

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.09.002

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20191217.1006.002.html>(2019-12-17)

## 脂氧素 A4 对 TGF- $\beta$ 1 诱导的人肺成纤维细胞增殖、分化的影响及机制\*

王亚群<sup>1,2</sup>, 饶胜芳<sup>3</sup>, 周晓燕<sup>1</sup>, 黄永红<sup>1 $\Delta$</sup> 

(1. 南昌大学基础医学院病理生理教研室 330006; 2. 南昌大学研究生院 330031;

3. 南昌大学医院核医学科 330006)

**[摘要]** **目的** 探讨脂氧素 A4 对转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)诱导的人胚肺成纤维细胞(HFL-1)增殖、分化的影响及其分子机制。**方法** 将体外培养的 HFL-1 细胞分为 3 组,即对照组、TGF- $\beta$ 1 组、TGF- $\beta$ 1+脂氧素 A4 组(联合组)。采用细胞计数试剂盒检测 24、48、72 h 时各组细胞增殖能力;实时荧光定量 PCR 和 Western blot 法分别观察各组细胞  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)、I 型胶原蛋白(COL-1)的 mRNA 和蛋白表达水平;Western blot 法检测磷酸化核因子 E2 相关因子 2(p-Nrf2)、总 Nrf2 及其下游抗醌氧化还原酶 1(NQO1)、血红素氧合酶-1(HO-1)的蛋白表达水平。**结果** 与对照组比较,TGF- $\beta$ 1 组在 24、48、72 h 时细胞的增殖能力均明显增强( $P < 0.05$ ), $\alpha$ -SMA、COL-1 的 mRNA 和蛋白表达水平均明显增加( $P < 0.01$ ),p-Nrf2、NQO1、HO-1 的蛋白表达水平均明显下调( $P < 0.05$ )。而与 TGF- $\beta$ 1 组比较,联合组在 24、48、72 h 时细胞的增殖能力均明显减弱( $P < 0.05$ ); $\alpha$ -SMA、COL-1 的 mRNA 和蛋白表达水平均明显降低( $P < 0.01$ ),p-Nrf2、NQO1、HO-1 的蛋白表达水平均明显升高( $P < 0.05$ )。**结论** 脂氧素 A4 可抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的 HFL-1 细胞的增殖与分化,且该作用可能是通过调节 Nrf2 通路而实现。

**[关键词]** 脂氧素 A4;肺成纤维细胞;核因子 E2 相关因子 2;细胞增殖;细胞分化**[中图法分类号]** R310.4710**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2020)09-1381-06

## Effect of lipoxin A4 on transformation growth factor beta-1-induced proliferation and differentiation in human lung fibroblasts and its mechanism\*

WANG Yaquin<sup>1,2</sup>, RAO Shengfang<sup>3</sup>, ZHOU Xiaoyan<sup>1</sup>, HUANG Yonghong<sup>1 $\Delta$</sup> 

(1. Department of Pathophysiology, Basic Medical College of Nanchang University,

Nanchang, Jiangxi 330006, China; 2. Graduate College of Nanchang University,

Nanchang, Jiangxi 330031, China; 3. Department of Nuclear Medicine, Nanchang

University Hospital, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of lipoxin A4 on the transformation growth factor beta-1 (TGF- $\beta$ 1)-induced proliferation and differentiation in human embryonic lung fibroblast (HFL-1) and its mechanism. **Methods** The in vitro cultured human embryonic lung fibroblasts HFL-1 were divided into three groups, including the control group, TGF- $\beta$ 1 group and TGF- $\beta$ 1+lipoxin A4 group(combined group). The cellular proliferative ability in each group was detected by adopting the cell counting kit at 24, 48, 72 h respectively. The mRNA and protein expression of  $\alpha$ -SMA and type I collagen (COL-1) in each group were observed by adopting the fluorescent quantitative real-time PCR and Western blot methods. The protein expression of phosphorylated Nrf2 (p-Nrf2), total Nrf2 and its downstream quinone-resistant oxidoreductase 1(NQO1) and heme oxygenase -1(HO-1) were detected by using Western blot. **Results** Compared to the control group, the cellular proliferative ability of HFL-1 cells in the TGF- $\beta$ 1 group was significantly increased ( $P < 0.05$ ). Moreover, the mRNA and protein expression levels of  $\alpha$ -SMA and COL-1 were increased ( $P < 0.01$ ), but the p-Nrf2, NQO1 and HO-1 protein expression levels in the TGF- $\beta$ 1 group were down-regulated ( $P < 0.05$ ). Compared with TGF- $\beta$ 1 group, the proliferation capacity of cells at 24, 48, 72 h in the combination group was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). The mRNA and protein expression levels of  $\alpha$ -SMA and COL-1 were significantly

\* 基金项目:国家自然科学基金项目(81660163);江西省自然科学基金项目(20151BAB205002, 20161BAB205205);江西省卫生和计划生育委员会中医药科研课题(2016A059)。 作者简介:王亚群(1992-), 硕士, 主要从事肺纤维化方面的研究。  $\Delta$  通信作者, E-mail: yh-huang0710@163.com。

decreased ( $P < 0.01$ ), while protein expression levels of p-nrf2, NQO1 and ho-1 were significantly increased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Lipoxin A4 can inhibit TGF- $\beta$ 1-induced proliferation and differentiation of HFL-1 cells, moreover this effect may be realized by regulating Nrf2 pathway.

**[Key words]** lipoxin A4; lung fibroblast; nuclear factor E2-related factor 2; cell proliferation; cell differentiation

肺纤维化是一种严重的慢性肺间质性疾病,发病率呈逐年上升趋势,目前尚无有效的治疗方法<sup>[1]</sup>。肺纤维化的病理特征主要表现为:成纤维细胞异常活化增殖,分化为肌成纤维细胞,肺组织中出现大量细胞外基质沉积,致使肺结构和功能严重受损。可见,肺成纤维细胞在肺纤维化中扮演着极为重要的角色<sup>[2]</sup>,干预成纤维细胞的增殖和分化可能是防治肺纤维化的重要途径。

转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)是成纤维细胞活化的强力诱导因子,是组织纤维化发生与发展的重要调控因子<sup>[3]</sup>。脂氧素是一类具有三羟四烯结构的花生四烯酸代谢产物,主要有脂氧素 A4、脂氧素 B4、15-epi-脂氧素 A4 和 15-epi-脂氧素 B4 等。现已证实,脂氧素在机体的抗炎及促炎消退方面具有重要作用<sup>[4-5]</sup>。而组织纤维化是慢性炎症的重要病理转归,故近年有较多研究围绕脂氧素在组织纤维化中的作用进行探讨<sup>[6-8]</sup>。本课题组前期研究已证实,脂氧素 A4 及其受体激动剂 5S,6R-7-三羟基庚酸甲酯(BML-111)在肝纤维化、急性肺损伤中发挥重要作用<sup>[9-11]</sup>。基于此,本研究以人胚肺成纤维细胞(HFL-1)为研究对象,采用 TGF- $\beta$ 1 诱导 HFL-1 细胞的增殖与分化,观察脂氧素 A4 对 HFL-1 细胞增殖与分化的影响,并探讨其机制,以期为肺纤维化的临床治疗提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 主要试剂

脂氧素 A4 购自美国 Cayman 公司;高糖 Dulbecco's 改良 Eagle 培养基(DMEM)和胰蛋白酶购自美国 Gibco 公司;进口胎牛血清购自德国 Serana 公司;兔抗人  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)抗体购自美国 Abcam 公司;兔抗人 I 型胶原蛋白(COL-1)抗体、兔抗人磷酸化核因子 E2 相关因子 2(p-Nrf2)抗体、兔抗人总 Nrf2、兔抗人醌氧化还原酶 1(NQO1)、兔抗人血红素氧合酶(HO-1)、小鼠抗人甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)均购自美国 Affinity 公司;硝酸纤维膜购自美国 Millipore 公司;脱脂奶粉购自美国 BD 公司;细胞计数试剂盒(CCK-8)、逆转录试剂盒、实时荧光

定量 PCR 试剂盒购自北京全式金生物技术公司;重组人 TGF- $\beta$ 1 购自美国 Sino Biological 公司;RIPA 裂解液和 Trizol 购自索莱宝生物技术公司;Bradford 蛋白定量试剂盒购自南京凯基生物技术公司;引物由上海生工生物工程有限公司合成;其他常用试剂均为国产分析纯试剂。

#### 1.1.2 细胞培养与分组

HFL-1 细胞购自中国科学院上海细胞库,用含 6% 胎牛血清和 1% 青链霉素的高糖 DMEM 培养,置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度条件下的培养箱中。待细胞汇合度达 80%~90% 时,用 0.25% 含乙二胺四乙酸的胰蛋白酶消化后进行传代培养。实验用细胞为处于对数生长期且复苏后第 3~5 代细胞。将体外培养的 HFL-1 细胞分为 3 组,即对照组、TGF- $\beta$ 1 组和 TGF- $\beta$ 1+脂氧素 A4 组(联合组,先加入脂氧素 A4 预处理 30 min,再加入 TGF- $\beta$ 1 联合处理)。参照文献[12-13]方法,TGF- $\beta$ 1 终浓度为 10 ng/mL、脂氧素 A4 终浓度为 200 nmol/L。

## 1.2 方法

### 1.2.1 CCK-8 实验

将 HFL-1 细胞接种于 96 孔板,待细胞汇合度为 30%~50% 时按分组进行相应给药处理,每组设 6 个复孔。按照 CCK-8 说明书分别于 24、48、72 h 向每孔中加入 CCK-8 溶液,并于 2 h 后用多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司)测定波长 450 nm 处吸光度值( $A_{450 \text{ nm}}$ )。

### 1.2.2 实时荧光定量 PCR 实验

Trizol 提取各组细胞总 RNA,核酸定量分析仪测定 RNA 的纯度和浓度。按照逆转录试剂盒说明书将 RNA 逆转录为 cDNA。 $\alpha$ -SMA、COL-1 和 GAPDH 引物序列见表 1。PCR 体系:cDNA 1  $\mu$ L, SYBR Green 8  $\mu$ L,引物 1  $\mu$ L。扩增条件:94 °C 预变性 2 min,94 °C 变性 30 s,57 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,共 40 个循环。以 GAPDH mRNA 为内参。采用下列公式计算:目的基因 mRNA 的相对表达 =  $2^{-\Delta\Delta CT}$ ,其中 CT 为循环数。

表 1 各目的基因的引物序列

目的基因	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')
GAPDH	CTT TGT CAA GCT CAT TTC CTG GTA	GGC CAT GAG GTC CAC CA
$\alpha$ -SMA	AGC GTG GCT ATT CCT TCG T	CTC ATT TTC AAA GTC CAG AGC TAC A
COL-1	AAC CAA GGC TGC AAC CTG GA	GGC TGA GTA GGG TAC ACG CAG G

### 1.2.3 Western blot 实验

RIPA 裂解液裂解各组细胞,提取细胞总蛋白,Bradford 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。取总蛋白 20 μg/孔依次进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)、转膜,5%脱脂奶粉室温封闭 1 h;加入对应一抗:α-SMA (1 : 1 000)、COL-1(1 : 500)、p-Nrf2 (1 : 500)、总 Nrf2 (1 : 500)、NQO1 (1 : 1 000)、HO-1 (1 : 1 000)、GAPDH (1 : 1 000),4 ℃ 孵育过夜,辣根过氧化物酶标记二抗室温孵育 1 h, BioRad 凝胶成像仪曝光,软件分析各目的蛋白的相对表达量。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS19.0 统计软件对数据进行分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,各组均数比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 各组细胞增殖能力( $A_{450\text{nm}}$ )比较

CCK-8 实验显示,TGF-β1 组  $A_{450\text{nm}}$  在 24、48、72 h 均明显大于对照组 ( $P < 0.05$ );而联合组  $A_{450\text{nm}}$  在 24、48、72 h 均明显小于 TGF-β1 组 ( $P < 0.05$ ),见表 2。

表 2 CCK-8 法检测各组细胞的增殖活性( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

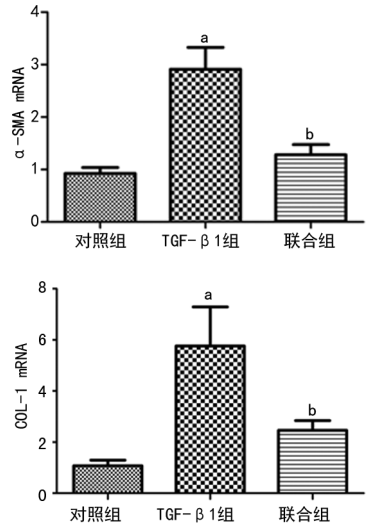
组别	24 h	48 h	72 h
对照组	0.45 ± 0.04	0.61 ± 0.15	0.69 ± 0.07
TGF-β1 组	0.62 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.20 ± 0.03 <sup>b</sup>	1.94 ± 0.05 <sup>b</sup>
联合组	0.51 ± 0.04 <sup>c</sup>	0.64 ± 0.04 <sup>d</sup>	0.79 ± 0.05 <sup>d</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , <sup>b</sup>:  $P < 0.01$  与同时时间点对照组比较; <sup>c</sup>:  $P < 0.05$ , <sup>d</sup>:  $P < 0.01$  与同时时间点 TGF-β1 组比较。

### 2.2 各组细胞 α-SMA 和 COL-1 mRNA 表达水平

比较

与对照组比较,TGF-β1 组 α-SMA 和 COL-1 mRNA 表达水平均明显增加 ( $P < 0.01$ ),但联合组 α-SMA 和 COL-1 mRNA 表达水平均明显低于 TGF-β1 组 ( $P < 0.01$ ),见图 1。

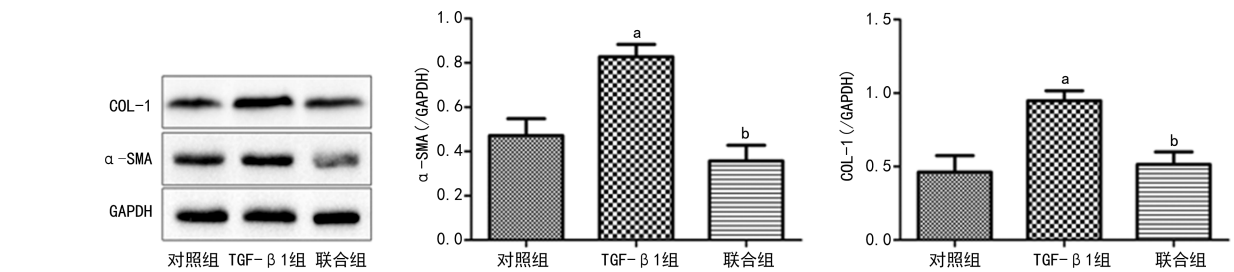


<sup>a</sup>:  $P < 0.01$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.01$ , 与 TGF-β1 组比较。

图 1 各组细胞 α-SMA 和 COL-1 mRNA 的相对表达水平比较

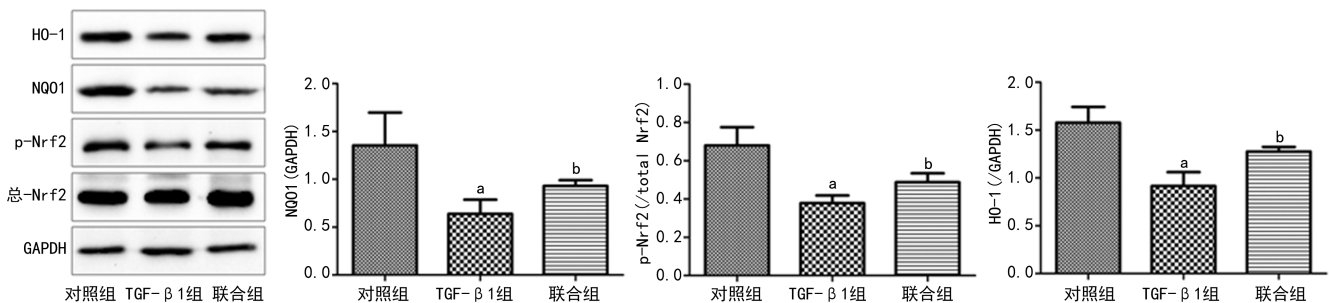
### 2.3 各组细胞 α-SMA 和 COL-1 蛋白表达水平的比较

与对照组比较,TGF-β1 组 α-SMA 和 COL-1 的蛋白表达水平均明显增强 ( $P < 0.01$ ),而联合组 α-SMA 和 COL-1 的蛋白表达水平较 TGF-β1 组均明显降低 ( $P < 0.01$ ),见图 2。



<sup>a</sup>:  $P < 0.01$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.01$ , 与 TGF-β1 组比较。

图 2 各组细胞 COL-1 和 α-SMA 蛋白的相对表达水平比较



<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与 TGF-β1 组比较。

图 3 各组细胞 p-Nrf2、NQO1 和 HO-1 蛋白的相对表达水平比较



## 2.4 各组细胞 p-Nrf2、NQO1 和 HO-1 蛋白表达水平比较

与对照组比较, TGF- $\beta$ 1 组 p-Nrf2、NQO1 和 HO-1 的蛋白表达水平均降低 ( $P < 0.05$ ), 而联合组 p-Nrf2、NQO1 和 HO-1 的蛋白表达水平较 TGF- $\beta$ 1 组均增强 ( $P < 0.05$ ), 见图 3。

## 3 讨 论

成纤维细胞是肺结缔组织中的主要细胞, 多种细胞因子可刺激成纤维细胞激活。活化的成纤维细胞可成倍增殖, 并分化为肌成纤维细胞<sup>[3]</sup>; 后者特征性地表达  $\alpha$ -SMA, 且分泌细胞外基质的能力较前者高出 4~5 倍。肺纤维化时, 肺成纤维细胞活化、细胞外基质失衡、胶原蛋白异常沉积, 致使肺组织发生结构和功能损害。故肺成纤维细胞增殖并分化为肌成纤维细胞是肺纤维化发生的关键性始发事件, 适时有效逆转成纤维细胞的分化, 可减轻肺组织的异常纤维化, 改善肺功能。

### 3.1 脂氧素抑制 TGF- $\beta$ 1 介导的促成纤维细胞分化

TGF- $\beta$ 1 是组织损伤修复与纤维化过程中关键的诱导因子。TGF- $\beta$ 1 不仅能诱导成纤维细胞分化, 促进其高表达  $\alpha$ -SMA, 增加细胞外基质的分泌和胶原蛋白的沉积, 还能诱导上皮细胞发生间充质转化, 促进组织纤维化或肿瘤转移的发生<sup>[14]</sup>。本研究发现, TGF- $\beta$ 1 体外能有效诱导 HFL-1 的增殖并上调  $\alpha$ -SMA 和 COL-1 的表达, 表明 TGF- $\beta$ 1 是 HFL-1 细胞分化的重要诱导因子, 这与许多其他研究的结果相类似<sup>[3, 15-16]</sup>。脂氧素被誉为内源性炎症的“刹车信号”, 在抗感染、促炎症消退等方面具有重要的作用。此外, 脂氧素能抑制或减轻实验性肾脏、肺脏和肝脏的纤维化<sup>[6-8]</sup>。本课题组前期研究发现, 脂氧素 A4 受体激动剂 BML-111 能减轻四氯化碳诱导的大鼠肝脏损伤和胶原蛋白沉积的程度<sup>[9]</sup>。脂氧素 A4 可减轻肾纤维化大鼠细胞外基质的过度沉积<sup>[7]</sup>, 其合成异构体可以减轻博来霉素诱导的肺纤维化程度<sup>[17]</sup>, 但脂氧素减轻肺纤维化的分子机制尚未明确。本研究以 HFL-1 细胞为研究对象, 证实脂氧素 A4 体外能明显抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的 HFL-1 细胞的增殖, 降低 TGF- $\beta$ 1 诱导的  $\alpha$ -SMA 和 COL-1 的表达, 提示脂氧素 A4 可能通过抑制肺成纤维细胞的增殖与分化, 减少细胞外基质的分泌而发挥其抗肺纤维化的作用。

有研究证实, TGF- $\beta$  主要通过 Smad 依赖性通路增加细胞外基质的合成, 加速组织发生纤维化<sup>[18-19]</sup>。TGF- $\beta$  与其相应的受体结合后激活下游转录因子 Smad2/3, 后者转位至细胞核调控靶基因的转录。JI 等<sup>[18]</sup> 研究显示, BML-111 不仅能减轻 TGF- $\beta$ 1 诱导的 NIH3T3 细胞分泌  $\alpha$ -SMA、fibronectin 和总胶原蛋白量, 而且能抑制 Smad2/3 的磷酸化和核转位。此外, 脂氧素 A4 靶向 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路不仅能抑制糖尿病大鼠的肾脏纤维化<sup>[19]</sup>, 而且能抑制胰腺星状

细胞的分化<sup>[20]</sup>。但 ROACH 等<sup>[21]</sup> 报道脂氧素 A4 虽然能抑制 TGF- $\beta$ 1 依赖性的促纤维化作用, 但并不影响其下游 Smad2/3 的磷酸化。因此, 脂氧素 A4 通过何种机制影响 TGF- $\beta$ 1 介导的生物学事件, 还有待深入研究。

### 3.2 脂氧素通过 Nrf2 通路抑制成纤维细胞增殖、分化

Nrf2 是新近发现的一种转录因子, 在氧化应激反应中起着核心调控作用<sup>[22]</sup>。各种损伤刺激均可直接或间接使 Nrf2 磷酸化而激活, 通过识别抗氧化反应元件 (ARE), 启动 II 相解毒酶和抗氧化酶基因如 HO-1、NQO1 等的转录, 参与调控包括炎症、纤维化、自噬和凋亡等多种生物学事件<sup>[23-24]</sup>。SRIRAM 等<sup>[25]</sup> 研究显示, 表没食子儿茶素能激活 Nrf2, 促进 NQO1 的表达, 从而抑制博来霉素诱导的大鼠肺纤维化。本研究发现, TGF- $\beta$ 1 下调 p-Nrf2 及抗氧化酶 NQO1、HO-1 的表达, 提示 TGF- $\beta$ 1 处理 HFL-1 细胞后其抗氧化作用减弱。SONG 等<sup>[26]</sup> 研究发现, Nrf2 高表达抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的系膜细胞 fibronectin、 $\alpha$ -SMA 表达和 Smad2/3 磷酸化, 增加 Smad7 的表达; Nrf2 的活化剂甲基巴多酮不仅体外减少细胞外基质和 Smad7 表达的增加, 而且能减轻马兜铃酸诱导的小鼠肾小管坏死和间质纤维化, 增强肾组织中 Nrf2 和 Smad7 的表达, 表明 Nrf2-Smad 信号轴在保护 TGF- $\beta$ 1 诱导的肾纤维化中发挥重要作用。在本研究中, 作者发现脂氧素 A4 不仅能抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的 HFL-1 细胞增殖与分化, 而且能促进 Nrf2 的活化及其下游 NQO1、HO-1 的表达, 提示脂氧素 A4 的抑制作用可能是通过调控 Nrf2 信号通路实现的。

研究发现, Nrf2 能通过调节氧化应激而调控细胞的增殖与分化<sup>[27-28]</sup>。如增殖相关基因 p21、p15 均被证实为 Nrf2 的靶基因, 参与 Nrf2 介导的细胞周期阻滞<sup>[27]</sup>; 而 Nrf2 是细胞由 G<sub>2</sub> 期向 M 期转换所必需的转录因子<sup>[28]</sup>, 且 Nrf2 还可抑制破骨细胞和成骨细胞的分化<sup>[29-30]</sup>。同时, 脂氧素 A4 活化 Nrf2 能减轻肠道、大脑和肺脏等多个器官的损伤<sup>[31-33]</sup>。这些研究提示, 脂氧素 A4 抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的 HFL-1 细胞的增殖和分化, 可能是通过调节 Nrf2 通路而实现。

综上所述, 本研究结果表明, 脂氧素 A4 通过上调 Nrf2 及其下游抗氧化酶 NQO1、HO-1 的表达, 抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的肺成纤维细胞增殖与分化。鉴于肺成纤维细胞的增殖与分化在肺纤维化过程中扮演重要的角色, 本研究将为脂氧素用于抗肺纤维化的治疗提供新的理论依据和实验基础。但脂氧素 A4 调控 Nrf2 通路影响肺成纤维细胞的增殖与分化的机制比较复杂, 其下游哪些相关基因参与该过程, 仍需深入研究, 同时脂氧素 A4 调控肺成纤维细胞的增殖与分化抑制肺纤维化的作用也需在动物水平进一步验证。

## 参考文献

- [1] 王柳盛,李惠萍. 中国大陆间质性肺疾病流行病学资料及研究进展[J]. 中华内科杂志,2014,53(8):652-654.
- [2] HUANG C Q, XIAO X, YANG Y, et al. MicroRNA-101 attenuates pulmonary fibrosis by inhibiting fibroblast proliferation and activation[J]. *J Biol Chem*,2017,292(40):16420-16439.
- [3] NARIKAWA M, UMEMURA M, TANAKA R, et al. Acute hyperthermia inhibits TGF-beta 1-induced cardiac fibroblast activation via suppression of Akt signaling[J]. *Sci Rep*,2018,8(1):6277.
- [4] RUSSELL C D, SCHWARZE J. The role of pro-resolution lipid mediators in infectious disease[J]. *J Immunol*,2014,141(2):166-173.
- [5] KAIN V, LIU F, KOZLOVSKAYA V, et al. Resolution agonist 15-epi-Lipoxin A (4) programs early activation of resolving phase in Post-Myocardial infarction healing[J]. *Sci Rep*,2017,7(1):9999-10013.
- [6] URBACH V, HIGGINS G, BUCHANAN P, et al. The role of Lipoxin A4 in cystic fibrosis lung disease[J]. *Comput Struct Biotech J*,2013,6(7):1-5.
- [7] BORESON E, DOCHERTY N G, MURPHY M, et al. Lipoxin A4 and benzo-lipoxin A4 attenuate experimental renal fibrosis[J]. *FASEB J*,2011,25(9):2967-2979.
- [8] HIGGINS G, TORRE C F, TYRRELL J, et al. Lipoxin a(4) prevents tight junction disruption and delays the colonization of cystic fibrosis bronchial epithelial cells by pseudomonas aeruginosa[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*,2016,310(11):L1053-1061.
- [9] HU Q D, HU Z Z, CHEN Q F, et al. BML-111 equilibrated ACE-AngII-AT1R and ACE2-Ang-(1-7)-Mas axis to protect hepatic fibrosis in rats[J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*,2017,131:75-82.
- [10] CHEN Q F, HAO H, KUANG X D, et al. BML-111, a lipoxin receptor agonist, protects against acute injury via regulating the renin angiotensin-aldosterone system[J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*,2019,140:9-17.
- [11] CHEN Q F, KUANG X D, YUAN Q F, et al. Lipoxin a(4) attenuates LPS-induced acute lung injury via activation of the ACE2-Ang-(1-7)-Mas axis [J]. *Innate Immun*,2018,24(5):285-296.
- [12] LI J, ZHANG W B, JIAO R, et al. DIM attenuates TGF-beta 1-induced myofibroblast differentiation in neonatal rat cardiac fibroblasts[J]. *Int J Clin Exp Pathol*,2015,8(5):5121-5128.
- [13] HAO H, XU F, HAO J, et al. Lipoxin a(4) suppresses Lipopolysaccharide-Induced Hela cell proliferation and migration via NF-kappa B pathway [J]. *Inflammation*,2015,38(1):400-408.
- [14] LU C C, SIDOLI S, KULEJ K, et al. Coordination between TGF-beta cellular signaling and epigenetic regulation during epithelial to mesenchymal transition[J]. *Epigenetics Chromatin*,2019,12(1):11-27.
- [15] ZONG J, ZHANG H, LI F F, et al. NLRP1 promotes TGF-beta-1-induced myofibroblast differentiation in neonatal rat cardiac fibroblasts [J]. *J Mol Histol*,2018,49(5):509-518.
- [16] WANG G, JIAO H, ZHENG J N, et al. HSP27 regulates TGF-beta mediated lung fibroblast differentiation through the Smad3 and ERK pathways[J]. *Int J Mol Med*,2017,39(1):183-190.
- [17] MARTINS V, VALENÇA S S, FARIAS-FILHO F A, et al. ATLa, an aspirin-triggered lipoxin A4 synthetic analog, prevents the inflammatory and fibrotic effects of bleomycin-induced pulmonary fibrosis[J]. *J Immunol*,2009,182(9):5374-5381.
- [18] JI Y D, LUO Z L, CHEN C X, et al. BML-111 suppresses TGF-beta1-induced lung fibroblast activation in vitro and decreases experimental pulmonary fibrosis in vivo[J]. *Int J Mol Med*,2018,42(6):3083-3092.
- [19] BAI Y, WANG J, HE Z, et al. Mesenchymal stem cells reverse diabetic nephropathy disease via lipoxin A4 by targeting transition growth factor beta (TGF-beta)/smad pathway and pro-inflammatory cytokines[J]. *Med Sci Monit*,2019,25:3069-3076.
- [20] SCHNITTERT J, HEINRICH M A, KUNIN-TY P R, et al. Reprogramming tumor stroma using an endogenous lipid lipoxin A4 to treat pancreatic cancer [J]. *Cancer Lett*,2018,420:247-258.
- [21] ROACH K M, FEGHALI-BOSTWICK C A, AMRANI Y, et al. Lipoxin A4 attenuates constitutive and TGF-beta1-dependent profibrotic activity in human lung myofibroblasts[J]. *J Immunol*,2015,195(6):2852-2860.
- [22] NGUYEN T, NIOI P, PICKETT C B. The Nrf2-

- antioxidant response element signaling pathway and its activation by oxidative stress[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(20):13291-13295.
- [23] YANG J J, TAO H, HU W, et al. MicroRNA-200a controls Nrf2 activation by target Keap1 in hepatic stellate cell proliferation and fibrosis[J]. *Cell Signal*, 2014, 26(11):2381-2389.
- [24] STEPkowski T M, KRUSZEWSKI M K. Molecular cross-talk between the NRF2/KEAP1 signaling pathway, autophagy, and apoptosis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2011, 50(9):1186-1195.
- [25] SRIRAM N, KALAYARASAN S, SUDHANDIRAN G. Epigallocatechin-3-gallate augments antioxidant activities and inhibits inflammation during bleomycin-induced experimental pulmonary fibrosis through Nrf2 - Keap1 signaling[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2009, 22(3):221-236.
- [26] SONG M K, LEE J H, RYOO I G, et al. Bardoxolone ameliorates TGF- $\beta$ 1-associated renal fibrosis through Nrf2/Smad7 elevation[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 138:33-42.
- [27] CHEN W, SUN Z, WANG X J, et al. Direct interaction between Nrf2 and p21 (Cip1/WAF1) upregulates the Nrf2-mediated antioxidant response[J]. *Mol Cell*, 2009, 34(6):663-673.
- [28] ZOU Y, HU M, LEE J, et al. Nrf2 is essential for timely M phase entry of replicating hepatocytes during liver regeneration[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2015, 308(4):G262-268.
- [29] PARK C K, LEE Y, KIM K H, et al. Nrf2 is a novel regulator of bone acquisition[J]. *Bone*, 2014, 63(1):36-46.
- [30] SUN Y X, XU A H, YANG Y, et al. Role of Nrf2 in bone metabolism[J]. *J Biomed Sci*, 2015, 22(1):101-107.
- [31] HAN X, YAO W F, LIU Z P, et al. Lipoxin a4 preconditioning attenuates intestinal ischemia reperfusion injury through Keap1/Nrf2 pathway in a lipoxin a4 receptor Independent manner[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016:9303606-9303617.
- [32] JIN W, JIA Y Q, HUANG L, et al. Lipoxin a (4) methyl ester ameliorates cognitive deficits induced by chronic cerebral hypoperfusion through activating ERK/Nrf2 signaling pathway in rats[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2014, 124:145-152.
- [33] CHENG X, HE S, YUAN J, et al. Lipoxin a4 attenuates LPS-induced mouse acute lung injury via Nrf2-mediated e-cadherin expression in airway epithelial cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2016, 93:52-66.

(收稿日期:2019-08-16 修回日期:2019-12-13)

(上接第 1380 页)

- Am J Clin Nutr*, 2003, 78(3):361-369.
- [9] SARASWAT K, RIZVI S I. Novel strategies for anti-aging drug discovery[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2017, 12(9):955-966.
- [10] MAIRBAEURL H, WEBER R E. Oxygen transport by hemoglobin[J]. *Compr Physiol*, 2012, 2(2):1463-1489.
- [11] SALVAGNO G L, SANCHIS-GOMAR F, PICANZA A, et al. Red blood cell distribution width: a simple parameter with multiple clinical applications[J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2015, 52(2):86-105.
- [12] ZELLER-PLUMHOFF B, DALY K R, CLOUGH G F, et al. Investigation of microvascular morphological measures for skeletal muscle tissue oxygenation by image-based modelling in three dimensions[J]. *J R Soc Interface*, 2017, 14(135):20170635.
- [13] SZUBSKI C, BURTSCHER M, LOSCHER W N. The effects of short-term hypoxia on motor cortex excitability and neuromuscular activation[J]. *Appl Physiol*, 2006, 101(6):1673-1677.
- [14] 肖国强. 健康体力运动对中老年人身体机能的影响[J]. *中国临床康复*, 2006, 10(8):129-131.
- [15] LYU A K, ZHU S Y, CHEN J L, et al. Inhibition of TLR9 attenuates skeletal muscle fibrosis in aged sarcopenic mice via the p53/SIRT1 pathway[J]. *Exp Gerontol*, 2019, 122(1):25-33.
- [16] NADKARNI N K, LEVINE B, MCILROY W E. Impact of subcortical hyperintensities on dual-tasking in alzheimer disease and aging[J]. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 2012, 26(1):28-35.
- [17] MERLET A N, CHATEL B, HOURDE C A, et al. How sickle cell disease impairs skeletal muscle function; implications in daily Life[J]. *Med Sci Sports Exerc*, 2019, 51(1):4-11.

(收稿日期:2019-07-24 修回日期:2019-12-09)