

NALP3 及 NF- κ B 信号通路在氧化应激反应中的作用及阿魏酸钠的干预效应*

何高燕, 谢敏[△], 高艳, 黄建戈

四川大学华西医院 呼吸内科(成都 610041)

【摘要】 目的 检测氧化应激时人肺上皮细胞(A549)炎性复合体 NALP3、核转录因子- κ B (NF- κ B) 基因和蛋白的表达,探讨阿魏酸钠对其的干预作用及可能的作用机制。**方法** 培养 A549 细胞,分为对照组、H₂O₂ (100 μ mol/L)应激组、NF- κ B 阻断剂组(PDTC + H₂O₂ 组)、阿魏酸钠干预组(阿魏酸钠+H₂O₂ 组),其中 PDTC (100 μ mol/L)和阿魏酸钠(400 μ g/mL)预处理 30 min 后加入 H₂O₂ (100 μ mol/L),培养 2 h 后,采用实时荧光定量-PCR (qRT-PCR)检测 NALP3、NF- κ B (P65) mRNA 的表达; Western blot 检测 NALP3、I κ B α 蛋白的表达;酶联免疫吸附(ELISA)测定细胞上清中白介素-1 β (IL-1 β)的表达。**结果** 与对照组比较,H₂O₂ 可使 A549 细胞 NALP3 mRNA、NALP3 蛋白水平表达增强,NF- κ B (P65) mRNA 表达上调、I κ B α 降解增强,IL-1 β 分泌增加(P 均 ≤ 0.05);而阿魏酸钠及 NF- κ B 阻断剂 PDTC 可抵抗 H₂O₂ 对 A549 细胞的作用,与 H₂O₂ 应激组比较,下调 NALP3 mRNA、NALP3 蛋白、NF- κ B (P65) mRNA 表达,I κ B α 降解减少,IL-1 β 分泌下降(P 均 ≤ 0.05),并且阿魏酸钠与 NF- κ B 阻断剂 PDTC 上述作用差异无统计学意义。**结论** 阿魏酸钠可能通过抑制 NF- κ B 的活化,减少 NALP3 及 IL-1 β 的表达,从而减轻氧化应激导致的炎症反应。

【关键词】 H₂O₂ 人肺上皮细胞 A549 NALP3 NF- κ B IL-1 β 阿魏酸钠

Sodium Ferulate Attenuates Oxidative Stress Induced Inflammation via Suppressing NALP3 and NF- κ B Signal Pathway
HE Gao-yan, XIE Min[△], GAO Yan, HUANG Jian-ge. Department of Respiratory Disease, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

[△] Corresponding author, E-mail: xieminhuaxi@163.com

【Abstract】 Objective To study the effects of sodium ferulate on inflammation in human lung epithelial cells (A549) under oxidative stress and its influence on the expression of inflammasome NACHT-PYD-containing protein 3 (NALP3) and nuclear factor kappa B (NF- κ B). **Methods** Human lung epithelial cells A549 cultured *in vitro* were divided into 4 groups, including control group, H₂O₂ (100 μ mol/L) stress group, NF- κ B blockers group (PDTC 100 μ mol/L + H₂O₂ 100 μ mol/L), sodium ferulate (SF) intervention group (SF 400 μ g/mL + H₂O₂ 100 μ mol/L). The expression of NALP3, I κ B α protein were evaluated by Western blot, while mRNA levels of NALP3, NF- κ B (P65) were measured by qRT-PCR. The level of interleukin-1 β (IL-1 β) were detected by ELISA. **Results** H₂O₂ not only increased the mRNA and protein expression levels of NALP3, but also enhanced the secretion of IL-1 β in human lung epithelial cells A549 ($P < 0.05$) when compared with control group. NF- κ B blockers PDTC and sodium ferulate resisted the effects of H₂O₂ on A549 cells, that decreased the mRNA and protein expression of NALP3 and the mRNA expression of NF- κ B (P65), reduced the degeneration of I κ B α and the secretion of IL-1 β ($P < 0.05$) when compared to H₂O₂ stress group. **Conclusion** SF may reduce the expression of NALP3 and IL-1 β by inhibiting NF- κ B, so as to reduce the inflammation caused by oxidative stress.

【Key words】 H₂O₂ Human lung epithelial cells A549 NACHT-PYD-containing protein 3
Nuclear factor kappa B Interleukin-1 β Sodium ferulate

炎症反应是肺纤维化基本的病理基础,氧化应激所致的氧化-抗氧化失衡引起的炎症反应是肺纤维化重要的发病机制^[1]。炎性复合体 NALP3 是炎

症反应的重要载体,参与多种炎症反应,但其在氧化应激所致的炎症中的活化机制尚不完全清楚。阿魏酸钠是阿魏酸的钠盐,它是当归、川芎、木贼、升麻、梓白皮等多种中药中的有效成分。其结构为 3-甲基氨基-4-羟基-苯丙烯酸钠,属于苯酚类物质,主要的药理作用为抑制血小板聚集和血栓形成、抗炎和免

* 四川省科技厅科技支撑计划项目(No. 2013SZ0001)资助

[△] 通讯作者, E-mail: xieminhuaxi@163.com

疫调节活性、清除氧自由基以及抗脂质过氧化等^[2-4],可能通过抑制炎症反应及肺成纤维细胞增殖干预博来霉素所致的肺纤维化^[5],但其具体的信号传导通路目前尚不明确。本实验通过 H_2O_2 作用于人肺上皮细胞(A549),造成氧化应激状态,通过检测 NALP3、核转录因子-kappa B (NF- κ B) 的表达,观察阿魏酸钠的干预作用,从而探讨氧化应激所致的炎症反应中 NALP3 的活化及其可能的机制。

1 材料和方法

1.1 材料

人肺上皮细胞 A549 细胞株(购自 ATCC, Manassas, VA),兔抗人 NALP3 抗体(Abcam),兔抗人 $I\kappa B\alpha$ 抗体(CST),兔抗人 β -actin 抗体(北京博奥森),10% 胎牛血清(明海),DMEM/F12(1:1) (Hyclone),发光显迹液(美国 Milipore),人白介素-1 β (IL-1 β) ELISA 试剂盒(eBioScience),PDTC (Biovision),Transcriptor cDNA SYnth. kit 和 FS Universal SYBR Green MasterRox (Roche),阿魏酸钠(成都亨达)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 37 °C 5% CO_2 恒温孵箱里 A549 用含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12(1:1) 培养传代,至 80% 融合后换用无血清的培养基同步化处理细胞 12 h,细胞分组进行各项检测。

1.2.2 不同浓度 H_2O_2 对 A549 细胞表达 NALP3 mRNA 的影响 实验分为对照组(0 μ mol/L H_2O_2)及不同浓度 H_2O_2 (50、100、150、200 μ mol/L)组,A549 细胞加入不同浓度 H_2O_2 后培养 2 h,然后收集细胞,按 1.2.3.2 方法采用实时荧光定量-PCR(qRT-PCR)检测 NALP3 mRNA 的表达,筛选后续实验适宜的 H_2O_2 浓度。

1.2.3 阿魏酸钠对 H_2O_2 致 A549 细胞氧化应激的干预

1.2.3.1 细胞分组 实验共分 4 组。A:对照组; B: H_2O_2 (100 μ mol/L) 应激组;加入 100 μ mol/L H_2O_2 培养; C: NF- κ B 阻断剂组(PDTC + H_2O_2 组); PDTC (100 μ mol/L) 预处理 30 min 后加入 H_2O_2 (100 μ mol/L) 培养; D: 阿魏酸钠干预组(阿魏酸钠 + H_2O_2 组); 400 μ mol/mL 阿魏酸钠预处理 30 min 后加入 100 μ mol/mL H_2O_2 培养。其中阿魏酸钠作用浓度的选择根据预实验结果确定。预实验采用四唑盐(MTT 比色法)证实阿魏酸钠浓度超过 400 μ g/mL 时,出现 A549 细胞增殖的拐点,表明此

浓度以上对细胞有明显毒性作用;预实验 Western blot 检测结果证实 400 μ g/mL 阿魏酸钠作用 A549 细胞后,细胞 NALP3 蛋白的表达与对照组比较差异无统计学意义,因此选取阿魏酸钠 400 μ g/mL 进行后续实验。

1.2.3.2 qRT-PCR 检测 A549 细胞 NALP3、NF- κ B mRNA 的表达 培养 2 h 后,采用 TRIzol 法提取上述各组细胞总 RNA,按照逆转录试剂盒操作,逆转录得到 cDNA,然后采用 BIO-IQ5 Real-time PCR 仪进行基因片段扩增。引物设计:首先在 GenBank 里查找 NALP3、P65 mRNA(P65 是 NF- κ B 的主要亚基)的 cDNA 序列,然后用 Primer5 软件设计引物,引物片段跨内含子(引物由 Invitrogen 公司合成)。NALP3 mRNA 上游引物 5'-TGGATCTAGCCACGCTAATG-3',下游引物 5'-AAACCATCCACTCCTCTTC-3', NF- κ B (P65) mRNA 上游引物 5'-ACCTGCCAGATACAGACGAT-3',下游引物 5'-GAAGCTGAGCTGCGGGAA-3', GAPDH 上游引物 5'-GTGAACCATGAGAAGTATGACAAC-3',下游引物 5'-CATGAGTCCTTCACGATACC-3'。qRT-PCR 按试剂盒说明操作,反应条件:95 °C 10 min,进入 PCR 循环,循环参数为 95 °C 15 s,60 °C 30 s,循环 40 次,反应结束后做熔解曲线。扩增曲线上设定循环基线和阈值,GAPDH 为内参,以目的基因 Ct 值减去内参 Ct 值为 ΔCt , $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值计算目的基因的相对表达量,重复 3 次独立实验。

1.2.3.3 Western blot 检测 A549 细胞 NALP3、 $I\kappa B\alpha$ 蛋白表达 NF- κ B 的激活需 $I\kappa B\alpha$ 以发生磷酸化的形式降解,因此 $I\kappa B\alpha$ 的降解可间接反映 NF- κ B 的激活。细胞培养 2 h 后,吸取上清,置于冰上,冰 PBS 洗涤培养皿 2 次,彻底吸取干净后分别加入裂解液 150 μ L 含有蛋白抑制剂的细胞裂解液,置冰上裂解 30 min,刮下细胞,置冰浴超声破碎细胞,4 °C、12 000 r/min 离心 30 min,吸取上清液测量蛋白浓度,并将剩余蛋白液变性。变性后蛋白加上样缓冲液以 120 g/L SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳,完毕后半干法电转移至 PVDF 膜,用含 5% 胎牛血清白蛋白(BSA)TBST 缓冲液封闭,与待测目的蛋白特异性抗体孵育杂交,曝光、显影、定影,运用 Quantity One 图像分析系统对 Western blot 结果进行图像分析,对各电泳条带的光密度值进行扫描,NALP3/ β -actin、 $I\kappa B\alpha$ / β -actin 的光密度比值代表目的条带的相对含量。每个蛋白重复 3 次独立实验。

1.2.3.4 ELISA 测定细胞上清液 IL-1β 的表达
收集各组培养 2 h 后的细胞上清, 3 000 r/min 离心 5 min, 按照 ELISA 试剂盒说明分别测定, 重复 3 次独立实验。

1.3 统计学方法

实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。首先检验各组数据的正态性和方差齐性, 结果示数据呈正态分布, 方差齐性。多组均数比较采用方差分析, 两组间比较采用 SNK 法, 相关分析采用 Spearman 秩相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度 H₂O₂ 对 NALP3 mRNA 表达的影响

由图 1 可见, A549 细胞仅有少量 NALP3 mRNA 表达, 给予 H₂O₂ 刺激后, NALP3 mRNA 表达量增加, H₂O₂ 浓度 0~100 μmol/L 时, A549 细胞 NALP3 mRNA 表达与 H₂O₂ 浓度呈正相关 ($r = 0.952\ 9, P < 0.01$), 即随着 H₂O₂ 浓度的增加 A549 细胞的 NALP3 mRNA 表达随之增加。而 H₂O₂ 浓度 >100 μmol/L 后, H₂O₂ 浓度与 NALP3 mRNA 表达不存在相关关系 ($r = -0.064\ 4, P = 0.118\ 9$), 且 H₂O₂ 100、150、200 μmol/L 组比较, NALP3 mRNA 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而 H₂O₂ 0 μmol/L 组与 100 μmol/L 组比较, NALP3 mRNA 表达差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明 H₂O₂ 浓度达到 100 μmol/L 时, NALP3 mRNA 的表达量达到最高, 且趋于稳定, 因此我们选择 100 μmol/L H₂O₂ 作为后续的实验浓度。

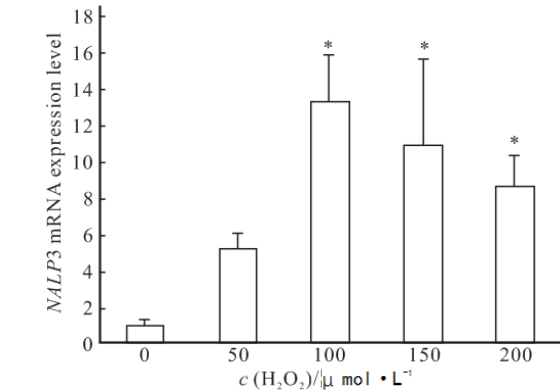


图 1 不同浓度 H₂O₂ 对 A549 细胞表达 NALP3 mRNA 的影响
Fig 1 Expression of NALP3 mRNA under different concentration of H₂O₂

* $P < 0.05$, vs. 0 μmol/L H₂O₂ (control group)
2.2 各组细胞 NALP3、NF-κB mRNA 的表达
由图 2 可见, 对照组 NALP3 mRNA 仅微弱表

达, 而 H₂O₂ 应激组 NALP3 mRNA 表达明显增高 ($P < 0.05$); 阿魏酸钠 + H₂O₂ 组和 PDTC + H₂O₂ 组表达水平相当 ($P > 0.05$), 与 H₂O₂ 应激组比较, NALP3 mRNA 表达均减少 ($P < 0.05$), 但仍较对照组高 ($P < 0.05$); 与对照组比较, H₂O₂ 应激组 NF-κB (P65) mRNA 表达增加 ($P < 0.05$); 而对照组、阿魏酸钠 + H₂O₂ 组和 PDTC + H₂O₂ 组间 NF-κB (P65) mRNA 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

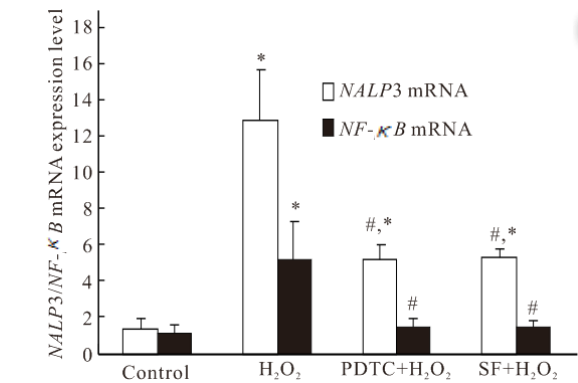


图 2 各组细胞中 NALP3 mRNA 及 NF-κB mRNA 的表达量
Fig 2 Expression of NALP3/NF-κB mRNA in different group
* $P < 0.05$, vs. control group; # $P < 0.05$, vs. H₂O₂ group.
SF: Sodium ferulate

2.3 各组细胞 NALP3、IκBα 蛋白的表达

见图 3。Western blot 结果显示, 对照组仅表达少量 NALP3 蛋白, H₂O₂ 应激组 NALP3 蛋白表

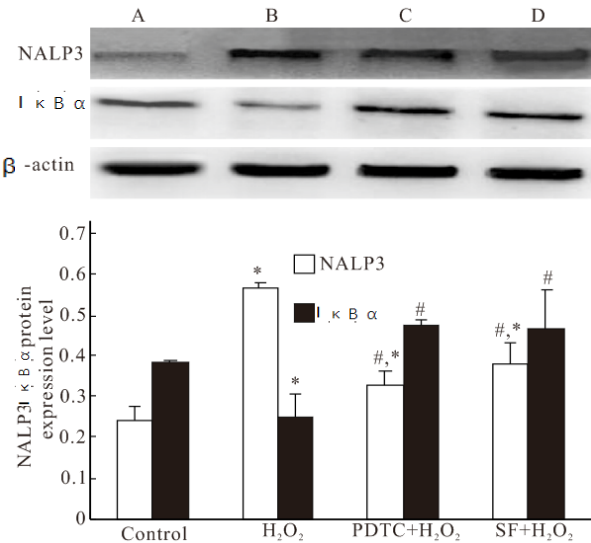


图 3 Western blot 检测各组细胞中 NALP3、IκBα 蛋白的表达
Fig 3 Western blot assay expression of NALP3 protein and IκBα protein in different groups
A: Control group; B: H₂O₂ group; C: PDTC + H₂O₂ group; D: SF + H₂O₂ group. * $P < 0.05$, vs. control group; # $P < 0.05$, vs. H₂O₂ group

达增高($P < 0.05$);阿魏酸钠 + H_2O_2 和 PDTC + H_2O_2 组表达水平相当($P > 0.05$),与 H_2O_2 应激组相比,均可减少 NALP3 蛋白的表达($P < 0.05$)。

与对照组比较, H_2O_2 应激组 I κ B α 表达降低($P < 0.05$),阿魏酸钠 + H_2O_2 组、PDTC + H_2O_2 组 I κ B α 表达水平相当($P > 0.05$),均较 H_2O_2 应激组增加($P < 0.05$),并恢复至对照组水平($P > 0.05$)。

2.4 各组细胞上清液中 IL-1 β 蛋白的表达

见图 4。正常 A549 细胞上清液中有少量 IL-1 β 分泌, H_2O_2 应激组 A549 细胞上清液中 IL-1 β 分泌增多($P < 0.05$);阿魏酸钠 + H_2O_2 组和 PDTC + H_2O_2 组表达水平相当($P > 0.05$),均较 H_2O_2 应激组 IL-1 β 分泌减少,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

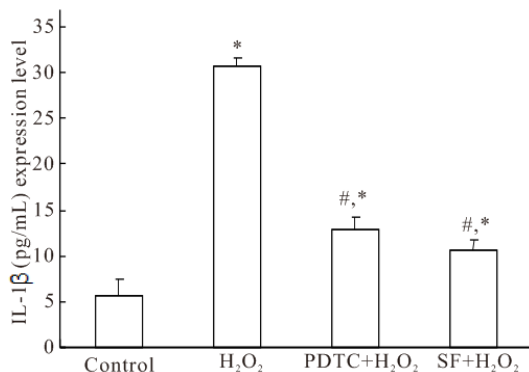


图 4 各组细胞中 IL-1 β 蛋白的表达

Fig 4 Expression of IL-1 β protein in different group

* $P < 0.05$, vs. control group; # $P < 0.05$, vs. H_2O_2 group

3 讨论

NALP3 炎性复合体作为胞内模式识别受体,在激发和调节免疫及炎症反应中起着重要的调控作用。NALP3 炎性复合体主要由 NALP3、凋亡相关斑点蛋白(ASC)、caspase-1 和 Cardinal 蛋白构成^[6],其中 NALP3 是构成炎性复合体的核心成分,其表达水平是 NALP3 炎性复合体活化的一个限制性步骤^[7],NALP3 炎性复合体的激活可导致成熟的 IL-1 β 分泌^[8,9]。IL-1 β 作为炎症反应的关键因子,不仅自身可引起炎症反应,而且能同时诱导其自身以及 IL-6、IL-18、TNF- α 等多种促炎细胞因子和黏附因子、趋化因子的表达,从而引起炎症级联反应^[10,11]。 H_2O_2 是活性氧族(ROS)中的一类,它与超氧化物、羟自由基等都属于氧的衍生物,与肺纤维化的形成密切相关。Doster 等^[12]的研究显示,石棉和硅尘(重要的致肺纤维化物质)等空气污染颗粒吸入后,可产生大量氧的衍生物,其中包括 H_2O_2 ,可触发 NALP3 炎性复合体的活化,产生大量 IL-1 β 。

与上述研究一致,本研究结果显示:人肺上皮细胞 A549 几乎不表达 NALP3,同时仅分泌微量的 IL-1 β , H_2O_2 刺激人肺上皮细胞后, NALP3 基因及蛋白表达均增强,且 IL-1 β 分泌明显增多。从而提示氧化应激可在基因及蛋白水平促进 NALP3 及其下游 IL-1 β 的合成,继而引起炎症级联反应,导致肺损伤。

NF- κ B 是一种广泛存在于人体组织和细胞中的核转录因子,主要参与调节机体炎症、组织损伤和修复等相关的基因表达^[13]。在真核细胞中有 5 种 NF- κ B 家族成员,其中 P65(RelA)是 NF- κ B 家族中的一个重要亚基, NF- κ B 主要以 P50/P65 异二聚体与其抑制蛋白 I κ B 结合形成三聚复合体呈非活性状态存在于细胞浆中。当细胞受到内外源性激活物如 ROS^[14] 刺激时, NF- κ B 通过经典途径活化: I κ B 激酶被激活,使 I κ B α 磷酸化被降解,三聚体解体, P50/P65 二聚体游离,并转入细胞核内,与靶基因相应的 κ B 位点结合,调节多种炎症介质的基因表达。NALP3 作为重要的炎症载体,其表达也受到 NF- κ B 的介导, Segovia 等^[8]研究表明: NF- κ B 的活化可导致 NALP3 的基因表达量增加,促进炎性复合体的活化,最终引起 IL-1 β 分泌的增多。本实验同样证实: H_2O_2 作用人肺上皮细胞导致氧化应激中 NF- κ B(P65)的 mRNA 表达上调, I κ B α 蛋白降解增多,提示 NF- κ B 被活化,同时, NALP3 基因及蛋白表达均增强, IL-1 β 的分泌增多;而 NF- κ B 的抑制剂 PDTC 可部分抑制 H_2O_2 所致的 NALP3 的表达及 IL-1 β 的分泌。我们推断: NF- κ B 通路可能是 NALP3 炎性复合体活化的上游通路之一。

国内外研究者在研究器官纤维化发病机制时,发现阿魏酸钠可能通过抗氧化和对氧自由基的清除作用,减少氧化应激造成的细胞因子的释放,从而发挥其在肝纤维化、肾纤维化以及心肌间质纤维化中的干预作用^[15-18]。阿魏酸钠也可能通过抑制炎症反应及肺成纤维细胞增殖干预肺纤维化的形成。本研究首次发现:阿魏酸钠可下调 H_2O_2 所致的 NALP3 的基因表达,减少 NALP 蛋白水平的表达及上清液中 IL-1 β 的分泌,并且与氧化应激组比较,阿魏酸钠组的 NF- κ B(P65) mRNA 表达减少, I κ B α 蛋白降解减少,而与 NF- κ B 的抑制剂组比较,两者的干预作用差异无统计学意义($P > 0.05$),提示阿魏酸钠可抑制 NF- κ B 的活化,阿魏酸钠干预作用机制可能是通过抑制 NF- κ B 的活化,减少 NALP3 及 IL-1 β 的表达,从而减轻氧化应激导致的炎症反应。

这为阿魏酸钠的抗纤维化作用提供了理论依据,为肺纤维化治疗开辟了新的思路,这也是本研究的创新之处,但更为详细的机制还有待于进一步研究。

氧化应激可通过激活 NF- κ B 信号通路促进 NALP3 表达,进而导致 NALP3 炎性复合体活化,使 IL-1 β 合成增加,引起炎症级联反应,阿魏酸钠对上述过程有干预作用。然而本实验仅为体外实验研究,更为深入的 NALP3 炎性复合体活化的具体过程及其与氧化应激所致的肺纤维化的相关机制等有待于进一步体外及体内的研究。

参 考 文 献

- 1 Liu R, Ahmed KM, Nantajit D, *et al.* Therapeutic effects of alpha-lipoic acid on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Int J Mol Med*,2007;19(6):865-873.
- 2 Wang DJ, Zhou WD, Dai XJ, *et al.* Study on effect and mechanism of sodium ferulate in preventing and treating ozone induced lung injury in mice. *Chin J Integr Med*,2007;13(3):211-214.
- 3 Wu ZJ, Yu J, Fang QJ, *et al.* Sodium ferulate protects against daunorubicin-induced cardiotoxicity by inhibition of mitochondrial apoptosis in juvenile rats. *J Cardiovasc Pharmacol*,2014;63(4):360-368.
- 4 Zhang J, Chen J, Yang J, *et al.* Sodium ferulate inhibits neointimal hyperplasia in rat balloon injury model. *PLoS One*,2014;9(1):e87561. doi: 10.1371/journal.pone.0087561. eCollection 2014.
- 5 Yuan X, Sun Y, Miao N, *et al.* The synergistic anti-inflammatory effect of the combination of sodium ferulate and oxymatrine and its modulation on inflammation-associated mediators in RAW 264.7 cells. *J Ethnopharmacol*,2011;137(3):1477-1485.
- 6 Kummer JA, Broekhuizen R, Everett H, *et al.* Inflammasome components NALP 1 and 3 show distinct but separate expression profiles in human tissues suggesting a site-specific role in the inflammatory response. *J Histochem Cytochem*,2007;55(5):443-452.
- 7 Bauernfeind FG, Horvath G, Stutz A, *et al.* Cutting edge: NF- κ B activating pattern recognition and cytokine receptors license NLRP3 inflammasome activation by regulating NLRP3 expression. *J Immunol*,2009;183(2):787-791.
- 8 Segovia J, Sabbah A, Mgbemena V, *et al.* TLR2/MyD88/NF- κ B pathway, reactive oxygen species, potassium efflux activates NLRP3/ASC inflammasome during respiratory syncytial virus infection. *PLoS One*,2012;7(1):e29695. doi: 10.1371/journal.pone.0029695. Epub 2012 Jan 25.
- 9 Chen L, Li X, Huang L, *et al.* Chemical stimulation of the intracranial dura activates NALP3 inflammasome in trigeminal ganglia neurons. *Brain Res*,2014;1566:1-11. doi: 10.1016/j.brainres.2014.04.019. Epub 2014 Apr 23.
- 10 Wang CP, Zhang LZ, Li GC, *et al.* Mulberroside A protects against ischemic impairment in primary culture of rat cortical neurons after oxygen-glucose deprivation followed by reperfusion. *J Neurosci Res*,2014;92(7):944-954.
- 11 Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell*,2010;140(6):821-832.
- 12 Dostert C, Pétrilli V, Van Bruggen R, *et al.* Innate immune activation through Nalp3 inflammasome sensing of asbestos and silica. *Science*,2008;320(5876):674-677.
- 13 Varfolomeev E, Goncharov T, Maecker H, *et al.* Cellular inhibitors of apoptosis by members of NF- κ B and MAPK activation by member of the TNF family of receptors. *Sci Signal*,2012;5(216):ra22. doi: 10.1126/scisignal.2001878.
- 14 West AP, Brodsky IE, Rahner C, *et al.* TLR signalling augments macrophage bactericidal activity through mitochondrial ROS. *Nature*,2011;472(7344):476-480.
- 15 Li FQ, Su H, Chen X, *et al.* Mannose 6-phosphate-modified bovine serum albumin nanoparticles for controlled and targeted delivery of sodium ferulate for treatment of hepatic fibrosis. *J Pharm Pharm*,2009;61(9):1155-1161.
- 16 Pei X, Wang W, Miao N, *et al.* The protective effects of the combination of sodium ferulate and oxymatrine on ethanol-induced liver damage in mice. *Environ Toxicol Pharmacol*,2014;37(1):423-430.
- 17 Yang J, Xu SN, Wang M, *et al.* Effects of sodium ferulate on liver fibrosis in experimental cirrhotic rats. *World Chinese Journal of Digestology*,2014;22(12):1676-1681.
- 18 Wang W, Pei X, Sun S, *et al.* Protective effects of the combination of sodium ferulate and oxymatrine on cecal ligation and puncture-induced sepsis in mice. *Exp Ther Med*,2014;7(5):1297-1304.

(2014-09-23 收稿,2014-12-27 修回)

编辑 沈 进