

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.18.003

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20210529.1704.002.html\(2021-05-31\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20210529.1704.002.html(2021-05-31))赶黄草调控 Wnt4 抑制 TGF- β 诱导肺纤维化
相关基因表达的研究*熊安英¹, 牛斌¹, 张雷¹, 熊瑛², 宋琦³, 何翔¹, 李国平^{1 Δ} (1. 国家呼吸系统疾病临床研究中心成都市第三人民医院分中心/成都市呼吸健康研究所
过敏与精准医学实验室, 成都 610031; 2. 四川省友谊医院呼吸与危重症医学科, 成都 610011;
3. 西南医科大学附属医院胸外科, 四川泸州 646000)

[摘要] **目的** 探讨赶黄草通过调控 Wnt 信号通路中的 Wnt4 抑制转化生长因子- β (TGF- β) 诱导的肺纤维化。**方法** 从基因表达数据库 GEO 中搜索 TGF- β 组(6 个组)和对照组(5 个组)相关转录组学的差异基因 RNAs, 对信号通路中的 Wnt 信号进行差异基因 GO、KEGG、REACTOME 富集, 分析 TGF- β 和 Wnt 信号通路中相关基因的联系, 并在体外实验中验证 TGF- β 和 Wnt 信号通路中的相关基因的关系。随后加入赶黄草检测是否通过调控 Wnt 相关基因来抑制 TGF- β 诱导的肺纤维化。实验细胞分空白组、TGF- β 组、Wnt4 组和赶黄草+TGF- β 组, 采用实时荧光定量 PCR 法检测 MRC-5 细胞中的纤连蛋白(FN1)、平滑肌肌动蛋白 A2 (ACTA2)、Wnt4 等基因表达情况, 激光共聚焦检测 FN1 和 I 型胶原蛋白 $\alpha 1$ 链(COL1A1)蛋白荧光定量情况。**结果** 基因转录组学分析发现, TGF- β 通过激活 Wnt 信号通路中的 Wnt4 基因使其表达升高, 且 TGF- β 和 Wnt 信号通路的激活呈正相关。MRC-5 细胞的实时荧光定量 PCR 结果显示, 与空白组比较, TGF- β 组 FN1、Wnt4 基因 mRNA 表达水平明显升高, Wnt4 组 FN1 基因 mRNA 表达水平明显升高($P < 0.05$)。与 TGF- β 组比较, 赶黄草+TGF- β 组 FN1、ACTA2、Wnt4 mRNA 表达水平明显降低($P < 0.05$)。激光共聚焦显微镜检测结果显示, 与 TGF- β 组比较, 空白组和赶黄草+TGF- β 组 FN1 和 COL1A1 蛋白荧光明显降低($P < 0.05$)。**结论** 赶黄草可能通过调控 Wnt 信号通路中 Wnt4 的表达来抑制 TGF- β 诱导的肺纤维化。

[关键词] 赶黄草; 转化生长因子- β ; Wnt4; 信号通路; 肺纤维化**[中图分类号]** R34**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2021)18-3073-06Study on Penthorum Chinense Pursh inhibiting TGF- β -induced pulmonary
fibrosis related gene expression by regulating Wnt4*XIONG Anying¹, NIU Bin¹, ZHANG Lei¹, XIONG Ying², SONG Qi³, HE Xiang¹, LI Guoping^{1 Δ} (1. Laboratory of Allergy and Inflammation, Chengdu Respiratory Health Institute/National Clinical
Research Center of Respiratory Diseases, Chengdu Third People's Hospital branch, Chengdu, Sichuan
610031, China; 2. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Sichuan Friendship Hospital,
Chengdu, Sichuan 610011, China; 3. Department of Thoracic Surgery, the Affiliated Hospital of
Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the suppressive effect of Penthorum Chinense Pursh (PCP) on transforming growth factor- β (TGF- β)-induced pulmonary fibrosis by regulating Wnt4 in the Wnt signaling pathway. **Methods** Searched for differential gene RNAs related to transcriptomics in the TGF- β group (six groups) and the control group (five groups) from the gene expression database GEO, and enriched the differential genes GO, KEGG, and REACTOME for Wnt signals in the signaling pathway, analyzed the relationship between TGF- β and related genes in the Wnt signaling pathway, and verified the relationship in vitro experiments. Then, PCP was added to test whether it could inhibit TGF- β -induced pulmonary fibrosis by regulating Wnt-related genes. The experiment was divided into the blank group, the TGF- β group, the Wnt4 group and the PCP+TGF- β group. Real-time fluorescent quantitative PCR was used to detect fibronectin (FN1), smooth muscle actin A2 (ACTA2), Wnt4 genes expression in MRC-5 cells, confocal laser was used to detect FN1 and type I collagen $\alpha 1$ chain (COL1A1) protein fluorescence quantification. **Results** Gene transcriptomics analysis found that TGF- β increased its expression by activating the Wnt4 gene in the Wnt signaling pathway, and there

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81970026, 82000029); 四川省科技计划项目(2018JY0380); 四川省卫生健康委员会科研课题(20PJ208); 四川省泸州市科研课题(2016ZXNYD-Z01)。作者简介: 熊安英(1982-), 主管技师, 硕士, 主要从事过敏与炎症反应研究。 Δ 通信作者, E-mail: lzlgp@163.com。

was a positive correlation between TGF- β and Wnt signaling pathway. The real-time fluorescent quantitative PCR results of MRC-5 cells showed that compared with the blank group, the mRNA expression levels of FN1 and Wnt4 genes in the TGF- β group increased significantly, while the mRNA expression levels of FN1 gene in the Wnt4 group increased significantly ($P < 0.05$). Compared with the TGF- β group, the expression levels of FN1, ACTA2 and Wnt4 in the PCP + TGF- β group decreased significantly ($P < 0.05$). The results of laser light confocal microscopy showed that compared with the TGF- β group, the proteins fluorescence of FN1 and COL1A1 in the control group and the PCP + TGF- β group decreased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion** PCP may inhibit TGF- β -induced pulmonary fibrosis by regulating the expression of Wnt4 in Wnt signaling pathway.

[Key words] Penthorum Chinense Pursh; transforming growth factor- β ; Wnt4; signaling pathway; pulmonary fibrosis

特发性肺纤维化是最常见的间质性肺病,具有侵袭性和致死性,5 年生存率仅为 20%^[1-2]。该病好发于中老年男性,主要表现为干咳、进行性加重的呼吸困难,伴限制性通气功能障碍和气体交换障碍,导致低氧血症,患者最终因呼吸衰竭而死亡^[3-4]。上皮细胞和内皮细胞通过分泌细胞因子和生长因子,如转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、血小板源性生长因子等,诱发肺纤维化的发生^[5]。研究表明,TGF- β 和 Wnt 信号通路在肺、肝、消化道等不同器官和系统的组织修复和重塑中发挥了重要作用^[6]。多项研究也表明纤维化性肺疾病中 TGF- β 水平持续升高,可导致过度修复过程和器官功能障碍^[7-8],这为治疗特发性肺纤维化增加了困难。目前,延缓特发性肺纤维化进程的药物主要以吡非尼酮和尼达尼布为主,不良反应大且价格相当昂贵,给患者造成了一定的经济负担。因此,寻找一种安全有效且价格低廉的药物在肺纤维化的防治过程中极为重要。

赶黄草又名扯根菜,是我国分布广泛的一种天然草本植物。研究发现,赶黄草提取物对乙型肝炎、丙型肝炎、肝癌具有保护作用^[9],同时对乙醇或氧化性导致的肝损伤具有保护作用^[10]。ZHOU 等^[11]发现赶黄草提取物生松素能通过 SIRT3-TGF- β -smad 信号通路抑制肝星状细胞的激活进而抑制肝纤维化。目前尚未发现赶黄草治疗肺纤维化的相关研究,在本课题组实验中,通过生物信息学分析发现 TGF- β 和 Wnt4 存在相互关系,因此,推测赶黄草可能通过抑制 TGF- β 和 Wnt4 相关信号抑制肺纤维化。本研究探讨赶黄草对肺纤维化的作用及其机制,以期对赶黄草的研究和临床应用提供理论依据,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

MRC-5 人胚肺成纤维细胞(上海中乔新舟生物科技有限公司);赶黄草对照品(成都瑞芬思生物科技有限公司, DZYC-G-028);RNA simple Total RNA Kit 总 RNA 提取试剂盒、RNA SuperMix 试剂盒和 SYBR Green Realltime PCR Master Mix 试剂盒(中国 Vazyme 公司);最低基本培养基(minimum Eagle's medium, MEM)、胎牛血清、Sodium pyruvate(美国 Gibco 公司);MEM Nonessential Amino Acid Solution、丙酮酸钠、CCK8(中国 Solarbio 公司);TGF- β 、

Wnt4(美国 Abcam 公司);纤连蛋白(fibronectin, FN1)、I 型胶原(中国 Bioass 公司);CO₂ 恒温培养箱(美国 Thermo 公司);超净工作台(新加坡 ESCO 公司);荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司);激光共扫描显微镜(德国 Olympus 公司)。

1.2 方法

1.2.1 数据收集

从基因表达数据库 GEO(Gene Expression Omnibus)中搜索 TGF- β 组(6 个生物重复组)和对照组(5 个生物重复组)相关转录组学的差异基因 RNAs。

1.2.2 数据预处理和 RNAs 的重注释

利用 R 软件的 affy 包进行数据预处理,对 RNAs 进行重注释。使用 Agilent GeneSpring GXv12.1 软件进行芯片数据均一化处理 and 差异分析,经过折叠倍率(fold change, FC)筛选出所有差异表达的 RNAs, $|\log_{2}FC| \geq 0.3, P < 0.05$ 。

1.2.3 Wnt 信号通路的功能富集和通路分析

使用富集分析工具对 Wnt 信号通路进行基因本体论(gene ontology, GO)分析,描述该信号通路中基因的表达趋势;同时将 Wnt 信号途径的调节进行 GO 和 REACTOME 富集分析比较,进一步阐述 TGF- β 因子与 Wnt 信号通路的相互关系。

1.2.4 实时荧光定量 PCR 和激光共聚焦验证

(1)为了验证 TGF- β 和 Wnt4 之间的相互关系,设立空白组、TGF- β 组(5 ng/mL)及 Wnt4 组(250 ng/mL),作用 24 h 后收集细胞提取总 RNA,逆转录后对 FN1、平滑肌肌动蛋白 A2(smooth muscle actin A2, ACTA2)、Wnt4 进行实时荧光定量 PCR 实验。(2)为了探讨赶黄草是否通过 Wnt4 影响 TGF- β 介导的肺纤维化,对 MRC-5 细胞进行了赶黄草的毒性实验。将实验细胞分为空白组、TGF- β 组、赶黄草 + TGF- β 组,在 MRC-5 细胞中加入 TGF- β 处理 6 h 后加入赶黄草(50 μ g/mL),培养 24 h 后,激光共聚焦检测 FN1 和 I 型胶原蛋白 α 1 链(COL1A1)蛋白荧光定量情况,同时收集细胞和提取总 RNA,逆转录后进行实时荧光定量 PCR 实验。目的基因包括 FN1、ACTA2、Wnt4 蛋白的表达,见表 1。

1.3 统计学处理

采用 SPSS25.0 软件进行数据分析,采用 Graph-Pad5.0 软件绘制图表,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组

间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 基因实时荧光定量 PCR 引物序列

基因名称	引物序列(5'-3')
FN1	上游 TCGAGGAGGAAATTCCAATG
	下游 ACACACGTGCACCTCATCAT
ACTA2	上游 CCGACCGAATGCAGAAGGA
	下游 ACAGAGTATTTGCGCTCCGAA
Wnt4	上游 AAGGCATCTGACACACATGC
	下游 GTCTTTACCTCACAGGAGCTGAC
actin	上游 CTACCTCATGAAGATCCTCACCGA
	下游 TTCTCCTTAATGTCACGCACGATT

2 结果

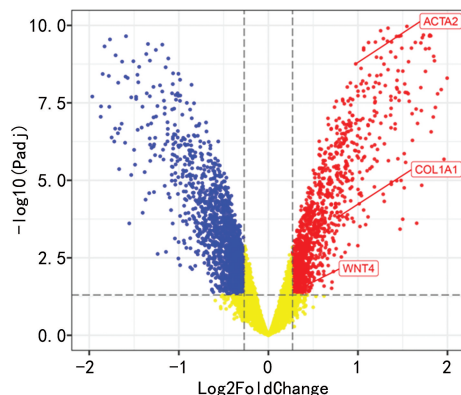
2.1 TGF-β 组和对照组中差异表达基因

GEO 数据库中共获得差异表达基因 12 548 个,在这些差异基因中有 2 151 个基因在 TGF-β 组低表达,有 1 505 个基因在 TGF-β 组高表达,其中 Wnt4、ACTA2、COL1A1 就属于高表达基因,见图 1。利用聚类分析找出具有相同生物学过程或相似功能且差异比较明显的基因 100 个,选取在 TGF-β 组表达升高和降低的基因各 50 个,结果表明 TGF-β 组与对照组 MRC-5 细胞标本的生物学过程与功能区分比较明显;TGF-β 组 Wnt 信号途径中 Wnt4、ACTA2、COL1A1、FN1 表达水平升高,其中 Wnt4、ACTA2、COL1A1 表达

水平升高差异有统计学意义($P < 0.05$),而 FN1 表达水平升高不明显,见图 2。

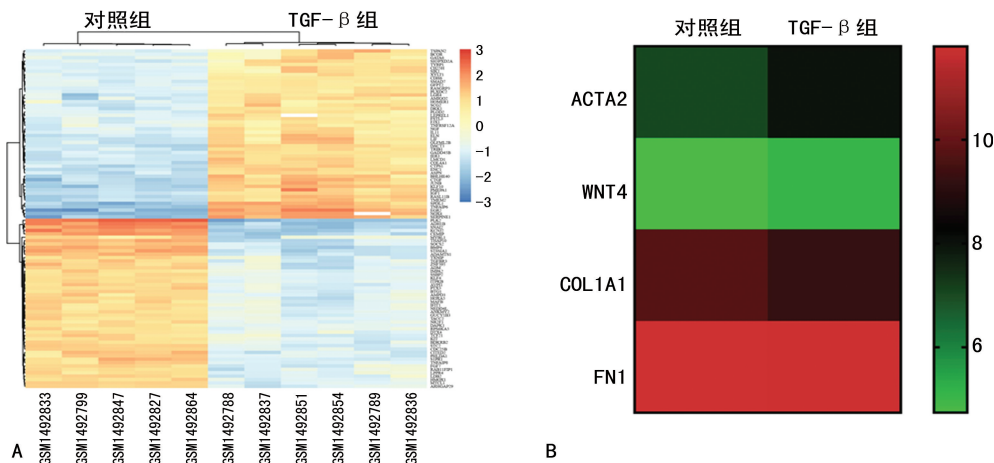
2.2 Wnt 信号通路中基因富集分析

通过 GO 富集图形分析,发现 Wnt 信号通路途径的调节基因与典型的 Wnt 信号通路中基因是一致的,且图形中 ES 值前的领头亚集形状中功能基因集在 TGF-β 组具有更明显的生物学意义。TGF-β 组对不同数据库的 Wnt 信号通路的富集分析发现,TGF-β 与 Wnt 信号通路的激活呈正相关,见图 3。



红点:表达水平升高基因;蓝点:表达水平降低基因;黄点:表达无明显差异基因;|lofFC|≥0.5, $P < 0.05$ 。

图 1 TGF-β 组和对照组中总差异表达基因火山图



A: TGF-β 组和对照组中 100 个差异明显基因热图($FC > 2.0, P < 0.05$); B: Wnt 信号途径中相关基因热图。

图 2 TGF-β 组和对照组中总差异表达基因热图

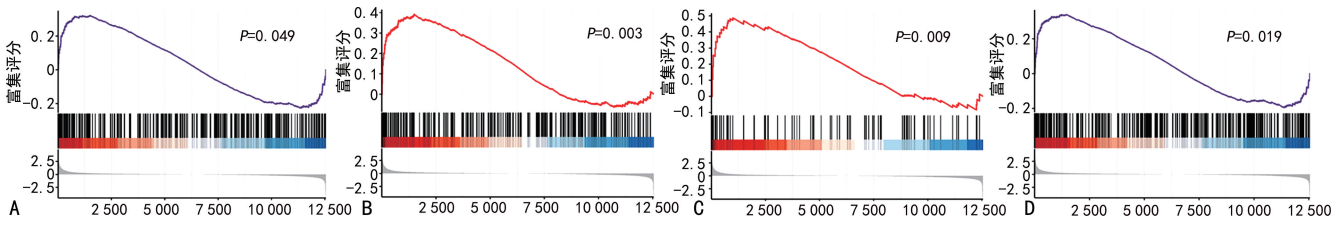
2.3 TGF-β 和 Wnt4 相互关系影响

为验证以上生物信息学分析的可靠性,在 MRC-5 细胞中加入 TGF-β,发现 FN1 mRNA 表达水平明显升高($P < 0.05$),同时 Wnt 信号通路中 Wnt4 基因 mRNA 表达水平也升高($P < 0.05$);为了进一步说明 TGF-β 诱导肺纤维化是通过调控 Wnt4,在 MRC-5 细胞中加入 Wnt 信号通路中的 Wnt4 进行处理,发现纤维化相关蛋白 FN1 mRNA 表达水平升高($P < 0.05$),见图 4。

2.4 赶黄草调控 Wnt4 抑制 TGF-β 诱导的肺纤维化

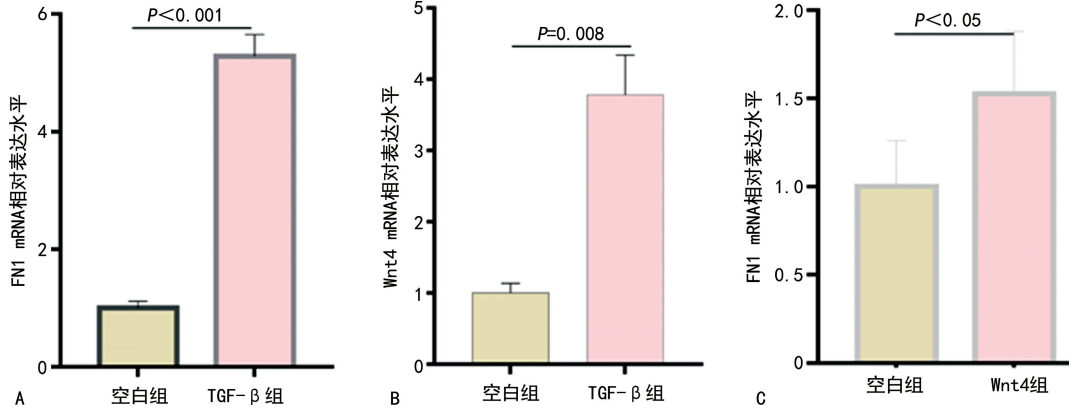
为验证赶黄草对 MRC-5 细胞的毒性,加入了不同浓度的赶黄草进行 CCK8 毒性实验,结果发现当赶

黄草的浓度达到 $50 \mu\text{g/mL}$ 时,MRC-5 细胞培养 24 h 后没有明显的细胞毒性。在 MRC-5 细胞中加入 TGF-β 处理后与空白组比较,其 FN1、ACTA2、Wnt4 mRNA 水平明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);在 TGF-β 组加入赶黄草后,其 FN1、ACTA2、Wnt4 mRNA 水平较 TGF-β 组明显降低($P < 0.05$);同时通过激光共聚焦检测各组 MRC-5 细胞中不同处理后的 COL1A1 和 FN1 蛋白荧光定量,其结果与实时荧光定量 PCR 结果一致,空白组 COL1A1 和 FN1 表达水平与 TGF-β 组比较明显降低,赶黄草+TGF-β 组与 TGF-β 组比较,其纤维化蛋白 COL1A1 和 FN1 的水平也明显降低($P < 0.05$),见图 5。



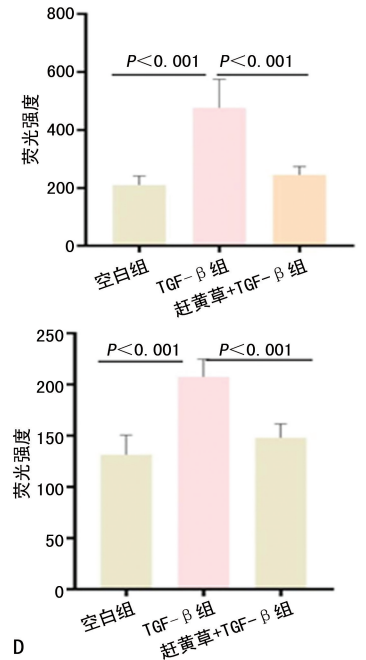
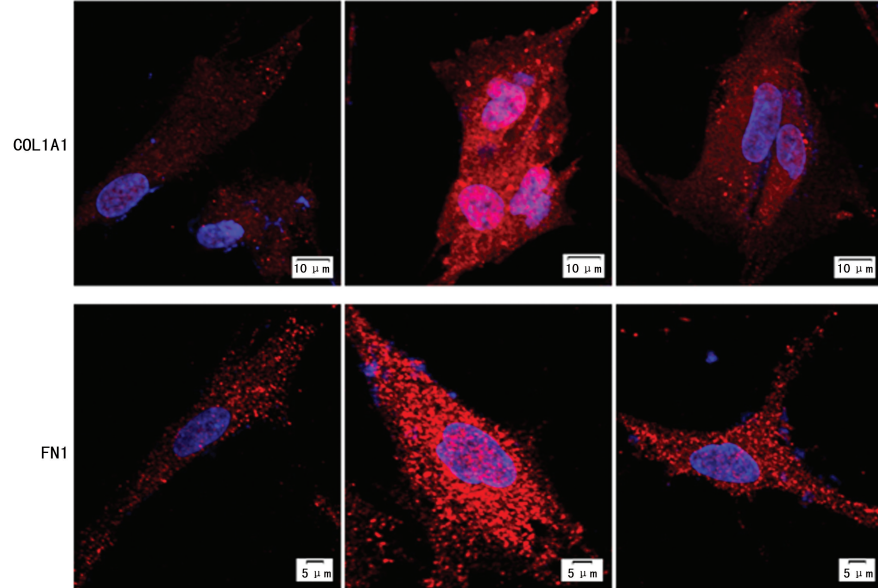
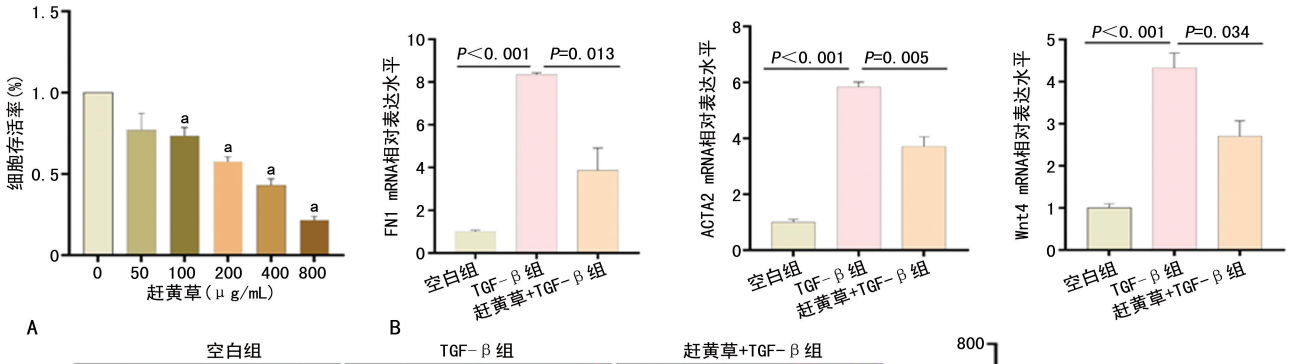
A:典型 Wnt 信号通路差异基因的 GO 富集分析;B:调节 Wnt 信号途径的差异基因的 GO 富集分析;C:Wnt 调节的信号通路差异基因的 Reactome 富集分析;D:Wnt 信号通路中差异基因的 KEGG 分析。

图3 Wnt 信号通路中基因富集分析



A:TGF-β 处理后 FN1 mRNA 表达水平;B:TGF-β 处理后 Wnt4 mRNA 表达水平;C:Wnt4 处理后 FN1 mRNA 表达水平。

图4 TGF-β 和 Wnt4 处理 MRC-5 细胞后其相关基因 mRNA 表达水平



A:不同浓度的赶黄草对 MRC-5 细胞的活力影响;B:实时荧光定量 PCR 检测赶黄草对 MRC-5 细胞中 TGF-β 诱导的 Wnt 信号通路的影响;C:共聚焦显微镜观察赶黄草处理 MRC-5 细胞后 Wnt 信号通路中 COL1A1 和 FN1 的荧光强度;D:定量分析 COL1A1 和 FN1 荧光强度;*, P<0.05, 与 0 μg/mL 赶黄草比较。

图5 赶黄草调控 Wnt4 抑制 TGF-β 诱导的肺纤维化

3 讨 论

特发性肺纤维化是一种由异常的创伤愈合进程导致的疾病,其中上皮细胞损伤启动炎性因子,导致炎性细胞浸润、成纤维细胞异常增殖和胶原蛋白沉积^[12-14]。TGF- β 是一种对细胞分化增殖和炎症反应具有综合调节作用的多功能细胞因子^[7],在组织纤维化信号的启动中发挥着重要作用^[15]。此外,TGF- β 诱导上皮-间质转化和内皮-间质转化,同时肺内的肺泡上皮或内皮细胞向迁移性成纤维细胞转化^[16]。Wnt 信号通路是一组由蛋白质组成的信号转导通路,通过细胞表面受体将信号从细胞外传递到细胞内^[17]。最近的研究表明,Wnt 信号通路的成分已成为靶器官抑制纤维化的潜在靶点^[18]。Wnt4 是 Wnt 蛋白家族中的一员,作为局部作用的信号分子,调节细胞间的相互作用、增殖和迁移^[19]。对成人子宫 Wnt4 的表达进行分析,发现 Wnt4 可参与调节子宫内膜基质细胞的增殖、存活和分化^[20]。Wnt4/ β -catenin 信号通路已经证实可参与肝纤维化^[21]、肺纤维化^[22]的发生、发展。LAM 等^[23]报道 Lrp5 缺失小鼠由于废除了 Wnt/ β -catenin 信号通路,对博莱霉素诱导的肺纤维化具有保护作用。本研究对 GEO 数据库的微阵列数据集进行 GO 和 Wnt 信号通路富集分析,发现 TGF- β 是调节 Wnt 信号途径的一个重要因素,随着 TGF- β 的加入 Wnt 信号途径即被激活,这与 SPANJER 等^[24]发现 Wnt 受体能介导 TGF- β 诱导的促纤维化信号通路是一致的。但 Wnt 信号通路中配体、受体和共受体怎样参与 TGF- β 诱导的肺纤维化的调控尚不清楚。因此,了解 Wnt 调节的纤维化的潜在机制对于器官纤维化、钙化和异常血管重构等的有效治疗是必不可少的。

近年来随着临床辅助检查水平的不断提高,越来越多的特发性肺纤维化患者在早期病程中被及时发现,但目前该病尚无较好的治疗手段,且治疗的同时不良反应较大。中药在治疗特发性肺纤维化上具有独特的优势,目前多项研究已经证实中药能改善特发性肺纤维化患者症状、肺功能,提高患者生活质量,增加患者动脉血氧分压^[25]。其中赶黄草作为一种天然草本植物,价格较低廉,研究发现赶黄草的提取物对乙醇或氧化性肝损伤具有保护作用^[10]。从该植物中已鉴定出 30 多个具有抗氧化、抗癌和降血糖作用的化合物^[9]。赶黄草中的生松素是中草药中常见的一类黄酮,在不同细胞系中已被报道具有抗肝硬化和抗纤维化成分^[26],且对肝纤维化有治疗作用^[11]。在用过氧化叔丁基诱导 L02 细胞氧化损伤模型中,赶黄草中的水提物显示出了对肝脏的保护作用^[27]。为了进一步研究赶黄草对肺纤维化的潜在机制,本研究在 MRC-5 细胞中加入 TGF- β 后, FN1、ACTA2 表达基因上调明显,说明 TGF- β 诱导的肺纤维化细胞模型成功,同时 Wnt 信号通路中的 Wnt4 基因表达也明显升高,说明 TGF- β 能诱导 Wnt4 的表达。同时在 MRC-5 细胞中加入 Wnt4 后,纤维化相关的 FN1 表达水平也升高,说明 Wnt4 能调控纤维化,这与 Wnt4/ β -cate-

nin 信号通路可介导肺纤维化的发生、发展是一致的^[22]。当加入赶黄草后发现 Wnt4 表达明显降低,同时纤维化相关基因 FN1、ACTA2、COL1A1 的表达水平也明显下降,说明赶黄草对 TGF- β 诱导的肺纤维化具有保护作用,且可能是通过调控 Wnt4 实现的,这与 LAM 等^[28]发现抑制 Wnt 信号通路可以有效抑制小鼠肺纤维化的发生、发展一致。在高侵袭性鳞状细胞癌细胞研究中,Wnt4 还参与癌细胞晚期发生过程中细胞黏附,细胞运动和与上皮细胞向间充质细胞转变相关的侵袭^[29]。SPANJER 等^[24]发现沉默 FZD8 能使 TGF- β 诱导的纤维化的 I 型胶原、FN1、多能蛋白聚糖、ACTA2 和结缔组织生长因子表达水平降低,同时沉默 FZD7 可抑制 TGF- β 1 诱导的肺纤维化,且能够通过典型或非典型的 Wnt 信号通路进行信号转导参与组织纤维化的调节^[30]。结合上述研究结果,赶黄草可能通过抑制 Wnt 信号通路中的 Wnt4 基因来达到抗纤维化的目的。

综上所述,赶黄草能降低 TGF- β 诱导的肺纤维化,可能是通过调控 Wnt 信号通路中的 Wnt4 实现的。由于赶黄草包含的药理和化学成分比较复杂,不能明确赶黄草的哪种成分发挥抗肺纤维化作用,因此,后续将继续对赶黄草的药理进行研究,以期待找出赶黄草抗纤维化的有效成分,为治疗肺纤维化提供新的候选药。

参考文献

- [1] GLASSBERG M K. Overview of idiopathic pulmonary fibrosis, evidence-based guidelines, and recent developments in the treatment landscape [J]. *Am J Manag Care*, 2019, 25 (11 Suppl): S195-203.
- [2] SOMOGYI V, CHAUDHURI N, TORRISI S E, et al. The therapy of idiopathic pulmonary fibrosis; what is next? [J]. *Eur Respir Rev*, 2019, 28 (153): 190021.
- [3] SGALLA G, IOVENE B, CALVELLO M, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: pathogenesis and management [J]. *Respir Res*, 2018, 19(1): 32.
- [4] 郭敬文, 张振玲, 邵华. 肺纤维化药物治疗机制研究进展 [J]. *中国职业医学*, 2017, 44 (5): 633-637.
- [5] DONG C, GONGORA R, SOSULSKI M L, et al. Regulation of transforming growth factor-beta1 (TGF- β 1)-induced pro-fibrotic activities by circadian clock gene BMAL1 [J]. *Respir Res*, 2016, 17: 4.
- [6] 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.
- [7] SAITO A, HORIE M, MICKE P, et al. The role

- of TGF- β signaling in lung cancer associated with idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11):3611.
- [8] 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.
- [9] 李杰, 蒋志涛, 刘晓燕, 等. 赶黄草药理作用及其质量标志物研究进展[J]. *南京中医药大学学报*, 2019, 35(6):757-760.
- [10] CAO Y W, JIANG Y, ZHANG D Y, et al. Protective effects of *Penthorum Chinense Pursh* against chronic ethanol-induced liver injury in mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 161:92-98.
- [11] ZHOU F, WANG A, LI D, et al. Pinoembriin from *Penthorum Chinense Pursh* suppresses hepatic stellate cells activation through a unified SIRT3-TGF- β -Smad signaling pathway [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2018, 341:38-50.
- [12] SALTON F, VOLPE M C, CONFALONIERI M. Epithelial-mesenchymal transition in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2019, 55(4):83.
- [13] LIU Y M, NEPALI K, LIOU J P. Idiopathic pulmonary fibrosis: current status, recent progress, and emerging targets[J]. *J Med Chem*, 2017, 60(2):527-553.
- [14] 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.
- [15] ORUQAJ G, KARNATI S, VIJAYAN V, et al. Compromised peroxisomes in idiopathic pulmonary fibrosis, a vicious cycle inducing a higher fibrotic response via TGF- β signaling[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(16):E2048-2057.
- [16] SMITH K A, ZHOU B, AVDULOV S, et al. Transforming growth factor- β 1 induced epithelial mesenchymal transition is blocked by a chemical antagonist of translation factor eIF4E[J]. *Sci Rep*, 2015, 5:18233.
- [17] LE P N, MCDERMOTT J D, JIMENO A. Targeting the Wnt pathway in human cancers: therapeutic targeting with a focus on OMP-54F28[J]. *Pharmacol Ther*, 2015, 146:1-11.
- [18] MADAN B, PATEL M B, ZHANG J, et al. Experimental inhibition of porcupine-mediated Wnt O-acylation attenuates kidney fibrosis[J]. *Kidney Int*, 2016, 89(5):1062-1074.
- [19] LIANG Y, LI Y, LIU K, et al. Expression and significance of Wnt4 in ectopic and eutopic endometrium of human endometriosis[J]. *Reprod Sci*, 2016, 23(3):379-385.
- [20] FRANCO H L, DAI D, LEE K Y, et al. Wnt4 is a key regulator of normal postnatal uterine development and progesterone signaling during embryo implantation and decidualization in the mouse[J]. *FASEB J*, 2011, 25(4):1176-1187.
- [21] MA Z G, LV X D, ZHAN L L, et al. Human urokinase-type plasminogen activator gene-modified bone marrow-derived mesenchymal stem cells attenuate liver fibrosis in rats by down-regulating the Wnt signaling pathway [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(6):2092-2103.
- [22] 何巧, 熊简. 肺纤维化机制的研究进展[J]. *重庆医学*, 2019, 48(20):3553-3557.
- [23] LAM A P, HERAZO-MAYA J D, SENNELLO J A, et al. Wnt coreceptor Lrp5 is a driver of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 190(2):185-195.
- [24] SPANJER A I, BAARSMA H A, OOSTENBRINK L M, et al. TGF- β -induced profibrotic signaling is regulated in part by the Wnt receptor Frizzled-8[J]. *FASEB J*, 2016, 30(5):1823-1835.
- [25] 付际游, 马子凤, 鹿振辉, 等. 中药治疗特发性肺纤维化相关机制的研究进展[J]. *中医药导报*, 2020, 26(6):109-111.
- [26] KAO H F, CHANG-CHIEN P W, CHANG W T, et al. Propolis inhibits TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition in human alveolar epithelial cells via PPAR γ activation[J]. *Int Immunopharmacol*, 2013, 15(3):565-574.
- [27] WANG A, WANG S, JIANG Y, et al. Bio-assay guided identification of hepatoprotective polyphenols from *Penthorum Chinense Pursh* on t-BHP induced oxidative stress injured L02 cells [J]. *Food Funct*, 2016, 7(4):2074-2083.
- [28] LAM A P, HERAZO-MAYA J D, SENNELLO J A, et al. Wnt coreceptor Lrp5 is a driver of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 190(2):185-195.
- [29] DE MENNA M, D'AMATO V, FERRARO A, et al. Wnt4 inhibits cell motility induced by oncogenic Ras[J]. *Oncogene*, 2013, 32(35):4110-4119.
- [30] TAO H, YANG J J, SHI K H, et al. Wnt signaling pathway in cardiac fibrosis: new insights and directions[J]. *Metabolism*, 2016, 65(2):30-40.