

本文引用: 李军芳, 来利红. 柚皮素对高糖诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡及 Nrf2/ARE 信号通路的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(12): 1040-1044. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2022.12.005.

· 实验研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2022)30-12-1040-05

柚皮素对高糖诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡及 Nrf2/ARE 信号通路的影响

李军芳¹, 来利红²

(河南科技大学第一附属医院 1. 临床药理学部, 2. 心血管内科, 河南省洛阳市 471000)

[摘要] **[目的]** 探讨柚皮素(NAR)对高糖(HG)诱导的大鼠心肌细胞(H9c2)凋亡及核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2)/抗氧化反应元件(ARE)信号通路的影响。**[方法]** 将培养的 H9c2 细胞分为对照组(正常糖量)、HG 组(35.5 mmol/L 葡萄糖)、HG+NAR 低、中、高浓度组(35.5 mmol/L 葡萄糖+6.25、12.5、25.0 μmol/L NAR)。用噻唑蓝法检测 H9c2 细胞增殖活性;流式细胞术检测细胞凋亡;二氯二氢荧光素二乙酸钠荧光探针染色法检测细胞内活性氧(ROS)水平;Western blot 法检测 Nrf2、血红素加氧酶 1(HO-1)、Bax、Caspase-3、Bcl-2 蛋白表达水平。**[结果]** 经 HG 处理的 H9c2 细胞增殖活性、Nrf2、HO-1、Bcl-2 蛋白表达水平显著降低,细胞凋亡率、ROS 水平、Bax、Caspase-3 蛋白表达水平显著升高($P<0.05$)。经 HG 与 NAR 共同处理 H9c2 细胞后,NAR 低、中、高浓度组 H9c2 细胞增殖活性、Nrf2、HO-1、Bcl-2 蛋白表达水平显著升高,细胞凋亡率、ROS 水平、Bax、Caspase-3 蛋白表达水平显著降低($P<0.05$)。**[结论]** NAR 可抑制 HG 诱导的 H9c2 细胞凋亡,其作用机制可能与激活 Nrf2/ARE 信号通路密切相关。**[关键词]** 柚皮素; 高糖; H9c2 细胞; 细胞凋亡; Nrf2/ARE 信号通路
[中图分类号] R54 **[文献标识码]** A

Effects of naringenin on apoptosis and Nrf2/ARE signaling pathway of H9c2 cardiomyocytes induced by high glucose

LI Junfang¹, LAI Lihong²

(1. Department of Clinical Pharmacy, 2. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471000, China)

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of naringenin (NAR) on high glucose (HG)-induced rat cardiomyocytes (H9c2) apoptosis and nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)/antioxidant response element (ARE) signaling pathway. **Methods** The cultured H9c2 cells were divided into control group (normal glucose content), HG group (35.5 mmol/L glucose) and HG+NAR low, medium, high concentration groups (35.5 mmol/L glucose+6.25, 12.5, 25.0 μmol/L NAR). The proliferation activity of H9c2 cells was detected by methyl thiazolyl tetrazolium method; Cell apoptosis was detected by flow cytometry; The level of reactive oxygen species (ROS) in cells was detected by fluorescent probe staining with dichloro-dihydro-fluorescein diacetate; The expression levels of Nrf2, heme oxygenase-1 (HO-1), Bax, Caspase-3 and Bcl-2 proteins were detected by Western blot. **Results** The proliferation activity, the expression levels of Nrf2, HO-1 and Bcl-2 proteins in H9c2 cells treated with HG decreased significantly, while the apoptosis rate, ROS level, Bax and Caspase-3 proteins expression levels increased significantly ($P<0.05$). After the H9c2 cells were treated with HG and NAR, the proliferation activity and the expression levels of Nrf2, HO-1 and Bcl-2 proteins in H9c2 cells increased significantly in the NAR low, medium and high concentration groups, while the apoptosis rate, ROS level, Bax and Caspase-3 proteins expression levels decreased significantly ($P<0.05$). **Conclusion** NAR can inhibit H9c2 cell apoptosis induced by HG, and its mechanism may be closely related to activation of Nrf2/ARE signaling pathway.

[KEY WORDS] naringenin; high glucose; H9c2 cell; apoptosis; Nrf2/ARE signaling pathway

[收稿日期] 2021-05-08

[修回日期] 2021-08-30

[基金项目] 2019 年河南省医学科技攻关联合共建项目(LHJG20190569)

[作者简介] 李军芳, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为心血管内科、合理用药和慢病管理, E-mail: lij96398@163.com。

我国糖尿病的发病率呈明显上升趋势,糖尿病心肌病是糖尿病患者常见的并发症,主要由于持续高血糖水平引起人体氧化应激损伤,产生大量活性氧(reactive oxygen species, ROS),导致心肌细胞受到损伤,最终导致心肌功能障碍、心脏功能衰竭^[1-2]。因此,干预高糖(high glucose, HG)诱导的心肌细胞凋亡对糖尿病心肌病防治有重要意义。柚皮素(naringenin, NAR)是从化橘红、枳实等天然植物提取的类黄酮类化合物,具有抗炎、抗氧化、降血糖、降血脂作用,在心血管疾病中有保护作用^[3]。薛传优等^[4]研究表明,NAR 可有效改善脂多糖诱导的心肌细胞的炎症反应和细胞凋亡。核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)/抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)是细胞抗氧化应激的关键通路,在维持细胞内氧化还原平衡、保护细胞免受损伤等过程中发挥重要作用^[5], Nrf2/ARE 信号通路被激活后可诱导血红素加氧酶 1(heme oxygenase-1, HO-1)。吴亚茹等^[6]研究表明,内脏脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制剂(vaspin)可以通过激活 Nrf2/ARE 信号通路,改善高糖高脂诱导的大鼠胰岛素瘤细胞(INS-1)氧化应激损伤,减少细胞凋亡。但是,目前 Nrf2/ARE 信号通路在 NAR 干预 HG 诱导的 H9c2 细胞中的作用机制尚不完全清楚。因此,本研究通过探索 NAR 对 HG 诱导的 H9c2 细胞增殖、凋亡及 Nrf2/ARE 信号通路的影响,进一步探讨 NAR 对 HG 诱导的 H9c2 细胞凋亡的具体机制。

1 材料和方法

1.1 试剂与仪器

大鼠心肌细胞(H9c2)购自中国科学院上海细胞库;NAR 购自美国 Sigma-Aldrich 公司;DMEM 培养基、二甲基亚砷、胎牛血清、D-葡萄糖购自美国 Gibco 公司;Annexin V-FITC/PI 试剂盒、噻唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)试剂盒购自美国 Sigma 公司;BCA 蛋白检测试剂盒、RIPA 裂解液、ROS 检测试剂盒购自碧云天生物技术研究所;兔抗鼠 Nrf2 多克隆抗体与兔抗鼠 HO-1、Bax、Caspase-3、Bcl-2 单克隆抗体购自美国 Abcam 公司;羊抗兔、羊抗鼠 IgG 二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 细胞培养及分组

H9c2 细胞接种在含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中,常规培养条件培养,每隔 2~3 天换液。

待细胞融合至 80%~90% 时,取对数生长期细胞,将 H9c2 细胞随机分成 5 组,分别为对照组(正常含糖量)、HG 组、NAR 低、中、高浓度组。NAR 低、中、高浓度组分别加入含 6.25、12.5、25.0 $\mu\text{mol/L}$ NAR 和 35.5 mmol/L 葡萄糖的培养液共同干预 48 h;HG 组仅加入含 35.5 mmol/L 葡萄糖的培养液;对照组不作任何干预。本实验中 NAR、HG 使用浓度分别参照文献^[7-8]中所用浓度。

1.3 MTT 法检测 H9c2 细胞增殖活性

将处理的各组 H9c2 细胞,用 0.25% 胰酶消化收集细胞,调整密度为 4×10^5 个/mL 的单细胞悬液,取 200 μL 接种于 96 孔板中,按照试剂盒说明书,每孔加入 MTT 与二甲基亚砷溶液,于酶标仪波长 490 nm 处测定各孔光密度(OD)值,计算细胞存活率。

1.4 细胞凋亡情况检测

取各组 H9c2 细胞,用 0.25% 的胰酶消化,PBS 洗涤后,使用 Annexin V 结合缓冲液将细胞调整成细胞悬液,每孔分别加入 5 μL Annexin V-FITC 和 10 μL PI,混匀,室温避光孵育 10 min;上流式细胞仪检测。

1.5 二氯二氢荧光素二乙酸酯荧光探针染色法检测 ROS 水平

取各组 H9c2 细胞,去除培养液,PBS 洗涤细胞,每孔加 10 $\mu\text{mol/L}$ 荧光探针二氯二氢荧光素二乙酸酯(dichloro-dihydro-fluorescein diacetate, DCFH-DA),37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 min;倒置显微镜观察,多功能酶标仪检测 ROS 水平。

1.6 Western blot 法检测 Nrf2、HO-1、Bax、Caspase-3、Bcl-2 蛋白表达

取各组 H9c2 细胞,接种于 6 孔板中,培养 24 h 后,收集细胞提取总蛋白,BCA 法检测蛋白浓度;取上样蛋白 10 μg ,10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,转膜;封闭后,分别加入兔抗鼠 Nrf2(1:500)、HO-1(1:1000)、Bax(1:1000)、Caspase-3(1:2000)、Bcl-2(1:2000)抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜;PBST 洗膜后,再加入相应的二抗,室温孵育 2 h;ECL 发光液显色后,凝胶成像仪中成像,采用 Quantity-One 软件分析蛋白相对含量。

1.7 统计学分析

本研究数据分析均采用 SPSS 22.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NAR 对 HG 诱导的 H9c2 细胞增殖活性的影响

使用不同浓度的 NAR 处理 H9c2 细胞后,经 MTT 法检测 H9c2 细胞增殖活性,与对照组相比, HG 组 H9c2 细胞存活率显著降低($P<0.05$);与 HG 组相比, NAR 低、中、高浓度组 H9c2 细胞存活率明显升高,并呈浓度依赖性($P<0.05$)。见表 1。

2.2 NAR 对 HG 诱导的 H9c2 细胞凋亡的影响

与对照组相比, HG 组 H9c2 细胞凋亡率明显升高($P<0.05$);与 HG 组相比, NAR 低、中、高浓度组 H9c2 细胞凋亡率逐渐降低($P<0.05$)。见图 1 和表 2。

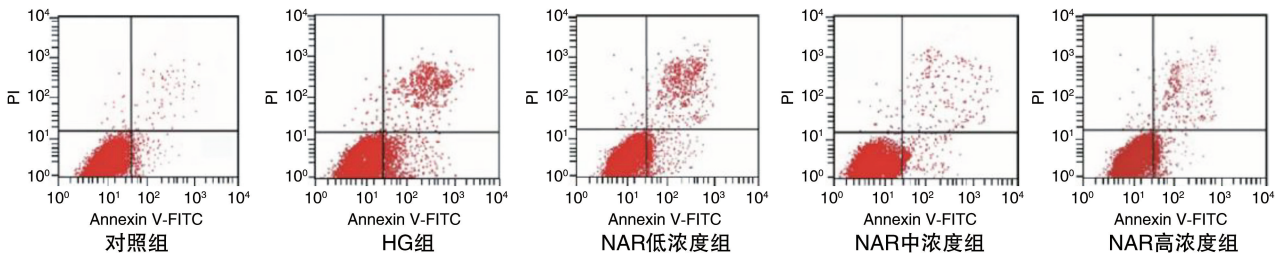


图 1. NAR 对 HG 诱导的 H9c2 细胞凋亡的影响

Figure 1. The effect of NAR on H9c2 cell apoptosis induced by HG

表 2. NAR 对 HG 诱导的 H9c2 细胞凋亡的影响

Table 2. The effect of NAR on H9c2 cell apoptosis induced by HG

分组	n	凋亡率/%
对照组	6	3.78±0.45
HG 组	6	36.71±3.24 ^a
NAR 低浓度组	6	18.31±2.65 ^b
NAR 中浓度组	6	13.54±2.04 ^{bc}
NAR 高浓度组	6	6.42±2.78 ^{bcd}

注:a 为 $P<0.05$, 与对照组相比; b 为 $P<0.05$, 与 HG 组相比; c 为 $P<0.05$, 与 NAR 低浓度组相比; d 为 $P<0.05$, 与 NAR 中浓度组相比。

2.3 NAR 对 HG 诱导的 H9c2 细胞 ROS 的影响

与对照组相比, HG 组 H9c2 细胞 ROS 水平显著升高($P<0.05$);与 HG 组相比, NAR 低、中、高浓度组 H9c2 细胞 ROS 水平显著降低,并呈浓度依赖性($P<0.05$)。见表 3。

2.4 NAR 对 HG 诱导的 H9c2 细胞 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达的影响

Western blot 检测 Nrf2、HO-1 蛋白结果显示,与对照组相比, HG 组 Nrf2、HO-1 蛋白表达水平显著降低($P<0.05$);与 HG 组相比, NAR 低、中、高浓度

表 1. NAR 对 HG 诱导的 H9c2 细胞增殖活性的影响

Table 1. The effect of NAR on the proliferation activity of H9c2 cells induced by HG

分组	n	H9c2 活性/%
对照组	6	96.76±1.28
HG 组	6	61.35±2.36 ^a
NAR 低浓度组	6	78.47±2.54 ^b
NAR 中浓度组	6	85.65±2.57 ^{bc}
NAR 高浓度组	6	95.74±1.23 ^{bcd}

注:a 为 $P<0.05$, 与对照组相比; b 为 $P<0.05$, 与 HG 组相比; c 为 $P<0.05$, 与 NAR 低浓度组相比; d 为 $P<0.05$, 与 NAR 中浓度组相比。

组 Nrf2、HO-1 蛋白表达水平显著升高,并呈浓度依赖性($P<0.05$)。见图 2。

2.5 NAR 对 HG 诱导的 H9c2 细胞 Bax、Caspase-3 和 Bcl-2 蛋白表达的影响

与对照组相比, HG 组 H9c2 细胞 Bax、Caspase-3 蛋白表达水平显著升高, Bcl-2 表达水平显著降低($P<0.05$);与 HG 组相比, NAR 组低、中、高浓度组 Bax、Caspase-3 蛋白表达水平显著降低, Bcl-2 表达水平显著升高,并呈浓度依赖性($P<0.05$)。见图 3。

表 3. NAR 对 HG 诱导的 H9c2 细胞 ROS 水平的影响

Table 3. The effect of NAR on ROS level in H9c2 cells induced by HG

分组	n	ROS
对照组	6	0.98±0.06
HG 组	6	1.72±0.18 ^a
NAR 低浓度组	6	1.51±0.12 ^b
NAR 中浓度组	6	1.29±0.11 ^{bc}
NAR 高浓度组	6	1.02±0.10 ^{bcd}

注:a 为 $P<0.05$, 与对照组相比; b 为 $P<0.05$, 与 HG 组相比; c 为 $P<0.05$, 与 NAR 低浓度组相比; d 为 $P<0.05$, 与 NAR 中浓度组相比。

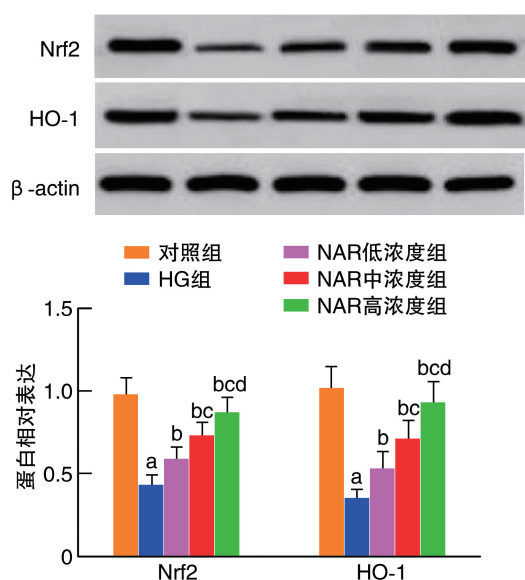


图 2. NAR 对 HG 诱导的 H9c2 细胞 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达的影响

电泳图从左到右依次为对照组、HG 组、NAR 低浓度组、NAR 中浓度组、NAR 高浓度组。

a 为 $P < 0.05$, 与对照组相比; b 为 $P < 0.05$, 与 HG 组相比; c 为 $P < 0.05$, 与 NAR 低浓度组相比; d 为 $P < 0.05$, 与 NAR 中浓度组相比。

Figure 2. The effect of NAR on the expressions of Nrf2 and HO-1 proteins in H9c2 cells induced by HG

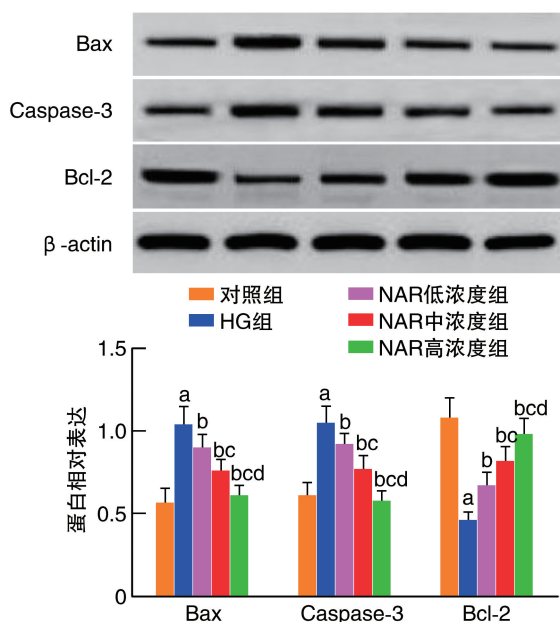


图 3. NAR 对 HG 诱导的 H9c2 细胞 Bax、Caspase-3 和 Bcl-2 蛋白表达的影响

电泳图从左到右依次为对照组、HG 组、NAR 低浓度组、NAR 中浓度组、NAR 高浓度组。

a 为 $P < 0.05$, 与对照组相比; b 为 $P < 0.05$, 与 HG 组相比; c 为 $P < 0.05$, 与 NAR 低浓度组相比; d 为 $P < 0.05$, 与 NAR 中浓度组相比。

Figure 3. The effect of NAR on the expressions of Bax, Caspase-3 and Bcl-2 proteins in H9c2 cells induced by HG

3 讨论

糖尿病心肌病是常见的糖尿病并发症,表现为糖脂代谢异常、心肌肥大、灶性坏死、细胞内钙调控失衡、心肌纤维化等,高血糖环境下可诱导心肌细胞凋亡、微血管病变等,是糖尿病患者发生心力衰竭和死亡的原因之一,因此抑制 HG 诱导的心肌细胞凋亡,可能是治疗糖尿病心肌病的一条重要途径^[9-10]。

研究显示,NAR 具有调节免疫、抗氧化及清除自由基、抗肿瘤、抗病毒等多种药理活性,可改善糖尿病小鼠的心肌重构^[11-12]。刘欢等^[7]建立阿霉素诱导的体外心肌细胞损伤模型,使用不同浓度 NAR 作用后,发现 NAR 对阿霉素诱导的心肌细胞损伤具有保护作用,可促进心肌细胞增殖、抑制细胞凋亡。Tang 等^[13]等建立缺血再灌注损伤大鼠模型,发现 NAR 可通过抑制炎症反应和清除氧化应激损伤,显著降低大鼠的心肌梗死面积。但是 NAR 对 HG 诱导的 H9c2 细胞的影响尚不清楚。杨雪莹等^[8]研究表明,氧化苦参碱通过改善线粒体功能来调节氧化应激从而抑制由 HG 引起的 H9c2 细胞凋亡。本研究表明,与对照组相比,HG 组 H9c2 细胞增殖活性显著降低,细胞凋亡率明显升高,使用不同浓度 NAR 处理细胞后,与 HG 组相比,NAR 低、中、高浓度组 H9c2 细胞增殖活性升高,凋亡率显著降低,并呈浓度依赖性,提示 NAR 可显著抑制 HG 诱导的 H9c2 细胞凋亡。但是目前 NAR 抑制 HG 诱导的 H9c2 细胞凋亡的作用机制尚不清楚。

Nrf2 是调节细胞内氧化还原重要的转录因子,与 ARE 结合,促使抗氧化酶基因的表达,抵抗各种外界刺激对机体产生的氧化应激损伤,研究表明,Nrf2/ARE 信号通路在癌症、炎症、神经系统疾病、心血管疾病等发挥重要的调控作用^[14-15]。研究表明,Pleckstrin 同源结构域富亮氨酸重复蛋白磷酸酶 2 (PHLPP2) 下调可增强 Nrf2/ARE 信号通路,从而减轻缺氧诱导的心肌细胞损伤^[16]。Dang 等^[17]研究表明,同源结构域相互作用蛋白激酶 2 (HIPK2) 过表达可通过增强 Nrf2/ARE 信号通路缓解缺氧复氧诱导的心肌细胞凋亡和氧化损伤。以上研究表明,Nrf2/ARE 信号通路与心肌细胞凋亡密切相关,因此激活 Nrf2/ARE 信号通路可改善 H9c2 细胞损伤。李燕等^[18]通过腹腔注射链脲佐菌素建立 1 型糖尿病小鼠模型,发现 NAR 能够通过激活 AMPK/Nrf2/HO-1 信号通路,增强抗氧化反应,减轻心肌纤维化及炎症反应,对心肌细胞损伤起保护作用。本研究使用 HG 诱导 H9c2 细胞建立模型,结果发现,HG

组 ROS 水平、Bax、Caspase-3 蛋白表达水平明显增高, Bcl-2、Nrf2、HO-1 蛋白表达水平显著降低, 提示 HG 可能抑制 Nrf2/ARE 信号通路, 并促进 H9c2 细胞凋亡; 使用不同浓度 NAR 处理以后, NAR 低、中、高浓度组 H9c2 细胞 ROS 水平、Bax、Caspase-3 蛋白表达水平显著降低, Bcl-2、Nrf2、HO-1 蛋白表达水平显著升高, 并呈浓度依赖性, 提示 NAR 可能通过激活 Nrf2/ARE 信号通路, 降低 ROS 水平, 抑制 HG 诱导的 H9c2 细胞凋亡。

综上所述, NAR 可能通过激活 Nrf2/ARE 信号通路, 抑制 HG 诱导的 H9c2 细胞凋亡。但本研究局限于 Nrf2/ARE 信号通路相关因子, 未对通路进行验证, 仍需结合动物模型做进一步研究。

[参考文献]

- [1] JIA G, WHALEY-CONNELL A, SOWERS J R. Diabetic cardiomyopathy: a hyperglycaemia- and insulin-resistance-induced heart disease[J]. *Diabetologia*, 2018, 61(1): 21-28.
- [2] 李蕊. PHB 对高糖环境下的心肌细胞中活性氧及细胞凋亡的影响及机制研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2017, 32(12): 1789-1794.
LI R. Study effects and mechanism of PHB on reactive oxygen species and apoptosis in cardiomyocytes under high glucose[J]. *Chin J Immunol*, 2017, 32(12): 1789-1794.
- [3] 孙杨, 璀璨, 王继霞, 等. 柚皮素对心脏骤停-心肺复苏大鼠心功能的保护作用及对 PI3K/Akt/Sirt1 信号通路的影响[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2019, 33(4): 325-329.
SUN Y, CUI C, WANG J X, et al. Effect of naringenin on protecting cardiac function in rats with cardiac arrest-cardiopulmonary resuscitation and its influence on PI3K/Akt/Sirt1 signaling pathway[J]. *J Chin Pract Diagn Ther*, 2019, 33(4): 325-329.
- [4] 薛传优, 徐璐, 秦庆庆, 等. 柚皮素对脂多糖诱导的 H9c2 心肌细胞炎症和凋亡的作用机制研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(22): 3635-3638.
XUE C Y, XU L, QIN Q Q, et al. Effect and mechanism of naringenin on lipopolysaccharide-induced inflammation and apoptosis in H9c2 cardiomyocytes[J]. *Chin J Clin Pharmacol*, 2020, 36(22): 3635-3638.
- [5] BUENDIA I, MICHALSKA P, NAVARRO E, et al. Nrf2-ARE pathway: an emerging target against oxidative stress and neuroinflammation in neurodegenerative diseases[J]. *Pharmacol Ther*, 2016, 157: 84-104.
- [6] 吴亚茹, 刘师伟, 段瑞雪, 等. Vaspin 通过 Nrf2/ARE 信号通路对高糖高脂诱导的 INS-1 细胞氧化应激的影响[J]. *重庆医科大学学报*, 2020, 45(3): 324-330.
WU Y R, LIU S W, DUAN R X, et al. Effect of vaspin on high glucose and lipid induced oxidative stress in INS-1 cells via the Nrf2/ARE signaling pathway[J]. *J Chongqing Med Univ*, 2020, 45(3): 324-330.
- [7] 刘欢, 雷欢, 梁瑞华, 等. 柚皮素对阿霉素致心肌细胞损伤的保护作用及机制研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2020, 31(7): 788-793.
LIU H, LEI H, LIANG R H, et al. Protective effect and mechanism of naringenin on cardiomyocyte injury induced by adriamycin[J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol*, 2020, 31(7): 788-793.
- [8] 杨雪莹, 韩星, 沈祥春. 氧化苦参碱对高糖引起的 H9C2 细胞氧化应激损伤的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(11): 113-118.
YANG X Y, HAN X, SHEN X C. Effect of oxymatrine on oxidative stress injury of H9C2 cells induced by high glucose[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2020, 26(11): 113-118.
- [9] PAOLILLO S, MARSICO F, PRASTARO M, et al. Diabetic cardiomyopathy: definition, diagnosis, and therapeutic implications[J]. *Heart Fail Clin*, 2019, 15(3): 341-347.
- [10] 张旭, 陈旺盛, 张梦娇, 等. 鸟苷酸交换因子 C3G 过表达对高糖诱导心肌细胞 H9C2 凋亡的影响及机制[J]. *山东医药*, 2019, 59(14): 6-9.
ZHANG X, CHEN W S, ZHANG M J, et al. Effect of C3G-overexpression on high glucose-induced apoptosis of cardiomyocytes H9C2[J]. *Shandong Med J*, 2019, 59(14): 6-9.
- [11] YE G, WANG M, LIU D, et al. Mechanism of naringenin blocking the protection of LTB4/BLT1 receptor against septic cardiac dysfunction[J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2020, 50(6): 769-774.
- [12] 何夕松, 李家富, 程圣杰, 等. 柚皮素通过抑制 NLRP3 炎症小体激活改善糖尿病小鼠心肌重构[J]. *重庆医科大学学报*, 2020, 45(12): 1689-1695.
HE X S, LI J F, CHENG S J, et al. Naringenin ameliorates myocardial remodeling by inhibiting NLRP3 inflammasome activation in diabetic mice[J]. *J Chongqing Med Univ*, 2020, 45(12): 1689-1695.
- [13] TANG J Y, JIN P, HE Q, et al. Naringenin ameliorates hypoxia/reoxygenation-induced endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis in H9c2 myocardial cells: involvement in ATF6, IRE1 α and PERK signaling activation[J]. *Mol Cell Biochem*, 2017, 424(1-2): 111-122.
- [14] SHAW P, CHATTOPADHYAY A. Nrf2-ARE signaling in cellular protection: mechanism of action and the regulatory mechanisms[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(4): 3119-3130.
- [15] 顾烽, 符霞, 孙立勤, 等. 白藜芦醇通过 Nrf2/ARE 通路减轻柯萨奇病毒 B3 感染的乳鼠心肌细胞炎症和氧化应激反应[J]. *病毒学报*, 2020, 36(1): 63-69.
GU F, FU X, SUN L Q, et al. Resveratrol alleviates inflammation and oxidative stress in coxsackievirus B3 infected cardiomyocyte of neonatal rat through Nrf2/ARE pathway[J]. *Chin J Virol*, 2020, 36(1): 63-69.
- [16] JIN A, LI B, LI W, et al. PHLPP2 downregulation protects cardiomyocytes against hypoxia-induced injury through reinforcing Nrf2/ARE antioxidant signaling[J]. *Chem Biol Interact*, 2019, 314: 108848.
- [17] DANG X Y, ZHANG R, PENG Z, et al. HIPK2 overexpression relieves hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis and oxidative damage of cardiomyocytes through enhancement of the Nrf2/ARE signaling pathway[J]. *Chem Biol Interact*, 2020, 316: 108922.
- [18] 李燕, 冯健, 谢发江, 等. 柚皮素通过调控 AMPK/Nrf2/HO-1 信号通路减轻糖尿病小鼠心肌损伤[J]. *中国病理生理杂志*, 2020, 36(1): 38-46.
LI Y, FENG J, XIE F J, et al. Naringenin attenuates myocardial injury by regulating AMPK/Nrf2/HO-1 signaling pathways in diabetic mice[J]. *Chin J Pathophysiol*, 2020, 36(1): 38-46.

(此文编辑 曾学清)