

本文引文格式:黄冰,杨光宇,张岩,等. 3,3'-二吡啶甲烷通过 PI3K/AKT/NF-κB 通路抑制肝星状细胞的活化[J]. 右江民族医学院学报, 2022, 44(3): 325-329.

【论著与临床报道】

## 3,3'-二吡啶甲烷通过 PI3K/AKT/NF-κB 通路抑制肝星状细胞的活化

黄冰<sup>1</sup>, 杨光宇<sup>1</sup>, 张岩<sup>1</sup>, 李文学<sup>1</sup>, 庞雅琴<sup>2</sup>

(1. 广东省广州市疾病预防控制中心毒理与生化检验科, 广东 广州 510440;  
2. 右江民族医学院, 广西 百色 533000)

**摘要:**目的 观察 3,3'-二吡啶甲烷(3,3'-diindolylmethane, DIM)对乙醇诱导小鼠原代星状细胞激活的抑制作用,并初步探讨其分子作用机制。方法 分离 6~8 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠肝星状细胞, DIM 和乙醇联合处理后,检测星状细胞的活化程度相关的标记蛋白, Western blot 检测磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)/核转录因子-κB(NF-κB)通路的激活水平。结果 成功分离培养小鼠星状细胞,乙醇单独处理后,能够诱导星状细胞激活, α-SMA 表达上调,呈现成纤维细胞的表型, PI3K/AKT/NF-κB 通路被激活; DIM 单独处理对星状细胞无显著的影响, DIM 和乙醇联合处理后, DIM 能够显著抑制乙醇诱导的 α-SMA 的水平,抑制星状细胞的激活, DIM 同时抑制了乙醇诱导的 PI3K/AKT/NF-κB 通路的活化水平。结论 DIM 对乙醇诱导的星状细胞激活具有一定的抑制作用,其机制可能与抑制乙醇激活的 PI3K/AKT/NF-κB 通路有关。

**关键词:**酒精性脂肪肝; 3,3'-二吡啶甲烷; PI3K/AKT/NF-κB; 小鼠星状细胞

**中图分类号:** R575.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2022)03-0325-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-5817.2022.03.004

### Inhibition of 3,3'-diindolemethane on the activation of hepatic stellate cells via the PI3K/AKT/NF-κB pathway

Huang Bing<sup>1</sup>, Yang Guangyu<sup>1</sup>, Zhang Yan<sup>1</sup>, Li Wenxue<sup>1</sup>, Pang Yaqin<sup>2</sup>

(1. Department of Toxicology and Biochemical Laboratory, Guangzhou Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou 510440, Guangdong, China; 2. Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

**Abstract:** **Objective** To observe the inhibitory effect of 3,3'-diindolylmethane (DIM) on the alcohol-induced activation of mouse primary stellate cells, and to explore its molecular mechanism. **Methods** Hepatic stellate cells were isolated from male C57BL/6J mice of 6~8 weeks old. After the cells were treated with DIM and alcohol, the marker proteins related to the activation of stellate cells were detected. And Western blot was employed to detect the activation of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (AKT)/nuclear transcription factor -κB (NF-κB) pathway. **Results** The mouse stellate cells were successfully isolated and cultured. After being treated with alcohol, stellate cells could be activated and the expression of α-SMA was up-regulated, presenting as the phenotype of fibroblasts. And the PI3K/AKT/NF-κB pathway was activated. DIM alone had no significant effect on stellate cells. After the combined treatment with DIM and ethanol, DIM

**基金项目:**广州市科技计划项目(201804010223)

**第一作者简介:**黄冰(1971-),女,本科,副主任医师,研究方向:毒理学检验, E-mail: 274843552@qq.com

**通讯作者简介:**庞雅琴(1975-),女,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:分子毒理学, E-mail: pangyaqin@126.com

could significantly inhibit the ethanol-induced  $\alpha$ -SMA level and the activation of stellate cell. DIM also inhibited the activation level of ethanol-induced PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B pathway. **Conclusion** DIM has a certain inhibitory effect on alcohol-induced activation of stellate cells, and the mechanism may be related to the inhibition on alcohol-activated PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B pathway.

**Key words:** alcoholic fatty liver; 3,3'-diindolylmethane; PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B; mouse stellate cells

酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)是由于长期大量的摄入乙醇而导致肝脏损伤。初期表现为酒精性脂肪肝,进一步演变为酒精性肝炎、酒精性肝纤维化、酒精性肝硬化,甚至可以发展为酒精性肝癌<sup>[1]</sup>。酒精性肝纤维化是 ALD 进展过程中的关键病理学阶段,肝星状细胞的激活是肝纤维化形成的中心环节<sup>[2]</sup>。但目前 ALD 发病过程中,乙醇如何影响肝星状细胞的激活的机制尚未完全明确。而且,目前也尚无有效地针对肝星状细胞激活的特异性治疗药物,因此找到乙醇诱导肝星状细胞激活的机制,并寻找一个能够抑制其激活的药物成为改善酒精性肝纤维化的一个研究方向。

吲哚-3-甲醇(indole-3-carbinol, I3C)是一种确定的肿瘤化学预防物质,可从十字花科蔬菜如萝卜、芹菜、花椰菜等中提取而得<sup>[3]</sup>。3,3'-二吲哚甲烷(3,3'-diindolylmethane, DIM)是 I3C 在胃酸等酸性条件下发生低聚而得到的二聚物,其抗癌和抗炎能力已在多个细胞模型中得到证实<sup>[4]</sup>。然而对酒精性脂肪肝, DIM 是否能够抑制的乙醇诱导的肝星状细胞的激活作用少见报道。因此本研究采用小鼠原代肝星状细胞,观察 DIM 对乙醇诱导肝星状细胞激活的抑制作用,并初步探讨其作用机制,以期为预防和治疗提供新的理论依据。

## 1 材料与方法

1.1 动物和试剂 雄性 C57BL/6J 小鼠共 2 只,购自广东省医学实验动物中心[许可证号: SXK(粤)2013-0002], 6~8 周龄, 20~22 g, 饲养条件室温 22~25 °C, 相对湿度 55%~60%。抗体购自 Cell Signaling Technology 公司(美国), 培养基、胎牛血清、青霉素/链霉素、蛋白酶和胶原酶购自 GIBCO 公司(美国), 链霉蛋白酶、Nycodenz 和 DNase I 购自 Sigma 公司(美国), Western blot 预制胶购自 Life 公司(美国), Tizol 购自 invitrogen 公司(美国), QPCR 试剂盒购自 Takara 公司(日本)。

1.2 肝星状细胞的分离 取 2 只小鼠, 戊巴比妥钠麻醉小鼠, 暴露肝脏及下腔静脉, 留置针插入下腔静脉, 依次灌注乙二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸(EGTA)、链霉蛋白酶、胶原酶溶液, 灌注结束后取下肝脏, 将切碎的肝脏转移到预温的含有 1% DNase I 的链霉蛋白酶/胶原酶混合液中, 体外消化 25 min, 将细胞混合液

通过 100  $\mu$ m 滤网过滤。采用 Nycodenz 溶液进行梯度离心。离心结束后, 用 5 mL 的吸管收集细胞, 转移至新的 50 mL 离心管。580 g, 4 °C 离心 10 min, 抽吸上清液, DMEM 培养基重悬细胞, 计数, 按  $(2\sim4) \times 10^5$  个/毫升, 接种在 6 孔板中。

1.3 肝星状细胞的处理 将肝星状细胞以 80% 的浓度均匀接种到 96 孔板中, 然后放置培养箱内过夜培养, 让细胞完全贴壁, 细胞贴壁后, 使用不同的浓度乙醇(25 mM、50 mM、100 mM、200 mM、400 mM、800 mM 和 1600 mM)和 DIM(5  $\mu$ M、10  $\mu$ M、20  $\mu$ M、40  $\mu$ M、80  $\mu$ M、160  $\mu$ M 和 320  $\mu$ M)及不同时间(24 h、48 h 和 72 h)分别处理和观察细胞, 并将不同浓度的乙醇处理组内的 24 h 设置为组内对照细胞处理, 完成后, 分别检测肝星状细胞在不同乙醇计量组内各个时间点上的细胞活性。

1.4 细胞毒性检测 取处于对数生长期的细胞, 按  $0.5 \times 10^4$  个/孔接种于 96 孔培养板中, 在含有 10% FBS、1% P&S 的 DMEM 完全培养基中, 置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 及饱和湿度的细胞培养箱中过夜。给予受试物处理。处理完毕后先观察细胞的形态和数量上的变化, 之后每孔加入 100  $\mu$ L 无血清的 DMEM 完全培养基, 再加入 10  $\mu$ L CCK-8 试剂, 37 °C 孵育 1~2 h 后, 用全自动酶标仪测定各孔的吸光度 OD 值(实验波长为 450 nm)。以对照孔吸光度值(AC)为参照, 根据各处理组样本孔的吸光度值(AT), 计算细胞活力和抑制率。

1.5 免疫细胞化学和细胞免疫荧光 分离肝星状细胞, 按  $(2\sim4) \times 10^5$  个/毫升, 接种到赖氨酸包被的盖玻片上, 细胞处理完毕后, 用甲醇固定, Triton X-100 透化, 用 1% BSA 封闭, 用一抗孵育过夜后, 二抗室温孵育 1 h, 按照 DAB 显色试剂盒配制 DAB 染色液, 显微镜下对切片进行染色, 在镜下看到变色即可停止染色, PBS 清洗 10 min, 苏木精染核 5 min, 自来水冲洗 10 min, 脱水透明, 中性树胶封片。免疫荧光采用荧光二抗, DAPI 染色后封片, 荧光显微镜下观察。

1.6 Western blot 将细胞用 PBS 清洗 2 次, 刮取细胞, 2 000 r/min 离心 10 min, 加入细胞裂解液, 吹打混匀, 将样本放置在冰上裂解, 裂解结束后 4 °C 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清-80 °C 保存。将细胞蛋白浓度定量到 2  $\mu$ g/ $\mu$ L 数值, 加入 4 $\times$ 蛋白上样缓冲液

(LDS), 80 °C 金属浴变性 5 min。采用 10% Bis-Tris 预制胶跑胶。按照“三明治”结构方式组装转膜夹, 转膜结束后, 用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 一抗 4 °C 摇床孵育过夜。加入二抗常温孵育 1 h, 滴加 ECL 显影液显影, 用 Image J 分析条带灰度值, 用目的条带灰度值进行分析。

1.7 荧光定量 RT-PCR 取培养细胞, 加入 1 mL Trizol, 打碎吹匀。加入 200  $\mu$ L 氯仿, 剧烈震荡 30 s, 充分混匀后室温静置 5 min, 出现分层后, 4 °C 12 000 r/min 离心 15 min。取上层液体, 加入 400  $\mu$ L 的异丙醇, 12 000 r/min 离心 15 min。加入 1 mL 75% 冰乙醇重悬 RNA 沉淀, 4 °C, 12 000 r/min 离心 10 min。离心后弃上清, 加入 100  $\mu$ L RNase-free 水充分溶解 RNA。利用 Takara 逆转录试剂盒进行单链 cDNA 的合成, 将样品统一稀释成 0.5 g/L 的浓度, 配置 20  $\mu$ L 体系, 充分混匀后, 37 °C 加热 15 min, 95 °C, 5 s 灭活逆转录酶。配成 PCR 反应液, 总量为 5  $\mu$ L。引物序列见表 1; 先用排枪加引物混合液 1  $\mu$ L, 再加 cDNA 与 SYBR Green 的混合液。反应条件: 94 °C 预变性 2 min, 然后按 94 °C 30 s, 65 °C 1 min 在实时荧光定量 PCR 仪器 V7 上进行 39 个循环, 结果采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  值进行分析。

表 1 试验中采用的引物序列

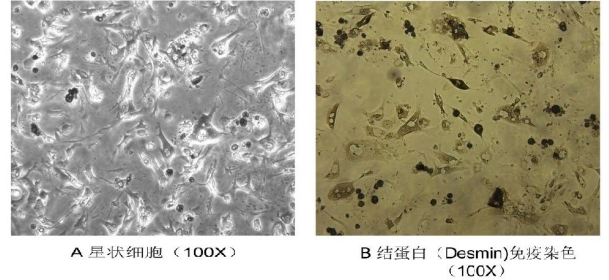
基因名称	引物序列(5'-3')
actin, beta	Forward primer: GCAGGAGTACGATGAGTCCG
	Reverse primer: ACGCAGCTCAGTAACAGTCC
a-SMA	Forward primer: CCATCATGCGCTCGACTT
	Reverse primer: GGCAGTAGTCACGAAGGAATAG

1.8 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行分析, 多组资料间比较采用方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 肝星状细胞分离培养 按照分离步骤成功分离

小鼠肝星状细胞, 24 h 贴壁后观察细胞, 胞浆透亮富含脂滴, 在培养过程中细胞伸出伪足(见图 1A), 采用星状细胞特异性的表达蛋白 Desmin 抗体检测星状细胞的纯度(见图 1B), 绝大部分细胞呈阳性, 纯度达到 95% 以上。



A. 正常培养条件下原代 HSC 的状态;  
B. Desmin 抗体免疫组化分析纯度。

图 1 原代 HSC 培养及鉴定

2.2 乙醇的细胞毒性和 DIM 的有效工作浓度的确定

原代 HSC 暴露乙醇 24 h 后, 从 200 mM 开始, 随着乙醇浓度的增高, HSC 的存活率逐渐下降; 当乙醇浓度在 800 mM 时, HSC 细胞的存活率为对照的 70% ( $P < 0.05$ ); 暴露 48 h 后, 从 200 mM 开始, HSC 的存活率开始下降到 81% ( $P < 0.05$ ), 当浓度在 800 mM 时, HSC 的存活率为 50% ( $P < 0.05$ ); 暴露 72 h 后, 100 mM 的浓度也引起细胞活力的下降, 到 90% ( $P < 0.05$ ); 因此在 50 mM 的浓度下, 乙醇对 HSC 的毒性较小, 染毒浓度确定为 50 mM, 见图 2。高剂量的 DIM 对 HSC 也有一定的细胞毒性, 图 2 所示, 暴露 DIM 24 h 和 48 h 后, 从 20  $\mu$ M 开始出现增殖抑制, 暴露 72 h 后, 20  $\mu$ M 出现较为显著的毒性, 增殖率为对照的 95% ( $P < 0.05$ ), 结果表明在  $< 20 \mu$ M 的浓度范围内, DIM 对 HSC 的毒性较小, 细胞存活率在 95% 以上, 所以确定 10  $\mu$ M 作为 DIM 的有效工作浓度。

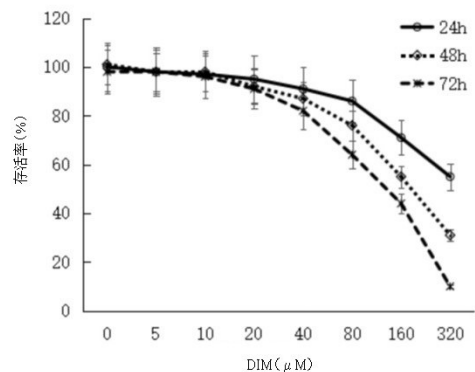
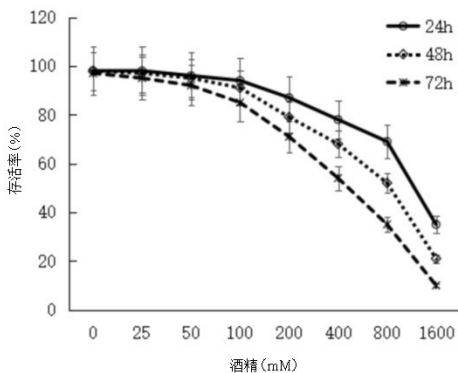


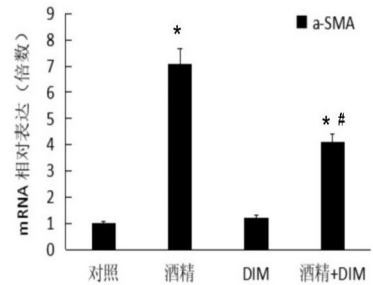
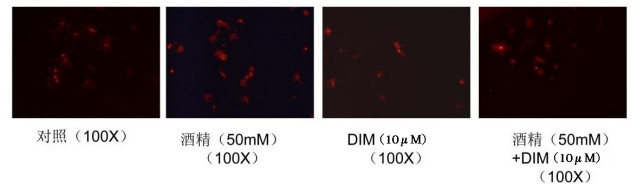
图 2 乙醇和 DIM 对 HSC 增殖的影响(与对照组相比)

### 2.3 DIM 对乙醇诱导 HSC 活化后标志物的影响

A-SMA 是星状细胞激活的标志蛋白,通过检测乙醇暴露后对星状细胞的 a-SMA 水平的影响,来观察乙醇对星状细胞的激活作用,结果见图 3。通过 a-SMA 的免疫荧光可以看到 50 mM 乙醇处理后,明显增加了 a-SMA 的含量,同样,QPCR 的结果也显示,乙醇暴露诱导 HSC 中 a-SMA 的水平增加了 7 倍多( $P < 0.01$ )。而单独 DIM 的暴露对 a-SMA 的水平无显著的影响。但 DIM 显著缓解了乙醇诱导的 a-SMA 的水平如图 3 所示,QPCR 的结果也证实,DIM 和乙醇联合处理后,a-SMA 的水平比乙醇单独处理组降低了 50%。

### 2.4 DIM 抑制乙醇诱导星状细胞活化的机制探讨

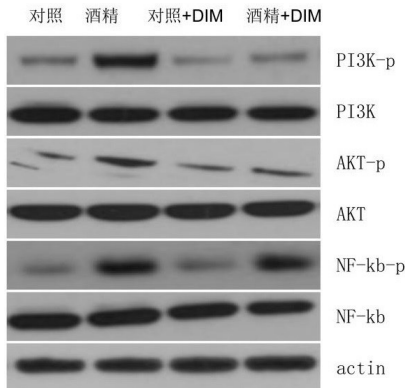
PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B 信号通路在肝纤维化形成过程中起着重要的作用,乙醇单独暴露后,明显增加了 PI3K、AKT 和 NF- $\kappa$ B 的磷酸化水平( $P < 0.05$ ),对总的蛋白水平影响不大,见图 4。DIM 单独处理对 PI3K、AKT 和 NF- $\kappa$ B 的磷酸化水平和总的蛋白水平影响不大。DIM 和乙醇联合处理后,与乙醇单独处理组相比



\* 表示乙醇组与对照组相比,  $n = 3$ ,  $P < 0.05$ ; # 表示乙醇+DIM 组与单纯乙醇组相比,  $n = 3$ ,  $P < 0.05$ 。

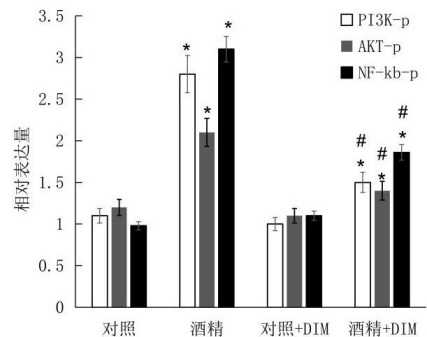
图 3 DIM 对乙醇诱导 HSC 活化后 a-SMA 表达水平的影响

明显降低了 PI3K、AKT 和 NF- $\kappa$ B 的磷酸化水平( $P < 0.05$ ),对总的蛋白水平影响不大,见图 4。



\* 表示乙醇组与对照组相比,  $n = 3$ ,  $P < 0.05$ ; # 表示乙醇+DIM 组与单纯乙醇组相比,  $n = 3$ ,  $P < 0.05$ 。

图 4 DIM 和乙醇暴露后对 HSC 中 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B 信号通路的影响



## 3 讨论

酒精性肝硬化是 ALD 病程中重要的病理改变,肝星状细胞在其中起着重要作用,乙醇暴露能够引起肝细胞损伤之外,还能够激活星状细胞,成为分泌  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白的收缩肌成纤维细胞,并在肝脏受损部位大量活化增殖,引起肝硬化<sup>[5-7]</sup>。因此,通过抑制星状细胞的活化和增殖可逆转肝纤维化的发生发展。本实验结果也显示乙醇暴露后,引起星状细胞形态改变,a-SMA 表达增加并向成纤维细胞分化。研究发现 DIM 作为一种具有生物功能的植物化学物能够抑制炎症,调节免疫,抑制肿瘤细胞增殖<sup>[8-10]</sup>,本研究发现 DIM 还能够抑制乙醇诱导的星状细胞的激活,降低了 a-SMA 的表达水平。表明 DIM 能够作为一种改善酒精诱导肝纤维化的候选药物之一。

研究表明 PI3K/AKT 信号途径在肝星状细胞的

生长、增殖和分化及激活过程中起重要的调控作用<sup>[11-13]</sup>。体外实验发现活化的星状细胞中 PI3K/AKT 信号通路被明显激活,给予 PI3K/AKT 通路抑制剂后,能显著抑制星状细胞增殖分化,降低 a-SMA 等活化星状细胞标志蛋白的表达<sup>[14]</sup>。此外,PI3K/AKT 信号通路通过直接或间接调控细胞凋亡相关分子或蛋白的表达,参与细胞凋亡的调控<sup>[15]</sup>。本研究发现乙醇暴露后激活了 PI3K/AKT 信号通路,因此可以推断乙醇可能通过 PI3K/AKT 信号通路,促进了星状细胞增殖,诱导星状细胞激活,而 DIM 能够抑制乙醇诱导的 PI3K/AKT 的激活,因此可以推断 DIM 可能通过此通路来逆转肝纤维化。NF- $\kappa$ B 是一种重要的核转录因子,参与多种生理和病理过程的调控。当细胞受到各种因素刺激后,引起 NF- $\kappa$ B 活化,并发生胞核胞浆的转移,进而激活 NF- $\kappa$ B 信号通路。NF- $\kappa$ B 信号

通路激活后,可激活单核巨噬细胞,进一步增力炎症细胞因子的分泌,并同时激活星状细胞,诱发并加重肝纤维化<sup>[16-17]</sup>。在使用通路特异性抑制剂抑制 NF- $\kappa$ B 通路的激活后,能够显著抑制活化星状细胞增殖、诱导星状细胞凋亡。AKT 通过 PI3K 的磷酸化调控后,进一步磷酸化下游信号的传导细胞因子 IKKs。IKK 属于丝/苏氨酸蛋白激酶复合体,非激活状态下,NF- $\kappa$ B 与 I $\kappa$ B 结合存在于胞质中,当上游信号通路激活 IKK 活化后,活化的 IKK 可通过泛素化或磷酸化激活 I $\kappa$ B,使之与 NF- $\kappa$ B 解离入核发挥生物效应<sup>[18]</sup>。本研究发现乙醇暴露后激活了 NF- $\kappa$ B 信号通路,因此可以推断乙醇可能通过 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B 信号通路,促进了星状细胞增殖,诱导星状细胞激活,而 DIM 能够抑制乙醇诱导的 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B 的激活,因此可以推断 DIM 可能通过此通路来逆转肝纤维化。

本研究发现,DIM 对乙醇诱导的星状细胞激活的抑制作用可能与抑制 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B 通路的信号传导有关。初步阐明了在体外水平 DIM 的抗酒精诱导的肝纤维化作用,为其治疗肝纤维化提供实验依据和理论支持。

#### 参考文献:

- [1] PATEL R, MUELLER M. Alcoholic Liver Disease[M]. Statpearls, 2022. PMID:20223, 1536239.
- [2] ARAB J P, CABRERA D, SEHRAWAT T S, et al. Hepatic stellate cell activation promotes alcohol-induced steatohepatitis through Igfbp3 and SerpinA12[J]. J Hepatol, 2020, 73(1):149-160.
- [3] RAMAKRISHNA K, SINGH N, KRISHNAMURTHY S. Diindolylmethane ameliorates platelet aggregation and thrombosis: In silico, in vitro, and in vivo studies[J]. Eur J Pharmacol, 2022, 919:174812.
- [4] WILLIAMS D E. Indoles Derived From Glucobrassicin: Cancer Chemoprevention by Indole-3-Carbinol and 3, 3'-Diindolylmethane[J]. Front Nutr, 2021, 8:734334.
- [5] ALTAMIRANO-BARRERA A, BARRANCO-FRAGOSO B, MENDEZ-SANCHEZ N. Management strategies for liver fibrosis[J]. Ann Hepatol, 2017, 16(1):48-56.
- [6] PAGE A, PAOLI P P, HILL S J, et al. Alcohol directly stimulates epigenetic modifications in hepatic stellate cells [J]. J Hepatol, 2015, 62(2):388-397.
- [7] SEKI E, BRENNER D A. Recent advancement of molecular mechanisms of liver fibrosis[J]. J Hepatobiliary Pancreat Sci, 2015, 22(7):512-518.
- [8] MUNAKARMI S, CHAND L, SHIN H B, et al. Indole-3-Carbinol Derivative DIM Mitigates Carbon Tetrachloride-Induced Acute Liver Injury in Mice by Inhibiting Inflammatory Response, Apoptosis and Regulating Oxidative Stress[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(6):2048.
- [9] JIANG Y, FANG Y, YE Y, et al. Anti-Cancer Effects of 3, 3'-Diindolylmethane on Human Hepatocellular Carcinoma Cells Is Enhanced by Calcium Ionophore: The Role of Cytosolic Ca<sup>2+</sup> and p38 MAPK[J]. Front Pharmacol, 2019, 10:1167.
- [10] Li W X, Chen L P, Sun M Y, et al. 3,3'-Diindolylmethane inhibits migration, invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma by suppressing FAK signaling[J]. Oncotarget, 2015, 6(27):23776-23792.
- [11] CHEN Z, LIN Z, YU J, et al. Mitofusin-2 Restrains Hepatic Stellate Cells' Proliferation via PI3K/Akt Signaling Pathway and Inhibits Liver Fibrosis in Rats [J]. J Healthc Eng, 2022, 2022:6731335.
- [12] FANG B, WEN S, LI Y, et al. Prediction and verification of target of helenalin against hepatic stellate cell activation based on miR-200a-mediated PI3K/Akt and NF-kappaB pathways[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 92:107208.
- [13] ZHU L, CHENG M, LIU Y, et al. Thymosin-beta4 inhibits proliferation and induces apoptosis of hepatic stellate cells through PI3K/AKT pathway[J]. Oncotarget, 2017, 8(40):68847-68853.
- [14] OGAWA H, KAJI K, NISHIMURA N, et al. Lenvatinib prevents liver fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation and sinusoidal capillarization in experimental liver fibrosis [J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(8):4001-4013.
- [15] WANG R, SONG F, LI S, et al. Salvianolic acid A attenuates CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis by regulating the PI3K/AKT/mTOR, Bcl-2/Bax and caspase-3/cleaved caspase-3 signaling pathways[J]. Drug Des Devel Ther, 2019, 13:1889-1900.
- [16] CICEU A, BALTA C, HERMAN H, et al. Complexation with Random Methyl- $\beta$ -Cyclodextrin and (2-Hydroxypropyl)- $\beta$ -Cyclodextrin Enhances In Vivo Anti-Fibrotic and Anti-Inflammatory Effects of Chrysin via the Inhibition of NF-kappaB and TGF- $\beta$ 1/Smad Signaling Pathways and Modulation of Hepatic Pro/Anti-Fibrotic miRNA [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(4):1869.
- [17] DE SOUZA BB, HAUTE G V, ORTEGA-RIBERA M, et al. Methoxyeugenol deactivates hepatic stellate cells and attenuates liver fibrosis and inflammation through a PPAR- $\gamma$  and NF- $\kappa$ B mechanism[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 280:114433.
- [18] DAVOUDI Z, AKBARZADEH A, RAHMATIYAMCHI M, et al. Molecular target therapy of AKT and NF- $\kappa$ B signaling pathways and multidrug resistance by specific cell penetrating inhibitor peptides in HL-60 cells[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(10):4353-4358.

收稿日期:2022-03-15;修回日期:2022-04-13