上皮-间质转化在肺纤维化中的研究进展

陈圻，黄文海，沈正荣，马臻*(浙江省医学科学院药物研究所，杭州 310013)

摘要：肺纤维化是众多肺部疾病的最终表现结果，其形成过程十分复杂，发生的机制也尚未完全阐明。目前的研究发现，上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition，EMT)是肺纤维化发病机制中的一个关键步骤。转化生长因子-β、Notch和Wingless-type信号通路是普遍认可的介导调控EMT的信号通路。微小核糖核酸及内质网应激等在EMT过程中发挥重要作用。充分认识EMT在肺纤维化发生发展中的作用，有助于寻找治疗肺纤维化的新方法和新药物。本文就近年来国内外学者对EMT在肺纤维化中的研究新进展进行综述。

关键词：肺纤维化；上皮-间质转化；发病机制；转化生长因子-β；微小核糖核酸；内质网应激

中图分类号：R966　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1007-7693(2019)09-1155-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.09.027

引用本文：陈圻，黄文海，沈正荣，等. 上皮-间质转化在肺纤维化中的研究进展[J]. 中国现代应用药学，2019，36(9)：1155-1160.

Research Progress of Epithelial-mesenchymal Transition in Pulmonary Fibrosis

CHEN Qi, HUANG Wenhai, SHEN Zhengrong, MA Zhen*(*Institute of Materia Medica, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China*)

ABSTRACT: Pulmonary fibrosis is the final manifestation of many lung diseases. The formation of lung fibrosis is complex and the mechanism of its occurrence has not been clearly elucidated yet. Recent research showed that epithelial-mesenchymal transition(EMT) is a key step of pulmonary fibrosis. Major signaling pathways involve in EMT include transforming growth factor-β, Notch and Wingless-type signaling pathways. MicroRNAs and endoplasmic reticulum stress play critical roles in the process of EMT. Fully understanding the role of EMT in the development of pulmonary fibrosis will be conducive in search of new methods and new drugs for the treatment of pulmonary fibrosis. In this paper, the latest impacts of EMT on pulmonary fibrosis were systematically reviewed.

KEYWORDS: pulmonary fibrosis; epithelial-mesenchymal transition; pathogenesis; transforming growth factor-β; microRNAs; endoplasmic reticulum stress

肺纤维化是众多肺部疾病的最终表现结果，一般指多种原因致肺组织损伤后的病理过程，早期表现为弥漫性肺炎，后期为成纤维细胞过度增生和细胞外基质(extracellular matrix，ECM)过度沉积[1]。临床表现为进行性呼吸困难并伴有刺激性干咳，且随着病情加重，患者呼吸功能不断恶化，最终因呼吸衰竭而死亡[2]，患者在诊断之后的中位生存期仅为2~3年[3]。肺纤维化是一种复杂的肺间质疾病，基因异常、自身免疫、职业暴露、创伤、放射性元素、药物及病原微生物感染等多种因素均可引发肺纤维化。由于发病机制不明，目前临床上缺乏疗效显著的治疗药物[4]，防治肺纤维化的新方法和新药物成为国内外肺科学界关注的热点。

肺纤维化形成过程复杂，发生发展机制尚未完全阐明。目前的研究认为，肺泡上皮细胞的损伤、肺泡上皮和成纤维细胞相互作用以及上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition，EMT)是肺纤维化发病机制中的关键[5]。EMT通过其上游相关信号通路引起纤维化效应，干预或阻断EMT的相关效应分子，可抑制肺纤维化的发生发展[6]。随着分子生物学技术的不断进步，近年来研究人员发现一些具有调节功能的微小核糖核酸(microRNAs，miRNAs)及内质网应激(endoplasmic reticulum stress，ERS)与EMT相关基因表达之间关系密切。本文拟对EMT在肺纤维化中的研究新进展予以综述。

1　EMT概述

EMT是一种完全分化的上皮细胞在外界因素

基金项目：浙江省科技计划项目(2017F30004)；浙江省神经精神疾病药物研究重点实验室(2019E10021)；浙江省医学重点学科群项目(XKQ-010-001)；浙江省自然科学基金(LY16H310010)

作者简介：陈圻，男，硕士生　Tel: (0571)88215626　E-mail: coolkidcq@hotmail.com　***通信作者：**马臻，女，副研究员，硕导　Tel: (0571)88215626　E-mail: mazhen@zjams.com.cn

作用下逐渐转变为间充质细胞，并失去上皮细胞原有功能的过程[7]。在 EMT 过程中，上皮细胞在细胞转录调控、细胞骨架形状、细胞粘附和 ECM 成分方面发生显著变化[8]。正常状况下，上皮细胞通过细胞之间粘附机制紧密连接；EMT 过程中，细胞功能发生变化，与相邻细胞分离并迁移到邻近组织[9]。上皮细胞标志物如 E-钙黏蛋白(E-cadherin)、胞质紧密黏连蛋白-1(zonula occludens-1，ZO-1)和 α-连环蛋白(α-catenin)等表达降低；间质细胞标志物如成纤维细胞特异蛋白(fibroblast specific protein-1，FSP-1)、N-钙黏蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(vimentin)、纤连蛋白(fibronectin)和 α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin，α-SMA)等表达升高[7]。

根据发生的生物学环境不同，EMT 可分为 3 种亚型。1 型与胚胎发育过程相关：在胚胎发育期，EMT 参与胚层分化、器官形成、神经系统分化等过程。2 型发生于组织修复、再生和器官纤维化中。正常情况下，当炎症反应减退后，2 型 EMT 自行停止；当损伤和炎症持续时，2 型 EMT 将继续存在，所产生的纤维母细胞聚集[10]。3 型参与肿瘤的转移扩散。在该过程中，上皮细胞失去极性，细胞粘附系统消失，细胞骨架改变，产生细胞的运动结构，使上皮细胞变形、迁移、运动能力和抗凋亡能力增强，为肿瘤细胞的转移做准备。与 1 型和 3 型相比，2 型 EMT 由持续的损伤和炎症引起，是器官纤维化的一个重要过程[11]。

2　EMT 的主要信号通路

肺泡上皮细胞(alveolar epithelial cells，AECs)是肺组织受到损伤发生 EMT 的效应细胞。AECs 可分为Ⅰ型肺泡上皮细胞(AECⅠ)和Ⅱ型肺泡上皮细胞(AECⅡ)。AECⅡ是肺泡上皮细胞的干细胞，能增殖成新的 AECⅡ，也能分化成其他上皮细胞如 AECⅠ。在一些特定条件(如炎症、损伤)下 AECⅡ向 AECⅠ分化受到抑制，AECⅡ通过 EMT 过程转化为间质细胞，进而促进肺纤维化的形成[12]。

在 EMT 过程中，转化生长因子-β(transforming growth factor-β，TGF-β)、Notch、Wingless-type(Wnt)等公认的信号通路被激活并起到重要作用，见图 1。本文总结了 EMT 相关的信号分子在肺纤维化中的研究新进展，讨论了可作为未来肺纤维化潜在的治疗靶点。

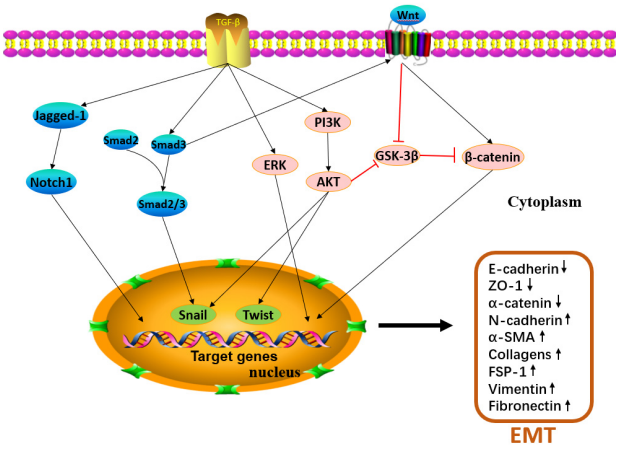


图 1　参与 EMT 过程的主要信号通路

Fig. 1　Major signaling pathways involved in the EMT

2.1　TGF-β 及其交叉串扰

TGF-β 信号通路是目前研究较多的、广泛认可的介导调控 EMT 的信号通路。在哺乳动物中，TGF-β 有 3 种亚型，在组织纤维化中主要是 TGF-β1 起作用。TGF-β1 信号通路通过 Smad 依赖型和非 Smad 依赖 2 种途径调控 EMT[13]。

TGF-β1 和 TGF-β1 有关蛋白是 EMT 中最重要的诱导因子。Molina 等[14]用 TGF-β1 诱导人 AECs，发现 AECs 中 α-SMA、Ⅰ型胶原蛋白(collagen Ⅰ，Col Ⅰ)、波形蛋白等表达增加；细胞形态转变为成纤维细胞，证实发生 EMT。Wang 等[15]在博来霉素诱导的肺纤维化小鼠模型中，检测到热休克蛋白 27 和 Smad3 表达显著升高，激活细胞外调节蛋白激酶信号通路促进 EMT。TGF-β1/Smads 可诱导下游的转录因子 Snail 导致 α-SMA 表达，促进 EMT；而核因子 2 相关因子 2(nuclear factor erythroid-2-related factor 2，Nrf2)基因可抑制 Snail 表达、减弱 EMT，进而减轻纤维化。Zhou 等[16]在 Nrf2 基因敲除小鼠和正常野生型小鼠气管内分别注入博来霉素，发现 Nrf2 基因敲除小鼠组 Snail 表达较正常野生型小鼠组显著升高，同时 E-cadherin 表达升高，α-SMA 和波形蛋白表达降低，提示 Nrf2 抑制 Snail 表达减弱 EMT。Lyu 等[17]发现博来霉素诱导的肺纤维化大鼠模型中 TGF-β1、Smad2/3、磷酸化 Smad2/3(p-Smad 2/3)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor，TNF-α)等表达增加，加入石荠苧总黄酮干预可显著降低 TGF-β1、Smad2/3、p-Smad2/3、TNF-α 表达，减少肌成纤维细胞的生成以及 α-SMA 的表达，有效延缓肺纤维化的进程。高效低毒的 TGF-β 抑制剂

可用于肺纤维化的治疗。吡非尼酮是目前唯一一个已经上市的用于治疗特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis，IPF)的 TGF-β 抑制剂。伊非尼酮(HEC585)是中国东阳光药业公司开发的一种与吡非尼酮结构类似的嘧啶酮类化合物，在动物试验中显著降低 TGF-β 水平并抑制胶原增生，2017 年进入 IPF 的Ⅰ期临床试验(NCT03092102)。

TGF-β1 也可通过非 Smad 依赖途径调控 EMT 过程。磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(phosphatidylinositide 3-kinases/AKT，PI3K/AKT)信号通路的激活，促进细胞内 Snail1、Snail2、E 盒结合锌指蛋白(ZEB1、ZEB2)和 Twist 等与 EMT 密切相关的核转录因子表达，直接抑制 E-cadherin 表达[18]。另外 PI3K/AKT 信号通路的激活上调基质金属蛋白酶水平，促进 E-cadherin 的降解，间接促进 EMT[19]。PI3K 与 TGF-β 可协同调节 EMT。Polimeni 等[20]将碳纳米管样品加入人支气管上皮细胞的培养液，发现碳纳米管增加 TGF-β 水平，激活 AKT，抑制糖原合成酶激酶-3β(glycogen synthese kinase-3β，GSK-3β)，增加 Snail1 的转录活性，促进 EMT，对生物体造成潜在毒性。抑制 PI3K/Akt 信号通路可作为肺纤维化防治的策略。HEC68498 是中国东阳光药业公司开发的一种 PI3K 高度选择性抑制剂，在动物试验中表现出良好的抗纤维化活性，2018 年进入 IPF 的Ⅰ期临床试验(NCT03502902)。GSK2126458 是英国葛兰素史克公司研发的另一种新型 PI3K 抑制剂，化学名为 2,4-二氟-N-[2-甲氧基-5-[4-(4-哒嗪基)-6-喹啉基]-3-吡啶基]苯磺酰胺(CAS：1086062-66-9)，2012 年进入 IPF 的Ⅰ期临床试验(NCT01725139)，评估其安全性、耐受性和药动学性质，最近已完成。结果显示安全性良好，磷酸化的 AKT 蛋白与未磷酸化 AKT 蛋白的比值(pAKT/AKT)与预测的药理学结果相一致。

Notch 通路是 EMT 的另一个上游信号通路。Notch 通路与 TGF-β1 之间有着广泛的联系。Gao 等[21]在 TGF-β1 诱导大鼠 AEC Ⅱ发生 EMT 实验中发现，大黄素通过 Notch 通路抑制 AEC Ⅱ的增殖，降低 Col Ⅰ、α-SMA 和波形蛋白的表达，增加 E-cadherin 表达。另有研究指出 TGF-β1 通过上调 Notch1 的配体 Jagged-1 的表达激活 Notch 信号通路。Zhou 等[22]在博来霉素诱导的肺纤维化大鼠模型中腹腔注射黄芪注射液，检测到肺组织中 α-SMA、TGF-β1、Jagged-1 和 Notch1 水平显著降低，证实黄芪可抑制 Jagged-1 表达减轻 EMT，减轻肺泡纤维化程度。

2.2 Wnt/β-连环蛋白(β-catenin)

Wnt/β-catenin 信号通路是 EMT 发生的又一条重要信号通路[23]。Song 等[24]发现博来霉素诱导的肺纤维化小鼠中，波形蛋白及其信使 RNA(messenger RNA，mRNA)水平均上调，α-SMA、Col Ⅰ、β-catenin 表达增加。Zhang 等[25]在链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠模型中发现肺组织中 α-SMA、Col Ⅰ、Col Ⅲ和羟脯氨酸表达增加，该作者还指出，沉默细胞分裂周期蛋白 42 相关蛋白 4(CIP4)可降低 α-SMA、GSK-3β 和 β-catenin 水平，增加 E-cadherin 表达，提示降低 CIP4 蛋白可阻断 Wnt/β-catenin 信号通路抑制 EMT，减轻肺纤维化。Guan 等[26]在 TGF-β1 诱导的肺纤维化人胚肺成纤维细胞模型和小鼠模型中发现 Wnt 受体卷曲蛋白-7(frizzled-7，FZD7)表达明显增加，证实 TGF-β1 通过 Smad3 途径上调 FZD7 表达发生 EMT；沉默 FZD7 蛋白可抑制 TGF-β1 诱导引起的 α-SMA、Col Ⅰ、纤连蛋白和结缔组织生长因子的过表达，提示 FZD7 通过非经典 Wnt 信号通路介导 TGF-β1 诱导的肺纤维化，靶向抑制 FZD7 可作为干预肺纤维化的研究策略。Chen 等[27]指出在博来霉素诱导的肺纤维化小鼠肺泡上皮细胞和小鼠模型中，通过 Wnt/β-catenin 信号通路的激活上调 TGF-β1 和成纤维细胞生长因子 2(fibroblast growth factor 2，FGF-2)水平；进一步研究发现阻断 Wnt/β-catenin 通路，可显著降低博来霉素诱导的肺纤维化模型中 TGF-β1、FGF-2、α-SMA、Col Ⅰ表达，提示通过抑制 Wnt/β-catenin 信号通路控制过表达的 TGF-β1 和 FGF-2 水平可作为治疗肺纤维化的潜在策略。

3 EMT 的新进展

3.1 MiRNAs

MiRNAs 是一类长度约为 20～24 个核苷酸的非编码 RNA，能识别靶 mRNAs 而影响相关编码蛋白的表达。近来研究发现一些具有调节功能的 miRNAs 对肺纤维化 EMT 的调控极为重要[28]。

多种 miRNAs 能影响 Smad 蛋白的表达进而调控 TGF-β1 诱导的 EMT。Li[29]等在博来霉素诱导的肺纤维化小鼠模型和 TGF-β1 诱导的 A549 细胞中均发现 miR-5100 表达上调。miR-5100 促进 A549

细胞和人正常肺上皮 Beas-2B 细胞迁移并显著上调 p-Smad2/3 的表达，降低 E-cadherin 蛋白水平、增加 N-cadherin 蛋白与波形蛋白水平，提示 miR-5100 激活 TGF-β1/Smad 信号通路促进 EMT。Zhang 等[30]发现在博来霉素诱导的肺纤维化小鼠模型中 miR-18a-5p 低表达；在胸膜间皮细胞中 miR18a-5p 与 TGF-β Ⅱ型受体的 3’端非翻译区结合从而降低 TGF-β Ⅱ型受体表达。miR18a-5p 过表达组 p-Smad2/3、Col Ⅰ、α-SMA 水平显著降低；加入小干扰 RNA miR18a-5p，干扰组 p-Smad2/3 水平显著升高，提示 miR18a-5p 通过抑制 TGF-β1/Smad2/3 信号通路减弱 EMT 发生。Stolzenburg 等[31]指出 miR-1343 与 TGF-β Ⅰ、Ⅱ型受体的 3’端非翻译区靶向结合而降低受体表达。在 TGF-β1 诱导的 A549 细胞发生 EMT 的模型中，miR-1343 转染后显著降低 p-Smad2/3 水平，降低 Col Ⅰ、α-SMA 表达。

还有一些 miRNAs 间接影响 TGF-β1/Smad 信号通路调控 EMT。Wang 等[32]在特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis，IPF)患者的肺组织、TGF-β1 诱导的 A549 细胞和人支气管上皮 HBE 细胞中均发现 miR-221 低表达，而转录因子人高迁移率族 AT-hook 蛋白 2(high mobility group AT-hook 2，HMGA2)高表达。在 TGF-β1 诱导 A549、HBE 发生 EMT 的模型中，miR-221 转染后显著降低 p-Smad3、HMGA2 水平，降低 N-cadherin、Col Ⅰ、α-SMA 水平并抑制细胞增殖。双荧光素标记酶报告显示 HMGA2 是 miR-221 的直接靶点，miR-221 抑制 HMGA2 最终减弱 EMT。Zhuang 等[33]发现在博来霉素诱导的肺纤维化小鼠模型中 miR-338 低表达。Targetscan 预测以及相关实验证实 Smoothened(Smo)蛋白是 miR-338 的下游直接靶点。即使没有 TGF-β 诱导，Smo 的过表达也会导致人支气管上皮 NuLi-1 细胞的纤维化表型；而下调 Smo 蛋白的表达可部分减弱 TGF-β1 诱导的 NuLi-1 细胞发生 EMT。在博来霉素诱导的肺纤维化小鼠模型中，慢病毒介导的 miR-338 过表达抑制 Smo 蛋白表达进而减缓 EMT。

深入探究 miRNA 与肺纤维化 EMT 相关基因表达之间的密切关系，可为肺纤维化的诊断与治疗提供新策略。2018 年 4 月美国天普大学开展了一项关于 miR200 家族作为早期 IPF 生物标志物的临床研究(NCT03457935)。通过对 IPF 患者和非 IPF 肺间质性肺炎患者血液样品中 miR200 水平的比对统计，寻求早期 IPF 的生物标志物，希望这些标志物的发现能加速 IPF 新药的研发进程。

3.2 ERS

近年发现 ERS 和未折叠蛋白反应(unfolded protein response，UPR)在器官纤维化中起重要作用[34]。ERS 是指多种细胞内外应激因素引起细胞内质网功能障碍。当内质网负担过重，细胞会通过 UPR 改善蛋白质折叠，维持细胞内平衡，在应激条件下对细胞起保护作用，但亦可能导致更严重的 ERS[35]。ERS 和非受体酪氨酸激酶(c-Src)影响 UPR 促进 EMT 发生。Lee 等[36]在 TGF-β1 诱导 A549 发生 EMT 的研究中发现：α-SMA 等间质标志物水平升高的同时，细胞更具迁移能力，ERS 标志物如 X 盒结合蛋白 1(XBP-1)、葡萄糖调节蛋白 78(GRP78)表达增加；加入 c-Src 蛋白抑制剂 PP2 或 ERS 抑制剂 4-苯基丁酸(4PBA)均能阻断 TGF-β1 诱导的 EMT 过程。ERS 除了影响 AECs 存活外，还可影响其分化，导致细胞表型变化，直接参与 EMT 的过程[37]。Liu 等[38]发现博来霉素或衣霉素通过上调 A549 细胞中组蛋白去乙酰化酶(HDAC)诱导 ERS 并促进 EMT，α-SMA、N-cadherin 和 Col Ⅰ的表达增加，加入 HDAC 抑制剂伏立诺他后细胞形态和间质细胞相关标志物无明显变化，提示抑制 EMT。最近美国加州大学开展了一项 IPF 生物标记物的发现研究(NCT01718990)，通过对 IPF 受试者的支气管肺泡灌洗液、肺泡巨噬细胞和血液样本的分析，寻求可靠的 ERS 与 EMT 的新标志物。

3.3 胶原

胶原是 ECM 的重要组成部分。当肺泡上皮细胞发生 EMT 后，胶原合成降解的平衡被打破，胶原表达增加，ECM 成分发生改变，进一步驱动肺纤维化。在博来霉素诱导的肺纤维化大鼠模型中，Col Ⅰ、Col Ⅳ 表达增加，并在新生肺血管周围沉积[39]。赖氨酰氧化酶(lysyl oxidase，LOX)是一种胺氧化酶，在 ECM 中氧化胶原 N 端和 C 端的特异性赖氨酸残基和羟基化赖氨酸残基，随后发生一系列缩合反应形成分子间及分子内的共价交联。正常的生长过程中 LOX 表达受到严格调控，而在相关的病理过程中则异常表达和激活。在肺纤维化患者中，赖氨酰氧化酶样蛋白 1(LOXL1)和赖氨酰氧化酶样蛋白 2(LOXL2)蛋白水平和基因

表达均上调，使用 LOX 抑制剂 β-氨基丙腈可抑制 TGF-β1 诱导 EMT，限制胶原纤维的交联，减缓肺纤维化的进程[40]。Simtuzumab(GS-6624)是一种人源化单克隆抗体，可靶向阻断 LOXL2，抑制胶原纤维的交联，减少胶原蛋白的产生。2013 年由美国 Gilead 公司推进进入 IPF 的Ⅱ期临床研究(NCT01769196)，以评估 Simtuzumab 对 IPF 患者治疗的有效性和安全性。因缺乏疗效，2016 年Ⅱ期试验提前终止[41]。

4 展望

综上，EMT 是肺纤维化发病机制中的关键步骤。TGF-β1 信号通路作为 EMT 的总开关，与 PI3K/AKT、Notch、Wnt 等信号通路共同调节 EMT 介导的肺纤维化过程，miRNAs 与 ERS 是近年来肺纤维化 EMT 过程中的研究新发现。通过研究 EMT 的分子机制及调控因素，有助于更清晰地阐明肺纤维化的发生发展机制。虽然在其他器官的纤维化研究中有一些反对 EMT 的证据，例如从肝脏分离的肝细胞经 TGF-β1 诱导肝纤维化后，间充质标记物如 α-SMA、FSP-1、波形蛋白等表达缺乏，肝细胞未通过 EMT 产生 ECM[42]。EMT 与肝纤维化的相关性有待进一步研究加以确证[43]。但主流观点依然认同 EMT 在肺纤维化发生发展中的重要地位，并且 EMT 重要效应分子 TGF-β1 作为肺纤维化的药物治疗靶点已经取得较好的突破。因此与 EMT 有关的调控机制可作为进一步研究肺纤维化防治的思路。

近年来，课题组一直致力于抗肺纤维化新药的研究[44-46]。前期设计合成了一系列新型的吡啶酮类化合物，试验结果显示候选化合物 PBD-617 对博来霉素诱导的大鼠模型具有很好的抗肺纤维化作用[47]。进一步的机制研究发现，PBD-617 通过抑制 Smad3 的磷酸化进而降低 TGF-β1 水平，减弱博来霉素或 TGF-β1 诱导的 EMT 效应，延缓肺纤维化。提示干预或阻断 TGF-β1 相关效应分子，可能是治疗 EMT 介导的肺纤维化的一个有效手段。

REFERENCES

[1] RAGHU G, COLLARD H R, EGAN J J, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2011, 183(6): 788-824.

[2] DUCK A, PIGRAM L, ERRHALT P, et al. IPF Care: a support program for patients with idiopathic pulmonary fibrosis treated with pirfenidone in Europe [J]. Adv Ther, 2015, 32(2): 87-107.

[3] THICKETT D R, KENDALL C, SPENCER L G, et al. Improving care for patients with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) in the UK: a round table discussion [J]. Thorax, 2014, 69(12): 1136-1140.

[4] FLETCHER S, JONES M G, SPINKS K, et al. The safety of new drug treatments for idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Expert Opin Drug Saf, 2016, 15(11): 1483-1489.

[5] JOLLY M K, WARD C, EAPEN M S, et al. Epithelial-mesenchymal transition, a spectrum of states: Role in lung development, homeostasis, and disease [J]. Dev Dyn, 2018, 247(3): 346-358.

[6] HOSSEINZADEH A, JAVAD-MOOSAVI S A, REITER R J, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis(IPF) signaling pathways and protective roles of melatonin [J]. Life Sci, 2018(201): 17-29.

[7] NIETO M A, HUANG R Y J, JACKSON R A, et al. EMT: 2016 [J]. Cell, 2016, 166(1): 21-45.

[8] XI Y, TAN K, BRUMWELL A N, et al. Inhibition of epithelial-to-mesenchymal transition and pulmonary fibrosis by methacycline [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2014, 50(1): 51-60.

[9] WANG X, GAO J L, ZHAO M M, et al. Therapeutic effects of conditioned medium from bone marrow-derived mesenchymal stem cells on epithelial-mesenchymal transition in A549 cells [J]. Int J Mol Med, 2018, 41(2): 659-668.

[10] KIM K K, SISSON T H, HOROWITZ J C. Fibroblast growth factors and pulmonary fibrosis: it's more complex than it sounds [J]. J Pathol, 2017, 241(1): 6-9.

[11] DESAI P, YANG J, TIAN B, et al. Mixed-effects model of epithelial-mesenchymal transition reveals rewiring of signaling networks [J]. Cell Signal, 2015, 27(7): 1413-1425.

[12] GOLDMAANN T, ZISSEL G, WATZ H, et al. Human alveolar epithelial cells type II are capable of TGFβ-dependent epithelial-mesenchymal-transition and collagen- synthesis [J]. Respir Res, 2018, 19(1): 138. Doi: 10.1186/s12931-018-0841-9.

[13] CHITRA P, SAIPRASAD G, MANIKANDAN R, et al. Berberine inhibits Smad and non-Smad signaling cascades and enhances autophagy against pulmonary fibrosis [J]. J Mol Med, 2015, 93(9): 1015-1031.

[14] MOLINA M M, MACHAHUA H C, VICENS Z V, et al. Anti-fibrotic effects of pirfenidone and rapamycin in primary IPF fibroblasts and human alveolar epithelial cells [J]. BMC Pulm Med, 2018, 18(1): 63. Doi: 10.1186/s12890-018- 0626-4.

[15] WANG G, JIAO H, ZHENG J N, et al. HSP27 regulates TGF-β mediated lung fibroblast differentiation through the Smad3 and ERK pathways [J]. Int J Mol Med, 2017, 39(1): 183-190.

[16] ZHOU W, MO X, CUI W, et al. Nrf2 inhibits epithelial-mesenchymal transition by suppressing snail expression during pulmonary fibrosis [J]. Sci Rep, 2016, 16(6): 38646. Doi: 10.1038/srep38646.

[17] LYU A, WANG H H, YU W Y, et al. Effects of total flavonoids from mosla scabra on bleomycin-induced pulmonary fibrosis of rats and it's mechanism [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2017, 34(4): 488-491.

[18] BARTIS D, MISE N, MAHIDA R Y, et al. Epithelial–mesenchymal transition in lung development and disease: does it exist and is it important? [J]. Thorax, 2014, 69(8): 760-765.

[19] WANG S, YAN Y, CHENG Z, et al. Sotetsuflavone

suppresses invasion and metastasis in non-small-cell lung cancer A549 cells by reversing EMT via the TNF-α/NF-κB and PI3K/AKT signaling pathway [J]. Cell Death Discov, 2018(4): 26. Doi: 10.1038/s41420-018-0026-9.
[20] POLIMENI M, GULINO G R, GAZZANO E, et al. Multi-walled carbon nanotubes directly induce epithelial-mesenchymal transition in human bronchial epithelial cells via the TGF-β-mediated Akt/GSK-3β/SNAIL-1 signalling pathway [J]. Part Fibre Toxicol, 2016, 13(1): 27. Doi: 10.1186/s12989-016-0138-4.
[21] GAO R, CHEN R, CAO Y, et al. Emodin suppresses TGF-β1-induced epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells through Notch signaling pathway [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2016, 8(16): 30381-30387.
[22] ZHOU Y, LIAO S, ZHANG Z, et al. Astragalus injection attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis via down-regulating Jagged1/Notch1 in lungs [J]. J Pharm Pharmacol, 2016, 68(3): 389-396.
[23] LIN X, YUN F, SHI L, et al. Roles of signaling pathways in the epithelial-mesenchymal transition in cancer [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(15): 6201-6206.
[24] SONG P, ZHENG J X, XU J, et al. β-catenin induces A549 alveolar epithelial cell mesenchymal transition during pulmonary fibrosis [J]. Mol Med Rep, 2015, 11(4): 2703-2710.
[25] ZHANG X, LIU Y, SHAO R, et al. Cdc42-interacting protein 4 silencing relieves pulmonary fibrosis in STZ-induced diabetic mice via the Wnt/GSK-3β/β-catenin pathway [J]. Exp Cell Res, 2017, 359(1): 284-290.
[26] GUAN S, ZHOU J. Frizzled-7 mediates TGF-β-induced pulmonary fibrosis by transmitting non-canonical Wnt signaling [J]. Exp Cell Res, 2017, 359(1): 226-234.
[27] 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-β1 and FGF-2 [J]. Exp Mol Pathol, 2016, 101(1): 22-30.
[28] MIAO C, XIONG Y, ZHANG G, et al. MicroRNAs in idiopathic pulmonary fibrosis, new research progress and their pathophysiological implication [J]. Exp Lung Res, 2018, 44(3): 178-190.
[29] LI C Y, WANG Y H, LIN Z Y, et al. MiR-5100 targets TOB2 to drive epithelial-mesenchymal transition associated with activating smad2/3 in lung epithelial cells [J]. Am J Transl Res, 2017, 9(10): 4694-4706.
[30] ZHANG Q, YE H, XIANG F, et al. miR-18a-5p inhibits sub-pleural pulmonary fibrosis by targeting TGF-β receptor Ⅱ [J]. Mol Ther, 2017, 25(3): 728-738.
[31] STOLZENBURG L R, WACHTEL S, DANG H, et al. miR-1343 attenuates pathways of fibrosis by targeting the TGF-β receptors [J]. Biochem J, 2016, 473(3): 245-256.
[32] WANG Y C, LIU J S, TANG H K, et al. miR-221 targets HMGA2 to inhibit bleomycin-induced pulmonary fibrosis by regulating TGF-β1/Smad3-induced EMT [J]. Int J Mol Med, 2016, 38(4): 1208-1216.
[33] ZHUANG Y, DAI J, WANG Y, et al. MiR-338* targeting smoothened to inhibit pulmonary fibrosis by epithelial-mesenchymal transition [J]. Am J Transl Res, 2016, 8(7): 3206-3213.
[34] TANJORE H, LAWSON W E, BLACKWELL T S. Endoplasmic reticulum stress as a pro-fibrotic stimulus [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1832(7): 940-947.
[35] TANJORE H, BLACKWELL T S, LAWSON W E. Emerging evidence for endoplasmic reticulum stress in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2012, 302(8): 721-729.
[36] LEE H M, KANG J H, SHIN J M, et al. Chemical chaperone of endoplasmic reticulum stress inhibits epithelial-mesenchymal transition induced by TGF-β1 in airway epithelium via the c-src pathway [J]. Mediators Inflamm, 2017: 8123281. Doi: 10.1155/2017/8123281.
[37] BURMAN A, TANJORE H, BLACKWELL T S. Endoplasmic reticulum stress in pulmonary fibrosis [J]. Matrix Biol, 2018(68/69): 355-365.
[38] LIU D, ZHU H, GONG L, et al. Histone deacetylases promote ER stress induced epithelial mesenchymal transition in human lung epithelial cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 46(5): 1821-1834.
[39] MORALES-NEBREDA L I, ROGEL M R, EISENBERG J L, et al. Lung-specific loss of a3 laminin worsens bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2015, 52(4): 503-512.
[40] TJIG G, WHITE E S, FAIZ A, et al. Lysyl oxidases regulate fibrillar collagen remodelling in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Dis Model Mech, 2017, 10(11): 1301-1312.
[41] RAGHU G, BROWN K K, COLLARD H R, et al. Efficacy of simtuzumab versus placebo in patients with idiopathic pulmonary fibrosis: a randomised, double-blind, controlled, phase 2 trial [J]. Lancet Respir Med, 2017, 5(1): 22-32.
[42] TAURA K, MIURA K, IWAISAKO K, et al. Hepatocytes do not undergo epithelial-mesenchymal transition in liver fibrosis in mice [J]. Hepatology, 2010, 51(3): 1027-1036.
[43] ZEISBERG M, YANG C, MARTINO M, et al. Fibroblasts derive from hepatocytes in liver fibrosis via epithelial to mesenchymal transition [J]. J Biol Chem, 2007, 282(32), 23337-23347.
[44] PAN Y L, HUANG W H, SHEN Z R, et al. Mechanism and progress in treatment of pulmonary fibrosis [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2012, 47(23): 1873-1876.
[45] MA Z, PAN Y, HUANG W, et al. Synthesis and biological evaluation of the pirfenidone derivatives as antifibrotic agents [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2014, 24(1): 220-223.
[46] ZHAO C G, HUANG W H, WANG Z Y, et al. Role of TGF-β in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2016, 51(5): 341-345.
[47] MA Z, ZHAO C G, CHEN Q, et al. Antifibrotic effects of a novel pirfenidone derivative *in vitro* and *in vivo* [J]. Pulm Pharmacol Ther, 2018(53): 100-106.

收稿日期：2018-09-01
(本文责编：沈倩)