

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2025.10.017

论著 · 基础

P22077 通过下调 β -catenin 通路改善小鼠肺纤维化的作用机制研究

胡蝶, 赵东, 黄吉桢, 吴磊



基金项目: 湖北省重点实验室开放项目 (2023KFZZ030)

作者单位: 430065 武汉, 武汉科技大学医学部公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学教研室/职业危害识别与控制湖北省

重点实验室 (胡蝶、吴磊); 430060 武汉, 武汉大学人民医院呼吸与危重症医学科 (胡蝶、赵东、黄吉桢)

通信作者: 吴磊, E-mail: wulei@wust.edu.cn

【摘要】目的 观察泛素特异性蛋白酶 7 (USP7) 抑制剂 P22077 对肺泡上皮细胞上皮-间质转化 (EMT) 和小鼠肺纤维化的影响及机制。**方法** 于 2023 年 10 月—2024 年 12 月在武汉大学人民医院中心实验室进行实验。将 40 只 C57BL/6 小鼠采用随机数字表法分为对照组 (Control 组)、模型组 (Blm 组)、P22077-L 组、P22077-H 组, 各 10 只。通过在气管内滴注博来霉素 (Blm) 建立小鼠肺纤维化模型 (2 mg/kg), 第 7 d 起分别在 P22077-L 组 (10 mg · kg⁻¹ · d⁻¹)、P22077-H 组 (15 mg · kg⁻¹ · d⁻¹) 小鼠腹腔内注射不同剂量的 P22077, 第 28 d 获取小鼠肺泡灌洗液和肺组织。HE 染色、Masson 染色观察小鼠肺组织病理形态学变化; Western blot 法检测肺组织中 USP7、 β -连环蛋白 (β -catenin)、E-钙黏蛋白 (E-cadherin)、 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 表达; 免疫组织化学染色检测小鼠肺组织 E-cadherin、 α -SMA 表达; ELISA 检测小鼠肺泡灌洗液中炎症因子 [转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)、白介素-1 β (IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)] 水平。细胞实验分为对照组、模型组、P22077 组, 用 TGF- β_1 (10 μ g/L) 处理小鼠肺泡上皮细胞系 (MLE12) 构建细胞模型, P22077 组在 TGF- β_1 处理的基础上加用 P22077 (10 μ mol/L), 收集细胞后通过 Western blot 法检测 USP7、 β -catenin、E-cadherin、 α -SMA 表达。**结果** 与 Blm 组比较, HE 染色、Masson 染色结果显示 P22077 可呈剂量依赖性的减少肺组织炎症反应和纤维化。与 Blm 组比较, P22077-H 组小鼠肺组织中 USP7、 β -catenin 和 α -SMA 蛋白水平明显减少, 而 E-cadherin 蛋白水平明显增加, 肺泡灌洗液中炎症因子表达下调 ($P < 0.05$)。在细胞实验中, 与 TGF- β_1 组比较, P22077 组 MLE12 细胞中 USP7、 β -catenin 和 α -SMA 表达明显减少, 而 E-cadherin 表达明显增加 ($P < 0.05$)。**结论** P22077 可以有效抑制肺泡上皮细胞 EMT, 并改善小鼠肺纤维化, 这一效应与 β -catenin 通路的下调有关。

【关键词】 肺纤维化; 肺泡上皮细胞; P22077; 泛素特异性蛋白酶 7; β -连环蛋白; 上皮-间质转化; 小鼠**【中图分类号】** R563**【文献标识码】** A**Study on the mechanism of P22077 to improve pulmonary fibrosis in mice by down-regulating β -catenin pathway** Hu

Die*, Zhao Dong, Huang Jizhen, Wu Lei. * Department of Occupational and Environmental Health, School of Public Health, Wuhan University of Science and Technology/Hubei Province Key Laboratory of Occupational Hazard Identification and Control, Hubei, Wuhan 430065, China

Funding program: Open Project of Key Laboratory of Hubei Province (2023KFZZ030)

Corresponding author: Wu Lei, E-mail: wulei@wust.edu.cn

【Abstract】Objective To observe the effects and potential mechanisms of the ubiquitin-specific protease 7 (USP7) inhibitor P22077 on epithelial-mesenchymal transition (EMT) in alveolar epithelial cells and on pulmonary fibrosis in mice. **Methods** The experiment was conducted in the Central Laboratory of Renmin Hospital of Wuhan University from October 2023 to December 2024. Forty C57BL/6 mice were randomly divided into control group, model group, P22077-L group, and P22077-H group. A mouse pulmonary fibrosis model was established by intratracheal instillation of bleomycin (2 mg/kg). Different doses of P22077 were administered intraperitoneally to mice in the P22077-L (10 mg · kg⁻¹ · d⁻¹) and P22077-H (15 mg · kg⁻¹ · d⁻¹) groups starting from day 7. On day 28, bronchoalveolar lavage fluid and lung tissue were collected. Pathological changes in lung tissue were observed by HE staining and Masson staining. The expression of USP7, β -catenin, E-cadherin, and α -SMA in lung tissue was detected by Western blot. Immunohistochemical staining was used to detect the expression of α -SMA and E-cadherin in mouse lung tissue. ELISA was used to measure the levels of inflammatory factors

(TGF- β_1 , IL-1 β , IL-6, TNF- α) in bronchoalveolar lavage fluid. For the cell experiment, groups included control group, model group, and P22077 group. Mouse alveolar epithelial cells (MLE12) were treated with TGF- β_1 (10 $\mu\text{g/L}$) to establish a cell model, and the P22077 group was treated with both TGF- β_1 and P22077 (10 $\mu\text{mol/L}$). After cell collection, the expression of USP7, β -catenin, E-cadherin, and α -SMA was detected by Western blot. **Results** Compared with the model group, HE and Masson staining showed that P22077 reduced lung tissue inflammation and fibrosis in a dose-dependent manner. Compared with the bleomycin (Blm) group, the protein expression of USP7, β -catenin, and α -SMA in lung tissue of the P22077-H group was significantly decreased, while E-cadherin expression was significantly increased, and inflammatory factor levels in bronchoalveolar lavage fluid were downregulated. In cell experiments, compared with the TGF- β_1 group, the expression of USP7, β -catenin, and α -SMA in MLE12 cells of the P22077 group was significantly decreased, while E-cadherin expression was significantly increased. **Conclusions** P22077 can effectively inhibit EMT in alveolar epithelial cells and ameliorate pulmonary fibrosis in mice, and this effect is associated with downregulation of the β -catenin pathway.

【Key words】 Pulmonary fibrosis; Alveolar epithelial cells; P22077; Ubiquitin-specific protease 7; β -catenin; Epithelial-mesenchymal transition; Mice

特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 是一种病因不明、慢性进行性间质性肺疾病,其特征是正常肺部结构的破坏和瘢痕形成,可导致患者生活质量降低和早期死亡^[1]。研究发现在,2009—2020 年亚太地区国家的 IPF 发病率为 (0.35~1.30)/10 000,欧洲为 (0.09~0.49)/10 000,北美为 (0.75~0.93)/10 000^[2]。吡非尼酮和尼达尼布是目前针对 IPF 的主要治疗药物,但都不能逆转肺纤维化,且不良反应较多,因此寻找新的具有针对性的治疗靶点极为重要^[3]。IPF 的主要病理特征是成纤维细胞向肌成纤维细胞的异常分化,导致 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA)、纤维连接蛋白和胶原蛋白等细胞外基质的过度积累和无序沉积^[4-5]。肺泡上皮细胞在 IPF 致病机制中同样发挥着重要作用,由于环境、吸烟等因素使肺泡上皮细胞反复损伤,导致肺泡上皮细胞的修复反应失调和异常凋亡,引起肺泡壁和间质发生纤维化变化^[6-7]。此外,有研究证实肺泡上皮细胞上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 是肌成纤维细胞重要来源之一,在近来的研究中备受关注。EMT 是指上皮细胞在多种细胞因子的作用下丧失上皮功能和特性,因而获得间质样细胞表型的过程^[4-5]。针对这一病理特征,减少肺泡上皮细胞 EMT 是缓解 IPF 的有效方式。P22077 是针对泛素特异性蛋白酶 7 (ubiquitin-specific protease 7, USP7) 的特异性抑制剂,可以有效抑制 USP7 的活性。本研究在转化生长因子- β_1 (TGF- β_1) 建立的 EMT 细胞模型和博来霉素 (bleomycin, Blm) 诱导的小鼠肺纤维化模型中加入 P22077,探究其能否通过下调 β -连环蛋白 (β -catenin) 通路抑制肺泡上皮细胞 EMT,并缓解小鼠肺纤维化,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) 动物:8 周龄 C57BL/6 雄性小鼠 40

只,均由武汉大学动物实验中心提供,饲养期间室温控制在 20~25℃,期间小鼠均可自由进食饮水。本实验已通过武汉大学人民医院实验动物福利伦理审查 (20200101)。(2) 细胞:小鼠肺泡上皮细胞系 (MLE12) 购自 ATCC 公司。(3) 试剂:Blm (Selleck 公司,货号:S1214),P22077 (Selleck 公司,货号:S7133),TGF- β_1 (Peprotech 公司,货号:100-21),炎症因子测定试剂盒 (欣博盛生物科技有限公司),羟脯氨酸试剂盒 (睿信生物科技有限公司,货号:RXJ202684M),蛋白酶和磷酸化蛋白酶抑制剂 (塞维尔公司),RIPA 裂解液 (雅酶生物科技有限公司,货号:PC101),BCA 试剂盒 (碧云天公司,货号:P0010),SDS-PAGE (雅酶生物科技有限公司),PVDF 膜 (Millipore 公司,货号:IPVH00010),USP7 (三鹰生物,货号:66514-1-Ig)、 β -catenin (三鹰生物,货号:51067-2-AP)、E-cadherin (三鹰生物,货号:20874-1-AP)、 α -SMA (三鹰生物,货号:14395-1-AP),ECL 液体 (雅酶生物科技有限公司,货号:SQ201)。(4) 仪器:病理切片机 (徕卡仪器有限公司),扫描仪 (Bio-Rad 公司),正置显微镜 (Olympus),酶标仪 (Thermo Fisher Scientific),倒置显微镜 (Olympus),CO₂ 恒温培养箱 (SANYO 公司)。

1.2 实验方法 于 2023 年 10 月—2024 年 12 月在武汉大学人民医院中心实验室进行实验。将小鼠采用随机数字表法分为对照组 (Control 组)、模型组 (Blm 组)、P22077-L 组、P22077-H 组,各 10 只。模型组、P22077-L 组和 P22077-H 组小鼠气管内滴注 Blm (2 mg/kg) 建立小鼠肺纤维化模型,第 7 d 起在 P22077-L 组、P22077-H 组小鼠的腹腔内分别注射 10 mg·kg⁻¹·d⁻¹、15 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 的 P22077,第 28 d 使用戊巴比妥钠充分麻醉小鼠,解剖并充分暴露肺脏及纵隔,夹闭小鼠的左侧肺门,用预冷的无菌 PBS

(0.5 ml) 冲洗右肺 3 次,将回收的肺泡灌洗液在 4℃ 条件下离心,留取上清置-80℃ 冰箱保存待测,肺组织用 4% 多聚甲醛固定过夜,石蜡包埋后进行切片。

细胞实验分为对照组、模型组、P22077 组。MLE12 放置在 37℃、5% CO₂ 的培养箱中,用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基进行培养。在显微镜下观察到细胞密度达到 70% 时,模型组加入 TGF-β₁ (10 μg/L), P22077 组加入 TGF-β₁ (10 μg/L) 和 P22077 (10 μmol/L), 培养 48 h 后提取蛋白。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 小鼠肺系数计算:肺系数=小鼠肺组织湿重(mg)/小鼠体质量(g)。

1.3.2 HE 染色观察小鼠肺组织病理形态学变化:将固定好的肺组织用石蜡包埋,并切成 4 μm 薄片覆盖在载玻片上,将载玻片放置于 60℃ 烤箱中 1.5 h 后,用二甲苯和乙醇梯度水化,苏木精染色 10 min、伊红染色 10 min,脱水后使用中性树脂封片并在显微镜下观察。

1.3.3 Masson 染色观察小鼠肺组织病理形态学变化:石蜡切片脱蜡后分别于 Weigert 铁苏木素、Masson 丽春红品红染色液中染 5~10 min,1% 磷钼酸水溶液分化后用苯胺蓝复染 5 min,脱水后使用中性树脂封片并在显微镜下观察。

1.3.4 小鼠肺组织羟脯氨酸测定:将约 30 mg 的肺脏样品与 1 ml 水解液混合,按羟脯氨酸试剂盒说明书进行操作,离心后取上清,设置波长为 550 nm 并测定吸光度值。

1.3.5 Western blot 检测:用含有蛋白酶和磷酸化蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液提取肺组织或细胞中的蛋白质,并用 BCA 法测定蛋白浓度,剩余蛋白加入适量上样缓冲液。变性后用 SDS-PAGE 分离蛋白,然后转印到 PVDF 膜上,用 5% 的脱脂牛奶封闭 2 h。加入 USP7、β-catenin、E-钙黏蛋白(E-cadherin)、α-SMA 一抗并在 4℃ 孵育过夜。次日,用 TBST 洗涤 3 次,每次 5 min,洗涤后将膜与相应的二抗孵育,使用 ECL 液体孵育后进行曝光显影,并用 Image J 软件对检测结果进行半定量分析。

1.3.6 免疫组织化学染色:将玻片放入煮沸的柠檬酸盐溶液中进行抗原修复,然后用 3% 的双氧水覆盖肺组织 15 min,免疫组化笔画圈后滴加适量的血清封闭 30 min,之后加入适量 E-cadherin、α-SMA 抗体溶液,4℃ 孵育过夜,洗涤、二抗孵育后进行 DAB 显色,苏木精染核、封片后在显微镜下观察。

1.3.7 ELISA 法检测小鼠肺泡灌洗液中炎症因子水平:按照试剂盒说明书(欣博盛生物科技有限公司)检

测肺泡灌洗液中炎症因子[TGF-β₁、白介素-1β(IL-1β)、IL-6、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)]水平。

1.4 统计学方法 采用 SPSS20.0 软件进行统计学分析。正态分布的计量资料以均数±标准差表示,2 组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组数据间比较采用单因素方差分析。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

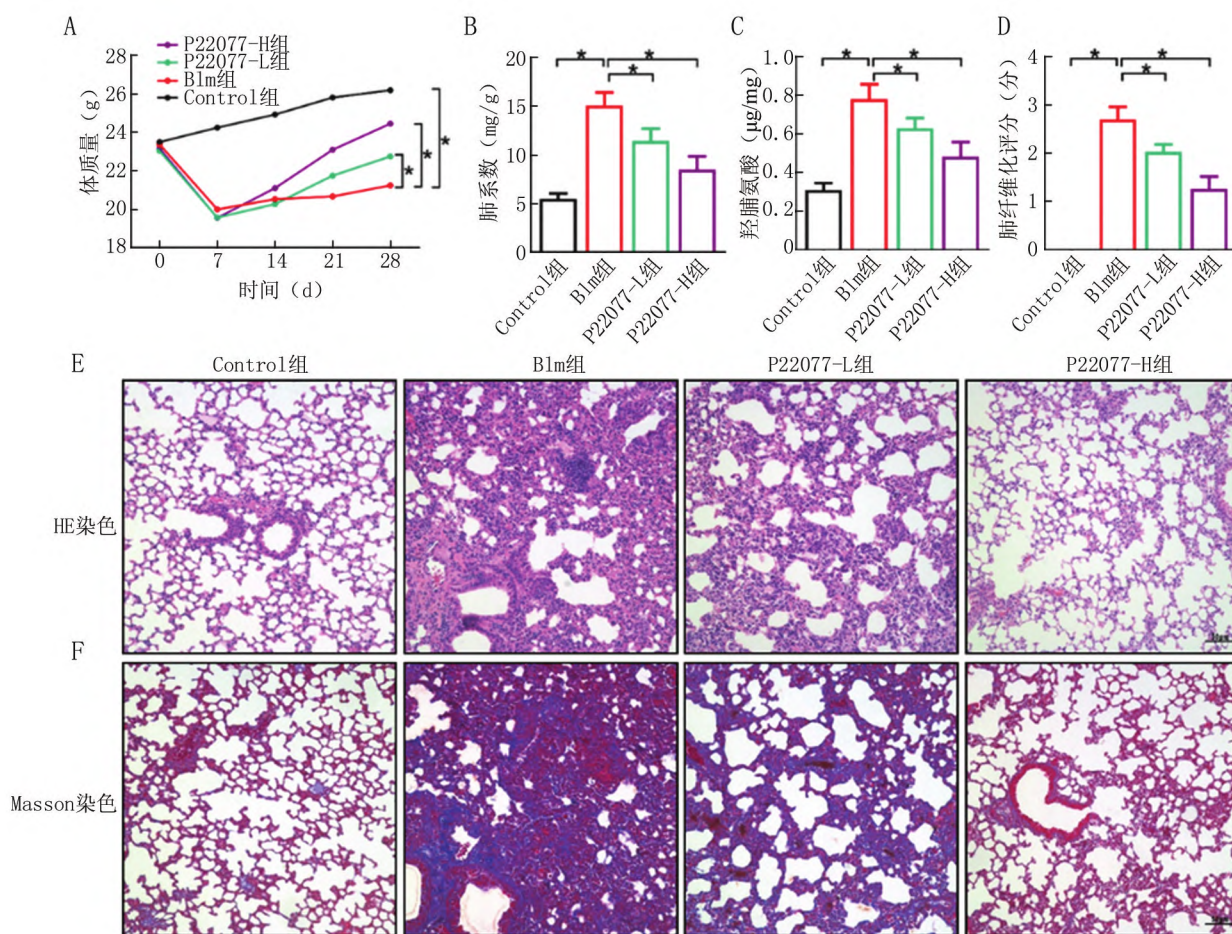
2.1 P22077 减轻 Blm 诱导的小鼠肺纤维化 第 28 d 时,与对照组比较,Blm 组小鼠体质量明显下降、肺系数升高(*P*<0.05);与 Blm 组比较,P22077-L 组、P22077-H 组小鼠体质量增加、肺系数下降(*P*<0.05);与 P22077-L 组比较,P22077-H 组小鼠体质量增加、肺系数下降更明显,但差异无统计学意义(*P*>0.05)。与对照组比较,Blm 组肺组织羟脯氨酸含量增加(*P*<0.05);与 Blm 组比较,P22077-L 组、P22077-H 组肺组织羟脯氨酸含量下降(*P*<0.05);与 P22077-L 组比较,P22077-H 组肺组织羟脯氨酸含量下降,但差异无统计学意义(*P*>0.05),见图 1。

HE 染色和 Masson 染色结果显示,Blm 处理后,肺泡结构破坏,染成蓝色的大量胶原纤维异常沉积,同时伴有炎性细胞浸润,纤维化评分明显升高,而 P22077-L 组和 P22077-H 组小鼠肺泡结构有所恢复,胶原纤维、炎性细胞浸润明显减少,纤维化评分下降,且呈剂量依赖性,因此用 P22077-H 组小鼠进行后续实验(图 1D、E、F)。

2.2 P22077 抑制 Blm 诱导的肺组织 EMT 与对照组相比,Blm 组小鼠肺组织中 USP7、β-catenin 和 α-SMA 蛋白表达明显增加,而 E-cadherin 蛋白表达明显减少;与 Blm 组相比,P22077-H 组小鼠肺组织中 USP7、β-catenin 和 α-SMA 蛋白水平明显减少,而 E-cadherin 蛋白水平明显增加,见图 2。小鼠肺组织 α-SMA、E-cadherin 免疫组织化学染色结果与图 2 的 Western Blot 结果一致,见图 3。

2.3 P22077 抑制肺纤维化小鼠肺泡灌洗液中炎症因子表达 与对照组比较,Blm 组小鼠肺泡灌洗液中 TGF-β₁、IL-1β、IL-6、TNF-α 的表达明显增加;与 Blm 组比较,P22077-H 组小鼠肺泡灌洗液中 TGF-β₁、IL-1β、IL-6、TNF-α 的表达明显减少,见图 4。

2.4 P22077 抑制 TGF-β₁ 诱导的肺泡上皮细胞 EMT 与对照组比较,TGF-β₁ 组 MLE12 细胞中 USP7、β-catenin 和 α-SMA 蛋白水平明显增加,而 E-cadherin 蛋白水平明显减少;与 TGF-β₁ 组比较,P22077 组 MLE12 细胞中 USP7、β-catenin 和 α-SMA 蛋白水平明显减少,而 E-cadherin 蛋白水平明显增加,见图 5。



注: A. 各组小鼠体重变化曲线; B. 各组小鼠肺系数统计图; C. 各组小鼠羟脯氨酸含量统计图; D. 各组小鼠纤维化评分统计图; E. 各组小鼠肺组织 HE 染色 ($\times 200$); F. 各组小鼠肺组织 Masson 染色 ($\times 200$)。* $P < 0.05$ 。

图 1 P22077 干预对 Blm 诱导的小鼠肺纤维化的影响

Fig.1 Effect of p22077 intervention on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice

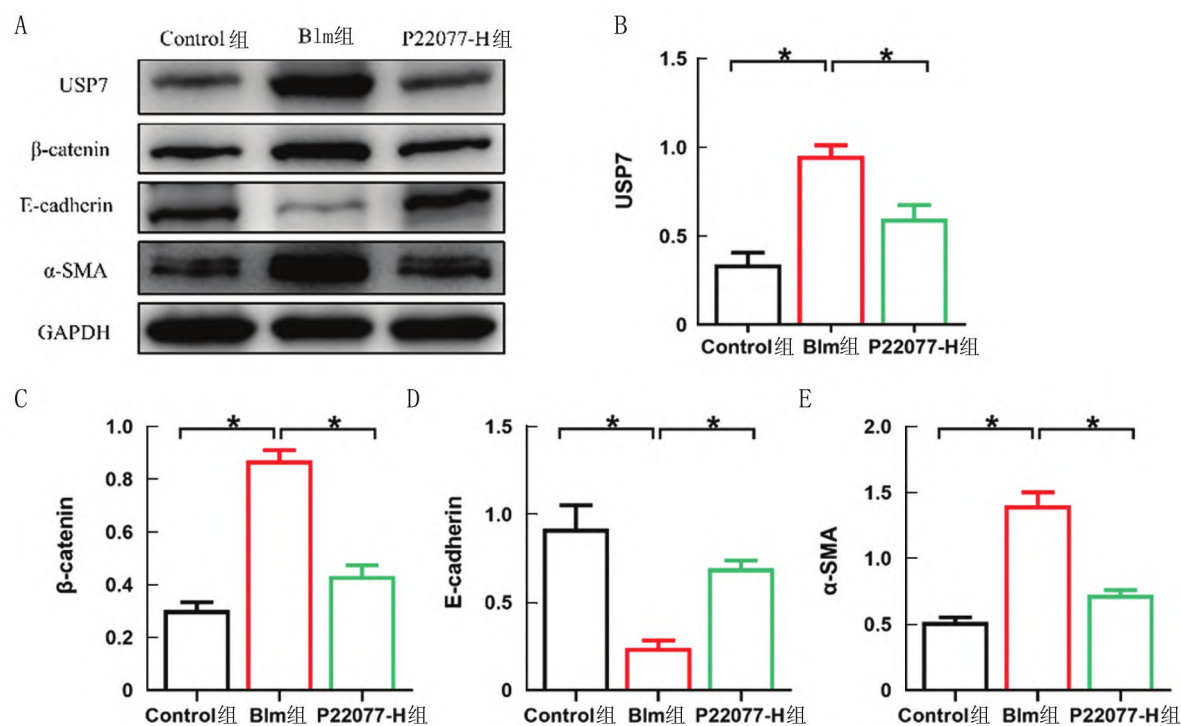
3 讨论

IPF 是一种慢性进行性的间质性肺疾病,其病因及发病机制至今仍未明确。由于肺泡上皮细胞损伤和异常修复,成纤维细胞的异常分化,细胞外基质的无序沉积等最终引起纤维瘢痕组织取代正常肺组织,导致 IPF 的发生^[8-9]。患者通常会出现呼吸困难和肺功能下降,进而造成呼吸衰竭,甚至死亡。因此,目前迫切需要找到新的治疗方法缓解 IPF 的进展。本实验以 USP7 为突破口,寻找其特异性抑制剂 P22077,通过抑制 USP7 的活性,检测其下游 β -catenin 通路的变化,观察其对肺泡上皮细胞 EMT 和小鼠肺纤维化的影响,从细胞实验和动物实验两方面探索 P22077 对肺纤维化治疗的有效性,为 IPF 提供新的治疗方向。

Wnt/ β -catenin 信号通路主要是通过胞质内 β -catenin 的水平变化来实现对下游基因表达的调控^[10]。研究表明,激活 Wnt/ β -catenin 信号途径可以

促进肺泡上皮细胞 EMT 的发生,而 Wnt/ β -catenin 信号途径的抑制逆转了肺泡上皮细胞 EMT 过程^[11]。相关动物实验也表明,Blm 诱导的小鼠肺纤维化形成时 Wnt/ β -catenin 通路被激活,而抑制该通路可减轻肺纤维化^[12]。本研究发现, β -catenin 在肺泡上皮细胞 EMT 模型和肺纤维化小鼠肺组织中表达均上调,这与之前的研究一致,可见 Wnt/ β -catenin 信号途径是促进肺泡上皮细胞 EMT、肺纤维化形成的重要信号通路。

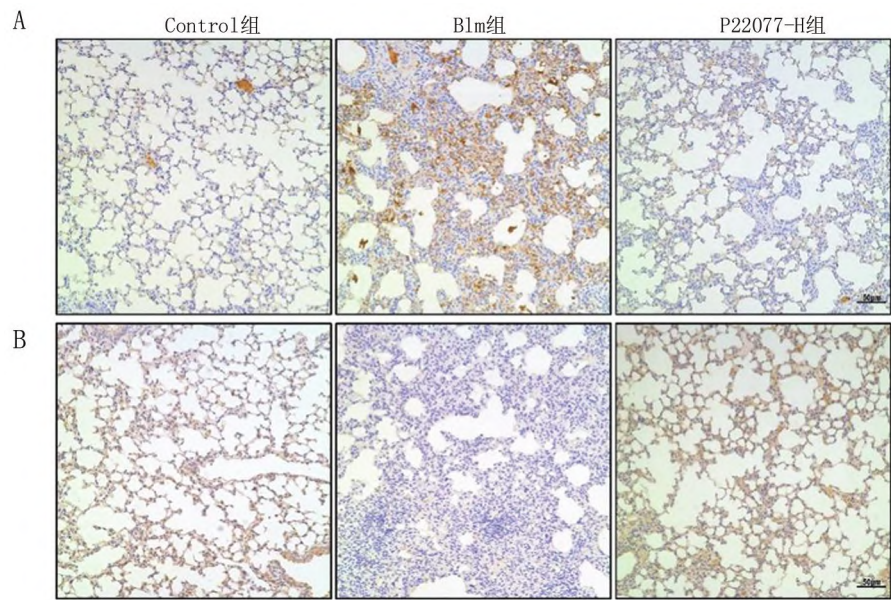
USP7 是去泛素化酶家族的重要一员。USP7 可与多种蛋白质相互作用,包括肿瘤抑制因子、转录因子、细胞周期检查点蛋白、染色质相关蛋白和表观遗传调节因子等,参与细胞增殖、DNA 损伤、炎症反应和凋亡等多种过程,与肿瘤、心血管疾病等多种疾病的发生密切相关^[13-18]。近年来研究发现,USP7 参与多种细胞的 EMT,如食管鳞状细胞癌细胞、肝癌细胞、骨肉瘤细胞等,这一现象表明 USP7 是 EMT 发生的重要调节因



注:A.各组小鼠肺组织 USP7、 β -catenin、E-cadherin、 α -SMA 的 Western blot 条带;B.各组小鼠肺组织中 USP7 蛋白表达统计图;C.各组小鼠肺组织中 β -catenin 蛋白表达统计图;D.各组小鼠肺组织中 E-cadherin 蛋白表达统计图;E.各组小鼠肺组织中 α -SMA 蛋白表达统计图。* $P < 0.05$ 。

图 2 P22077 干预对肺纤维化小鼠肺组织 EMT 和 β -catenin 通路的影响

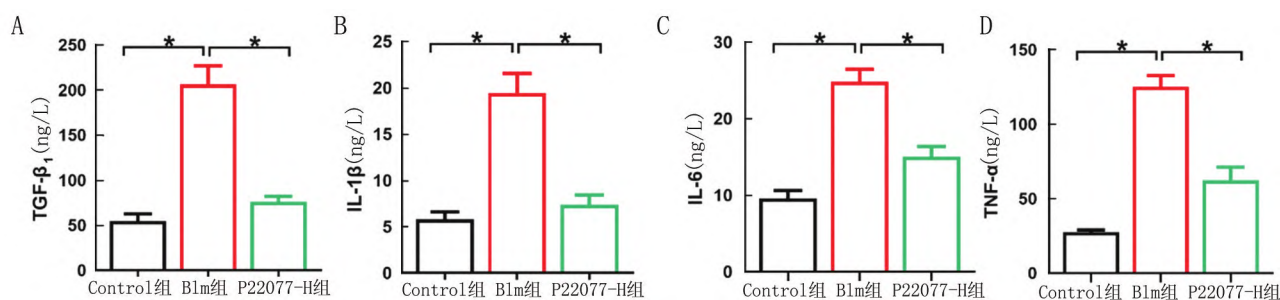
Fig.2 Effect of p22077 intervention on EMT and β -catenin pathway in lung tissues of mice with pulmonary fibrosis



注:A.各组小鼠肺组织 α -SMA 免疫组织化学染色;B 各组小鼠肺组织 E-cadherin 免疫组织化学染色。

图 3 各组小鼠肺组织 α -SMA、E-cadherin 免疫组织化学染色结果($\times 200$)

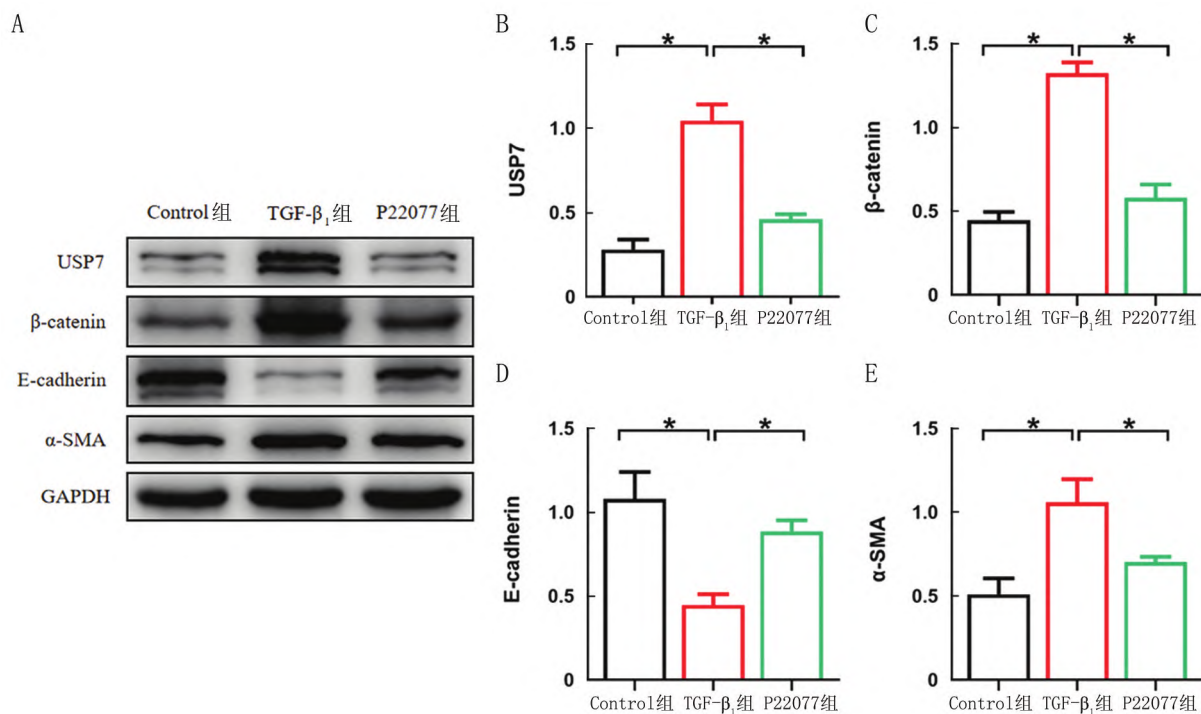
Fig.3 Immunohistochemical staining results of α -SMA and e-cadherin in lung tissues of each group of mice



注:A.各组小鼠肺泡灌洗液 TGF-β₁ 水平统计图;B.各组小鼠肺泡灌洗液 IL-1β 水平统计图;C.各组小鼠肺泡灌洗液 IL-6 水平统计图;D.各组小鼠肺泡灌洗液 TNF-α 水平统计图。* $P < 0.05$ 。

图4 P22077 干预对肺纤维化小鼠肺泡灌洗液中炎症因子表达的影响

Fig.4 Effect of p22077 intervention on inflammatory factor expression in bronchoalveolar lavage fluid of mice with pulmonary fibrosis



注:A.各组 MLE12 细胞 USP7、β-catenin、E-cadherin、α-SMA 的 Western blot 条带。B.各组 MLE12 细胞 USP7 蛋白水平统计图;C.各组 MLE12 细胞 β-catenin 蛋白水平统计图;D.各组 MLE12 细胞 E-cadherin 蛋白水平统计图;E.各组 MLE12 细胞 α-SMA 蛋白水平统计图。* $P < 0.05$ 。

图5 P22077 干预对 TGF-β₁ 诱导的肺泡上皮细胞 EMT 的影响

Fig.5 Effect of p22077 intervention on TGF-β₁-induced epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells

子^[19-21]。例如,刘星等^[22]研究发现 USP7 表达的增加与肝癌细胞的 EMT 紧密相关。本研究发现,USP7 在肺泡上皮细胞 EMT 模型和肺纤维化小鼠肺组织中表达均上调,而使用 USP7 的特异性抑制剂 P22077 干预后可抑制肺泡上皮细胞 EMT 和肺纤维化小鼠肺组织中的 EMT,抑制肺泡灌洗液中炎症因子表达,并减轻 Blm 诱导的小鼠肺纤维化,表明 USP7 在肺泡上皮细胞 EMT 介导的小鼠肺纤维化中具有重要的作用。

USP7 参与生命体多条信号通路的调节,如 Wnt/β-catenin 信号传导途径、p53 信号传导途径、PI3K/AKT 信号传导途径、NF-κB/PD-L1 信号传导途径等^[23]。Basu 等^[24]在实验中发现,USP7 上调 DDX3X 的蛋白水平,进而增加 β-catenin 水平和上调 Wnt/β-catenin 信号传导,从而促进 EMT。在本研究中,笔者发现 P22077 可抑制肺泡上皮细胞 EMT 模型和肺纤维化小鼠肺组织中 β-catenin 的表达,由此表明 P22077

可以通过抑制 USP7 的活性,下调 β -catenin 通路,抑制肺泡上皮细胞 EMT,从而减轻小鼠肺纤维化程度。

4 结 论

综上所述,USP7 抑制剂 P22077 可能通过下调 β -catenin 通路,抑制 TGF- β_1 诱导的肺泡上皮细胞 EMT,从而在 Blm 诱导的小鼠肺纤维化中发挥保护作用,本研究为疾病提供了新的治疗靶点和研究方向。然而,USP7 调控 β -catenin 的具体分子机制尚未完全阐明,本研究也未比较 USP7 抑制剂 P22077 与尼达尼布等其他抗纤维化药物在保护作用方面的差异,此外,本研究主要基于肺泡上皮细胞 EMT 模型和动物模型,USP7 在 IPF 患者肺组织中的表达情况有待进一步研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

胡蝶、吴磊:设计实验方案,实验操作,撰写论文;赵东、黄吉楨:可行性分析,统计学分析及作图,论文修改、审核

参考文献

- [1] Somogyi V, Chaudhuri N, Torrisi SE, et al. The therapy of idiopathic pulmonary fibrosis: What is next [J]. Eur Respir Rev, 2019, 28 (153): 190021. DOI: 10.1183/16000617.0021-2019.
- [2] Maher TM, Bendstrup E, Dron L, et al. Global incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Respir Res, 2021, 22 (1): 197. DOI: 10.1186/s12931-021-01791-z.
- [3] Galli JA, Pandya A, Vega-Olivo M, et al. Pirfenidone and nintedanib for pulmonary fibrosis in clinical practice: Tolerability and adverse drug reactions [J]. Respiriology, 2017, 22 (6): 1171-1178. DOI: 10.1111/resp.13024.
- [4] Moss BJ, Ryter SW, Rosas IO. Pathogenic mechanisms underlying idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Annu Rev Pathol, 2022, 17: 515-546. DOI: 10.1146/annurev-pathol-042320-030240.
- [5] Velagacherla V, Mehta CH, Nayak Y, et al. Molecular pathways and role of epigenetics in the idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Life Sci, 2022, 291: 120283. DOI: 10.1016/j.lfs.2021.120283.
- [6] Parimon T, Chen P, Stripp BR, et al. Senescence of alveolar epithelial progenitor cells: A critical driver of lung fibrosis [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2023, 325 (2): C483-C495. DOI: 10.1152/ajpcell.00239.2023.
- [7] Mei Q, Liu Z, Zuo H, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: An update on pathogenesis [J]. Front Pharmacol, 2022, 12: 797292. DOI: 10.3389/fphar.2021.797292.
- [8] Yu D, Xiang Y, Gou T, et al. New therapeutic approaches against pulmonary fibrosis [J]. Bioorg Chem, 2023, 138: 106592. DOI: 10.1016/j.bioorg.2023.106592.
- [9] Parimon T, Yao C, Stripp BR, et al. Alveolar epithelial type II cells as drivers of lung fibrosis in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21 (7): 2269. DOI: 10.3390/ijms21072269.
- [10] Kleszcz R. The canonical Wnt pathway [J]. Postepy Biochem, 2019, 65 (3): 183-192. DOI: 10.18388/pb.2019_268.
- [11] Tian Y, Xia J, Yang G, et al. A2aR inhibits fibrosis and the EMT process in silicosis by regulating Wnt/ β -catenin pathway [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2023, 249: 114410. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2022.114410.
- [12] Li X, Liu X, Deng R, et al. Betulinic acid attenuated bleomycin-induced pulmonary fibrosis by effectively intervening Wnt/ β -catenin signaling [J]. Phytomedicine, 2021, 81: 153428. DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153428.
- [13] Khoronenkova SV, Dianova II, Ternette N, et al. ATM-dependent downregulation of USP7/HAUSP by PPM1G activates p53 response to DNA damage [J]. Mol Cell, 2012, 45 (6): 801-813. DOI: 10.1016/j.molcel.2012.01.021.
- [14] Xu Q, Liu M, Gu J, et al. Ubiquitin-specific protease 7 regulates myocardial ischemia/reperfusion injury by stabilizing Keap1 [J]. Cell Death Discov, 2022, 8 (1): 291. DOI: 10.1038/s41420-022-01086-2.
- [15] Oliveira RI, Guedes RA, Salvador JAR. Highlights in USP7 inhibitors for cancer treatment [J]. Front Chem, 2022, 10: 1005727. DOI: 10.3389/fchem.2022.1005727.
- [16] Pozhidaeva A, Bezsonova I. USP7: Structure, substrate specificity, and inhibition [J]. DNA Repair (Amst), 2019, 76: 30-39. DOI: 10.1016/j.dnarep.2019.02.005.
- [17] 黄蓉, 刘凯, 郝敬全, 等. 华蟾素通过调控 MYH9/USP7/c-MYC 通路抑制急性髓系白血病细胞免疫逃逸 [J]. 广州中医药大学学报, 2024, 41 (5): 1298-1306. DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2024.05.031.
- [18] 陈梦雅, 谢赛阳, 邓伟. 抑制泛素特异性蛋白酶 7 改善血管紧张素 II 诱导的心肌细胞肥大 [J]. 心血管病学进展, 2024, 45 (2): 174-180. DOI: 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2024.02.016.
- [19] Gao A, Zhang M, Zhu SQ, et al. DNA polymerase ϵ promotes EMT and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma by interacting with USP7 to stabilize HIF-1 α [J]. Cell Death Dis, 2024, 15 (2): 171. DOI: 10.1038/s41419-024-06552-6.
- [20] Hu M, Dai C, Sun X, et al. Ubiquitination-specific protease 7 enhances stemness of hepatocellular carcinoma by stabilizing basic transcription factor 3 [J]. Funct Integr Genomics, 2024, 24 (1): 28. DOI: 10.1007/s10142-024-01310-5.
- [21] Zeng Q, Li Z, Zhao X, et al. Ubiquitin specific protease 7 promotes osteosarcoma cell metastasis by inducing epithelial mesenchymal transition [J]. Oncol Rep, 2019, 41 (1): 543-551. DOI: 10.3892/or.2018.6835.
- [22] 刘星, 刘小梯, 符秋红, 等. 下调 lncRNA OIP5-AS1 可通过 miR-217/USP7 轴抑制肝癌细胞 EMT 及侵袭迁移 [J]. 邵阳学院学报: 自然科学版, 2022, 19 (03): 94-103.
- [23] Wang L, Zhang Y, Yu T, et al. The role and mechanism of deubiquitinase USP7 in tumor-associated inflammation [J]. Biomedicine, 2024, 12 (12): 2734. DOI: 10.3390/biomedicine12122734.
- [24] Basu B, Karmakar S, Basu M, et al. USP7 imparts partial EMT state in colorectal cancer by stabilizing the RNA helicase DDX3X and augmenting Wnt/ β -catenin signaling [J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res, 2023, 1870 (4): 119446. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2023.119446.

(收稿日期: 2025-03-16)