

郭彩霞,于洪涛,石红梅,等. COX-2 基因对人胚肺成纤维诱导的 MRC-5 细胞生长及 Notch 信号通路的影响及其作用机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(3): 54-59.
Guo CX, Yu HT, Shi HM, et al. The role of COX-2 gene expression in TGF- β 1-induced growth and Notch signaling in human fetal lung fibroblasts [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(3): 54-59.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.03.009

COX-2 基因对 TGF- β 1 诱导的人胚肺成纤维细胞生长及 Notch 信号通路的影响及其作用机制

郭彩霞,于洪涛,石红梅,商玉立

(河南省胸科医院呼吸内科,郑州 450000)

【摘要】 目的 探讨抑制环氧合酶-2(COX-2)基因表达对 TGF- β 1 诱导的人胚肺成纤维细胞系 MRC-5 活力、胶原合成和转化及 Notch 信号通路的影响。方法 将 MRC-5 细胞分为对照组、TGF- β 1 组、NC 组和 COX-2-siRNA 组,各组细胞处理 48 h,Western blotting 检测 COX-2、胶原合成相关的 COL-I 和 COL-III、EMT 标志物 α -SMA 及 Notch 信号通路受体 Notch1 及配体 Jagged1 的蛋白表达;CCK8 法检测各组细胞活力。结果 TGF- β 1 组 COX-2 的表达显著高于对照组,COX-2-siRNA 组 COX-2 的表达显著低于 TGF- β 1 组($P<0.05$),NC 组 COX-2 的表达与 TGF- β 1 组差异无统计学意义($P>0.05$);与对照组比较,TGF- β 1 组细胞活力及 COL-I、COL-III、 α -SMA、Notch1 和 Jagged1 的蛋白表达均显著升高($P<0.05$),与 TGF- β 1 组比较,COX-2-siRNA 组细胞活力及 COL-I、COL-III、 α -SMA、Notch1 和 Jagged1 的蛋白表达均显著降低($P<0.05$)。结论 抑制 COX-2 基因表达中可能通过降低 MRC-5 细胞活力、抑制细胞胶原合成和转化,并下调 Notch 信号通路,从而对肺纤维化起保护作用。

【关键词】 COX-2 基因;肺间质纤维化;人胚肺成纤维细胞;增殖;Notch 信号通路

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 03-0054-06

The role of COX-2 gene expression in TGF- β 1-induced growth and Notch signaling in human fetal lung fibroblasts

GUO Caixia, YU Hongtao, SHI Hongmei, SHANG Yuli
(Henan Provincial Chest Hospital, Zhengzhou 450000, China)

【Abstract】 Objective To investigate the role of cyclooxygenase-2 (COX-2) gene expression in TGF- β 1-induced collagen synthesis, transformation and Notch signaling in human fetal lung fibroblasts. **Methods** Human fetal lung fibroblasts MRC-5 cells transfected with non-targeting control or COX-2-specific siRNAs were treated with or without TGF- β 1 for 48 h. Western blotting was used to detect COX-2 protein expression, alterations in the synthesis of COX-I and COX-III, and the EMT marker α -SMA, and changes in the expression of the Notch signal pathway receptor Notch1 and its cognate ligand Jagged1. Cell viability was assessed by CCK8 assay. **Results** COX-2 expression was significantly higher in the TGF- β 1 group than the control group. Transfection of cells with COX-2-specific siRNAs significantly attenuated TGF- β 1-dependent induction of COX-2 expression ($P<0.05$), while transfection of cells with control siRNAs had no effect. Cell viability and the expression of COX-I, COX-III, α -SMA, Notch1 and Jagged1 proteins were significantly increased in the

TGF- β 1 group ($P < 0.05$), when compared with the TGF- β 1 group, but were suppressed following the transfection of cells with COX-2 siRNA ($P < 0.05$). **Conclusions** Inhibition of COX-2 gene expression may play a protective role in pulmonary fibrosis by reducing lung fibroblast viability and suppressing the ability of these cells to synthesize collagen and activate Notch pathway signaling.

[Keywords] COX-2 gene; pulmonary interstitial fibrosis; human fetal lung fibroblasts; proliferation; Notch signaling pathway

肺间质纤维化 (pulmonary fibrosis, PF) 是由自身免疫、生物因素、物理因素、免疫因素等多种因素诱发的慢性肺部疾病发展至晚期的一个相同的病理变化,该病发病机制比较复杂,目前缺乏治疗该病的有效手段^[1]。因此,寻找治疗 PF 有效的途径成为研究者关注的热点。近些年研究显示,成纤维细胞可通过自身异常增殖及转型,作用于转化生长因子(TGF- β)、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)等一些炎症和细胞因子及上皮细胞,或分泌大量细胞外基质而间接的参与 PF 的发展进程^[2-3]。TGF- β 1 是促进纤维化的一个最重要的细胞因子,已有多项研究显示,PF 中 TGF- β 1 表达升高,TGF- β 1 可诱导肺成纤维细胞(FB)的增殖和转分化^[4-5]。因此,本研究采用 TGF- β 1 诱导人胚肺成纤维细胞系 MRC-5 以建立 PF 的模型。环氧合酶-2(COX-2)是一个重要的合成前列腺素过程中的限速酶,有研究显示,在 PF 大鼠及患者肺组织中存在 COX-2 的高表达,可能参与 PF 的发生发展^[6-7],但 COX-2 如何影响 PF 及机制尚未明确,因此,本研究通过 TGF- β 1 刺激及 COX-2 的 siRNA 转染人胚肺成纤维细胞 MRC-5,在细胞水平上检测抑制 COX-2 表达对 MRC-5 细胞活力、胶原合成、EMT 标志物及 Notch 信号通路的影响,以期为 PF 的治疗提供新的思路。

1 材料和方法

1.1 实验材料

人胚肺成纤维细胞系 MRC-5 购自美国 ATCC。

1.2 主要试剂与仪器

胎牛血清、DMEM 培养基、青链霉素双抗均购自美国 HyClone 公司;TGF- β 1 购自 Peprotech 公司;Lipofectamine™2000 转染试剂盒购自美国 Invitrogen 公司;实时荧光定量 PCR 试剂购自美国 Thermo 公司;LOWRY 蛋白定量试剂盒购自上海邦奕;COL-I、COL-III 抗体购自武汉博士德;COX-2、平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、Notch1 和 Jagged1 抗体均购自美国 Abcam;酶标仪购自美国 Bio-Rad。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养及转染

MRC-5 细胞在含有 10% 小牛血清及青霉素和链霉素各 100 U/mL 的 DMEM 高糖培养基中,置于 5%CO₂ 培养箱 37℃ 条件培养,细胞生长为贴壁,每 2 d 细胞进行一次传代,实验选择生长至对数期的细胞。转染前接种生长至对数期的 MRC-5 细胞于 6 孔培养板中用 DMEM(含有血清不含抗生素)培养,并将细胞浓度调整为每毫升含 $1.0 \times 10^5 \sim 2.0 \times 10^5$ 个细胞,细胞培养 24 h 贴壁,弃掉旧的培养液,将细胞分为对照组、TGF- β 1 组(2 μ g/L 的 TGF- β 1 刺激细胞)、COX-2-siRNA 组(2 μ g/L 的 TGF- β 1 刺激细胞 48 h 后再将 COX-2-siRNA 进行瞬时转染)和 NC 组(2 μ g/L 的 TGF- β 1 刺激细胞 48 h 后瞬时转染无干扰作用的 siRNA),转染参照 Lipofectamine™2000 说明,于培养箱中正常培养 48 h。

1.3.2 转染后的 MRC-5 细胞中 COX-2 的表达检测

参照 Trizol Regent 试剂盒说明提取转染后培养 48 h 的各组细胞中的总 RNA,参照逆转录试剂盒说明,采用 20 μ L 体系将总 RNA 反转录为 cDNA,参照 RT-PCR 说明,采用 20 μ L 的扩增体系,以 β -actin 为内参基因,通过荧光定量 PCR 仪对 COX-2 的表达进行扩增,引物均有上海生工合成,序列如下:COX-2 F 5'-GTCTGATGATGTATGCCACAATCTG-3', R 5'-GATGCCAGTGATAGAGGGTGTAAAA-3';扩增片段 276 bp。 β -actin F 5'-AACCCCTAAGCCAACCGTGAAAAG-3', R 5'-TCATGAGGTAGTCTGTCAAGGT-3'。扩增片段为 241 bp。PCR 反应条件为 94℃ 预变性 4 min,94℃ 变性 30 s,60℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 60 s,30 个循环,最后 72℃ 延伸 10 min,4℃ 保存。COX-2 相对表达量根据 RT-PCR 所得 Ct 均值通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算获得。

1.3.3 蛋白质印迹(Western blotting)

将 1 mL 的 RIPA(含有 10% 的 PMSF)蛋白裂解液加入转染后培养 48 h 的细胞,置于冰上裂解反应 30 min,离心,收集蛋白,Lowry 法对蛋白含量进行检测,每孔道取上样蛋白 50 μ g 进行电泳,电泳后半干

法转凝胶至 PVDF 膜,转好的 PVDF 膜于 50 g/L 的脱脂奶粉封闭液中封闭 2 h,洗膜,加入适当稀释比例的一抗 4℃ 过夜,COX-2、COL-I、COL-III、 α -SMA、Notch1 和 Jagged1 皆按照 1:500 稀释, β -actin 为 1:1000 稀释,洗膜后加入二抗,室温条件孵育二抗 1 h,ECL 试剂显色,置于暗室中显影定影。

1.3.4 各组细胞活力检测

收集转染后培养 48 h 的细胞,避光条件下加 MTT 溶液 10 μ L 于每孔中,5%CO₂ 培养箱 37℃ 条件培养 4 h,培养至时间后弃掉上清液,加入 DMSO 溶液 150 μ L 于每孔中,混合均匀后震荡 10 min,放入酶标仪在 490 nm 波长测定各组细胞各个孔的吸光度值(OD 值)。实验重复 3 次。

1.4 统计学方法

所有实验数据采用 SPSS 21.0 软件进行分析,计量资料用平均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组差异比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK-*q* 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

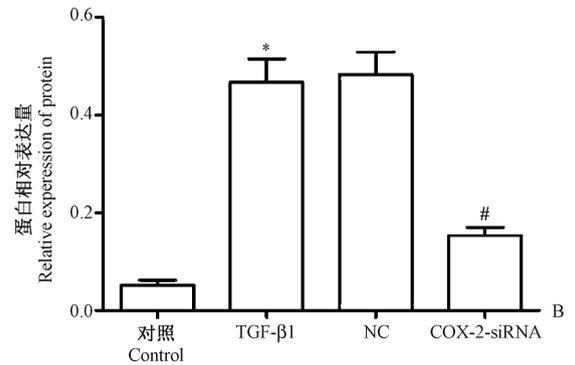
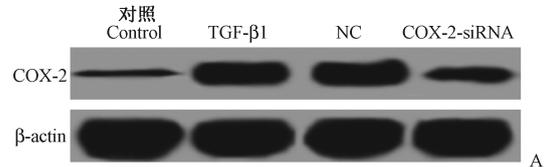
2 结果

2.1 TGF- β 1 诱导的 MRC-5 细胞中 COX-2 的表达

TGF- β 1 刺激 MRC-5 细胞 48 h 后,通过 Western blotting 检测 COX-2 在 MRC-5 细胞的表达,结果如图 1 所示,Control 组、TGF- β 1 组、NC 组和 COX-2-siRNA 组 COX-2 的蛋白表达分别为(0.052 \pm 0.010)、(0.467 \pm 0.048)、(0.483 \pm 0.046)、(0.153 \pm 0.017),Control 组、TGF- β 1 组、NC 组和 COX-2-siRNA 组 COX-2 的蛋白表达比较差异具有统计学意义($F=119.763, P<0.05$),TGF- β 1 组 COX-2 的表达显著高于对照组($P<0.05$),NC 组 COX-2 的表达与 TGF- β 1 组差异无统计学意义($P>0.05$),COX-2-siRNA 组 COX-2 的表达显著低于 TGF- β 1 组($P<0.05$)。

2.2 抑制 COX-2 表达对 TGF- β 1 诱导的 MRC-5 细胞活力的影响

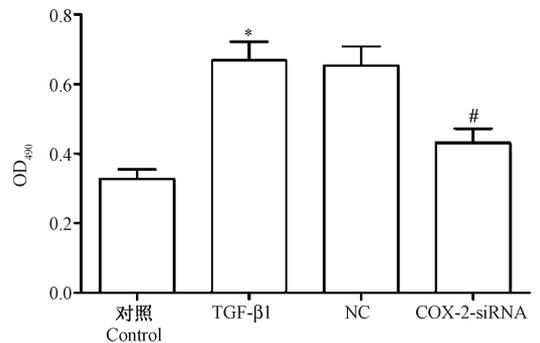
CCK8 法检测各组细胞活力结果如图 2 所示,Control 组、TGF- β 1 组、NC 组和 COX-2-siRNA 组 OD 值分别为(0.327 \pm 0.028)、(0.669 \pm 0.053)、(0.653 \pm 0.056)、(0.431 \pm 0.041),4 组 OD 值比较差异具有统计学意义($F=40.457, P<0.05$),与对照组比较,TGF- β 1 组 OD 值显著升高($P<0.05$),与 TGF- β 1 组比较,COX-2-siRNA 组 OD 值显著降低($P<0.05$)。



注:A:各组细胞中 COX-2 的蛋白表达;B: COX-2 的蛋白相对表达;与 Control 组比较,* $P<0.05$;与 TGF- β 1 组比较,# $P<0.05$ 。

图 1 COX-2 在 TGF- β 1 诱导的 MRC-5 细胞中的表达
Note. A: COX-2 protein expression in the cells of each experimental group. B: Relative COX-2 protein expression. Compared with the control group,* $P<0.05$. Compared with the TGF- β 1 group,# $P<0.05$.

Figure 1 COX-2 expression in the MRC-5 cells activated by TGF- β 1



注:与 Control 组比较,* $P<0.05$;与 TGF- β 1 组比较,# $P<0.05$ 。

图 2 抑制 COX-2 表达对 TGF- β 1 诱导的 MRC-5 细胞活力的影响

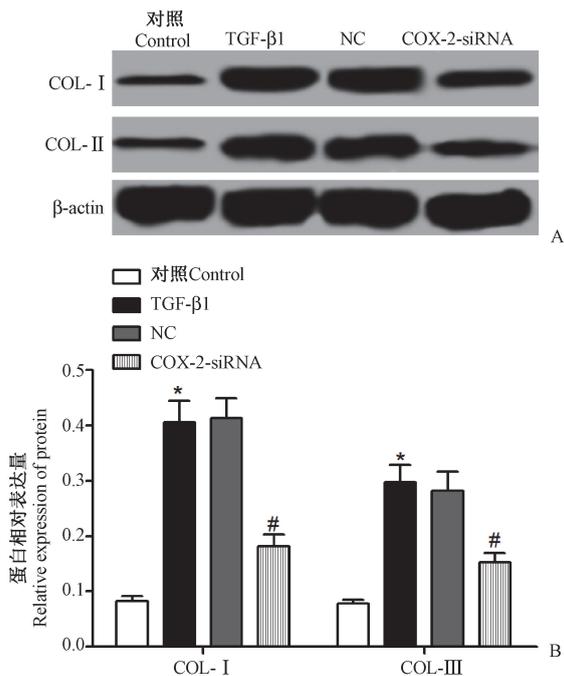
Note. Compared with the control group,* $P<0.05$. Compared with the TGF- β 1 group,# $P<0.05$.

Figure 2 The effects of inhibition of COX-2 expression on the TGF- β 1-dependent activation of MRC-5 cells

2.3 抑制 COX-2 表达对 TGF- β 1 诱导的 MRC-5 细胞胶原合成的影响

Western blotting 检测 COL-I 和 COL-III 的蛋白

表达,结果如图 3 所示,Control 组、TGF-β1 组、NC 组和 COX-2-siRNA 组 COL-I 的蛋白表达分别为 (0.083±0.008)、(0.405±0.039)、(0.413±0.036)、(0.182±0.021),COL-III 的蛋白表达分别为 (0.078±0.007)、(0.297±0.032)、(0.282±0.034)、(0.153±0.016),4 组 COL-I、COL-III 的蛋白表达比较差异具有统计学意义 ($F_1 = 97.995, F_2 = 53.442, P < 0.05$),与对照组比较,TGF-β1 组 COL-I 和 COL-III 的表达均显著升高 ($P < 0.05$),与 TGF-β1 组比较,COX-2-siRNA 组 COL-I 和 COL-III 的表达均显著降低 ($P < 0.05$)。



注:A:Western blotting 检测 COL-I 和 COL-III 的蛋白表达;B:COL-I 和 COL-III 的蛋白相对表达量;与 Control 组比较, * $P < 0.05$;与 TGF-β1 组比较, # $P < 0.05$ 。

图 3 抑制 COX-2 表达对 TGF-β1 诱导的 MRC-5 细胞胶原合成的影响

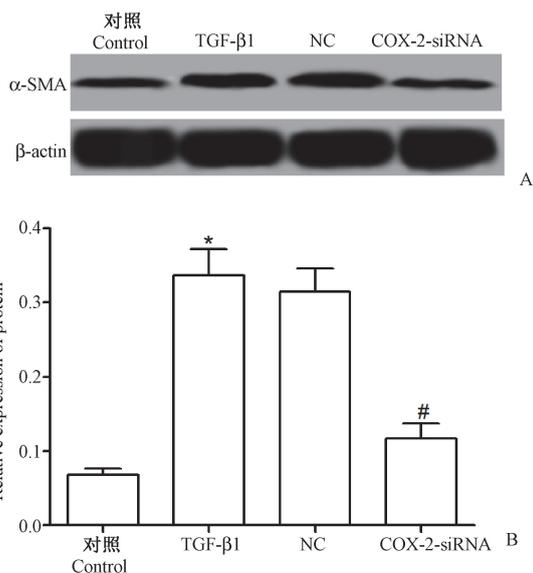
Note. A: Western blotting was used to detect the expression of COL-I and COL-III proteins. B: The relative expression of COL-I and COL-III protein. Compared with the control group, * $P < 0.05$. Compared with the TGF-β1 group, # $P < 0.05$.

Figure 3 The effects of inhibition of COX-2 expression on the TGF-β1-dependent synthesis of collagen in the MRC-5 cells

2.4 抑制 COX-2 表达对 TGF-β1 诱导的 MRC-5 细胞 EMT 标志物表达的影响

Western blotting 检测抑制 COX-2 表达对 TGF-β1 诱导的 MRC-5 细胞 EMT 标志物 α-SMA 的影响,

结果如图 4 所示,Control 组、TGF-β1 组、NC 组和 COX-2-siRNA 组 α-SMA 的蛋白表达分别为 (0.091±0.010)、(0.223±0.026)、(0.228±0.028)、(0.096±0.010),4 组 α-SMA 的蛋白表达比较差异具有统计学意义 ($F = 42.046, P < 0.05$),与对照组比较,TGF-β1 组 α-SMA 的表达显著升高 ($P < 0.05$),与 TGF-β1 组比较,COX-2-siRNA 组 α-SMA 的表达显著降低 ($P < 0.05$)。



注:A:Western blotting 检测 α-SMA 的蛋白表达;B:α-SMA 的蛋白相对表达量;与 Control 组比较, * $P < 0.05$;与 TGF-β1 组比较, # $P < 0.05$ 。

图 4 抑制 COX-2 表达对 TGF-β1 诱导的 MRC-5 细胞 EMT 标志物表达的影响

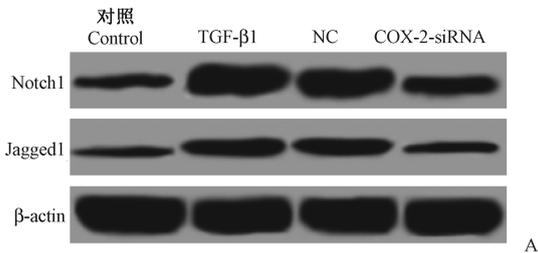
Note. A: Western blotting was used to detect α-SMA protein expression in MRC-5 cells. B: Relative α-SMA protein expression. Compared with the control group, * $P < 0.05$. Compared with the TGF-β1 group, # $P < 0.05$.

Figure 4 The effects of inhibition of COX-2 expression on the TGF-β1-dependent induction of EMT markers in the MRC-5 cells

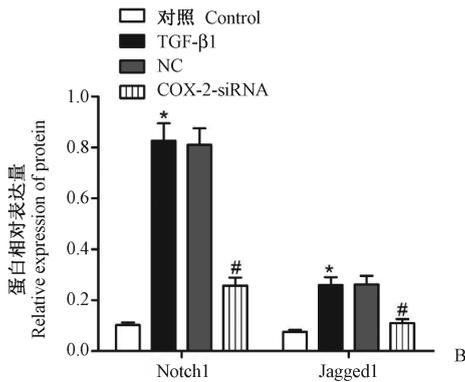
2.5 抑制 COX-2 表达对 TGF-β1 诱导的 MRC-5 细胞 Notch 信号通路的影响

通过 Western blotting 检测 Notch 信号通路受体 Notch1 和配体 Jagged1 的蛋白表达,结果如图 5 所示,Control 组、TGF-β1 组、NC 组和 COX-2-siRNA 组 Notch1 的蛋白表达分别为 (0.102±0.010)、(0.826±0.069)、(0.810±0.065)、(0.257±0.032),Jagged1 的蛋白表达分别为 (0.075±0.008)、(0.259±0.031)、(0.262±0.034)、(0.109±0.017),4 组的 Notch1、Jagged1 的蛋白表达比较差异具有统计学意

义 ($F_1 = 166.102, F_2 = 46.923, P < 0.05$), 与对照组比较, TGF- β 1 组 Notch1 和 Jagged1 的表达均显著升高 ($P < 0.05$), 与 TGF- β 1 组比较, COX-2-siRNA 组 Notch1 和 Jagged1 的表达均显著降低 ($P < 0.05$)。



A



B

注: A: Western blotting 检测 Notch1 和 Jagged1 的蛋白表达; B: Notch1 和 Jagged1 的蛋白相对表达量; 与 Control 组比较, * $P < 0.05$; 与 TGF- β 1 组比较, # $P < 0.05$ 。

图 5 抑制 COX-2 表达对 TGF- β 1 诱导的 MRC-5 细胞 Notch 信号通路的影响

Note. A: Western blotting was used to detect Notch1 and Jagged1 protein expression. B: Relative expression of Notch1 and Jagged1 protein. Compared with the control group, * $P < 0.05$. Compared with the TGF- β 1 group, # $P < 0.05$.

Figure 5 The effects of inhibition of COX-2 expression on Notch pathway signaling in the MRC-5 cells activated by TGF- β 1

3 讨论

PF 是常见的一种肺间质疾病, 目前尚缺乏治疗该病的有效方法, 已有研究表明肺 FB 的增殖、分化、活化是影响 PF 的中心事件^[9]。FB 的增殖或凋亡不足是形成 PF 的一个重要环节, 降低 FB 的增殖和活化, 诱导其凋亡可有效的降低 PF^[10]。目前 PF 的病因及发病机制尚未清楚, 但可以明确的是多种细胞因子影响了 PF 的发生发展, TGF- β 在这些细胞因子中尤为重要, TGF- β 可促使 FB 表型向肌 FB 表型转化, 而肌 FB 内的 α -SMA 与组织器官收缩存在密切联系, 且在 PF 发病机制中发

挥重要作用^[11-12]。目前, 已有大量研究表明 TGF- β 1 可通过刺激 FB 细胞的增殖、胶原合成、分化等, 从而引起 PF 的发生发展^[13-14]。COX-2 是一个重要的在合成前列腺素过程中的限速酶, 目前在 PF 中的研究较少, 有研究显示, 在肺纤维化大鼠及患者肺组织中存在 COX-2 的高表达, COX-2 的抑制剂可降低肺泡早期炎症^[15-16]; 抑制肺组织中 COX-2 表达可对大鼠肺损伤起到保护作用^[17]。目前关于 COX-2 对 TGF- β 1 诱导的 FB 生长影响尚未明确。

鉴于此, 本研究试图在细胞水平上研究抑制 COX-2 表达对 MRC-5 细胞影响, 通过 TGF- β 1 刺激及 COX-2 的 siRNA 转染 MRC-5, 可发现 TGF- β 1 刺激可明显提升 MRC-5 细胞活力, 而抑制 COX-2 后细胞活力明显降低。提示 COX-2 可影响 TGF- β 1 诱导的 MRC-5 细生长。

在 PF 时可形成大量胶原纤维, 在 PF 时肺内的胶原蛋白代谢失衡, 肺间质可沉积大量的胶原纤维, 随着数量增多最终可导致肺发生弥漫性纤维化^[18-19]。COL-I 和 COL-III 是胶原纤维主要生化成分, 有研究显示, 在 PF 时 COL-I 和 COL-III 的表达均明显增多^[20]。在 TGF- β 1 诱导的 PF 中, α -SMA、波形蛋白、N-钙黏蛋白等间质表型标志物表达升高, 因此选择 α -SMA 作为评定 TGF- β 1 诱导的上皮间充质转化的机制^[21]。本研究结果显示, TGF- β 1 刺激可上调 COL-I、COL-III、 α -SMA 表达, 而 COX-2-siRNA 可抑制其表达。这提示抑制 COX-2 表达可通过下调 COL-I、COL-III、 α -SMA 表达降低 PF 的胶原合成及转化。

多项研究表明, Notch 信号通路在 PF 中发挥重要作用, 尤其在 FB 向肌 FB 转化中尤为重要^[22]。有研究显示, Notch 信号通路受体 Notch1 和配体 Jagged1 在 TGF- β 1 刺激 FB 细胞中表达升高, 阻断 Notch 信号通路后 Notch1 和 Jagged1 的表达均明显降低^[23-24]。本研究结果显示, TGF- β 1 刺激可上调 MRC-5 细胞 Notch1 和 Jagged1 的表达, COX-2-siRNA 可降低 MRC-5 细胞 Notch1 和 Jagged1 的表达。提示 COX-2 可能通过抑制 Notch 信号通路降低 PF 发生发展。

综上所述, 本研究发现抑制 COX-2 基因表达可能通过降低人胚肺成纤维细胞系 MRC-5 细胞活力、抑制胶原合成和转化及下调 Notch 信号通路, 从而对肺纤维化起保护作用。本研究提示 COX-2 可能是一个反映纤维化程度的新型指标, 可能成为新的

用于抗肺纤维化的分子治疗靶点。值得进一步深入探究。

参考文献:

- [1] Raghu G, Lynch D, Godwin JD, et al. Diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis with high-resolution CT in patients with little or no radiological evidence of honeycombing: secondary analysis of a randomised, controlled trial[J]. *Lancet Resp Med*, 2014, 2(4): 277-284.
- [2] Chen X, Shi C, Meng X, et al. Inhibition of Wnt/ β -catenin signaling suppresses bleomycin-induced pulmonary fibrosis by attenuating the expression of TGF- β 1 and FGF-2[J]. *Exp Molec Pathol*, 2016, 101(1): 22-30.
- [3] Li S, Geng J, Xu X, et al. miR-130b-3p modulates epithelial-mesenchymal crosstalk in lung fibrosis by targeting IGF-1[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0150418.
- [4] Tang H, Gao L, Mao J, et al. Salidroside protects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis: activation of Nrf2-antioxidant signaling, and inhibition of NF- κ B and TGF- β 1/Smad-2/-3 pathways[J]. *Cell Stress Chaper*, 2016, 21(2): 239-249.
- [5] Gu H, Mickler EA, Cummings OW, et al. Crosstalk between TGF- β 1 and complement activation augments epithelial injury in pulmonary fibrosis[J]. *The FASEB Journal*, 2014, 28(10): 4223-4234.
- [6] 杨文静, 王璐, 孙锐. 不同浓度柚皮苷对人宫颈癌 HeLa 细胞体外增殖及其 COX-2 表达影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2016, 32(8): 1200-1203.
- [7] Selman M, Pardo A. Revealing the pathogenic and aging-related mechanisms of the enigmatic idiopathic pulmonary fibrosis. An integral model[J]. *Am J Resp Crit Care Med*, 2014, 189(10): 1161-1172.
- [8] Hams E, Armstrong M E, Barlow J L, et al. IL-25 and type 2 innate lymphoid cells induce pulmonary fibrosis[J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2014, 111(1): 367-372.
- [9] Im J, Kim K, Hergert P, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis fibroblasts become resistant to Fas ligand-dependent apoptosis via the alteration of decoy receptor 3[J]. *J Pathol*, 2016, 240(1): 25-37.
- [10] Huang SK, Scruggs AM, McEachin RC, et al. Lung fibroblasts from patients with idiopathic pulmonary fibrosis exhibit genome-wide differences in DNA methylation compared to fibroblasts from nonfibrotic lung[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e107055.
- [11] Hung C, Linn G, Chow Y H, et al. Role of lung pericytes and resident fibroblasts in the pathogenesis of pulmonary fibrosis[J]. *Am J Resp Crit Care Med*, 2013, 188(7): 820-830.
- [12] 施莹, 林玲, 阚佳音, 等. miR-200c 阻滞转化生长因子- β 1 在腹膜后成纤维细胞增殖和迁移侵袭中的作用[J]. *中国免疫学杂志*, 2017, 33(7): 1005-1008.
- [13] Elkouris M, Kontaki H, Stavropoulos A, et al. SET9-mediated regulation of TGF- β signaling links protein methylation to pulmonary fibrosis[J]. *Cell Reports*, 2016, 15(12): 2733-2744.
- [14] Aschner Y, Khalifah AP, Briones N, et al. Protein tyrosine phosphatase α mediates profibrotic signaling in lung fibroblasts through TGF- β responsiveness[J]. *Am J Pathol*, 2014, 184(5): 1489-1502.
- [15] Cahill EF, Kennelly H, Carty F, et al. Hepatocyte growth factor is required for mesenchymal stromal cell protection against bleomycin-induced pulmonary fibrosis[J]. *Stem cell Transl Med*, 2016, 5(10): 1307-1318.
- [16] Impellizzeri D, Talero E, Siracusa R, et al. Protective effect of polyphenols in an inflammatory process associated with experimental pulmonary fibrosis in mice[J]. *Br J Nutr*, 2015, 114(6): 853-865.
- [17] Zago M, Sheridan JA, Traboulsi H, et al. Low levels of the AhR in chronic obstructive pulmonary disease (COPD)-derived lung cells increases COX-2 protein by altering mRNA stability[J]. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0180881.
- [18] 王笑英, 韩玲, 干泳华. 桔梗总皂苷抗大鼠肺纤维化作用的机制[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(11): 2957-2958.
- [19] Li FZ, Cai PC, Song LJ, et al. Crosstalk between calpain activation and TGF- β 1 augments collagen-I synthesis in pulmonary fibrosis[J]. *Biochim Biophys Acta-Mol Basis Dis*, 2015, 1852(9): 1796-1804.
- [20] Zhang Z, Nie F, Kang C, et al. Increased periostin expression affects the proliferation, collagen synthesis, migration and invasion of keloid fibroblasts under hypoxic conditions[J]. *Int J Mol Med*, 2014, 34(1): 253-261.
- [21] Neveu WA, Mills ST, Staitieh BS, et al. TGF- β 1 epigenetically modifies Thy-1 expression in primary lung fibroblasts[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2015, 309(9): C616-C626.
- [22] Cao Z, Lis R, Ginsberg M, et al. Targeting of the pulmonary capillary vascular niche promotes lung alveolar repair and ameliorates fibrosis[J]. *Nat Med*, 2016, 22(2): 154-162.
- [23] Yang G, Yang L, Wang W, et al. Discovery and validation of extracellular/circulating microRNAs during idiopathic pulmonary fibrosis disease progression[J]. *Gene*, 2015, 562(1): 138-144.
- [24] Hu B, Wu Z, Bai D, et al. Mesenchymal deficiency of Notch1 attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis[J]. *Am J Pathol*, 2015, 185(11): 3066-3075.

[收稿日期] 2018-10-20