

# TGF- $\beta$ 受体阻断剂SB431542对SiO<sub>2</sub>粉尘诱导矽肺纤维化大鼠相关转录因子表达的影响

高芳瑜, 周倩文, 田娣, 刘焯, 陈溪渊, 王发选

宁夏医科大学公共卫生与管理学院, 宁夏 银川 750004

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2020.19883

## 摘要:

**[背景]** 矽肺的发病机制尚不明确, 且治疗手段有限, 较为公认的机制是通过转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 诱导上皮间质转化 (EMT) 过程。SB431542作为TGF- $\beta$ 特异性受体阻断剂, 在多种疾病中可阻断TGF- $\beta$ /Smad3信号通路及下游的EMT通路, 但其在SiO<sub>2</sub>粉尘诱导矽肺纤维化作用中尚未阐明。

**[目的]** 探讨TGF- $\beta$ 受体阻断剂SB431542对经SiO<sub>2</sub>粉尘诱导的矽肺纤维化大鼠转录因子表达的影响。

**[方法]** 40只SD雄性大鼠随机均分为四组: 生理盐水对照组、矽肺模型组、SB431542抑制剂组和抑制剂对照组。对后三组大鼠和生理盐水对照组大鼠采用非暴露式气管注入的方法分别注入游离性SiO<sub>2</sub>粉尘悬浊液1 mL (50 g·L<sup>-1</sup>) 和等量生理盐水 (5 mg·kg<sup>-1</sup>)。染尘后第7、30天, SB431542抑制剂组腹腔注射SB431542 (5 mg·kg<sup>-1</sup>), 抑制剂对照组腹腔注射SB431542助溶剂 (5 mg·kg<sup>-1</sup>)。染尘60 d后取材, 取右肺上叶行HE及Masson染色, 镜下进行病理观察; 取左肺上叶, 使用实时定量PCR法检测肺组织中神经型钙黏着蛋白 (*N-cadherin*)、锌指转录因子1 (*Snail1*)、E盒结合锌指蛋白1 (*ZEB1*)、扭曲基因 (*Twist*) 的mRNA表达水平, 取右肺下叶使用蛋白质印记法检测肺组织中N-cadherin、Snail1、ZEB1、Twist的蛋白表达水平。

**[结果]** 由肺组织的病理结果中可见, 与生理盐水对照组相比, 矽肺模型组的肺组织有明显的灰白色矽结节, 肺气肿样改变, 肺间隔中有部分断裂, 肺间质纤维化; SB431542抑制剂组肺组织比抑制剂对照组的肺泡结构稍完整, 未见明显矽结节。与生理盐水对照组相比, 矽肺模型组*N-cadherin*和各转录因子 (*Snail1*、*ZEB1*、*Twist*) 基因和蛋白水平均升高, mRNA的相对表达水平分别是生理盐水对照组的6.88倍、4.71倍、3.41倍和3.80倍; 蛋白的相对表达水平是生理盐水对照组的1.48倍、1.94倍、1.49倍和1.45倍 ( $P < 0.05$ )。与抑制剂对照组相比, SB431542抑制剂组*N-cadherin*和各转录因子 (*Snail1*、*ZEB1*、*Twist*) 的基因和蛋白水平均降低 ( $P < 0.05$ )。与抑制剂对照组相比, 矽肺模型组各基因和蛋白水平表达水平差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

**[结论]** SB431542通过阻断TGF- $\beta$ 与受体结合, 使转录因子下调, 抑制转录因子诱导的EMT过程, 具有抑制矽肺纤维化进展的潜在作用。

**关键词:** 矽肺纤维化; TGF- $\beta$ /Smad3信号通路; 上皮间质转化; SB431542; 转录因子

**Effect of TGF- $\beta$  receptor blocker SB431542 on expression of related transcription factors in rats with silicosis induced by SiO<sub>2</sub> dust** GAO Fang-yu, ZHOU Qian-wen, TIAN Di, LIU Xuan, CHEN Xi-yuan, WANG Fa-xuan (School of Public Health and Management, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China)

## Abstract:

**[Background]** The pathogenesis of silicosis is not clear, and the relevant treatment is limited. A recognized mechanism is epithelial-mesenchymal transition (EMT) induced by transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ). SB431542, as a specific receptor blocker of TGF- $\beta$ , can block TGF- $\beta$ /Smad3 signaling pathway and downstream EMT pathway in many diseases. However, its role in silicosis induced by SiO<sub>2</sub> dust has not been elucidated.

**[Objective]** This experiment investigates the effect of SB431542, a specific receptor blocker of TGF- $\beta$ , on the expression of transcription factors in rats with silicotic fibrosis induced by SiO<sub>2</sub> dust.

## 基金项目

国家自然科学基金项目 (81660534)

## 作者简介

高芳瑜 (1993—), 女, 硕士生;  
E-mail: gfy\_439@163.com

## 通信作者

王发选, E-mail: faxuan203@163.com

伦理审批 已获取

利益冲突 无申报

收稿日期 2019-12-23

录用日期 2020-05-27

文章编号 2095-9982(2020)07-0706-06

中图分类号 R135.2

文献标志码 A

## 引用

高芳瑜, 周倩文, 田娣, 等. TGF- $\beta$ 受体阻断剂SB431542对SiO<sub>2</sub>粉尘诱导矽肺纤维化大鼠相关转录因子表达的影响[J]. 环境与职业医学, 2020, 37(7): 706-711.

## 本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2020.19883

## Funding

This study was funded.

## Correspondence to

WANG Fa-xuan, E-mail: faxuan203@163.com

**Ethics approval** Obtained

**Competing interests** None declared

**Received** 2019-12-23

**Accepted** 2020-05-27

## To cite

GAO Fang-yu, ZHOU Qian-wen, TIAN Di, et al. Effect of TGF- $\beta$  receptor blocker SB431542 on expression of related transcription factors in rats with silicosis induced by SiO<sub>2</sub> dust[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2020, 37(7): 706-711.

## Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2020.19883

**[Methods]** Forty male SD rats were randomly divided into four groups: a normal saline control group, a silicosis model group, a SB431542 inhibitor group, and an inhibitor control group. Non-exposed intratracheal instillation was used to inject 1 mL ( $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) of free  $\text{SiO}_2$  dust suspension into the trachea of rats in all groups except the first group, and the same amount of normal saline ( $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) was injected into the normal saline control group. On the 7th and 30th days after the dust exposure, the SB431542 inhibitor group was injected intraperitoneally with SB431542 ( $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), and the inhibitor control group was injected intraperitoneally with cosolvent of SB431542 ( $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). After 60 d of the dust exposure, the lung tissue samples were isolated, and the upper lobe of the right lung was stained with HE and Masson to observe the pathological changes under microscope. The mRNA expression levels of neuronal cadherin (*N-cadherin*), zinc finger transcription factor 1 (*Snail1*), E-box binding zinc finger protein 1 (*ZEB1*), and twisted gene (*Twist*) in the upper lobe of the left lung samples were detected by quantitative real-time PCR, and the protein expression levels of N-cadherin, Snail1, ZEB1, and Twist in the lower lobe of the right lung samples were detected by Western blotting.

**[Results]** The pathological results showed that compared with the normal saline control group, there were obvious gray-white silicotic nodules, emphysema-like changes, partial rupture of the pulmonary septum, and fibrosis in the pulmonary interstitium in the lung tissues of the silicosis model group; compared with the inhibitor control group, no obvious silicotic nodules were found in the lung tissues of the SB431542 inhibitor group, and the alveolar structure was basically intact. Compared with the normal saline control group, the gene and protein expression levels of *N-cadherin* and transcription factors (*Snail1*, *ZEB1*, and *Twist*) in the silicosis model group were increased: the relative mRNA expression levels were 6.88, 4.71, 3.41, and 3.80 times higher respectively, and the relative protein expression levels were 1.48, 1.94, 1.49, and 1.45 times higher respectively ( $P < 0.05$ ). Compared with the inhibitor control group, the gene and protein expression levels of *N-cadherin* and transcription factors (*Snail1*, *ZEB1*, and *Twist*) were decreased in the SB431542 inhibitor group ( $P < 0.05$ ). Compared with the inhibitor control group, there were no significant difference in the expression levels of genes or proteins in the silicosis model group ( $P > 0.05$ ).

**[Conclusion]** SB431542 can down-regulate the transcription factors and inhibit the EMT induced by the transcription factors by blocking the binding of TGF- $\beta$  to the receptor, which can potentially inhibit the progression of silicosis.

**Keywords:** silicosis fibrosis; TGF- $\beta$ /Smad3 signaling pathway; epithelial-mesenchymal transition; SB431542; transcription factor

矽肺是由于在生产过程中长期吸入游离二氧化硅 ( $\text{SiO}_2$ ) 粉尘而引起的以肺部弥漫性纤维化为主的全身性疾病, 被认为是最严重的职业病之一, 没有特效的治疗方法<sup>[1]</sup>。2017和2018年国家卫健委发布的《全国职业病报告情况》指出, 职业性尘肺病例数占报告职业病总人数的80%以上, 其发病率在职业性疾病中位于首位<sup>[2-3]</sup>。长期暴露于煤矿和 $\text{SiO}_2$ 的工人可能会患上各种肺部疾病, 典型的疾病就是尘肺病, 而矽肺发病数占据尘肺的50%左右<sup>[4]</sup>。矽肺早期以间质性肺部炎症为主要特征, 后期因过度的细胞外基质沉积致使呼吸困难、血氧水平低而最终死亡<sup>[5-7]</sup>。目前, 矽肺的发病机制尚未完全阐明, 且治疗手段有限, 比较公认的机制是转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 诱导上皮间质转换 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 过程。 $\text{SiO}_2$ 进入肺组织后, 可激活肺内的巨噬细胞、上皮细胞等效应细胞分泌多种使肺部发生炎症、促纤维化的细胞因子及生长因子<sup>[8]</sup>。TGF- $\beta$ 是一种与促进纤维化高度相关的多效细胞因子, 活化的TGF- $\beta$ 通过与其II型受体结合, 引起I型受体磷酸化, 进而激活了TGF- $\beta$ /Smad3信号通路, 使Smad2和Smad3磷酸化后与Smad4形成三聚体, 该三聚体易位至细胞核内与转录因子相互作用, 促进EMT的发生<sup>[9-10]</sup>。EMT是一种与上皮极

性丧失、间充质标志物表达和细胞外基质重塑相关的细胞状态<sup>[11]</sup>。EMT发生后可出现钙黏着蛋白转换, 使上皮型钙黏着蛋白 (E-cadherin) 功能丧失, 神经型钙黏着蛋白 (N-cadherin) 功能增强<sup>[12]</sup>。EMT过程是由各种分子、细胞和微环境信号诱导的, 特别是由TGF- $\beta$ 及主要的EMT调节因子如锌指转录因子1 (*Snail1*)、E盒结合锌指蛋白1 (*ZEB1*) 和扭曲基因 (*Twist*) 的过表达引起<sup>[13]</sup>。有研究表明, 使用TGF- $\beta$  I型受体阻断剂SB431542, 可阻断TGF- $\beta$ /Smad信号通路, 减轻心肌纤维化以及纳米NiO所导致的大鼠肝纤维化, 减缓EMT过程<sup>[14-15]</sup>。SB431542针对 $\text{SiO}_2$ 所致的矽肺纤维化是否可同样减缓EMT过程? 本研究选择TGF- $\beta$ 特异性受体阻断剂SB431542, 阻断TGF- $\beta$ /Smad3信号通路及下游的EMT通路, 观察EMT通路中转录因子*Snail1*、*ZEB1*和*Twist*变化, 分析SB431542对 $\text{SiO}_2$ 粉尘诱导大鼠EMT过程的干预作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

SPF级雄性SD大鼠 [宁夏医科大学实验动物中心, 动物使用许可证号: SCXK (宁) 2015-0001], SB431542 (美国Selleck Chemicals公司), 游离 $\text{SiO}_2$ 粉尘与PEG300 (美国Sigma公司), DMSO (美国MP

公司), 兔抗鼠 N-cadherin、Snail1、ZEB1 抗体 (美国 Proteintech 公司), 兔抗鼠 Twist 抗体 (中国万类生物), Trizol 试剂与聚偏二氟乙烯膜 (美国 Invitrogen 公司), RNA 样本组织保存液 (中国北京天根生化公司), TransScript One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix (中国北京全式金公司),  $\beta$ -actin、N-cadherin、Snail1、ZEB1、Twist 引物 (中国上海生工生物公司), TB Green™ Premix Ex Taq™ II 实时定量试剂盒 (中国北京全式金公司)。本研究已通过宁夏医科大学伦理委员会审查 (编号: 2016-128)。

## 1.2 方法

### 1.2.1 大鼠矽肺模型的建立及取材

采用体重为 180~220 g 的 40 只 SD 雄性大鼠 (SPF 级), 适应性饲养 7 d 后, 随机将大鼠分为四组 (每组 10 只): 生理盐水对照组、矽肺模型组、SB431542 抑制剂组及抑制剂对照组。对后三组大鼠和生理盐水对照组大鼠采用非暴露式气管注入的方法分别注入游离性 SiO<sub>2</sub> 粉尘悬浊液 1 mL (50 g·L<sup>-1</sup>) 和等量生理盐水 (5 mg·kg<sup>-1</sup>)。染尘后第 7、30 天, SB431542 抑制剂组腹腔注射 SB431542 (5 mg·kg<sup>-1</sup>), 抑制剂对照组腹腔注射 SB431542 助溶剂 (2% DMSO+30% PEG300) (5 mg·kg<sup>-1</sup>)。染尘 60 d 后使用 10% 水合氯醛 (300 mg·kg<sup>-1</sup>) 腹腔注射麻醉大鼠, 进行取材。右肺上叶组织行 HE、Masson 染色。将左肺上叶存于 RNA 样本组织保存液中, 4°C 保存, 用于 mRNA 表达水平的检测。取右下叶肺组织置于液氮中, 取材完毕后转入 -80°C 冰箱, 用于测定蛋白表达水平。

### 1.2.2 大鼠肺组织病理观察

用 10% 的多聚甲醛固定右上叶肺组织 24 h, 浸蜡、包埋、切片, 行 HE 及 Masson 染色, 各组肺组织的病理学改变用光学显微镜观察。

### 1.2.3 实时定量 PCR (quantitative real-time PCR, qPCR) 检测肺组织中 N-cadherin、Snail1、ZEB1、Twist 的 mRNA 相对表达量

将肺组织从 RNA 样本保存液中取出放入研钵中, 倒入液氮, 速冻。首先每 100 mg 肺组织用 1 mL Trizol 试剂进行裂解, 其次研磨肺组织并提取总 RNA, 最后根据反转录试剂盒说明书进行 cDNA 合成, 以此为模板进行 PCR 扩增 (引物序列见表 1), 扩增条件: 95°C 30 s; 95°C 5 s, 60°C 30 s, 40 个循环。并以 95°C 10 s, 65°C 5 s, 95°C 5 s, 测定熔解曲线, 以  $\beta$ -actin 为内参, 目的基因的 mRNA 相对含量用 2<sup>- $\Delta\Delta C_t$</sup>  方法进行计算。

表 1 qPCR 引物序列  
Table 1 qPCR primer sequences

基因名称	引物序列 (5'-3')
N-cadherin	正向引物: CACCCGGCTTAAGGGTGATT
	反向引物: CGATCCTGTCTACGTCGGTG
Snail1	正向引物: CAAGGGACTGGAGCTGATCG
	反向引物: CCTGACCTTCTCACTGCCG
ZEB1	正向引物: TGCCCAAACCTGCAAGAAACG
	反向引物: GGACTGCCTGGTGTGTTGA
Twist	正向引物: ACAGCGGGTCATGGCTAAC
	反向引物: CAAATGCTCGTTCAGCGAC
$\beta$ -actin	正向引物: CTATGAGGGTTACGCGCTCC
	反向引物: CTATGAGGGTTACGCGCTCC

### 1.2.4 蛋白质印记法测定肺组织中 N-cadherin、Snail1、ZEB1、Twist 的蛋白表达

按照不同蛋白分子量选择相应浓度的十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶, 80 V 稳定电压电泳, 蛋白上样量为 20  $\mu$ g。在 300 mA 电流下, 进行转膜 (转至聚偏氟乙烯膜), 5% 脱脂奶粉 (TBST 溶液配制) 室温下封闭 1 h。按照 1:1000、1:500、1:500、1:500 稀释兔抗鼠 N-cadherin、Snail1、ZEB1、Twist 抗体, 敷于聚偏氟乙烯膜蛋白表面, 放于 4°C 冰箱中过夜。次日用 TBST 溶液清洗 3 次, 使用稀释比例为 1:2500 的辣根酶标记山羊抗兔 IgG 二抗溶液在室温下封闭 1 h。TBST 洗膜 3 次后, 在避光条件下, 将发光液涂于条带上, 应用化学发光凝胶成像仪曝光。用 Image J 1.8.0 软件进行灰度值分析。

## 1.3 统计学分析

采用 SPSS 22.0 进行统计数据的分析, Graphpad 7.0 软件作图, 并用单因素方差分析进行多组间比较, LSD 法进行两两比较, 检验水准  $\alpha=0.05$  (双侧检验)。

## 2 结果

### 2.1 病理结果

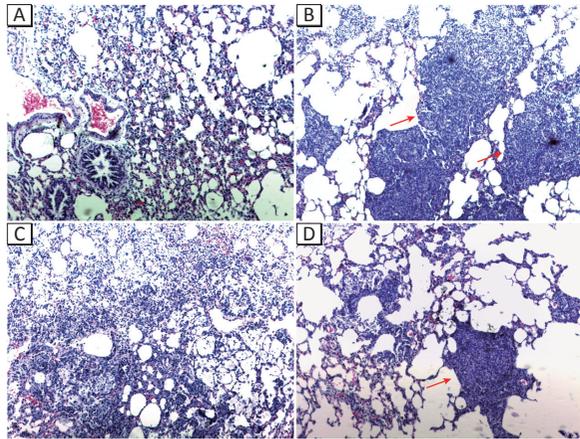
#### 2.1.1 大鼠肺组织大体解剖结果

生理盐水对照组大鼠双肺呈粉红色, 表面光滑, 质软, 弹性良好。矽肺模型组大鼠肺组织中可见散在的灰白色斑块, 质硬。SB431542 抑制剂组大鼠肺组织呈轻度肿大, 色暗红, 且没有明显结节性改变。抑制剂对照组肺组织呈暗红色, 可见少量团块样变化, 表面不光滑。

#### 2.1.2 HE 染色结果

生理盐水对照组可见清晰的大鼠肺泡结构, 血管轻度扩张充血; 矽肺模型组大鼠肺泡结构缺损, 可见明显的结节状结构, 呈肺气肿改变, 部分可见斑片状纤维化; SB431542 抑制剂组大鼠肺组织未见明显结节, 可见轻微肺气肿改变, 间质血管轻度扩张充血; 抑制剂对照组大鼠肺组织有结节状

结构,肺泡结构破坏呈肺气肿样改变,肺泡腔有少量渗出物。见图1。

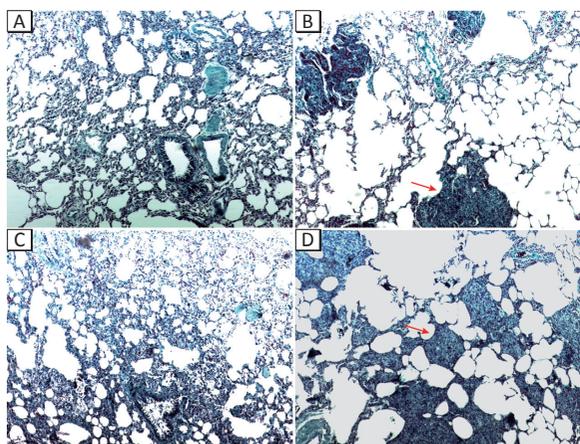


[注] A:生理盐水对照组;B:矽肺模型组;C:SB431542抑制剂的组;D:抑制剂的对照组。图中红色箭头所指为矽结节。

图1 HE染色结果(×100)

Figure 1 HE staining results (x100)

**2.1.3 Masson 染色结果** 生理盐水对照组大鼠肺泡间隔区未见大量胶原纤维增生;矽肺模型组大鼠可见蓝色胶原分布,结节内胶原明显增生;SB431542抑制剂的组大鼠肺组织有少量蓝色胶原分布,未见明显纤维增生;抑制剂的对照组大鼠胶原纤维明显增生。见图2。



[注] A:生理盐水对照组;B:矽肺模型组;C:SB431542抑制剂的组;D:抑制剂的对照组。图中红色箭头所指为矽结节。

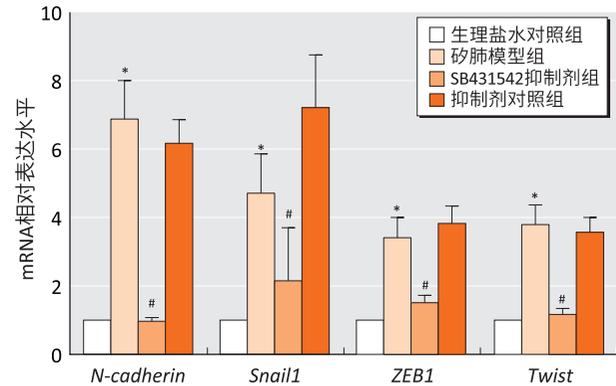
图2 Masson染色结果(×100)

Figure 2 Masson staining results (x100)

## 2.2 肺组织目的基因 mRNA 表达水平

矽肺模型组 *N-cadherin*、*Snail1*、*ZEB1*、*Twist* mRNA 的相对表达水平分别是生理盐水对照组的 6.88 倍、4.71 倍、3.41 倍和 3.80 倍,差异具有统计学意义 ( $F=4.347$ 、 $14.216$ 、 $8.905$  和  $9.035$ ,  $P<0.05$ )。SB431542 抑制剂的组与抑制剂的对照组比较, *N-cadherin*、*Snail1*、*ZEB1*、*Twist* mRNA 表达均下降,差异有统计学意义

( $F=4.347$ 、 $14.216$ 、 $8.905$  和  $9.035$ ,  $P<0.05$ ); 抑制剂的对照组与矽肺模型组的各基因 mRNA 表达水平差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。见图3。



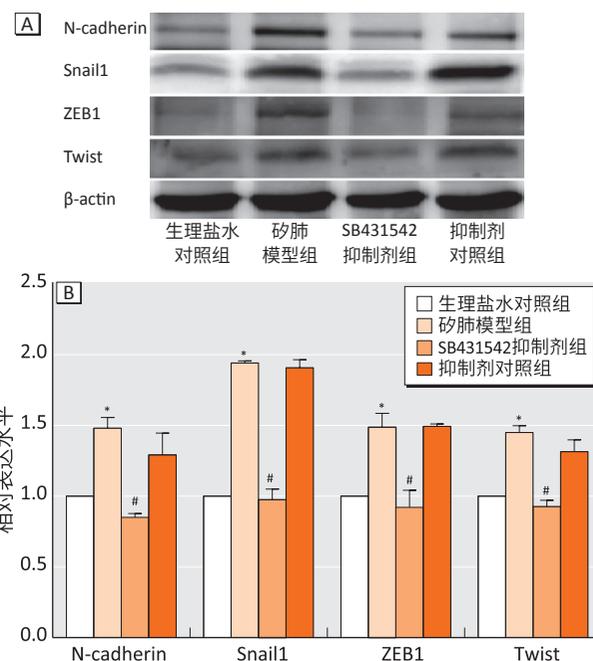
[注] \*:与生理盐水对照组相比,  $P<0.05$ ; #:与抑制剂的对照组相比,  $P<0.05$ 。

图3 目的基因的 mRNA 相对表达水平 ( $n=10$ )

Figure 3 Relative mRNA expression levels of target genes ( $n=10$ )

## 2.3 肺组织蛋白表达水平

矽肺模型组 *N-cadherin*、*Snail1*、*ZEB1*、*Twist* 蛋白表达水平是生理盐水对照组的 1.48、1.94、1.49 和 1.45 倍 ( $F=125.729$ 、 $260.761$ 、 $31.508$  和  $43.318$ ,  $P<0.05$ ); 经抑制剂的组处理后,各蛋白表达量较抑制剂的对照组明显下降 ( $F=125.729$ 、 $260.761$ 、 $31.508$  和  $43.318$ ,  $P<0.05$ ); 抑制剂的对照组的各蛋白表达量与矽肺模型组相比,差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。见图4。



[注] \*:与生理盐水对照组相比,  $P<0.05$ ; #:与抑制剂的对照组相比,  $P<0.05$ 。A:蛋白电泳图;B:蛋白相对表达结果。

图4 各组蛋白的相对表达水平 ( $n=10$ )

Figure 4 Relative expression levels of target proteins ( $n=10$ )

### 3 讨论

随着我国经济的发展,不但从事传统行业(如煤矿开采等)的工人易患尘肺病,而且很多新兴行业(如牙科技工、宝石加工等)所致的矽肺也开始出现<sup>[16]</sup>。当工人在生产过程中长期反复吸入游离SiO<sub>2</sub>粉尘就会引起以肺组织弥漫性纤维化为主的全身性疾病。人体在接触SiO<sub>2</sub>粉尘后如何导致肺部纤维化,目前机制尚未阐明。

研究表明, SiO<sub>2</sub>作为一种刺激物进入机体后与效应因子相互作用,如诱导促进成纤维细胞增殖和活化的细胞因子TGF- $\beta$ ,激活胞内的转录因子,通过多种信号传导途径,调控肺纤维化的进程<sup>[17-18]</sup>。在细胞核中, TGF- $\beta$ 信号途径诱导靶基因表达,与转录因子/共激活物、受体或Smad4相互作用<sup>[19]</sup>。EMT通过修饰上皮细胞表达的黏附分子在多种疾病中发挥重要作用,从而使上皮细胞具有迁移和侵袭能力<sup>[20]</sup>,使细胞表型发生改变,逐渐丧失上皮型E-cadherin功能,进而获得间质型N-cadherin的表达<sup>[21]</sup>,从而使调控EMT的各种转录因子如*Snail*、*ZEB*、*Twist*家族表达上调<sup>[22]</sup>。简而言之,当TGF- $\beta$ 与相应受体结合易位至细胞核内与转录因子相互作用从而诱导EMT,使其发生了重要改变:钙黏着蛋白转换,即E-cadherin转换为N-cadherin<sup>[23]</sup>。

抑制剂SB431542在动物实验中的应用研究较少。因SiO<sub>2</sub>进入肺组织后,最初病变是细胞因子引起炎症,进而转化为纤维化,临床上采用抗炎治疗并未取得良好的效果。TGF- $\beta$ /Smad3信号通路是已知的致纤维化的重要信号通路。粉尘引起肺组织纤维化的明确机制是粉尘诱导巨噬细胞分泌TGF- $\beta$ ,它能诱导上皮细胞发生EMT,使上皮细胞转化为肌成纤维细胞,进而分泌胶原等细胞外基质。如果能抑制这个过程,可能会减缓肺部纤维化。本研究采用该信号通路的有效抑制剂SB431542进行干预,且前期已验证在大鼠矽肺模型中使用抑制剂SB431542可以减缓纤维化的发生<sup>[24]</sup>,现研究在诱导的EMT过程中各转录因子如何变化。

本次研究结果显示,向SD大鼠肺组织内注入SiO<sub>2</sub>粉尘混悬液后,与生理盐水对照组相比,矽肺模型组肺组织呈现明显灰白色矽结节,并有肺气肿样改变,肺间隔部分断裂,肺间质中发生纤维化。本课题组前期结果表明与生理盐水对照组相比,矽肺模型组的*E-cadherin*基因和蛋白水平均降低<sup>[24]</sup>,本次研究结果显示*N-cadherin*基因和蛋白水平均升高,各转录因

子(*Snail1*、*ZEB1*、*Twist*)基因和蛋白水平均升高,提示动物矽肺模型建立成功,并发生了EMT过程;与溶剂对照组相比,SB431542抑制剂组肺组织见少量矽结节改变及肺气肿样改变,肺泡结构基本完整。前期结果显示,与抑制剂对照组相比,SB431542抑制剂组*E-cadherin*的mRNA和蛋白水平均升高<sup>[24]</sup>,本次研究显示,*N-cadherin*的mRNA和蛋白水平均降低,提示SB431542对EMT过程有抑制作用,各转录因子(*Snail1*、*ZEB1*、*Twist*)的mRNA和蛋白水平均降低,提示SB431542可阻断TGF- $\beta$ 与受体的结合,难以形成三聚体复合物,使其不得进入胞内与转录因子作用,阻断了EMT过程,减缓了纤维化的发生;与矽肺模型组比较,溶剂对照组中的各因子的mRNA及蛋白表达水平均无差异,证明该抑制剂的助溶剂在大鼠肺纤维化的进程中未产生影响。

综上,SB431542是TGF- $\beta$ I型受体阻断剂,它在TGF- $\beta$ /Smad信号传导过程中发挥重要作用,难以激活Smad2和Smad3,进而不能形成磷酸化的Smad2/Smad3,无法与Smad4形成三聚体在胞内与转录因子发挥作用,由此阻碍了转录因子调控EMT进程,一定程度延缓了纤维化的发生。但矽肺的发生过程在机体内十分复杂,本研究仅通过观察EMT各转录因子的改变,说明SB431542有干预作用,具体的作用机制还需进一步的研究。

### 参考文献

- [1] LEUNG CC, YU IT, CHEN W. Silicosis [J]. *Lancet*, 2012, 379 (9830): 2008-2018.
- [2] 《中国职业医学》编辑部. 2017年全国职业病报告情况 [J]. *中国职业医学*, 2018, 45 (3): 296.
- [3] 《中国职业医学》编辑部. 2018年全国职业病报告情况 [J]. *中国职业医学*, 2019, 46 (5): 571.
- [4] COHEN RA, PATEL A, GREEN FH. Lung disease caused by exposure to coal mine and silica dust [J]. *Semin Respir Crit Care Med*, 2008, 29 (6): 651-661.
- [5] HOO ZH, WHYTE MK. Idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Thorax*, 2012, 67 (8): 742-746.
- [6] LIAN X, CHEN X, SUN J, et al. MicroRNA-29b inhibits supernatants from silica-treated macrophages from inducing extracellular matrix synthesis in lung fibroblasts [J]. *Toxicol Res*, 2017, 6 (6): 878-888.
- [7] 全尚琨, 贺笑笑, 江天, 等. 帕比司他对小鼠矽肺纤维化

- 的干预作用 [J]. 环境与职业医学, 2019, 36 (7) : 616-620.
- [ 8 ] CHEN J, YAO Y, SU X, et al. Comparative RNA-Seq transcriptome analysis on silica induced pulmonary inflammation and fibrosis in mice silicosis model [J]. J Appl Toxicol, 2018, 38 (5) : 773-782.
- [ 9 ] SIME P J, XING Z, GRAHAM F L, et al. Adenovector-mediated gene transfer of active transforming growth factor-beta1 induces prolonged severe fibrosis in rat lung [J]. J Clin Invest, 1997, 100 (4) : 768-776.
- [10] 姜岩, 于功昌, 张兴国. 转化生长因子- $\beta$ 1 及其介导的信号通路在百草枯致肺上皮间质转化中的作用 [J]. 环境与职业医学, 2017, 34 (8) : 729-733.
- [11] IJAZ T, PAZDRAK K, KALITA M, et al. Systems biology approaches to understanding Epithelial Mesenchymal Transition (EMT) in mucosal remodeling and signaling in asthma [J]. World Allergy Organ J, 2014, 7 : 13.
- [12] BYEON H K, NA H J, YANG Y J, et al. Acquired resistance to BRAF inhibition induces epithelial-to-mesenchymal transition in BRAF (V600E) mutant thyroid cancer by c-Met-mediated AKT activation [J]. Oncotarget, 2017, 8 (1) : 596-609.
- [13] PARVANI J G, SCHIEMANN W P. Sox4, EMT programs, and the metastatic progression of breast cancers : mastering the masters of EMT [J]. Breast Cancer Res, 2013, 15 (4) : R72.
- [14] ZHANG Q, CHANG X, WANG H, et al. TGF- $\beta$ 1 mediated Smad signaling pathway and EMT in hepatic fibrosis induced by Nano NiO *in vivo* and *in vitro* [J]. Environ Toxicol, 2020, 35 (4) : 419-429.
- [15] TIAN M, XIAO Y, XUE J, et al. The expression of BNP, ET-1, and TGF- $\beta$ 1 in myocardium of rats with ventricular arrhythmias [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20 (23) : 5845.
- [16] 程博文, 苏敏. 国际煤工尘肺和矽肺的发病趋势 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2019, 37 (1) : 75-78.
- [17] WYNN T A. Integrating mechanisms of pulmonary fibrosis [J]. J Exp Med, 2011, 208 (7) : 1339-1350.
- [18] XU X, DAI H, WANG C. Epithelium-dependent profibrotic milieu in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis : current status and future directions [J]. Clin Respir J, 2016, 10 (2) : 133-141.
- [19] LAUKKANEN M O. TGF- $\beta$ 1, WNT, and SHH signaling in tumor progression and in fibrotic diseases [J]. Front Biosci, 2017, 9 (1) : 31-45.
- [20] THIERY J P, ACLOQUE H, HUANG R Y, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease [J]. Cell, 2009, 139 (5) : 871-890.
- [21] 叶荣锦. c-kit 及 EMT 分子在胸腺上皮肿瘤中的表达及意义 [D]. 福建 : 福建医科大学, 2015.
- [22] LEE J M, DEDHAR S, KALLURI R, et al. The epithelial-mesenchymal transition : new insights in signaling, development, and disease [J]. J Cell Biol, 2006, 172 (7) : 973-981.
- [23] GRAVDAL K, HALVORSEN O J, HAUKAAS S A, et al. A switch from E-cadherin to N-cadherin expression indicates epithelial to mesenchymal transition and is of strong and independent importance for the progress of prostate cancer [J]. Clin Cancer Res, 2007, 13 (23) : 7003-7011.
- [24] 周倩文, 高芳瑜, 田娣, 等. SB431542 抑制 TGF- $\beta$ /Smad3 信号通路在大鼠矽肺纤维化中的干预作用 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2019, 37 (11) : 801-805.

(英文编辑 : 汪源 ; 责任编辑 : 陈姣)