

β -catenin 在硬皮病皮损中的表达及其对人表皮角质形成细胞上皮-间质转化的影响*

刘金娟¹, 杨宏发^{2△}, 李勇坚¹, 陈艳明¹

1. 南华大学附属第二医院 皮肤性病科(衡阳 421001); 2. 南华大学附属第二医院 心血管内科(衡阳 421001)

【摘要】 目的 探讨 β -连环蛋白(β -catenin)在系统性硬皮病(SSc)患者皮损中的表达及其对人表皮角质形成细胞上皮-间质转化(EMT)的影响。**方法** 采用免疫组织化学 SP 法检测 45 例 SSc 患者皮损组织及 20 例健康成人皮肤组织中 β -catenin、Snail1、上皮性钙黏附蛋白(E-cadherin)的表达情况。采用不同质量浓度 Wnt10b(0(空白对照)、2、4 ng/mL)处理人表皮角质形成细胞 HaCaT 48 h, 免疫荧光实验检测 β -catenin 在 HaCaT 细胞中的定位; 实时荧光定量 PCR 检测 HaCaT 细胞中 Snail1、Snail2 mRNA 水平; Western blot 法检测 HaCaT 细胞中 β -catenin、波形蛋白(Vimentin)、神经性钙黏附蛋白(N-cadherin)、E-cadherin 蛋白表达。**结果** β -catenin、Snail1、E-cadherin 阳性率在 SSc 患者皮损组织中依次为 100%、88.89% 和 2.22%, 在健康成人皮肤组织中依次为 0%、10.00% 和 95.00%, 两组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与空白对照组比较, 不同质量浓度 Wnt10b(2、4 ng/mL)处理可诱导 HaCaT 细胞中 β -catenin 表达上调并促进 β -catenin 由细胞质向细胞核中转位, 同时还可以提高 HaCaT 细胞中 Snail1 和 Snail2 mRNA 表达($P < 0.05$), 并上调 Vimentin、N-cadherin 蛋白表达和下调 E-cadherin 蛋白表达($P < 0.05$)。**结论** SSc 皮损中存在异常活化的 Wnt/ β -catenin 信号通路及异常表达的 EMT 相关蛋白, 且激活 Wnt/ β -catenin 信号通路可促进 HaCaT 细胞 EMT 的发生。

【关键词】 β -catenin 系统性硬皮病 Wnt/ β -catenin 信号通路 上皮-间质转化

Expression of β -catenin in Skin Lesions of Patients with Scleroderma and Its Effect on Epithelial-Mesenchymal Transition of Human Epidermal Keratinocytes LIU Jin-juan¹, YANG Hong-fa^{2△}, LI Yong-jian¹, CHEN Yan-ming¹. 1. Dermatology & STD Department, the Second Hospital University of South China, Hengyang 421001, China; 2. Cardiovascular Medicine Department, the Second Hospital University of South China, Hengyang 421001, China

△ Corresponding author, E-mail: liujinjuan198409@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression of β -catenin in the skin lesions of patients with systemic scleroderma (SSc) and its effect on epithelial-mesenchymal transition (EMT) of human epidermal keratinocytes. **Methods** The expression of β -catenin, Snail1 and E-cadherin in the skin lesions sample of 45 SSc patients and normal skin sample from 20 healthy adults was detected with SP immunohistochemistry. HaCaT, the human epidermal keratinocytes, were treated with different concentrations of Wnt10b (0 ng/mL (control), 2 ng/mL and 4 ng/mL) for 48 h. then detected the localization of β -catenin in HaCaT cells by immunofluorescence assay, determined the mRNA levels of Snail1 and Snail2 in HaCaT cells by real-time fluorescent quantitative PCR, detected the proteins expression of β -catenin, Vimentin, N-cadherin and E-cadherin in HaCaT cells by Western blot. **Results** The positive rates of β -catenin, Snail1 and E-cadherin in skin lesions of SSc patients were 100%, 88.89% and 2.22% respectively, while in healthy adult skin, the corresponding positive rates were 0%, 10.00%, and 95.00%. The difference between the two groups was significant. Compared with control group, treatment with different concentrations of Wnt10b (2 ng/mL and 4 ng/mL) induced up-regulation of β -catenin expression and promoted translocation of β -catenin from cytoplasm to nucleus, increased the mRNA levels of Snail1 and Snail2 ($P < 0.05$), and up-regulated the proteins expression of Vimentin, N-cadherin, down-regulated the E-cadherin protein expression in HaCaT cells ($P < 0.05$). **Conclusion** Abnormally activated Wnt/ β -catenin signaling pathway and abnormally expressed EMT-related proteins are observed in SSc lesions. Activation of Wnt/ β -catenin signaling pathway may promote EMT in HaCaT cells.

【Key words】 β -catenin Systemic scleroderma Wnt/ β -catenin signaling pathway Epithelial-mesenchymal transition

* 2018 年衡阳市科技局指导性项目(No. S2018F9031022240)资助

△ 通信作者, E-mail: liujinjuan198409@163.com

系统性硬皮病(SSc)又称硬皮病,是一种罕见的全身性自身免疫病,以皮肤和内脏结缔组织局限性或弥漫性纤维化为主要特征,具有较高的致残率和死亡率,严重影响患者的生命安全和生活质量^[1-2]。有研究表明,成纤维细胞持续活化是导致组织纤维化的关键^[3-4]。成纤维细胞可活化成具有胶原合成能力的肌成纤维细胞,持续活化将导致过度合成胶原,造成细胞外基质(extracellular matrix, ECM)沉积,最终引起组织器官纤维化。但成纤维细胞不是肌成纤维细胞的唯一来源,上皮细胞和内皮细胞也可以通过上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)机制转分化成肌成纤维细胞,参与纤维化病变过程^[5-6]。然而,在SSc患者皮肤纤维化形成过程中是否存在其他细胞通过EMT途径转分化成肌成纤维细胞尚未见报道。Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)信号通路是EMT的上游通路,有研究显示, β -catenin可通过与上皮性钙黏附蛋白(E-cadherin)解聚进入细胞核激活Snail1分子的转录进而诱发EMT^[7-8]。而Wnt/ β -catenin信号通路介导的EMT也被证实参与各种纤维化疾病的调控^[9-10]。因此,Wnt/ β -catenin信号通路有可能通过介导表皮角质形成细胞通过EMT机制转分化成肌成纤维细胞参与SSc病变过程。为此,本研究通过对比分析SSc患者皮损组织及健康成人皮肤组织中 β -catenin、Snail1、E-cadherin的表达差异,探讨Wnt/ β -catenin信号通路在SSc患者皮损组织中的活化情况及EMT相关蛋白的表达情况;同时,采用Wnt10b干预人表皮角质形成细胞HaCaT,探讨激活Wnt/ β -catenin信号通路是否可促进HaCaT细胞EMT过程,以期阐释SSc发病机制提供新的论据,进一步为SSc的靶向治疗提供新的理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

收集2016年8月12日至2018年5月21日在南华大学附属第二医院门诊和住院部就诊且经临床和病理学确诊的SSc患者硬化期皮肤损害组织标本45例,其中男17例,女28例;年龄20~65岁,平均年龄47.1岁;病程4月~17年,平均5.4年。所有患者取材前3个月内均未予免疫抑制剂和糖皮质激素等药物治疗,标本取自患者胫前或前臂身侧皮损区域。同时,选取20例健康成年人同区域皮肤组织作为对照组,其中男8例,女12例;年龄21~62岁,平均年龄45.3岁。SSc组患者和对照组均无其他皮肤疾病、纤维增生性疾病以及高血压、糖尿病等系

统性疾病,两组间性别、年龄等一般资料差异无统计学意义($P>0.05$)。所有标本采集前均得到患者同意,并签署知情同意书。样本采集后置于体积分数为10%的甲醛固定、石蜡包埋后备用。

人永生表皮角质形成细胞系HaCaT购自中国典型培养物保藏中心细胞库;人重组Wnt10b蛋白购自R&D Systems公司;兔抗人 β -catenin单克隆抗体、兔抗人波形蛋白(Vimentin)单克隆抗体、兔抗人GAPDH单克隆抗体均购自Cell Signaling Technology公司;小鼠抗人E-cadherin单克隆抗体、山羊抗人Snail1多克隆抗体购自Abcam公司;小鼠抗人神经性钙黏附蛋白(N-cadherin)单克隆抗体购自美国Novus Biologicals公司;TRIzol试剂购自Thermo Fisher公司;PrimeScript™ RT Reagent Kit及SYBR® Green PCR Kit购自TaKaRa公司;天能Tanon 3500全自动数码凝胶成像分析仪购自上海天能科技有限公司;引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化SP法检测皮肤组织中 β -catenin、Snail1、E-cadherin表达 石蜡常规切片后,烤片、脱蜡至水;置于0.01 mol/L柠檬酸盐缓冲液(pH6.0)中,高温高压修复抗原,冷却后PBS洗涤3次,滴加0.1%过氧化氢消除内源性过氧化物酶,PBS洗涤3次,山羊血清室温封闭30 min,PBS洗涤3次,分别加入兔抗人 β -catenin单克隆抗体(1:100)、山羊抗人Snail1多克隆抗体(1:50)、小鼠抗人E-cadherin单克隆抗体(1:50),4℃孵育过夜。PBS洗涤3次,加入生物素标记的二抗及辣根过氧化物酶标记链霉卵白素,室温孵育30 min,二氨基联苯胺(DAB)显色、苏木素复染,中性树胶封片、显微镜观察。细胞浆及细胞核出现棕褐色颗粒为阳性染色细胞。相对定量方法^[11]:在400倍镜下随机选取5个阳性染色视野,计算100个细胞,按阳性细胞百分比及染色强度进行评分。阳性细胞百分比评分标准: $<5\%$,0分; $5\%\sim 24\%$,1分; $25\%\sim 50\%$,2分; $51\%\sim 74\%$,3分; $\geq 75\%$,4分。染色强度判断:无着色,0分;淡黄色,1分;棕黄色,2分;棕褐色,3分。总计分为二者计分之和,总计分 ≤ 2 为“阴性”, >2 分为“阳性”。

1.2.2 细胞培养 复苏人永生表皮角质形成细胞HaCaT于培养皿中,添加含有10 mL/L胎牛血清、100 IU/mL青霉素、100 μ g/mL链霉素的DMEM培养基,并置于37℃、50 mL/L CO₂培养箱中培养。倒置显微镜下观察细胞生长状况,待细胞达到90%融合度时进行传代。

1.2.3 免疫荧光检测 HaCaT细胞中 β -catenin蛋

白定位 取对数生长期的 HaCaT 细胞,调整细胞浓度,以每孔 1×10^5 个细胞接种于内置有规格为 $\varphi 24$ mm 的无菌玻片的 6 孔板中,待细胞贴壁后,根据需要设置为空白对照组(等量 PBS 处理)和不同质量浓度(2 ng/mL 和 4 ng/mL) Wnt10b 处理组,每组设置 3 个复孔,培养 48 h。吸净培养液,采用固定液(3%多聚甲醛和 2%蔗糖)室温固定 10 min,吸净固定液,加入 1%NP-40 处理 5 min,5%牛血清白蛋白(BSA)室温封闭 2 h,滴加兔抗人 β -catenin 单克隆抗体(1:50),4℃孵育过夜。PBS 洗 3 次,加入山羊抗兔 IgG Alexa Fluor 568 避光孵育 30 min, PBS 洗 3 次,滴加 4',6-二脒基-2-苯基吲哚二盐酸盐(DAPI)避光孵育 20 min, PBS 洗 3 次,滴加防猝灭剂,荧光显微镜下拍照观察。

1.2.4 实时荧光定量 PCR 检测 HaCaT 细胞 Snail1、Snail2 mRNA 水平 取对数生长期的 HaCaT 细胞,调整细胞浓度均匀接种于 3 个培养皿中,待细胞贴壁后,根据需要分组处理(分组同 1.2.3),培养 48 h。使用 2.5 g/L 胰蛋白酶消化后,离心收集细胞沉淀,采用 TRIzol 试剂盒提取各组细胞总 RNA,利用 TaKaRa 试剂盒将 RNA 逆转录成 cDNA,以 cDNA 为模板使用 SYBR® Green PCR Kit 进行 PCR 扩增,以 GAPDH 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 mRNA 相对表达量。引物序列, Snail1 Forward: 5'-TCGGAAGCCTAACTACAGCGA-3', Reverse: 5'-AGATGAGCATTGGCAGCGAG-3'; Snail2 Forward: 5'-CGAACTGGACACACATA CAGTG-3', Reverse: 5'-CTGAGGATCTCTGGT TGTGGT-3'; GAPDH Forward: 5'-AGCCACAT CGCTCAGACAC-3', Reverse: 5'-GCCCAATACG ACCAAATCC-3'。PCR 条件:95℃预变性 1 min, 94℃变性 15 s, 58℃退火 20 s, 72℃延伸 45 s, 共 40 个循环, 72℃延伸 7 min。

1.2.5 Western blot 检测细胞中 β -catenin、Vimentin、N-cadherin、E-cadherin 蛋白表达 取对数生长期的 HaCaT 细胞,调整细胞浓度并均匀接种于培养皿中,待细胞贴壁后,根据需要分组处理(分组同 1.2.3),培养 48 h。使用 2.5 g/L 胰蛋白酶消化后,离心收集细胞沉淀,加入 RIPA 裂解液抽提蛋白,采用 Bradford 法进行蛋白定量。取 30 μ g 蛋白上样进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,并将蛋白转移至 PVDF 膜上,50 g/L 脱脂牛奶室温封闭 30 min,分别加入兔抗人 β -catenin 单克隆抗体(1:1 000)、小鼠抗人 E-cadherin 单克隆抗体(1:1 000)、兔抗人 Vimentin 单克隆抗体(1:1 000)、小鼠抗人 N-

cadherin 单克隆抗体(1:1 000)和兔抗人 GAPDH 单克隆抗体(1:1 000),4℃孵育过夜。PBS 洗涤后加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG(1:10 000)或 HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG(1:10 000),室温孵育 1 h, PBS 洗涤后,加入 ECL 超敏发光液,应用天能 Tanon 3500 全自动数码凝胶成像分析系统显影。目的蛋白相对表达量以目的蛋白光密度值与内参蛋白 GAPDH 光密度值的比值表示。

1.2.6 统计学方法 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 硬皮病皮损组织中 β -catenin、Snail1、E-cadherin 的表达情况

结果显示,在 SSc 组皮损组织真皮层可见 β -catenin、Snail1 呈现阳性表达, β -catenin 主要着色于皮损组织真皮层的细胞核中,Snail1 主要着色于真皮层细胞质中,而在对照组皮肤真皮层未见 β -catenin、Snail1 明显着色,呈现阴性表达;另外,在对照组皮肤真皮层可见 E-cadherin 蛋白呈阳性表达,且主要着色于细胞质中,而 SSc 组未见 E-cadherin 明显着色,呈现阴性表达。见图 1。SSc 皮损组织中 β -catenin、Snail1 阳性率分别为 100% (45/45)、88.89% (40/45),高于对照组的 0% (0/20) 和 10.00% (2/20),而 SSc 皮损组织中 E-cadherin 阳性率为 2.22% (1/45),低于对照组的 95.00% (19/20),差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 Wnt10b 处理对 HaCaT 细胞中 β -catenin 核转移的影响

免疫荧光实验结果显示,与空白对照组比较,2 ng/mL 和 4 ng/mL Wnt10b 处理均可诱导 HaCaT 细胞中 β -catenin 蛋白高表达,并且随着 Wnt10b 质量浓度的升高, β -catenin 蛋白由细胞质向细胞核内转移,见图 2。

2.3 Wnt10b 处理对 HaCaT 细胞中 Snail1、Snail2 mRNA 表达的影响

实时荧光定量 PCR 结果显示,与空白对照组比较,2 ng/mL 和 4 ng/mL Wnt10b 处理均可诱导 HaCaT 细胞中 Snail1、Snail2 mRNA 表达上调,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 3。

2.4 Wnt10b 处理对 HaCaT 细胞中 EMT 相关蛋白表达的影响

Western blot 检测结果显示(图 4),与空白对照组比较,2 ng/mL 和 4 ng/mL Wnt10b 处理均可促

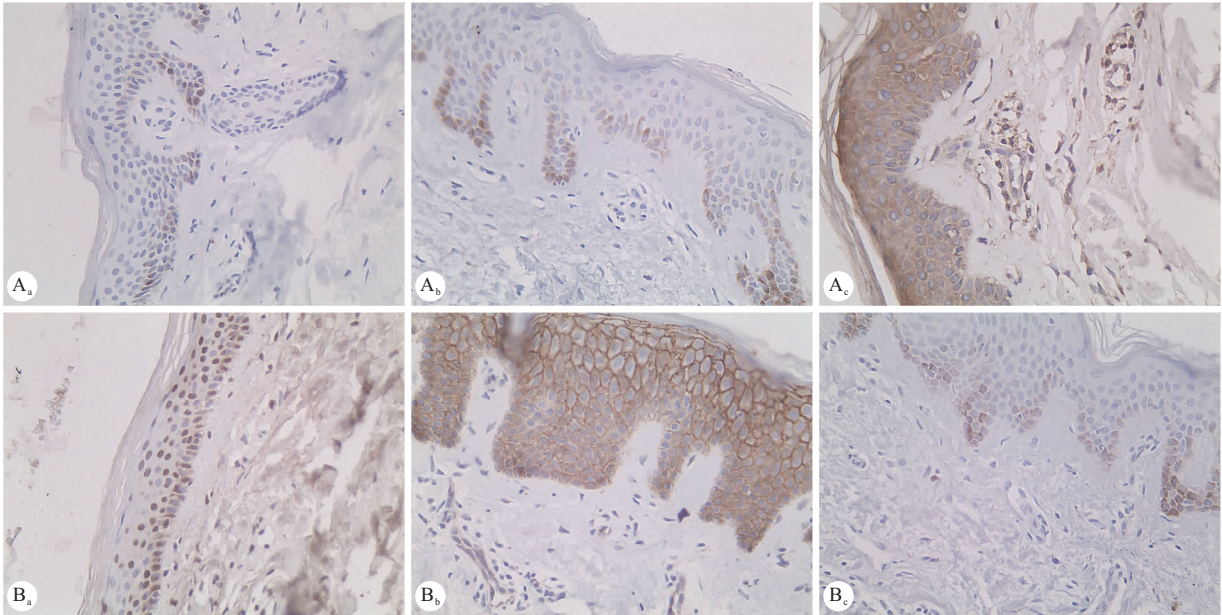


图 1 SSc 患者皮损组织 β-catenin,Snail1,E-cadherin 的表达。SP × 400

Fig 1 The expression of β-catenin, Snail1 and E-cadherin in SSc patients. SP × 400

A: Control group; B: SSc group; a: β-catenin; b: Snail1; c: E-cadherin

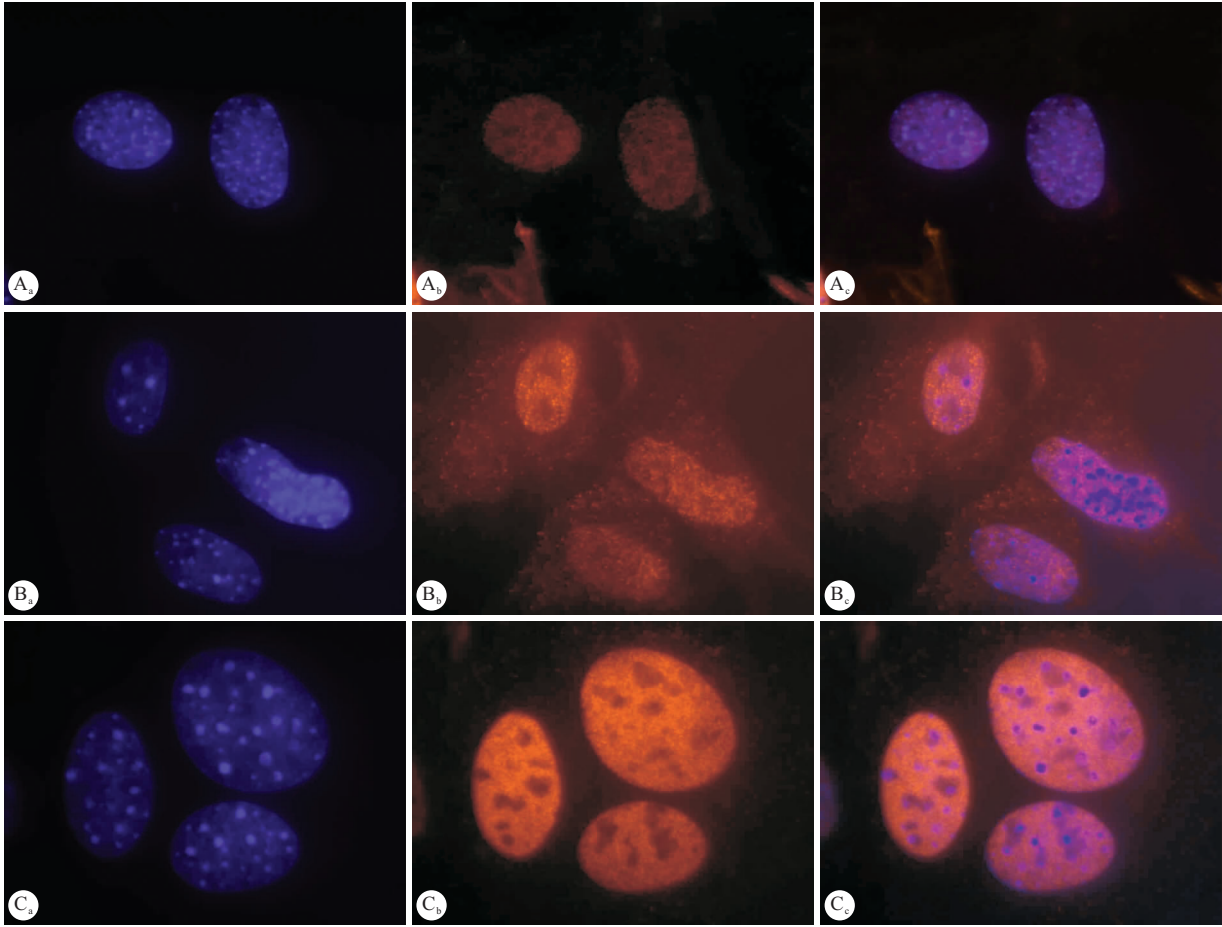


图 2 β-catenin 在 HaCaT 细胞中的定位。× 400

Fig 2 Localization of β-catenin in HaCaT cells. × 400

A: Control group; B: 2 ng/mL Wnt10b group; C: 4 ng/mL Wnt10b group; a: DAPI; b: β-catenin; c: Merge

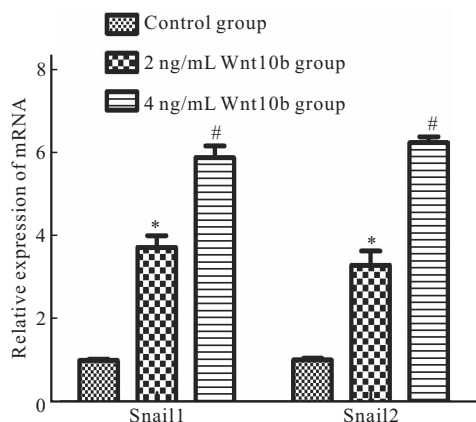


图 3 Wnt10b 处理后 HaCaT 细胞中 Snail1、Snail2 mRNA 的表达

Fig 3 Effect of Wnt10b treatment on the mRNA expression of Snail1 and Snail2 in HaCaT cells

* $P < 0.05$, vs. control group; # $P < 0.05$, vs. 2 ng/mL

Wnt10b group

进 HaCaT 细胞 β -catenin、Vimentin、N-cadherin 等蛋白表达 ($P < 0.05$), 并且随着 Wnt10b 质量浓度的增加而增加。此外, 与空白对照组比较, 随着

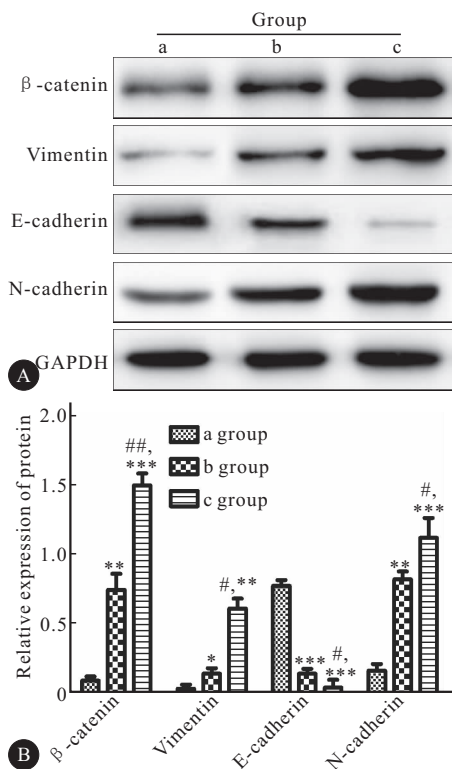


图 4 Wnt10b 处理后 HaCaT 细胞中 EMT 相关蛋白的表达

Fig 4 Effect of Wnt10b treatment on the expression of EMT-related proteins in HaCaT cells

A: Western blot bands; B: Quantitative analysis; a: Control; b: 2 ng/mL Wnt10b; c: 4 ng/mL Wnt10b. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, vs. a group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, vs. b group

Wnt10b 质量浓度升高, HaCaT 细胞中 E-cadherin 蛋白表达逐渐下调 ($P < 0.05$)。

3 讨论

血管病变、免疫激活、组织纤维化是 SSc 病变的主要特征, 其中微血管损伤可能是 SSc 的始发事件, 免疫系统亢进介导了 SSc 的疾病进程, 而组织纤维化则是 SSc 的最终结局^[12]。SSc 导致的皮肤组织纤维化可累及多个组织器官的损伤或纤维化, 如心功能不全^[13]、肺纤维化^[14]、肠梗塞^[15]等。2018 年 SSc 被收录于由我国国家卫生健康委员会等 5 部门联合制定的《第一批罕见病目录》中, 虽然 SSc 属于罕见病, 但近几年其发病率逐年升高。目前有关 SSc 发病详细机制还未完全阐明, 导致其临床治疗难度较大, 因而进一步完善 SSc 发病机制的研究对于有效治疗 SSc 具有重要意义。在本研究中, 发现在 SSc 患者皮损组织中存在 Wnt/ β -catenin 通路的异常活化以及 EMT 相关蛋白的异常表达, 且在细胞水平证实激活 Wnt/ β -catenin 信号通路可促进人表皮角质形成细胞 HaCaT 的 EMT 进程, 初步阐明在 SSc 发病进程中, Wnt/ β -catenin 信号通路有可能介导表皮角质形成细胞通过 EMT 机制转分化为肌成纤维细胞参与皮肤纤维化过程。

近年来, 大量研究证实, Wnt/ β -catenin 通路参与了心、肺、肝、肾等器官的纤维化过程^[16-18]。作为 Wnt/ β -catenin 通路的中心分子, β -catenin 蛋白由细胞质向细胞核移位是该信号通路活化的标志^[19]。本研究结果显示, 在 SSc 患者皮损组织中 β -catenin 蛋白异常表达, 且定位于真皮层细胞核中, 其阳性率高达 100%, 明显高于对照组健康成人皮肤组织。另外, 采用不同质量浓度 Wnt10b 处理 HaCaT, 也发现随着 Wnt10b 质量浓度升高, β -catenin 蛋白从细胞质中向细胞核转位。说明 Wnt/ β -catenin 信号通路在 SSc 皮损组织中异常活化。WEI 等^[20]研究报道称, 在 SSc 患者和博来霉素诱导硬皮病小鼠模型的皮损组织中均发现 Wnt/ β -catenin 信号通路的异常活化。FROST 等^[21]通过对比 SSc 患者和健康人皮肤组织基因芯片数据显示, 在非洲黑人 SSc 患者皮损组织中存在 Wnt7a 和 Wnt10a 基因的高表达。提示异常活化的 Wnt/ β -catenin 信号通路可能参与 SSc 发病机制的调控。

Wnt/ β -catenin 信号通路激活后细胞膜上 β -catenin/E-cadherin 复合体解离, β -catenin 入核激活 Snail 分子的转录, 抑制 E-cadherin 蛋白的合成, 进而诱发 EMT。已有研究证实, EMT 也参与组织器

官纤维化病变过程^[22-23]。本研究结果显示,与健康成人皮肤组织比较,SSc 患者皮损组织中 Snail1 异常高表达,阳性率达 88.89%,而 E-cadherin 异常低表达,阳性率仅为 2.22%。说明在 SSc 中也存在高度活跃的 EMT 过程,并提示 Wnt/ β -catenin 信号通路有可能通过介导 EMT 参与 SSc 发病机制的调控。此外有报道称,上皮细胞和内皮细胞可以通过 EMT 机制转分化为肌成纤维细胞,参与纤维化病变过程^[5-6]。进一步提示,EMT 参与 SSc 皮肤组织纤维化的调控机制可能与其促进皮肤表皮细胞转分化形成肌成纤维细胞有关。为进一步验证,本研究体外培养人表皮角质形成细胞 HaCaT,并采用 Wnt10b 激活细胞中 Wnt/ β -catenin 信号通路,探究激活 Wnt/ β -catenin 信号通路对 HaCaT 细胞 EMT 的影响。结果显示,不同质量浓度 Wnt10b 处理可提高 HaCaT 细胞中 Snail1、Snail2 mRNA 水平,并促进 β -catenin、Vimentin、N-cadherin 等蛋白表达,抑制 E-cadherin 蛋白表达。说明激活 Wnt/ β -catenin 信号通路可促进 HaCaT 细胞 EMT 的发生。提示人表皮角质形成细胞具有转化为肌成纤维样细胞的可能。

综上所述,Wnt/ β -catenin 信号在 SSc 患者皮损组织中明显活化,有可能通过诱导 EMT 过程,引起表皮角质形成细胞转分化为肌成纤维样细胞,提供部分肌成纤维细胞来源,但还需进一步证实和完善,以期对 SSc 的靶向治疗提供新的理论基础。

参 考 文 献

- ORLANDI M, BARSOTTI S, LEPRI G, *et al.* One year in review 2018: systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*, 2018, 36 Suppl 113(4):3-23.
- RUBIO-RIVAS M, ROYO C, SIMEÓN C P, *et al.* Mortality and survival in systemic sclerosis: systematic review and meta-analysis. *Semin Arthritis Rheum*, 2014, 44(2):208-219.
- WERNIG G, CHEN S Y, CUI L, *et al.* Unifying mechanism for different fibrotic diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(18):4757-4762.
- 陈骋, 张旋, 洪志鹏. 肺纤维化形成中的关键细胞及分子研究进展. *基础医学与临床*, 2018, 38(09):1329-1332.
- MANETTI M, ROMANO E, ROSA I, *et al.* Endothelial-to-mesenchymal transition contributes to endothelial dysfunction and dermal fibrosis in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*, 2017, 76(5):924-934.
- PIERA-VELAZQUEZ S, MENDOZA F A, JIMENEZ S A. Endothelial to mesenchymal transition (EndoMT) in the pathogenesis of human fibrotic diseases. *J Clin Med*, 2016, 5(4):45-67.
- 刘全海, 申骏龙, 李晶, 等. β -catenin 在膀胱癌上皮-间质转化中的作用及相关机制. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(11):1671-1674.
- SONG Y, LI Z X, LIU X, *et al.* The Wnt/ β -catenin and PI3K/Akt signaling pathways promote EMT in gastric cancer by epigenetic regulation via H3 lysine 27 acetylation. *Tumour Biol*, 2017, 39(7):1010428317712617 [2018-12-05]. <https://doi.org/10.1177/1010428317712617>.
- 徐文华, 许春姣, 周美璐, 等. 上皮间质转化相关蛋白在口腔黏膜下纤维化及其癌变组织中的表达. *临床口腔医学杂志*, 2016, 32(4):203-207.
- YU K, LI Q, SHI G, *et al.* Involvement of epithelial-mesenchymal transition in liver fibrosis. *Saudi J Gastroenterol*, 2018, 24(1):5-11.
- 范丹, 宋文静, 张艳辉, 等. PRRX1 的表达对卵巢癌血管生成拟态形成及患者预后的影响. *天津医科大学学报*, 2018, 24(1):1-6.
- GEYER M, MÜLLER-LADNER U. The pathogenesis of systemic sclerosis revisited. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2011, 40(2):92-103.
- NOGRADI A, PORPACZY A, PORCSA L, *et al.* Relation of right atrial mechanics to functional capacity in patients with systemic sclerosis. *Am J Cardiol*, 2018, 122(7):1249-1254.
- KOGUCHI N, OKADA A, CHOH S, *et al.* Concomitant systemic sclerosis and sarcoidosis with combined pulmonary fibrosis and emphysema. *Intern Med*, 2016, 55(10):1331-1335.
- SHAH J, SHAHIDULLAH A. Chronic intestinal pseudo-obstruction in systemic sclerosis: an uncommon presentation. *Case Rep Gastroenterol*, 2018, 12(2):373-378.
- 黄健, 刘畅, 陈松, 等. Wnt/ β -catenin 信号通路在肾缺血再灌注大鼠中的表达及 ICG-001 阻断对慢性肾间质纤维化的作用. *实用医学杂志*, 2018, 34(7):1085-1088.
- AKCORA B O, STORM G, BANSAL R. Inhibition of canonical WNT signaling pathway by beta-catenin/CBP inhibitor ICG-001 ameliorates liver fibrosis in vivo through suppression of stromal CXCL12. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(3):804-818.
- 徐文华, 许春姣, 周美璐, 等. 上皮间质转化相关蛋白在口腔黏膜下纤维化及其癌变组织中的表达. *临床口腔医学杂志*, 2016, 32(4):203-207.
- KATO N, SHIMMURA S, KAWAKITA T, *et al.* Beta-catenin activation and epithelial-mesenchymal transition in the pathogenesis of pterygium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007, 48(4):1511-1517.
- WEI J, MELICHIAN D, KOMURA K, *et al.* Canonical Wnt signaling induces skin fibrosis and subcutaneous lipoatrophy: a novel mouse model for scleroderma? *Arthritis Rheum*, 2011, 63(6):1707-1717.
- FROST J, ESTIVILL X, RAMSAY M, *et al.* Dysregulation of the Wnt signaling pathway in South African patients with diffuse systemic sclerosis. *Clin Rheumatol*, 2019, 38(3):933-938.
- 石田田, 冯宁, 何丽洁, 等. miR-9 在 TGF- β 诱导的人肾小管上皮细胞纤维化中的作用. *细胞与分子免疫学杂志*, 2017, 33(3):384-389.
- CRUZ-SOLBES A S, YOUKER K. Epithelial to mesenchymal transition (EMT) and endothelial to mesenchymal transition (EndMT): role and implications in kidney fibrosis. *Results Probl Cell Differ*, 2017, 60:345-372 [2018-12-05]. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-51436-9_13. doi: 10.1007/978-3-319-51436-9_13.

(2019-02-17 收稿, 2019-06-09 修回)

编辑 余琳