



萝卜硫素调控TGF- β 1/Smad信号通路抑制结肠癌HT-29细胞增殖的机制研究

刘红艳, 齐创

引用本文:

刘红艳, 齐创. 萝卜硫素调控TGF- β 1/Smad信号通路抑制结肠癌HT-29细胞增殖的机制研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2020, 45(3): 311-314.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.03.007>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

小RNA干扰MMP-2基因表达对结直肠癌细胞生物学特性的影响

Effect of the expression of siRNA targeting MMP-2 on the biological characteristics of colorectal cancer cells
蚌埠医学院学报. 2019, 44(10): 1305-1309 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2019.10.003>

骨形态发生蛋白2在小鼠模型中诱导破骨细胞活化的机制

Mechanism of the bone morphogenetic protein 2 inducing osteoclast activation in the mouse model
蚌埠医学院学报. 2020, 45(1): 18-23 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.01.005>

丹皮酚对食管癌细胞放射增敏作用及其机制

Effect of paeonol on the radiosensitization of esophageal cancer cell and its mechanism
蚌埠医学院学报. 2020, 45(1): 9-13 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.01.003>

抑制miR-31表达对人角质形成细胞增殖、凋亡的影响研究

Effect of inhibiting the miR-31 expression on the proliferation and apoptosis of human keratinocyte cells
蚌埠医学院学报. 2020, 45(3): 315-319 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.03.008>

siRNA靶向抑制4-1BBL基因表达在HL-60细胞对淋巴细胞增殖和凋亡的影响

Effect of siRNA targeting inhibition of 4-1 BBL gene expression in HL-60 tumor cells on lymphocytic proliferation and apoptosis
蚌埠医学院学报. 2018, 43(9): 1121-1124 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2018.09.001>

萝卜硫素调控 TGF- β 1 /Smad 信号通路抑制结肠癌 HT-29 细胞增殖的机制研究

刘红艳, 齐 创

[摘要] **目的:** 研究萝卜硫素对结肠癌 HT-29 细胞增殖的影响及其可能的作用机制。 **方法:** 采用 CCK8 分析萝卜硫素对 HT-29 细胞增殖的影响, 流式细胞术检测 HT-29 细胞凋亡, ELISA 检测细胞培养液中转化生长因子 β 1 (TGF- β 1) 的水平, Western blotting 检测细胞中 p-Smad3, Smad4, Cyclin D1 及 c-Myc 蛋白表达。 **结果:** CCK8 结果显示, 随着药物浓度和作用时间的增加, 萝卜硫素对 HT-29 细胞的增殖抑制作用增强 ($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素干预 HT-29 细胞 24 h, 细胞凋亡率均高于对照组 ($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。ELISA 结果表明, 药物处理 HT-29 细胞 24 h, 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素组细胞培养液中 TGF β 1 水平均低于对照组 ($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。与对照组相比, 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素均能抑制 p-Smad3, Smad4, Cyclin D1 及 c-Myc 蛋白表达 ($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。 **结论:** 萝卜硫素可抑制结肠癌 HT-29 细胞的增殖, 其作用机制可能与调控 TGF- β 1/Smad 信号通路有关。

[关键词] 结肠肿瘤; 萝卜硫素; 增殖; TGF β 1/Smad 信号通路

[中图分类号] R 730.59 **[文献标志码]** A **DOI:** 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.03.007

Sulforaphane inhibits proliferation of colon cancer HT-29 cells via regulating TGF β 1/Smad signaling pathway

LIU Hong-yan, QI Chuang

(Department of Integrative Oncology, Central Hospital of Enshi Autonomous Prefecture, Enshi Hubei 445000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of sulforaphane on the proliferation of colon cancer HT-29 cells and its potential mechanism. **Methods:** CCK8 was used to detect the effect of sulforaphane on the proliferation of HT-29 cells. Flow cytometry was applied to determine the apoptosis of HT-29 cells. ELISA was performed to measure the levels of transforming growth factor β 1 (TGF- β 1). Western blotting was carried out to analyze the expression of p-Smad3, Smad4, Cyclin D1 and c-Myc protein. **Results:** CCK8 results showed that the inhibitory effect of sulforaphane on the proliferation of HT-29 cells increased with the increase of drug concentration and time ($P < 0.05$ to $P < 0.01$). The apoptosis rate of HT-29 cells treated with 10, 20, 40 $\mu\text{mol/L}$ sulforaphane was higher than that in control group ($P < 0.05$ to $P < 0.01$). The results of ELISA showed that the level of TGF- β 1 in cell culture medium in 10, 20, 40 $\mu\text{mol/L}$ sulforaphane group was lower than that in control group ($P < 0.05$ to $P < 0.01$). The expression of p-Smad3, Smad4, Cyclin D1 and c-Myc protein in HT-29 cells after treatment with 10, 20, 40 $\mu\text{mol/L}$ sulforaphane was decreased compared with control group ($P < 0.05$ to $P < 0.01$). **Conclusions:** Sulforaphane can inhibit the proliferation of colon cancer HT-29 cells, the mechanism of which might be related to the regulation of TGF- β 1/Smad signaling pathway.

[Key words] colon neoplasms; sulforaphane; proliferation; TGF- β 1/Smad signaling pathway

结肠癌是一种常见的消化道恶性肿瘤, 死亡率仅次于肺癌、肝癌及胃癌, 居第 4 位, 对人类的生命健康造成极大危害^[1]。随着医疗水平的不断提升, 结肠癌在诊断及治疗方面已取得明显进步, 但是药物治疗不仅疗效不理想, 而且还带来明显的不良反应及结肠癌细胞的转移^[2]。因此, 开发更有效的化

疗药物已成为抗肿瘤治疗研究的热点。萝卜硫素是一种从十字花科植物中提取的异硫氰酸盐, 研究^[3-6]发现其具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、免疫调节等药理活性, 然而萝卜硫素抗结肠癌的作用机制报道甚少。转化生长因子 β 1 (TGF- β 1) 信号通路是细胞内重要的信号传导途径, 可介导结肠癌细胞的增殖、分化、凋亡及迁移等生物学过程, 抑制 TGF- β 1/Smad 信号通路活化可以降低结肠癌细胞增殖、并诱导其凋亡^[7-10]。本实验探讨萝卜硫素对结肠癌 HT-29 细胞增殖的抑制作用及其对细胞中 TGF- β 1/Smad 信号通路的影响, 以期为其开发应用提供理论依据。

[收稿日期] 2018-10-19 [修回日期] 2019-04-27

[作者单位] 湖北省恩施土家族苗族自治州中心医院 中西医结合肿瘤科, 445000

[作者简介] 刘红艳 (1986-), 女, 主治医师。

[通信作者] 齐 创, 副主任医师。E-mail: doctorqichuang@163.com

1 材料及方法

1.1 细胞与试剂 结肠癌 HT-29 细胞购自武汉巴菲尔生物有限公司;胎牛血清、RPMI-1640 培养基及 0.25% 胰蛋白酶-EDTA 购自英国 Abcam 公司;萝卜硫素(批号 H2011265418,纯度 $\geq 98\%$)购于山东绿叶制药有限公司;鼠抗人 p-Smad3、Smad4、Cyclin D1 及 c-Myc 抗体由美国 CST 公司提供,HRP 标记山鼠抗兔 IgG 由上海谷歌生物有限公司提供;HRP 发光试剂盒购自 Millipore 公司;TGF- $\beta 1$ ELISA 试剂盒购自武汉华美生物有限公司;CCK8 试剂盒购自北京智杰方远科技有限公司。

1.2 仪器 BIO-RAD-550 型酶标仪(美国 Bio-Rad 公司),BBS-V800 型单人超净台(山东鑫贝西公司),SPX-250 型细胞培养箱(美国 Thermo 公司),GE-100 型凝胶电泳仪(北京六一仪器厂)。

1.3 HT-29 细胞培养 采用 RPMI-1640 完全培养基培养,条件为 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 5% CO_2 浓度的恒湿培养箱,用 0.25% 胰蛋白酶-EDTA 消化传代培养。当细胞生长状态良好时,取对数生长期细胞用于后续实验。

1.4 CCK8 取对数生长期细胞消化计数,以 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 细胞密度接种于 96 孔板中,培养过夜。实验组按照不同浓度 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 加入萝卜硫素溶液,对照组加入等体积培养基,药物干预 24、48、72 h 后弃去培养基,每孔加入 100 μL 含 10 μL CCK8 试剂的培养液,继续培养 2 h,在 450 nm 波长处检测每孔吸光度(OD)值。

1.5 流式细胞术 取对数生长期 HT-29 细胞,消化、重悬、计数后,以 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 的密度接种于 6 孔

板,培养 24 h 后,加入 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素干预细胞 24 h,收集细胞,按照试剂盒操作说明书分别加入 Annexin-V FITC 和 PI 处理细胞,用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.6 ELISA 收集“1.5”项各孔细胞培养液,1 000 r/min 离心 5 min,取上清液。按照 ELISA 试剂盒说明书操作,检测各组上清液中 TGF $\beta 1$ 水平。

1.7 Western blotting 收集“1.5”项各孔细胞,采用 RIPA 裂解液冰上充分裂解细胞,并测定细胞匀浆中蛋白浓度,每个样品取 50 μg 蛋白上样电泳。待蛋白完全分离后进行蛋白转膜实验,然后用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, TBST 洗膜 3 次后将对应条带置于 p-Smad3、Smad4、Cyclin D1 及 c-Myc 抗体溶液(1:3 000 稀释)中, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 摇床反应过夜。次日洗膜后将条带置于 HRP 标记 IgG 溶液中室温反应 1 h,洗膜 3 次,HRP 试剂显影后进行蛋白条带灰度值分析。

1.8 统计学方法 采用方差分析和 q 检验。

2 结果

2.1 萝卜硫素对结肠癌 HT-29 细胞增殖的影响 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素组细胞 OD 值相对于对照组明显降低($P < 0.01$);同一浓度萝卜硫素处理 48 h 和 72 h,细胞 OD 值相比于 24 h 也降低($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。40 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素干预细胞 72 h 后,细胞抑制率高达 76.25%,而低浓度萝卜硫素对 HT-29 细胞增殖抑制率表现出时间依赖性($P < 0.05$)(见表 1)。

表 1 各组间 HT-29 细胞 OD 值比较($\bar{x} \pm s$)

分组	<i>n</i>	24 h OD 值	48 h OD 值	72 h OD 值	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i> _{组内}
对照组	3	1.4251 \pm 0.018 4	1.635 1 \pm 0.021 5	1.485 7 \pm 0.030 5	60.74	< 0.01	0.001
10 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素	3	1.014 3 \pm 0.016 5 ⁺⁺	0.951 7 \pm 0.021 6 ⁺⁺⁺	0.627 1 \pm 0.020 4 ^{++++#}	336.64	< 0.01	0.000
20 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素	3	0.540 6 \pm 0.012 6 ^{+++▲}	0.485 1 \pm 0.013 5 ^{++++▲}	0.395 1 \pm 0.016 2 ^{++++#▲}	80.53	< 0.01	0.000
40 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素	3	0.385 1 \pm 0.009 4 ^{++++■}	0.410 5 \pm 0.011 8 ^{++++■}	0.352 8 \pm 0.012 7 ^{++++#▲}	19.91	0.01	0.000
<i>F</i>	—	3 120.49	3 043.56	1 894.27	—	—	—
<i>P</i>	—	< 0.01	< 0.01	< 0.01	—	—	—
<i>MS</i> _{组内}	—	0.000	0.000	0.000	—	—	—

q 检验:与 24 h 比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 48 h 比较## $P < 0.01$;与对照组比较 + + $P < 0.01$;与萝卜硫素 10 $\mu\text{mol/L}$ 比较▲▲ $P < 0.01$;与萝卜硫素 20 $\mu\text{mol/L}$ 比较■ $P < 0.01$

2.2 萝卜硫素对 HT-29 细胞凋亡的影响 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素干预 HT-29 细胞 24 h,细胞凋亡率均高于对照组($P < 0.05 \sim P < 0.01$)(见图 1、

表 2)。

2.3 萝卜硫素对 HT-29 细胞 TGF- $\beta 1$ 水平的影响 ELISA 结果表明,药物处理 HT-29 细胞 24 h,10、

20、40 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素组细胞培养液中 TGF- β 1 水平平均低于对照组 ($P < 0.05 \sim P < 0.01$) (见表 3)。

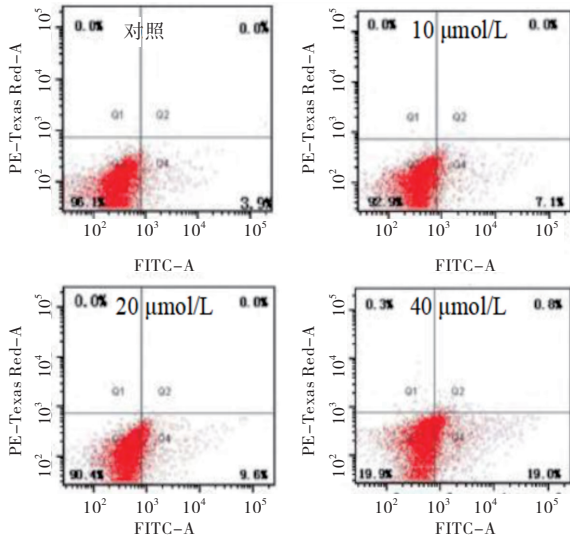


图1 萝卜硫素对HT-29细胞凋亡的影响

表2 各组细胞凋亡率比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	细胞凋亡率/%
对照组	3	3.85 \pm 0.61
10 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素	3	7.35 \pm 0.84 *
20 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素	3	10.57 \pm 1.16 **
40 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素	3	19.53 \pm 1.84 *** \blacktriangle
F	—	93.35
P	—	<0.01
MS _{组内}	—	1.452

q 检验:与对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 10 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素比较 # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$;与 20 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素比较 \blacktriangle $P < 0.05$

表3 各组细胞 TGF β 1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	TGF β 1/ β -actin
对照组	3	1 315.26 \pm 40.17
10 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素	3	1 141.39 \pm 26.37 *
20 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素	3	892.54 \pm 20.38 **
30 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素	3	627.43 \pm 15.27 *** \blacktriangle
F	—	364.63
P	—	<0.01
MS _{组内}	—	739.381

q 检验:与对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 10 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素比较 # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$;与 20 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素比较 \blacktriangle $P < 0.05$

2.4 萝卜硫素对 HT-29 细胞中 p-Smad3、Smad4、Cyclin D1 及 c-Myc 蛋白表达的影响 与对照组相比,10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 萝卜硫素均能抑制 p-Smad3、Smad4、Cyclin D1 及 c-Myc 蛋白表达 ($P < 0.05 \sim P < 0.01$) (见图 2、表 4)。

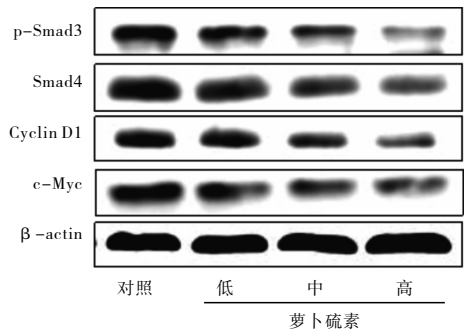


图2 萝卜硫素对HT-29细胞中p-Smad3、Smad4、Cyclin D1及c-Myc蛋白表达的影响

3 讨论

结肠癌属于常见的恶性肿瘤,其发病率及死亡率较高,对人类健康威胁极大,统计发现全球每年约有 50 万病人死于结肠癌^[11]。当前对结肠癌的诊疗水平有了大幅度提升,但是其预后效果并不理想。天然中药的有效单体成分在多种肿瘤治疗中均表现出明显的治疗效果^[12-13]。本研究发现,萝卜硫素对结肠癌 HT-29 细胞的增殖具有明显抑制作用,并能诱导其凋亡,进一步研究发现该作用可能与萝卜硫素下调 TGF β 1 表达,抑制 TGF β 1/Smad 信号传导相关。

采用 ELISA 分析 HT-29 细胞培养液上清中 TGF β 1 蛋白水平,结果显示萝卜硫素对 TGF- β 1 表达具有抑制作用。研究^[7-10]发现 TGF- β 1/Smad 信号通路在调控结肠癌细胞的增殖方面具有重要意义,可通过抑制 TGF- β 1 蛋白表达阻滞 TGF β 1/Smad 信号通路的信号传导,从而降低肿瘤细胞的增殖能力。由此提示,萝卜硫素对结肠癌 HT-29 细胞的增殖抑制作用可能与其阻滞结肠癌 HT-29 细胞中 TGF- β 1/Smad 信号传导相关。TGF- β 1/Smad 信号通路在细胞内发挥着重要的作用,p-Smad3、Smad4 为 TGF- β 1/Smad 通路中重要的信号分子,其中 p-Smad3、Smad4 蛋白表达量的改变对肿瘤细胞的增殖、凋亡等生物学行为具有重要的调控作用^[14-15]。本实验结果发现 HT-29 细胞经萝卜硫素干预后,p-Smad3、Smad4 表达水平随之降低。相关报道^[14]提出 TGF- β 1/Smad 信号通路通过调控 Cyclin D1 及 c-Myc 蛋白表达进一步调节肿瘤细胞的增殖。研究^[14-16]发现对 TGF- β 1/Smad 信号通路进行抑制,能够显著下调 Cyclin D1 及 c-Myc 蛋白表达,进而抑制癌细胞增殖。此外,TGF- β 1/Smad 信号传导受到抑制时,Cyclin D1 及 c-Myc 蛋白表达也随之下降,并与 p-Smad3、Smad4 蛋白表达的抑制具有相似的

趋势。研究^[17-18]发现萝卜硫素可通过降低 TGF- β 1/Smad 信号传导活性进而抑制肝纤维化及肌肉纤维化。

表 4 各组 p-Smad3、Smad4、Cyclin D1 及 c-Myc 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

分组	n	p-Smad3/ β -actin	Smad4/ β -actin	Cyclin D1/ β -actin	c-Myc/ β -actin
对照组	3	0.41 \pm 0.05	0.57 \pm 0.04	0.36 \pm 0.05	0.63 \pm 0.04
10 μ mol/L 萝卜硫素	3	0.24 \pm 0.03 *	0.34 \pm 0.05 *	0.22 \pm 0.04 *	0.31 \pm 0.05 *
20 μ mol/L 萝卜硫素	3	0.15 \pm 0.03 **	0.21 \pm 0.03 **	0.14 \pm 0.03 **	0.16 \pm 0.03 **
30 μ mol/L 萝卜硫素	3	0.07 \pm 0.02 *** \blacktriangle	0.17 \pm 0.03 *** \blacktriangle	0.06 \pm 0.03 *** \blacktriangle	0.13 \pm 0.02 *** \blacktriangle
F	—	54.36	66.08	33.29	116.50
P	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
MS _{组内}	—	0.001	0.001	0.001	0.001

q 检验:与对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 10 μ mol/L 萝卜硫素比较 # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$;与 20 μ mol/L 萝卜硫素比较 $\blacktriangle P < 0.05$

综上,萝卜硫素可能通过调节 TGF- β 1/Smad 信号通路分子 TGF- β 1、p-Smad3、Smad4 蛋白表达,阻滞 TGF- β 1/Smad 信号传导,进而下调 Cyclin D1 及 c-Myc 蛋白表达,从而抑制结肠癌 HT-29 细胞增殖。

[参 考 文 献]

- [1] GREMILLION CL, SAVAGE M, COHEN EB. Radiographic findings and clinical factors in dogs with surgically confirmed or presumed colonictorsion [J]. *Vet Radiol Ultrasound*, 2018, 59 (3):272.
- [2] WANG M, WU G, HOU X, *et al.* LIN28B promotes colon cancer migration and recurrence [J]. *PLoS One*, 2014, 9(10):e109169.
- [3] TORTORELLA SM, ROYCE SG, LICCIARDI PV, *et al.* Dietary sulforaphane in cancer chemoprevention; the role of epigenetic regulation and HDAC inhibition [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 22(16):1382.
- [4] NALLASAMY P, SI H, BABU PV, *et al.* Sulforaphane reduces vascular inflammation in mice and prevents TNF- α -induced monocyte adhesion to primary endothelial cells through interfering with the NF- κ B pathway [J]. *J Nutr Biochem*, 2014, 25(8):824.
- [5] BAI Y, CHEN Q, SUN YP, *et al.* Sulforaphane protection against the development of doxorubicin-induced chronic heart failure is associated with Nrf2 upregulation [J]. *Cardiovasc Ther*, 2019, 35 (5):53.
- [6] AL-HARBI NO, NADEEM A, AHMAD SF, *et al.* Sulforaphane treatment reverses corticosteroid resistance in a mixed granulocytic mouse model of asthma by upregulation of antioxidants and attenuation of Th17 immune responses in the airways [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 855(5):276.
- [7] HAWINKELS LJ, PAAUWE M, VERSPAGET HW, *et al.* Interaction with colon cancer cells hyperactivates TGF- β signaling in cancer-associated fibroblasts [J]. *Oncogene*, 2014, 33(1):97.
- [8] CHEN S, ZHU J, ZUO S, *et al.* 1, 25(OH)2D3 attenuates TGF- β 1/ β 2-induced increased migration and invasion via inhibiting epithelial-mesenchymal transition in colon cancer cells [J].

Biochem Biophys Res Commun, 2015, 468(1/2):130.

- [9] GONZALEZ-ZUBELDIA I, DOTOR J, REDRADO M, *et al.* Co-migration of colon cancer cells and CAFs induced by TGF β enhances liver metastasis [J]. *Cell Tissue Res*, 2015, 359(3):829.
- [10] SUN X, LAN C. Study on the expression of Runx3 and TGF- β 1 protein in the colonic tissue from rats with irritable bowel syndrome [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2011, 4(2):88.
- [11] ORANGIO GR. The economics of colon cancer [J]. *Surg Oncol Clin N Am*, 2018, 27(2):327.
- [12] WU K, YANG QJ, MU YQ, *et al.* Berberine inhibits the proliferation of colon cancer cells by inactivating Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Int J Oncol*, 2012, 41(23):292.
- [13] HE BC, GAO JL, LUO XJ, *et al.* Ginsenoside Rg3 inhibits colorectal tumor growth through the down-regulation of Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Int J Oncol*, 2011, 38(11):437.
- [14] CHEN L, YANG T, LU DW, *et al.* Central role of dysregulation of TGF- β /Smad in CKD progression and potential targets of its treatment [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 101(4):670.
- [15] KIM KO, SAMPSON ER, MAYNARD RD, *et al.* Ski inhibits TGF-beta/phospho-Smad3 signaling and accelerates hypertrophic differentiation in chondrocytes [J]. *J Cell Biochem*, 2012, 113 (6):2156.
- [16] ZHENG L, SUZUKI H, NAKAJO Y, *et al.* Regulation of c-MYC transcriptional activity by transforming growth factor-beta 1-stimulated clone 22 [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(2):395.
- [17] OH CJ, KIM JY, MIN AK, *et al.* Sulforaphane attenuates hepatic fibrosis via NF-E2-related factor 2-mediated inhibition of transforming growth factor- β /Smad signaling [J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 52(3):671.
- [18] SUN C, LI S, LI D. Sulforaphane mitigates muscle fibrosis in mdx mice via Nrf2-mediated inhibition of TGF- β /Smad signaling [J]. *J Appl Physiol*, 2016, 120(4):377.

(本文编辑 赵素容)