

本文引用:许夏燕,李智,潘明月,韩雨彤,易刚强,袁劲松.五甲基槲皮素改善香烟烟雾提取物诱导的急性加重慢性阻塞性肺疾病[J].湖南中医药大学学报,2022,42(8):1283-1288.

# 五甲基槲皮素改善香烟烟雾提取物诱导的急性加重慢性阻塞性肺疾病

许夏燕<sup>1,2</sup>,李智<sup>2</sup>,潘明月<sup>2</sup>,韩雨彤<sup>2</sup>,易刚强<sup>3</sup>,袁劲松<sup>1,4\*</sup>

(1.汕头大学医学院,广东 汕头 515041;2.深圳市罗湖区人民医院,广东 深圳 518000;  
3.湖南中医药大学,湖南 长沙 410208;4.北京大学深圳医院,广东 深圳 518000)

**[摘要]** **目的** 探讨五甲基槲皮素对急性加重慢性阻塞性肺疾病(acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD)的预防作用及相关机制。**方法** 采用香烟烟雾提取物刺激人支气管上皮 BEAS-2B 细胞,建立 AECOPD 细胞模型。采用不同浓度五甲基槲皮素干预 AECOPD 细胞模型,分为 4 组:对照组、五甲基槲皮素 1  $\mu\text{mol/L}$  组、五甲基槲皮素 3  $\mu\text{mol/L}$  组和五甲基槲皮素 10  $\mu\text{mol/L}$  组。干预结束后收集细胞蛋白及上清液。采用 ELISA 实验检测上清液中 IL-6、IL-8 的浓度;采用蛋白免疫印迹法检测各组样本中磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT)、P38 蛋白激酶(P38 mitogen-activated protein kinase, P38)、应激活化蛋白激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)、B-细胞淋巴瘤因子 2(B-cell lymphoma-2, BCL-2)、半胱氨酸蛋白酶 3(Caspase 3)以及活化后半胱氨酸蛋白酶 3(cleaved Caspase 3)的蛋白丰度。**结果** 五甲基槲皮素可剂量依赖性降低 IL-6 和 IL-8 的释放,与对照组相比,五甲基槲皮素 3  $\mu\text{mol/L}$  组和五甲基槲皮素 10  $\mu\text{mol/L}$  组对 IL-6 的释放抑制更为明显( $P<0.01$ ),五甲基槲皮素 10  $\mu\text{mol/L}$  组 IL-8 水平明显降低( $P<0.01$ );同时,五甲基槲皮素 10  $\mu\text{mol/L}$  组 PI3K( $P<0.01$ )、AKT( $P<0.01$ )、P38( $P<0.05$ )、JNK( $P<0.05$ )、Caspase 3( $P<0.01$ )以及 cleaved Caspase 3( $P<0.001$ )的蛋白水平降低,并且 BCL-2 的蛋白表达增加( $P<0.01$ )。**结论** 五甲基槲皮素可通过 PI3K/AKT、P38 和 JNK 等信号通路改善 AECOPD 模型中细胞的炎症反应,同时可通过调节 Caspase 3 和 BCL-2 抑制细胞的凋亡,提示五甲基槲皮素具有预防 AECOPD 发生发展的潜在药理作用。

**[关键词]** 急性加重慢性阻塞性肺疾病;五甲基槲皮素;炎症反应;凋亡;半胱氨酸蛋白酶 3;B-细胞淋巴瘤因子 2;磷脂酰肌醇 3-激酶;蛋白激酶 B

[中图分类号]R285.5

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.08.010

## Pentamethylquercetin ameliorates cigarette smoke extract induced acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease

XU Xiayan<sup>1,2</sup>, LI Zhi<sup>2</sup>, PAN Mingyue<sup>2</sup>, HAN Yutong<sup>2</sup>, YI Gangqiang<sup>3</sup>, Yuan Jingsong<sup>1,4\*</sup>

(1. Shantou Medical University, Shantou, Guangdong 515041, China; 2. Shenzhen Luohu District People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518000, China; 3. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 4. Shenzhen Hospital of Beijing University, Shenzhen, Guangdong 518000, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the preventive effect of pentamethylquercetin on acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD) and its related mechanism. **Methods** Cigarette smoke extract was used to stimulate human bronchial

[收稿日期]2022-03-30

[基金项目]长沙市自然科学基金项目(kq2007040);深圳市罗湖区软科学研究计划项目(LX20201101)。

[第一作者]许夏燕,女,硕士研究生,研究方向:临床药理学。

[通信作者]\*袁劲松,男,教授,博士研究生导师,E-mail:778027656@qq.com。

epithelial BEAS-2B cells to establish AECOPD cell model, and divided into 4 groups: control group, pentamethylquercetin 1  $\mu\text{mol/L}$  group, pentamethylquercetin 3  $\mu\text{mol/L}$  group and pentamethylquercetin 10  $\mu\text{mol/L}$  group. Cell protein and supernatant were collected after intervention. The content of IL-6 and IL-8 in supernatant were detected by ELISA. The protein expression levels of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), protein kinase B (AKT), P38 mitogen-activated protein kinase (P38), c-Jun N-terminal kinase (JNK), B-cell lymphoma-2 (BCL-2), Caspase 3 and cleaved Caspase 3 were detected by Western blot. **Results** Pentamethylquercetin can reduce the release of IL-6 and IL-8 in a dose-dependent manner. Compared with control group, the release of IL-6 was significantly inhibited in pentamethylquercetin 3  $\mu\text{mol/L}$  group and pentamethylquercetin 10  $\mu\text{mol/L}$  group ( $P<0.01$ ), and IL-8 level in pentamethylquercetin 10  $\mu\text{mol/L}$  group decreased ( $P<0.01$ ). Meanwhile, pentamethylquercetin 10  $\mu\text{mol/L}$  group decreased the expression of PI3K ( $P<0.01$ ), AKT ( $P<0.01$ ), P38 ( $P<0.05$ ), JNK ( $P<0.05$ ), Caspase 3 ( $P<0.01$ ) and cleaved Caspase 3 ( $P<0.001$ ), and increased BCL-2 protein level ( $P<0.01$ ). **Conclusion** Pentamethylquercetin can improve the inflammatory reaction in AECOPD model via inhibiting PI3K/AKT, P38 and JNK pathway, and can inhibit cell apoptosis by modulating Caspase 3 and BCL-2, which indicated the potential pharmacological effect of pentamethylquercetin on AECOPD.

[**Keywords**] acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease; pentamethylquercetin; inflammatory reaction; apoptosis; cleaved Caspase 3; B-cell lymphoma-2; phosphatidylinositol 3-kinase; protein kinase B

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种常见的可预防和可治疗的疾病,以持续的呼吸道症状和气流阻塞为特征,目前是全球常见的人类死亡原因之一,主要危险因素是香烟烟雾、病毒以及细菌。目前,我国 COPD 患者已经超过 1 亿人,成为仅次于高血压、糖尿病的第三大常见慢性病<sup>[1-2]</sup>。急性加重期慢性阻塞性肺病(acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD)是 COPD 的呼吸道症状的急性恶化,是 COPD 致死的重要因素。在 COPD 患者中,46%的患者在前一年至少有一次病情加重,19%的患者需要住院治疗<sup>[3]</sup>。

AECOPD 的发病与气道炎症加重有关,吸烟和呼吸道感染是 AECOPD 发生发展的主要危险因素<sup>[4]</sup>。香烟烟雾和其他有毒物质可触发肺组织中炎症细胞因子(TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8 和 IL-17A)的释放,从而招募炎症细胞,加重肺损伤<sup>[5]</sup>。在治疗上,以减轻急性加重的病情以及预防再次急性加重的发生为目标,其中药物治疗是预防和控制 AECOPD 的主要手段。AECOPD 患者优先选用的药物为  $\beta_2$  受体激动剂、抗胆碱药,通过松弛支气管平滑肌,以达到扩张支气管、缓解气流受限、改善肺功能和低氧血症等目的<sup>[6]</sup>。但是,长期使用糖皮质激素、抗生素、祛痰药物等,易产生耐药性。所以,寻找新药用于 AECOPD 的治疗和预防具有重要的学术意义和临床价值。

五甲基槲皮素(pentamethylquercetin)是多甲氧基黄酮类家族的一员,由甲基取代槲皮素结构中的 5 个酚羟基组成,具有良好的减轻胰岛素抵抗、抗

炎、改善糖脂代谢紊乱的生物活性<sup>[7-9]</sup>,在药物稳定性、口服吸收率和生物利用度等多方面较槲皮素更具有优势<sup>[10-12]</sup>。这些特性使五甲基槲皮素在预防和治疗 AECOPD 中具有潜在的价值,其作用及相关机制未见报道。因此,本研究旨在探讨五甲基槲皮素对 AECOPD 的疗效及作用机制。本研究建立了香烟烟雾提取物诱导的 AECOPD 细胞模型,明确了五甲基槲皮素对 AECOPD 细胞模型的影响,并评估其涉及的炎性反应和凋亡的潜在分子机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞与试剂

BEAS-2B 细胞株(中国科学院上海分院);DMEM 高糖培养基购自美国 Gibco 公司;五甲基槲皮素购自 Puruifa 公司;细胞计数试剂 8(cell counting kit-8, CCK8)购自 MCE 公司; $\beta$ -actin、磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT)、P38 蛋白激酶(P38 mitogen-activated protein kinase, P38)、应激活化蛋白激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)、半胱氨酸蛋白酶 3(Caspase 3)、活化后半胱氨酸蛋白酶 3 (cleaved Caspase 3)和 B-细胞淋巴瘤因子 2(B-cell lymphoma-2, BCL-2)一抗购自美国 Cell signaling Technology 公司;IL-6、IL-8 检测试剂盒购自基因美公司。

### 1.2 主要仪器

双色红外荧光成像系统(型号:Odyssey,美国 LICOR 公司);荧光显微镜(型号:Axio Observer3 德

国蔡司公司);-80℃低温冰箱(型号:DW-HL828 中科美菱公司);多功能电泳系统(型号:1658033, 美国伯乐);微量移液器(型号:赛默飞 F3 系列)、酶标仪(型号:FC)、二氧化碳培养箱(型号:BB150)均购自美国赛默飞公司。

### 1.3 香烟烟雾提取物(cigarette smoke extract, CSE)溶液的配制

香烟去掉滤嘴后点燃,采用 50 mL 玻璃注射器收集香烟烟雾,香烟(每支含 0.8 mg 尼古丁,10 mg 焦油)的烟雾导入 20 mL 磷酸盐缓冲液中,经 0.22 μm 过滤器进行过滤,在 320 nm 处测定吸光度,建立标准曲线,并以此标准曲线对滤出液浓度进行校准,所制得的 CSE 溶液分装后冻存于-80℃冰箱备用。

### 1.4 细胞模型的建立及药物干预

将 BEAS-2B 细胞培养于完全培养基中(含 10% 胎牛血清,1%青/链霉素双抗),静置于 5% CO<sub>2</sub>、37℃ 的细胞孵箱中培养。待细胞融合至约 50%时,更换为不含血清的高糖培养基饥饿培养 12 h,之后分为 4 组:对照组、1%烟雾提取物组、2%烟雾提取物组、4%烟雾提取物组,采用含不同浓度 CSE 溶液(0%、1%、2%、4%,v/v)的无血清培养基继续孵育 BEAS-2B 细胞 24 h,收集细胞上清液检测 IL-6 和 IL-8 水平并确定后续实验 CSE 建模浓度。药物干预实验中,待细胞融合至约 50%时即采用含不同浓度(0、1、3、10 μmol/L)五甲基槲皮素的无血清培养基预处理 12 h,分为五甲基槲皮素 1 μmol/L 组、五甲基槲皮素 3 μmol/L 组、五甲基槲皮素 10 μmol/L 组,各组分别采用含 CSE 溶液的无血清培养基继续孵育细胞 24 h,收集细胞上清液和蛋白用于后续实验。

### 1.5 细胞活力检测

将 BEAS-2B 细胞( $2 \times 10^3$ )接种于 96 孔板中,饥饿培养 12 h 后采用含不同浓度 CSE 溶液或 PMQ 的无血清培养基继续培养 24 h。干预完成后每孔加入 CCK8 试剂 20 μL,继续培养 2 h 后,计算细胞活力。使用酶标仪检测细胞在 570 nm 处的吸光度值,计算细胞活力。

### 1.6 IL-6、IL-8 水平检测

将细胞上清液(50 μL/孔)加入预铺抗体的 96 孔板中,按照试剂盒要求在室温下孵育 2 h 后,加入检测抗体、链霉亲和辣根过氧化物酶(HRP)进行反

应,弃去培养基,分别加入底物 A、B 各 50 μL,37℃ 避光孵育 15 min 后,每孔加入终止液 50 μL,15 min 内在 450 nm 波长处检测吸光度值。

### 1.7 PI3K、AKT、P38、JNK、BCL-2、Caspase 3、cleaved、Caspase 3 蛋白水平检测

取适量细胞蛋白样本进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,电泳 90 min 后将产物恒压转移至 PVDF 膜,采用 5%脱脂牛奶封闭液在室温条件下封闭 1 h 后,加入目的蛋白抗体并在 4℃冷室孵育过夜。经 TBST 溶液洗涤 3 次后,加入荧光二抗在室温暗室条件下孵育 1 h,采用奥德赛红外荧光扫描成像系统对条带进行荧光显影。采用 Image-Pro Plus 5.0 软件对各条带的灰度值进行分析。

### 1.8 统计学分析

采用 GraphPad Prism 5.0 软件处理实验数据,计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。通过单因素方差分析和 Newman-Keuls 检验对结果进行统计学分析, $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 细胞水平 CSE 诱导 AECOPD 模型的建立

与对照组相比,各浓度烟雾提取物组均可促进 BEAS-2B 细胞 IL-6 和 IL-8 的释放( $P < 0.001$ ),因此,本研究后续实验采用 2%的 CSE 溶液用于建立 AECOPD 细胞模型。详见图 1。

### 2.2 五甲基槲皮素可部分缓解 CSE 诱导的 AECOPD

0.1~10 μmol/L 五甲基槲皮素对细胞活力均无影响,后续实验采用 1、3、10 μmol/L 这 3 个浓度继续探索药物的效果和机制。与对照组相比,五甲基槲皮素 1 μmol/L 组中 IL-6 的水平降低( $P < 0.05$ );五甲基槲皮素 3 μmol/L 组和五甲基槲皮素 10 μmol/L 组中 IL-6 和 IL-8 水平降低( $P < 0.01$ , $P < 0.05$ );其中五甲基槲皮素 10 μmol/L 组对细胞中 IL-8 的抑制作用强于五甲基槲皮素 1 μmol/L 组( $P < 0.05$ );五甲基槲皮素各浓度组之间对 IL-6 的抑制作用无统计学意义( $P > 0.05$ )。详见图 2。

### 2.3 五甲基槲皮素可抑制 CSE 诱导的细胞凋亡

与对照组相比,五甲基槲皮素 1 μmol/L 组对 Caspase 3、cleaved Caspase 3 表达影响无统计学意义( $P > 0.05$ ),五甲基槲皮素 3 μmol/L 组可抑制其蛋白表达( $P < 0.05$ ),五甲基槲皮素 10 μmol/L 组的抑制作用更为明显( $P < 0.01$ , $P < 0.001$ );同时,五甲基

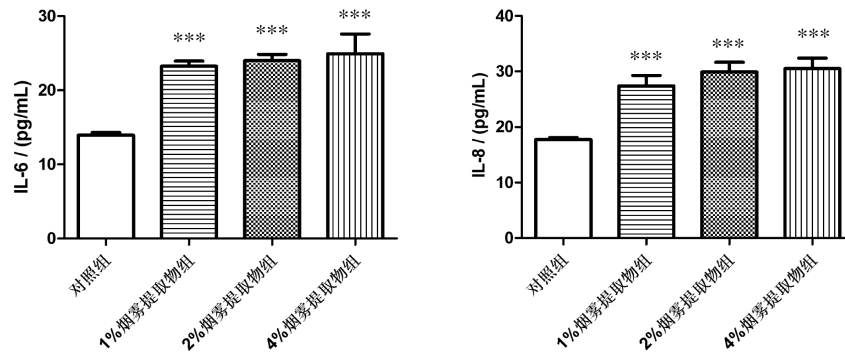


图1 香烟烟雾提取物溶液对 BEAS-2B 细胞 IL-6 和 IL-8 释放的影响

注:与对照组比较,\*\*\* $P < 0.001$ 。

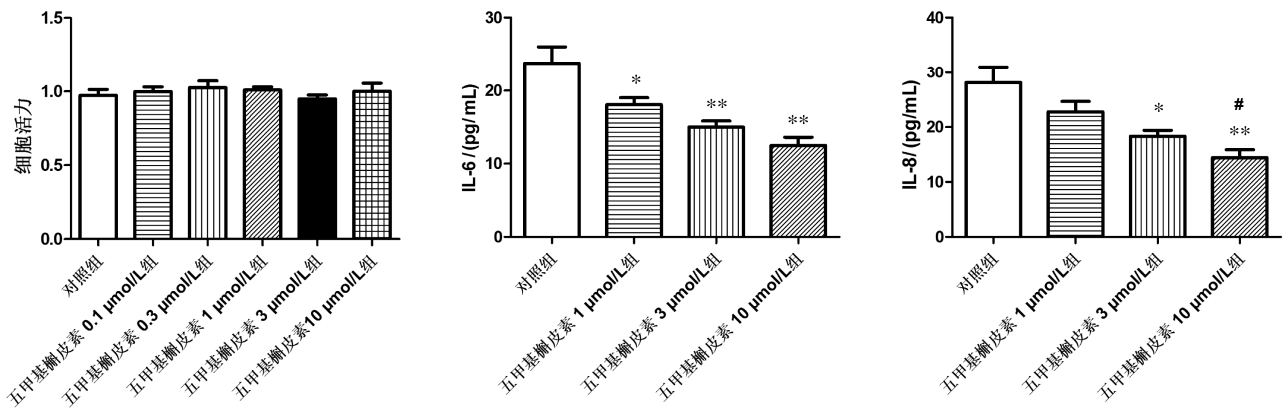


图2 各组五甲基噻皮素对 AECOPD 模型的影响

注:与对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ,与五甲基噻皮素 1 μmol/L 组比较,# $P < 0.05$ 。

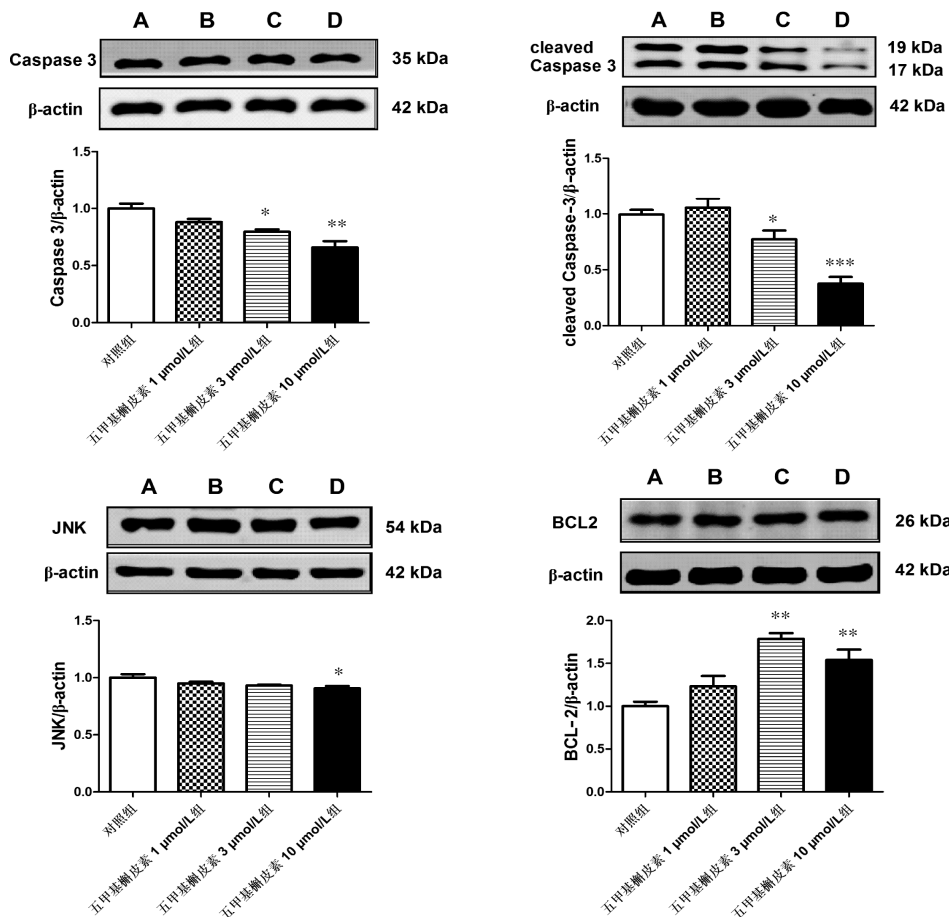


图3 各组五甲基噻皮素对 AECOPD 模型中凋亡相关因子的影响

注:A.对照组;B.五甲基噻皮素 1 μmol/L 组;C.五甲基噻皮素 3 μmol/L 组;D.五甲基噻皮素 10 μmol/L 组;与对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ,\*\*\* $P < 0.001$ 。

槲皮素 3  $\mu\text{mol/L}$  组上调 BCL-2 的蛋白表达 ( $P<0.01$ ), 五甲基槲皮素 10  $\mu\text{mol/L}$  组上调 BCL-2 的蛋白表达并且抑制 JNK 水平 ( $P<0.01, P<0.05$ )。详见图 3。

#### 2.4 五甲基槲皮素可改善 CSE 诱导的炎症反应

与对照组相比,五甲基槲皮素 3  $\mu\text{mol/L}$  组 PI3K 和 AKT 的表达水平降低(均为  $P<0.05$ );五甲基槲皮素 10  $\mu\text{mol/L}$  组对 PI3K 和 AKT 有较强的抑制作用 ( $P<0.01$ ),同时对 P38 也有一定的抑制作用 ( $P<0.05$ )。详见图 4。

### 3 讨论

气道炎症和黏液产生的急性加重,是导致 COPD 预后不良以及死亡的主要原因。目前,COPD 的治疗药物主要以缓解症状为主,寻找新的疗法来预防疾病进展仍具有挑战性。吸烟是 COPD 和肺气肿等不可逆肺疾病的主要原因,研究表明,香烟烟雾的刺激改变了机体多种机制通路,如氧化应激、代谢改变、自主神经系统功能障碍和激素改变<sup>[3]</sup>。IL-6 和 IL-8 在稳定和加重的 COPD 的发病机制中发挥重要作用,且 IL-6 已被视为常见的 AECOPD 生物标志物<sup>[13]</sup>, AECOPD 患者中 IL-6 和 IL-8 水平显著高于健康对照组和稳定型 COPD 患者<sup>[14-15]</sup>。在体外实验中,CSE 经常被用作香烟烟雾的替代物,虽然体外暴露于 CSE 可能不能准确反映体内暴露于香烟烟雾,但报道显示,当气道上皮细胞暴露于挥发性香烟烟雾时,更多的 IL-8 被释放进入培养基中<sup>[16]</sup>。

本实验成功建立了 AECOPD 的细胞模型,1%、2%、4% 的 CSE 溶液均可明显促进 BEAS-2B 细胞

IL-6 和 IL-8 的释放。为了更有效地观察药物效果,选取 2% CSE 溶液干预细胞。五甲基槲皮素是天然多甲氧基黄酮类家族(polymethoxylated flavones, PMF)的一员,是将自然界中资源含量丰富的槲皮素的结构中 5 个酚羟基以甲基取代。从药物稳定性、口服吸收率、生物利用度等多个方面与槲皮素进行比较,五甲基槲皮素更具有优势。前期研究表明,五甲基槲皮素可下调炎症因子 IL-6、TNF- $\alpha$  的表达,改善炎症反应<sup>[17]</sup>。因此推测,五甲基槲皮素在 CSE 诱导的 AECOPD 细胞模型中也可能发挥其药效作用。在前期实验中,发现在 CSE 溶液开始刺激细胞的同时给予五甲基槲皮素,细胞所释放的 IL-6 和 IL-8 并没有发生变化,随后采取预防给药的方式继续探索五甲基槲皮素的作用。在加入预防用药 12 h 后,五甲基槲皮素可明显抑制细胞 IL-6 和 IL-8 的释放,这一结果确定了在 CSE 刺激下五甲基槲皮素对 BEAS-2B 细胞的保护作用。

Caspase 3 和 BCL-2 在细胞凋亡中扮演了重要的角色,本实验中发现,五甲基槲皮素可以抑制模型细胞中 Caspase 3 的表达,同时增加 BCL-2 的表达。此外,另有研究报道 JNK 的激活可通过从 BCL-2-Beclin1 复合物中释放 Beclin1 来促进自噬<sup>[18-19]</sup>,本研究也发现了高剂量的五甲基槲皮素对 JNK 也有一定的抑制作用。这些结果说明,五甲基槲皮素有减轻 BEAS-2B 细胞凋亡的潜在药理作用。

PI3K/AKT 信号通路可通过调控炎症介质释放等途径对气道炎性疾病产生影响,在 COPD 的发展中扮演了重要的角色。如图 4 所示,五甲基槲皮

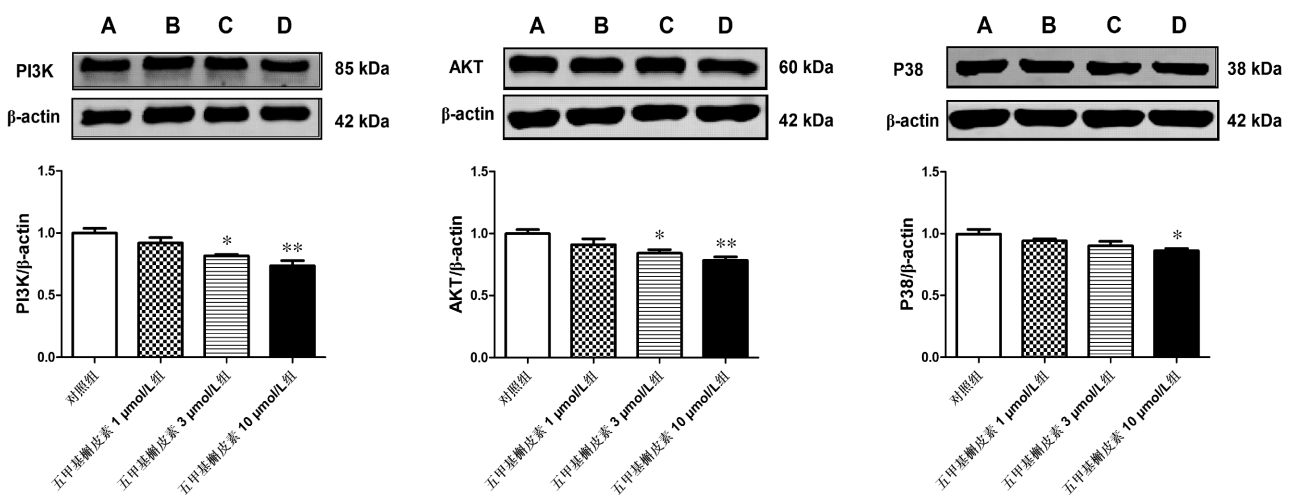


图 4 各组五甲基槲皮素对 AECOPD 模型中炎症因子的影响

注:A.对照组;B.五甲基槲皮素 1  $\mu\text{mol/L}$  组;C.五甲基槲皮素 3  $\mu\text{mol/L}$  组;D.五甲基槲皮素 10  $\mu\text{mol/L}$  组;与对照组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ 。

素可以剂量依赖性地抑制 PI3K、AKT 表达。另有文献报道,当气道上皮细胞暴露于挥发性香烟烟雾时, IL-8 也可通过 P38 释放进入培养基中<sup>[10]</sup>,本实验研究发现高剂量的五甲基槲皮素也可抑制 P38 的表达。这些结果提示,五甲基槲皮素可从多种途径改善细胞的炎性反应。

综上所述,五甲基槲皮素可通过抑制 PI3K/AKT、P38 信号通路,在 CSE 诱导 AECOPD 的模型中发挥抗炎作用;同时可抑制 Caspase 3 并上调 BCL-2,具有潜在的抗凋亡作用。因此,五甲基槲皮素可以用于预防 AECOPD 的发生和发展,具有潜在的药用价值。

## 参考文献

- [1] GUAN W J, RAN P X, ZHONG N S. Prevention and management of COPD in China: Successes and major challenges[J]. *The Lancet Respiratory Medicine*, 2016, 4(6): 428-430.
- [2] 陈凯,姚婧,杨华,等.孟景春教授治疗 COPD 临床经验[J].*陕西中医*,2021,42(2):235-238.
- [3] LIM S, LAM D C L, MUTTALIF A R, et al. Impact of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in the Asia-Pacific region: The EPIC Asia population-based survey[J]. *Asia Pacific Family Medicine*, 2015, 14(1): 4.
- [4] KO F W, CHAN K P, HUI D S, et al. Acute exacerbation of COPD[J]. *Respirology*, 2016, 21(7): 1152-1165.
- [5] WANG C X, ZHOU J D, WANG J Q, et al. Progress in the mechanism and targeted drug therapy for COPD[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2020, 5: 248.
- [6] LAU W K W, CUI L Y, CHAN S C H, et al. The presence of serotonin in cigarette smoke—a possible mechanistic link to 5-HT-induced airway inflammation[J]. *Free Radical Research*, 2016, 50(5): 495-502.
- [7] SHEN J Z, MA L N, HAN Y, et al. Pentamethylquercetin generates beneficial effects in monosodium glutamate-induced obese mice and C2C12 myotubes by activating AMP-activated protein kinase[J]. *Diabetologia*, 2012, 55(6): 1836-1846.
- [8] WANG Y, XIN X, JIN Z D, et al. Anti-diabetic effects of pentamethylquercetin in neonatally streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2011, 668(1/2): 347-353.
- [9] CHEN L, HE T, HAN Y, et al. Pentamethylquercetin improves adiponectin expression in differentiated 3T3-L1 cells via a mechanism that implicates PPAR $\gamma$  together with TNF- $\alpha$  and IL-6[J]. *Molecules*, 2011, 16(7): 5754-5768.
- [10] WEN X, WALLE T. Methylated flavonoids have greatly improved intestinal absorption and metabolic stability[J]. *Drug Metabolism and Disposition: the Biological Fate of Chemicals*, 2006, 34(10): 1786-1792.
- [11] WALLE U K, WALLE T. Bioavailable flavonoids: Cytochrome P450-mediated metabolism of methoxyflavones[J]. *Drug Metabolism and Disposition: the Biological Fate of Chemicals*, 2007, 35(11): 1985-1989.
- [12] LI S, LO C Y, HO C T. Hydroxylated polymethoxyflavones and methylated flavonoids in sweet orange (*Citrus sinensis*) peel[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(12): 4176-4185.
- [13] RITCHIE A I, WEDZICHA J A. Definition, causes, pathogenesis, and consequences of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations[J]. *Clinics in Chest Medicine*, 2020, 41(3): 421-438.
- [14] LIANG R, ZHANG W, SONG Y M. Levels of leptin and IL-6 in lungs and blood are associated with the severity of chronic obstructive pulmonary disease in patients and rat models[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2013, 7(5): 1470-1476.
- [15] KNOBLOCH J, SIBBING B, JUNGCK D, et al. Resveratrol impairs the release of steroid-resistant inflammatory cytokines from human airway smooth muscle cells in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2010, 335(3): 788-798.
- [16] ZHAO J M, HARPER R, BARCOWSKY A, et al. Identification of multiple MAPK-mediated transcription factors regulated by tobacco smoke in airway epithelial cells[J]. *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2007, 293(2): L480-L490.
- [17] Li Z, Zhang C, Du JX, et al. Adipocytes promote tumor progression and induce PD-L1 expression via TNF- $\alpha$ /IL-6 signaling[J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20:179.
- [18] WEI Y J, PATTINGRE S, SINHA S, et al. JNK1-mediated phosphorylation of bcl-2 regulates starvation-induced autophagy[J]. *Molecular Cell*, 2008, 30(6): 678-688.
- [19] PATTINGRE S, BAUVY C, CARPENTIER S, et al. Role of JNK1-dependent bcl-2 phosphorylation in ceramide-induced macroautophagy[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(5): 2719-2728.

(本文编辑 苏维)