

# 藁本内酯神经炎症抑制作用与 PPAR $\gamma$ 依赖的 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路的相关性

史梦琪, 旷喜\*, 刘晓娇, 王良芬, 杜俊蓉

四川大学华西药学院, 成都 610041

**摘要:** 藁本内酯(LIG)具有抑制神经炎症反应和神经保护作用, TLR4/NF- $\kappa$ B 作为脑内神经炎症应答最重要的通路之一, 与过氧化物酶体增殖受体  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) 的相互作用与大脑神经炎症应答及炎症损伤有关。本研究为阐明 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路和 PPAR $\gamma$  在 LIG 的神经炎症抑制作用中所发挥的作用, 通过雄性大鼠侧脑室注射脂多糖(LPS)造成大鼠神经炎模型研究, 并在注射 LPS 前预先给予溶媒、LIG (10 mg/kg, 20 mg/kg)、GW9662 (PPAR $\gamma$  选择性拮抗剂), 探讨 LIG 对于 LPS 诱导的大鼠急性神经炎症模型的保护作用及机制。结果表明 LIG 对于 LPS 诱导的促炎症因子(TNF- $\alpha$ , MCP-1)的产生、TLR4/NF- $\kappa$ B/p38 MAPK 信号通路的活化均有抑制作用, 且具有剂量依赖性, 同时能增强 PPAR $\gamma$  转录因子活性, 同样具有剂量依赖性。LIG 对于 LPS 诱导的大鼠神经炎症的上述作用均可被 GW9662 拮抗。这些结果表明 LIG 通过调节 PPAR $\gamma$  依赖的 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路对 LPS 诱导的神经炎症起到抑制作用。

**关键词:** 藁本内酯; LPS; 神经炎症; TLR4/NF- $\kappa$ B; PPAR $\gamma$

中图分类号: R966

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.3.004

## Z-Ligustilide Inhibits LPS-induced Neuroinflammation via PPAR $\gamma$ -dependent Suppression of TLR4/NF- $\kappa$ B Signaling Pathway

SHI Meng-qi<sup>1</sup>, KUANG Xi\*, LIU Xiao-jiao, WANG Liang-feng, DU Jun-rong

West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China

**Abstract:** Our previous studies reported the anti-neuroinflammatory and neuroprotective effects of Z-ligustilide(LIG). The interaction between peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) and TLR4/NF- $\kappa$ B signaling is associated with neuroinflammatory response and inflammatory injury in brain. The present study is to investigate whether PPAR $\gamma$ -modulating TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway is implicated in the molecular mechanism of LIG anti-neuroinflammation. Male rats were pretreated with vehicle, LIG, or GW9662 (selective PPAR $\gamma$  antagonist) plus LIG, followed by the intracerebroventricular injection of lipopolysaccharide(LPS, a TLR4 ligand). The results showed that LIG dose-dependently reduced LPS-induced increase in the concentrations of pro-inflammatory mediators (tumor necrosis factor  $\alpha$ , monocyte chemoattractant protein-1), TLR4 protein expression in rat cerebral cortex. Moreover, LIG significantly prevented LPS-induced alterations in the transcription activities of NF- $\kappa$ B and PPAR $\gamma$  in the rat cortex. Remarkably, the anti-neuroinflammatory effects of LIG were effectively attenuated by GW9662, as indicated by an obvious increase in production of pro-inflammatory mediators and activation of TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway following co-treatment with LIG and GW9662. Taken together, these findings suggested that LIG may prevent neuroinflammatory response through TLR4/NF- $\kappa$ B signaling inhibition in a PPAR $\gamma$ -dependent manner.

**Key words:** LIG; LPS; neuroinflammation; TLR4/NF- $\kappa$ B; PPAR $\gamma$

藁本内酯(Z-ligustilide, LIG)是我国传统中药川芎、当归等伞形科药材中具有的特殊苯酞类化合物,

具有解痉、抑菌、抗炎、改善心脑血管疾病、抑制肿瘤等作用。本实验室前期研究结果显示 LIG 对多种体内外脑缺血模型具有神经保护作用 and 神经炎症抑制作用<sup>[1,2]</sup>。此外, LIG 对脂多糖(LPS, TLR4 的一种天然配体)引起的炎症反应亦显示出显著的抑制作用。

Toll 样受体-4 (TLR4) 是一种模式识别受体, 持续表达于众多脑细胞中<sup>[3,4]</sup>, 可以识别并结合相应的病原相关分子模式引发机体的固有免疫, 还可以通过激活核因子  $\kappa$ B (nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 诱导炎症反应, 在神经系统疾病发生、发展过程中起重要作用<sup>[5]</sup>。对于如卒中等具有大量炎症反应和因炎症引发的大脑损伤的疾病, 阻断 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路被认为是一种新的治疗手段<sup>[6]</sup>。

过氧化物酶体增殖受体  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) 为核激素受体超家族成员。研究表明, PPAR $\gamma$  参与机体多种生理反应调节, 尤其对炎症反应发挥了广泛的调节作用, 如降低活性氧释放、减少促炎性细胞因子产生以及影响细胞的增值分化和凋亡<sup>[7]</sup>。PPAR $\gamma$  作为一种配体依赖的活化转录因子, 被认为是调节炎症反应的关键点。研究表明, PPAR $\gamma$  可通过竞争抑制炎症信号通路和炎症介质的生成起到抑制炎症反应的作用, 调节炎症介质和抗炎介质的生成,<sup>[8]</sup>。在巨噬细胞中, PPAR $\gamma$  是 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路中一个关键的负调控因子<sup>[9,10]</sup>。

本实验为探究 LIG 对大脑神经炎症的抑制中 PPAR $\gamma$  的作用, 并探讨其作用机制, 为治疗大脑神经炎症提供新的治疗思路。

表 1 Western Blot 中所用一抗

Table 1 Primary antibodies used in Western blotanalysis

抗体 Antibody	作用 Effect	稀释倍数 Dilution ratio	来源 Source
PPAR $\gamma$	核受体	1:200	Santa Cruze, USA
TLR4	膜受体	1:1000	Cell Signaling Technology
p38	MAPK 信号效应器	1:1000	Cell Signaling Technology
p-p38	活化 MAPK 信号效应器	1:500	Cell Signaling Technology
NF- $\kappa$ B p65	转录因子	1:1000	Cell Signaling Technology
p-NF- $\kappa$ B p65	转录因子	1:1000	Cell Signaling Technology
$\beta$ -actin	细胞骨蛋白	1:1000	Santa Cruze, USA

### 1.3 实验动物分组

大鼠随机分为五组: 溶媒组 (Sham 组)、LPS 组、LIG10 (LIG 10 mg/kg) + LPS 组、LIG20 (LIG 20 mg/kg) + LPS 组和 GW (GW9662 1 mg/kg) + LIG20 (LIG 20 mg/kg) + LPS 组, 每组 9 只。

### 1.4 神经炎症模型的建立

该大鼠神经炎症模型采用侧脑室注射 LPS 诱发大鼠神经炎症, LPS 在提前溶解于人工脑脊液 (CSF; 准确称取 NaCl 8.59 g, KCl 0.216 g, MgCl

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠, 购自重庆市腾鑫生物技术有限公司, 合格证号: SCXK (渝) 2012-0005, 体重 280 ~ 300 g, 常规饲养, 自由饮水与摄食。饲养环境温度维持  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ , 相对湿度 50% 左右。

### 1.2 实验设备与试剂

MC-108L 电子体温计 (欧姆龙有限公司)、汉密尔顿微量调节注射器 (保定兰格)、Varioskan Flash 全波长酶标仪 (Thermo Fisher)、Gel Pro Analyzer 6.0 (Media Cybernetics, 美国)、Gel Doc XRS + 凝胶成像分析系统、垂直电泳槽、转膜仪、Realtime PCR 仪 (皆购自 BIO-RAD)。

LPS (Lipopolysaccharides, 来源于大肠杆菌 055 : B5, Sigma)、GW9662 (Cayman Chemical)、LIG (四川省中医药科学院提供)、蛋白抽提-亚细胞结构胞浆和胞核蛋白提取试剂盒 (武汉博士德)、大鼠 TNF- $\alpha$ 、MCP-1 ELISA Kit (上海西塘)、PPAR $\gamma$  转录因子分析试剂盒 (Cayman Chemical)、NF- $\kappa$ B p65 转录因子分析试剂盒 (Cayman Chemical)、Western Blot 使用抗体见表 1。

0.325 g, CaCl 0.189 g, 葡萄糖 0.396 g, 加入 1 L 的纯水配置, 后用 0.22  $\mu\text{m}$  滤头过滤灭菌) 后使用。在大鼠麻醉后 (10% 水合氯醛溶液, 300 mg/kg, 腹腔注射) 俯卧将其头部固定于大鼠脑定位仪上, 消毒后从头部正中切开皮肤, 剥离皮肤脑膜使凶点暴露。注射点位于前凶后 0.8 mm, 中线左右各 1.5 mm, 硬膜下 3.6 mm。以 1  $\mu\text{L}/\text{min}$  的注射速度用汉密尔顿微量调节注射器在大鼠左右脑室各注入 10  $\mu\text{L}$  LPS 溶液 (2.5  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ )。整个手术过程中, 动物都能够

进行自发呼吸,直肠温度通过体温维持仪保持在 37 °C。术后动物苏醒后,将其转移至饲养笼内,室温保持在 25 °C。

### 1.5 给药方法与标本采集

从伞形科植物当归的根部提取藁本内酯(LIG)的方法已在前文叙述过<sup>[1]</sup>。基于总峰面积的百分比可判断出藁本内酯的纯度超过 98% (图 1A)。动物实验使用时,将 LIG 溶于吐温 80 中,充分混匀后用灭菌生理盐水重悬,吐温 80 终浓度为 3%,当日配制当日使用。GW9662 (Cayman Chemical),白色粉末,用前溶于含有 0.5% DMSO 的灭菌生理盐水中。

大鼠随机分为五组:溶媒组(Sham),LPS 注射

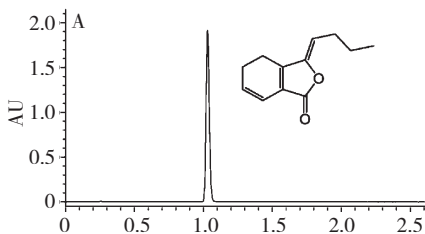


图 1 LIG 的化学结构式和高效液相色谱图

Fig. 1 Chemical structure and HPLC chromatogram of Z-ligustilide(LIG) and scheme showing experimental design in rats

### 1.6 促炎症介质的测量

测量大脑皮层中的促炎症因子:肿瘤坏死因子 $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )和单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)的含量;称取大鼠大脑皮层组织,制成脑组织匀浆液,15000 g 离心 15 min,取组织匀浆上清液,备用。采用酶联免疫吸附法(ELISA),按 TNF- $\alpha$ 、MCP-1 试剂盒操作,测定大鼠大脑皮层组织中 TNF- $\alpha$ 、MCP-1 的含量。

### 1.7 免疫印迹检测脑组织中 TLR4 信号通路分子蛋白表达

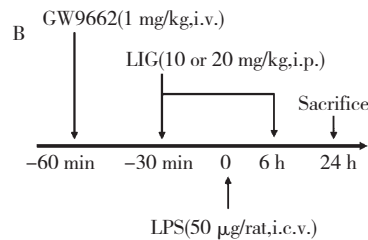
采用 Western Blot 法检测大鼠大脑皮层组织中 TLR4 和 p38 蛋白的表达称取大鼠大脑皮层组织,提取组织蛋白。清洗玻璃板,灌胶,电泳,转膜。置膜于室温下脱色摇床上用 5% 脱脂牛奶(0.5% TBST 配制),封闭 1 h<sup>[2]</sup>—抗(表 1)孵育膜 4 °C 过夜,再室温孵育二抗 1 h 后进行显影。每个波段的光密度值由 Gel Pro Analyzer 6.0 (Media Cybernetics, 美国)测量分析。

### 1.8 核转录因子 PPAR $\gamma$ 和 NF- $\kappa$ B DNA 结合活性的测量。

称取大鼠大脑皮层组织,使用细胞质和核蛋白

组(LPS),10 mg/kg LIG + LPS 组(LIG10 + LPS),20 mg/kg LIG + LPS 组(LIG20 + LPS),GW9662 + 20 mg/kg LIG + LPS 组(GW + LIG20 + LPS)。实验过程如下:(1)GW9662(1 mg/kg)于 LPS 注射前 1h 尾静脉注射;(2)LIG(10 mg/kg,20 mg/kg)于 LPS 注射前 30 min 和注射后 6 h 分别经腹腔注射给予;(3)LPS(50  $\mu$ g/只)在 GW9662 腹腔注射后 1 h 经侧脑室注射到大鼠脑内(图 1B)。

LPS 注射 24 h 后将大鼠深度麻醉后用预冷的 PBS 进行灌流,取出大脑置于 4 °C 的 D-hanks 缓冲液中剥离大脑皮层,液氮急冻后存放于 -80 °C 以备进行生化分析。



提取试剂盒提取组织核蛋白。按 NF- $\kappa$ Bp65、PPAR $\gamma$  转录因子分析试剂盒操作,测定 NF- $\kappa$ Bp65、PPAR $\gamma$  转录因子活性。在 450 nm 处检测 OD 值,该 OD 值表示各核蛋白提取物相对于总蛋白的光密度值。

### 1.9 数据处理与分析

采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理,实验数据以平均值和标准误 (Mean  $\pm$  SEM) 表示, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 LIG 降低 LPS 诱导的促炎症介质的产生, GW9662 可抑制该作用

在大鼠大脑皮层中,我们首次评估通过腹腔注射给药的 LIG 对 LPS 诱导产生的促炎症介质 TNF- $\alpha$  和 MCP-1 的作用。如图 2 所示,与 Sham 组相比,侧脑室注射 LPS 后大脑皮层内 TNF- $\alpha$  和 MCP-1 的浓度显著升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。LIG (10 或 20 mg/kg) 组对 LPS 诱导产生的 TNF- $\alpha$  和 MCP-1 浓度有抑制作用,并呈现剂量依赖性。与 LPS 组相比,LIG20 + LPS 组有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

为证明 PPAR $\gamma$  是否参与到了 LIG 的神经炎症

抑制作用中,PPAR $\gamma$ 拮抗剂 GW9662 在 LIG 给药前 30 min 通过尾静脉注射入大鼠体内。如图 2 所示,预先给予 GW9662 的小组中,20 mg/kg 的 LIG 的抑制促炎症介质产生的作用明显被抑制,GW + LIG20

+ LPS 组和 LIG20 + LPS 组间有显著性差异 ( $P < 0.05$ ),从而表明 LIG 对于 LPS 引起的神经炎症的抑制作用很可能与 TLR4 信号通路抑制及 PPAR $\gamma$  增强有关。

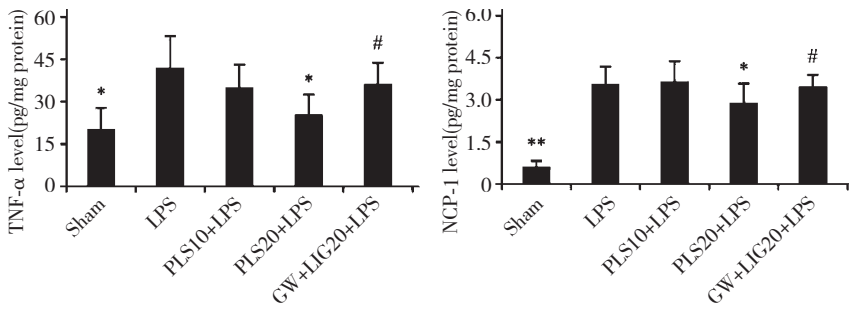


图 2 LIG 抑制 LPS 诱导产生的大鼠大脑皮层内促炎症因子的产生

Fig. 2 Z-ligustilide(LIG) inhibits the production of pro-inflammatory mediators in the cerebral cortex of LPS-treated rats. The data were expressed as mean  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , vs. vehicle-treated LPS group; #  $P < 0.05$ , vs. LIG20 + LPS group ( $n = 9$ )

### 2.2 大脑内 LIG 抑制由 LPS 诱导产生的 TLR4 信号通路增强和 NF- $\kappa$ B 和 PPAR $\gamma$ 转录因子活性的作用被 GW9662 抵消

为阐明 LIG 对于 LPS 引发的神经炎症的抑制作用的机制,我们检测了 LIG 对于 TLR4 信号通路和 NF- $\kappa$ B, PPAR $\gamma$  转录因子活性的作用。如图 3 所示,与 Sham 组相比,通过尾静脉注射 LPS 的大鼠的

大脑皮层内 TLR4 表达和 p38 磷酸化显著增强 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。转录因子 DNA 结合分析显示 LPS 可增强 NF- $\kappa$ B 的转录因子活性,并使 PPAR $\gamma$  转录因子活性减弱,与 Sham 组相比均具有显著性差异 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。然而经过 LIG (10 mg/kg, 20 mg/kg) 治疗后的大鼠 TLR4 信号通路活性及 NF- $\kappa$ B 转录因子活性有明显降低,PPAR $\gamma$  转录因子活性有

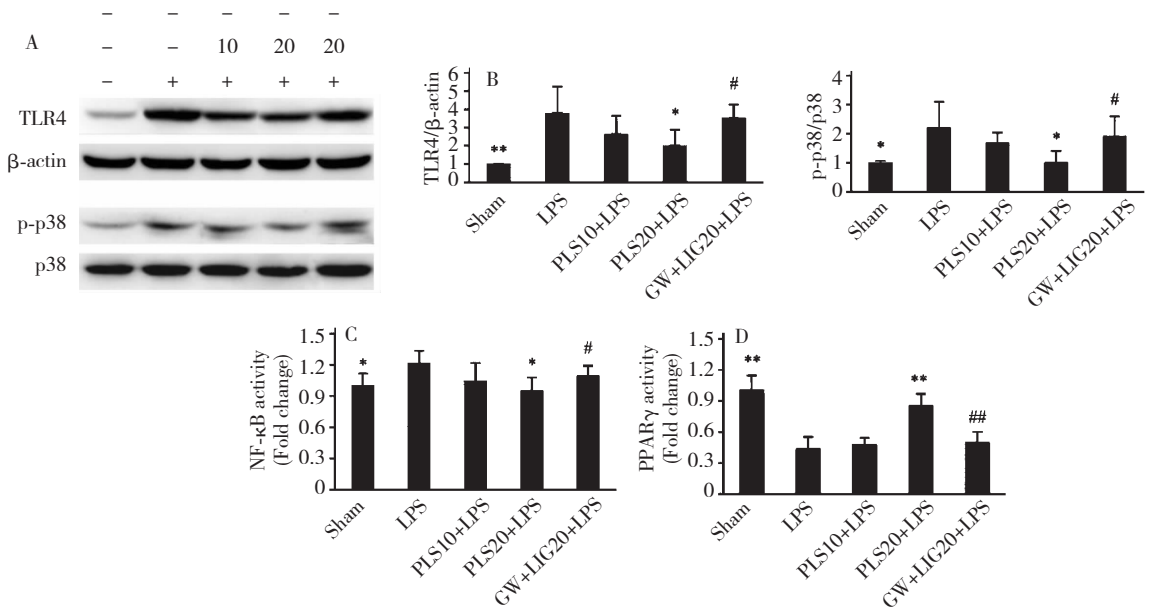


图 3 LIG 抑制 LPS 诱导引起的 TLR4 信号通路的激活以及 NF- $\kappa$ B 和 PPAR $\gamma$  转录因子活性改变

Fig. 3 Z-ligustilide(LIG) inhibits activation of TLR4 signaling and activities of NF- $\kappa$ B and PPAR $\gamma$  in the cerebral cortex of LPS-treated rats. The data were expressed as mean  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , compared with vehicle-treated LPS group; #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ , vs. LIG20 + LPS group ( $n = 9$  per group)

明显提高,并呈现剂量依赖性。特别是 LIG20 + LPS 组显著降低 TLR4 信号通路活性和 p38 磷酸化水平及 NF- $\kappa$ B 转录因子活性,显著提高 PPAR $\gamma$  转录因子活性( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ , 与 LPS 组相比),这些作用能够被 GW9662 明显拮抗,并与 LIG20 + LPS 组相比具有显著性差异( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。这些结果证明 LIG 对于 LPS 诱导的大鼠大脑神经炎症的抑制作用至少部分通过提高 PPAR $\gamma$  转录因子活性从而抑制 TLR4 信号通路活性实现。

### 3 讨论

神经炎症是中枢神经疾病的一个显著的病理学特征,神经炎症发生时小胶质细胞和星形胶质细胞被激活,血脑屏障完整性被破坏,伴随大量促炎症因子如细胞因子、粘附因子等的释放,从而产生细胞毒性<sup>[11]</sup>。LIG 在动物脑缺血和血管性痴呆等疾病中能起到有效的神经保护作用。本研究中,我们建立了体内 LPS 诱导的急性炎症模型来探究 LIG 的抗神经炎症作用及其机制。

研究表明 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路的激活导致促炎症因子如细胞因子、NO 等产生,这些产物又加剧炎症反应和神经毒性<sup>[12,13]</sup>。同时,LPS 激活三类 MAPK (p38, JNK 和 ERK1/2) 造成神经炎症损伤的信号转导过程中,p38 MAPK 扮演了重要的角色<sup>[14,15]</sup>。此外,早期研究显示 LIG 在大鼠脑缺血过程中直接或间接地对 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路和神经炎症反应起到抑制作用。本研究发现 LPS 引起的神经炎症能够增强 TLR4 表达,激活 p38 MAPK 和 NF- $\kappa$ B,引起促炎症因子(TNF- $\alpha$  和 MCP-1)的产生,当预先给予 10 mg/kg 或 20 mg/kg 的 LIG 处理能表现出显著神经炎症反应抑制作用,并具有剂量依赖性。

PPAR $\gamma$  为核激素受体超家族成员,对多种中枢神经系统炎症性疾病如卒中、血管性痴呆及多发性硬化起到一定的调节作用<sup>[16-18]</sup>。PPAR $\gamma$  是 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路的一个负调控因子<sup>[19,20]</sup>,而 TLR4/NF- $\kappa$ B 的激活可能导致 PPAR $\gamma$  表达的下降,消除 LPS 刺激后的巨噬细胞内的 PPAR $\gamma$  的抗神经炎症作用<sup>[17]</sup>。

我们之前的研究发现在小鼠脑脉络丛和血清中 LIG 能显著增强抗衰老基因 Klotho 的表达,而 Klotho 是由 PPAR $\gamma$  转录调控的目标基因<sup>[20,21]</sup>。因此我们假设 LIG 在神经炎症进程中能够重设 PPAR $\gamma$  和 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路的动态平衡。本

次研究为了评估 LIG 的抗神经炎症作用中 PPAR $\gamma$  的潜在作用,给予大鼠 PPAR $\gamma$  的拮抗剂 GW9662, GW9662 确实阻碍了 LIG 对于 LPS 诱导的神经炎症反应和 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路激活的抑制作用。

以上结果证明了 LIG 在 LPS 诱导的大鼠神经炎症模型的抗神经炎症作用部分依赖于 PPAR $\gamma$  的对 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路抑制。同时也表明了 LIG 有作为卒中等神经炎症相关疾病的治疗手段的潜在可能性。

### 参考文献

- 1 Kuang X, Du JR, Liu YX, *et al.* Postischemic administration of Z-Ligustilide ameliorates cognitive dysfunction and brain damage induced by permanent forebrain ischemia in rats. *Pharmacol Biochem Be*, 2008, 88: 213-221.
- 2 Kuang X, Wang LF, Yu L, *et al.* Ligustilide ameliorates neuroinflammation and brain injury in focal cerebral ischemia/reperfusion rats; involvement of inhibition of TLR4/peroxiredoxin 6 signaling. *Free Radic Biol Med*, 2014, 71: 165-175.
- 3 Gaikwad S, Agrawal-Rajput R. Lipopolysaccharide from *Rhodobactersphaeroides* attenuates microglia-mediated inflammation and phagocytosis and directs regulatory T cell response. *Int J Inflamm*, 2015, 361326.
- 4 Muzio M, Polentarutti N, Bosisio D, *et al.* Toll-like receptors: a growing family of immune receptors that are differentially expressed and regulated by different leukocytes. *J Leukoc Biol*, 2000, 67: 450-456.
- 5 Zhang H. The role of toll-like receptor 4 in post-traumatic systemic inflammatory response. *Med Recapitul*, 2011, 17: 650-652.
- 6 Brea D, Blanco M, Ramos-Cabrer P, *et al.* Toll-like receptors 2 and 4 in ischemic stroke: outcome and therapeutic values. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2011, 31: 1424-1431.
- 7 He B (何斌), He Q (何庆). The effects of PPAR $\gamma$ s in lung injury. *Med J West China* (西部医学), 2007, 19: 956-958.
- 8 Cuzzocrea S, Pisano B, Dugo L, *et al.* Rosiglitazone, a ligand of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, reduces acute inflammation. *Eur J Pharmacol*, 2004, 483 (1): 79-93.
- 9 Ricote M, Li AC, Willson TM, *et al.* The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is a negative regulator of macrophage activation. *Nature*, 1998, 391: 79-82.
- 10 Necela BM, Su W, Thompson EA. Toll-like receptor 4 mediates cross-talk between peroxisome proliferator-activated receptor gamma and nuclear factor-kappaB in macrophages. *Immunology*, 2008, 125: 344-358.

- 11 Leon CG, Tory R, Jia J, *et al.* Discovery and development of toll-like receptor 4 (TLR4) antagonists: a new paradigm for treating sepsis and other diseases. *Pharm Res*, 2008, 25: 1751-1761.
- 12 Shah IM, Macrae IM, Di Napoli M. Neuroinflammation and neuroprotective strategies in acute ischemic stroke—from bench to bedside. *Curr Mol Med*, 2009, 9: 336-354.
- 13 Schwab C, McGeer PL. Inflammatory aspects of Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. *J Alzheimers Dis*, 2008, 13: 359-369.
- 14 Xie Z, Smith CJ, Van Eldik LJ. Activated glia induce neuron death via MAP kinase signaling pathways involving JNK and p38. *Gila*, 2004, 45: 170-179.
- 15 Xing B, Xin T, Hunter RL. Pioglitazone inhibition of lipopolysaccharide-induced nitric oxide synthase is associated with altered activity of p38 MAP kinase and PI3K/Akt. *J Neuroinflammation*, 2008, 5: 4.
- 16 Moore KJ, Fitzgerald ML, Freeman MW. Peroxisome proliferator-activated receptors in macrophage biology: friend or foe? *Curr Opin Lipiol*, 2001, 12: 519-527.
- 17 Chehaibi K, Nouira S, Mahdouani K. Effect of the PPAR $\gamma$  C161T gene variant on serum lipids in ischemic stroke patients with and without type 2 diabetes mellitus. *J Mol Neurosci*, 2014, 54: 730-738.
- 18 Zuliani G, Donnorso MP, Bosi C. Plasma 23S-hydroxycholesterol levels in elderly subjects with late onset Alzheimer's disease or vascular dementia: a case-control study. *BMC Neurol*, 2011, 11: 121.
- 19 Szalardy L, Zadori D, Tanczos E, *et al.* Elevated levels of PPAR- $\gamma$  in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *Neurosci Lett*, 2013, 554: 131-134.
- 20 Kuang X, Chen YS, Wang LF, *et al.* Klotho upregulation contributes to the neuroprotection of ligustilide in an Alzheimer's disease mouse model. *Neurobiol Aging*, 2014, 35: 169-178.
- 21 Zhang H, Li Y, Fan Y, *et al.* Klotho is a target gene of PPAR- $\gamma$ . *Kidney Int*, 2008, 74: 732-739.

(上接第 381 页)

- 5 Wang J, Hu S, Nie S, *et al.* Reviews on mechanisms of *in vitro* antioxidant activity of polysaccharides. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, 2016: 1-13.
- 6 Hyde K, Soyong K. The fungal endophyte dilemma. *Fungal Divers*, 2008, 33: 2.
- 7 Aly AH, Debbab A, Kjer J, *et al.* Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. *Fungal Divers*, 2010, 41: 1-16.
- 8 Ye Y, Xiao Y, Ma L, *et al.* Flavipin in *Chaetomium globosum* CDW7, an endophytic fungus from *Ginkgo biloba*, contributes to antioxidant activity. *Appl Microbiol Biot*, 2013, 97: 7131-7139.
- 9 Chen Q (陈鹄), Wang YB (王元彪), Liu ZQ (刘正琼), *et al.* Screening alkaloid-producing endophytic fungi isolated from *Fritillaria unibracteata* and testing the antimicrobial activity of alkaloid extracts. *Chin J Antibiot* (中国抗生素杂志), 2012, 37: 406-410.
- 10 Gião MS, Pereira CI, Pintado ME, *et al.* Effect of technological processing upon the antioxidant capacity of aromatic and medicinal plant infusions: from harvest to packaging. *LWT-Food Sci Technol*, 2013, 50: 320-325.
- 11 Dai S (代沙). Study on extraction, content determination and antioxidative activity of antioxidative substance from *Perilla frutescens* leaves. Chengdu: Sichuan Agricultural University (四川农业大学), MSc. 2013.
- 12 Zhao J, Zhang JS, Yang B, *et al.* Free radical scavenging activity and characterization of sesquiterpenoids in four species of *Curcuma* using a TLC bioautography assay and GC-MS analysis. *Molecules*, 2010, 15: 7547-7557.
- 13 Tu YF (涂云飞), Yang XF (杨秀芳), Kong JH (孔俊豪), *et al.* Antioxidant capability of epi-catechins and theaflavins *in vitro* by scavenging hydroxyl free radical. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2012, 24: 653-659.
- 14 Zhang XX (张晓晓), Zhang S (张硕), Huang XY (黄晓燕), *et al.* Anti-lipoperoxidation of several organic polyphenol acids *in vitro*. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2014, 26: 398-402.
- 15 Kamali M, Khosroyar S, Kamali H, *et al.* Phytochemical screening and evaluation of antioxidant activities of *Dracocephalum kotschy* and determination of its luteolin content. *Avicenna J Phytomed*, 2016: 1-9.
- 16 de Carvalho PL, de Oliveira SE, Chagas-Paula DA, *et al.* Importance and implications of the production of phenolic secondary metabolites by endophytic fungi: a mini-review. *Mini-Rev Med Chem*, 2016, 16: 259-271.