

BaP 通过 AhR 和 Nrf2 信号通路对 HepG2 细胞中 GSTP1 的影响

王 蕾¹, 张梦迪^{1,2}, 苏 敏¹, 王朝杰¹, 胡玉霞^{1,2},
白图雅^{1,2}, 吕晓丽^{1,2}, 李 君^{1,2}, 常福厚^{1,2*}

(1. 内蒙古医科大学 药学院, 内蒙古 呼和浩特 010059;

2. 内蒙古自治区新药筛选工程研究中心, 内蒙古 呼和浩特 010100)

【摘 要】目的 探究苯并芘(benzo[a]pyrene, BaP)通过芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AhR)和核因子E2相关因子(subcellular localization of nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2)信号通路对HepG2细胞中谷胱甘肽-S-转移酶P1(glutathione s-transferase P1, GSTP1)的影响。**方法** 将体外培养HepG2细胞分为Control组、BaP(10 μmol/L)组、BaP(10 μmol/L)+AhR抑制剂(1 μmol/L)组和BaP(10 μmol/L)+Nrf2抑制剂(1 μmol/L)组。BaP组给予10 μmol/L BaP培养24 h, 抑制剂组给予1 μmol/L抑制剂0.5 h后, 加入10 μmol/L BaP培养24 h, 采用Western Blot和qPCR实验方法检测各组AhR、Nrf2、细胞色素P450s(cytochrome P450s, CYPs)、血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)及GSTP1基因和蛋白的表达。**结果** 与Control组相比, BaP组中AhR、Nrf2、GSTP1、CYP1A1及HO-1的mRNA和蛋白表达均升高($P<0.05$); 与BaP组相比, BaP+AhR抑制剂组中AhR、GSTP1和CYP1A1的mRNA和蛋白表达均降低($P<0.05$), BaP+Nrf2抑制剂组中Nrf2、GSTP1和HO-1的表达均降低($P<0.05$); 与BaP+AhR抑制剂组相比, BaP+Nrf2抑制剂组GSTP1 mRNA和蛋白的表达降低, 差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** BaP通过AhR和Nrf2两条信号通路增加GSTP1的表达, 以Nrf2信号通路为主导影响GSTP1的表达。

【关键词】 苯并芘; 芳香烃受体; 核因子E2相关因子2; 谷胱甘肽-S-转移酶P1; 药物代谢酶

中图分类号: R966

文献标识码: A

文章编号: 2095-512X(2023)03-0235-06

BaP REGULATES THE EXPRESSION OF GSTP1 IN HepG2 CELLS THROUGH AhR AND Nrf2 SIGNALING PATHWAYS

WANG Lei¹, ZHANG Mengdi^{1,2}, SU Min¹, WANG Zhaojie¹, HU Yuxia^{1,2}, BAI Tuyu^{1,2},
LV Xiaoli^{1,2}, LI Jun^{1,2}, CHANG Fuhou^{1,2*}

(1. College of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010059, China; 2. New Drug Screening Engineering Research Center of Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot 010100, China)

【Abstract】Objective To determine the effects of BaP regulates the expression of GSTP1 through AhR and Nrf2 signaling pathway sin HepG2 cells. **Methods** HepG2 cells in vitro were divided into control group, BaP(10 μmol/L) group, BaP(10 μmol/L)+AhR(1 μmol/L) inhibitor group and BaP(10 μmol/L)+Nrf2(1 μmol/L) inhibitor group. The BaP group was given 10μmol/LBaP for 24 hours. The inhibitor group was given 1μmol/L inhibitor for half an hour and than added 10 μmol/L BaP for 24 hours. The expressions of AhR, Nrf2, CYP1A1, HO-1 and GSTP1 were detected by Western Blot and qPCR. **Results** Compared with the control group, the mRNA and protein expressions of AhR, Nrf2, GSTP1, CYP1A1 and HO-1 in HepG2 cells were risen of BaP group ($P<0.05$). Compared with BaP group, the mRNA and protein expressions of AhR, GSTP1 and CYP1A1 in HepG2 cells were reduced of BaP+AhR inhibitor group($P<0.05$). And compared with the the control group, the mRNA and protein expressions of Nrf2, GSTP1 and HO-1 in HepG2 cells were reduced of BaP+Nrf2 inhibitor group($P<0.05$). Compared with the group of BaP+AhR, the expression of GSTP1 mRNA and protein in BaP+Nrf2 inhibitor group was lower than BaP+AhR inhibi-

收稿日期: 2022-07-25; 修回日期: 2023-04-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(81760676, 82260733); 内蒙古自治区自然科学基金项目(2019LH08017); 内蒙古自治区高等学校科学研究项目(NJZY21593); 内蒙古自治区自然科学基金青年基金项目(2023QN08016)

第一作者: 王蕾(1997—), 女, 2020级在读硕士研究生。E-mail: 894392156@qq.com

*通信作者: 常福厚, 男, 博士, 教授, 硕士研究生导师。研究方向: 生化与分子药理学。E-mail: changfh@sina.com

tor group($P < 0.05$). **Conclusions** BaP can increase the expression of GSTP1 through AhR and Nrf2 signaling pathways, and Nrf2 signaling pathway may dominate the expression of GSTP1.

【Keywords】 Benzo[a]pyrene; Aryl hydrocarbon receptor; Subcellular localization of nuclear factor E2-related factor 2; Glutathione-S-transferases P1; Grug metabolizing enzyme

药物代谢酶分为三相:I相、II相和III相,具有代谢药物、环境污染物的作用,还可以将部分药物代谢后再次发挥作用^[1]。细胞色素 P450s (cytochrome P450s, CYPs) 如 CYP1A1、CYP1B2 是 I 相酶中的一种单胺酶,在药物代谢中发挥氧化作用;II 相药物代谢酶主要发挥结合作用,如谷胱甘肽-S-转移酶 (glutathione-s-transferases, GSTs) 和血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 等;III 相酶系统由各种 ATP 结合 (ATP-binding cassette, ABC) 转运蛋白家族组成,参与排除药物和异生物质及其代谢物^[2-4]。药物代谢酶可受芳香烃受体 (aryl hydrocarbon receptor, AhR)、核因子 E2 相关因子 (subcellular localization of nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2) 等多种转录因子调节^[5-7]。

多环芳烃类化合物 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是常见的环境污染物。研究认为 PAHs 可以诱导 CYP1A1 的表达,增加机体对 PAHs 的代谢^[8, 9],其中苯并芘 (benzo[a]pyrene, BaP) 是 PAHs 中最主要的成分,BaP 在体内可通过 AhR 激活 I 相酶和 II 相酶的转录^[5, 10]。代谢途中会产生大量活性代谢产物和活性氧 (reactive oxygen species, ROS),激活 Nrf2 信号通路,进而引起一系列抗氧化和解毒相关因子的转录^[11, 12]。

谷胱甘肽-S-转移酶 P1 (glutathione s-transferase P1, GSTP1) 是谷胱甘肽硫转移酶 (GST) 家族中的 pi 类,是近期国内外研究最广泛的蛋白,是肿瘤的抑制基因,具有消除潜在毒性的外源性物质、代谢多种致癌化合物的作用,保护细胞免受 DNA 损伤和癌变^[13, 14]。研究表明^[15],具有 AhR 拮抗作用的白藜芦醇可以抑制 PM2.5 中的可提取有机物引发的氧化应激,减弱 GSTP1 的表达,GSTP1 同 Nrf2 之间存在功能性相互作用;克百威可以影响对 Nrf2 的信号传导,暴露于克百威后,Nrf2 和 GSTP1 的表达下降^[16]。而 BaP 在 HepG2 细胞中是否影响 GSTP1 的表达,以及是否影响 AhR 或 Nrf2 通路有关的研究鲜有报道,因此本实验采用 Western Blot 和 qPCR 法检测 BaP 通过 AhR 及 Nrf2 两条信号通路调节 HepG2 细胞中 GSTP1 表达的分子机制,为研究 BaP 的致癌机制提供一定的实验参考依据,为以 GSTP1 为靶点的抗癌药提供新思路。

1 材料与方法

1.1 细胞株

人肝癌细胞株 (HepG2) (北京协和基础医学研究所)。

1.2 主要试剂与仪器

1.2.1 仪器 垂直电泳仪 (型号: HE99X-15-1.5) 购自美国 Hoefer 公司; 红外荧光扫描系统 (型号: Odyssey CLx) 购自美国 LICOR 公司; 金属浴 (型号: OSE-DB-01) 购自北京天根生化公司; 台式高性能离心机 (型号: ST16R)、二氧化碳培养箱 (型号: Heraeus HERA cell 150i) 和荧光实时定量 PCR 仪 (型号: Thermo-Forma-702) 购自美国 Thermo Fisher 公司。

1.2.2 试剂 DMEM 培养基 (批号: 11965118) 和灭活胎牛血清 (批号: 10100147) 购自美国 Gibco 公司; 胰蛋白酶 (批号: 2326508) 购自美国 Sigma 公司; AhR (批号: ab190797)、CYP1A1 (批号: ab235185)、Nrf2 (批号: ab62352)、HO-1 (批号: ab52947)、GSTP1 (批号: ab138491)、 β -actin (批号: ab8226) 抗体购自美国 Abcam 公司; AhR 抑制剂 CH-223191 (批号: 301326-22-7) 和 Nrf2 抑制剂 ML-385 (批号: 846557-7-19) 购自上海源叶生物科技有限公司; RIPA 裂解液 (批号: P0014B) 和蛋白浓度测定试剂盒 (货号: 183056) 购自碧云天生物技术有限公司; 5 × loading buffer (SDS-PAGE) 蛋白上样缓冲液 (批号: 103023)、甘氨酸 (批号: 15121223) 和 Tris (批号: G1262) 购自北京普利莱基因技术有限公司; TEMED (批号: 15021392) 购自迈新生物技术开发有限公司; Rever Tra Ace q PCR RT Kit (批号: K1622) 购自美国 ThermoFisher 公司; SYBR Green 试剂盒 (批号: QPK-201) 购自日本 TOYOBO 公司; RNA simple Total RNA Kit (批号: DP419) 购自中国天根生化公司。

1.3 细胞培养

将 HepG2 细胞培养于含 10% FBS、100 IU/mL 链霉素和 100 IU/mL 青霉素的 DMEM 培养基中,置于 37 °C、体积分数 5% 的 CO₂ 培养箱中。显微镜下观察细胞生长状态,当细胞长至铺满培养瓶底 80%~90% 时,进行后续实验。

1.4 BaP 及抑制剂处理 HepG2 细胞

取 HepG2 细胞接种于六孔板,分为 Control 组、

BaP 组 (10 $\mu\text{mol/L}$)、BaP (10 $\mu\text{mol/L}$) + AhR 抑制组 (1 $\mu\text{mol/L}$), 通过以上分组观察 BaP 通过 AhR 对 GSTP1 的影响。将细胞分为 Control 组、BaP 组 (10 $\mu\text{mol/L}$)、BaP (10 $\mu\text{mol/L}$) + Nrf2 抑制组 (1 $\mu\text{mol/L}$)^[17], 观察 BaP 通过 Nrf2 对 GSTP1 的影响。将细胞分为 Control 组、BaP 组 (10 $\mu\text{mol/L}$)、BaP (10 $\mu\text{mol/L}$) + AhR 抑制组 (1 $\mu\text{mol/L}$)^[18]、BaP (10 $\mu\text{mol/L}$) + Nrf2 抑制组 (1 $\mu\text{mol/L}$), 观察 BaP 影响 HepG2 细胞中 GSTP1 表达的较为主要通路。分别检测 AhR、CYP1A1、Nrf2、HO-1 和 GSTP1 的 mRNA 和蛋白表达情况, 重复实验 3 次。

1.5 实时荧光定量 PCR (qPCR) 法检测 mRNA 表达
收集各组细胞, 按照说明书裂解细胞提取总 RNA, 检测 RNA 样品的含量, 逆转录为 cDNA。将 cDNA 和相关试剂混合均匀配成 20 μL 反应体系, 反应结束后, 对所得数据比较分析, 目标基因的相对定量用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 计算。引物序列见表 1。

1.6 Western Blot 检测蛋白水平

提取全蛋白, 用 BCA (bicinchoninic acid) 法测定蛋白质浓度。取约 20 μg 蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳 120 min 分离蛋白后转移到 PVDF 膜, 在封闭液中于室温封闭 1 h, 依次加入一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 次日取出条带, 二抗室温避光孵育 1 h, Odyssey 红外荧光扫描系统进行扫描。结果用 Image J 软件进行分析统计, 以目标蛋白与内参 β -actin 条带的灰度比值作为目标蛋白的相对表达水平。

1.7 统计学方法

采用 GraphPad Prism 7.0 软件分析, 符合正态分布的计量资料数据均以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示。检验水准为 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

表 1 引物序列
Tab.1 Primer sequence

基因	引物序列(5'—3')
GSTP1	Forward primer 5'-CATCTACACCAACTATGAGGCG-3'
	Reverse primer 5'-AGCAGGGTCTCAAAAGGCTTC-3'
AhR	Forward primer 5'-CTTAGGCTCAGCGTCAGTTAC-3'
	Reverse primer 5'-CGTTTCTTTCTAGTAGGGGAGGAT-3'
CYP1A1	Forward primer 5'-ACATGCTGACCCTGGGAAAG-3'
	Reverse primer 5'-GGTGTGGAGCCAATTCGGAT-3'
Nrf2	Forward primer 5'-TCCAGTCAGAAACCAGTGGAT-3'
	Reverse primer 5'-GAATGTCTGCGCCAAAAGCTG-3'
HO-1	Forward primer 5'-AAGACTGCGTTCCTGCTCAAC-3'
	Reverse primer 5'-AAAGCCCTACAGCAACTGTCTG-3'
β -actin	Forward primer 5'-TTAGCACCCTGGCCAAG-3'
	Reverse primer 5'-CTTACTCCTTGGAGGCCAT-3'

2 结果

2.1 BaP 通过 AhR 信号通路激活 GSTP1

BaP 通过 AhR 信号通路影响 GSTP1 的表达如图 1 所示。与 Control 组相比, BaP 组的 AhR、CYP1A1 和 GSTP1 的 mRNA 和蛋白的表达均升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 BaP 组相比, BaP + AhR 抑制剂组的 AhR、CYP1A1 和 GSTP1 的 mRNA 和蛋白的表达均降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

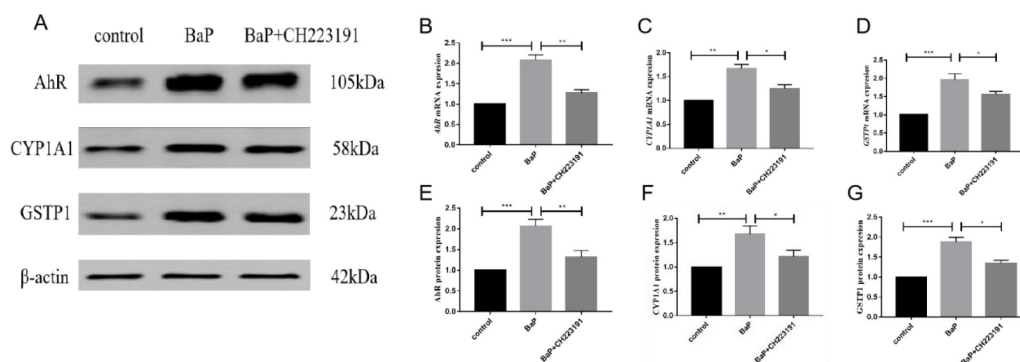


图 1 BaP 通过 AhR 对 GSTP1 基因和蛋白表达影响

Fig. 1 Effect of BaP on the expression of GSTP1 gene and protein through AhR

(A: 蛋白表达情况; B: AhR mRNA 表达统计图; C: CYP1A1 mRNA 表达统计图; D: GSTP1 mRNA 表达统计图; E: AhR 蛋白表达统计图; F: CYP1A1 蛋白表达统计图; G: GSTP1 蛋白表达统计图 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, $n = 3$)

(A: Protein expression; B: AhR mRNA expression statistics; C: CYP1A1 mRNA expression statistics; D: GSTP1 mRNA expression statistics; E: AhR protein expression statistics; F: CYP1A1 protein expression statistics; G: GSTP1 protein expression statistics * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, $n = 3$)

2.2 BaP 通过 Nrf2 信号通路激活 GSTP1

BaP 通过 Nrf2 信号通路影响 GSTP1 的表达如图 2 所示。与 Control 组相比, BaP 组的 Nrf2、HO-1 和 GSTP1 的 mRNA 和蛋白的表达均升高, 差异具有统

计学意义 ($P < 0.05$); 与 BaP 组相比较, BaP+Nrf2 抑制剂组的 Nrf2、HO-1 和 GSTP1 的 mRNA 和蛋白的表达均降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$) (见图 2)。

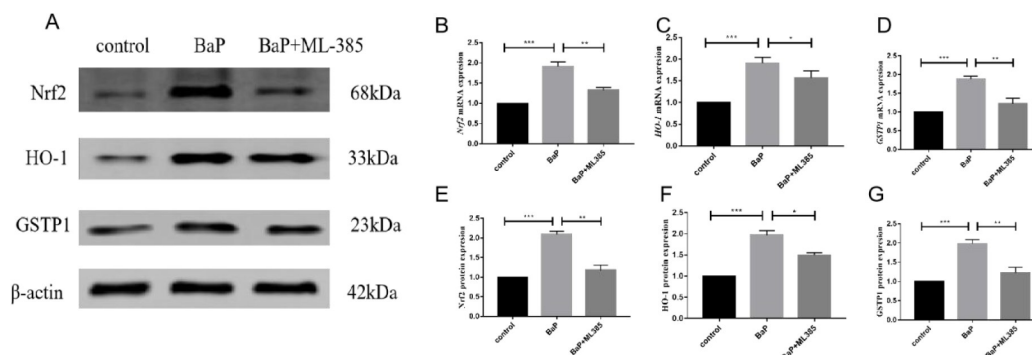


图2 BaP 通过 Nrf2 对 GSTP1 基因和蛋白表达影响

Fig. 2 Effect of BaP on the expression of GSTP1 gene and protein through Nrf2

(A: 蛋白表达情况; B: Nrf2 mRNA 表达统计图; C: HO-1 mRNA 表达统计图; D: GSTP1 mRNA 表达统计图; E: Nrf2 蛋白表达统计图; F: HO-1 蛋白表达统计图; G: GSTP1 蛋白表达统计图 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, $n=3$)

(A: Protein expression; B: Nrf2 mRNA expression statistics; C: HO-1 mRNA expression statistics; D: GSTP1 mRNA expression statistics; E: Nrf2 protein expression statistics; F: HO-1 protein expression statistics; G: GSTP1 protein expression statistics * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, $n=3$)

2.3 BaP 通过 AhR、Nrf2 信号通路对 GSTP1 的影响

BaP 通过 AhR 和 Nrf2 两条信号通路调控 GSTP1 的表达。与 Control 组相比, BaP 组 GSTP1 的 mRNA 和蛋白的表达均升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 BaP 组相比较, BaP+AhR 抑制剂组和 BaP+Nrf2 抑

制剂组 GSTP1 的表达均降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 其中与 BaP+AhR 抑制剂组相比, BaP+Nrf2 抑制剂组 GSTP1 表达降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$) (见图 3)。

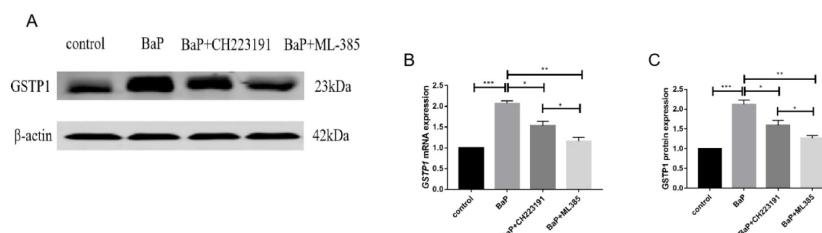


图3 BaP 通过 AhR、Nrf2 对 GSTP1 基因和蛋白表达影响

Fig. 3 Effect of BaP on the expression of GSTP1 gene and protein through AhR and Nrf2

(A: 蛋白表达情况; B: GSTP1 mRNA 表达统计图; C: GSTP1 蛋白表达统计图 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, $n=3$)

(A: Protein expression; B: GSTP1 mRNA expression statistics; C: GSTP1 protein expression statistics * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, $n=3$)

3 讨论

药物代谢酶广泛存在于自然界, 其中 I 相药物代谢酶主要发挥氧化作用, II 相药物代谢酶主要发挥结合作用, III 相酶系统由各种 ABC 转运蛋白家族组成, 药物代谢酶均参与药物和异生物质及其代谢物的代谢作用^[2-4]。

BaP 是一种化学类环境污染物, 常见于大气、烟草烟雾、汽车尾气和熏烤制食物, 长时间接触 BaP 会造成癌症、免疫抑制和致畸等各种不良影响^[19]。本

实验中 BaP 可以激活 AhR-XRE 和 Nrf2-ARE 通路, 增加 AhR、Nrf2、CYP1A1、HO-1 和 GSTP1 的 mRNA 蛋白的表达, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。BaP 在体内的代谢往往是个复杂的过程, BaP 可激活 AhR 进而激活 I 相酶和 II 相酶的转录^[15, 10], BaP 在体内代谢的同时可引起氧化应激反应, 激活 II 相代谢酶的转录^[11, 12]。

GSTs 由一组同工酶组成, 药物、食物、环境污染物等外源性物质影响其在体内的表达^[20]。GSTP1 是 GSTs 中的 pi 类, GSTP1 具有广泛的生理功能, 可参

与代谢、解毒、调节氧化应激、保护细胞免受DNA损伤和癌变等功能^[21,22]。GSTP1可通过促进亲电中心与亲脂化合物结合,减轻外源性药物和氧化应激产物对人体的危害,抑制胶质细胞瘤的增殖^[23];GSTP1可将不稳定的分子转化为稳定分子来减轻氧化应激对机体的伤害,影响肝细胞癌的增殖和转移^[24];GSTP1还可以消除烟草中的致癌物,在正常细胞和癌细胞中均可发挥清除有毒物质的作用^[25,26]。GSTP1作为一种II相药物代谢酶,在机体的代谢、解毒和抗氧化中起着重要的调节作用,在治疗癌症和维持抗肿瘤药物的活性同样必不可少,GSTP1是机体维持健康运转必不可少的关键调节蛋白。

Zhang等^[27]认为BaP通过AhR通路增加GSTP1蛋白的表达,而Nguyen等^[28]认为BaP通过Nrf2信号通路增加GSTP1蛋白的表达,AhR和Nrf2两条信号通路可能有一定的交互作用,在BaP代谢过程中可以通过AhR直接激活Nrf2的表达,或通过代谢所产生ROS激活抗氧化通道,Nrf2也可以通过调节AhR及下游CYP代谢酶的表达来影响脂肪分化^[29]。

本实验探究BaP通过AhR和Nrf2信号通路对GSTP1药物代谢酶的调节作用,根据实验室前期研究选择10 μmol/L的BaP作为实验浓度。实验结果表明BaP可通过AhR和Nrf2两条信号通路调控HepG2细胞中GSTP1的表达,可能主要以Nrf2信号通路调控GSTP1的表达。GSTP1在多种癌症类型的发生和发展及机体氧化应激中起着关键的作用。本实验可以为研究BaP的致癌机制提供一定理论依据和实验基础,为针对GSTP1新药的研究和临床治疗方法的改善提供一定的依据,也为寻找GSTP1防治肿瘤的研究提供了一定的理论基础,后续将继续进行GSTP1与肝癌相关的研究,寻找GSTP1影响肝癌发生发展的相关机制和信号通路。

参考文献

- [1]Chhour M,Perio P,Gayon R,et al. Association of NQO2 with UDP-glucuronosyltransferases reduces menadione toxicity in neuroblastoma cells[J]. *Front Pharmacol*,2021,12(5):e660641
- [2]Cobbina E,Akhlaghi F. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) – pathogenesis, classification, and effect on drug metabolizing enzymes and transporters[J]. *Drug Metab Rev*, 2017,49(2):197–211
- [3]Truong VL,Jun M,Jeong WS. Phytochemical and over-the-counter drug interactions:involvement of phase I and II drug-metabolizing enzymes and phase III transporters[J]. *J Med Food*, 2021,24(8):786–805
- [4]Pathania S,Bhatia R,Baldi A,et al. Drug metabolizing enzymes and their inhibitors' role in cancer resistance[J]. *Biomed Pharmacother*,2018,105(11):53–65
- [5]Brauze D,Kiwerska K,Bednarek K,et al. Expression of serpin peptidase inhibitor B2 (SERPINB2) is regulated by Aryl hydrocarbon receptor (AhR)[J]. *Chem Biol Interact*,2019,309(44):e108700
- [6]Fang Y,Ye J,Zhao B,et al. Formononetin ameliorates oxaliplatin-induced peripheral neuropathy via the KEAP1–NRF2–GSTP1 axis[J]. *Redox Biol*,2020,36(7):e101677
- [7]Kitakaze T,Makiyama A,Nakai R,et al. Kaempferol modulates TCDD- and t-BHQ-induced drug-metabolizing enzymes and luteolin enhances this effect[J]. *Food Funct*, 2020, 11(4):3668–3680
- [8]Stoddard EG,Nag S,Martin J,et al. Exposure to an environmental mixture of polycyclic aromatic hydrocarbons induces hepatic cytochrome P450 enzymes in mice[J]. *Chem Res Toxicol*, 2021,34(9):2145–2156
- [9]Stading R,Gastelum G,Chu C,et al. Molecular mechanisms of pulmonary carcinogenesis by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): implications for human lung cancer[J]. *Semin Cancer Biol*,2021,76:3–16
- [10]Li X,Lu Y,Ou X,et al. Changes and sex- and age-related differences in the expression of drug metabolizing enzymes in a KRAS-mutant mouse model of lung cancer[J]. *Peer J*, 2020,8:e10182
- [11]Wufuer R,Fan Z,Liu K,et al. Differential yet integral contributions of Nrf1 and Nrf2 in the human HepG2 cells on antioxidant cytoprotective response against tert-butylhydroquinone as a Pro-Oxidative stressor[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(10):1610
- [12]Wang H,Pan L,Xu R,et al. The molecular mechanism of Nrf2–Keap1 signaling pathway in the antioxidant defense response induced by BaP in the scallop *Chlamys farreri*[J]. *Fish Shellfish Immunol*,2019,92:489–499
- [13]Gurioli G,Martignano F,Salvi S,et al. GSTP1 methylation in cancer: a liquid biopsy biomarker[J]. *Clin Chem Lab Med*,2018,56(5):702–717
- [14]Sau A,Pellizzari TF,Valentino F,et al. Glutathione transferases and development of new principles to overcome drug resistance[J]. *Arch Biochem Biophys*,2010,500(2):116–122
- [15]Ren F,Huang Y,Tao Y,et al. Resveratrol protects against PM2.5-induced heart defects in zebrafish embryos as an antioxidant rather than as an AHR antagonist[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*,2020,398:e115029
- [16]Khan A,Zaman T,Fahad TM,et al. Carbofuran affects cellular autophagy and developmental senescence through the impairment of Nrf2 signalling[J]. *J Cell Mol Med*,2022,26(1):35–47
- [17]Dang R,Wang M,Li X,et al. Edaravone ameliorates depressive and anxiety-like behaviors via Sirt1/Nrf2/HO-1/Gpx4 pathway[J]. *J Neuroinflammation*,2022,19(1):41
- [18]Eleftheriadis T,Pissas G,Filippidis G,et al. Reoxygenation induces reactive oxygen species production and ferroptosis in renal tubular epithelial cells by activating aryl hydrocarbon receptor[J]. *Mol Med Rep*,2021,23(1):41 (下转第256页)

发现,两组治疗前后及组间AST、ALT、BUN、Cr比较差异均无统计学意义,另外,两组患儿虽均出现少数不良反应,但症状较为轻微,总发生率差异无统计学意义。这表明五虎汤合葶苈大枣泻肺汤联合头孢曲松不会对支气管肺炎患儿的肝肾功能产生较大影响,且不良反应较少,安全可靠。

综上所述,五虎汤合葶苈大枣泻肺汤联合头孢曲松治疗可有效缓解支气管肺炎患儿的临床症状,降低CRP等炎症因子水平,对肝肾功能无显著影响,且不良反应少。

参考文献

- [1]Zhang C, Jian L, Xie YM, et al. Clinical evaluation on xiyan ping injection in the treatment of bronchopneumonia in children based on meta-analysis[J]. World J Tradit Chin Med, 2020, 6(3):85-101
- [2]沈明, 吴博. 五虎汤合葶苈大枣泻肺汤治疗痰热闭肺型小儿肺炎喘嗽临床疗效及对炎症因子的影响[J]. 福建中医药, 2019, 50(3):20-22
- [3]王勤. 五虎汤合葶苈大枣泻肺汤治疗肺炎喘嗽痰热闭肺证患儿的效果评估[J]. 中国保健营养, 2019, 29(34):348-349
- [4]王艳, 郑义雪, 霍开明, 等. 五虎汤合清金降火汤加减治疗小儿社区获得性肺炎痰热闭肺证及其机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(14):123-128
- [5]任剑锋, 苑萌. 加味五虎汤联合阿奇霉素治疗小儿支原体肺炎的效果及其对SAA、CRP和PCT水平的影响[J]. 现代中医药, 2020, 40(2):80-83
- [6]胡亚美, 江载芳, 诸福棠. 实用儿科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2002:1175-1185
- [7]中华中医药学会. 中医儿科常见病诊疗指南[M]. 北京:中国中医药出版社, 2012:17-18
- [8]郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2002:30
- [9]Zulfa IM, Yunitasari FD, Dewi SK. Potential drug-drug interactions analysis in children out-patients with broncho-pneumonia medication prescriptions[J]. Borneo J Pharm, 2020, 3(2):79-83
- [10]陈又华, 梁洁. 阿奇霉素联合加味五虎汤口服和硝黄散外敷治疗小儿支原体肺炎[J]. 吉林中医药, 2019, 39(1):60-63
- [11]陈秀慧. 加味五虎汤联合阿奇霉素治疗痰热闭肺证小儿支原体肺炎临床研究[J]. 新中医, 2019, 51(10):78-80
- [12]任瑞芹. 加味五虎汤联合阿奇霉素序贯疗法治疗小儿支原体肺炎的疗效[J]. 实用临床医学, 2019, 20(12):14-15
- [13]徐薇薇, 赵荣. 加味五虎汤配合推拿手法治疗痰热闭肺型小儿肺炎喘嗽的临床疗效观察[J]. 现代中药研究与实践, 2019, 33(6):69-72
- [14]齐立聪. 加味五虎汤治疗小儿痰热闭肺型支原体肺炎疗效分析[J]. 内蒙古中医药, 2019, 38(4):9-10
- [15]赵红霞. 五虎汤合葶苈大枣泻肺汤加减治疗小儿肺炎支原体肺炎痰热闭肺证临床观察[J]. 实用中西医结合临床, 2021, 21(13):104-105
- [16]席江丽. 喜炎平注射液联合头孢曲松钠治疗小儿支气管炎的临床研究[J]. 中国药物与临床, 2020, 20(6):968-969
- [17]张源. 五虎汤合葶苈大枣泻肺汤加减治疗小儿支气管炎临床观察[J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21(1):188-191
- [18]王景琪, 张亚军, 李琛, 等. 基于“治未病”理论探索中医药膳治疗咳嗽的用药规律[J]. 内蒙古医科大学学报, 2021, 43(5):471-475
- [19]Kim KS, Kim NY, Son JY, et al. Curcumin ameliorates benzo[a]pyrene-induced DNA damages in stomach tissues of sprague-dawley rats[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(22):5533
- [20]Park JC, Hagiwara A, Park HG, et al. The glutathione S-transferase genes in marine rotifers and copepods: Identification of GSTs and applications for ecotoxicological studies[J]. Mar Pollut Bull, 2020, 156(18):e111080
- [21]Cui J, Li G, Yin J, et al. GSTP1 and cancer: expression, methylation, polymorphisms and signaling (Review)[J]. Int J Oncol, 2020, 56(4):867-878
- [22]Bocedi A, Noce A, Marrone G, et al. Glutathione transferase P1-1 an enzyme useful in biomedicine and as biomarker in clinical practice and in environmental pollution[J]. Nutrients, 2019, 11(8):1741-1743
- [23]Lei K, Gu X, Alvarado AG, et al. Discovery of a dual inhibitor of NQO1 and GSTP1 for treating glioblastoma[J]. J Hematol Oncol, 2020, 13(1):141-142
- [24]Eloufy SGH, Shafik NF, Radwan NH, et al. Relation between GSTP1 polymorphism and oxidative stress in patients with hepatocellular carcinoma[J]. J Egypt Natl Canc Inst, 2020, 32(1):38-40
- [25]Ganbold C, Jamiyansuren J, Tumurbaatar A, et al. The cumulative effect of gene-gene interactions between GSTM1, CHRNA3, CHRNA5 and SOD3 gene polymorphisms combined with smoking on COPD risk[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2021, 16(5):2857-2868
- [26]Ryu CS, Choi YJ, Nam HS, et al. Short-term regulation of the hepatic activities of cytochrome P450 and glutathione S-transferase by nose-only cigarette smoke exposure in mice[J]. Food Chem Toxicol, 2018, 125:182-189
- [27]Zhang T, Kimura Y, Jiang S, et al. Luteolin modulates expression of drug-metabolizing enzymes through the AhR and Nrf2 pathways in hepatic cells[J]. Arch Biochem Biophys, 2014, 557(11):36-46
- [28]Nguyen PM, Park MS, Chow M, et al. Benzo[a]pyrene increases the Nrf2 content by downregulating the keap1 message[J]. Toxicol Sci, 2010, 116(2):549-561
- [29]刘婷婷, 陈琪, 常福厚, 等. AhR与Nrf2基因相互作用的分子机制研究进展[J]. 生物信息学, 2022, 20(1):1-10

(上接第239页)