

[文章编号] 1000-4718(2019)09-1648-06

敲减 *HMGA2* 基因抑制 TGF-β1 诱导的人胚肺成纤维细胞生长及胶原合成*

李 鹏[△], 刘咏梅, 刘振华
(承德市中心医院儿科, 河北 承德 067000)

[摘要] **目的:** 探讨敲减高迁移率族蛋白 A2(*HMGA2*) 基因表达对转化生长因子 β1 (TGF-β1) 诱导的人胚肺成纤维细胞活力、凋亡、胶原合成和氧化应激的影响。**方法:** 实验分为空白组、TGF-β1 组、阴性转染对照组和 *HMGA2* siRNA (si-*HMGA2*) 组。Western blot 检测 *HMGA2*、AKT 和 p-AKT 蛋白水平; MTT 法及流式细胞术分别检测细胞活力及凋亡率; RT-qPCR 检测 I 型胶原蛋白 (COL-I) 和 COL-III 的 mRNA 表达; DCFH-DA 探针检测细胞活性氧簇 (ROS) 的含量。**结果:** 与空白组比较, TGF-β1 组 *HMGA2* 和 p-AKT 的蛋白水平、细胞活力及 COL-I 和 COL-III 的 mRNA 表达均明显升高, 细胞凋亡率及 ROS 水平则明显降低 ($P < 0.05$); 与 TGF-β1 组比较, si-*HMGA2* 组 *HMGA2* 和 p-AKT 的蛋白水平、细胞活力及 COL-I 和 COL-III 的 mRNA 表达均明显降低, 细胞凋亡率及 ROS 水平则明显升高 ($P < 0.05$)。**结论:** 敲减 *HMGA2* 基因可抑制 TGF-β1 诱导的人胚肺成纤维细胞生长和胶原合成, 促进细胞凋亡及 ROS 产生, 其机制可能与下调 PI3K/AKT 信号通路有关。

[关键词] 人胚肺成纤维细胞; *HMGA2* 基因; 转化生长因子 β1; 细胞凋亡; PI3K/AKT 信号通路

[中图分类号] R563.1[†]3; R363.2 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2019.09.018

Knockdown of *HMGA2* gene inhibits TGF-β1-induced human embryonic lung fibroblast growth and collagen synthesis

LI Peng, LIU Yong-mei, LIU Zhen-hua

(Department of Pediatrics, Chengde Municipal Hospital, Chengde 067000, China. E-mail: 2213422512@qq.com)

[ABSTRACT] **AIM:** To investigate the effects of high mobility group A2 (*HMGA2*) gene knockdown on the cell viability, apoptosis, collagen synthesis and oxidative stress of human embryonic lung fibroblast (HELFL) induced by transforming growth factor-β1 (TGF-β1). **METHODS:** The HELFL were divided into blank group, TGF-β1 group, negative control (NC) group and *HMGA2* siRNA (si-*HMGA2*) group. The protein levels of *HMGA2*, AKT and p-AKT were determined by Western blot. The cell viability and apoptotic rate was analyzed by MTT assay and flow cytometry, respectively. The mRNA expression of collagen I (COL-I) and COL-III was detected by RT-qPCR. DCFH-DA was used to detect the content of reactive oxygen species (ROS). **RESULTS:** Compared with blank group, the protein levels of *HMGA2* and p-AKT, the cell viability, the mRNA expression of COL-I and COL-III in TGF-β1 group were significantly increased, but the apoptotic rate and ROS level were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with TGF-β1 group, the protein levels of *HMGA2* and p-AKT, the cell viability, the mRNA expression of COL-I and COL-III in si-*HMGA2* group were significantly decreased, but the apoptotic rate and ROS level were significantly increased ($P < 0.05$). **CONCLUSION:** Knockdown of *HMGA2* gene expression decreases the viability and collagen synthesis, and promotes apoptosis and ROS production of human embryonic lung fibroblasts induced by TGF-β1. The mechanism may be related to down-regulation of PI3K/AKT signaling pathway.

[KEY WORDS] Human embryonic lung fibroblasts; *HMGA2* gene; Transforming growth factor-β1; Apoptosis; PI3K/AKT signaling pathway

肺纤维化 (pulmonary fibrosis, PF) 属于间质性肺炎的严重阶段, 发病机制复杂, 近些年的发病率及死

亡率均呈现上升趋势^[1]。有研究发现, 成纤维细胞在 PF 发生及发展过程中有重要作用, 抑制肺成纤维

[收稿日期] 2018-08-20 [修回日期] 2019-02-22

* [基金项目] 河北省科技计划项目 (No. 20132014)

△ 通讯作者 Tel: 18731402386; E-mail: 2213422512@qq.com

细胞增殖及向肌纤维细胞转化,促进其凋亡是影响 PF 发生发展的关键^[2-3]。高迁移率族蛋白 A2 (high mobility group A2, HMGA2) 是一种非组蛋白染色体蛋白,其表达与多种人类肿瘤发生发展密切相关^[4-5]。也有研究显示,在 PF 过程中 HMGA2 可随 PF 程度增加表达量增加,可能是通过调节与上皮-间充质细胞转化相关基因而在其中发挥作用^[6];沉默 HMGA2 表达可抑制人胚肺成纤维细胞胶原合成^[7]。以上研究提示 PF 过程中 HMGA2 可能发挥了重要的调节作用。转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 是 TGF- β 家族中最重要的亚型,在 PF 等疾病状态下表达增加,是致纤维化关键性的细胞因子^[8]。因此,本研究通过 RNA 干扰技术敲减 HMGA2 的表达,旨在探讨抑制 HMGA2 表达对 TGF- $\beta 1$ 诱导的人胚肺成纤维细胞活力、凋亡、胶原 (collagen, COL) 合成及氧化应激的影响,以期 PF 的治疗提供理论依据。

材 料 和 方 法

1 试剂和仪器

胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 购自杭州四季青;DMEM 培养基购自 HyClone;MTT 和 DCFH-DA 均购自 Sigma;TGF- $\beta 1$ 购自 Peprotech INC;细胞凋亡试剂盒购自江苏凯基;RNA 提取试剂盒及逆转录试剂盒均购自 TaKaRa;抗 HMGA2、AKT 和 p-AKT 抗体均购自 Abcam。流式细胞仪购自 Becton Dickinson;酶标仪购自 BIO-RAD。

2 细胞及培养

人胚肺成纤维细胞 (human embryonic lung fibroblast, HELF) 购自中科院上海细胞库。细胞用含 10% FBS 的 DMEM 培养基在 5% 体积分数 CO_2 、37 °C 恒温、饱和湿度条件下培养。细胞达 80% 左右生长融合时,胰酶消化后传代。实验为 3~4 代的细胞。

3 方法

3.1 分组及转染 实验分为空白 (blank) 组、TGF- $\beta 1$ 组、阴性对照 (negative control, NC) 组和 HMGA2 siRNA (si-HMGA2) 组。空白组细胞不经特殊处理。TGF- $\beta 1$ 组用含 5 $\mu\text{g}/\text{L}$ TGF- $\beta 1$ 的 DMEM 培养基刺激细胞 24 h;NC 组和 si-HMGA2 组分别转染阴性对照 siRNA 及 HMGA2 的特异性 siRNA 48 h 后使用含 5 $\mu\text{g}/\text{L}$ TGF- $\beta 1$ 的 DMEM 培养基刺激细胞 24 h。siRNA 转染步骤参照 Lipofectamine™ 2000 说明书进行。

3.2 转染效率的检测 预冷 RIPA 裂解液 (加蛋白

酶抑制剂 PMSF) 提取按照 3.1 分组处理后的细胞,BCA 法测定蛋白浓度,每孔上样 40 μg 总蛋白,经 10~12% 的 SDS-PAGE 分离后电转移至 PVDF 膜,膜用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, TBST 缓冲液洗膜,将膜完全浸入稀释好的 I 抗溶液中 (1:500 稀释的 HMGA2 及 1:1 000 稀释的 β -actin), 4 °C 摇床中孵育过夜, TBST 缓冲液洗膜,加稀释好的 II 抗 (HRP 标记的抗体,稀释比例 1:2 000), 37 °C 孵育 30 min,洗膜,加 ECL 发光液覆盖膜,待荧光较为稳定后扫描,扫描后使用 Image J 分析软件对图像进行灰度值分析。得出目的蛋白与内参照蛋白吸光度值比值,即为蛋白的相对表达量。实验重复 3 次。

3.3 细胞活力的检测 收集生长至对数期的 HELF,以每孔 5×10^3 个接种于 96 孔板,5% 体积分数 CO_2 、37 °C 孵育,使细胞单层覆盖孔底部,弃去旧培养液,按照 3.1 分组处理细胞,每组设置 5 个复孔,处理至规定时间后,每孔加 10 μL 的 MTT 溶液 (5 g/L),继续孵育 4 h,吸去孔内培养液,每孔中加入 150 μL 的 DMSO,37 °C 孵育 10 min,振荡 10 min 以使结晶能够充分溶解,酶标仪测定 490 nm 波长处各孔的吸光度 (A) 值。实验重复 3 次。

3.4 细胞凋亡率检测 收集按照 3.1 分组处理至规定时间的细胞,预冷 PBS 洗涤后用适量胰酶-EDTA 消化液消化,收集消化的细胞至 EP 管,4 °C 离心,PBS 洗涤,500 μL 的 $1 \times$ binding buffer 重悬细胞,分别加入 Annexin V-FITC 及 PI 各 5 μL 和 10 μL ,室温避光孵育 15 min,上机前再加入 $1 \times$ binding buffer 300 μL ,1 h 内通过流式细胞仪检测。实验重复 3 次。

3.5 活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 含量测定 采用荧光分子探针 DCFH-DA 法测定细胞内 ROS 水平。收集按照 3.1 分组处理至规定时间的细胞,PBS 漂洗后,离心,弃上清,加入终浓度为 5 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的 DCFH-DA,37 °C 孵育 40 min,将加 DCFH-DA 的细胞浑浊液涂在盖玻片上,PBS 洗涤多余染料,盖玻片倒扣在载玻片上,荧光倒置显微镜及 Image Lab 软件测定荧光强度。实验重复 3 次。

3.6 RT-qPCR 检测 COL-I 和 COL-III 的 mRNA 表达 TRIzol 法提取按照 3.1 分组处理至规定时间的细胞总 RNA,逆转录试剂盒将总 RNA 反转录为 cDNA,使用 Primer 5.0 软件设计 PCR 引物,按照 PCR 试剂盒说明设置反应体系及反应条件。使用 Alpha 凝胶成像系统分析图像, β -actin 作为内参照,根据 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 公式计算目的基因相对于 β -actin 的 mRNA 表达量。COL-I (449 bp) 的上游引物序列为 5' - GCTCGTG-

GAAATGATGGTGC-3'，下游引物序列为 5'-CCTCGCTTTCCTTCCTCTCC-3'；COL-Ⅲ (386 bp) 的上游引物序列为 5'-ACGGAAACACTGGTGGACAG-3'，下游引物序列为 5'-GTAGTCTCACAGCCTT-GCGT-3'；β-actin (500 bp) 的上游引物序列为 5'-GTGGGGCGCCCCAGGCACC-3'，下游引物序列为 5'-CTCCTTAATGTCACGCACGATTT-3'。每孔设置 5 个重复孔，实验重复 3 次。

3.7 AKT 和 p-AKT 蛋白表达的检测 分组同 3.1。AKT 和 p-AKT 蛋白表达的 Western blot 检测方法同 3.2。

4 统计学方法

所有实验数据采用 SPSS 21.0 软件进行分析。计量资料用均数 ± 标准差 (mean ± SD) 表示，多组差

异比较采用单因素方差分析，两两比较采用 SNK-*q* 检验，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 转染 si-HMGA2 的 HELF 中 HMGA2 蛋白的表达

Western blot 法检测转染 si-HMGA2 的 HELF 中 HMGA2 蛋白的表达，结果显示，TGF-β1 组的 HMGA2 蛋白表达明显高于空白组和 si-HMGA2 组 ($P < 0.05$)，TGF-β1 组和 NC 组间 HMGA2 蛋白表达的差异无统计学显著性 ($P > 0.05$)，提示 TGF-β1 能够诱导 HELF 中 HMGA2 的表达，且转染 si-HMGA2 能够有效敲减 TGF-β1 诱导的 HELF 中 HMGA2 的表达，见图 1。

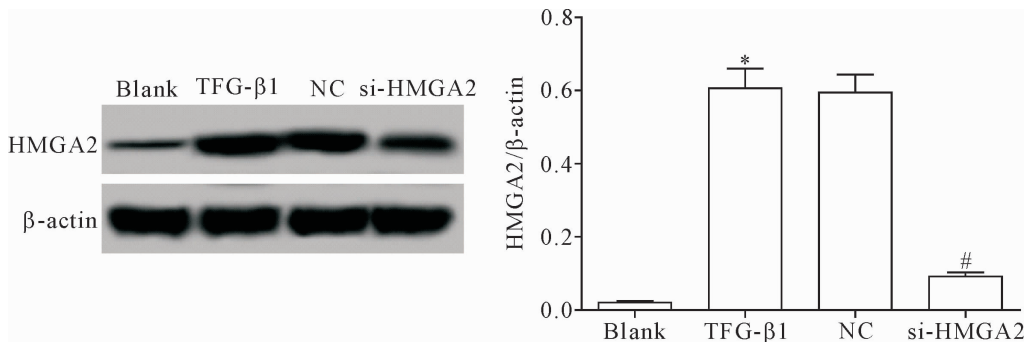


Figure 1. Western blot was used to detect the protein expression of HMGA2 in the HELF transfected with si-HMGA2. Mean ± SD. $n = 3$. * $P < 0.05$ vs blank group; # $P < 0.05$ vs TGF-β1 group.

图 1 Western blot 检测转染 si-HMGA2 的 HELF 中 HMGA2 蛋白的表达

2 敲减 HMGA2 基因的表达可减弱 HELF 活力

MTT 结果显示，TGF-β1 组的细胞活力明显高于空白组和 si-HMGA2 组 ($P < 0.05$)，TGF-β1 组和 NC 组间比较细胞活力的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，见图 2。表明敲减 HMGA2 基因的表达能够明显减弱 TGF-β1 诱导的 HELF 的活力。

3 敲减 HMGA2 基因的表达促进 HELF 凋亡

流式细胞术结果显示，空白组、TGF-β1 组、NC 组和 si-HMGA2 组的细胞凋亡率分别为 (13.5 ± 1.35)%、(2.7 ± 0.26)%、(3.0 ± 0.29)% 和 (10.9 ± 1.07)%。TGF-β1 组的细胞凋亡率明显低于空白组和 si-HMGA2 组 ($P < 0.05$)，TGF-β1 组和 NC 组间比较细胞凋亡率的差异无统计学显著性 ($P > 0.05$)，见图 3。提示敲减 HMGA2 基因的表达能够显著促进 TGF-β1 诱导的 HELF 凋亡。

4 敲减 HMGA2 基因的表达可降低 HELF 中胶原的 mRNA 表达

RT-qPCR 结果显示，TGF-β1 组 COL-I 和 COL-Ⅲ 的 mRNA 表达均明显高于空白组和 si-HMGA2 组

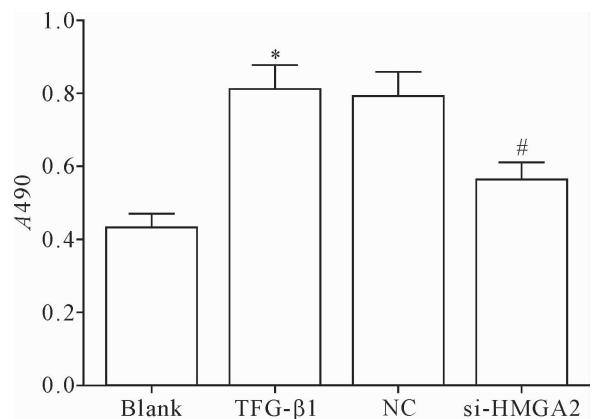


Figure 2. The effect of HMGA2 gene knockdown on the viability of HELF. Mean ± SD. $n = 3$. * $P < 0.05$ vs blank group; # $P < 0.05$ vs TGF-β1 group.

图 2 敲减 HMGA2 基因的表达对 HELF 活力的影响

($P < 0.05$)，TGF-β1 组和 NC 组间比较 COL-I 和 COL-Ⅲ mRNA 表达的差异均无统计学显著性 ($P > 0.05$)，见图 4。提示敲减 HMGA2 基因的表达能够有效降低 TGF-β1 诱导的 HELF 中胶原的合成。

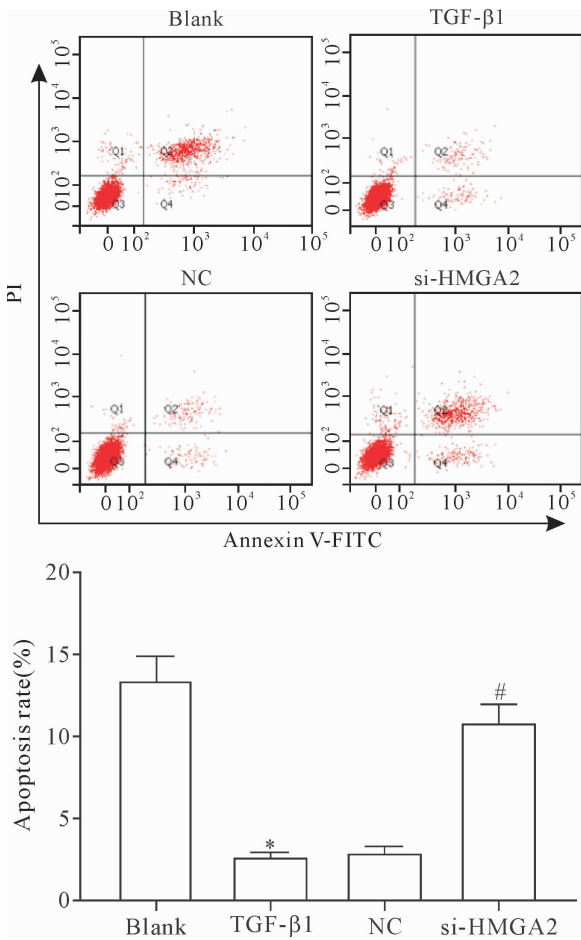


Figure 3. The effect of *HMGA2* gene knockdown on the apoptosis of HELF. Mean ± SD. *n* = 3. * *P* < 0.05 vs blank group; # *P* < 0.05 vs TGF-β1 group.

图3 敲减 *HMGA2* 基因表达对 HELF 凋亡的影响

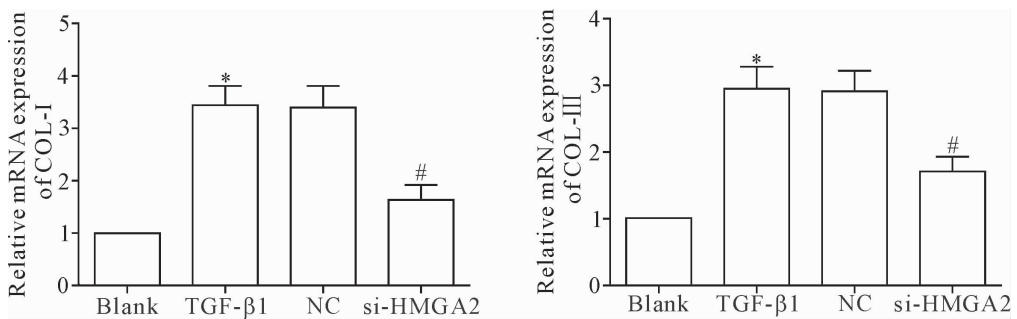


Figure 4. The effect of *HMGA2* gene knockdown on the mRNA expression of COL-I and COL-III in the HELF. Mean ± SD. *n* = 3. * *P* < 0.05 vs blank group; # *P* < 0.05 vs TGF-β1 group.

图4 敲减 *HMGA2* 基因的表达对 HELF 中 COL-I 和 COL-III mRNA 表达的影响

制肺成纤维细胞凋亡^[11], 以上研究提示抑制 TGF-β1 诱导的肺成纤维细胞增殖、胶原合成及促进细胞凋亡对 PF 治疗具有重要意义。

HMGA2 编码基因位于 12q15 染色体, 是高迁移率蛋白家族成员之一, 可通过蛋白-蛋白或蛋白-DNA 作用方式改变染色体结构, 使 DNA 发生剧烈变性, 进而直接发挥抑制或促进下游基因表达的作用, 也

5 敲减 *HMGA2* 基因表达可降低 HELF 中 ROS 的含量

荧光分子探针 DCFH-DA 法结果显示, TGF-β1 组细胞的 ROS 含量明显低于空白组和 si-*HMGA2* 组 (*P* < 0.05), TGF-β1 组和 NC 组间比较细胞 ROS 含量的差异无统计学显著性 (*P* > 0.05), 见图 5。提示敲减 *HMGA2* 基因的表达能够明显提高 TGF-β1 诱导的 HELF 中 ROS 的含量。

6 敲减 *HMGA2* 基因的表达下调 HELF 中 p-Akt 的蛋白水平

Western blot 检测各组细胞 AKT 和 p-AKT 的蛋白水平, 结果显示, TGF-β1 组细胞 p-AKT 的蛋白水平明显高于空白组和 si-*HMGA2* 组 (*P* < 0.05), TGF-β1 组和 NC 组间比较 p-AKT 蛋白水平的差异无统计学显著性 (*P* > 0.05), 见图 6。提示敲减 *HMGA2* 基因的表达能够抑制 TGF-β1 诱导的 PI3K/AKT 信号通路的激活。

讨 论

TGF-β 有 TGF-β1、TGF-β2 和 TGF-β3 3 种形式, 其中以 TGF-β1 最为重要, 是关键致纤维化因子之一, 在纤维化病变中表达高于正常组织, 能促进细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的积聚, 并可促进成纤维细胞 COL-I 和 COL-III 表达, TGF-β1 浓度越高对 COL-I 和 COL-III 表达促进作用越明显, 从而影响 PF 进展^[9-10]。此外, 也有研究显示, TGF-β1 可抑

可通过结合于其它的转录因子而间接调节下游基因表达^[12-13]。现有研究发现, *HMGA2* 异常表达与多种人类肿瘤密切相关^[14-15]。*HMGA2* 在 PF 中的研究较少。有研究显示, miR-221 可靶向 *HMGA2* 调控 TGF-β1/Smad3 诱导的上皮-间充质转化而抑制博来霉素诱导的 PF^[16]。RNA 干扰是一种可特异性敲减靶基因表达的新技术, 目前已成为常用的生物学研究手

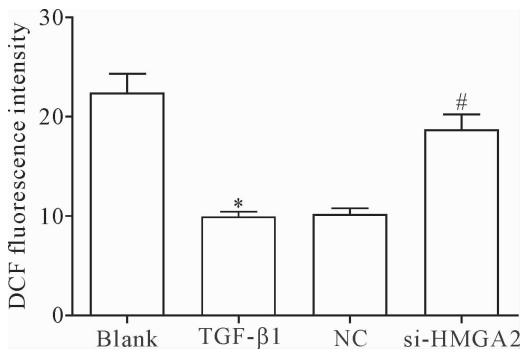


Figure 5. The effect of *HMGA2* gene knockdown on ROS content in the HELF. Mean ± SD. *n* = 3. * *P* < 0.05 vs blank group; # *P* < 0.05 vs TGF-β1 group.

图5 抑制 *HMGA2* 基因表达对 HELF 中 ROS 含量的影响

段,在基因功能研究、疾病治疗等方面有广泛的应用^[17-18]。有研究显示,使用 RNAi 技术沉默 *HMGA2* 表达可抑制人胚肺成纤维细胞胶原合成^[7]。本研究结果显示,用 RNAi 技术敲减 *HMGA2* 的表达可减弱 TGF-β1 诱导的人胚肺成纤维细胞活力和 COL-I 和 COL-III 的 mRNA 表达,并可促进细胞凋亡,其部分研究结果与前人研究一致。

ROS 是机体有氧代谢过程中的副产品之一,其过量产生可导致氧化应激,是引起肿瘤、PF 和糖尿病等多种疾病的根源^[19-20]。有研究显示,EW-7197 可通过阻断 TGF-β/SMAD 和 ROS 信号转导抑制肝、肾和肺纤维化^[21];抑制 PDE5A 可通过降低 ROS 产

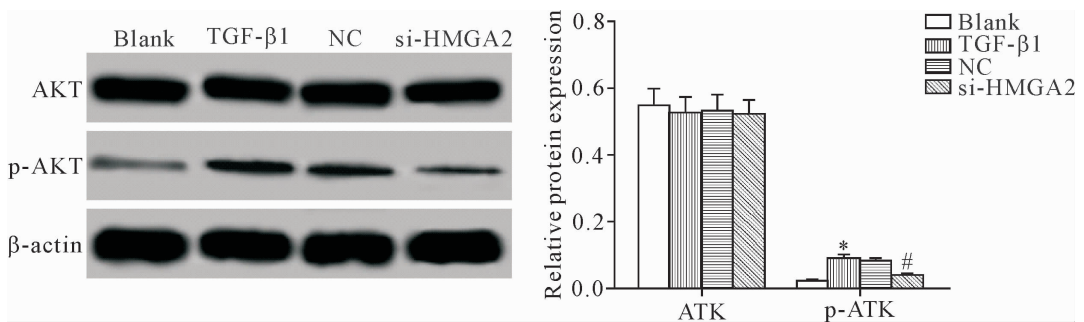


Figure 6. The effect of *HMGA2* gene knockdown on the protein levels of p-AKT in the HELF. Mean ± SD. *n* = 3. * *P* < 0.05 vs blank group; # *P* < 0.05 vs TGF β1 group.

图6 敲减 *HMGA2* 基因的表达对 HELF 中 p-AKT 蛋白水平的影响

生及 RhoA/Rho 激酶激活减弱博来霉素诱导的肺纤维化和肺动脉高压^[22];低剂量镭可通过 ROS 上调 *HMGA2* mRNA 和蛋白表达,进而上调周期相关蛋白 cyclin D1 表达,引起细胞周期改变而诱导人胚肺成纤维细胞 MRC-5 增殖^[23]。本研究结果显示,敲减 *HMGA2* 的表达可增加 TGF-β1 诱导的人胚肺成纤维细胞的 ROS 水平。这提示提高 ROS 水平可能是 *HMGA2* 诱导人胚肺成纤维细胞凋亡的一种途径。

PI3K/AKT 信号是细胞内一条重要的信号途径,主要由 PI3K 和 AKT 分子及下游分子组成,AKT 是 PI3K 信号下游的信号分子,AKT 参与促细胞增殖、抑细胞凋亡的调控^[24]。有研究表明,TGF-β1 可激活 PI3K/AKT 信号,激活的 PI3K/AKT 信号可参与细胞增殖、生长等生理过程^[25]。抑制 PI3K/AKT 信号可明显阻断 TGF-β1 诱导的人胚肺成纤维细胞增殖^[26]。本研究结果显示,敲减 *HMGA2* 的表达可降低 TGF-β1 诱导的人胚肺成纤维细胞 p-AKT 的蛋白水平,提示敲减 *HMGA2* 的表达可通过抑制 PI3K/AKT 信号抑制人胚肺成纤维细胞生长。

综上所述,通过 RNAi 沉默 *HMGA2* 表达可抑制

人胚肺成纤维细胞活力和胶原合成,诱导细胞凋亡及 ROS 产生,从而对 PF 起抑制作用,机制可能与抑制 PI3K/AKT 信号有关。提示在 PF 过程中 *HMGA2* 可能是一个有效的治疗靶点。

[参 考 文 献]

[1] Ayaub EA, Kolb PS, Mohammed-Ali Z, et al. GRP78 and CHOP modulate macrophage apoptosis and the development of bleomycin-induced pulmonary fibrosis[J]. J Pathol, 2016, 239(4):411-425.

[2] Peng H, Liu Y, Wang J, et al. Effect of quercetin on the expression of TGF-β1 in human embryonic lung fibroblasts activated by the silicotic alveolar macrophages[J]. J Hygiene Res, 2013, 42(1):99-102.

[3] Zhou XM, Cao ZD, Xiao N, et al. Inhibitory effects of amines from Citrus reticulata on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats[J]. Int J Mol Med, 2016, 37(2):339-346.

[4] Wu J, Zhang S, Shan J, et al. Elevated *HMGA2* expression is associated with cancer aggressiveness and predicts poor outcome in breast cancer[J]. Cancer Lett, 2016,

- 376(2):284-292.
- [5] Li W, Wang Z, Zha L, et al. HMGA2 regulates epithelial-mesenchymal transition and the acquisition of tumor stem cell properties through TWIST1 in gastric cancer[J]. *Oncol Reports*, 2017, 37(1):185-192.
- [6] 刘伟丽,宋晓冬,张晓荣,等. HMGA2 在肺纤维化发生中与上皮-间充质细胞转化的关系[J]. *滨州医学院学报*, 2012, 35(1):1-4.
- [7] 刘德方. siRNA 沉默 HMGA2 对人胚肺成纤维细胞 I、III 型胶原表达的影响[D]. 唐山:河北联合大学, 2015.
- [8] Shin JM, Park JH, Park IH, et al. Doxycycline inhibits TGF- β 1-induced extracellular matrix production in nasal polyp-derived fibroblasts[J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2016, 6(3):256-263.
- [9] Lan CC, Fang AH, Wu PH, et al. Tacrolimus abrogates TGF- β 1-induced type I collagen production in normal human fibroblasts through suppressing p38MAPK signalling pathway: implications on treatment of chronic atopic dermatitis lesions[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2014, 28(2):204-215.
- [10] Cutroneo KR, White SL, Phan SH, et al. Therapies for bleomycin induced lung fibrosis through regulation of TGF- β 1 induced collagen gene expression[J]. *J Cell Physiol*, 2007, 211(3):585-589.
- [11] Ajayi IO, Sisson TH, Higgins PDR, et al. X-linked inhibitor of apoptosis regulates lung fibroblast resistance to Fas-mediated apoptosis[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 49(1):86-95.
- [12] Li T, Wei X, Zheng L, et al. Amplified HMGA2 promotes cell growth by regulating Akt pathway in AML[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2016, 142(2):389-399.
- [13] Ma C, Nong K, Zhu H, et al. H19 promotes pancreatic cancer metastasis by derepressing let-7's suppression on its target HMGA2-mediated EMT[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(9):9163-9169.
- [14] Kaur H, Ali SZ, Huey L, et al. The transcriptional modulator HMGA2 promotes stemness and tumorigenicity in glioblastoma[J]. *Cancer Lett*, 2016, 377(1):55-64.
- [15] Sun J, Sun B, Zhu D, et al. HMGA2 regulates CD44 expression to promote gastric cancer cell motility and sphere formation[J]. *Am J Cancer Res*, 2017, 7(2):260-274.
- [16] Wang YC, Liu JS, Tang HK, et al. miR221 targets HMGA2 to inhibit bleomycin-induced pulmonary fibrosis by regulating TGF β 1/Smad3-induced EMT[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(4):1208-1216.
- [17] Li R, Yang HQ, Xi HL, et al. Inhibition of CDH17 gene expression via RNA interference reduces proliferation and apoptosis of human MKN28 gastric cancer cells[J]. *Int J Oncol*, 2016, 50(1):15-22.
- [18] Wang L, Sun Y, Yi J, et al. Targeting H19 by lentivirus-mediated RNA interference increases A549 cell migration and invasion[J]. *Exp Lung Res*, 2016, 42(7):346-353.
- [19] Yuan SW, Looi CY, Subramaniam KS, et al. Soluble factors from stellate cells induce pancreatic cancer cell proliferation via Nrf2-activated metabolic reprogramming and ROS detoxification[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(24):36719-36732.
- [20] Coughlan MT, Thorburn DR, Penfold SA, et al. RAGE-induced cytosolic ROS promote mitochondrial superoxide generation in diabetes[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(4):742-752.
- [21] Park SA, Kim MJ, Park SY, et al. EW-7197 inhibits hepatic, renal, and pulmonary fibrosis by blocking TGF- β /Smad and ROS signaling[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(10):2023-2039.
- [22] Hemnes AR, Zaiman A, Champion HC. PDE5A inhibition attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis and pulmonary hypertension through inhibition of ROS generation and RhoA/Rho kinase activation[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 294(1):L24-L33.
- [23] 王嘉悦. 氧化应激介导 HMGA2 通路在镉诱导 MRC-5 细胞增殖中的机制研究[D]. 大连:大连医科大学, 2015.
- [24] 李建立,庞鑫鑫,郭洪霞,等. 17 β -雌二醇通过 PI3K-Akt 信号通路抑制丙泊酚诱导皮层神经元凋亡[J]. *中国病理生理杂志*, 2016, 32(1):58-63.
- [25] Yang T, Liang Y, Lin Q, et al. MiR-29 mediates TGF β 1-induced extracellular matrix synthesis through activation of PI3K-AKT pathway in human lung fibroblasts[J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(6):1336-1342.
- [26] Chen XF, Zhang HJ, Wang HB, et al. Transforming growth factor- β 1 induces epithelial-to-mesenchymal transition in human lung cancer cells via PI3K/Akt and MEK/Erk1/2 signaling pathways[J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(4):3549-3556.

(责任编辑:宋廷君,余小慧)