)lung tissue in group I and II rabbits

Group I :one-lung ventilation (OLV);Group II : OLV + curcumin. A: the left(non-ventilated) lung tissue of group I , $\times 400$; B: the right(ventilated) lung tissue of group I , $\times 400$; C: the left(non-ventilated)lung tissue of group II , $\times 400$; D: the right(ventilated)lung tissue of group II ; $\times 400$

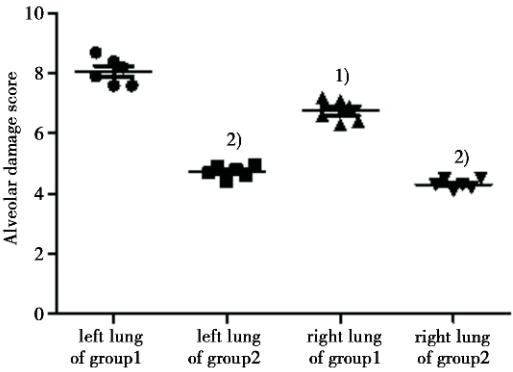


图 4 两组左右侧肺组织肺损伤评分的比较

Fig.4 Comparison of alveolar damage score between the two groups

Compared to left lung,1) $P < 0.05$;Compared to Group 1,2) $P < 0.05$. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$.

3 讨论

本研究结果表明单肺通气可导致肺组织氧化应激损伤, 姜黄素预先给药能显著抑制氧化应激反应,降低肺损伤评分并提高机体氧合能力。

单肺通气可诱发肺氧化应激损伤^[1-3],其可能机制为: ①通气过程中周期性的机械牵张刺激激活还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶的活性,使细胞内活性氧簇(ROS)大量产生^[10];②单肺通气时,由于低氧性肺血管收缩机制,非通气侧肺血流减少。非通气肺复张伴随相对缺血/再灌注的过程,可产生氧自由基;③手术操作引起炎性细胞因子释放,诱发中性粒细胞活化,呼吸爆发,产生

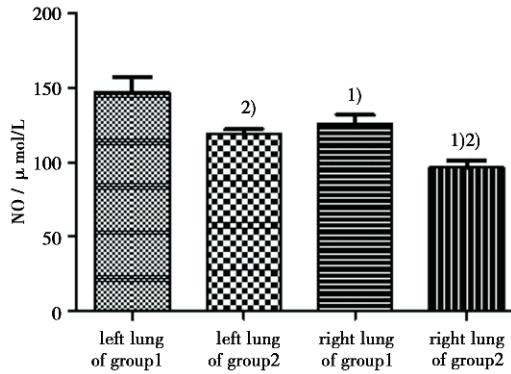


图5 两组左右侧肺组织中 NO 含量的比较

Fig.5 Comparison of NO content between the two groups

Compared to left lung, 1) $P < 0.05$; Compared to Group 1, 2) $P < 0.05$. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$.

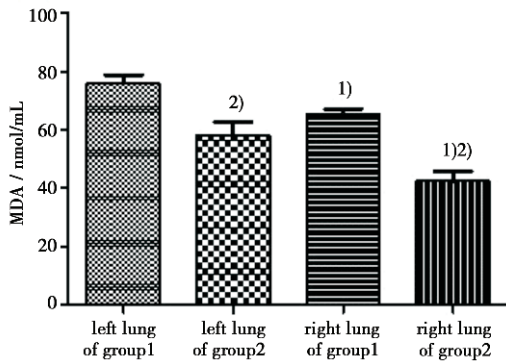


图6 两组左右侧肺组织中 MDA 含量的比较

Fig.6 Comparison of MDA content between the two groups

Compared to left lung, 1) $P < 0.05$; Compared to Group 1, 2) $P < 0.05$. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$.

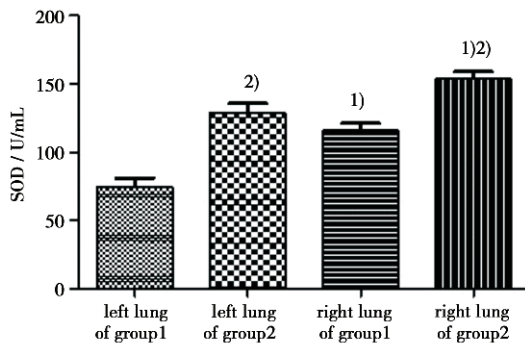


图7 两组左右侧肺组织中 SOD 水平的比较

Fig.7 Comparison of activity of SOD between the two groups

Compared to left lung, 1) $P < 0.05$; Compared to Group 1, 2) $P < 0.05$. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$.

大量氧自由基^[3], ④通气侧肺高浓度的吸入氧也是氧自由基产生的重要来源^[2-3]。过多的氧自由基能攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸, 引发脂质过

氧化作用, 导致细胞水肿, 组织破坏, 肺功能障碍。丙二醛(MDA)反映机体内脂质过氧化程度; 超氧化物歧化酶(SOD)是内源性氧自由基清除剂; 一氧化氮(NO)也是体内一种反应性极强的自由基, 其含量增高与肺泡及肺间质水肿的发生发展有着密切关系。本实验中组 I 肺组织中 MDA 增多、SOD 减少、NO 含量增多, 提示肺组织抗氧化酶活性降低, 并发生了氧化应激反应。而组 II 经姜黄素预先处理后, 肺组织中 MDA 含量减少、SOD 活性增高、NO 含量显著减低, 提示姜黄素通过减少机体抗氧化酶活性的降低和 NO 含量来抑制氧化应激减轻肺损伤。Shruti 等^[11]研究证实预先给予姜黄素能显著降低 MDA、NO 含量, 减轻克雷伯肺炎杆菌感染所致肺部炎症反应。Ahmet 等^[7]研究表明在多种物质误吸所致肺炎的鼠模型中给予姜黄素能明显减少 MDA 的产生, 提高 SOD 的活力, 这与本研究结果一致。

研究发现单肺通气时通气侧肺和萎陷侧肺均存在炎症反应^[12-13]。单肺通气时, 肺泡的过度扩张促使肿瘤坏死因子 α (TNF- α), IL-6 等前炎性细胞因子释放增加。这些炎性因子诱使中性粒细胞募集、活化, 由血管迁移进入肺组织, 并引起“呼吸爆发”, 产生氧自由基及蛋白水解酶, 并破坏肺泡内皮屏障功能, 导致肺泡通透性增强, 引起水肿及氧合功能障碍。肺损伤的严重程度常通过病理学评分进行评估, 病理改变主要包括肺泡水肿、肺间质水肿、中性粒细胞浸润和肺泡充血 4 个方面^[8]。本研究中组 I 肺损伤评分显著增高, BALF 中中性粒细胞和蛋白含量显著增多, 且氧合指数低于组 II, 而组 II 兔经姜黄素预处理后, 肺损伤评分显著降低, BALF 中中性粒细胞和蛋白含量明显减少, 氧合指数改善, 提示姜黄素能够抑制氧化应激的源头——中性粒细胞浸润来减轻肺损伤。Shruti 等^[11]和 Sun 等^[14]的观察结果与本研究基本一致。

有研究证实姜黄素能抑制核因子 κ B (NF- κ B), 使激活蛋白 1 (AP-1) 和有丝分裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 活化^[15-17], 通过调节核因子相关因子-2 (NRF-2) 和红细胞氧化酶 1 (HO-1) 的表达^[18], 调节诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 的生成而减少 NO 的产生来减轻氧化应激^[18]。同时姜黄素能下调血管内皮细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 的表达而减少组织内的中性粒细胞的浸润而减轻炎症反应^[11, 17]。这些机制可解释本研究结果。

本研究还比较了通气侧肺与萎陷侧肺氧化应激及损伤程度,发现萎陷侧肺肺损伤评分、中性粒细胞计数、BALF 中蛋白含量、NO 和 MDA 含量均高于通气侧肺,SOD 活力低于通气侧肺,表明萎陷侧肺氧化应激及损伤程度高于通气侧肺。本实验中单肺通气所致双侧肺不均一性损伤与游志坚^[12]等研究结果一致,但与 Zingg^[13]等的结果不符,可能因为实验动物不同,以及对肺组织萎陷/复张,缺血/复灌的耐受力 and 调节能力不同有关。

综上所述,单肺通气可导致兔肺氧化应激损伤,且非通气侧肺损伤程度较通气侧肺严重;姜黄素 40 mg/kg 预先给药可减轻单肺通气所致双侧肺损伤。

参考文献:

- [1] Misthos P, Katsaragakis S, Milingos N, et al. Postresectional pulmonary oxidative stress in lung cancer patients: The role of one-lung ventilation[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2005, 27(3): 379-382.
- [2] Grocott HP. Oxygen toxicity during one-lung ventilation: is it time to re-evaluate our practice? [J]. *Anesthesiol Clin*, 2008, 26(2): 273-280.
- [3] De Conno E, Steurer MP, Wittlinger M, et al. Anesthetic-induced improvement of the inflammatory response to one-lung ventilation [J]. *Anesthesiology*, 2009, 110(6): 1316-1326.
- [4] Della Rocca G, Coccia C. Ventilatory management of one-lung ventilation[J]. *Minerva Anesthesiol*, 2011, 77(5): 534-536.
- [5] Lee JC, Kinniry PA, Arguiri E, et al. Dietary curcumin increases antioxidant defenses in lung, ameliorates radiation-induced pulmonary fibrosis, and improves survival in mice[J]. *Radiat Res*, 2010, 173(5): 590-601.
- [6] Chen KH, Chao D, Liu CF, et al. Curcumin attenuates airway hyperreactivity induced by ischemia-reperfusion of the pancreas in rats[J]. *Transplant Proc*, 2010, 42(3): 744-747.
- [7] Ahmet G, Mehmet K, Burhan A, et al. Preventive effects of curcumin on different aspiration material-induced lung injury in rats[J]. *Pediatr Surg Int*, 2009, 25(1): 83-92.
- [8] 李兴旺,尚游,金胜威,等.姜黄素预先给药对内毒素诱导大鼠急性肺损伤的作用 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2007, 27(5): 455-458.
- [9] Chiang CH, Pai HI, Liu SL. Ventilator-induced lung injury (VILI) promotes ischemia/reperfusion lung injury (I/R) and NF-kappaB antibody attenuates both injuries [J]. *Resuscitation*, 2008, 79(1): 147-154.
- [10] Vlahakis NE, Hubmayr RD. Cellular stress failure in ventilator injured lungs [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 171(12): 1328-1342.
- [11] Shruti B, Sanjay C. Curcumin alone and in combination with augmentin protects against pulmonary inflammation and acute lung injury generated during Klebsiella pneumoniae B5055-induced lung infection in BALB/c mice[J]. *J Med Micro*, 2010, 59(4): 429-437.
- [12] 游志坚,姚尚龙,袁茵.单肺通气后两侧肺损伤程度的比较[J]. *华中医学杂志*, 2007, 31(2): 75-79.
- [13] Zingg U, Forberger J, Frey DM, et al. Inflammatory response in ventilated left and collapsed right lungs, serum and pleural fluid, in transthoracic esophagectomy for cancer[J]. *Eur Cytokine Netw*, 2010, 21(1): 50-57.
- [14] Sun J, Yang D, Li S. Effects of curcumin or dexamethasone on lung ischaemia-reperfusion injury in rats[J]. *Eur Respir J*, 2009, 33(2): 398-404.
- [15] 周刚,牛建昭,王继峰,等.姜黄素抗肺纤维化大鼠自由基损伤作用的实验研究[J]. *中国中药杂志*, 2006, 31(8): 669-672.
- [16] Biswas S, Rahman I. Modulation of steroid activity in chronic inflammation: a novel anti-inflammatory role for curcumin[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2008, 52(9): 987-994.
- [17] Feng R, Lu Y, Bowman LL, et al. Inhibition of activator protein-1, NF-kappaB, and MAPKs and induction of phase 2 detoxifying enzyme activity by chlorogenic acid [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(30): 27888-27895.
- [18] Andreadi CK, Howells LM, Atherfold PA, et al. Involvement of Nrf2, p38, B-Raf, and nuclear factor-kappaB, but not phosphatidylinositol 3-kinase, in induction of heme oxygenase-1 by dietary polyphenols [J]. *Mol Pharmacol*, 2006, 69(3): 1033-1040.
- [19] Yadav VS, Mishra KP, Singh DP, et al. Immunomodulatory effects of curcumin [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2005, 27(3): 485-497.

(编辑 张思健)