

硫酸铍诱导 A549 细胞纤维化中 miR-21 靶向调控 Smad7 的机制

戚发秋, 陈小惠, 刘红娅, 赵枫, 付有娟, 关素珍, 王凯

宁夏医科大学, 公共卫生与管理学院/宁夏环境因素与慢性病控制重点实验室, 宁夏 银川 750004

摘要:

[背景] 铍致肺纤维化发病机制未明且没有特效治疗方法, 微小 RNA (miRNA) 在铍致肺纤维化进程中或可发挥作用。

[目的] 构建微小 RNA-21 (miR-21) 干扰细胞系, 探讨 miR-21 对硫酸铍 (BeSO₄) 所致人肺腺癌肺泡基底上皮细胞 (A549 细胞) 纤维化的影响以及潜在的作用机制。

[方法] 通过在线数据库 miRBase 预测 miR-21 靶基因并通过双荧光素酶报告基因实验验证。用 miR-21 干扰慢病毒转染 A549 细胞后, 用嘌呤霉素筛选出稳定细胞系。使用 BeSO₄ 染毒 A549 细胞建立肺纤维化体外模型, BeSO₄ 浓度为 10 μmol·L⁻¹, 染毒时间为 48 h。将细胞分为对照组、模型组、miR-21 干扰组和 miR-21 干扰对照组。采用实时荧光定量 PCR 法检测 miR-21 mRNA 相对表达水平。采用蛋白免疫印迹检测 TGF-β1/Smads 通路相关蛋白 [Smad2、Smad3、p-Smad2、p-Smad3、Smad7 和转化生长因子-β1 (TGF-β1)] 表达水平, 肌成纤维细胞标志物 α-平滑肌肌动蛋白 (α-SMA) 和细胞外基质主要成分 I 型胶原蛋白 (COL-I) 和 III 型胶原蛋白 (COL-III) 的蛋白相对表达水平。

[结果] miRBase 预测 miR-21 与 Smad7 有结合点位, 双荧光素酶报告基因实验结果显示 miR-21 靶基因为 Smad7。miR-21 干扰 A549 细胞系构建成功。与对照组相比, 模型组 miR-21 mRNA 相对表达量升高了 97.57%, Smad7 蛋白相对表达量下降了 15.48%, Smad2、Smad3、p-Smad2、p-Smad3、TGF-β1、α-SMA、COL-I 和 COL-III 的蛋白相对表达量分别升高了 13.55%、35.72%、18.35%、35.75%、25.52%、31.58%、24.61% 和 11.66%, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。相较于干扰对照组, 干扰组 miR-21 mRNA 相对表达水平降低 28.96%, Smad7 蛋白相对表达量升高了 19.07%, Smad2、Smad3、p-Smad2、p-Smad3、TGF-β1、α-SMA、COL-I 和 COL-III 的蛋白相对表达量降低了 8.01%、19.95%、14.56%、19.37%、11.95%、10.96%、18.81% 和 31.36%, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。模型组与干扰对照组的各基因及蛋白表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

[结论] 在铍化合物诱导的肺纤维化体外模型中, miR-21 可能通过靶向 Smad7 调控 TGF-β1/Smad 信号通路促进了纤维化的发生。

关键词: 微小 RNA-21; Smad7; 硫酸铍; 肺纤维化; 转化生长因子-β1

Mechanism of miR-21 targeting Smad7 in pulmonary fibrosis of A549 cells induced by beryllium sulfate QI Faqiu, CHEN Xiaohui, LIU Hongya, ZHAO feng, FU Youjuan, GUAN Suzhen, WANG Kai (School of Public Health and Management/Ningxia Key Laboratory of Environmental Factors and Chronic Disease Control, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China)

Abstract:

[Background] The pathogenesis of beryllium-induced pulmonary fibrosis is unknown and there is no specific treatment for the disease as yet. MicroRNA (miRNA) may play a role in the process of beryllium-induced pulmonary fibrosis.

[Objective] To construct a microRNA-21 (miR-21) interfering cell line, and to investigate the effect of miR-21 on beryllium sulfate (BeSO₄)-induced fibrosis in human lung adenocarcinoma alveolar basal epithelial cells (A549 cells) and its potential mechanism.

[Methods] The miR-21 target genes were predicted by the online database miRBase and verified by experiments using dual luciferase reporter gene. After transfecting A549 with miR-21



DOI 10.11836/JEOM21312

基金项目

宁夏自然科学基金 (2019 AAC03085)

作者简介

戚发秋 (1997—), 男, 硕士生;

E-mail: qj970909@163.com

通信作者

王凯, E-mail: wangk0205@163.com

伦理审批 不需要

利益冲突 无申报

收稿日期 2021-07-11

录用日期 2021-12-19

文章编号 2095-9982(2022)02-0206-06

中图分类号 R135

文献标志码 A

引用

戚发秋, 陈小惠, 刘红娅, 等. 硫酸铍诱导 A549 细胞纤维化中 miR-21 靶向调控 Smad7 的机制 [J]. 环境与职业医学, 2022, 39(2): 206-211.

本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM21312

Funding

This study was funded.

Correspondence to

WANG Kai, E-mail: wangk0205@163.com

Ethics approval Not required

Competing interests None declared

Received 2021-07-11

Accepted 2021-12-19

To cite

QI Faqiu, CHEN Xiaohui, LIU Hongya, et al. Mechanism of miR-21 targeting Smad7 in pulmonary fibrosis of A549 cells induced by beryllium sulfate[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2022, 39(2): 206-211.

Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM21312

interference lentivirus, puromycin was used to select a stable cell line. An *in vitro* model of pulmonary fibrosis was established using BeSO₄ infecting A549 cells with a concentration of 10 μmol·L⁻¹ and an exposure time of 48 h. Then the treated cells were divided into control group, model group, miR-21 interference group, and miR-21 interference control group. Real-time fluorescent quantitative PCR (RT-qPCR) was used to detect the relative expression level of *miR-21* gene. Western blotting was used to detect the relative expression levels of TGF-β1/Smads pathway related proteins [Smad2, Smad3, p-Smad2, p-Smad3, Smad7, and transforming growth factor-β1 (TGF-β1)], myofibrosis cell marker α-smooth muscle actin (α-SMA), and extracellular matrix collagen-I (COL-I) and collagen-III (COL-III).

[Results] The miRBase predicted that *miR-21* had a binding site with *Smad7*, and the results of the dual luciferase reporter gene experiment showed that the target gene of *miR-21* was *Smad7*. The construction of *miR-21* interfered with A549 cell line was successful. Compared with the control group, the relative expression of *miR-21* gene in the model group increased by 97.57%; the relative expression of Smad7 protein in the model group decreased by 15.48%; the relative protein expression of Smad2, Smad3, p-Smad2, p-Smad3, TGF-β1, α-SMA, COL-I, and COL-III increased by 13.55%, 35.72%, 18.35%, 35.75%, 25.52%, 31.58%, 24.61%, and 11.66% respectively ($P < 0.05$). Compared with the interference control group, the *miR-21* gene expression level in the interference group decreased by 28.96%; the relative expression of Smad7 protein increased by 19.07%; the relative protein expression of Smad2, Smad3, p-Smad2, p-Smad3, TGF-β1, α-SMA, COL-I, and COL-III decreased by 8.01%, 19.95%, 14.56%, 19.37%, 11.95%, 10.96%, 18.81%, and 31.36% respectively ($P < 0.05$). There was no statistically significant difference in the gene and protein expression levels of each gene between the model group and the interference control group ($P > 0.05$).

[Conclusion] In an *in vitro* model of pulmonary fibrosis induced by beryllium compounds, miR-21 may promote fibrosis by targeting Smad7 to regulate the TGF-β1/Smad signaling pathway.

Keywords: microRNA-21; Smad7; beryllium sulfate; pulmonary fibrosis; transforming growth factor-β1

铍是一种有毒元素, 广泛用于原子能、航空航天、电子、石油、光学仪器、医疗等行业^[1]。铍及其化合物是全身毒物, 可经皮肤、黏膜和呼吸道进入人体, 并主要在肺部蓄积^[2]。职业接触铍或其化合物可导致急性铍病和慢性铍病^[3]。近年来, 随着生产技术的提高和个人防护的加强, 急性铍病的发生率大大降低, 但长期暴露于低浓度铍引起的慢性铍病仍时有发生, 这是一种以肺纤维化为主要表现的疾病^[4]。肺纤维化的主要病理特征是成纤维细胞增殖以及细胞外基质沉积^[5], 不可逆且无特异性疗法。研究发现, 转化生长因子-β1 (transforming growth factor-β1, TGF-β1) 是一种明确致纤维化的关键细胞因子^[6], 主要通过 TGF-β1/Smads 信号通路调节多种生物过程, 包括胚胎发生、细胞分化、器官发生和免疫反应等^[7]。在生理条件下, TGF-β1 是肺形态发生和体内平衡所必需的, 而异常的 TGF-β1 信号已被证明是肺纤维化进展的核心^[8]。

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一种长度为 20~22 个核苷酸且不编码蛋白质的单链 RNA, 可以通过与靶基因信使 RNA 的 3'非翻译区 (untranslated regions, UTR) 结合来调节靶基因的表达^[9], 研究表明, miRNA 在多种器官组织纤维化、癌症等多种疾病中异常表达^[10], 说明 miRNA 在疾病过程发挥中关键作用。

本研究首先通过双荧光素酶报告基因实验验证 *Smad7* 是否为 *miRNA-21* (*miR-21*) 靶基因, 然后通过 BeSO₄ 染毒 A549 细胞建立铍及其化合物致纤维化体

外模型, 并转染 *miR-21* 干扰慢病毒构建稳定细胞系, 检测相关因子 [Smad2、Smad3、磷酸化 Smad2 (phospho-Smad2, p-Smad2)、磷酸化 Smad3 (phospho-Smad3, p-Smad3)、Smad7、肌成纤维细胞标志物 α-平滑肌肌动蛋白 (α-smooth muscle actin, α-SMA)、TGF-β1、细胞外基质主要成分 I 型胶原蛋白 (collagen-I, COL-I) 及 III 型胶原蛋白 (collagen-III, COL-III)] 的表达, 探讨 *miR-21* 在 BeSO₄ 所致 A549 细胞纤维化中的作用及可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料

人肺腺癌肺泡基底上皮细胞 (A549 细胞) 和人胚肾细胞系 (293T 细胞) 购于中国科学院上海细胞库, 胎牛血清 (BI, 以色列), 细胞基础培养基 (DMEM, BI, 以色列), 磷酸盐缓冲液 (HyClone, 美国), BeSO₄·4H₂O (上海易恩, 中国)。兔抗人 α-SMA、TGF-β1、COL-I、COL-III 多克隆抗体 (Proteintech, 美国), 兔抗人 Smad2、Smad7 多克隆抗体 (Affinity, 美国), 兔抗人 Smad3、p-Smad2、p-Smad3 多克隆抗体 (CST, 美国), β-actin (北京博奥森, 中国), miRNA 提取试剂 TRIzol (Ambion, 美国), miRNA cDNA 第一链合成试剂盒 (北京天根, 中国), miRNA 荧光定量检测试剂盒 (北京天根, 中国)。

1.2 *miR-21* 靶基因预测及验证

通过生物信息学方法, 用在线靶基因预测数据库

miRBase 预测 *miR-21* 的靶基因是否为 *Smad7*, 根据 *miR-21* 与 *Smad7* 的 3' UTR 的结合位点, 合成 *Smad7* 的野生型 (wild type, WT) 和突变型 (mutation type, MU) 3' UTR, 然后将其分别克隆至载体 pSI-Check2 中, 构建质粒 pSI-Check2-WT-*Smad7* 和 pSI-Check2-MU-*Smad7*。将 WT 和 MU 质粒以及 *miR-21* 模拟物 (*miR-21* mimic) 或 *miRNA* 阴性对照 (*miR-NC*) 分组转染进 293T 细胞, 设置 *Smad7*-WT+*miR-NC* 组、*Smad7*-WT+*miR-21* mimic 组、*Smad7*-MU+*miR-NC* 组和 *Smad7*-MU+*miR-21* mimic 组。于转染 48 h 后, 使用荧光素酶检测试剂盒和检测仪检测荧光素酶活性, 实验结果以检测到的萤火虫荧光素酶活性和海肾荧光素酶活性的比值进行分析, 比值显著降低则可判断 *Smad7* 是 *miR-21* 的靶基因。

1.3 细胞培养和染毒

A549 细胞和 293T 细胞均用含 10% (体积分数) 胎牛血清、1% 双抗的 DMEM 高糖培养基培养于 5% (体积分数) CO₂、37°C 培养箱。取处于对数生长期的细胞进行后续试验。待 A549 细胞达到约 60% 融合度时, 更换为浓度为 10 μmol·L⁻¹ BeSO₄ 的 DMEM 高糖培养基进行染毒处理 48 h。

1.4 慢病毒感染 A549 细胞

1.4.1 最佳感染复数 (multiplicity of infection, MOI) 筛选 用胰酶将 A549 细胞消化后, 按照每孔 1×10⁴ 个细胞接种至 24 孔板中, 贴壁后以 MOI=10、20、40 和 80 进行慢病毒转染, 于感染 72 h 后应用荧光显微镜观察并最终选择感染效率大于 80% 且细胞状态良好的最低 MOI 进行下一步实验。

1.4.2 嘌呤霉素浓度筛选 以每孔 1×10⁵ 个细胞将 A549 细胞接种到 6 孔板中, 细胞汇合率达到 80% 时, 更换含有不同浓度嘌呤霉素 (1、2、4、6 和 8 μg·mL⁻¹) 的完全培养基, 取嘌呤霉素处理 48 h 后能杀死所有细胞的最低浓度用于正式实验。前期实验结果显示最适浓度为 2 μg·mL⁻¹。

1.4.3 慢病毒转染及稳转细胞系构建 使用荧光显微镜下呈绿色荧光的 *miR-21* 干扰慢病毒转染 A549 细胞实现 *miR-21* 的抑制, 将 A549 细胞接种到 6 孔板中, 细胞密度为 1×10⁵ 个·孔⁻¹。细胞汇合率达到 30%~50% 时按筛选出的最佳 MOI 加入适量病毒, 于感染 4 h 后补全培养液, 24 h 换液。于 72 h 后加入 2 μg·mL⁻¹ 嘌呤霉素筛选掉未被病毒感染的细胞, 嘌呤霉素筛选 48 h 后更换培养液用 0.25% 的胰酶将细胞消化下来, 转移至 75 cm² 培养瓶培养, 得到干扰稳定细胞株。

1.5 *miR-21* mRNA 表达水平检测

将细胞分为 4 组: 对照组、模型组、*miR-21* 干扰组和干扰对照组, 模型组、*miR-21* 干扰组和干扰对照组加入浓度为 10 μmol·L⁻¹ BeSO₄ 的 DMEM 高糖培养基培养 48 h, 对照组使用等量 DMEM 高糖培养基培养 48 h, 使用 *miRNA* 提取试剂盒提取总 *miRNA* 并参照反转录试剂盒说明书合成 cDNA, 然后进行 PCR 扩增, 引物序列见表 1。反应条件为 95°C 预变性, 15 min; 94°C 变性 20 s, 60°C 退火, 延伸 34 s, 40 个循环。以 *U6* 为内参, 计算基因相对表达量。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences of RT-qPCR

引物名称	引物序列
<i>U6</i>	正向引物: 5'-ATTGGAACGATACAGAGAAGAAT-3'
<i>U6</i>	反向引物: 3'-GGAACGCTTCACGAATTG-5'
<i>miR-21</i>	正向引物: 5'-UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA-3'

1.6 *Smad*、*TGF-β1*、*α-SMA*、*COL-I*、*COL-III* 蛋白表达水平检测

按照蛋白提取试剂盒说明书提取细胞总蛋白并使用 BCA 蛋白定量法检测总蛋白浓度, 蛋白上样量为 30 μg, 采用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜条件 300 mA, 转膜时间由相对分子量确定, 转膜完毕后用含 5% 脱脂奶粉的含吐温 20 的三乙醇胺缓冲盐水溶液缓冲液封闭 1 h, 使用对应特异性一抗 4°C 孵育过夜, 含吐温 20 的磷酸盐缓冲液 (PBST) 洗涤 3 次, 二抗孵育 1 h, PBST 缓冲液洗涤 3 次, 用化学发光凝胶成像仪曝光, 并用凝胶图像 Image J 1.52 软件测定灰度值, 以目的蛋白/内参蛋白 (β-actin) 计算目的蛋白的相对表达量。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析。计量资料使用 Mean±SD 表示, 组间差异采用单因素方差分析和 LSD 法检验, 检验水准 α=0.05。

2 结果

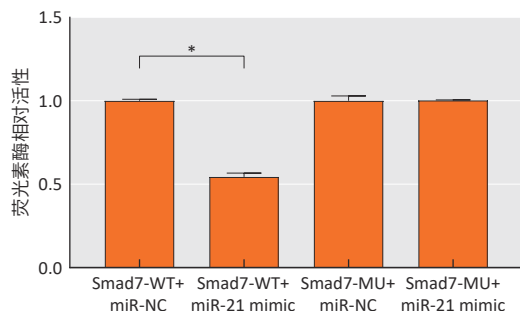
2.1 *miR-21* 靶基因的预测及验证

经在线数据库 miRBase 预测, *Smad7* 与 *miR-21* 存在结合位点, 因此推测 *Smad7* 是 *miR-21* 的靶基因, 见表 2。双荧光素酶报告基因实验结果显示, 与对应 NC 组相比, *miR-21* 下调 *Smad7*-WT+*miR-21* mimic 的荧光素的表达 ($P<0.05$), 说明 *Smad7* 是 *miR-21* 的直接靶基因, 见图 1。

表 2 miRBase 预测 *miR-21* 与 *Smad7* 结合序列

Table 2 Predictions on the binding sequences of *miR-21* and *Smad7* by miRBase

基因名称	序列
<i>Smad7</i>	5'-AUAAGCUA-3'
<i>miR-21</i>	3'-UAUUCGAU-5'



[注] *: $P < 0.05$ 。

图 1 *miR-21* 靶基因的验证

Figure 1 *miR-21* target gene verification

2.2 *miR-21* 干扰稳定细胞株构建

A549 细胞按 MOI=10、20、40、80 感染慢病毒后, 通过荧光显微镜观察转染效率, 发现 MOI=40 时感染效率大于 80%且细胞状态良好, 最终选择 MOI=40 为最适感染复数, 如图 2。

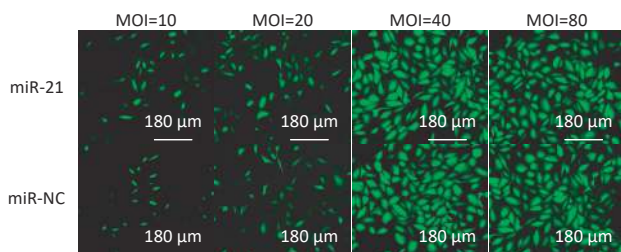


图 2 不同慢病毒转染 A549 细胞的效率

Figure 2 Transfection efficiencies of different lentiviruses on A549 cells

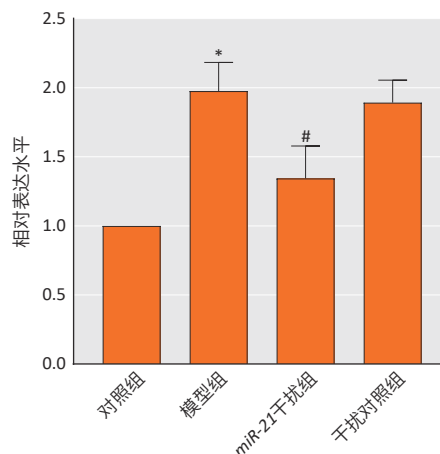
2.3 A549 细胞中 *miR-21* 的表达变化

与对照组相比, 模型组的 *miR-21* mRNA 表达水平升高 97.57%, 与干扰对照组相比, *miR-21* 干扰组 *miR-21* mRNA 表达水平下降 28.96%, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 而模型组与干扰对照组的 *miR-21* 表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 3。

2.4 A549 细胞中 *Smad* 的蛋白表达水平

与对照组相比, 模型组的 *Smad7* 蛋白表达水平下降了 15.48%, *Smad2*、*Smad3*、p-*Smad2* 和 p-*Smad3* 的蛋白表达水平分别升高了 13.55%、35.72%、18.35%和 35.75%; 相较于干扰对照组, *miR-21* 干扰组的 *Smad7* 蛋白表达水平升高了 19.07%, 而 *Smad2*、*Smad3*、p-*Smad2*、p-*Smad3* 的蛋白表达水平分别下降了 8.01%、

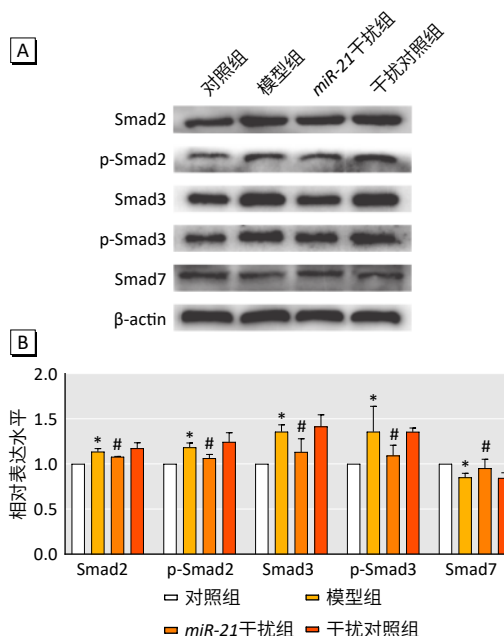
19.95%、14.56%、19.37%, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 模型组与干扰对照组相比, 各蛋白表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 4。



[注] *: 与对照组相比, $P < 0.05$; #: 与干扰对照组相比, $P < 0.05$ 。

图 3 BeSO₄ 处理 A549 细胞 48 h 后 *miR-21* mRNA 相对表达水平

Figure 3 Relative expression levels of *miR-21* mRNA in A549 cells treated with BeSO₄ for 48 h



[注] *: 与对照组相比, $P < 0.05$; #: 与干扰对照组相比, $P < 0.05$ 。

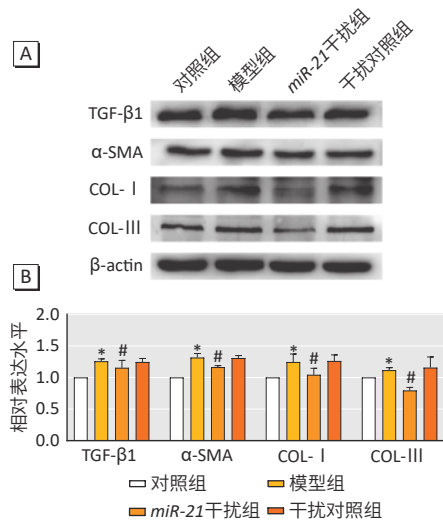
图 4 BeSO₄ 处理 A549 细胞 48 h 后 *Smad* 蛋白相对表达水平

Figure 4 Relative expression levels of *Smad* in A549 cells treated with BeSO₄ for 48 h

2.5 A549 细胞中 TGF-β1、α-SMA、COL- I、COL-III 的蛋白表达水平

与对照组相比, 模型组的 TGF-β1、α-SMA、COL- I、COL-III 的蛋白表达水平分别升高了 25.52%、31.58%、24.61%和 11.66%。相较于干扰对照组, *miR-21* 干扰组

TGF- β 1、 α -SMA、COL- I、COL-III的蛋白表达水平分别下降了 11.95%、10.96%、18.81%和 31.36%，差异均有统计学意义($P < 0.05$)。模型组与干扰对照组相比，各蛋白表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 5。



[注] *: 与对照组相比, $P < 0.05$; #: 与干扰对照组相比, $P < 0.05$ 。

图5 BeSO₄处理A549细胞48 h后各组TGF- β 1、 α -SMA、COL- I、COL-III蛋白相对表达水平

Figure 5 Relative expression levels of TGF- β 1, α -SMA, COL- I, and COL-III in A549 cells treated with BeSO₄ for 48 h

3 讨论

肺纤维化的标志是成纤维细胞增殖和细胞外基质过度沉积,细胞外基质会取代功能性组织并破坏器官结构^[11]。研究表明,生物化学刺激能引起肺泡巨噬细胞、成纤维细胞等释放多种细胞因子,其中 TGF- β 1 被认为与肺纤维化的发生和形成关系最为密切,它是纤维化病变的起始因子^[12],Smad 是 TGF- β I 型受体激活的信号传导效应物。磷酸化的 Smad2、Smad3 易位到细胞核后调控靶基因的表达,而 Smad7 可抑制 TGF- β I 型受体对 Smad2 和 Smad3 的磷酸化,还可招募泛素连接酶,并将泛素连接酶募集到激活的 I 型受体,导致受体通过蛋白酶体途径降解^[13]。TGF- β 1/Smad 信号传导在肺纤维化中起至关重要的作用。

miRNA 是机体生长发育、免疫调节等过程中的重要调节因子,在器官纤维化中起关键调节作用。研究表明,在肺组织纤维化过程中大量 miRNA 表达异常,其中 *miR-21* 已经是一种明确的促纤维化因子^[14]。Liu 等^[15]研究发现,*miR-21* 可通过靶向抑制 Smad7 表达,促进博来霉素诱导的小鼠肺纤维化。在本研究中,生物信息数据库和双荧光素酶报告基因实验结果显示,与 NC 组相比,*miR-21* 下调 Smad7-WT+*miR-21* mimic 组的荧光强度,说明 Smad7 是 *miR-21* 的直

接靶基因。

本研究结果显示,与对照组相比,模型组中的 *miR-21* mRNA 表达升高,且 TGF- β 1、 α -SMA、COL- I 和 COL-III的蛋白表达水平均升高,提示 BeSO₄ 诱导 A549 细胞发生了纤维化。TGF- β 1 已被证明通过在细胞核中将 pri-miR-21 加工成 pre-miR-21 来介导 *miR-21* 的转录后激活^[16]。因此 BeSO₄ 可能是通过诱导 TGF- β 1 表达升高激活了 *miR-21*。同时 Smad7 的蛋白表达水平下降,p-Smad2、p-Smad3 的蛋白表达水平升高。而在抑制了 *miR-21* 表达后,相较于干扰对照组,*miR-21* 干扰组 *miR-21* mRNA 表达水平降低,Smad7 的蛋白表达水平升高,而 Smad2、Smad3 的磷酸化减少,TGF- β 1、 α -SMA、COL- I 和 COL-III的蛋白表达水平均降低,说明纤维化情况得到改善。与 Li 等^[17]研究结果一致。与模型组相比,转染了阴性对照病毒的干扰对照组中各因子的基因和蛋白表达水平均无差异,证明转染的阴性对照病毒未在 BeSO₄ 致 A549 细胞纤维化中发生作用。

以上结果表明,在铍化合物诱导的肺纤维化体外模型中,*miR-21* 可能通过靶向 Smad7 调控 TGF- β 1/Smad 信号通路促进了纤维化的发生。这一过程在抑制了 *miR-21* 的表达之后得到了改善。但由于已知 *miR-21* 具有多个靶点,因此不能完全排除可能受 *miR-21* 干扰影响的其他途径,需要进一步研究。此外本研究仅限于体外铍致肺纤维化模型,今后将会在铍致纤维化小鼠体内模型中进一步深入研究 *miR-21* 对 TGF- β 1/Smad 信号通路的调控作用。

参考文献

- [1] TOYOOKA T, KODA S. Management of occupational health for adverse health effects of beryllium and its compounds in workplaces-Recent trends and issues in Japan[J]. *Sangyo Eiseigaku Zasshi*, 2021, 63(2): 31-42.
- [2] DROBYSHEV E, KYBARSKAYA L, DAGAEV S, et al. New insight in beryllium toxicity excluding exposure to beryllium-containing dust: accumulation patterns, target organs, and elimination[J]. *Arch Toxicol*, 2019, 93(4): 859-869.
- [3] LIU Z, WANG K, YAN Q, et al. Beryllium inhibits apoptosis via mitochondria in beryllium-induced lung disease in the rat[J]. *Exp Lung Res*, 2019, 45(3/4): 92-100.
- [4] MACMURDO MG, MROZ MM, CULVER DA, et al. Chronic beryllium disease: update on a moving target[J]. *Chest*, 2020, 158(6): 2458-2466.
- [5] MORAIS A. Idiopathic pulmonary fibrosis: accurate diagnosis and early treatment[J]. *J Bras Pneumol*, 2019, 45(5): e20190353.
- [6] MIGUEL V, RAMOS R, GARCÍA-BERMEJO L, et al. The program of renal fibrogenesis is controlled by microRNAs regulating oxidative metabolism[J]. *Redox Biol*, 2021, 40: 101851.

- [7] NICKEL J, TEN DIJKE P, MUELLER TD. TGF- β family co-receptor function and signaling[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2018, 50(1): 12-36.
- [8] SAITO A, NAGASE T. Hippo and TGF- β interplay in the lung field[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 309(8): L756-L767.
- [9] LU TX, ROTHENBERG ME. MicroRNA[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 141(4): 1202-1207.
- [10] KANG H. Role of MicroRNAs in TGF- β signaling pathway-mediated pulmonary fibrosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(12): 2527.
- [11] BONNANS C, CHOU J, WERB Z. Remodelling the extracellular matrix in development and disease[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(12): 786-801.
- [12] UPAGUPTA C, SHIMBORI C, ALSILMI R, et al. Matrix abnormalities in pulmonary fibrosis[J]. *Eur Respir Rev*, 2018, 27(148): 180033.
- [13] YAN XH, LIU ZY, CHEN YG. Regulation of TGF- β signaling by Smad7[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2009, 41(4): 263-272.
- [14] KUMARSWAMY R, VOLKMANN I, THUM T. Regulation and function of miRNA-21 in health and disease[J]. *RNA Biol*, 2011, 8(5): 706-713.
- [15] LIU G, FRIGGERI A, YANG YP, et al. miR-21 mediates fibrogenic activation of pulmonary fibroblasts and lung fibrosis[J]. *J Exp Med*, 2010, 207(8): 1589-1597.
- [16] DAVIS BN, HILYARD AC, LAGNA G, et al. SMAD proteins control DROSHA-mediated microRNA maturation[J]. *Nature*, 2008, 454(7200): 56-61.
- [17] LI X, YANG N, CHENG Q, et al. MiR-21-5 p in macrophage-derived exosomes targets smad7 to promote epithelial mesenchymal transition of airway epithelial cells[J]. *J Asthma Allergy*, 2021, 14: 513-524.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 陈姣)

· 告知栏 ·

关于假冒《环境与职业医学》编辑和诈骗邮件的声明

近期发现有个人或机构通过电子邮件和微信冒用《环境与职业医学》编辑身份,以组稿或确认稿件信息等名义,请求添加作者的微信;以稿件转让为由,广发邮件进行诈骗,涉及学术不端行为。此类行为严重侵犯本刊的学术声誉,我们对此表示深恶痛绝。本刊严正声明,《环境与职业医学》杂志是一本优秀的学术期刊,绝无此类买卖稿件等有损学术声誉的行为。希望广大作者和专家不要上当受骗。

另外,我们也特此郑重声明:本刊编辑不会以私人微信添加作者帐号,所有编辑均使用以 scdc.sh.cn 为后缀的邮箱,请作者务必注意甄别。

本刊网址: www.jeom.org; 微信公众号: 环境与职业医学; E-mail: jeom@scdc.sh.cn; 电话: 021-62084529!

提醒: 不要轻易点开网址链接,不要扫码或添加来路不明的微信号,不要向假冒个人或机构转账或发送稿件。如有疑问,请及时与编辑部沟通确认。

《环境与职业医学》编辑部

2022 年 2 月 25 日