

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.09.014

没食子水提取物对人牙龈上皮角质形成细胞的体外影响*

徐娜¹, 李恺¹, 高鹏¹, 张若冰², 艾林^{1△}

(1. 中国人民解放军空军军医大学第九八六医院, 陕西 西安 710054; 2. 陕西省药品监督管理局, 陕西 西安 710065)
摘要:目的 探讨没食子水提取物对脂多糖诱导的人牙龈上皮角质形成细胞(HGEK)的抗炎作用, 以及对细胞组织伤口愈合作用的影响。方法 选取中国人民解放军空军军医大学第九八六医院口腔科2020年6月至12月收治的10例牙冠延长术患者的健康牙龈, 体外培养HGEK细胞, 使用第3~5代细胞。分为阴性对照组(A组, PBS), 脂多糖组(B组, 质量浓度为1 μg/mL), 低、中、高没食子水提取物组(分别为C₁组、C₂组、C₃组, 没食子酸质量浓度分别为1, 5, 10 mg/mL), 氯己定组(D组, 蒸馏水调整20%葡萄糖酸氯己定质量分数至0.2%)。采用四甲基偶氮唑盐比色(MTT)法测定细胞活力; 采用酶联免疫吸附(ELISA)法测定白细胞介素1β(IL-1β)、白细胞介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)基因和蛋白表达的水平; 采用划痕愈合实验观察没食子水提取物对细胞迁移的影响; 采用蛋白免疫印迹法测定核因子E2相关因子1(NF-κB)和血红素加氧酶1(HO-1)基因和蛋白表达水平。两组间定量资料采用Bonferroni检验, 多组间定量资料比较采用方差分析(ANOVA)。**结果** 与A组比较, C₂组、C₃组细胞活力显著增强($P < 0.05$)。与B组比较, C₂组、C₃组IL-1β, IL-6, TNF-α基因和蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$), C₃组细胞迁移率显著增加($P < 0.05$); 与A组比较, C₃组NF-κB和HO-1基因和蛋白的表达水平显著增强($P < 0.05$)。**结论** 没食子水提取物可下调炎症细胞因子水平, 减轻脂多糖诱导的HGEK的炎症反应, 具有作为口服口腔抗炎药的可能性。

关键词: 没食子水提取物; 人牙龈上皮角质形成细胞; 脂多糖; 炎症细胞因子; 抗炎作用; 作用机制; 划痕伤口愈合实验

中图分类号: R932; R285.6

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)09-0060-05

In Vitro Effect of Gallic Water Extract on Human Gingival Epithelial Keratinocytes

XU Na¹, LI Kai¹, GAO Peng¹, ZHANG Ruobing², AI Lin¹

(1. No. 986 Air Force Hospital of Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, China 710054; 2. Shaanxi Medical Products Administration, Xi'an, Shaanxi, China 710065)

Abstract: Objective To investigate the anti-inflammatory effect of gallic water extract on lipopolysaccharide (LPS)-induced human gingival epithelial keratinocytes (HGEK), and its effects on the wound healing of cells and tissue. **Methods** The healthy gums of 10 patients underwent crown lengthening surgery who were admitted to the Department of Stomatology of the No. 986 Air Force Hospital of Air Force Medical University from June to December 2020 were selected. The HGEK cells were cultured *in vitro* and the third to fifth generation cells were used. They were divided into the negative control group (group A, PBS), LPS group (group B, with a mass concentration of 1 μg/mL), low-, medium- and high-gallic water extract groups (groups C₁, C₂ and C₃, with the mass concentration of gallic acid of 1, 5 and 10 mg/mL, respectively) and chlorhexidine group (group D, distilled water adjusted the mass fraction of 20% chlorhexidine gluconate to 0.2%). Cell viability was determined by the methylthiazolotetrazolium

*基金项目: 中国人民解放军“十三五”军队后勤科研计划项目[CKJ20J027]。

第一作者: 徐娜, 女, 大学本科, 主管护师, 研究方向为颌面整形外科学和护理学, (电子信箱)82906972@qq.com。

△通信作者: 艾林, 男, 博士, 副主任医师, 研究方向为口腔内科学和口腔生物力学, (电子信箱)173861355@qq.com。

- [13] WANG X, ZHANG RX, DU N, et al. An open label, multi-center, noninterventional study of apatinib in advanced gastric cancer patients (AHEAD - G202)[J]. Therapeutic Advances in Medical Oncology, 2020, 12: 1-13.
- [14] LIU X, ZHENG QY, YU QF, et al. Apatinib regulates the growth of gastric cancer cells by modulating apoptosis and autophagy[J]. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 2021, 394(5): 1009-1018.
- [15] 黄超, 金铨. 替吉奥、氟尿嘧啶分别和多西他赛联合对高龄晚期胃癌患者的疗效比较[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(17): 3638-3642.
- [16] 王中正, 杜金红, 杨林. miR-21与晚期胃癌患者化疗效果关系的多因素研究[J]. 中国现代普通外科进展, 2020, 23(12): 986-988.
- [17] 单宏杰, 马骥. 整合化疗治疗老年局部晚期胃癌的临床研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2020, 45(3): 348-350.
- [18] 谭玉娥, 刘鑫. 肿瘤大小和代谢变化在晚期胃癌患者化疗中的临床意义[J]. 贵州医药, 2020, 44(11): 1795-1797.
- [19] 朱柠, 陈佳琦, 杨梦园, 等. 早期肿瘤退缩和肿瘤反应深度与曲妥珠单抗联合化疗一线治疗人表皮生长因子受体2阳性晚期胃癌患者疗效及预后的关系[J]. 中华肿瘤杂志, 2020, 42(10): 869-875.
- [20] SUZUKI C, BLOMQUIST L, SUNDIN A, et al. The initial change in tumor size predicts response and survival in patients with metastatic colorectal cancer treated with combination chemotherapy[J]. Ann Oncol, 2012, 23(4): 948-954.
- [21] 黄志宇, 吴海山, 姚奇伟, 等. 甲磺酸阿帕替尼片联合放化疗对比单独放化疗治疗食管鳞癌: 平行对照、探索性Ⅱ期临床研究[J]. 中外医疗, 2020, 39(6): 9-14.

(收稿日期: 2021-08-14; 修回日期: 2021-12-17)

(MTT) colorimetry assay. The expression levels of interleukin 1β (IL- 1β), interleukin 6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α) genes and proteins were determined by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The effect of gallic water extract on cell migration was observed by the scratch wound healing assay. The expression levels of nuclear factor E2 related factor (Nrf2) and heme oxygenase-1 (HO-1) genes and proteins were determined by the Western blot. Quantitative data between two groups was analyzed by the Bonferroni test, and quantitative data among multiple groups was compared by the analysis of variance (ANOVA). **Results** Compared with those in group A, the cell viability in group C₂ and group C₃ enhanced significantly ($P < 0.05$). Compared with those in group B, the expression levels of IL- 1β , IL-6 and TNF- α genes and proteins in group C₂ and group C₃ decreased significantly ($P < 0.05$), and the cell migration rate in group C₃ increased significantly ($P < 0.05$). Compared with those in group A, the expression levels of Nrf2 and HO-1 genes and proteins of group C₃ enhanced significantly ($P < 0.05$).

Conclusion The gallic water extract can down-regulate the level of inflammatory cytokines, alleviate the inflammatory response of HGEK induced by LPS and has the possibility of being used as an oral anti-inflammatory drug.

Key words: gallic water extract; human gingival epithelial keratinocytes; lipopolysaccharide; inflammatory cytokine; anti-inflammatory effect; mechanism; scratch wound healing assay

没食子是常用中药材,为没食子蜂科昆虫没食子蜂的幼虫寄生于壳斗科植物没食子树幼枝上产生的干燥虫瘿,具有潜在的药用特性,已应用于临床研究^[1-2]。没食子性寒,味苦,有效成分主要为鞣质、没食子酸、没食子酸烷基酯等,具有固涩、收敛、燥湿、止血功效,其抗炎、抗肿瘤、抗氧化和抗菌活性较强^[3]。与甾体或非甾体抗炎化学药物相比,中草药长期应用的副作用较小,治疗成本更低^[4]。目前,没食子已用于制备漱口水和义齿清洁剂,治疗生物膜依赖性口腔疾病,但其在口腔软组织炎症、愈合及修复中的作用仍不明确。牙龈上皮是抵御病原微生物入侵牙周组织的第一道屏障,人牙龈上皮角质形成细胞(HGEK)是牙龈上皮组织的重要组成部分,牙龈上皮与先天和适应性免疫细胞间的“沟通”对于快速识别和有效清除上皮表面的病原体至关重要,是抵抗外界侵袭的第一道防线。其对微生物攻击免疫细胞后产生的细胞因子、趋化因子和抗微生物肽等可溶性介质均可产生相应免疫反应^[5],对于保持牙周组织的完整性、深化牙周炎研究有重要意义。本研究中探讨了没食子水提取物对脂多糖诱导的抗炎作用,以及通过核因子E2相关因子(Nrf2)及血红素加氧酶1(HO-1)信号通路的作用机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与研究标本

仪器: GenoSens 6200型蛋白免疫印迹(Western blot)荧光分析仪, QuantStudio 6型实时荧光定量仪, NanoDrop™ One / OneC型酶标仪,均购自美国Bio-Rad公司; IXplore Standard型倒置荧光显微镜(日本Olympus公司); Heracell VIOS 160i型CO₂培养箱(美国Thermo Fisher公司); TY-7002型小型粉碎机(江苏天源试验设备有限公司)。

试剂: 没食子(中国新疆奇康哈博维药有限责任公司,批号为20161112); 20%葡萄糖酸氯己定(中国上海麦克林生化科技有限公司,批号为C832370); 酶联免疫

吸附(ELISA)试剂盒(批号为11585878001),胎牛血清(来源于澳大利亚,批号为12103C),四甲基偶氮唑盐比色(MTT)试剂盒(批号为M5655),白细胞介素 1β (IL- 1β ,批号为RAB0273),白细胞介素6(IL-6)ELISA试剂盒(批号为RAB0306),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)ELISA试剂盒(批号为RAB0476),蛋白酶抑制剂混合物(批号为P2714),BCA蛋白定量试剂盒(批号为BCA1),胰蛋白酶(批号为T2600000),DMEM培养基(批号为D0819),均购自美国Sigma公司; RNeasy试剂盒(美国Qiagen公司,批号为74104); TaqMan试剂盒(赛默飞世尔科技<中国>有限公司,批号为4331182)。

研究标本: 选取中国人民解放军空军第九八六医院口腔科2020年6月至12月收治的牙冠延长术患者10例,采用龈切手术切取健康牙龈。本研究方案通过医院医学伦理委员会批准(批件号为202003017)。

1.2 方法

没食子水提取物制备: 取没食子,粉碎为粗粉,加5倍量水浸泡4 h,煎煮3次,过滤,每次1 h;合并煎液,过滤,真空干燥,得浸膏,称定质量,分装,待用。

实验分组: 共设6组。阴性对照组(A组, PBS),脂多糖组(B组, 质量浓度为1 $\mu\text{g}/\text{mL}$),低、中、高没食子水提取物组(分别为C₁组、C₂组、C₃组,已加入1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 脂多糖预处理,没食子酸质量浓度分别为1, 5, 10 mg/mL),氯己定组(D组,已加入脂多糖预处理,蒸馏水调整20%葡萄糖酸氯己定质量分数至0.2%)。

HGEK-16系的建立: 取行龈切手术患者的健康牙龈,用PBS清洗3次,去除多余结缔组织。置0.25%胰蛋白酶和0.05%乙二胺四乙酸二钠(1:1, V/V)混合液中,37℃消化1 h,取上层溶液,离心(转速为2 000 r/min)5 min,弃上清液。PBS清洗,加入限定型无血清角质细胞培养液10 mL,混匀,调整细胞密度至10⁴个/cm²后计数,并接种培养(37℃);当细胞融合约为80%密度时,进行传代培养。每天观察细胞的形态、生长、增殖情

况;采用 Envision 法进行角蛋白免疫组化染色,以鉴定角质细胞,于 - 80 ℃低温冰箱冰冻保存。

细胞培养:实验前,复苏 HGEK 细胞,置培养箱(5%CO₂、95%相对湿度、37 ℃)中培养。细胞置于 DMEM 培养基,加入 0. 25%胰蛋白酶、100 U/mL 青霉素、100 mg/mL 链霉素、2 mmol/L L-谷氨酰胺、0. 25 mg/mL 真菌酮。每隔 4 d 更换 1 次培养基,每周传代 1 次。本研究中使用的细胞均为第 3~5 代细胞。

细胞活力测定:采用 MTT 法测定 HEGK 的细胞活力。将 HGEK(0. 1 × 10⁶ 个/mL)置 12 孔板中,加入各试验组培养(5%CO₂、95%相对湿度、37 ℃)24 h,吸去培养液,使用 PBS 冲洗细胞,加入不同浓度没食子水提取物(1, 5, 10 mg/mL)培养 24 h,每孔加入 500 μL MTT, 37 ℃下避光培养 4 h,弃去 MTT,添加异丙醇。采用分光光度计,于 570 nm 波长处测定光密度(OD₅₇₀),重复 3 次。

炎症标志物基因及蛋白表达水平测定:各组细胞传代培养 24 h,采用实时荧光定量聚合酶链反应分析(RT-qPCR)检测细胞上清液中 IL-1β, IL-6, TNF-α 基因的水平;采用组织和细胞总 RNA 提取(Trizol)法提取总 RNA;利用 Primer3 在线引物设计 IL-1β, IL-6, TNF-α 的引物序列(表 1)。RT-PCR 法使用 TaqMan 试剂盒进行,反应体系总量 25 μL: TaqMan Mix 12. 5 μL, DNA 模板 5 μL, ddH₂O 4. 625 μL。反应流程为 50 ℃、2 min, 95 ℃、10 min, 95 ℃、30 s, 60 ℃、30 s, 进行 60 个循环,并在反应过程中自动绘制线性标准曲线。计算以 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)为对照的相关基因表达水平,重复 3 次。使用人 IL-1β, IL-6, TNF-α ELISA 试剂盒,根据使用说明书收集细胞培养上清液,分别将标本和不同浓度标准品(每孔 100 μL)加入相应孔中,加入酶标抗体工作液(每孔 50 μL),并增加 1 孔作为空白对照。用封板胶纸封住反应孔,室温孵育 180 min。充分混匀,振荡(转速为 700 r/min)。自动洗板机洗板 4 次,注入洗涤液 350 μL,注入与吸出间隔 15~30 s。每孔加入显色剂 100 μL,避光,室温孵育 20~25 min。每孔加入终止液 100 μL,混匀,即刻测量 450 nm 波长下的光密度(OD₄₅₀)。

划痕伤口愈合迁移实验(细胞迁移):将 HGEK 以 10⁵ 个/mL 的密度接种至 12 孔板进行建模,37 ℃下培养 24 h。将细胞置 DMEM 培养基,加入 10 μg/mL 丝裂霉素 C, 培养 2 h,以抑制细胞的有丝分裂。使用 10 μL 移液管尖(直径为 700~900 μm)制造划痕伤口,制造划痕后,使用 PBS 冲洗,去除细胞碎片,分为 6 组。24 h 后使用倒置显微镜观测伤口长度,伤口闭合度为伤口加样后 0 h 和 24 h 的宽度差。

Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平测定:采用 Western

表 1 3 种炎症细胞因子的特异性引物序列

Tab. 1 Specific primer sequences for three kinds of inflammatory cytokines

细胞因子	引物序列
IL-1β	上游:TAGAGCTGCTGGCCTTGTTA 下游:ACCTGTAAAGCCTTCTCGGA
TNF-α	上游:TGCCTATGTCTCAGCCTCTT 下游:GAGGCCATTTGGGAACCTTCT
IL-6	上游:ATGAACTCCTTCTCCACAAGC 下游:GTTTTCTGCCAGTGC CTCTTTG
GAPDH	上游:GCTCTCTGCTCCTCCCTGTT 下游:CACACCGACCTTCACCATCT

blot 法检测阴性对照、脂多糖(1 μg/mL)、脂多糖(1 μg/mL) + 没食子(10 mg/mL)溶液处理 HEGK 细胞,将细胞(10⁵ 个/mL)接种至 12 孔板中,37 ℃培养 24 h,使用含有蛋白酶抑制剂的缓冲液提取蛋白质,4 ℃下离心(转速为 12 000 r/min) 15 min,采用 BCA 法对上清液蛋白进行定量分析。

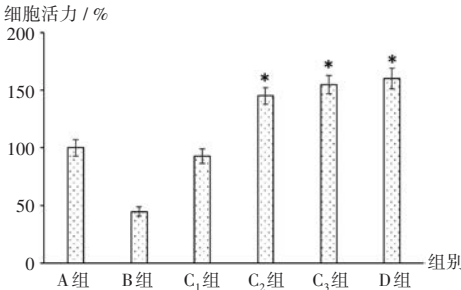
1.3 统计学处理

采用 SPSS 21. 0 统计学软件分析。细胞活力多重比较采用方差分析(ANOVA),组内比较行 Bonferroni 分析。 $P < 0. 05$ 为差异有统计学意义。采用 Excel 365 软件和 Image J 图像软件进行绘图、计算。

2 结果

2.1 对 HGEK 细胞活力的影响

与 A 组比较,C₂ 组、C₃ 组、D 组细胞活力显著提高($P < 0. 05$),且随没食子水提取物质量浓度的增加而提高,但差异无统计学意义($P > 0. 05$)。与 D 组比较,C₂ 组、C₃ 组差异无统计学意义($P > 0. 05$)。详见图 1。



注:与 A 组比较,* $P < 0. 05$ 。图 2、图 3、图 5 同。

图 1 没食子水提取物对 HGEK 细胞活力的影响

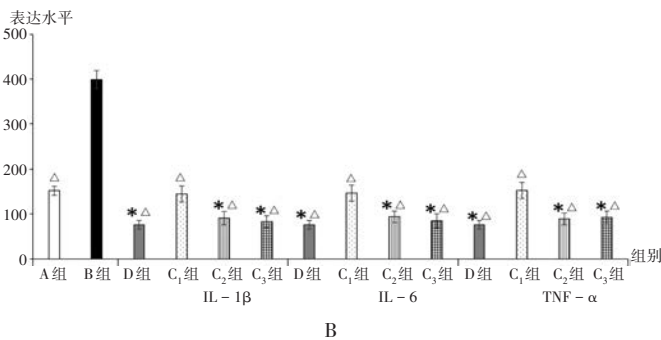
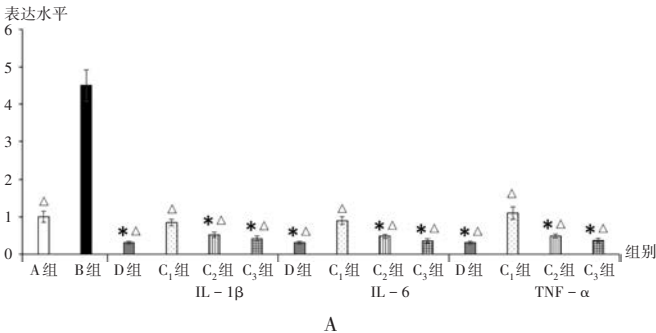
Note: Compared with those in group A, * $P < 0. 05$ (for Fig. 1 - 3 and Fig. 5).

Fig. 1 Effect of gallic water extract on the viability of HGEK cells

2.2 对炎症标志物的影响

由图 2 可知,与 A 组比较,B 组 IL-1β, IL-6, TNF-α 的表达显著增加($P < 0. 05$),表明脂多糖是满足实验要求的促炎性细胞因子。与 A 组比较,C₂ 组、C₃ 组、D 组上述指标显著降低($P < 0. 05$),但 C₁ 组无显著差异

($P > 0.05$)。与B组比较, C₂组、C₃组、D组上述指标均显著降低($P < 0.05$), 但C₂组、C₃组、D组均无显著差异($P > 0.05$)。详见图2。



A. 基因表达 B. 蛋白表达

注: 与B组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

图2 没食子水提取物对炎症标志物的影响

A. Gene expression B. Protein expression

Note: Compared with those in group B, $\Delta P < 0.05$.

Fig. 2 Effect of gallic water extract on inflammatory markers

2.3 划痕伤口愈合实验(细胞迁移)

伤口闭合数据以24 h时相对于基线时间点的百分比平均值表示。与A组比较, C₃组 HEGK 细胞24 h内迁移率的差异有统计学意义($P < 0.05$), 24 h后伤口几乎完全闭合。详见图3和图4。

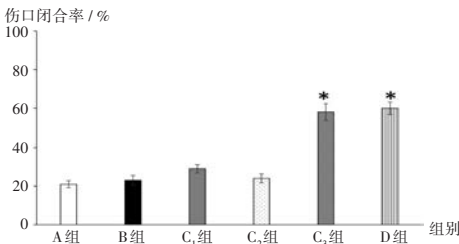


图3 24 h内划痕伤口愈合实验

Fig. 3 Scratch wound healing assay within 24 h

2.4 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达

与A组比较, B组、C₃组 Nrf2 和 HO-1 基因和蛋白质表达水平均显著升高($P < 0.05$)。详见图5。

3 讨论

没食子有效成分主要为提取物中的没食子鞣质、没食子酸、没食子酸烷基酯等, 可在体外抑制一氧化氮(NO)、前列腺素等炎症介质, 提示其可能具有抗肿瘤活

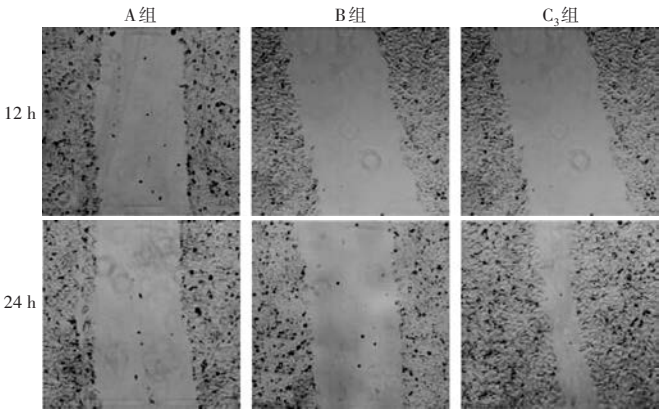
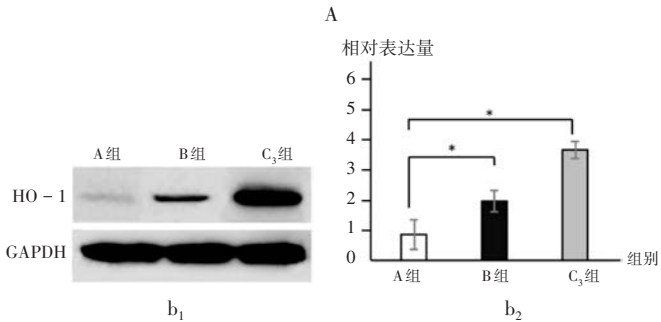
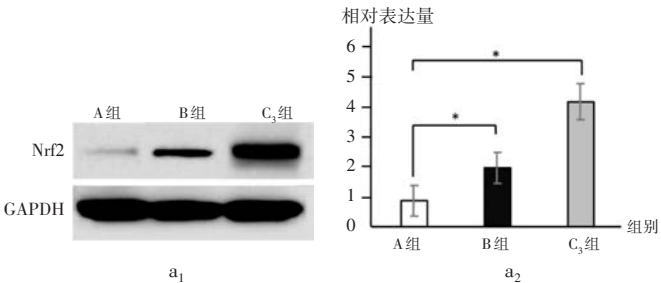


图4 划痕伤口细胞迁移实验

Fig. 4 Scratch wound cell migration assay



A. Nrf2 B. HO-1
a₁, b₁. 电泳图 a₂, b₂. 统计数据

图5 没食子水提取物对脂多糖刺激角质形成细胞中Nrf2和HO-1基因和蛋白表达的影响

a₁, b₁. Electropherograms a₂, b₂. Statistical data

A. Nrf2 B. HO-1

Fig. 5 Effect of gallic water extract on the expression of Nrf2 and HO-1 genes and proteins in keratinocytes stimulated by LPS

性^[5-6]。其中, 鞣质具有抗炎活性, 是制作药物漱口水的必要成分, 没食子水提取物还可增强口腔过氧化物酶活性, 防止牙周炎的发生和发展^[7-9]。

本研究结果表明, 与B组比较, C₂组、C₃组、D组 HEGK 细胞活力显著提高。但没食子水提取物在较高浓度下对细胞毒性及细胞增殖周期的影响尚不明确^[10-11]。故在体外实验中, 需谨慎控制没食子水提取物的质量浓度。本研究预实验结果显示, 50 mg/mL 质量浓度的没食子水提取物溶液是无细胞毒性的。

脂多糖是革兰阴性菌外膜的重要组成部分, 通过

toll样受体、白细胞介素、二十烷酸和NO的分泌,促进细胞信号转导^[12-13]。TNF- α 可通过上调其他促炎性细胞因子(如IL-6,IL-1)诱导血管生成和活化,并刺激NO的产生,从而导致炎性细胞水平提高^[14-15];IL-1 β 诱导IL-6和IL-8的分泌,同时可起到促炎性细胞因子的启动和增强作用^[16]。与A组比较,B组IL-1 β ,IL-6,TNF- α 基因和蛋白质表达水平均显著提高,C₂组、C₃组、D组上述指标水平均显著降低,提示没食子水提取物可降低其基因及蛋白质表达水平,减轻组织炎症反应。

体外划痕伤口愈合实验结果显示,24 h内脂多糖(1 μ g/mL)组细胞的活动性/迁移活性显著降低,5 mg/mL和10 mg/mL的没食子水提取物与B组相比有显著差异,可成功地刺激炎症环境中细胞的活性与迁移,而1 μ g/mL的没食子水提取物和0.2%氯己定溶液刺激作用与A组相比,差异不明显。这可能是由于没食子含量较低,从而降低了刺激效力,提示HGEK对没食子的反应可能存在一个阈值,而氯己定并未提升细胞的活力/迁移活性的能力。

没食子水提取物对HGEK细胞迁移的影响反映了该类细胞对脂多糖的相对敏感性,本研究中同时进行了分子信号通路的研究。结果显示,没食子水提取物可激活Nrf2通路,对脂多糖暴露的细胞发挥抗炎作用。同时,Nrf2依赖的抗氧化基因HO-1也显著增加。有研究表明,Nrf2通路的激活可阻止脂多糖诱导的促炎性细胞因子的上调^[17]。故可用于激活Nrf2通路的药物被认为是治疗牙龈炎或牙周炎等口腔炎症性疾病的潜在疗法。目前,临床口腔使用的Nrf2活化药物很少,故使用没食子开发新型的Nrf2激活剂具有重要的临床意义。

综上所述,没食子水提取物可下调炎性细胞因子,以减轻脂多糖诱导的HGEK的炎症反应,具有作为口服口腔抗炎药的潜在开发价值。本研究结果可为中草药的进一步应用于口腔提供方向,未来的研究需要在更复杂的体内环境下分析没食子的抗菌作用。

参考文献

- [1] 魏玉洁,马璇,刘金文,等. 一种含没食子皮肤黏膜抑菌剂的抑菌效果试验观察[J]. 中国消毒学杂志,2019,36(7): 505-506.
- [2] 陈一卓,伍廷芸,阮琼,等. 中草药活性物质在釉质再矿化作用中的研究进展[J]. 现代医药卫生,2020,36(13): 2005-2008.
- [3] 张小莉,李雪,高苏妮,等. 没食子和五倍子体外抑菌作用比较研究[J]. 中国药业,2018,27(23):29-31.
- [4] 张翠琴. 如何正确使用中草药[J]. 世界最新医学信息文摘,2017,17(4):128.
- [5] FERREIRA BG, FREITAS MSC, BRAGANCA GP, et al. Enzyme-mediated metabolism in nutritive tissues of galls induced by *Ditylenchus gallaeformans* (Nematoda: Anguinidae) [J]. Plant Biol (Stuttg), 2019,21(6):1052-1062.
- [6] SANTOS-SILVA J, ARAÚJO TJ. Are Fabaceae the principal super-hosts of galls in Brazil? [J]. An Acad Bras Cienc, 2020, 92(2):e20181115.
- [7] 高鹏,李恺,张若冰,等. 没食子水提取物对钛表面念珠菌生物膜的抑制作用[J]. 中国药业,2021,30(16):62-64.
- [8] BOMFIM PMS, CARDOSO JCF, REZENDE UC, et al. Red galls: The different stories of two gall types on the same host [J]. Plant Biol (Stuttg), 2019,21(2):284-291.
- [9] HARRIS MO, PITZSCHKE A. Plants make galls to accommodate foreigners: Some are friends, most are foes [J]. New Phytol, 2020,225(5):1852-1872.
- [10] PATEL S, RAUF A, KHAN H. The relevance of folkloric usage of plant galls as medicines: Finding the scientific rationale [J]. Biomed Pharmacother, 2018,97:240-247.
- [11] JIA MY, LI QL, HUA J, et al. Phytohormones Regulate Both "Fish Scale" Galls and Cones on *Picea koraiensis* [J]. Front Plant Sci, 2020,11:580155.
- [12] TSUKAMOTO H, TAKEUCHI S, KUBOTA K, et al. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein stimulates CD14-dependent Toll-like receptor 4 internalization and LPS-induced TBK1-IKK-IRF3 axis activation [J]. J Biol Chem, 2018, 293(26):10186-10201.
- [13] NEJSUM LN, PIEC A, FIJAK M, et al. Systemic LPS induces toll-like receptor 3 (TLR3) expression and apoptosis in testicular mouse tissue [J]. Cell Tissue Res, 2019,378(1):143-154.
- [14] ZHUANG YT, XU DY, WANG GY, et al. IL-6 induced lncRNA MALAT1 enhances TNF- α expression in LPS-induced septic cardiomyocytes via activation of SAA3 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017,21(2):302-309.
- [15] JING ZT, LIU W, XUE CR, et al. AKT activator SC79 protects hepatocytes from TNF- α -mediated apoptosis and alleviates d-Gal/LPS-induced liver injury [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2019,316(3):G387-G396.
- [16] GIUSTARINI G, HUPPELSCHOTEN S, BARRA M, et al. The hepatotoxic fluoroquinolone trovafloxacin disturbs TNF- and LPS-induced p65 nuclear translocation *in vivo* and *in vitro* [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2020,391:114915.
- [17] LIAO S, WU JN, LIU RM, et al. A novel compound DBZ ameliorates neuroinflammation in LPS-stimulated microglia and ischemic stroke rats: Role of Akt (Ser473)/GSK3 β (Ser9)-mediated Nrf2 activation [J]. Redox Biol, 2020,36:101644.

(收稿日期:2021-06-21;修回日期:2021-09-08)