

## 论著

大豆异黄酮对  $\beta$  淀粉样肽诱导的大鼠脑组织炎症相关因子表达的影响

周新,丁冰杰,肖荣,苑林宏,麻微微,余焕玲,席元第,丁娟,封锦芳  
(首都医科大学公共卫生与家庭医学学院,北京 100069)

**摘要:**目的 研究大豆异黄酮(SIF)对  $\beta$  淀粉样肽 1-42 ( $A\beta$ 1-42) 诱导的大鼠脑炎症损伤的作用。方法 将健康雄性 Wistar 大鼠按体重随机分成对照组、 $A\beta$  模型组、SIF 干预组(SIF +  $A\beta$  组)和 SIF 组(SIF 单独处理组)。SIF 干预组和 SIF 组大鼠每日给予大豆异黄酮(80 mg/kg)灌胃处理,共 14 d。然后  $A\beta$  模型组和 SIF 干预组采用微型注射泵在大鼠侧脑室区持续注射  $A\beta$ 1-42 14 d,建立大鼠脑炎症损伤模型。采用 RT-PCR 方法和 Western blot 方法检测脑组织白介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)以及白介素-10(IL-10)基因和蛋白水平的表达。结果 与模型组比较,SIF 干预组大鼠脑组织 IL-1 $\beta$ 、iNOS 及 IL-10 基因和蛋白表达水平显著下调( $P < 0.05$ )。结论 大豆异黄酮可能是通过影响大鼠脑组织炎症相关因子及酶基因/蛋白水平的表达来拮抗  $A\beta$ 1-42 介导的脑炎症反应。

**关键词:**大豆异黄酮; $\beta$  淀粉样肽 1-42;炎症;炎症介质;大鼠;脑组织

**中图分类号:**R735.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2012)01-0001-04

**Effect of soybean isoflavones on the expression of inflammatory mediators in the brain of rats induced by  $\beta$ -amyloid peptides**

Zhou Xin, Ding Bingjie, Xiao Rong, Yuan Linhong, Ma Weiwei, Yu Huanling, Xi Yuandi,  
Ding Juan, Feng Jinfang

(School of Public Health and Family Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the protective mechanism of soybean isoflavones (SIF) against the inflammatory impairment in the brain of rats induced by  $\beta$ -amyloid peptide1-42 ( $A\beta$ 1-42). **Methods** Based on the body weight of rats, 32 healthy Wistar rats (male, aged 3 months) were randomly divided into four groups (control,  $A\beta$ , SIF +  $A\beta$  and SIF groups). The inflammatory impairment model was established by injecting  $A\beta$ 1-42 (10  $\mu$ g) into the lateral cerebral ventricle of rats with micropump for 14 days. The rats in SIF +  $A\beta$  and SIF groups were treated with SIF (80 mg/kg bw) per day by gavaging for 14 days before the injection of  $A\beta$ , while the rats in control group and  $A\beta$  group were treated with 0.5% CMC-Na. On the 15<sup>th</sup> day after  $A\beta$  injection, the rats were killed for the mRNA and protein expression of interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), inducible nitric oxide synthase (iNOS) and interleukin-10 (IL-10) in brain tissue tested by RT-PCR and western blot. **Results** Comparing with the  $A\beta$  group, the mRNA and protein expression of IL-1 $\beta$ , iNOS and IL-10 of SIF treated groups were decreased significantly ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The expression of IL-1 $\beta$ , iNOS and IL-10 at gene and protein level could be down-regulated by soy isoflavones, therefore the inflammatory damage induced by  $A\beta$ 1-42 was inhibited.

**Key words:** Soy isoflavones;  $\beta$ -amyloid peptide1-42; inflammation; inflammatory mediators; rats; brain

研究证实,炎症损伤是阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,AD)等神经退行性疾病的重要发病机制之一<sup>[1]</sup>。 $\beta$  淀粉样肽( $\beta$ -amyloid peptides, $A\beta$ )在脑内沉积形成的老年斑(senile plaque,SP)是

AD 发生发展的重要病理基础。在 AD 患者脑中  $A\beta$  沉积区及邻近区存在大量活化与增生的神经胶质细胞,同时伴有多种促炎症细胞因子和其他炎性介质表达水平的升高<sup>[2]</sup>,意味着  $A\beta$  可能是通过某种途径激活神经胶质细胞,进而引起脑内炎症反应。

大豆异黄酮(soybean isoflavone,SIF)是大豆生长中形成的一类次级代谢产物,在黄豆、青豆和黑豆等豆类食品中含量较多。大量研究表明 SIF 在预防更年期综合征、心血管疾病以及癌症等方面发挥了重要作用。近年来,有关 SIF 对 AD 等神经退行性疾病特有的预防作用得到人们的广泛关注。本

收稿日期:2011-08-08

基金项目:国家自然科学基金(30972470);北京市自然科学基金(7102015);国家高新技术研究发展计划(863 计划:2010AA023003);北京市优秀人才培养资助(2011D005018000011)

作者简介:周新 女 硕士生 研究方向为植物化学物与神经保护作用 E-mail:xinxin6711@126.com

通信作者:肖荣 女 教授

实验室前期研究结果也显示 SIF 具有抗氧化、抗炎作用;SIF 可以抑制  $A\beta$  诱导的活性氧 (ROS) 的产生<sup>[3]</sup> 以及大鼠血清促炎症因子白介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 和肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 的上调<sup>[4]</sup>。另有研究报道,黄酮类植物化学物雌马酚也具有抑制炎症相关因子、调节免疫应答等特性<sup>[5]</sup>。那么,SIF 是否能够通过抑制脑内炎症因子的产生,从而发挥神经保护作用呢?本研究拟通过  $A\beta$ 1-42 建立大鼠脑炎症损伤模型,采用 SIF 干预处理,检测脑组织中炎症因子基因与蛋白水平的表达,旨在探讨 SIF 拮抗脑内炎症反应的作用及其可能的机制。为揭示 SIF 有效改善学习记忆能力的神经保护作用提供科学的实验数据和理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器和试剂

大鼠脑立体定位仪(美国 FOREDOM 公司)、植入式胶囊渗透压泵 2002 型(美国 ALZET 公司)、凝胶成像分析系统(美国 Alpha Innotech 公司)、梯度 PCR 仪(德国 Whatman)、电泳仪(美国 BioRad 公司)等。

SIF(总含量 91.96%,华北制药厂)、 $A\beta$ 1-42(上海生物工程技术有限公司)、IL-1 $\beta$  兔多克隆抗体、 $\beta$ -actin 兔多克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司)、诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)兔多克隆抗体、白介素-10(IL-10)兔多克隆抗体(美国 Abcam 公司)等。

### 1.2 试验动物

健康雄性、3 月龄、SPF 级的 Wistar 大鼠 40 只,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号为 S7XK-(京 2006-0009),于首都医科大学 SPF 级动物实验研究中心饲养,合格证号为 syxk(京)2005-0022。动物实验符合国家《实验动物管理条例》,并经首都医科大学动物伦理委员会认可。

### 1.3 动物分组及处理

按体重将实验大鼠随机分为 4 组(10 只/组):对照组、 $A\beta$  模型组、SIF 干预组(SIF +  $A\beta$  组)、SIF 组(SIF 单独处理组)。SIF 干预组及 SIF 组每天灌胃给予 SIF(80 mg/kg),共 14 d,对照组和  $A\beta$  模型组灌胃给予同等量的羧甲基纤维素钠溶液。从第 15 天开始, $A\beta$  模型组和 SIF 干预组采用微型注射泵在大鼠侧脑室区持续注射  $A\beta$ 1-42(10  $\mu$ g)14 d,制造大鼠脑炎症损伤模型;对照组和 SIF 组大鼠侧脑室注射等量的生理盐水。实验过程中因手术等原因共有 4 只大鼠死亡。第 29 天断颈处死余下 36 只大鼠(包括对照组 10 只、 $A\beta$  组 9 只、SIF +  $A\beta$  组 8 只、SIF 组 9 只),留取脑组织备用。

### 1.4 RT-PCR 分析

引物序列为 primer 5.0 软件设计,由上海生物工程技术服务有限公司合成。IL-1 $\beta$ 、iNOS、IL-10 及  $\beta$ -actin 基因的引物序列、退火温度及片段长度见表 1。

表 1 IL-1 $\beta$ 、iNOS、IL-10 及  $\beta$ -actin 基因的引物序列、退火温度及片段长度

Table 1 Primers for IL-1 $\beta$ , iNOS, IL-10 and  $\beta$ -actin, and the annealing temperature and fragment length

基因	引物序列(5'-3')	退火温度 ( $^{\circ}$ C)	片段长度 (bp)
IL-1 $\beta$	AGTGTCTGAAGCAGCTATGG CACTTGTGGCTTATGTCTCG	53	484
iNOS	GCAGCACTTGGATCAATAACCT ACATCGCCACAAACATAAAGG	57	191
IL-10	CTGCTATGTTCCTGCTCTTAC ATCATTCCTTCACCTGCTCCACT	55	420
$\beta$ -actin	TGGAATCCTGTGGCATCCATGAAAC TAAACGCGAGCTCAGTAACAGTCCG	58	348

具体的 RNA 提取及反转录和扩增过程参照 Ding 等<sup>[4]</sup> 的实验方法进行。

### 1.5 Western Blot 分析

各组均取 0.5 g 脑组织,加裂解液提取总蛋白,BCA(bicinchoninic acid)法测定蛋白浓度后,加变性缓冲液煮沸 5 min 变性, -20  $^{\circ}$ C 保存。10% 聚丙烯酰胺凝胶进行电泳,60 V 湿转 2 h,5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h, iNOS 抗体(1:200)4  $^{\circ}$ C 孵育过夜,TBST 漂洗(10 min  $\times$  3),碱性磷酸酶标记 IgG(1:1 000)室温孵育 1 h,TBST 漂洗(10 min  $\times$  3),碱性磷酸酶法显色。内参照  $\beta$ -actin 蛋白及 IL-1 $\beta$  蛋白测定除一抗为  $\beta$ -actin 抗体(1:1 000)、IL-1 $\beta$  抗体(1:200)以及 IL-10 抗体(1:1 000)外,其余步骤同 iNOS。结果用 FluorChem FC2 凝胶成像分析系统分析扫描结果,测定各条带光密度值,目的蛋白相对表达量为目的条带与内参  $\beta$ -actin 的光密度比值。实验重复测定 4 次,每次均从 4 组大鼠中随机选取不同大鼠的脑组织进行实验。

### 1.6 数据分析

用 SPSS 13.0 统计软件包进行数据录入和单因素方差分析(ANOVA),组间比较采用 LSD 法, $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。实验数据均用  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 2 结果

### 2.1 大豆异黄酮对 $A\beta$ 诱导的大鼠 IL-1 $\beta$ 及 iNOS 基因表达的影响

与对照组比较, $A\beta$  模型组 IL-1 $\beta$  及 iNOS 基因表达增加( $P < 0.05$ );与  $A\beta$  模型组比较,SIF 干预组和 SIF 组 IL-1 $\beta$  及 iNOS 基因表达减少( $P < 0.05$ ),见图 1。

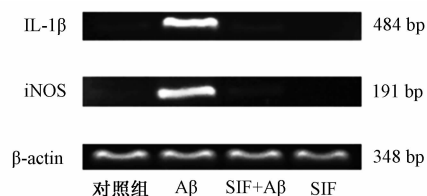


图1 大豆异黄酮对  $A\beta$ 1-42 诱导的大鼠脑组织 IL-1 $\beta$  及 iNOS 基因表达的影响

Figure 1 Effect of SIF on the expression of IL-1 $\beta$  and iNOS mRNA induced by  $A\beta$ 1-42 in rat brain ( $n=4$ )

## 2.2 大豆异黄酮对 $A\beta$ 诱导的大鼠 IL-1 $\beta$ 及 iNOS 蛋白表达的影响

与对照组比较,  $A\beta$  模型组 IL-1 $\beta$  及 iNOS 蛋白表达增加 ( $P < 0.05$ ); 与  $A\beta$  模型组比较, SIF 干预组 IL-1 $\beta$  及 iNOS 蛋白表达减少, 见图 2。

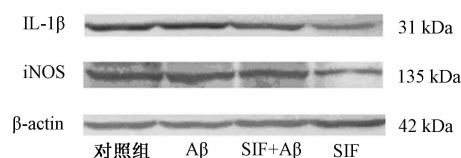


图2 大豆异黄酮对  $A\beta$ 1-42 诱导的大鼠脑组织 IL-1 $\beta$  及 iNOS 蛋白表达的影响

Figure 2 Effect of SIF on the expression of IL-1 $\beta$  and iNOS induced by  $A\beta$ 1-42 in rat brain ( $n=4$ )

## 2.3 大豆异黄酮对 $A\beta$ 诱导的大鼠 IL-10 基因表达的影响

与对照组比较,  $A\beta$  模型组 IL-10 基因表达增加 ( $P < 0.05$ ); 与  $A\beta$  模型组比较, SIF 干预组和 SIF 组 IL-10 基因表达减少 ( $P < 0.05$ ), 见图 3。

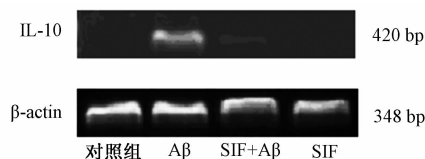


图3 大豆异黄酮对  $A\beta$ 1-42 诱导的大鼠脑组织 IL-10 基因表达的影响

Figure 3 Effect of SIF on the expression of IL-10 mRNA induced by  $A\beta$ 1-42 in rat brain ( $n=4$ )

## 2.4 大豆异黄酮对 $A\beta$ 诱导的大鼠 IL-10 蛋白表达的影响

与对照组比较,  $A\beta$  模型组 IL-10 蛋白表达增加 ( $P < 0.05$ ); 与  $A\beta$  模型组比较, SIF 干预组和 SIF 组 IL-10 蛋白表达减少, 见图 4。

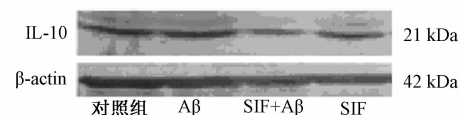


图4 大豆异黄酮对  $A\beta$ 1-42 诱导的大鼠脑组织 IL-10 蛋白表达的影响

Figure 4 Effect of SIF on the expression of IL-10 induced by  $A\beta$ 1-42 in rat brain ( $n=4$ )

围常伴随着小胶质细胞和星形胶质细胞的浸润, 提示脑内的炎症反应在促进 AD 发生发展中起到了重要作用<sup>[7-9]</sup>。大豆异黄酮作为一种具有抗炎作用的植物化学物, 能够调节炎症相关因子的产生, 拮抗  $A\beta$  介导的神经毒性作用<sup>[4]</sup>。

IL-1 $\beta$  是具有重要作用的免疫调节因子, 其过度表达是炎症损伤的重要环节<sup>[10]</sup>。已有多项研究证实, 在老年斑中 IL-1 $\beta$  的含量增多, 在 AD 患者脑组织中 IL-1 $\beta$  的含量是正常脑组织的 6 倍<sup>[11]</sup>。iNOS 为一氧化氮 (NO) 合成的限速酶, 在正常生理状态下低水平表达或不表达, 但在病理状态下可诱导其过量表达, 催化生成大量 NO 参与炎症及免疫反应。Tseng 等<sup>[12]</sup> 指出 AD 患者脑组织中 iNOS 含量明显升高。本研究结果也表明  $A\beta$ 1-42 可引起脑组织内炎症因子 IL-1 $\beta$  及相关酶 iNOS 基因及蛋白水平的表达显著升高 ( $P < 0.05$ ), 与 Valles 等<sup>[13]</sup> 的研究结果变化趋势一致: 原代星形胶质细胞经  $A\beta$ 1-42 处理 24 h 后, 促炎症因子 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  以及促炎症酶 iNOS、环氧合酶-2 (COX-2) 表达显著升高。Chung 等<sup>[14]</sup> 的研究显示脑内增高的促炎细胞因子能够诱导神经胶质细胞中的淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 表达上调, 促进  $A\beta$  的产生; 同时, 这些促炎症因子还可以增加 APP 的合成进程, 从而进一步增加  $A\beta$  在斑块中的生成和沉积。在本研究中,  $A\beta$ 1-42 诱导大鼠脑内促炎症因子 IL-1 $\beta$  以及酶 iNOS 的表达上调, 引起促炎症因子在脑内的不断累积, 形成恶性循环, 最终可能会导致不可逆转的炎症损伤。SIF 的主要活性成分三羟异黄酮可以在大鼠肺泡上皮细胞中抑制脂多糖诱导的促炎症因子的产生, 如 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和白介素-6 (IL-6); 抑制血管内皮生长因子诱导的 COX-2 的表达; 抑制单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 处理的巨噬细胞 TNF- $\alpha$ 、IL-1 的生成<sup>[15]</sup>。Morimoto 等<sup>[16]</sup> 的研究也发现, SIF 的活性成分黄豆苷元可以抑制小鼠结肠炎模型中的炎症反应, 下调干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )、IL-6、IL-8 以及 IL-12 的表达。本研究结果也显示: SIF 干预能够显著拮抗  $A\beta$ 1-42 引起的大鼠脑组织中促炎症因子 IL-1 $\beta$ 、相关酶 iNOS 基因与蛋白水平的表达上调 ( $P < 0.05$ )。提示 SIF 能够通过调节促炎症因子及相关酶的表达, 发挥神经抗炎保护作用。

## 3 讨论

Hardy 和 Selkoe<sup>[6]</sup> 提出的淀粉样蛋白级联学说认为  $A\beta$  在大脑皮层形成不可逆的沉积是 AD 病理发生的早期关键性事件。AD 患者脑组织老年斑周

IL-10 是一个以免疫抑制为主的多向免疫调节因子,在脑组织中主要由激活的神经胶质细胞分泌<sup>[17]</sup>。本研究发现,在 A $\beta$  处理后脑组织内 IL-10 基因和蛋白水平表达上调,与 Apelt 和 Schliebs 等<sup>[18]</sup>在 AD 转基因小鼠中的研究结果相似:在 A $\beta$  沉积区大量激活的小胶质细胞中,IL-1 $\beta$ 、转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 以及 IL-10 的表达上调。提示 A $\beta$  的大量沉积导致脑组织处于炎症状态,可能使得机体防御机制分泌抗炎因子来调节自身免疫平衡,故而诱导了促炎症与抗炎两种机制同时存在,表现为 IL-10 表达的上调。Jin 等<sup>[19]</sup>的研究也发现与正常野生小鼠相比,AD 转基因鼠脑内 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-17 以及 IL-10 表达上调。另外,在本研究中,经 SIF 干预后 IL-10 在基因及蛋白水平表达下调 ( $P < 0.05$ ),与 Liu 等<sup>[20]</sup>观察到的白藜芦醇可以在大鼠脊髓损伤模型中抑制 IL-10 等炎症相关因子表达上调的作用一致。但有关 SIF 调控 IL-10 基因或蛋白表达在炎症反应中的确切作用及其特点还有待深入探讨。

大量有关多酚类植物化学物的研究显示,白藜芦醇、姜黄素、茶多酚可通过抑制 TLRs-NF $\kappa$ B 炎症信号通路的激活<sup>[21-23]</sup>,减少细胞炎症因子的产生,起到神经细胞保护作用。提示具有抗炎作用的 SIF 可能也是通过类似的机制实现抑制 A $\beta$ 1-42 介导的细胞炎症因子表达上调,发挥抗炎保护作用的,但是具体机制尚需进一步研究。

综上所述,SIF 可能是通过下调脑内炎症因子和相关酶基因/蛋白水平的表达,来抑制 A $\beta$ 1-42 介导的大鼠脑内炎症反应,从而达到神经保护作用的。

## 参考文献

- [1] HENEKA M T, O' BANION M K. Inflammatory processes in Alzheimer's disease[J]. J Neuroimmunol, 2007, 184(1-2): 69-91.
- [2] SALMINEN A, OJALA J, KAUPPINEN A, et al. Inflammation in Alzheimer's disease: Amyloid- $\beta$  oligomers trigger innate immunity defence via pattern recognition receptors [J]. Prog Neurobiol, 2009, 87(3): 181-194.
- [3] MA Weiwei, YUAN Linhong, YU Huanling, et al. Genistein as a neuroprotective antioxidant attenuates redox imbalance induced by-amyloid peptides 25-35 in PC12 cells [J]. Devl Neurosci, 2010, 28(4): 289-295.
- [4] DING Bingjie, MA Weiwei, HE Lingling, et al. Soybean isoflavone alleviates  $\beta$ -amyloid 1-42 induced. inflammatory response to improve learning and memory ability by down regulation of Toll-like receptor 4 expression and nuclear factor- $\kappa$ B activity in rats [J]. Int J Dev Neurosci, 2011, 29(5): 537-542.
- [5] BLAY M, ESPINEL A E, DELGADO M A, et al. Isoflavone effect on gene expression profile and biomarkers of inflammation [J]. J Pharm Biomed Anal, 2010, 51(2): 382-390.
- [6] HARDY J, SELKOE D J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics [J]. Science, 2002, 297(5580): 353-356.
- [7] SCHWAB C, MCGEER P L. Inflammatory aspects of Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders [J]. J Alzheimers Dis, 2008, 13(4): 359-369.
- [8] OKUN E, GRIFFIOEN K J, LATHIA J D, et al. Toll-like receptors in neurodegeneration [J]. Brain Res Rev, 2009, 59(2): 278-292.
- [9] MCGEER E G, MCGEER P L. Neuroinflammation in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a field in its infancy [J]. J Alzheimers Dis, 2010, 19(1): 355-361.
- [10] SHAFTEL S S, KYRKANIDES S, OLSCHOWKA J A, et al. Sustained hippocampal IL-1 beta overexpression mediates chronic neuroinflammation and ameliorates Alzheimer plaque pathology [J]. Clin Invest, 2007, 117(6): 1595-1604.
- [11] WEISMAN D, HAKIMIAN E, HO G J. Interleukins, Inflammation and Mechanisms of Alzheimer's Disease [J]. Vitam Horm, 2006, 74: 505-530.
- [12] TSENG I J, LIU H C, YUAN R Y, et al. Expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and period 1 (PER1) clock gene products in different sleep stages of patients with cognitive impairment [J]. J Clin Neurosci, 2010, 17(9): 1140-1143.
- [13] VALLES S L, DOLZ-GAITON P, GAMBINI J, et al. Estradiol or genistein prevent Alzheimer's disease-associated inflammation correlating with an increase PPAR gamma expression in cultured astrocytes [J]. Brain Res, 2010, 1312: 138-144.
- [14] CHUNG H Y, CESARI M, ANTON S, et al. Molecular inflammation: Underpinnings of aging and age-related diseases [J]. Ageing Res Rev, 2009, 8(1): 18-30.
- [15] HUANG M T, GHAI G, HO C T. Inflammatory Process and Molecular Targets for Anti-inflammatory Nutraceuticals [J]. Food Sci Food Safety, 2004(3): 127-139.
- [16] MORIMOTO M, WATANABE T, YAMORI M, et al. Isoflavones regulate innate immunity and inhibit experimental colitis [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2009, 24(6): 1123-1129.
- [17] CONTI P, KEMPURAJ D, KANDERE K, et al. IL-10, an inflammatory/inhibitory cytokine, but not always [J]. Immunol Lett, 2003, 86(2): 123-129.
- [18] APELT J, SCHLIEBS R. Beta-amyloid-induced glial expression of both pro- and anti-inflammatory cytokines in cerebral cortex of aged transgenic Tg2576 mice with Alzheimer plaque pathology [J]. BRAIN RES, 2001, 894(1): 21-30.
- [19] JIN J J, KIM H D, MAXWELL J A, et al. Toll-like receptor 4-dependent upregulation of cytokines in a transgenic mouse model of ALZHEINERS Disease [J]. J Neuroinflammation, 2008, 5: 23.
- [20] LIU C, SHI Z, FAN L, et al. Resveratrol improves neuron protection and functional recovery in rat model of spinal cord injury [J]. Brain Res, 2011, 1374: 100-109.
- [21] BAR SHAVIT Z. Taking a toll on the bones: regulation of bone metabolism by innate immune regulators [J]. Autoimmunity, 2008, 41(3): 195-203.
- [22] HSU A, BRUNO R S, LÖHR C V, et al. Dietary soy and tea mitigate chronic inflammation and prostate cancer via NF $\kappa$ B pathway in the Noble rat model [J]. J Nutr Biochem, 2011, 22(5): 502-510.
- [23] BLAY M, ESPINEL A E, DELGADO M A, et al. Isoflavone effect on gene expression profile and biomarkers of inflammation [J]. J Pharm Biomed Anal, 2010, 51(2): 382-390.