

· 研究论文 ·

花青素对 IgE 介导的肥大细胞活化的影响

金光日¹, 洪海², 金光玉¹, 李英哲¹, 李光昭³, 延光海^{3*}(1. 延边大学附属医院药剂科, 吉林 延吉 133000; 2. 延边中医院药剂科, 吉林 延吉 133000;
3. 延边大学医学部解剖学教研部, 吉林 延吉 133002)

摘要: 观察花青素 (anthocyanidin) 对肥大细胞活化脱颗粒的影响。通过大鼠被动皮肤过敏反应 (PCA) 实验, 采用比色测定法检测花青素在体内对肥大细胞的影响; 体外观察花青素对肥大细胞脱颗粒, 细胞内钙摄入, 肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 及白细胞介素 6 (IL-6) 释放以及 p38MAPK、Akt、NF- κ B 磷酸化的影响。动物实验显示, 花青素 (50 和 100 mg·kg⁻¹) 明显抑制大鼠 PCA。细胞实验显示, 花青素 (50 和 100 μ mol·L⁻¹) 抑制肥大细胞释放组胺、TNF- α 及 IL-6, 并可抑制 p38MAPK、Akt 和 NF- κ B 的磷酸化。结果提示, 花青素的抗过敏作用与其抑制肥大细胞的脱颗粒, 抑制组胺、TNF- α 、IL-6 等炎症介质释放以及抑制细胞内钙摄入有关; 花青素抑制肥大细胞的活化可能与其抑制 NF- κ B、p38MAPK 和 Akt 的活性相关。

关键词: 肥大细胞; 花青素; 免疫球蛋白 E; 组胺; 钙; NF- κ B

中图分类号: R967

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2012) 01-0034-05

Anthocyanidin inhibits immunoglobulin E-mediated allergic response in mast cells

JIN Guang-ri¹, HONG Hai², JIN Guang-yu¹, LI Ying-zhe¹, LI Guang-zhao³, YAN Guang-hai^{3*}

(1. Department of Pharmacy, Yanbian University Hospital, Yanji 133000, China;

2. Department of Pharmacy, Yanbian Chinese Medicine Hospital, Yanji 133000, China;

3. Department of Anatomy, School of Basic Medical Sciences, Yanbian University, Yanji 133002, China)

Abstract: This study is to investigate the anti-allergic effect of anthocyanidin and to explore its possible mechanism. The experiments of passive cutaneous anaphylaxis reaction (PCA) and colorimetry were used to determine the effect of anthocyanidin on degranulation of mast cells *in vivo*. For *in vitro* study, various concentrations of anthocyanidin (100, 50 and 25 μ mol·L⁻¹) were added to the culture medium of mast cells cultured with 100 μ g·L⁻¹ of dinitrophenyl (DNP) specific IgE overnight. The azelastine (100 μ mol·L⁻¹) was selected as the positive control. The antigen (DNP-human serum albumin, DNP-HAS)-induced release of degranulation was measured by enzymatic assay, histamine was determined by EIA, and interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were measured by Western blotting, separately. In addition, the effects of anthocyanidin on phosphorylation of NF- κ B, p38MAPK and Akt were observed by Western blotting. The results showed that treatments with anthocyanidin (100 and 50 mg·kg⁻¹) were followed by a decrease in PCA of rats. Anthocyanidin (100 and 50 μ mol·L⁻¹) obviously suppressed the degranulation from mast cells, whereas results from anthocyanidin (100 and 50 μ mol·L⁻¹) group indicated significant inhibitory effect on histamine, the calcium uptake, TNF- α , IL-6, phosphorylation of NF- κ B, p38MAPK and Akt of mast cells induced by antigen. Anthocyanidin may suppress the anaphylactic reaction by inhibiting the action of mast cells. NF- κ B,

收稿日期: 2011-07-01; 修回日期: 2011-08-17.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81060003); 吉林省教育厅项目 (2009 第 28 号).

*通讯作者 Tel: 86-433-2435135, Fax: 86-433-2436152, E-mail: ghyan@ybu.edu.cn

p38MAPK and Akt at least in part contribute to this event.

Key words: mast cell; anthocyanidin; IgE; histamine; calcium; NF- κ B

肥大细胞是诸如过敏及超敏等炎症反应的重要介导物质, 其存在于人体几乎各个脏器。肥大细胞膜表面具有高亲和力 Fc ϵ RI, 当相应变应原与肥大细胞表面 IgE/Fc ϵ R 复合物结合后, 使细胞脱颗粒, 合成和释放多种介质, 介导 I 型速发型超敏反应。因此, 开发过敏性疾病药物是人类健康领域中的重要课题。花青素 (anthocyanidin) 作为黄酮类物质具有抗氧化、抗突变等功效。研究报道花青素在 RAW 264.7 巨噬细胞明显抑制 LPS 诱导的 COX-2 和 iNOS 等炎症细胞因子的表达^[1], 并在小鼠哮喘模型中显著抑制气道炎症和气道高反应性^[2], 说明花青素具有较强的抗炎作用。炎症反应与肥大细胞脱颗粒密切相关, 也是过敏反应过程中的关键步骤, 抑制肥大细胞脱颗粒和释放组胺可减轻炎症反应的强度^[3]。另外, 有研究报道在人类结肠癌细胞, 花青素通过抑制 Akt 和 p38MAPK 信号通路的磷酸化而减少细胞凋亡^[4]。故本研究从体外及体内实验两个方面, 观察花青素对肥大细胞功能的影响, 以期初步阐明其作用的分子机制。

材料与方法

实验动物 健康成年 Sprague-Dawley (SD) 雄性大鼠, 体重为 200~250 g, 由延边大学医学部动物室提供, 合格证号: SCXK (吉) 2003-000。在室温 (22±1) °C, 相对湿度 50%~60%, 光照周期 12 h/12 h 环境中, 适应饲养 1 周后进行实验。

主要试剂及仪器 花青素 (cyanidin 3-*O*- β -glucoside; C3G, 批号: 65607-32-1)、anti-DNP IgE (批号: D8406)、DNP-human serum albumin (HAS, 批号: A6608)、组胺检测试剂盒 (批号: RE-59221)、3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, 批号: 88417)、氮草斯汀 (批号: Y000327)、抗 actin 抗体 (批号: A1978) 以及 HEPES (批号: RE-59221) 均购自 Sigma 公司 (美国); 同位素 ⁴⁵Ca (批号: 031201) 为英国 Amersham 公司产品; TNF- α (批号: sc-52746)、IL-6 (批号: sc-52777)、p38MAPK (批号: Ys-0636M)、Akt (批号: A4857)、抗 NF- κ B p65 多克隆抗体 (批号: A00459) 均为 Santa Cruz 公司产品 (美国)。

酶联免疫检测仪 (美国, 型号: RT-2100C); CO₂ 培养箱 (美国, 型号: TC23232E); 电泳仪及电泳槽

(美国, 型号: E-C Apparatus Corporation); Western blot 转膜仪 (美国 Bio-Rad 公司, 型号: 170-3930); 核酸/蛋白质含量测定仪 (美国 Bio-Rad, 型号: SmartSpec Plus); TGL-16G 高速冷冻离心机 (上海金鹏分析仪器有限公司, 型号: L6780164); 荧光分光光度计 (日本岛津公司, 型号: RF-540)。

腹腔肥大细胞的分离提纯^[5] 将大鼠用乙醚麻醉强击后脑致死, 然后把 10 mL 的 HEPES-Tyrode 缓冲溶液 (pH 7.4) 注入到大鼠的腹腔内。切开腹腔, 取腹腔洗涤液于 200×g 离心 10 min, 然后除去上层液, 用 HEPES-Tyrode 缓冲溶液配成细胞数为 1×10⁶·mL⁻¹ 的悬液用于实验。

被动皮肤过敏反应 (PCA) 实验^[6] 将大鼠随机分为 6 组 ($n=10$), 包括: 正常对照组、模型对照组、花青素 25、50 及 100 mg·kg⁻¹ 剂量组和阳性对照组 (氮草斯汀, 100 mg·kg⁻¹)。大鼠背部皮内注射 anti-DNP IgE 200 ng, 24 h 后大鼠尾静脉注射含有 DNP-HAS 100 μ g 的 1% 伊文思蓝混合液 200 μ L。注射伊文思蓝前 24、12 及 1 h, 灌胃给予花青素及氮草斯汀。30 min 后, 切开背部皮肤蓝色斑点部位, 称量, 细切后放入 HEPES-Tyrode 溶液, 在 60 °C 干燥箱上放置 3 h。用分光光度计在 620 nm 下测定吸收度值并计算渗出的伊文思蓝浓度。

细胞毒性实验 利用 MTT 检测花青素的细胞毒性^[6]。

肥大细胞组胺释放量测定^[7] 在肥大细胞悬液中加入 anti-DNP IgE (10 μ g·L⁻¹) 致敏, 37 °C 孵育 6 h。然后, 分别加入花青素 (100、50 和 25 μ mol·L⁻¹) 及氮草斯汀 (100 μ mol·L⁻¹), 作用 10 min, 洗净; 各组分别加入 DNP-HAS (100 ng·mL⁻¹), 孵育 30 min, 离心后取适量细胞上清液分别用于测定组胺。

肥大细胞内钙摄入量测定^[7] 在肥大细胞悬液中, 放入含有 1 μ Ci ⁴⁵Ca²⁺/mL 的 HEPES-Tyrode 缓冲溶液 (MgCl₂、CaCl₂ 除外), 再悬浮。加入 anti-DNP IgE (10 μ g·L⁻¹) 致敏, 在 37 °C 孵育 6 h; 分别加入花青素 (100、50 和 25 μ mol·L⁻¹) 及氮草斯汀 (100 μ mol·L⁻¹, 阳性对照), 作用 10 min, 洗净; 各组分别加入 DNP-HAS (100 ng·mL⁻¹), 孵育 30 min。离心后除去上层液, 用 Triton X-100 破坏肥大细胞, 计算钙离子量。

Western blotting 蛋白测定^[7] 在腹腔肥大细胞

中加入 anti-DNP IgE (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 致敏, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养基孵育 6 h; 换洗后, 加入花青素作用 10 min, 洗净; 各组分别加入 DNP-HAS (100 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$), 孵育 30 min。离心后除去上层液, 加入裂解液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心, 取上清液测蛋白浓度。取蛋白 20 μg , 经 12% SDS-PAGE 电泳, 电转移至 PVDF 膜上, 在 5% 脱脂奶粉-TBST 溶液室温下封闭 2 h, 分别加入 NF- κB p65、p38MAPK、Akt、TNF- α 及 IL-6 抗体 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 洗膜后再用 HRP 标记的二抗杂交, 37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 1 h。洗膜后在暗室中加 ECL 发光试剂, 显影及定影。

统计学处理 实验结果以 mean \pm SEM 表示。实验数据应用 SPSS 11.0 的 One-way ANOVA 检验进行统计学分析。

结果

1 花青素对 PCA 的影响

与模型对照组比较, 花青素各组均能减少染料的渗出, 其中 100 和 50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组与模型组对照比较, 具有显著差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, 表 1)。

Table 1 Effect of anthocyanidin (C3G) on IgE-induced PCA in rats. Anthocyanidin or azelastine was orally administered at 1 h prior to the challenge with antigen (DNP-HAS). Each amount of Evans blue represents the mean \pm SEM of five independent experiments. ^aInhibition (%) = [(amount of Evans blue without C3G-amount of Evans blue with C3G)/amount of Evans blue without C3G] \times 100. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; ^{##} $P < 0.01$ vs normal group

Goup	Treatment / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Amount of Evans blue / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Inhibition ^a /%
Normal	0	43.78 \pm 1.43	-
Control	0	156.45 \pm 9.23 ^{##}	-
C3G	25	134.45 \pm 8.75	14.10
	50	120.12 \pm 5.42	23.07*
	100	98.42 \pm 5.35	35.89**
Azelastine	100	76.42 \pm 3.78	51.28**

2 花青素对肥大细胞的细胞毒作用

花青素 (25~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对肥大细胞活性几乎无影响 (表 2)。

3 花青素对肥大细胞组胺生成和钙摄入量影响

与模型对照组比较, 花青素各组均能抑制组胺生成和钙摄入量, 其中 100 和 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组与模型对照组比较, 具有显著差异 ($P < 0.01$, 表 2)。

4 花青素对 TNF- α 和 IL-6 蛋白表达的影响

Western blotting 条带光密度分析显示, 模型对照组肥大细胞 TNF- α 和 IL-6 蛋白表达量较正常对照组明显增加, 花青素 50 和 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组的

TNF- α 和 IL-6 蛋白表达量分别较模型对照组明显减少 (图 1), 说明花青素能有效抑制肥大细胞释放出炎症细胞因子。

Table 2 Effect of anthocyanidin (C3G) on IgE-mediated histamine and calcium uptake rat peritoneal mast cells (RPMC). Inhibitory effect of anthocyanidin anti-DNP IgE-mediated (A_{570} , histamine release, calcium uptake) from RPMC. RPMC were preincubated with anthocyanidin at 37 $^{\circ}\text{C}$ for 30 min prior to the incubation with DNP-HAS. Each data value represents the mean \pm SEM of five independent experiments. ** $P < 0.01$ vs control group; ^{##} $P < 0.01$ vs normal group

Goup	Treatment / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	A_{570}	Histamine release / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	Calcium uptake / $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$
Normal	0	1.66 \pm 0.68	0.07 \pm 0.10	39.35 \pm 3.31
Control	0	1.61 \pm 0.76	1.31 \pm 0.12 ^{##}	147.78 \pm 8.13 ^{##}
C3G	25	1.62 \pm 0.89	1.10 \pm 0.10 (15.16)	134.12 \pm 4.36 (9.17)
	50	1.66 \pm 0.47	0.43 \pm 0.12** (65.71)	89.48 \pm 4.78** (39.98)
	100	1.62 \pm 0.58	0.19 \pm 0.11** (90.11)	57.35 \pm 3.45** (61.75)
Azelastine	100	1.67 \pm 0.45	0.11 \pm 0.09** (92.33)	43.73 \pm 3.47** (70.47)

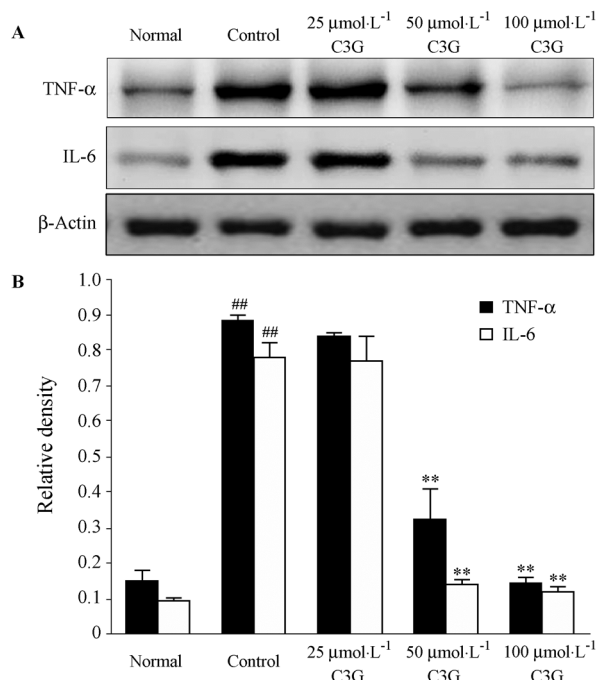


Figure 1 Inhibitory effect of anthocyanidin (C3G) on the anti-DNP IgE-mediated TNF- α and IL-6 protein expression in RPMC. RPMC were sensitized with anti-DNP IgE and preincubated at 37 $^{\circ}\text{C}$ for 30 min in the absence or presence of anthocyanidin before the challenging with DNP-HAS. The protein expression of these cytokines was measured by Western blotting. A representative result was presented among at least five separate experiments with similar results. Each data value represents the mean \pm SEM of five independent experiments. ** $P < 0.01$ vs control group; ^{##} $P < 0.01$ vs normal group

5 花青素对 NF- κ B p65 蛋白表达的影响

Western blotting 条带光密度分析显示 (图 2), 模型对照组细胞质的 NF- κ B p65 蛋白表达明显低于正常对照组, 模型对照组细胞核的 NF- κ B p65 蛋白表达明显高于正常对照组。随着花青素药物浓度的增加细胞质和细胞核的 NF- κ B p65 蛋白表达分别逐渐增多和减少。

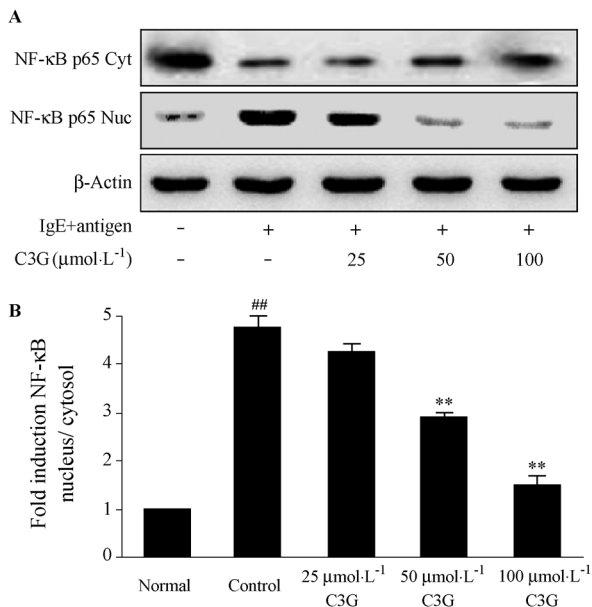


Figure 2 Effect of anthocyanidin (C3G) on NF- κ B expression in nuclear (Nuc) and cytosolic (Cyt) protein extracts from anti-DNP IgE stimulated RPMC. A representative result was presented among at least five separate experiments with similar results. A: Representative of Western blotting images revealed the expression of nucleus and cytosol p65 protein. β -Actin was used as a control of protein loading to cytosol protein. B: Quantification of the protein data. Level of cytosol p65 protein was normalized to β -actin level. The ratio value of (nucleus: cytosol) in NF- κ B p65 protein was expressed as relative fold activation in comparison with control group. Values correspond to the mean \pm SEM of three independent experiments. ^{**} $P < 0.01$ vs control group; ^{##} $P < 0.01$ vs normal group

6 花青素对 p38MAPK 和 Akt 蛋白表达的影响

Western blotting 条带光密度分析显示, 模型对照组肥大细胞 p38MAPK 和 Akt 蛋白表达量较正常对照组明显增加, 花青素 50 和 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组的 p38MAPK 和 Akt 蛋白表达量分别较模型对照组明显减少 (图 3)。

讨论

抗原致敏机体后, 机体免疫系统可对抗原进行识别并产生特异性抗体 IgE, IgE 可与肥大细胞表面的 Fc ϵ RI 结合使细胞致敏, 当机体再次接触抗原时,

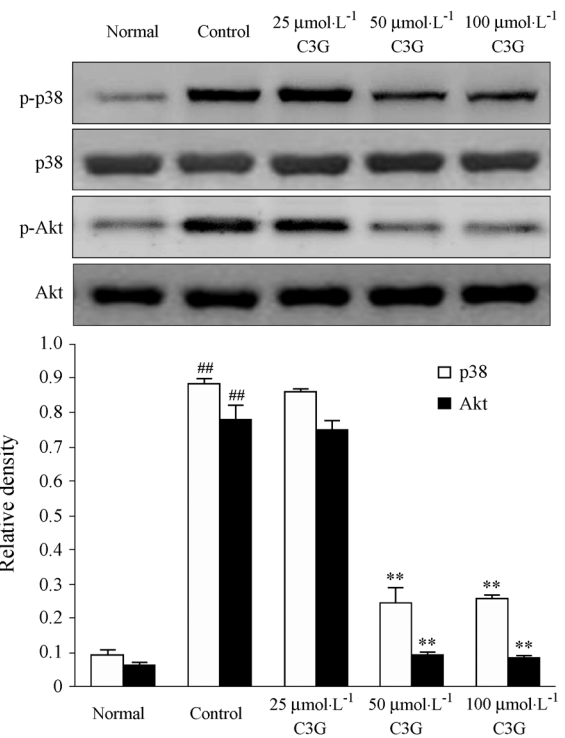


Figure 3 Effect of anthocyanidin (C3G) on p38MAPK and Akt activation in RPMC. RPMC were sensitized with anti-DNP IgE and preincubated at 37 $^{\circ}\text{C}$ for 30 min in the absence or presence of anthocyanidin before the challenging with DNP-HAS. Phosphorylation of p38MAPK and Akt was analyzed by Western blotting assay. A representative result was presented among at least five separate experiments with similar results. ^{**} $P < 0.01$ vs control group; ^{##} $P < 0.01$ vs normal group

特异性 IgE 可与其结合, 活化 Fc ϵ RI, 从而诱导肥大细胞脱颗粒并释放多种炎症介质^[6]。被抗原激活的肥大细胞脱颗粒以后, 释放出 TNF- α 、IL-6 等与 I 型变态反应相关的细胞因子, 然后引起过敏反应^[7]。肥大细胞活化后产生的 TNF- α 是重要的前炎症因子, 它可促使血管内皮细胞表达黏附分子促进炎症细胞的聚集, 并可刺激组胺、前列腺素等因子的释放, 从而加重哮喘的反应^[8]。组胺不仅增强多种细胞合成分泌 IL-6 等促炎细胞因子, 促进过敏反应; 还可增强嗜酸性粒细胞和肥大细胞的趋化反应, 诱导炎症介质的生成, 对炎症有促进作用^[1]。研究报道, 调节细胞内钙的浓度是抑制 Fc ϵ RI 诱导肥大细胞脱颗粒的关键因素^[9]。作者的研究结果显示, 花青素呈剂量依赖性减少 IgE 诱导的肥大细胞外钙内流, 由此可抑制肥大细胞脱颗粒和炎症细胞因子的释放。另外, 本研究表明, 花青素对大鼠被动皮肤过敏引起的炎症渗出均有显著的抑制作用。作者从体内及体外观察到花青素抑制肥大细胞脱颗粒的同时, 也抑制了组胺、TNF- α 、IL-6 等与 I 型变态反应相关的因子, 这可能

是花青素抗过敏的机制之一。

MAPK 信号转导途径主要包括 ERK、JNK、p38MAPK 亚族,并在炎症介质的合成方面起到诱导作用。研究报道在肥大细胞 p38MAPK 磷酸化可激活 NF- κ B 表达,并由此上调 TNF- α 、IL-6 等炎症细胞因子的产生^[10]。研究表明,在肥大细胞脂多糖激活组胺 4 受体以后,通过 PI3K/Akt 信号途径上调 IL-6 等炎症细胞因子的产生,说明 Akt 在钙离子非依赖性的脱颗粒过程中具有重要作用,且与多种细胞因子分泌相关^[11, 12]。本实验结果表明,花青素可能通过抑制 p38MAPK 和 Akt 的磷酸化,一定程度地抑制了肥大细胞的脱颗粒。

NF- κ B 是参与炎症、免疫反应的重要转录因子,在过敏反应中发挥枢纽作用^[13, 14]。正常状态下, NF- κ B 由 p50、p65 两种异源二聚体组成,存在于细胞质中,通常与其抑制因子 I κ B 结合,以非活性状态存在;接受信号刺激后, I κ B 被降解,活化 NF- κ B,引起炎症因子的释放^[15, 16]。研究显示, p38MAPK 和 Akt 的磷酸化可激活 NF- κ B 表达^[17, 18]。作者的研究也表明,花青素可以抑制肥大细胞释放 TNF- α 、IL-6,同时可以抑制 p38MAPK 和 Akt 磷酸化并下调核蛋白中 NF- κ B 的表达。因此,作者认为花青素可能通过抑制 p38MAPK/NF- κ B 或 Akt/NF- κ B 信号通路阻断 TNF- α 、IL-6 等炎症细胞因子的产生。

References

- [1] Min SW, Ryu SN, Kim DH. Anti-inflammatory effects of black rice, cyanidin-3-O-beta-D-glycoside, and its metabolites, cyanidin and protocatechuic acid [J]. *Int Immunopharmacol*, 2010, 10: 959-966.
- [2] Park SJ, Shin WH, Seo JW, et al. Anthocyanins inhibit airway inflammation and hyperresponsiveness in a murine asthma model [J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45: 1459-1467.
- [3] Jiang S, Nakano Y, Rahman MA, et al. Effects of a *Dictamnus dasycarpus* T. extract on allergic models in mice [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2008, 72: 660-665.
- [4] Shin DY, Lee WS, Lu JN, et al. Induction of apoptosis in human colon cancer HCT-116 cells by anthocyanins through suppression of Akt and activation of p38-MAPK [J]. *Int J Oncol*, 2009, 35: 1499-1504.
- [5] Choi YH, Yan GH. Anti-allergic effects of scoparone on mast cell-mediated allergy model [J]. *Phytomedicine*, 2009, 16: 1089-1094.
- [6] Choi YH, Yan GH. Silibinin attenuates mast cell-mediated anaphylaxis-like reactions [J]. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32: 868-875.
- [7] Choi YH, Yan GH. Ellagic acid attenuates immunoglobulin E-mediated allergic response in mast cell [J]. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32: 1118-1121.
- [8] Yang JH, Son KH, Son JK, et al. Anti-allergic activity of an ethanol extract from *Salviae miltiorrhiza* [J]. *Arch Pharm Res*, 2008, 31: 1597-1603.
- [9] Nomura H, Ohtsuka T, Tadokoro S, et al. Involvement of ELKS, an active zone protein, in exocytotic release from RBL-2H3 cells [J]. *Cell Immunol*, 2009, 258: 204-211.
- [10] Azzolina A, Guarneri P, Lampiasi N. Involvement of p38 and JNK MAPKs pathways in substance P-induced production of TNF-alpha by peritoneal mast cells [J]. *Cytokine*, 2002, 18: 72-80.
- [11] Desai P, Thurmond RL. Histamine H(4) receptor activation enhances LPS-induced IL-6 production in mast cells via ERK and PI3K activation [J]. *Eur J Immunol*, 2011, 41: 1764-1773.
- [12] Fukao T, Terauchi Y, Kadowaki T, et al. Role of phosphoinositide 3-kinase signaling in mast cells: new insights from knockout mouse studies [J]. *J Mol Med*, 2003, 81: 524-535.
- [13] Azzolina A, Bongiovanni A, Lampiasi N. Substance P induces TNF-alpha and IL-6 production through NF kappa B in peritoneal mast cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1643: 75-83.
- [14] Lin YJ, Huang YH, Zhen YZ, et al. Rhein lysinate induces apoptosis in breast cancer SK-Br-3 cells by inhibiting HER-2 signal pathway [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2008, 43: 1099-1105.
- [15] Liu LB, Wang YP, Pan XD, et al. Exendin-4 protected murine MIN6 pancreatic β -cells from oxidative stress-induced apoptosis via down-regulation of NF- κ B-iNOS-NO pathway [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2008, 43: 690-694.
- [16] Klemm S, Ruland J. Inflammatory signal transduction from the Fc epsilon RI to NF-kappa B [J]. *Immunobiology*, 2006, 211: 815-820.
- [17] Perkins ND. Integrating cell-signalling pathways with NF-kappaB and IKK function [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 49-62.
- [18] Prasad S, Madan E, Nigam N, et al. Induction of apoptosis by lupeol in human epidermoid carcinoma A431 cells through regulation of mitochondrial, Akt/PKB and NFkappaB signaling pathways [J]. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8: 1632-1639.