doi:10.11659/jjssx.05E017051

·基础研究·

百草枯通过调节 Wnt/β-catenin 信号通路促进肺泡上皮细胞上皮间质转化

赵春燕,刘 畅,朱忠立,王晓芬,祝国芸,李福祥 (成都军区总医院重症医学科,四川 成都 610000)

[摘 要] **目的** 探讨百草枯(PQ)诱导大鼠Ⅱ型肺泡上皮细胞 RLE-6TN 发生上皮间质转化(EMT)的作用及其分子机制。**方法** 将体外培养的大鼠Ⅱ型肺泡上皮细胞 RLE-6TN 细胞用 20 μmol /L 的百草枯处理 24 h,采用倒置显微镜观察细胞形态学变化;RT-PCR 和 Western blot 法检测细胞中 β-catenin、上皮表型标记蛋白 E-cadherin 及间质表型标记蛋白 Vimentin 的表达;Transwell 侵袭实验检测百草枯处理组与阴性对照组细胞侵袭能力变化。使用 β-catenin 靶向 siRNA 抑制其表达后,进一步采用 RT-PCR 和 Western blot 检测 β-catenin、E-cadherin 和 Vimentin 的表达水平,Transwell 法检测细胞侵袭能力变化。**结果** 体外百草枯溶液可显著诱导大鼠Ⅱ型肺泡上皮细胞 RLE-6TN 上皮间质转化的发生,并伴随着细胞侵袭能力的显著增强。靶向沉默 β-catenin 基因后,百草枯诱导的上皮间质转化过程被逆转,同时细胞侵袭能力显著减弱。**结论** 百草枯通过调控 β-catenin 来诱导 RLE-6TN 细胞上皮间质转化的发生,进而促进肺纤维化的形成。

[关键词] 百草枯;肺纤维化;β-连环蛋白;上皮间质转化
[中图分类号] R571 [文献标识码] A [收稿日期] 2017-05-25

Paraquat promotes epithelial-mesenchymal transition of alveolar epithelial cells through regulating Wnt/β-catenin signaling pathway

ZHAO Chun-yan, LIU Chang, ZHU Zhong-li, WANG Xiao-fen, ZHU Guo-yun, LI Fu-xiang (Department of Critical Care Medicine, Chengdu Military General Hospital, Chengdu Sichuan 610000, China)

Abstract: Objective To investigate whether paraquat (PQ) induced rat alveolar type Ⅱ cells (RLE-6TN) epithelial-mesenchymal transition (EMT) and explore the underlying molecular mechanism. **Methods** RLE-6TN cells were treated by 20 μmol/L PQ for 24 hours, the morphology was observed by invert microscope. RT-PCR and Western blot were performed to detect the expression level of β-catenin, EMT related markers E-cadherin and vimentin. Then we performed the Transwell invasion assays to detect the ability of cell invasion. **Results** The results demonstrated that PQ was able to induce the transition of RLE-6TN cells from epithelial morphology to fibroblast-like morphology, associated with the acquisition of migratory properties. Furthermore, knockdown of β-catenin by using specific siRNA could reverse PQ triggered EMT process and attenuated cell migration ability. **Conclusion** PQ promotes RLE-6TN epithelial-mesenchymal transition by upregulating the expression of Wnt/β-catenin.

Keywords: paraquat; pulmonary fibrosis; Wnt/β-catenin; epithelial-mesenchymal transition

百草枯(Paraquat,PQ)是目前广泛使用的有机杂环类速效杀型除草剂,其化学名称是 1,1-二甲基-4,4-联吡啶阳离子盐。百草枯对人畜具有极大毒性,且目前临床上无有效解毒剂,口服 5 ~ 10 mL 即可达到致死剂量,中毒死亡率可达 90% 以上,且抢救存活的患者绝大多数存在肺间质纤维化,严重影响患者生存质量[1-2]。目前百草枯中毒的发病机制尚不明确,因此,探究百草枯所致肺纤维化的发病机制并寻找有效治疗治疗手段是临床研究的热点及难点。新近研究表明,上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)在呼吸系统疾病,如慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease,COPD)以及肺纤维化发病机制中起着重要作用[3-5]。Ⅱ型肺泡上皮细胞能够通过启动 EMT 程序来使原本的肺泡上皮细胞从上皮细胞表型向间质细胞表型转化,从而促进肺纤维化的发生和发展,但其具体发病机制仍不十分清楚。另有文献指出,EMT 过程受多种信号通路的调控,其中 Wnt/β-catenin 信号通路作为 EMT 启动的关键调控信号通路,也参与了肺纤维化的发生发展[6-7]。本研究旨在探讨百草枯对大鼠Ⅱ型肺泡上皮细胞 RLE-6TN 细胞 EMT 过程的调控及其可能分子机制,进一步揭示百草枯诱导肺纤维化的作用机制,为肺纤维化的临床诊断及治疗提供新的理论依据和治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大鼠Ⅱ型肺泡上皮细胞 RLE-6TN 细胞株购自美国 ATCC 细胞储存库;质量分数 42% 的百草枯溶液购

[通信作者] 李福祥,E-mail:lfx98@163.com

自上海允发化工公司;TRIzol RNA 提取试剂购自日本 Takara 生物有限公司;RT-PCR 引物序列合成由北京天一辉远生物科技公司完成;多克隆兔抗鼠 E-cadherin 和 Vimentin 购自美国 Abcam 公司,多克隆鼠抗鼠 β-catenin和 GAPDH 抗体购自美国 Santa Cruz 公司,辣根酶标记羊抗鼠 IgG 均购自武汉博士德生物科技公司;中分子量 Protein marker 购自 Thermo Fisher 公司;ECL 化学发光试剂盒购自美国 Pierce 公司;胎牛血清购自杭州四季青生物科技有限公司;DMEM 高糖培养基购自美国 Hyclone 公司;细胞及组织蛋白裂解液(RIPA)及 BCA 蛋白定量试剂盒均购自碧云天生物技术研究所;0.45 mm PVDF 膜购自美国 Millipore 公司;6 孔板、25 cm^2 塑料培养瓶以及 24 孔 transwell 小室(孔径 8 μm)均购自海狸生物科技有限公司;侵袭实验所用基质胶(Matrigel)购自 BD 公司;倒置相差显微镜(日本 Olympus 公司);水平电泳槽、垂直电泳槽、转移电泳槽(北京六一电子仪器公司)。

1.2 *方法*

1.2.1 细胞培养 大鼠Ⅱ型肺泡上皮细胞 RLE-6TN 细胞株在 37 ℃、5% CO_2 以及饱和湿度条件的细胞培养箱中用含 10% 去内毒素胎牛血清、100 u/mL 青霉素/链霉素双抗溶液的高糖 DMEM 培养基进行细胞培养。当贴壁细胞覆盖 90% ~95% 时,采用 0.25% 胰蛋白酶消化传代,取第 2 代或 3 代处于对数生长期的细胞进行后续实验。细胞培养至融合 70% ~80% 后,用无血清培养基饥饿过夜,再将细胞按实验要求进行干预处理。

1.2.2 逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR) β-actin 引物序列:上游 5'-CGGAGTCAACGGATTTGGTCGTAT-3',下游 5'-AGCCTTCTCCATGGTGGTGAAGAC-3';β-catenin 引物序列:上游 5'-AGCTTCCAGACACGCTATCAT-3',下游 5'-CGGTACAACGAGCTGTTTCTAC-3';E-cadherin 引物序列:上游 5'-ATTTTTCCCTCGACACCCGAT-3',下游 5'-TCCCAGGCGTAGACCAAGA-3';Vimentin 引物序列:上游 5'-AGTCCACTGAGTACCGGAGAC-3',下游 5'-CATTTCACGCATCTGGCGTTC-3'。PCR 反应条件:94 ℃预变性 2 min,94 ℃变性 20 s,56 ℃退火 1 min,72 ℃延伸 30 s,共进行 32 个循环,最后 72 ℃延伸 5 min,扩增产物 4 ℃ 保存。对实时定量 PCR 仪结果进行统计分析。

1.2.3 Western blot 检测 将 RLE-6TN 细胞用 20 μmol/L的百草枯处理 24 h,处理完毕后将 6 孔板中的细胞用冰上预冷的 PBS 洗涤 3 次后加入 RIPA 裂解液置于冰上裂解 20 min。随后用细胞刮将裂解充分的细胞轻柔刮下,并转移到 1.5 mL EP 管。随后于 12 000 rpm离心 10 min,弃去细胞沉淀,将收集到的上清液置于 -20 ℃冻存。使用 BCA 法测蛋白浓度,随后上样,先用 80 V 电泳积聚蛋白,随后用 120 V 电压使蛋白分离并转膜,5% 脱脂牛奶封闭 1 h。使用多克隆兔抗鼠 E-cadherin、Vimentin、多克隆鼠抗鼠 β-catenin 和 GAPDH 抗体分别与膜接触 4 ℃孵育过夜后,用 TBST 在脱色摇床下洗膜 5 min,3 次,随后加辣根酶标记羊抗兔 IgG,室温下孵育 1 h 后,用 TBST 洗膜5 min,3 次。随后加入 ECL 化学发光液进行曝光,图片扫描,用 Image J 分析软件将图片上的特异条带灰度值数字化,并与内参灰度值比较得出每次实验的相对数值。

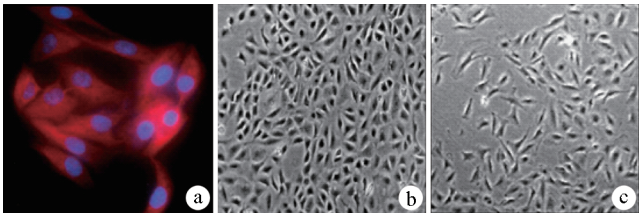
1.2.4 细胞侵袭实验 提前在 4 ℃融解 Matrigel 基质胶,每个聚碳酸酯微孔膜表面铺以 40 μL 稀释的 Matrigel 胶(matrigel 与无血清培养基之比为 1∶3),放入培养箱中 4 h 凝固备用。将处于对数生长期的 RLE-6TN 细胞在无血清 DMEM 高糖培养基饥饿培养 24 h 后,使用 0.25% EDTA 胰蛋白酶消化,接着无血清 DMEM 高糖培养基悬浮成单细胞悬液,将细胞密度调整至 4×10^5/mL。每个小室的上室中加入不含血清的细胞悬液 200 μL,同时按照实验要求进行分组,每组设 3 个复孔,在小室的下室加入含 20% 胎牛血清的 DMEM 高糖细胞培养基,每孔 600 μL,培养箱中培养 48 h。随后取出小室,用冰上预冷的 PBS 洗涤 3 次去除残余培养基,用湿棉签擦去小室上层未未穿过细胞后,4% 多聚甲醛固定 20 min 之后,至于室温晾干。进一步使用结晶紫染色 20 min。随后用冰上预冷的 PBS 洗涤 3 次,将小室浸泡在 PBS 中置于倒置显微镜下观察穿过膜的细胞数,计数中间及四周 5 个高倍(400 倍)镜下视野细胞数,计算平均数。

1.2.5 统计学方法 所有数值用均数 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,统计分析采用软件 SPSS 22.0 行单因素方差分析。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 *百草枯诱导大鼠Ⅱ型肺泡上皮 RLE-6TN 细胞发生形态学改变*

细胞免疫荧光实验对 RLE-6TN 的表型蛋白 E-cadherin进行检测,结果表明 E-cadherin 呈现阳性表达。在阴性对照组中,RLE-6TN 细胞呈典型上皮样多边形,各细胞之间排列紧密,相互连接。经过 20 μmol/L 的百草枯处理 24 h 后,RLE-6TN 细胞之间的细胞极性消失,由连接紧密的扁平状上皮形态逐渐变成连接松散的长梭形、纺锤状形态细胞,细胞排列分散,呈现游走状态(图 1)。

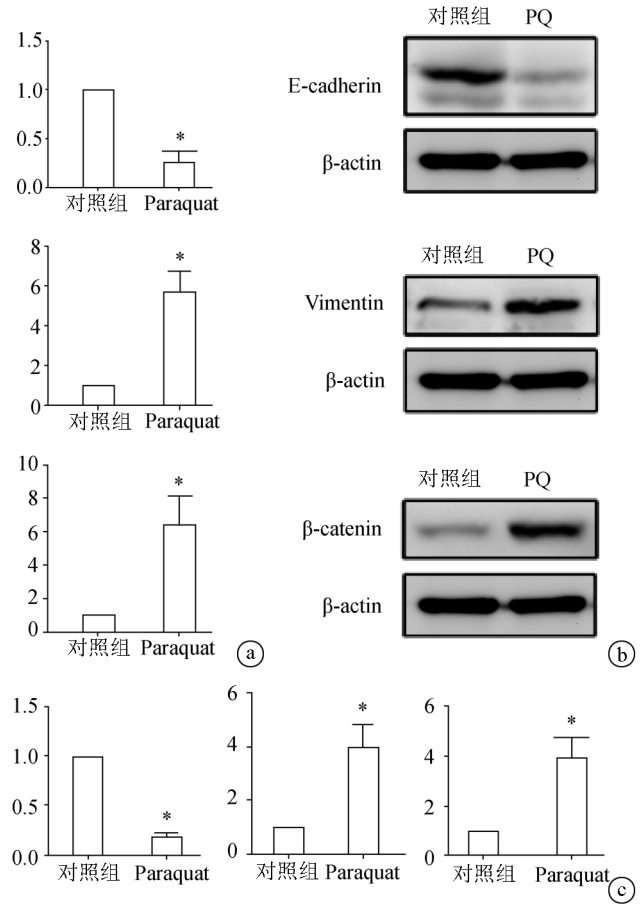


a:细胞免疫荧光检测 E-cadherin 表达;b:阴性对照组 RLE-6TN 细胞细胞形态;c:百草枯处理后的 RLE-6TN 细胞细胞形态

图1 百草枯诱导大鼠Ⅱ型肺泡上皮 RLE-6TN 细胞发生 EMT(×100)

2.2 百草枯诱导大鼠Ⅱ型肺泡上皮 RLE-6TN 细胞 EMT 的发生

经过20 μmol/L 的百草枯处理后24 h 后,RT-PCR 及 Western blot 结果显示与阴性对照组相比,百草枯处理组的 RLE-6TN 细胞的上皮表型 E-cadherin 的 mRNA 和蛋白表达水平显著降低,而间质表型 Vimentin 的 mRNA 和蛋白表达水平显著升高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。同时伴随着 Wnt/β-catenin 信号通路的激活(图2)。



a:RT-PCR 检测 E-cadherin、Vimentin、β-catenin mRNA 表达;b:Western blot检测 E-cadherin、Vimentin、β-catenin mRNA 蛋白表达;c:Western blot 结果定量分析; *:与对照组比较,$P<0.05$

图2 百草枯诱导 RLE-6TN 细胞 EMT

2.3 百草枯增强大鼠Ⅱ型肺泡上皮 RLE-6TN 细胞的体外侵袭能力

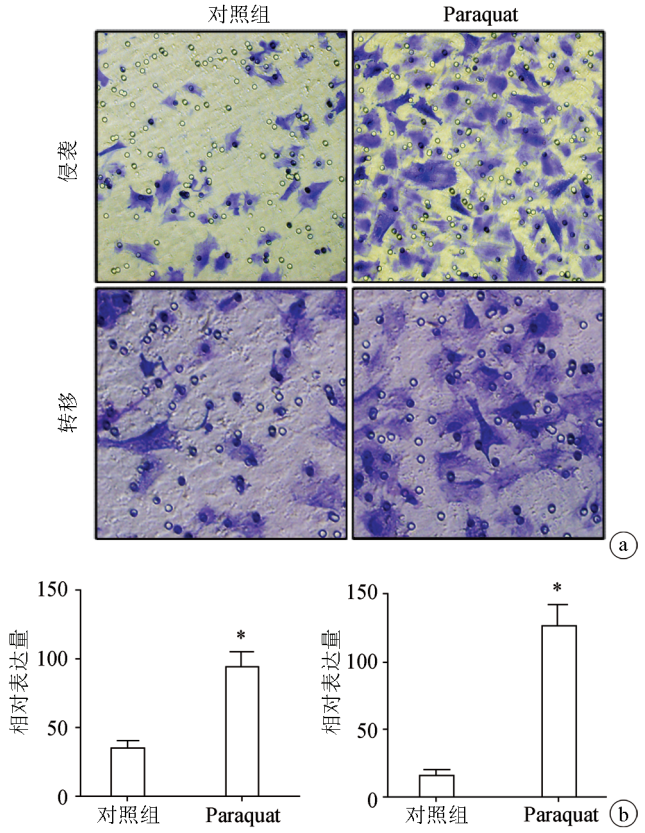
经过20 μmol/L 的百草枯处理24 h 后,与阴性对照组相比,百草枯处理组 RLE-6TN 细胞的侵袭与迁移能力显著增强(图3),差异具有统计学意义($P<0.05$)。

2.4 沉默 Wnt/β-catenin 信号通路抑制百草枯介导的 EMT

通过使用 β-catenin 靶向沉默 siRNA 来抑制其表达,我们进一步检测 β-catenin 在百草枯诱导的 EMT 中的作用。RT-PCR 和 Western blot 结果表明,靶向沉默 β-catenin 后,百草枯诱导的 EMT 过程被显著逆转,伴随着 E-cadherin 的表达增高和 Vimentin 表达下降(图4~6)。

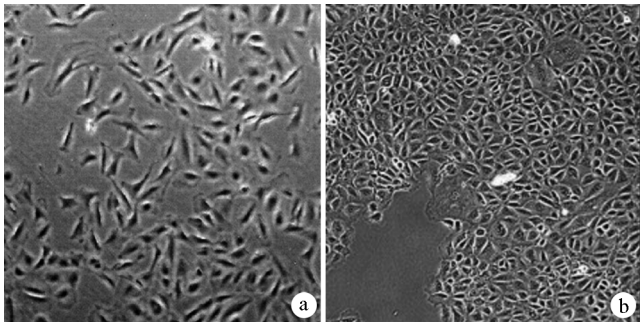
2.5 沉默 β-catenin 表达减弱百草枯诱导的体外侵袭能力

我们进一步验证 Wnt/β-catenin 信号通路是否对百草枯诱导的细胞侵袭产生影响。在 Transwell 小室侵袭实验中,我们发现在使用 β-catenin 靶向沉默 siRNA 阻断其表达后,百草枯介导的 RLE-6TN 细胞的侵袭与迁移能力被显著削弱(图7)。



a:Tanswell 侵袭实验检测细胞侵袭(结晶紫染色 × 200);b:迁移能力定量分析 *:与对照组比较,$P<0.05$

图3 百草枯增强肝癌大鼠Ⅱ型肺泡上皮 RLE-6TN 细胞侵袭与迁移能力



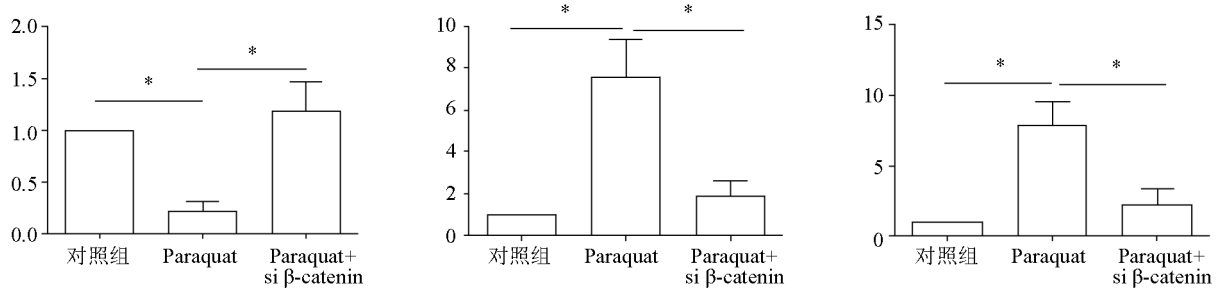
a:百草枯处理组;b:百草枯协同 si β-catenin 处理组 RLE-6TN 细胞细胞形态

图 4 沉默 β-catenin 抑制百草枯诱导的 EMT(结晶紫染色 ×200)

3 讨论

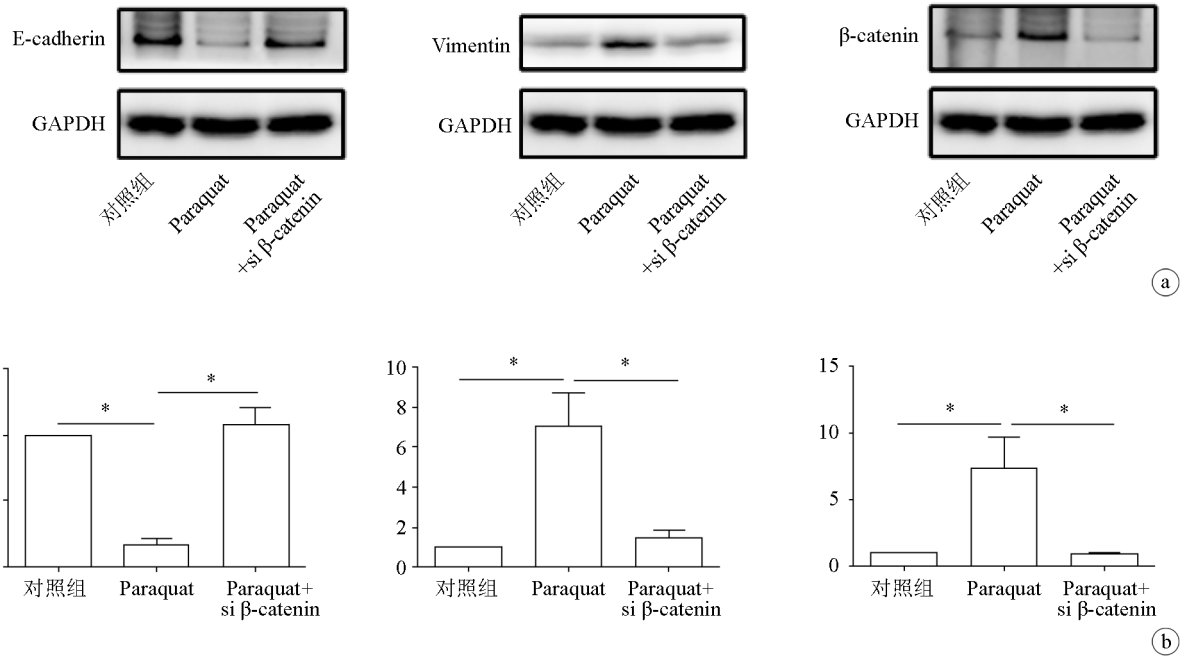
百草枯中毒可波及人体多器官系统,如肺、肾、肝、心脏及肾上腺等,大剂量的百草枯中毒患者多在短期内死于多器官功能衰竭[8-9]。百草枯在肺组织中的浓度最高,肺部作为百草枯最易吸收部位,也是其主要靶器官,临床症状最为突出[10]。百草枯所致的肺部损害在早期临床特征为急性肺损伤,主要表现为中毒 24 h 内出现肺水肿和肺出血,随着病情进展,数日后患者出现不同程度的不可逆性肺间质纤维化,后期多死于肺功能衰竭[11]。

上皮间质转化(EMT)是一个高度保守的过程,其通过特定程序使具有黏附形态的上皮细胞极性消失、失去细胞间紧密连接,并突破基底膜成为具有迁移能力的间充质细胞,从而获得迁移和侵袭能力[12-13]。EMT 过程不仅参与胚胎形态的形成和多种组织器官的发育,也在多种纤维化性疾病中发挥重要作用[14-15]。EMT 的发生常伴随着上皮细胞表型标志物 E-cadherin 的下调,间质细胞表型标志物 Vimentin 的上调。新近研究表明,Ⅱ型肺泡上皮细胞能够通过启动 EMT 程序来使原本的肺泡上皮细胞从上皮细胞表型向间质细胞表型转化,从而促进肺纤维化的发生和



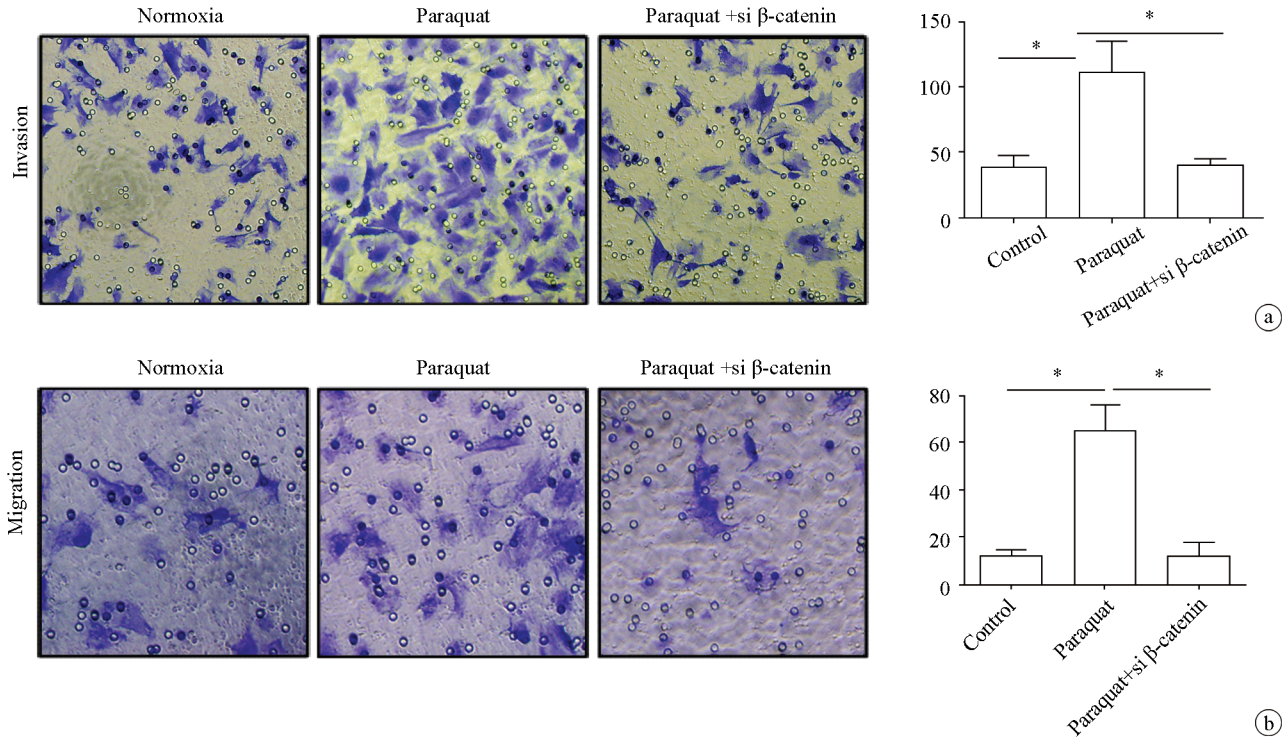
*:$P<0.05$

图 5 RT-PCR 检测 E-cadherin、Vimentin、β-catenin mRNA 表达



a:Western blot 检测 E-cadherin、Vimentin、β-catenin mRNA 蛋白表达;b:Western blot 结果定量分析;*:$P<0.05$

图 6 Western blot 检测结果



a:Tanswell 侵袭实验检测细胞侵袭;b:迁移能力定量分析 *:$P<0.05$

图 7 沉默 β-catenin 抑制百草枯诱导的 RLE-6TN 细胞侵袭与迁移(结晶紫染色 ×200)

发展[16-17]。但是临床上百草枯中毒导致的肺纤维化是否涉及 EMT 过程,及其具体调控分子机制目前尚不清楚。

Wnt/β-catenin 信号转导通路在多种组织如肺、肾脏、神经组织等的发育过程中扮演重要角色,此外其也是 EMT 过程中的关键调控因子[18-19]。经典的 Wnt 信号通路通过抑制 GSK3β 介导的磷酸化作用而阻止胞质内 β-catenin 降解,大量聚集的 β-catenin 随后入核,与下游启动子 TCF/LCF3 复合体结合,调控下游靶基因的转录表达,从而诱导 EMT 程序的启动[20-21]。既往研究表明,肺纤维化与肺部肿瘤等呼吸系统疾病中均存在 β-catenin 基因的异常高表达[22-23]。另有研究表明,百草枯中毒能够通过 snail/β-catenin 信号通路调控早期肺纤维化的发生[7]。但是 EMT 过程是否参与百草枯导致的肺纤维化形成,Wnt/β-catenin 信号通路在其中的作用及其调控机制目前鲜有报道。

在本实验中,我们首先使用 20 μmol/L 的百草枯处理大鼠Ⅱ型肺泡上皮细胞 RLE-6TN 24 h,随后在倒置显微镜下观察细胞形态改变并采用 RT-PCR 和 Western blot 技术验证了体外百草枯是否能够诱导 RLE-6TN 细胞 EMT 的发生。结果表明,与阴性对照组相比,使用百草枯处理 24 h 后,RLE-6TN 细胞的形态由最初的多边形向成纤维样细胞形态改变,呈长梭形、纺锤状。同时并伴随着上皮表型蛋白 E-cadherin 表达的下降和间质表型蛋白 Vimentin 表达的升高。Transwell 侵袭实验结果也显示低氧培养后发生 EMT 的 RLE-6TN 细胞具有更强的侵袭能力。为了进一步研究百草枯启动 EMT 过程的分子机制,我们同时检测 EMT 关键调控通路 Wnt/β-catenin 信号通路。结果表明,与阴性对照组相比,百草枯处理 24 h 后 RLE-6TN 细胞中 β-catenin 基因显著激活,提示其可能参与百草枯介导的 EMT 过程。为了明确 Wnt/β-catenin 信号在其中的具体作用机制。我们通过特异性 β-catenin si-RNA 来靶向沉默阻断其表达,并进一步检测其对细胞 EMT 启动和侵袭能力影响。研究发现,在靶向沉默 β-catenin 基因之后,百草枯了介导的 RLE-6TN 细胞 EMT 过程和侵袭现象被逆转,表明 β-catenin 基因在这一过程中起着关键作用。基于以上研究,我们推测百草枯通过激活 Wnt/β-ctenin 信号通路来启动上皮间质转化城西,从而使得 RLE-6TN 细胞的侵袭能力增强,最终促进肺纤维化的发生发展。

综上所述,本研究初步证实在大鼠Ⅱ型肺泡上皮 RLE-6TN 细胞中百草枯能够通过激活 Wnt/β-catenin 信号通路来启动上皮间质转化程序,进而促进肺纤维化的发生发展,这将加深对肺纤维化发病机制的认识。因此,深入研究 Wnt/β-catenin 信号通路在肺纤维化 EMT 过程中的作用及其具体调控机制,通过靶向阻断 β-catenin 基因,从而逆转 EMT 过程并抑制肺纤维化的

形成,这将为百草枯中毒所致肺纤维化的预防和靶向治疗提供新的思路和理论依据,具有重要的临床意义和良好的应用前景。

[参考文献]

[1] Gil HW, Hong JR, Jang SH, et al. Diagnostic and therapeutic approach for acute paraquat intoxication[J]. J Korean Med sci, 2014, 29(11): 1441 - 1449. doi: 10.3346/jkms.2014.29.11.1441.

[2] Xu L, Xu J, Wang Z. Molecular mechanisms of paraquat-induced acute lung injury: a current review[J]. Drug Chemical Toxicol, 2014, 37(2): 130 - 134. doi: 10.3109/01480545.2013.834361.

[3] Sohal SS. Epithelial and endothelial cell plasticity in chronic obstructive pulmonary disease(COPD)[J]. Respiratory Investiga, 2017, 55(2): 104 - 113. doi: 10.1016/j.resinv.2016.11.006.

[4] Chapman HA. Epithelial-mesenchymal interactions in pulmonary fibrosis[J]. Ann Review Physiol, 2011, 73: 413 - 435. doi: 10.1146/annurev - physiol - 012110 - 142225.

[5] Willis BC, Dubois RM, Borok Z. Epithelial origin of myofibroblasts during fibrosis in the lung[J]. Proceedings Am Thoracic Society, 2006, 3(4): 377 - 382. doi: 10.1513/pats.200601 - 004TK.

[6] Cheung CT, Bendris N, Paul C, et al. Cyclin A2 modulates EMT via beta-catenin and phospholipase C pathways[J]. Carcinogenesis, 2015, 36(8): 914 - 924. doi: 10.1093/carcin/bgv069.

[7] Zhu Y, Tan J, Xie H, et al. HIF-1alpha regulates EMT via the Snail and beta-catenin pathways in paraquat poisoning-induced early pulmonary fibrosis[J]. J Cellular and Molecular Medicine, 2016, 20(4): 688 - 697. doi: 10.1111/jcmm.12769.

[8] Cai Q, Liu Z. An analysis of relevant factors of early death in acute paraquat poisoning[J]. Zhonghua wei zhong bing ji jiu yi xue, 2014, 26(6): 379 - 382. doi: 10.7150/thno.4922.

[9] Rao R, Bhat R, Pathadka S, et al. Golden Hours in Severe Paraquat Poisoning-The Role of Early Haemoperfusion Therapy[J]. JCDR, 2017, 11(2): Oc06 - oc8. doi: 10.7860/JCDR/2017/24764.9166.

[10] Nguyen V, Malik DS, Howland MA. Methylene blue protects against paraquat-induced acute lung injury in rats[J]. Inter Immunopharmacol, 2014, 20(2): 358. doi: 10.1016/j.intimp.2013.06.022.

[11] Shao X, Chen JH. Progress on pathogenesis and treatment of paraquat-induced pulmonary fibrosis[J]. J Zhejiang Uni Med sci, 2014, 43(6): 717 - 727. doi: 10.1513/pats.200704 - 051VS.

[12] Gonzalez DM, Medici D. Signaling mechanisms of the epithelial-mesenchymal transition[J]. Sci Signa, 2014, 7(344): re8. doi: 10.1007/s13277 - 016 - 5107 - x.

[13] Masferrer E, Ferrandiz-pulido C, Masferrer-niubo M, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition in penile squamous cell carcinoma[J]. J Urol, 2015, 193(2): 699 - 705. doi: 10.1016/j.juro.2014.07.083.

[14] Li M, Luan F, Zhao Y, et al. Epithelial-mesenchymal transition: An emerging target in tissue fibrosis[J]. Experimental Biol Med(Maywood, NJ), 2016, 241(1): 1 - 13. doi: 10.1177/1535370215597194.

[15] Zou XZ, Liu T, Gong ZC, et al. MicroRNAs-mediated epithelial-mesenchymal transition in fibrotic diseases[J]. Europ J Pharmacol, 2017, 796: 190 - 206. doi: 10.1016/j.ejphar.2016.12.003.

[16] Guo R, Lv Y, Ouyang Y, et al. The role of miR-497/EIF3A axis in TGFbeta1-induced epithelial-mesenchymal transition and extracellular matrix in rat alveolar epithelial cells and pulmonary fibroblasts[J]. J Cell Biochem, 2017. doi: 10.1016/j.pupt.2012.07.006.

[17] Yoon YS, Lee YJ, Choi YH, et al. Macrophages programmed by apoptotic cells inhibit epithelial-mesenchymal transition in lung alveolar epithelial cells via PGE2, PGD2, and HGF[J]. Sci Rep, 2016, 6: 20992. doi: 10.1038/srep20992.

[18] Ghahhari NM, Babashah S. Interplay between microRNAs and WNT/beta-catenin signalling pathway regulates epithelial-mesenchymal transition in cancer[J]. Eur J Cancer, 2015, 51(12): 1638 - 1649. doi: 10.1016/j.ejca.2015.04.021.

[19] Wu C, Zhuang Y, Jiang S, et al. Interaction between Wnt/beta-catenin pathway and microRNAs regulates epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer(Review)[J]. Int J Oncol, 2016, 48(6): 2236 - 2246. doi: 10.3892/ijo.2016.3480.

[20] Clevers H, Nusse R. Wnt/beta-catenin signaling and disease[J]. Cell, 2012, 149(6): 1192 - 1205. doi: 10.1167/iovs.15 - 18359.

[21] Guo Y, Xiao L, Sun L, et al. Wnt/beta-catenin signaling: a promising new target for fibrosis diseases[J]. Physiol Res, 2012, 61(4): 337 - 346. doi: 10.1517/14728222.2014.934813.

[22] Chilosi M, Poletti V, Zamo A, et al. Aberrant Wnt/beta-catenin pathway activation in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Am J Pathol, 2003, 162(5): 1495 - 1502. doi: 10.1159/000430197.

[23] Lam AP, Flozak AS, Russell S, et al. Nuclear beta-catenin is increased in systemic sclerosis pulmonary fibrosis and promotes lung fibroblast migration and proliferation[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2011, 45(5): 915 - 922. doi: 10.1042/CS20110496.

(编辑:左艳芳)