

孟妍芳,申风俊. NOX4/ROS/STAT3 通路对肝星状细胞活化增殖的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(4): 90-95.

Meng YF, Shen FJ. Effect of NOX4/ROS/STAT3 pathway on the activation and proliferation of hepatic stellate cells [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(4): 90-95.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.04.013

NOX4/ROS/STAT3 通路对肝星状细胞活化增殖的影响

孟妍芳¹, 申风俊^{2*}

(1.山西医科大学,太原 030001;2.山西医科大学第一医院 消化内科,太原 030001)

【摘要】 目的 研究肝星状细胞活化及增殖过程中还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 4 (NOX4) 和信号转导与转录激活因子 3 (STAT3) 表达的变化,并探讨 NOX4 抑制剂 GKT137831 是否可通过抑制 NOX4,减少活性氧(ROS)的产生,抑制 STAT3 信号通路,抑制肝星状细胞活化与增殖。**方法** 将大鼠肝星状细胞-T6 (HSC-T6) 分为 4 组:对照组、TGF- β 1 组、TGF- β 1+GKT137831 组、GKT137831 组。DCFH-DA 荧光探针法检测 HSC-T6 细胞内 ROS 水平,CCK-8 法检测细胞增殖,实时荧光定量 PCR 法检测 NOX4、STAT3 mRNA 的表达;细胞免疫荧光和蛋白印迹法检测 NOX4、STAT3、p-STAT3 及 α -SMA 蛋白的表达。**结果** 与对照组相比,TGF- β 1 组 HSC-T6 细胞中 NOX4 mRNA 和蛋白表达上调,细胞内 ROS 水平升高,p-STAT3 蛋白表达增加,细胞活化增殖能力升高 ($P < 0.05$);给予 GKT137831 处理后,HSC-T6 细胞中 NOX4 mRNA 和蛋白表达下调,细胞内 ROS 水平下降,STAT3 蛋白磷酸化减少,细胞活化增殖能力下降 ($P < 0.05$)。**结论** NOX4 可能通过产生 ROS,促进 STAT3 磷酸化,导致 HSC-T6 细胞活化与增殖;GKT137831 通过抑制 NOX4 来减少 ROS 的产生,抑制 STAT3 磷酸化,从而抑制 HSC-T6 细胞活化与增殖。

【关键词】 NOX4;ROS;STAT3;肝星状细胞

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 04-0090-06

Effect of NOX4/ROS/STAT3 pathway on the activation and proliferation of hepatic stellate cells

MENG Yanfang¹, SHEN Fengjun^{2*}

(1. Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China. 2. Gastroenterology Department, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001)

【Abstract】 Objective To investigate changes to the expression of reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase 4 (NOX4) and signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) during the activation and proliferation of hepatic stellate cells and to explore whether the NOX4 inhibitor GKT137831 can reduce the production of reactive oxygen species (ROS), as well as inhibit the STAT3 signaling pathway and the activation and proliferation of hepatic stellate cells. **Methods** Rat hepatic stellate cells-T6 (HSCs-T6) were divided into four groups: control group, TGF- β 1 group, TGF- β 1+GKT137831 group, and GKT137831 group. The ROS levels in HSC-T6 cells were detected by DCFH-DA fluorescent probe method. The CCK-8 method was used to detect cell proliferation, and real-time fluorescent quantitative PCR was used to detect the expression of NOX4 and STAT3 mRNA. The expression of NOX4, STAT3, p-STAT3, and α -SMA proteins was detected by immunofluorescence and Western blot. **Results** Compared with the control group, HSC-T6 cells in the TGF- β 1 group's expression of NOX4 mRNA and protein were up-regulated, and intracellular ROS levels, expression of p-STAT3 protein, and the cells' activation and proliferation ability increased ($P < 0.05$). After

[作者简介] 孟妍芳 (1985—),女,硕士,主治医师,研究方向:消化内科学。E-mail:461909133@qq.com

[通信作者] 申风俊 (1964—),女,博士,主任医师,研究方向:肝纤维与肝硬化的诊治。E-mail:919016603@qq.com

addition of GKT137831, NOX4 mRNA and protein expressions were down-regulated in HSC-T6 cells, and intracellular ROS levels, STAT3 protein phosphorylation, and the cells' activation and proliferation ability were decreased ($P < 0.05$).

Conclusions NOX4 may promote the phosphorylation of STAT3 by producing ROS, leading to the activation and proliferation of HSC-T6 cells. By inhibiting NOX4, GKT137831 reduces ROS production and inhibits STAT3 phosphorylation, thereby inhibiting HSC-T6 cell activation and proliferation.

【Keywords】 NOX4; ROS; STAT3; hepatic stellate cells

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

肝纤维化是由各种致病因子引起的肝内弥漫性纤维结缔组织沉积,若不及时控制,将导致肝硬化,甚至肝癌^[1]。当肝受到损伤因子的刺激,肝细胞、库普弗细胞及肝窦内皮细胞等分泌多种细胞因子,如转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)及肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等,作用于肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs),诱导其活化,转变为肌成纤维细胞,表达 α -平滑肌肌动蛋白(α -Smooth muscle actin, α -SMA),纤维组织异常增生、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)弥漫性大量产生和沉积,合成和降解失衡,导致肝纤维化的发生发展^[2]。肝星状细胞激活是肝纤维化形成的中心环节^[3]。氧化应激是肝纤维化发病的主要机制之一,是机体受到有害刺激时,产生过多的活性氧自由基,致氧化与抗氧化系统失衡,活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)产生过多,这些 ROS 与蛋白质、脂质、核酸等生物大分子直接作用导致氧化应激反应,引起分子的损伤,也可激活细胞信号通路间接引起细胞、组织损伤^[4]。还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase, NOX)是产生 ROS 的主要酶类,其亚基(NOX4)在 HSCs 细胞高表达^[5]。研究显示肝硬化患者体内氧化应激水平上调和抗氧化防御能力下降,减轻氧化应激和提高抗氧化防御能力成为肝纤维化的治疗措施。GKT137831 作为 NOX4 的抑制剂,可减少 ROS 的产生,具有良好的抗氧化功能^[6]。信号转导与转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription factor 3, STAT3)信号通路可调控 HSCs 的激活、增殖和凋亡,参与肝纤维化的发生发展过程^[7]。有研究报道,氧化应激反应可促进 STAT3 蛋白磷酸化,形成二聚体进入细胞核,调节靶基因的转录^[8-9],但在肝纤维化方面,氧化应激与 STAT3 通路的关系研究甚少。本实验拟体外培养肝星状细胞,研究活化的肝星状细

胞中 NOX4 与 STAT3 基因和蛋白表达的变化,并使用 GKT137831 抑制 NOX4 的表达,观察其是否可通过减少 ROS 的产生,进而抑制 STAT3 信号通路,抑制肝星状细胞活化与增殖。

1 材料和方法

1.1 细胞

大鼠肝星状细胞(HSC-T6)购自中国科学院昆明细胞库。

1.2 主要试剂与仪器

DMEM 高糖培养基购自武汉博士德公司;优级胎牛血清购自 Cellmax 公司;青霉素、链霉素购自大连美仑生物技术公司;TGF- β 1 刺激因子购自近岸蛋白质科技有限公司;GKT137831 购自美国 AbMole 公司;活性氧检测试剂盒购自杭州碧云天生物公司;CKK-8 试剂盒购自 boisharp 公司;兔抗 Phospho-STAT3 单抗购自美国 Cell Signaling Technology 公司;小鼠抗 NOX4 和 STAT3 单抗购自武汉三鹰生物技术公司;小鼠抗 α -SMA 单抗、DyLight 488 标记的山羊抗兔和山羊抗小鼠 IgG 二抗、DAPI 染色液均购自武汉博士德公司;提取总 RNA 试剂 TRIzol、超快速反转录试剂盒、SYBR Green PCR 试剂盒购自聚合美公司,PCR 引物由上海生工生物工程有限公司合成。实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司,型号:ABI 7500);酶标仪及电泳仪(美国 Bio-Rad 公司);化学发光系统(北京赛智科技公司),激光扫描共聚焦显微镜(德国 Leica TCS SP8),倒置荧光显微镜(美国赛默飞世尔科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 HSC-T6 细胞的培养、分组及处理

HSC-T6 在 10% FBS 和 1% 双抗的 DMEM 培养基中培养,置于 37℃,体积分数为 5% CO₂ 的细胞培养箱中孵育。取对数生长期的细胞,消化后制成单细胞悬液,以适度密度接种于细胞培养板中培养,次日待细胞贴壁良好后,分组处理。实验分组:对照组:加入相应体积的 DMEM;TGF- β 1 组:加入浓度

为 10 ng/mL 的 TGF- β 1; TGF- β 1+GKT137831 组; 加入 10 ng/mL 的 TGF- β 1 + 浓度为 20 μ mol/L 的 GKT137831; GKT137831 组; 加入浓度为 20 μ mol/L 的 GKT137831; 每组 3 个重复, 继续孵育 24 h。

1.3.2 细胞增殖试验

将 HSC-T6 细胞按照每孔 5000 接种于 96 孔板中, 细胞贴壁后加入浓度梯度的 GKT137831 溶液 (0、1、5、10、20、40、60、80 μ mol/L), 另设无细胞空白组, 孵育 24 h 后, 吸弃细胞上清, 按照 1:9 的比例将 CCK-8 试剂加入正常培养基中, 以每孔 100 μ L 加至孔板中, 培养箱中培养 2 h。用酶标仪测量在 450 nm 的吸光度 (optical density, OD) 值, 计算出细胞增殖率 = (给药组 OD 值 - 空白组 OD 值) / (正常组 OD 值 - 空白组 OD 值), 并进行统计学分析, 计算得药物半抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)。选取合适的药物浓度, 按照 1.3.1 分组处理, 继续孵育。24 h 后, 采用 CCK-8 法比较各组 HSC-T6 细胞的增殖活力。

1.3.3 细胞内 ROS 测定

采用荧光探针二氯荧光素双醋酸盐 (DCFH-DA) 试剂盒检测各组 HSC-T6 内 ROS。将 HSC-T6 按照每孔 10 000 接种于 24 孔板中, 细胞贴壁后按照 1.3.1 方法分组处理, 继续孵育 24 h。原位装载探针, 按照 1:1000 用无血清培养基稀释 DCFH-DA, 使终浓度为 10 μ mol/L。去除细胞培养基, 每孔加 500 μ L 稀释好的 DCFH-DA。37℃ 细胞培养箱内孵育 20 min。用无血清细胞培养液洗涤细胞 3 次, 以充分去除未进入细胞内的 DCFH-DA。倒置荧光显微镜下拍照, 将激发光与发射光分别设置为 488 nm 和 525 nm, 以未加 DCFH-DA 对照组作为阴参。

1.3.4 实时荧光定量 PCR 法

取对数生长期 HSC-T6 细胞铺于 6 孔板, 每孔 2×10^5 个细胞。培养箱中孵育, 待细胞贴壁, 转无血清培养基饥饿 12 h。按照 1.3.1 方法分组, 继续孵育 24 h。用 TRIzol 试剂提取细胞总 RNA。在微量核酸分析仪上检测浓度和纯度后按照反转录试剂盒说明书将 RNA 逆转录为 cDNA, 采用三步法, 用 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪进行扩增, 得到各样本的 Ct 值, 利用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各组 NOX4 和 STAT3 基因的相对表达水平, 以 GAPDH 作为内参, 引物序列见表 1。

1.3.5 细胞免疫荧光法

按照 1.3.1 方法分组处理细胞, 弃去上清, PBS

漂洗, 甲醛固定 30 min; PBS 漂洗, 0.5% TritonX-100 通透 20 min; 3% 过氧化氢浸泡抑制内源性过氧化物酶, 室温 20 min, 5% BSA 室温封闭 1 h, 一抗 4℃ 过夜孵育, PBS 漂洗, 荧光二抗室温避光孵育 2 h, 用 DAPI 染细胞核 5 min, 封片。激光扫描共聚焦显微镜下观察并拍照, 用 Image J 软件进行定量并计算平均荧光强度。

1.3.6 Western blot

按照 1.3.1 方法分组培养细胞并收集细胞沉淀, 使用 RIPA 裂解液提取各组细胞蛋白, 采用 BCA 法蛋白定量, 将蛋白样品与 5×蛋白上样缓冲液 4:1 混合。100℃ 加热 10 min 使蛋白变性, 在 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶中电泳分离蛋白, 并采用湿转法将凝胶上的蛋白质转移至孔径为 0.22 μ m 的 PVDF 膜上。5% 的脱脂奶粉摇床上封闭 2 h; 一抗 4℃ 过夜孵育, 用 TBST 漂洗, 室温孵育二抗 2 h, 用 TBST 漂洗后, 进行 ECL 光化学显色。最后用 Image J 软件对条带进行定量分析, 计算各蛋白相对表达量。以 p-STAT3 与 STAT3 条带灰度的比值表示 STAT3 蛋白磷酸化水平, 以 NOX4、 α -SMA 蛋白条带与内参 GAPDH 条带灰度值的比值表示 NOX4、 α -SMA 蛋白的相对表达水平。

1.4 统计学方法

使用 SPSS 26.0 软件进行数据分析。计量资料采用平均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间均数比较采用单因素析因方差分析, 两两比较采用 LSD-*t* 法, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 NOX4 对 HSC-T6 细胞活性的影响

在 HSC-T6 细胞培养液中加入浓度梯度的 GKT137831 溶液 (0、1、5、10、20、40、60、80 μ mol/L), 作用 24 h 后通过 CCK-8 法检测 HSC-T6 细胞的增殖, 结果如图 1 所示, GKT137831 可以抑制 HSC-T6 细胞的增殖, 计算得其半抑制浓度 (IC₅₀) 为 45.11

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列
Table 1 Real-time PCR primer sequences

基因 Gene	引物序列 (5'-3') Primer sequence
NOX4	F: 5'-ACTGCCTCCATCAAGCCAAGATTG-3'
	R: 5'-CTCCAGCCACACACAGACTAAGTTC-3'
STAT3	F: 5'-AGGGCTTCTCGTTCTGGGTCTG-3'
	R: 5'-CTCCGCTCCTTGCTGATGAAGC-3'
GAPDH	F: 5'-ACAGCAACAGGGTGGTGGAC-3'
	R: 5'-TTTGAGGGTGCAGCGAAGT-3'

$\mu\text{mol/L}$, 本实验选取 $20 \mu\text{mol/L}$, 为安全浓度, 进行后续实验。各组细胞活力结果显示, 与对照组相比, TGF- β 1 组增殖水平升高 ($P < 0.05$); 加入 GKT137831 细胞增殖水平下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 1。

2.2 NOX4 对 HSC-T6 细胞内 ROS 水平的影响

倒置荧光显微镜拍照结果分析, 与对照组相比, TGF- β 1 组细胞内绿色荧光明显增强, 表明 ROS 水平明显升高 ($P < 0.05$)。与 TGF- β 1 组相比, TGF- β 1+GKT137831 组细胞内绿色荧光明显减弱, 表明 ROS 水平下降 ($P < 0.05$), 见图 2。

2.3 实时荧光定量 PCR 结果

与对照组相比, TGF- β 1 组 HSC-T6 细胞中 NOX4 和 STAT3 mRNA 的表达明显增强 ($P < 0.05$)。与 TGF- β 1 组相比, 给予 GKT137831 处理的 HSC-T6 细胞内 NOX4 和 STAT3 mRNA 的表达明显下降 ($P <$

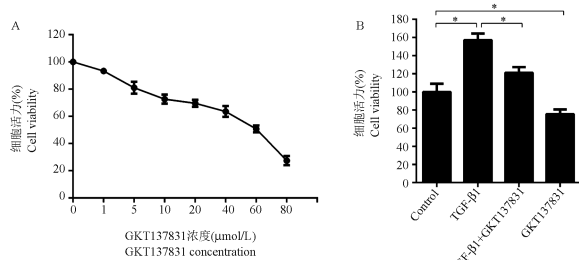
0.05), 见图 3。

2.4 细胞免疫荧光检测结果

绿色荧光表示目的蛋白, 强度越高, 表明目的蛋白表达量越高, 激光扫描共聚焦显微镜拍照结果分析, NOX4、 α -SMA 主要分布在细胞质中, p-STAT3 分布于细胞质和细胞核内, TGF- β 1 组中 NOX4、 α -SMA 及 p-STAT3 蛋白表达增多 ($P < 0.05$); 给予 GKT137831 后, NOX4、 α -SMA 及 p-STAT3 蛋白表达明显减少 ($P < 0.05$), 见图 4。

2.5 Western blot 结果

TGF- β 1 刺激后, HSC-T6 细胞内 NOX4、p-STAT3 及 α -SMA 蛋白表达显著增加 ($P < 0.05$); 给予 GKT137831 后, NOX4、p-STAT3 及 α -SMA 蛋白的表达明显减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 5。

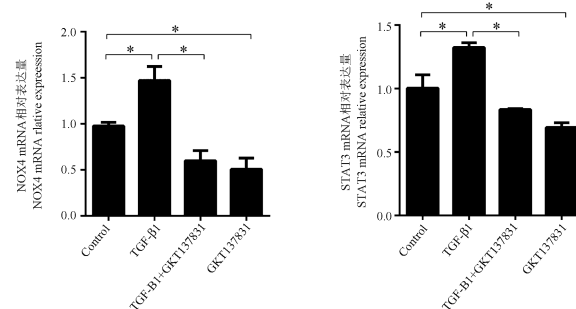


注: A: 不同浓度 GKT137831 对 HSC-T6 细胞增殖的影响; B: 各组 HSC-T6 细胞增殖活力的比较。不同组别相比, * $P < 0.05$ 。

图 1 HSC-T6 细胞增殖活力的比较

Note. A, Effects of different concentrations of GKT137831 on the proliferation of HSC-T6 cells. B, Comparison of proliferation activity of HSC-T6 cells in each group. Compared with different groups, * $P < 0.05$.

Figure 1 Comparison of proliferation activity of HSC-T6 cells

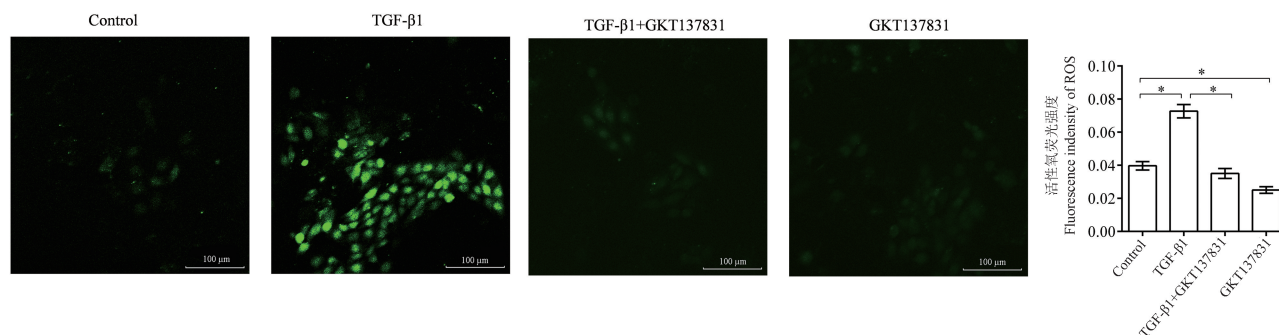


注: 不同组别相比, * $P < 0.05$ 。

图 3 各组 HSC-T6 细胞 NOX4 和 STAT3 mRNA 相对表达水平

Note. Compared with different groups, * $P < 0.05$.

Figure 3 Relative expression levels of NOX4 and STAT3 mRNA in HSC-T6 cells in each group

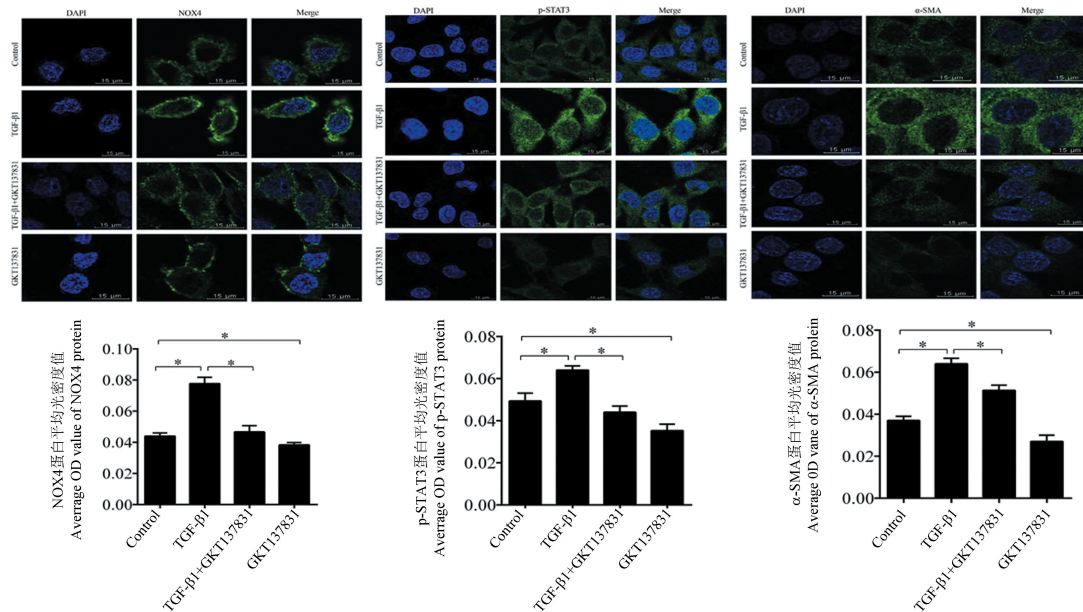


注: 绿色荧光; ROS 水平。不同组别相比, * $P < 0.05$ 。

图 2 各组 HSC-T6 细胞内 ROS 水平

Note. Green fluorescence, ROS levels. Compared with different groups, * $P < 0.05$.

Figure 2 ROS levels in HSC-T6 cells in each group

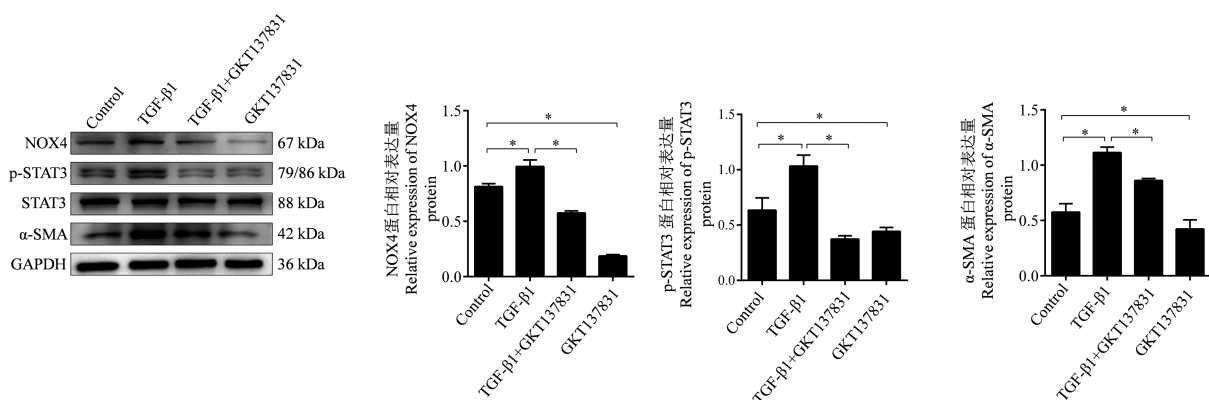


注:不同组别相比, * $P < 0.05$ 。

图 4 细胞免疫荧光法检测各组 HSC-T6 细胞 NOX4、p-STAT3 及 α -SMA 的蛋白表达

Note. Compared with different groups, * $P < 0.05$.

Figure 4 Protein expressions of NOX4, p-STAT3 and α -SMA in HSC-T6 cells were detected by immunofluorescence assay



注:不同组别相比, * $P < 0.05$ 。

图 5 蛋白质印迹法检测各组 HSC-T6 细胞 NOX4、p-STAT3 及 α -SMA 的蛋白表达

Note. Compared with different groups, * $P < 0.05$

Figure 5 Protein expressions of NOX4, p-STAT3 and α -SMA in HSC-T6 cells were detected by Western blot

3 讨论

肝纤维化是多种慢性肝病的病理组成部分, HSCs 活化增殖产生过量的细胞外基质, 是肝纤维化形成的关键^[10]。在致病因子的作用下, 炎症细胞募集并诱导级联反应, HSCs 活化转变为高表达 α -SMA 的肌成纤维细胞, α -SMA 蛋白是 HSCs 活化的标志性蛋白^[11]。抑制或逆转肝纤维化关键在于抑制 HSCs 活化和增殖^[12]。

NOX4 作为 NOX 家族的重要成员, 在肝细胞和 HSCs 高度表达, 在肝损伤及纤维化过程中起着广泛

的作用, 其诱导产生的 ROS 是细胞内信号转导的第二信使, 介导了各种促纤维化因子在细胞内信号转导, 参与细胞的增殖, 促进肝纤维化的发生发展^[13-14]。我们前期研究证实, 在 CCl₄ 肝纤维化大鼠模型中 NOX4 mRNA 和蛋白表达显著上调^[15]。有研究证实, 熊果酸可通过降低肝纤维化小鼠肝组织中 NOX4 的表达及抑制 NOX4/ROS 信号通路逆转肝纤维化^[16]; TGF- β 1 是 HSCs 活化和增殖的刺激因子^[17]。本实验中 TGF- β 1 处理的 HSC-T6 细胞, NOX4 蛋白表达水平升高, 细胞内 ROS 产生增多, α -SMA 蛋白呈现强表达, 细胞显著增殖, 表明 TGF- β 1

能诱导 HSC-T6 细胞 NOX4 活化,产生的 ROS 介导细胞内信号传导,诱导 HSC-T6 活化增殖,给予 GKT137831 抑制剂后,NOX4 表达下降,细胞内 ROS 产生减少。

STAT3 蛋白属于胞浆蛋白,具有信号转导和转录功能。细胞因子和生长因子与相应受体的胞外结构域结合,通过构象改变,使得 STAT3 及受体酪氨酸残基磷酸化,STAT3 形成二聚体移位入胞核,调节靶基因表达,在肝纤维化形成过程中起着重要作用。前期我们进行了动物模型的研究,证实肝纤维化发展过程中 STAT3 mRNA 表达上调^[18]。有研究表明,当归多糖可通过抑制 IL-22/STAT3 通路,抑制 HSCs 的激活,减轻慢性肝纤维化^[19]。本次研究结果显示,在 TGF- β 1 诱导活化的 HSC-T6 细胞中,STAT3 mRNA 表达明显上调,STAT3 蛋白磷酸化水平升高。给予 GKT137831 抑制 NOX4 表达,减少 ROS 的产生后,STAT3 mRNA 和蛋白磷酸化水平也明显下调,HSC-T6 细胞增殖能力下降。有报道氧化应激可激活 STAT3 信号通路,促进 HSCs 合成金属蛋白酶抑制剂,同时抑制基质金属蛋白酶-1 基因的表达,抑制胶原的降解,促进胶原的沉积,加重纤维化^[20]。这与我们的实验结果一致,因此 ROS/STAT3 通路可作为控制或逆转肝纤维化的一个治疗靶点。

综上所述,NOX4 可能通过产生 ROS,促进 STAT3 磷酸化,调节靶基因表达,从而导致 HSC-T6 活化与增殖;GKT137831 通过抑制 NOX4,减少 ROS 的产生,抑制 STAT3 磷酸化,阻断下游 STAT3 细胞内信号转导,从而抑制 HSC-T6 活化和增殖。

参考文献:

- [1] Zhang CY, Yuan WG, He P, et al. Liver fibrosis and hepatic stellate cells: Etiology, pathological hallmarks and therapeutic targets [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(48): 10512-10522.
- [2] Trautwein C, Friedman SL, Schuppan D, et al. Hepatic fibrosis: concept to treatment [J]. *J Hepatol*, 2015, 62(1): S15-S24.
- [3] Mederacke I, Hsu CC, Troeger JS, et al. Fate tracing reveals hepatic stellate cells as dominant contributors to liver fibrosis independent of its aetiology [J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 2823.
- [4] Liang S, Kisseleva T, Brenner DA. The role of NADPH oxidases (NOXs) in liver fibrosis and the activation of myofibroblasts [J]. *Front Physiol*, 2016, 7: 17.
- [5] Lambeth JD. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen [J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4(3): 181-189.
- [6] Jiang JX, Chen X, Serizawa N, et al. Liver fibrosis and hepatocyte apoptosis are attenuated by GKT137831, a novel NOX4/NOX1 inhibitor *in vivo* [J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 53(2): 289-296.
- [7] 岳彩飞, 洪汝涛, 徐德祥, 等. 褪黑素对 PDGF 诱导的肝星状细胞中 JAK2/STAT3 信号通路的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2020, 36(3): 403-407.
- [8] Zhao J, Liu X, Chen Y, et al. STAT3 promotes schistosome-induced liver injury by inflammation, oxidative stress, proliferation, and apoptosis signal pathway [J]. *Infect Immun*, 2021, 89(3): e00309-e00320.
- [9] Chen B, Jia Y, Lu D, et al. Acute glucose fluctuation promotes *in vitro* intestinal epithelial cell apoptosis and inflammation via the NOX4/ROS/JAK/STAT3 signaling pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(1): 688.
- [10] Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(7): 397-411.
- [11] Wang S, Friedman SL. Hepatic fibrosis: a convergent response to liver injury that is reversible [J]. *J Hepatol*, 2020, 73(1): 210-211.
- [12] Liu X, Xu J, Rosenthal S, et al. Identification of lineage-specific transcription factors that prevent activation of hepatic stellate cells and promote fibrosis resolution [J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(6): 1728-1744.
- [13] Cheng Q, Li C, Yang CF, et al. Methyl ferulic acid attenuates liver fibrosis and hepatic stellate cell activation through the TGF- β 1/Smad and NOX4/ROS pathways [J]. *Chem Biol Interact*, 2019, 299: 131-139.
- [14] Lan T, Kisseleva T, Brenner DA. Deficiency of NOX1 or NOX4 prevents liver inflammation and fibrosis in mice through inhibition of hepatic stellate cell activation [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0129743.
- [15] 贺国娜, 申凤俊, 吴龙龙. 肝纤维化过程中肝组织中 Nrf2、NOX4 mRNA 表达及血清 ROS 水平的变化 [J]. *国际消化病杂志*, 2019, 39(4): 265-269.
- [16] Wan S, Luo F, Huang C. Ursolic acid reverses liver fibrosis by inhibiting interactive NOX4/ROS and RhoA/ROCK1 signalling pathways [J]. *Aging (Albany NY)*. 2020, 12(11): 10614-10632.
- [17] 罗声政, 吴俊成, 林仁坤, 等. 锌 α 2 糖蛋白抑制肝星状细胞活化和增殖的体外研究 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2020, 28(2): 135-140.
- [18] 张叶, 申凤俊, 王丽华. 肝纤维化大鼠模型 STAT3mRNA 的动态变化及贝那普利对其的影响 [J]. *中华消化病与影像杂志(电子版)*, 2017, 7(3): 105-107.
- [19] Wang K, Wang J, Song M, et al. *Angelica sinensis* polysaccharide attenuates CCl₄-induced liver fibrosis via the IL-22/STAT3 pathway [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 162: 273-283.
- [20] Han JH, Ju JH, Lee YS, et al. Astaxanthin alleviated ethanol-induced liver injury by inhibition of oxidative stress and inflammatory responses via blocking of STAT3 activity [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 14090.

[收稿日期]2022-09-17