doi:10.11659/jjssx.02E025099

·基础研究·

Ⅱ型肺泡上皮细胞线粒体DNA在矽肺纤维化中的作用机制

覃宇帆[1,2],许商成[1,2] (1.南京医科大学公共卫生学院,江苏 南京 211100;2.重庆市职业病防治院实验医学中心,重庆 400000)

[摘 要] **目的** 探讨Ⅱ型肺泡上皮细胞(AECⅡ)中线粒体DNA(mtDNA)在矽肺纤维化中的作用机制。**方法** 本研究分为动物实验和细胞实验。动物实验:将28只C57BL/6小鼠分为生理盐水组(n=14)和矽肺模型组(n=14),采用气管灌注法分别给予50 μL无菌生理盐水和50 μL 50 mg/mL SiO_2悬浮液,随后在暴露28 d和56 d后取材,HE染色和Masson染色观察小鼠肺组织病理改变,Western blot检测小鼠肺组织中功能蛋白肺表面活性蛋白-D(SP-D)、涎液化糖链抗原-6(KL-6)和促纤维化蛋白转化生长因子-β1(TGF-β1)表达水平。细胞实验:将AECⅡ细胞系A549暴露在不同浓度SiO_2悬浮液中,CCK-8检测细胞活性,DAPI染色观察细胞凋亡情况,Western blot检测细胞相关蛋白表达,JC-1检测线粒体膜电位变化,RT-qPCR检测全细胞、线粒体、胞质和上清中mtDNA水平。采用DnaseⅠ清除mtDNA,并检测细胞相关蛋白表达。**结果** 肺组织病理检查显示,SiO_2暴露导致小鼠肺组织损伤,出现炎症细胞浸润、硅结节,胶原纤维明显增加;经SiO_2暴露后,肺组织中SP-D、KL-6、TGF-β1蛋白表达上调(P<0.05)。DAPI染色和CCK-8结果显示,400、800 μg/mL SiO_2处理使AECⅡ活性降低,凋亡受损。JC-1检测结果显示,800 μg/mL SiO_2暴露导致AECⅡ线粒体膜电位降低(P<0.05)。RT-qPCR结果显示,800 μg/mL SiO_2暴露导致AECⅡ胞质和上清中mtDNA水平增加(P<0.05)。Western blot结果显示,800 μg/mL SiO_2暴露导致SP-D、KL-6和TGF-β1蛋白水平增加(P<0.05),而DnaseⅠ处理可改善这一现象。**结论** SiO_2暴露导致AECⅡ mtDNA逃逸释放并引起AECⅡ功能障碍,从而导致肺纤维化的发生。

[关键词] 矽肺;Ⅱ型肺泡上皮细胞;线粒体DNA;肺纤维化

[中图分类号] R134 [文献标志码] A [收稿日期] 2025-02-19

Mechanism of action of mitochondrial DNA in alveolar epithelial type Ⅱ cells in silicotic fibrosis

QIN Yu-fan[1,2], XU Shang-cheng[1,2] (1. School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing Jiangsu 211100, China; 2. Experimental Medicine Center, Chongqing Occupational Disease Control Institute, Chongqing 400000, China)

Abstract: Objective To explore the mechanism of action of mitochondrial DNA (mtDNA) of alveolar epithelial type Ⅱ cells (AECⅡ) in silicotic fibrosis. **Methods** This study was divided into the animal experiment and cell experiment. Animal experiment: twenty-eight

[基金项目] 国家自然科学基金(82073523)

[通信作者] 许商成,E-mail:xushangchengmito@163.com

中可能存在微小偏差,在临床应用中对于颞下颌关节紊乱病的判定有着明确的标准,但是由于关节盘在三维空间上的厚薄不一,重建后的模型在还原度上还有一定的提升空间,随着扫描技术和扫描精度的提高,有望构建精度更高的模型,为疾病的诊断与治疗提供更可靠的支持。

[参考文献]

[1] Palmer J, Durham J. Temporomandibular disorders[J]. Bja Education, 2021,21(21):44-50. doi: 10.1016/j.bjae.2020.11.001.

[2] 孙 浩,吴 璇,石 涛,等. 数字化再定位咬合板治疗颞下颌关节盘可复性前移位临床效果研究[J]. 中国实用口腔科杂志,2024,17(2):180-185. doi:10.19538/j.kq.2024.02.009.

[3] 石菲菲,葛文慧,许来俊. 数字化3D打印技术在口腔医学中的临床应用进展[J]. 山东医药,2023,63(11):104-108. doi:10.3969/j.issn.1002-266X.2023.11.027.

[4] 王 瑶,郑亨元,冯 海,等. 3D打印技术在口腔医学教学模型中的应用进展[J]. 实用口腔医学杂志,2024,40(2):289-296. doi:10.3969/j.issn.1001-3733.2024.02.024.

[5] 段振芳,马宇锋,宋 琰. 颞下颌关节紊乱病关节盘与髁突改变的MRI表现及相关性研究现状[J]. 口腔医学,2021,41(12):1138-1142. doi:10.13591/j.cnki.kqyx.2021.12.017.

[6] 陈 旭,徐丽丽,蔡 斌. 弹响消除试验在颞下颌关节可复性关节盘前移位诊断中的信度和效度分析[J]. 上海口腔医学,2021,30(6):629-633. doi:10.19439/j.sjos.2021.06.013.

[7] Wang R, Bi R, Liu Y, et al. Morphological changes of TMJ disc in surgically treated ADDwoR patients: a retrospective study[J]. BMC Oral Health,2022,22(1):432. doi: 10.1186/s12903-022-02469-8.

[8] 顾姣娜,焦博强,李志勇. 颞下颌关节盘前移位病因研究进展[J]. 口腔医学,2022,42(10):942-945. doi:10.13591/j.cnki.kqyx.2022.10.015.

[9] Buduru S, Almăşan O, Condor D, et al. Therapeutic challenges in temporomandibular disorders[J]. Med Pharm Rep,2024,97(3):357-369. doi:10.15386/mpr-2687.

[10] 刘 啸. 关节盘前位移颞下颌关节生物力学研究[D]. 广州:南方医科大学,2013.

[11] Mude AH, Ikbal M, Hatta MP, et al. Finite element analysis of stabilization splint pressure distribution in a patient with disc displacement without reduction: a preliminary study[J]. Imaging Sci Dent,2024,54:251. doi:10.5624/isd.20240017.

(编辑:刘 艺)

C57BL/6 mice were randomly divided into the saline group (n=14) and the silicosis model group (n=14), which were given 50 μL of sterile saline and 50 μL of 50 mg/mL of SiO_2 suspension by tracheal perfusion respectively. HE staining and Masson staining were performed to observe the histopathological changes of mouse lung tissues after sampling with the exposure of 28 days and 56 days, and Western blot was used to detect the expression levels of functional proteins of pulmonary surfactant protein-D (SP-D), and Krebs von den Lungen-6 (KL-6), and fibrotic protein of transforming growth factor-β1 (TGF-β1) in mouse lung tissues. Cell experiment: AEC Ⅱ cell line of A549 was exposed to different concentrations of SiO_2 suspension. CCK-8 was used to detect cell viability, DAPI staining was used to observe cell apoptosis, Western blot was used to detect related protein expression, JC-1 was used to detect the changes of mitochondrial membrane potential, and RT-qPCR was used to detect mtDNA levels in whole cells, mitochondria, cytoplasm and supernatant. The expression levels of related proteins in AEC Ⅱ were detected by Western blot after cleared mtDNA by Dnase Ⅰ. **Results** Histopathological examination of lung tissues showed that SiO_2 exposure led to damage in mice lung tissues, with infiltration of inflammatory cell, silica nodules, and a significant increase of collagen fibers. After SiO_2 exposure, the protein expressions of SP-D, KL-6 and TGF-β1 in lung tissues were up-regulated (P<0.05). DAPI staining and CCK-8 results showed a reduced activity and impaired apoptosis of AEC Ⅱ after treated with 400 and 800 μg/mL SiO_2. JC-1 assay results demonstrated that exposure to 800 μg/mL SiO_2 caused a decrease of mitochondrial membrane potential in AEC Ⅱ (P<0.05). RT-qPCR results showed that 800 μg/mL SiO_2 exposure led to increased mtDNA levels in the cytoplasm and supernatant of AEC Ⅱ (P<0.05). Western blot results showed that 800 μg/mL SiO_2 exposure caused an increase in the levels of SP-D, KL-6, and TGF-β1 proteins, while which were ameliorated by Dnase Ⅰ treatment. **Conclusion** SiO_2 exposure results in the escape and release of AEC Ⅱ mtDNA and dysfunction of AEC Ⅱ, thereby leading to the development of pulmonary fibrosis.

Keywords: silicosis; alveolar epithelial type Ⅱ cells; mitochondrial DNA; pulmonary fibrosis

矽肺病是尘肺病中危害最严重的一种,其发病机制复杂,严重威胁患者的生命安全[1]。Ⅱ型肺泡上皮细胞(alveolar epithelial type Ⅱ cells, AECⅡ)作为肺部重要的效应细胞之一,在维持肺部稳态中起关键作用[2]。AECⅡ功能障碍通过上皮间质转化、表面活性物质分泌异常和内质网应激等途径,引起肺纤维化[3]。线粒体作为重要的能量输出中心,参与众多生理功能。线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)通过损伤相关分子模式(damage-related molecular patterns, DAMPs)[4],以多种形式逃逸,随后被广泛表达的DNA传感器环化鸟苷酸-腺苷酸合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)以DNA序列非依赖方式感应生成环鸟苷酸-腺苷酸,触发干扰素基因刺激蛋白(stimulator of interferon genes, STING)依赖性信号转导事件,导致Ⅰ型干扰素反应和各种炎症细胞因子表达[5-6]。持续的mtDNA胞质逃逸在肺稳态破坏中起重要作用。mtDNA逃逸通过激活炎症小体和cGAS-STING途径释放异常细胞因子破坏肺结构和肺稳态,从而引发肺结核、哮喘、慢性阻塞性肺疾病等多种呼吸系统疾病[7-8]。mtDNA的释放导致cGAS-STING途径激活,并通过介导氧化应激和炎症反应加剧心肌缺血再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤诱导的AECⅡ功能障碍,进一步引起肺纤维化[9]。尽管关于矽肺纤维化的机制已有研究,但导致矽肺纤维化的分子机制及作用靶点仍不明确。本研究通过在体内外建立矽肺模型,探索AECⅡ mtDNA在矽肺纤维化发生发展中的作用机制,为矽肺纤维化的防治提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器

28只C57BL/6小鼠购自成都药康生物科技有限公司[生产许可证号:SCXK(川)2020-0034],6周龄,体质量18~20 g,小鼠呼吸平稳,活动正常。人AECⅡ细胞系A549购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

F-12K培养基购自上海赛栢康生物技术有限公司,胎牛血清购自美国Gibco公司,线粒体分离试剂盒、胰酶细胞消化液购自上海Beyotine公司,磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffer solution, PBS)购自武汉Servicebio公司,血液/组织/细胞基因DNA提取试剂盒购自北京TIANGEN公司,Dnase Ⅰ粉末、二氧化硅(silicon dioxide, SiO_2)粉末购自美国Sigma公司。抗-肺表面活性蛋白-D(surfactant protein-D, SP-D)、抗-涎液化糖链抗原-6(Krebs von den Lungen-6, KL-6)、抗-转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)购自武汉Proteintech公司,抗-微管蛋白(Tubulin)购自美国CST公司,山羊抗兔lgG(H+L)二抗购自上海Beyotine公司,线粒体膜电位JC-1检测试剂盒购自上海Beyotein公司。

PoerPac™通用电泳仪、ChemDoc成像系统、CFX Connect™荧光定量PCR检测系统购自美国Bio-Rad公司,离心机、酶标仪、金属浴仪购自美国Thermo Fisher Scientific公司,超声震荡仪购自上海LICHEN公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及SiO_2暴露 将小鼠随机分为生理盐水组和矽肺模型组,每组14只,在温度(24±1)℃、12 h/12 h光暗周期的环境中使用标准饲料喂养7 d。

用0.3%戊巴比妥钠(2 mL/100 g)麻醉小鼠后,去除小鼠颈部毛发,手术刀和眼科镊分离气管周围组织以暴露气管,矽肺模型组小鼠使用微量注射器通过气管灌注法给予50 μL 50 mg/mL的SiO_2悬浮液,生理盐水组小鼠同法给予50 μL无菌生理盐水。完成后缝合皮肤继续饲养,分别于28 d和56 d处死部分小鼠,取肺组织。

1.2.2 HE染色和Masson染色观察肺组织病理改变 取小鼠左肺,4%多聚甲醛进行固定,石蜡包埋,横切最大面。切片经HE染色和Masson染色后,在光学显微镜下观察肺组织改变。利用ImageJ软件分析胶原纤维水平。

1.2.3 Western blot 使用组织/细胞裂解液冰上裂解20 min后,于4 ℃下以12 500 r/min离心25 min。取上清,使用BCA蛋白检测试剂盒进行蛋白定量后配平,100 ℃下在金属浴仪中煮10 min。每孔30 μg蛋白上样,150 V电泳1 h,然后400 mA、70 min电转至PVDF膜上,快速封闭15 min,并与一抗Tubulin(1∶1 000)、SP-D(1∶1 000)、KL-6(1∶1 000)、TGF-β1(1∶1 000)和山羊抗兔IgG(H+L)二抗(1∶1 000)孵育,随后在ChemDoc成像系统中进行蛋白可视化,使用ImageJ系统进行定量。

1.2.4 细胞培养 将A549细胞置于细胞培养基(F-12K基础培养基∶胎牛血清∶双抗=9.0∶1.0∶0.1)中,然后于37 ℃、5%CO_2细胞培养箱中培养,取10~30代细胞进行后续实验。

取适量SiO_2粉末高压灭菌后溶于F-12K细胞培养基,配制成2 mg/mL的SiO_2悬浮液,超声混匀处理30 min后备用。取处于对数生长期的A549细胞,经0.25%胰酶消化液处理5 min后离心重悬,细胞计数后接种。细胞分别给予0、200、400、600、800 μg/mL的SiO_2悬浮液处理。48 h后收集处理后的细胞进行后续实验。

1.2.5 DAPI染色 将经0、400、800 μg/mL SiO_2悬浮液处理的细胞于96孔板孵育24 h后弃上清,取DAPI染色液与PBS按1∶10稀释,于96孔板加入100 μL稀释的DAPI染色液,于37 ℃孵育10 min,弃上清,PBS清洗2次,每孔再加入100 μL PBS,于荧光倒置显微镜下拍照观察。

1.2.6 细胞活性检测 将细胞移至96孔板,使用浓度为0、200、400、600、800 μg/mL的SiO_2悬浮液处理24 h后弃上清,然后加入100 μL含CCK-8的F-12K细胞培养基(稀释比10∶1)轻摇混匀,于37 ℃细胞培养箱中孵育1 h。在450 nm波长处测定吸光度,并计算细胞活性。

1.2.7 线粒体膜电位检测 根据说明书配制JC-1染色工作液,PBS清洗孔板后,向对照组(正常培养,未使用SiO_2处理)和SiO_2组(800 μg/mL SiO_2处理)每孔加入500 μL F-12K细胞培养基,再加入500 μL JC-1工作液混匀后孵育20 min。孵育结束后,弃上清,使用配制好的JC-1缓冲液清洗2次。各孔加入1 mL F-12K细胞培养基后显微镜下观察,于520 nm波长处测定JC-1单体吸光度,590 nm波长处测定JC-1聚合物吸光度,并计算二者的比值。

1.2.8 RT-qPCR检测mtDNA水平 收集对照组和SiO_2组细胞,PBS重悬后根据线粒体分离试剂盒说明书分离胞质和线粒体成分,根据血液/细胞/组织基因DNA提取试剂盒说明书纯化DNA。使用CFX Connect™荧光定量PCR检测系统定量检测mtDNA水平,以n-TERT为内参,采用$2^{-\triangle\triangle Ct}$法计算mtDNA水平。引物序列见表1。

表1 引物序列

基因		引物序列(5′-3′)
mt-D-LOOP	正向	CTATCACCCTATTAACCACTCA
	反向	TTCGCCTGTAATATTGAACGTA
mt-ND1	正向	CACCCAAGAACAGGGTTTGT
	反向	TGGCCATGGGTATGTTGTTAA
n-TERT	正向	CAATGCCTCACATAAATGCTACC
	反向	AGTGCAAAGCTTCTGTCTCCTTCT

1.2.9 Dnase Ⅰ处理 将Dnase Ⅰ溶于无菌生理盐水配置Dnase Ⅰ溶液,F-12K细胞培养基稀释成处理浓度(2 μg),现配现用。提前2 h给予Dnase Ⅰ孵育,随后SiO_2暴露48 h。然后采用Western blot检测SP-D、KL-6和TGF-β1蛋白表达水平。

1.3 统计学分析

使用SPSS 24.0统计学软件进行数据分析,使用ImageJ系统进行半定量统计分析。结果以均数±标准误($\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用t检验。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠肺组织病理改变

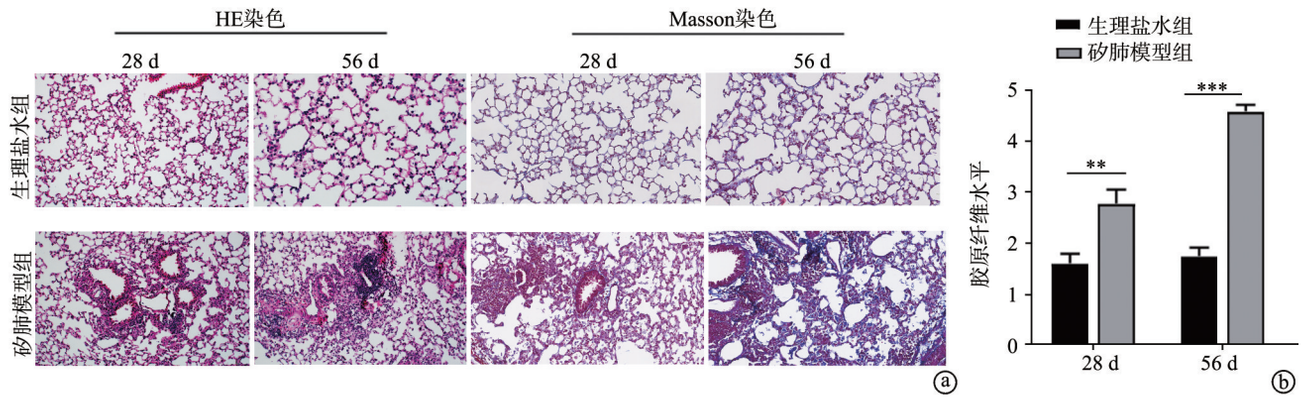
HE染色结果显示,与生理盐水组相比,矽肺模型组小鼠经SiO_2暴露28 d和56 d后,肺实质发生明显损伤,出现硅结节,肺泡结构被破坏,肺泡发生融合扩张,并有炎症细胞浸润;Masson染色结果显示,矽肺模型组小鼠经SiO_2暴露28 d和56 d后,肺组织中胶原纤维水平明显高于生理盐水组(P<0.05),见图1。

2.2 小鼠肺组织中功能蛋白和纤维化蛋白表达

与生理盐水组相比,矽肺模型组小鼠经SiO_2暴露28 d和56 d后,肺组织中SP-D、KL-6、TGF-β1蛋白表达上调,差异均有统计学意义(P<0.05),见图2。

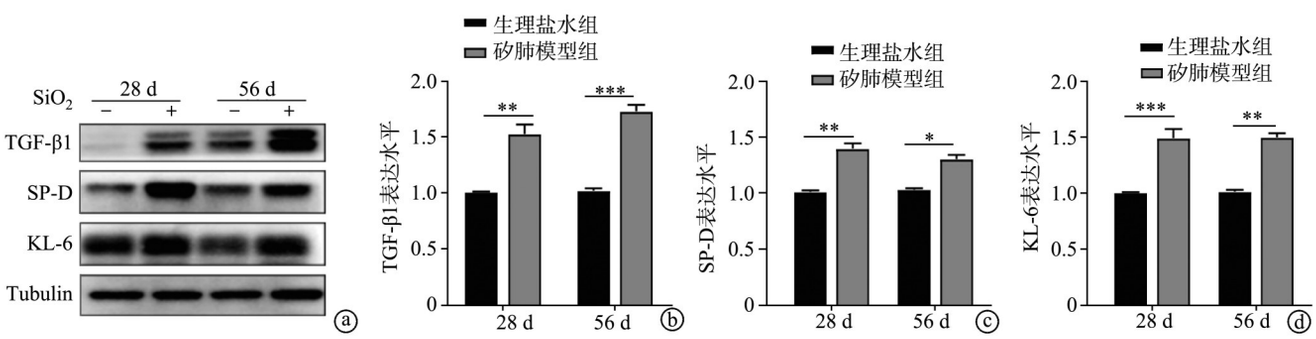
2.3 SiO_2处理后AECⅡ中功能蛋白和纤维化蛋白表达

CCK-8结果显示,与0 μg/mL比较,400、600、



a:小鼠肺组织HE染色和Masson染色(×20);b:Masson染色结果半定量分析结果 **:P<0.01;***:P<0.001

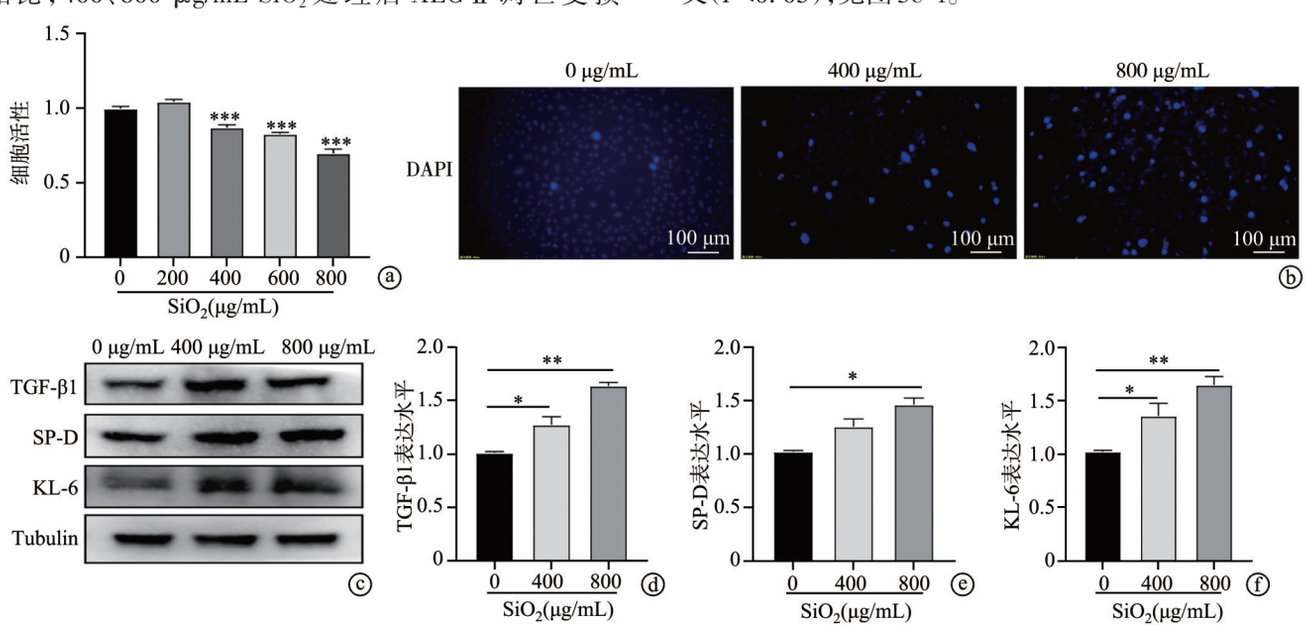
图1 小鼠肺组织HE染色和Masson染色



a:蛋白免疫印迹条带;b~d:肺组织中TGF-β1、SP-D和KL-6蛋白表达 *:P<0.05;**:P<0.01;***:P<0.001

图2 小鼠肺组织中TGF-β1、SP-D和KL-6蛋白表达水平

800 μg/mL SiO_2暴露可使AECⅡ活性降低(P<0.001),而200 μg/mL SiO_2暴露对AECⅡ活性无显著影响(P>0.05),见图3a。DAPI染色结果显示,与0 μg/mL相比,400、800 μg/mL SiO_2处理后AECⅡ凋亡受损(图3b)。与0 μg/mL相比,400、800 μg/mL SiO_2处理后细胞KL-6、TGF-β1蛋白表达上调,800 μg/mL SiO_2处理后细胞SP-D蛋白表达上调,差异均有统计学意义(P<0.05),见图3c~f。



a:CCK-8检测细胞活性;b:细胞DAPI染色;c~f:Western blot检测细胞中TGF-β1、SP-D和KL-6蛋白表达 *:P<0.05;**:P<0.01;***:与0 μg/mL比较,P<0.001

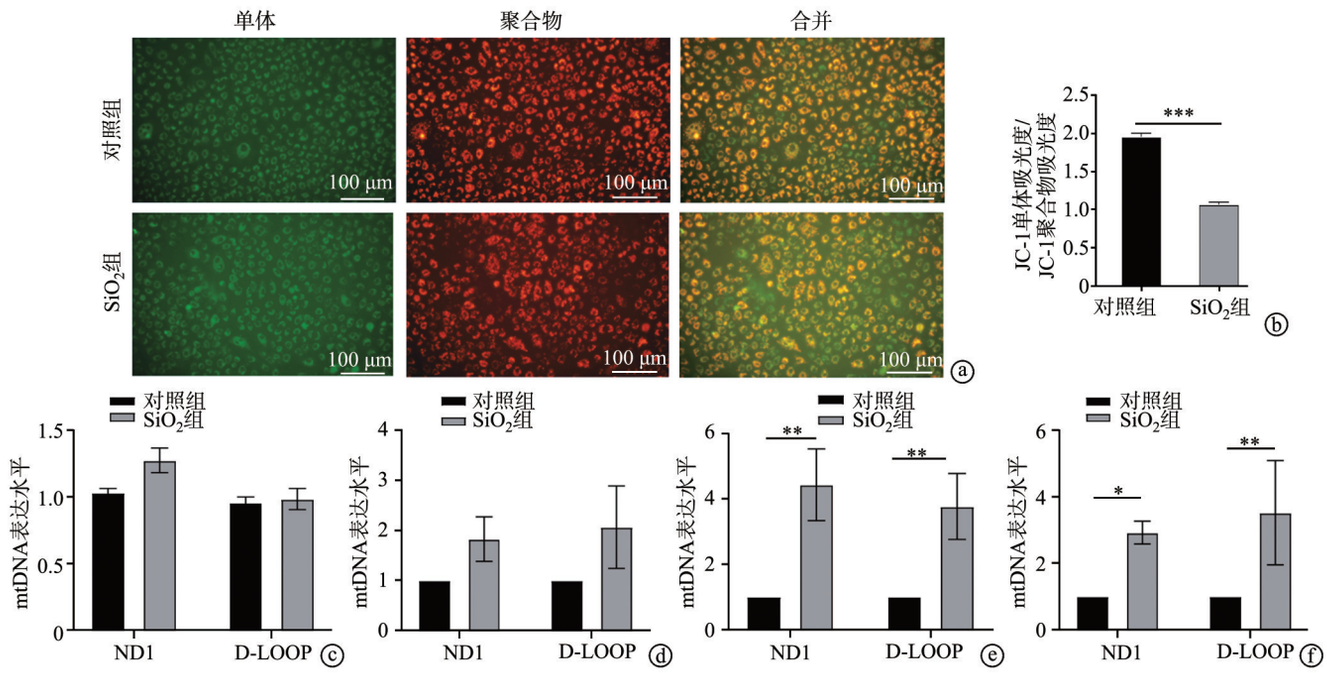
图3 SiO_2处理后AECⅡ中TGF-β1、SP-D和KL-6蛋白表达水平

2.4　AECⅡ各成分mtDNA表达水平

JC-1检测结果显示，与对照组相比，800 μg/mL SiO_2处理后细胞聚合物荧光强度减弱，单体荧光强度增强，线粒体膜电位显著降低（$P<0.05$），见图4a、b。RT-qPCR结果显示，与对照组相比，SiO_2组全细胞和线粒体中mtDNA无显著变化（$P>0.05$），胞质和上清中mtDNA表达水平显著升高，差异有统计学意义（$P<0.05$），见图4c~f。这提示SiO_2暴露导致AECⅡmtDNA胞质逃逸。

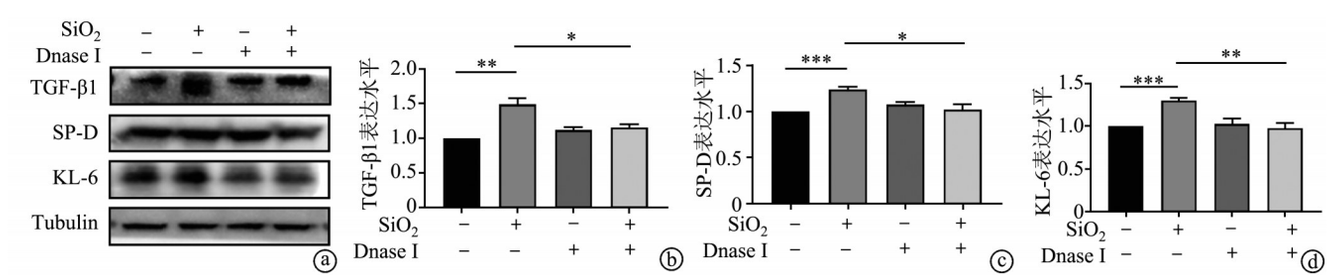
2.5　Dnase Ⅰ处理后AECⅡ功能蛋白和肺纤维化蛋白水平

经SiO_2处理后，细胞KL-6、SP-D和TGF-β1蛋白表达水平上调，差异均有统计学意义（$P<0.05$）；与单独SiO_2处理比较，经SiO_2和Dnase Ⅰ联合处理后细胞KL-6、SP-D和TGF-β1蛋白表达水平下调，差异均有统计学意义（$P<0.05$），见图5。



a~b：JC-1检测线粒体膜电位变化；c~f：RT-qPCR检测全细胞、线粒体、胞质及上清中mtDNA表达　*：$P<0.05$；**：$P<0.01$；***：$P<0.001$

图4　AECⅡ中mtDNA表达水平



a：蛋白免疫印迹条带；b~d：细胞中TGF-β1、SP-D和KL-6蛋白表达水平　*：$P<0.05$；**：$P<0.01$；***：$P<0.001$

图5　Dnase Ⅰ处理后AECⅡ中TGF-β1、SP-D和KL-6蛋白表达水平

3　讨论

矽肺以肺纤维化为主要病理改变，其发生可能与肺部效应细胞功能障碍破坏肺组织结构，导致炎症和氧化应激反应有关。AECⅡ可分泌肺泡表面活性物质，具有降低肺泡表面张力、防止肺泡塌陷的作用；此外，AECⅡ可增殖分化为Ⅰ型肺泡上皮细胞，从而维持呼吸功能，参与肺组织修复[10-11]。当肺泡上皮细胞处于应激状态时会引起功能障碍，加剧上皮细胞损伤，触发肺纤维化信号[12]。已有研究表明，血清KL-6和SP-D可作为间质性肺疾病的有效标志物[13-14]。本研究通过SiO_2暴露构建矽肺模型发现，SiO_2暴露后肺实质发生明显病变、肺泡结构破坏、胶原纤维增加，这与以往结果一致[15-16]，提示矽肺造模成功；进一步研究发现，SiO_2暴露后肺组织和AECⅡ中SP-D、KL-6和TGF-β1蛋白表达水平增加。这说明，SiO_2暴露引起AECⅡ细胞因子异常分泌很可能是导致肺纤维化的重要机制之一。

线粒体是维持细胞稳态的重要细胞器之一。线粒体除了产生ATP外,还参与诸多生理功能,包括新陈代谢、钙稳态、活性氧的生成及细胞信号传导[17]。mtDNA作为DAMPs诱导先天免疫应答反应,其胞质逃逸通过释放炎症因子从而破坏肺功能,在多种肺疾病中起着重要作用[18-20]。研究发现,特发性肺纤维化患者肺泡灌洗液中检测出较高的mtDNA水平[21]。本研究结果显示,SiO_2暴露导致AECⅡmtDNA发生胞质逃逸,这与其他经SiO_2暴露后的肺效应细胞出现损伤的结果一致[22]。本研究还发现,mtDNA的释放会引起AECⅡ功能障碍,进一步导致肺纤维化的发生;而经DnaseⅠ处理后可以有效缓解mtDNA释放引起的AECⅡ功能障碍和肺纤维化,这可能是DnaseⅠ水解了逃逸释放到胞质中的mtDNA,从而改善了AECⅡ功能障碍和肺纤维化。因此,清除胞质异常积聚的mtDNA和调控mtDNA的释放很可能是缓解矽肺纤维化的重要途径。

综上,SiO_2暴露可导致AECⅡ mtDNA逃逸释放,进一步引起AECⅡ功能障碍和肺纤维化,这可能是SiO_2暴露导致AECⅡ功能障碍和矽肺纤维化发生的重要机制,可为该病的发生提供新的认识,为肺纤维化的防治提供新的方向。但本研究仍有不足,SiO_2暴露致AECⅡmtDNA释放途径尚不明确,且cGAS-STING激活是否是导致AECⅡ功能障碍和矽肺纤维化的重要靶点仍需进一步研究。

[参考文献]

[1] 毛 翎,彭莉君,王焕强. 尘肺病治疗中国专家共识(2018年版)[J]. 环境与职业医学,2018,35(8):677-689. doi:10.13213/j.cnki.jeom.2018.18437.

[2] Xie T, Lynn H, Parks WC, et al. Abnormal respiratory progenitors in fibrotic lung injury[J]. Stem Cell Res Ther, 2022,13(1):64. doi:10.1186/s13287-022-02737-y.

[3] Barnes PJ, Baker J, Donnelly LE. Cellular senescence as a mechanism and target in chronic lung diseases[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2019,200(5):556-564. doi:10.1164/rccm.201810-1975TR.

[4] Gong T, Liu L, Jiang W, et al. DAMP-sensing receptors in sterile inflammation and inflammatory diseases[J]. Nat Rev Immunol, 2020, 20(2):95-112. doi: 10.1038/s41577-019-0215-7.

[5] Lyu Y, Wang T, Huang S, et al. Mitochondrial damage-associated molecular patterns and metabolism in the regulation of innate immunity [J]. J Innate Immun, 2023, 15(1): 665-679. doi: 10.1159/000533602.

[6] Hu MM, Shu HB. Mitochondrial DNA-triggered innate immune response: mechanisms and diseases[J]. Cell Mol Immunol, 2023, 20(12):1403-1412. doi:10.1038/s41423-023-01086-x.

[7] Pan SW, Syed RR, Catanzaro DG, et al. Circulating mitochondrial cell-free DNA dynamics in patients with mycobacterial pulmonary infections: potential for a novel biomarker of disease[J]. Front Immunol, 2022,13:1040947. doi: 10.3389/fimmu.2022.1040947.

[8] Giordano L, Gregory AD, Perez VM, et al. Extracellular release of mitochondrial DNA: triggered by cigarette smoke and detected in COPD[J]. Cells, 2022,11(3):369. doi: 10.3390/cells11030369.

[9] Huang R, Shi Q, Zhang S, et al. Inhibition of the cGAS-STING pathway attenuates lung ischemia/reperfusion injury via regulating endoplasmic reticulum stress in alveolar epithelial type Ⅱ cells of rats[J]. J Inflamm Res, 2022,15:5103-5119. doi: 10.2147/JIR.S365970.

[10] Malainou C, Abdin SM, Lachmann N, et al. Alveolar macrophages in tissue homeostasis, inflammation, and infection: evolving concepts of therapeutic targeting[J]. J Clin Invest, 2023,133(19):e170501. doi: 10.1172/JCI170501.

[11] Gonzalez R, Leaffer D, Chapin C, et al. Cell fate analysis in fetal mouse lung reveals distinct pathways for TⅠ and TⅡ cell development [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2019, 317(5): L653-L666. doi: 10.1152/ajplung.00503.2018.

[12] Zhang T, Zhang J, Lv C, et al. Senescent AECⅡ and the implication for idiopathic pulmonary fibrosis treatment[J]. Front Pharmacol, 2022, 13:1059434. doi:10.3389/fphar.2022.1059434.

[13] Li X, Liu Y, Cheng L, et al. Roles of biomarkers in anti-MDA5-positive dermatomyositis, associated interstitial lung disease, and rapidly progressive interstitial lung disease[J]. J Clin Lab Anal, 2022,36(11):e24726. doi: 10.1002/jcla.24726.

[14] Wakamatsu K, Nagata N, Kumazoe H, et al. Prognostic value of serial serum KL-6 measurements in patients with idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Respir Investig, 2017, 55(1): 16-23. doi: 10.1016/j.resinv.2016.09.003.

[15] Wang M, Zhang Z, Liu J, et al. Gefitinib and fostamatinib target EGFR and SYK to attenuate silicosis: a multi-omics study with drug exploration[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022,13,7(1):157. doi: 10.1038/s41392-022-00959-3.

[16] Song MY, Wang JX, Sun YL, et al. Tetrandrine alleviates silicosis by inhibiting canonical and non-canonical NLRP3 inflammasome activation in lung macrophages[J]. Acta Pharmacol Sin, 2022,43(5): 1274-1284. doi:10.1038/s41401-021-00693-6.

[17] Xia L, Yan X, Zhang H. Mitochondrial DNA-activated cGAS-STING pathway in cancer: mechanisms and therapeutic implications[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2024, 1880(1): 189249. doi: 10.1016/j.bbcan.2024.189249.

[18] Long G, Gong R, Wang Q, et al. Role of released mitochondrial DNA in acute lung injury[J]. Front Immunol, 2022, 13: 973089. doi: 10.3389/fimmu.2022.973089.

[19] Tan S, Chen S. Macrophage autophagy and silicosis: current perspective and latest insights[J]. Int J Mol Sci, 2021,22(1):453. doi: 10.3390/ijms22010453.

[20] Zhao H, Wang Y, Qiu T, et al. Autophagy, an important therapeutic target for pulmonary fibrosis diseases[J]. Clin Chim Acta, 2020,502: 139-147. doi:10.1016/j.cca.2019.12.016.

[21] Ryu C, Sun H, Gulati M, et al. Extracellular mitochondrial DNA is generated by fibroblasts and predicts death in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2017, 196(12): 1571-1581. doi: 10.1164/rccm.201612-2480OC.

[22] Ji Y, Lin Y, He J, et al. Research progress of mitochondria and cytoskeleton crosstalk in tumour development[J]. Biochim Biophys Acta RevCancer, 2024, 1880(1): 189254. doi: 10.1016/j.bbcan.2024.189254.

(编辑:龙小芬)