

# IL-33 介导 M2 巨噬细胞在口腔黏膜上皮-间充质转化中的相关作用机制\*

吴丹 刘寻 谢塞飞 朱可可 谭劲

(湖南中医药大学第一附属医院口腔科, 湖南 长沙 410000)

**【摘要】** 目的 探讨白细胞介素 33(IL-33)介导 M2 巨噬细胞在口腔黏膜上皮-间充质转化(EMT)中的相关作用机制。方法 将 25 只雄性 BALB/c 小鼠分为口腔黏膜成纤维化(OSF)组(20 只)和对照组(5 只)。OSF 组通过槟榔碱刺激建立 OSF 小鼠模型,对照组使用 PBS 注射液在相同部位给药。观察口腔黏膜组织巨噬细胞表型、IL-33 以及转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)/Smad 通路表达水平;培养人口腔黏膜细胞并与 M2 巨噬细胞相互作用体外模型,使用 IL-33 添加剂和 TGF- $\beta$ 受体抑制剂,观察 EMT 标志物表达水平。结果 HE 染色和 Masson 染色证实了口腔黏膜纤维化模型建立成功,与对照组比较,OSF 组口腔黏膜组织中 E-钙黏蛋白(E-cadherin)表达水平降低,波形蛋白(Vimentin)表达水平升高(均  $P < 0.05$ )。此外,观察到 IL-33 和 TGF- $\beta$ 水平升高以及 TGF- $\beta$ 1/Smad 通路激活,巨噬细胞在口腔黏膜组织中聚集且表型为 M2 巨噬细胞。与空白对照组比较,IL-33 组 E-cadherin 水平降低,Vimentin 的表达增高(均  $P < 0.05$ );LY-2109761+IL-33 组与 IL-33 组相比,E-cadherin 的表达增高,Vimentin 的水平降低(均  $P < 0.05$ )。Western blot 检测 TGF- $\beta$ 、p-Smad2 和 Smad2 的表达水平提示,与 IL-33 组相比,LY2109761+IL-33 组 IL-33 对 TGF- $\beta$ 有促进作用( $P < 0.05$ );IL-33 组与空白对照组相比,p-Smad2 水平显著提高( $P < 0.05$ );LY-2109761+IL-33 组与 IL-33 组相比,p-Smad2 水平显著降低( $P < 0.05$ )。结论 IL-33 通过介导 M2 巨噬细胞调控 TGF- $\beta$ 1/Smad 通路促进口腔黏膜上皮间质转化。

**【关键词】** 白细胞介素 33;转化因子- $\beta$ 1/Smad 信号通路;M2 巨噬细胞;上皮-间充质转化

**【中图分类号】** R782.4 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2024.06.008

## Interleukin-33 enhances epithelial-to-mesenchymal transition through inducing M2 macrophages to activate TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway of oral mucosa

WU Dan, LIU Xun, XIE Saifei, ZHU Keke, TAN Jin

(Department of Stomatology, The First Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410000, China)

**【Abstract】** **Objective** Epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) has been proven to be involved in the development and progression of fibrosis diseases. This study aims to investigate the related mechanism of Interleukin-33-induced EMT through M2 macrophages. **Methods** Twenty-five male BALB/c mice were divided into oral mucosal fibrosis (OSF) group with 20 mice and control group with 5 mice. In OSF group, the mouse model of OSF was established by arecoline stimulation, and the expression levels of macrophage phenotype, IL-33 and transforming growth factor- $\beta$  1 (TGF- $\beta$  1)/Smad (small mothers against Decapentaplegic) in oral mucosa were observed. The human oral mucosa cells were cultured and interacted with M2 macrophages in vitro. IL-33 additive and TGF- $\beta$  receptor inhibitor were used to observe the expression level of EMT markers. **Results** The model of OSF mice was successfully established and confirmed by HE stain and Masson's trichrome stain. At the same time, we found evidence in support of EMT, such as decreased protein levels of E-cadherin and elevated levels of Vimentin in the oral mucosa ( $P < 0.05$ ). Additionally, the increasing of IL-33 and TGF- $\beta$  levels as well as TGF- $\beta$ 1/Smad signaling activation was observed ( $P < 0.05$ ). Macrophages were recruited to the oral mucosa and identified as M2 macrophages. Compared with the blank control group, level of E-cadherin in IL-33

基金项目:国家自然科学基金委员会资助项目(面上项目)(81874496)

通讯作者:谭劲,E-mail:tanjinhn@aliyun.com

引用本文:吴丹,刘寻,谢塞飞,等. IL-33 介导 M2 巨噬细胞在口腔黏膜上皮-间充质转化中的相关作用机制[J]. 西部医学,2024,36(6):826-831.

DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2024.06.008

group decreased and the expression of Vimentin increased (all  $P < 0.05$ ). Compared with IL-33 group, the expression of E-cadherin in LY-2109761+IL-33 group increased and the level of Vimentin decreased (all  $P < 0.05$ ). The expression levels of TGF- $\beta$ , p-Smad2 and Smad2 were detected by Western blot. Compared with IL-33 group, IL-33 in LY2109761+IL-33 group promoted TGF- $\beta$  ( $P < 0.05$ ). Compared with the blank control group, the level of p-Smad2 in IL-33 group was significantly increased ( $P < 0.05$ ). Compared with IL-33 group, the level of p-Smad2 in LY-2109761+IL-33 group decreased significantly ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** IL-33 conducts M2 macrophages activating TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway to promote EMT of the oral mucosa.

**【Key words】** Interleukin-33; TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway; M2 macrophages; Epithelial-to-mesenchymal transition

上皮-间充质转化(Epithelial mesenchymal transition, EMT)是上皮细胞失去顶端基底极性和细胞间粘附,并向间充质细胞转移的过程<sup>[1-2]</sup>。在 EMT 过程中,随着细胞形态的转变,上皮生物标志物,包括 E-钙粘蛋白(E-cadherin)、角蛋白、层粘连蛋白-1(Laminin-1, LN-1)和 Claudin 等下调。同时间质细胞生物标志物,包括波形蛋白、层粘连蛋白-5(Laminin-5, LN-5)、纤维连接蛋白(Fibronectin, FN)和 N-钙粘蛋白(N-cad)等上调<sup>[3]</sup>。1982 年,格林伯格和海伊首次发现了 EMT,随后大量研究<sup>[4-6]</sup>证明 EMT 参与肺脏、肾脏、心脏等多种器官的纤维化疾病形成、发展和伤口愈合的过程。例如在肺纤维化患者中,肌成纤维细胞的形成是肺泡上皮细胞的 EMT 诱发的结果<sup>[7]</sup>;在克罗恩病中,EMT 也发生于患者的结肠组织标本的相关肠纤维化病变区<sup>[8]</sup>。因此,在纤维化的发生发展中 EMT 的作用至关重要。

巨噬细胞参与调节的炎症反应是纤维化发生与发展的必经过程。研究<sup>[9]</sup>表明,巨噬细胞活化或极化后,可以通过分泌各种细胞因子,包括 IL-6、IL-1 $\beta$ 、转化生长因子  $\beta$ 1(Transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)等促纤维化介质,作用于上皮细胞诱导 EMT 促进纤维化疾病的发生。白细胞介素 33(Interleukin-33, IL-33)是 IL-1 家族的一种细胞因子,在调节炎症过程中发挥重要作用<sup>[10]</sup>。有研究<sup>[11]</sup>表明,IL-33 通过促进肌成纤维细胞的分化和细胞外基质蛋白的产生,对肺纤维化的进展和发展至关重要。有研究<sup>[12]</sup>还发现,TGF- $\beta$ 1 是肺纤维化发病机制中的关键因素。TGF- $\beta$ 1 可通过触发典型的 TGF- $\beta$ 2 信号通路(通过 Smad2/3 的磷酸化)显著促进肌成纤维细胞的存活。Willis 等<sup>[13]</sup>发现 TGF- $\beta$ 1 可通过激活 Smad2 在体外和体内使肺泡上皮细胞经历 EMT。Ming 等<sup>[14]</sup>发现血清 TGF- $\beta$ 1 表达与 IL-33 水平呈正相关。然而目前关于 IL-33 在口腔黏膜组织 EMT 发生过程的调节机制的相关研究报道较少。本研究通过建立大鼠口腔黏膜纤维化模型,观察口腔黏膜纤维化过程中 IL-33 和 TGF- $\beta$ 1 表达水平来探究他们之间的相关性;并通

过体外口腔黏膜上皮细胞同 M2 极化巨噬细胞共培养,观察 IL-33 介导 M2 巨噬细胞促进口腔黏膜上皮细胞 EMT 发生的机制。

## 1 材料与方法

1.1 槟榔碱的提取 将冻干的槟榔提取物 ANE 溶解在 PBS 中,通过 0.22  $\mu$ m 过滤器,然后在 -80  $^{\circ}$ C 下储存直至使用。

1.2 OSF 小鼠模型的建立与表征 25 只引自中山大学动物研究中心的 6 周龄雄性 BALB/c 小鼠(20 g),在标准实验室条件下饲养。将小鼠分为 OSF 组(20 只)和对照组(5 只),OSF 组雌性 BALB/c 系小鼠的颊粘膜每天两次局部用注射器滴用槟榔水提取物,每周 6 d;对照组使用 PBS 注射液在相同部位给药,参照文献<sup>[12]</sup>具体实施。造模期间无小鼠死亡。持续给药 300~600 d 后通过 CO<sub>2</sub> 呼气处死小鼠。将采集的小鼠颊粘膜组织固定在 4%(重量/体积)的中性磷酸盐缓冲多聚甲醛中 24 h,脱水、透明化并包埋在石蜡中。将颊粘膜组织切成 5  $\mu$ m 的切片,用 HE 染色进行结构观察,Masson 三色染色检测胶原沉积。本研究获得医院伦理委员会审核。

## 1.3 Western blotting(WB)检测颊黏膜组织纤维化

在冰上用 RIPA 裂解和提取缓冲液(Thermo Scientific,上海)裂解小鼠的颊粘膜 30 min。离心取上清液收集总细胞提取物。将提取的蛋白质加入 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶中并转移到硝酸纤维素膜上。使用 5%牛血清白蛋白(BSA, Solarbio,北京)在 37  $^{\circ}$ C 下封闭膜 1 h,并加入一抗 Vimentin(1:100)、E-cadherin(1:1000)、Smad2(1:1000)、p-Smad2(1:1000)、TGF- $\beta$ 1(1:1000)和 IL-33(1:800),4  $^{\circ}$ C 过夜。在室温下洗涤膜 3 次,然后在 37  $^{\circ}$ C 下与辣根过氧化物酶结合的山羊抗兔 IgG 二级抗体(1:5000)共孵育 1 h。将膜在 PBST 中再次洗涤 3 次,随后使用超敏 ECL 化学发光蛋白免疫印迹试剂盒(Beyotime Biotech,上海)进行显影。使用 image Pro Plus 6.0 软件进行密度测定。

1.4 流式细胞术测定颊黏膜组织中巨噬细胞表型 为了探究巨噬细胞在口腔黏膜纤维化发展中的作用,

测定了模型小鼠颊黏膜组织中巨噬细胞的表型。收集的口腔黏膜上皮细胞并用 PBS 洗涤,然后在室温下用 FITC-CD11b 抗体(Miltenyi Biotec,德国)或 APC-CD206 抗体(Biolegend,美国)在黑暗中孵育 10 min。将细胞洗涤 3 次以去除未结合的抗体,并将其重新悬浮在含有 5% BSA 和 2 mM EDTA 的 PBS 中。通过流式细胞仪(BD FACSCalibur,美国)分析 CD11b 和 CD206 的表达。

1.5 细胞培养和 IL-4 诱导的 M2 极化 在 6 孔板(2 mL/孔)中接种  $1 \times 10^5$  细胞/mL 密度的 RAW 264.7 细胞。培养基培养过夜后,将 IL-4(PeproTech,美国)添加至最终浓度为 5 ng/mL。24 h 后,细胞视为 M2 巨噬细胞。

1.6 ELISA 法检测 RAW 264.7 细胞分泌的 TGF- $\beta$  在 6 孔板(2 mL/孔)中接种  $1 \times 10^5$  细胞/mL 密度的 RAW 264.7 细胞。培养过夜后,将 IL-4 添加至 5 ng/mL 的最终浓度。48 h 后,收获培养基并在 4 °C 下离心取上清液,使用 ELISA(R&D Systems,美国)测定潜在和活性形式的 TGF- $\beta$ 1 的蛋白质水平。

1.7 M2 巨噬细胞对 EMT 的影响 用 IL-4 预处理 RAW 264.7 细胞向 M2 型极化。将小鼠口腔黏膜上皮细胞以  $5 \times 10^4$  个细胞/mL 的密度接种在 6 孔板(2 mL/孔)中。培养过夜后,使用 Transwell 小室(美国康宁)进行共培养实验。将 M2 巨噬细胞接种到 2 mL 培养基中的上室( $1 \times 10^5$  细胞/孔)中。培养 48 h 后,丢弃培养基和 RAW 264.7 细胞,用含有 1%蛋白酶抑制剂的 RIPA 试剂裂解口腔黏膜上皮细胞。提取总蛋白,用蛋白质印迹法检测 IL-33、Vimentin、E-cadherin、TGF- $\beta$ 1、Smad2 和 p-Smad2。

1.8 IL-33 过表达联合 TGF- $\beta$  受体抑制剂 LY2109761 对 M2 巨噬细胞诱导的 EMT 的影响 如上所述,用 IL-4 预处理 RAW 264.7 细胞向 M2 型极化,之后使用 IL-33 过表达质粒转染。在 6 孔板中接种  $5 \times 10^4$  细胞/mL 密度的口腔黏膜上皮细胞,2 mL/孔。培养过夜后,使用 Transwell 小室同 M2 巨噬细胞进行共培养实验。将细胞分为空白对照组、LY2109761 组、IL-33 组和 LY2109761+IL-33 组。培养 48 h 后,丢弃培养基和 RAW 264.7 细胞,用含有 1%蛋白酶抑制剂的 RIPA 试剂裂解口腔黏膜上皮细胞。提取总蛋白,检测 IL-33、EMT 标志物(Vimentin、E-cadherin)、TGF- $\beta$  通路标志物(TGF- $\beta$ 1、Smad2 和 p-Smad2)。

1.9 统计学分析 本实验所有数据使用 SPSS 22.0 进行数据分析,所有计量资料采用均值  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,单因素方差分析用于比较组间差异。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 组织染色和 WB 检测 OSF 小鼠模型中 EMT 发生 为评估槟榔碱诱导的颊黏膜纤维化,对组织进行 HE 染色和 Masson 三色染色。与对照组(见图 1A)相比,600 d 槟榔处理的颊黏膜(见图 1B)上皮萎缩明显,结缔组织显示密集沉积的胶原蛋白,血管闭塞(见图 1B 中箭头)并且慢性炎症细胞分散在结缔组织中。同样在 Masson 三色染色结果中可以看到,与对照组相比,OSF 组的染色图中箭头所指绿色、蓝色部位有大量的胶原纤维沉积(见图 1C~D)。WB 检测组织浸提液中 EMT 标志物的结果表明,与对照组比较,OSF 组中 Vimentin 表达升高,E-cadherin 的水平降低(均  $P < 0.05$ ),见图 1E。

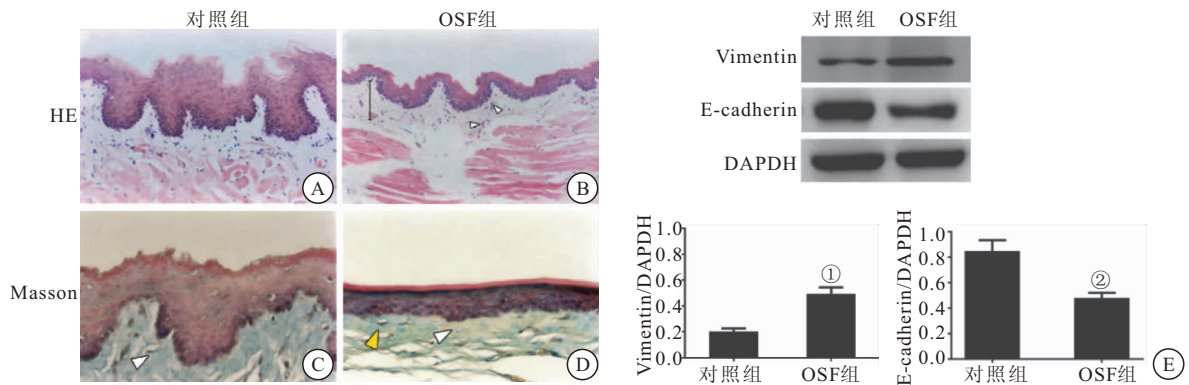


图 1 组织染色和 WB 检测 OSF 小鼠模型中 EMT 发生

Figure 1 Detection of EMT in OSF mouse model by tissue staining and WB

注: A~B. 对照组与 OSF 组使用槟榔碱处理小鼠颊黏膜组织 600 d 后的 HE 染色; C~D. 对照组与 OSF 组使用槟榔碱处理小鼠颊黏膜组织 600 d 后的 Masson 三色染色; E. WB 检测组织中 Vimentin 和 E-cadherin 含量。与对照组比较, ①  $P < 0.05$ , ②  $P < 0.01$ 。

2.2 颊黏膜组织 EMT 发生伴随 IL-33 及 TGF- $\beta$  通路水平变化 为研究 IL-33 对 ETM 的影响,在颊黏

膜组织浸提液中检测 IL-33 以及 TGF- $\beta$  通路表达水平。结果表明,OSF 组中的 IL-33 水平显著高于对照

组(见图 2A,  $P < 0.01$ )。通过检测 TGF- $\beta$  通路的标志物,其中 TGF- $\beta$  和磷酸化前后 Smad2 的表达水平

均高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见图 2B~D。

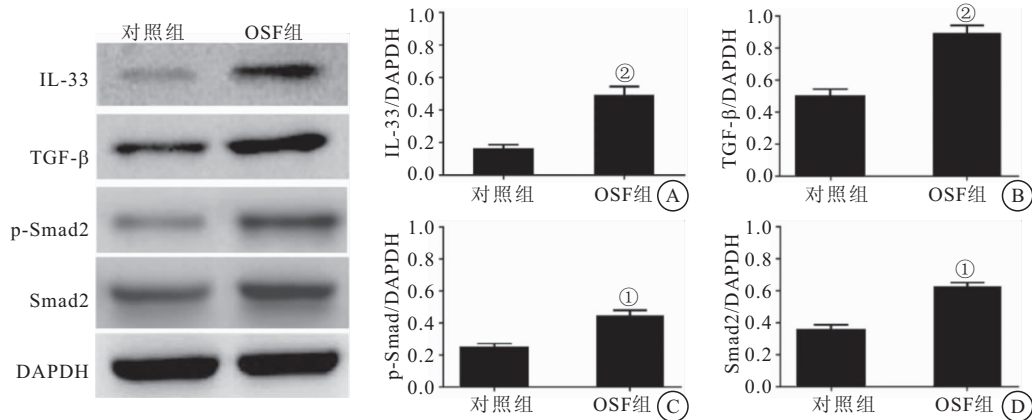


图 2 纤维化颊黏膜组织中 IL-33、TGF- $\beta$ /Smad2 表达水平( $n=3$ )

Figure 2 Expression levels of IL-33 and TGF- $\beta$ /Smad2 in fibrotic buccal mucosa

注:与对照组比较,① $P < 0.05$ ,② $P < 0.01$ 。

2.3 颊黏膜巨噬细胞表面 CD11b 和 CD206 表达的变化 CD11b 是巨噬细胞的标志物。CD206 是小鼠 M2 巨噬细胞的特异性标志物。在 OSF 组小鼠组织染色的结果中,有部分慢性炎症细胞的聚集。为了确

定颊黏膜巨噬细胞的存在及其表型,通过流式细胞术分析 CD11b 和 CD206 的表达。结果表明槟榔碱处理后,颊黏膜巨噬细胞表面的 CD11b(见图 3A)和 CD206(见图 3B)的表达显著增加,且为 M2 型巨噬细胞。

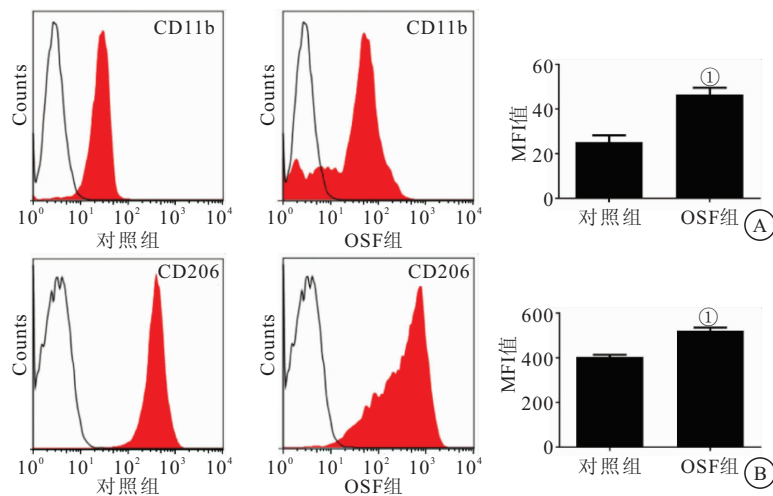


图 3 颊黏膜巨噬细胞表面 CD11b 和 CD206 表达的变化( $n=6$ )

Figure 3 Changes of CD11b and CD206 expression on the surface of buccal mucosa macrophages

注:A.流式细胞术检测 CD11b 的表达;B.流式细胞术检测 CD206 的表达。与对照组比较,① $P < 0.05$ 。

2.4 IL-33 通过调控 TGF- $\beta$  通路促进口腔黏膜上皮细胞 EMT 发生 相比空白对照组,IL-33 组显著降低了 E-cadherin 水平,提高了 Vimentin 的表达(见图 4A~B)(均  $P < 0.05$ )。然而 TGF- $\beta$  抑制剂 LY2109761 阻断了 IL-33 的这种作用(见图 4A~B,  $P < 0.05$ )。LY-2109761+IL-33 组与 IL-33 组相比,E-cadherin 的表达提高(见图 4A),Vimentin 的水平降低(见图 4B)(均  $P < 0.05$ )。初步验证了 IL-33 可能通过调节 TGF- $\beta$  促进口腔黏膜上皮细胞 EMT 发生。

为了进一步研究 IL-33 对 TGF- $\beta$  通路表达的影响,采用 Western blot 分别检测了 TGF- $\beta$ 、p-Smad2 和 Smad2 的表达水平。与 IL-33 组相比,LY2109761+IL-33 组的结果进一步表明了 IL-33 对 TGF- $\beta$  的促进作用(见图 4C,  $P < 0.05$ )。IL-33 组与空白对照组相比,p-Smad2 水平显著提高(见图 4E,  $P < 0.05$ )。LY-2109761+IL-33 组与 IL-33 组相比,p-Smad2 水平显著降低( $P < 0.05$ ),见图 4E。

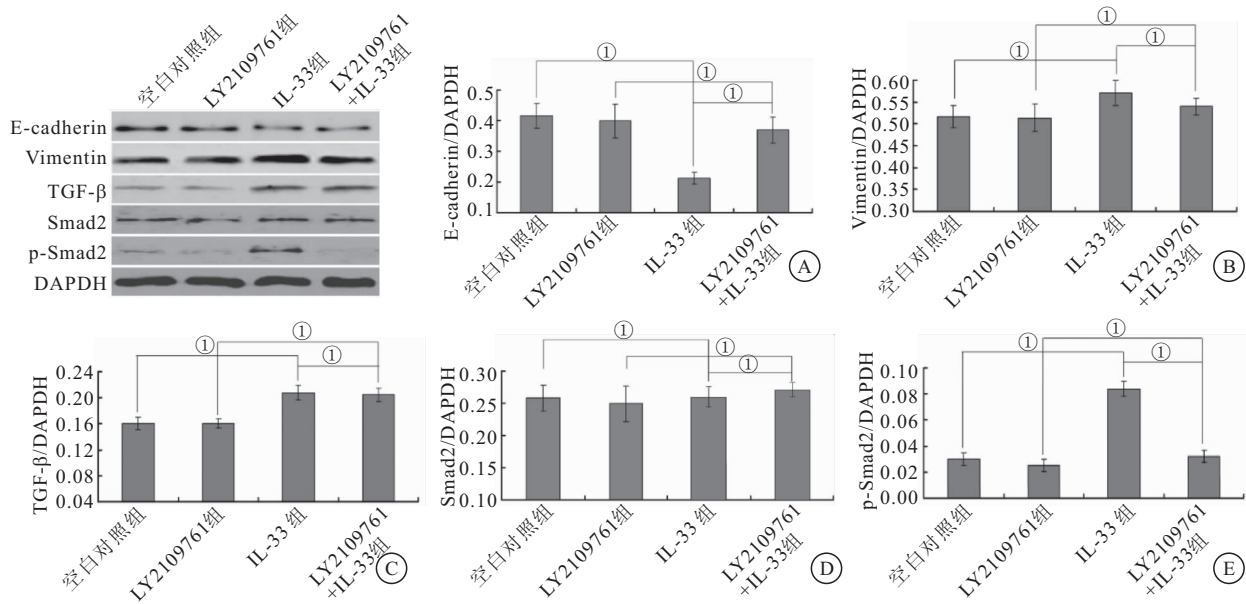


图 4 Western blot 分析检测口腔黏膜上皮细胞 EMT 标志物 (E-cadherin, Vimentin) 以及 TGF-β1/Smad 通路表达水平 (n=3)

Figure 4 Western blot analysis was used to detect the expression level of EMT marker (E-cadherin, Vimentin) and TGF-β1/Smad pathway in oral mucosal epithelial cells

注:组间比较,①P<0.05。

### 3 讨论

IL-33 途径参与 Th2 型免疫应答,这与一些纤维化疾病有关。有研究<sup>[15]</sup>报道 TGF-β1/Smad 通路是 EMT 的重要上游信号。同时,TGF-β1/Smad 与 IL-33 表达呈正相关。此外也有研究<sup>[16]</sup>证明,巨噬细胞在纤维化疾病发生的各个阶段都发挥着举足轻重的作用,其中在分子水平上,巨噬细胞能产生不同的促纤维化介质,来诱导纤维化病变。因此,本研究使用槟榔碱诱导的小鼠口腔黏膜纤维化模型来探讨 IL-33、TGF-β 和巨噬细胞在 EMT 过程中的作用。成功诱导模型后,发现颊黏膜组织中 Vimentin 蛋白水平升高,E-cadherin 水平降低。EMT 发生过程中检测到巨噬细胞的堆积,经鉴定为 M2 型巨噬细胞。此外,还检测到 TGF-β 水平升高和 TGF-β/Smad2 信号激活。

典型激活的巨噬细胞(M1)攻击异物、感染性微生物和癌症细胞,并产生大量炎性细胞因子。M1 巨噬细胞通常被干扰素-γ 和脂多糖等微生物刺激物激活,其特征是 MHC II 的高表达<sup>[17]</sup>。然而,替代激活的巨噬细胞(M2)有助于组织修复并促进 Th2 应答,且 M2 巨噬细胞产生高水平的 TGF-β<sup>[18]</sup>。CD11b 是控制单核细胞迁移的分子之一,并被认为是巨噬细胞的标志物<sup>[19]</sup>。Choi 等<sup>[20]</sup>早在研究中证实了 CD206 是小鼠 M2 巨噬细胞的特异性标记物。我们检测到颊黏膜巨噬细胞表面 CD11b 和 CD206 的表达,表明更多的巨噬细胞迁移到颊黏膜组织中,且 M2 巨噬细胞的百分比显著增加。

为了进一步验证 M2 巨噬细胞通过分泌 IL-33 调控对口腔黏膜上皮细胞 TGF-β 通路来促进后者细胞 EMT 发生,本研究使用 TGF-β 受体抑制剂 LY2109761、IL-33 以及两者混合试剂,来检测各组 EMT 以及 TGFβ 通路标志物的表达水平。结果表明,与对照组相比,IL-33 处理显著降低了 E-cadherin 表达,显著增加了 Vimentin 表达,这表明 IL-33 可以诱导 EMT 的发生。同时,IL-33 处理后细胞中 TGF-β 的水平也增加,这表明 TGF-β 可能参与 IL-33 诱导的口腔黏膜上皮细胞 EMT 的发生。这与 Marvie 等<sup>[21]</sup>的研究类似,同样证实了 IL-33 对口腔黏膜的刺激作用。

TGF-β1 通过 TGF-β 受体激活 Smad2/Smad3 的磷酸化,并触发 TGF-β1 的生物学效应。因此,本研究应用 TGFβ1/Smad 信号通路抑制剂 LY2109761 抑制 Smad2 的活性和磷酸化。LY2109761 可进一步抑制 TGFβ1 诱导的细胞增殖、迁移和分化。结果表明,LY2109761 本身不会改变 Smad2 和 p-Smad2 的表达。然而,LY2109761 显著减弱 IL-33 诱导的 p-Smad2 表达。IL-33 显著降低了 E-cadherin 水平,显著增加了 Vimentin 水平,这表明 IL-33 促进了 EMT 的进程。而且郭蕾等<sup>[22]</sup>相关的研究也证实了在 IL-33 在促进间充质细胞转分化过程中的积极意义,参与了细胞转分化的过程进而影响疾病的进展。

TGF-β1 在体内的生物活性主要通过磷酸化的 Smad2 传导,但不通过 Smad2。本研究还发现,p-

Smad2 表达的降低,伴随着 IL-33 诱导的 EMT 过程明显减弱。这一结果表明 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路和 IL-33 诱导变化的相关性。因此,我们推测 IL-33 诱导 TGF- $\beta$ 1 上调和 Smad2 磷酸化,触发 EMT 并导致口腔黏膜纤维化。

本研究存在一些局限性,研究仅使用组织学和 WB 实验来研究 IL-33 在口腔黏膜 EMT 发生的作用。其他例如基因表达、转录水平等,需要进一步研究以了解 IL-33 对口腔黏膜纤维化的影响。在未来的研究中,需更深入研究 IL-33 的作用。

#### 4 结论

本研究结果显示,IL-33 通过介导 M2 巨噬细胞调控 TGF- $\beta$ 1/Smad 通路促进口腔黏膜上皮间质转化。

#### 【参考文献】

- [1] LING Z, CHENG B, TAO X. Epithelial-to-mesenchymal transition in oral squamous cell carcinoma: Challenges and opportunities[J]. *Int J Cancer*, 2021, 148(7): 1548-1561.
- [2] BOZGEYIK E, EGE B, KOPARAL M, *et al.* Clinical significance of Vimentin Antisense RNA 1 and its correlation with other epithelial to mesenchymal transition markers in oral cancers [J]. *Pathol Res Pract*, 2022, 232, 153807.
- [3] WANG F, YE LJ, WANG FJ, *et al.* miR-146a promotes proliferation, invasion, and epithelial-to-mesenchymal transition in oral squamous carcinoma cells[J]. *Environ Toxicol*, 2020, 35(10): 1050-1057.
- [4] CHEN T, NIE H, GAO X, *et al.* Epithelial-mesenchymal transition involved in pulmonary fibrosis induced by multi-walled carbon nanotubes via TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway[J]. *Toxicol Lett*, 2014, 226(2): 150-62.
- [5] CHEN X, SHI C, MENG X, *et al.* Inhibition of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling suppresses bleomycin-induced pulmonary fibrosis by attenuating the expression of TGF- $\beta$ 1 and FGF-2[J]. *Exp Mol Pathol*, 2016, 101(1): 22-30.
- [6] CRAIG V J, ZHANG L, HAGOOD J S, *et al.* Matrix metalloproteinases as therapeutic targets for idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2015, 53(5): 585-600.
- [7] WANG L, WANG Y, YANG T, *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 attenuates bleomycin-induced lung fibrosis in mice[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36(2): 679-711.
- [8] GOSWAMI K K, GHOSH T, GHOSH S, *et al.* Tumor promoting role of anti-tumor macrophages in tumor microenvironment[J]. *Cell Immunol*, 2017, 316: 1-10.
- [9] 胡春兰,周龙,田玲,等.高良姜素通过巨噬细胞极化及抑制锌指蛋白 Zbed3 诱导大鼠肝癌细胞凋亡的研究[J]. *西部医学*, 2022, 34(7): 7.
- [10] VANNELLA K M, RAMALINGAM T R, BORTHWICK L A, *et al.* Combinatorial targeting of TSLP, IL-25, and IL-33 in type 2 cytokine-driven inflammation and fibrosis[J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8, 337ra365.
- [11] LEEJ S, SEPPANEN E, PATEL J, *et al.* ST2 receptor invalidation maintains wound inflammation, delays healing and increases fibrosis[J]. *Exp Dermatol*, 2016, 25(1), 71-74.
- [12] TOGAMI K, YAMAGUCHI K, CHONO S, *et al.* Evaluation of permeability alteration and epithelial-mesenchymal transition induced by transforming growth factor- $\beta$ 1 in A549, NCI-H441, and Calu-3 cells: Development of an in vitro model of respiratory epithelial cells in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2017, 86: 19-27.
- [13] WILLIS B C, DUBOIS R M, BOROK Z. Epithelial origin of myofibroblasts during fibrosis in the lung[J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2016, 3(4): 377-382.
- [14] MING D I, YU X, GUO R, *et al.* Elevated TGF $\beta$ 1/IL-33 pathway is associated with the disease severity of Hepatitis B virus-related liver cirrhosis[J]. *Viral Immunol*, 2015, 28 (4): 209-216.
- [15] MELISI D, ISHIYAMA S, SCLABAS G M, *et al.* LY2019761, a novel transforming growth factor B receptor type I and type II dual inhibitor, as a therapeutic approach to suppressing pancreatic cancer metastasis[J]. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7(4): 829-840.
- [16] 张倩倩,周晓慧,唐伦先.巨噬细胞介导上皮间充质转化在纤维化疾病中的作用[J]. *中华危重病急救医学*, 2018, 30(1): 91-93.
- [17] 王英芳,刘艳存,柴艳芬. Siglec-E 在脓毒症小鼠 RAW 264.7 单核巨噬细胞的表达研究[J]. *中国急救医学*, 2017, 37(5): 410-414.
- [18] YU C C, CHIEN C T, CHANG T C. M2 macrophage polarization modulates epithelial-mesenchymal transition in cisplatin-induced tubulointerstitial fibrosis[J]. *Biomedicine (Taipei)*, 2016, 6(1): 5.
- [19] CHUNG Y, HONG J Y, LEI J, *et al.* Rhinovirus infection induces interleukin-13 production from CD11b-positive, M2-polarized exudative macrophages[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2015, 52(2): 205-216.
- [20] CHOI K M, KASHYAP P C, DUTTA N, *et al.* CD206-positive M2 macrophages that express heme oxygenase-1 protect against diabetic gastroparesis in mice[J]. *Gastroenterology*, 2010, 138(7): 2399-2409.
- [21] MARVIEP, LISBONNE M, L'HELGOUALCH A, *et al.* Interleukin-33 overexpression is associated with liver fibrosis in mice and humans[J]. *J Cell Mol Med*, 2009, 14(6B), 1726-1739.
- [22] 郭蕾,薛荣亮. miR-487b/IL-33/ST2 在脓毒症中的表达及意义[J]. *西部医学*, 2019, 31(6): 953-957.

(收稿日期: 2023-05-29; 修回日期: 2024-03-30; 编辑: 王小菊)