

# 基质金属蛋白酶 14 在矽肺中的表达及其对上皮间充质转化的调控作用

丁琼桦, 马子怡, 钱蕊, 陈叙汐, 王礼群, 陈晴, 肖月, 姚于勤, 许云屹

四川大学华西公共卫生学院/华西第四医院, 分子毒理四川省教育厅重点实验室, 四川 成都 610041

**摘要:**目的 通过建立小鼠矽肺模型, 探讨潜在致病分子 MMP14 在二氧化硅致肺损伤中的作用。方法 SPF 级雄性 C57 小鼠 18 只随机分为对照组和矽肺模型组; 人体标本数量 16 例, 来自四川大学华西第四医院尘肺队列; 采用单细胞测序技术分析差异表达基因, 筛选潜在致病分子, 采用非暴露式气管滴注法构建小鼠矽肺模型, 通过苏木精-伊红染色和 Masson 染色评估小鼠肺组织炎症和纤维化程度。采用实时荧光定量聚合酶链式反应、蛋白免疫印迹和免疫组织化学等技术验证小鼠矽肺模型肺组织及正常对照肺组织中 MMP14 及 N-cadherin 的表达。通过小干扰 RNA 敲减上皮细胞 16HBE 中的 MMP14, 验证 N-cadherin 表达, 并采用细胞划痕实验验证敲减 MMP14 对细胞迁移的调控。结果 单细胞测序结果显示 MMP14 为潜在致病分子, 与正常对照组相比, 小鼠矽肺模型组肺组织中 MMP14 及 N-cadherin 表达分别增高 3.78 和 2.42 倍 ( $P < 0.001$ )。在 SiO<sub>2</sub> 刺激的 16HBE 细胞中敲减 MMP14, 可下调 N-cadherin 的表达约 30% ( $P < 0.001$ ), 同时抑制 16HBE 细胞迁移, 细胞迁移面积降低 50% ( $P < 0.001$ )。结论 MMP14 激活 N-cadherin 表达, 调控上皮细胞 EMT 过程, 促进二氧化硅诱导的肺纤维化发生。

**关键词:**矽肺; 肺纤维化; 基质金属蛋白酶 14; 上皮间充质转化; 神经钙黏蛋白

中图分类号: R135.2 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2025)04-629-07

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202409198

## Expression of matrix metalloproteinase 14 in silicosis and its regulation of epithelial-mesenchymal transition

DING Qiong-hua, MA Zi-yi, QIAN Rui, CHEN Xu-xi, WANG Li-qun, CHEN Qing,

XIAO Yue, YAO Yu-qin, XU Yun-yi

Sichuan Provincial Key Laboratory of Molecular Toxicology, West China School of Public Health / West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China

**Abstract: Objective** To investigate the role of the potential pathogenic molecule MMP14 in silicosis. **Methods** 18 SPF male C57 mice were randomly divided into control and silicosis group, and 16 human specimens from the pneumoconiosis cohort of the Fourth Hospital of West China, Sichuan University. Single-cell sequencing analysis was used to identify differentially expressed genes. A silicosis mouse model was induced by silica dioxide using a non-exposure tracheal instillation method. Hematoxylin-eosin staining and Masson staining were employed to assess the degree of inflammation and fibrosis in mouse lung tissues. Real-time quantitative polymerase chain reaction, western blot, and immunohistochemistry were used to verify the expression of MMP14 and N-cadherin in the lung tissues. Knockdown of MMP14 in epithelial cells (16HBE) was achieved by small interfering RNA, to further verify the expression of N-cadherin. Cell wound healing assays were used to assess the cell migration after MMP14 knockdown. **Results** MMP14 being selected as a potential pathogenic molecule by single-cell sequencing analysis. Compared with the normal control group, the expression of MMP14 and N-cadherin in silicosis lung tissues was significantly increased 3.78 and 2.42 times, respectively ( $P < 0.001$ ). Knockdown of MMP14 in 16HBE cells stimulated by SiO<sub>2</sub> led to the downregulation of N-cadherin by about 30% ( $P < 0.001$ ) and inhibition of cell migration, which area was reduced by 50% ( $P < 0.001$ ). **Conclusion** MMP14 activates the expression of N-cadherin, regulates the epithelial-mesenchymal transition (EMT) process, and promotes silica-induced pulmonary fibrosis.

**Keywords:** Pneumoconiosis; Pulmonary fibrosis; Matrix metalloproteinase 14; Epithelial-mesenchymal transition; N-cadherin

基金项目: 国家自然科学基金(82373548, U22A20359, U23A20495); 四川省科学技术厅基金(2023NSFSC1731, 2024NSFSC1258); 四川大学与达州市战略合作项目(2022CDDZ-14)

作者简介: 丁琼桦(1999—), 女, 硕士在读, 研究方向: 卫生毒理学

通信作者: 许云屹, E-mail: yunyi\_xu@scu.edu.cn

尘肺病是在世界范围内普遍发生的职业病,我国是受尘肺病影响最严重的国家之一,其中矽肺是最常见且危害最严重的类型<sup>[1]</sup>。矽肺是由长期吸入大量游离二氧化硅(Silicon dioxide, SiO<sub>2</sub>)粉尘引起的,以肺部持续性炎症和不可逆纤维化为特征的发展性肺部疾病<sup>[2]</sup>。在形态学上,可观察到吞噬 SiO<sub>2</sub>颗粒的巨噬细胞聚集, SiO<sub>2</sub>对气道上皮细胞的持续损伤,肺泡腔正常生理结构的破坏及细支气管周围纤维化<sup>[3]</sup>。

基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMPs)参与维持细胞外基质(Extracellular matrix, ECM)和组织修复,可分为6类:包括胶原酶、明胶酶、基质酶、基质溶解素、金属弹性蛋白酶和膜型 MMPs<sup>[4]</sup>。基质金属蛋白酶14(Matrix metalloproteinase 14, MMP14), 又称 MT1 - MMP,是最早被发现的基质金属蛋白酶之一,是一类跨膜蛋白,与细胞运动密切相关<sup>[5]</sup>。MMP14影响细胞迁移和侵袭,可下调 E - cadherin,上调 N - cadherin,促进上皮间充质转化(Epithelial - Mesenchymal Transition, EMT)发生,在骨骼发育、伤口愈合、炎症反应等多种生理功能中具有重要作用<sup>[6]</sup>。矽肺疾病进展中,上皮细胞出现 EMT 现象<sup>[3]</sup>,即失去上皮表型(E - cadherin),间充质细胞标志物表达增加(N - cadherin、Vimentin、 $\alpha$  - SMA 等),分泌胶原蛋白和 ECM 促进矽肺纤维化的形成<sup>[7]</sup>。多项研究表明,抑制上皮细胞 EMT,可有效减缓肺纤维化发生<sup>[8-10]</sup>。上皮细胞 EMT 与矽肺纤维化发生密切相关,而 MMP14 高表达则促使上皮细胞发生 EMT,因此 MMP14 与上皮细胞作用机制的发现为今后缓解矽肺治疗进展提供了新的途径。本研究旨在探索 MMP14 在矽肺中的表达及其发挥作用的潜在分子调控机制。

## 1 材料与方法

**1.1 动物与实验样本** 雄性 C57/BL 小鼠,6~8 周龄,体重 23 ± 2 g,购自上海维通利华有限公司,饲养于四川大学华西公共卫生学院 SPF 级实验动物中心。16 例人肺组织穿刺样本自四川大学华西第四医院尘肺队列样本采集获得, - 80 °C 保存。动物及人肺组织穿刺样本采集均通过四川大学医学伦理委员会批准(伦理号:GwII2024103)。

**1.2 试剂** SiO<sub>2</sub> 粉尘购自德国默克生物科技公司(4808 - 60 - 7);兔抗 MMP14 单抗(A0067)购自武汉爱博泰克生物技术有限公司,鼠抗 GAPDH 单抗(60004 - 1 - Ig)购自武汉三鹰生物技术有限公司;兔抗 N - cadherin 单抗(ET1607 - 37)、山羊抗兔 HRP 标记二抗(HA1001)、山羊抗鼠 HRP 标记二抗(HA1006)购自杭州华安生物有限公司;通用型快速封闭液(10133 - 2)购自陕西普罗安蒂生物科技发

展有限公司;试剂 Trizol 购自宝日医生物技术有限公司;RNA 逆转录试剂(RK20429)购自武汉爱博泰克生物技术有限公司;实时荧光定量 PCR 试剂盒(Q712 - 01)购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司;双敏化学发光试剂(KF8005)购自江苏亲科生物研究中心有限公司;胶原蛋白酶(10103578001)购自德国 Sigma Aldrich®公司;弹性蛋白酶(LS002292)、中性蛋白酶(LS02100)购自美国 Worthington Biochemical 公司。

**1.3 仪器** 倒置显微镜(奥林巴斯 CKX51)、iBright™ CL1500 成像系统(Thermo A44114)、PCR 仪(BIO - RAD C1000)、全切片扫描系统 Panoramic MIDI、实时定量 PCR 仪(Thermo Fisher QuantStudio 3)。

## 1.4 方法

**1.4.1 单细胞测序** 将组织样本约 10 mg 放入含有胶原蛋白酶:弹性蛋白酶:中性蛋白酶:CaCl<sub>2</sub>:DNA 酶:DPBS 为 60:100:100:5:5:730 的 1 ml 混合酶液中进行冰上解离,每 3 min 用 1 ml 移液枪将其研磨 10 次。每 2 min 摇动 3~5 次以重新悬浮。培养 45 min 后,将上清液用无菌 30 μm 滤膜过滤,用 15 ml 预冷的 PBS/BSA 0.04% 冲洗滤膜。将流出液置于 4 °C,650 g 离心 5 min 后将上清液取出,并将其与回收的细胞混合。将细胞颗粒重新悬浮在 14 ml 预冷的 PBS/BSA 0.04% 的锥形瓶中。将剩余组织重复上述步骤。将细胞重新悬浮在 250 μl 预冷的 PBS/BSA 0.04% 中。用台盼蓝血球计数仪分析细胞活率和细胞含量。

**1.4.2 小鼠矽肺模型构建** 将 18 只小鼠随机分为两组,模型组采用非暴露式气管滴注 160 mg/kg 无菌二氧化硅悬浊液(50 mg/ml),对照组给予同等体积无菌生理盐水<sup>[11]</sup>。自造模日开始计算,在 12 周结束时处死。收集小鼠肺组织用于后续实验。小鼠肺组织及人肺组织单细胞测序由杭州联川生物技术股份有限公司完成。

**1.4.3 组织病理学** 收集的小鼠肺组织用 4% 多聚甲醛固定,进行石蜡包埋并切成 5 μm 的切片。使用苏木精 - 伊红(HE)染色评估小鼠炎症状况,采用 Szapiel 标准<sup>[12]</sup>进行炎症评分。Masson 三色染色技术评价肺组织纤维化情况,采用 Image J 对胶原纤维区域进行识别,评价胶原纤维蓝色区域占全肺染色比重。采用免疫组化(Immunohistochemistry, IHC)技术评价 MMP14 蛋白在小鼠矽肺模型肺组织中的表达情况,MMP14 抗体浓度为 1:3 000,采用 Image J 对阳性面积及强度进行分析,计算阳性率。采用病理组织切片扫描系统(Panoramic MIDI, 3DHISTECH)对切片进行扫描。

**1.4.4 细胞培养及转染** 人支气管上皮细胞 16HBE

在含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中培养,当细胞密度达到约 90% 时胰酶消化,取  $4 \times 10^5$  个细胞接种于 6 孔板。12 h 贴壁后更换无血清 DMEM 培养基饥饿 6 h,将 Lipo3000 与无血清培养基 DMEM 混合并加入相应 siRNA,转染后 6 h 换液,在 24 h 时收集细胞。将细胞分为对照组 (si - NC)、敲减组 (si - MMP14)、SiO<sub>2</sub> 对照组 200 mg/ml (SiO<sub>2</sub> + si - NC) 组以及 SiO<sub>2</sub> 200 mg/ml 敲减组 (SiO<sub>2</sub> + si - MMP14)。siRNA 购自广州市锐博生物科技有限公司,100 nM 转染 (si - MMP14 - 1: 5' - GGTCTCAAATGGCAACATA - 3' ; si - MMP14 - 2: 5' - GCAAATTCGTCTTCTTCAA - 3' ; si - MMP14 - 3: 5' - GGCCTTCTGTTCTGATAA - 3' ; si - NC: 5' - ATTATCTGGCTTAAATGCCA - 3' )。

**1.4.5 细胞划痕实验** 在 16HBE 细胞转染 6 h 后,用 200  $\mu$ l 枪尖在细胞单层进行划痕。使用数码相机系统和显微镜拍摄划痕照片 ( $\times 4$  放大)。将细胞培养 12 h ~ 24 h,在相应时间拍摄照片。数据量化:细胞迁移百分比 = (T<sub>0</sub> 划痕区域 - T<sub>t</sub> 划痕区域) / T<sub>0</sub> 划痕区域。

**1.4.6 SYBR Green 染料法实时定量聚合酶链式反应 (SYBR Green Quantitative Real - time PCR, SYBR Green qPCR)** 将约 15 mg 肺组织放入组织研磨管中,加入 1 ml Trizol 进行研磨,采用 Trizol 法提取 RNA。NanoDrop 2000 分光光度计测定 RNA 浓度和纯度。取 1  $\mu$ g 总 RNA 逆转录,反应条件为 37  $^{\circ}$ C、2 min、50  $^{\circ}$ C、15 min、85  $^{\circ}$ C、5 min。对 cDNA 进行 RT - qPCR,反应条件为 95  $^{\circ}$ C、5min、95  $^{\circ}$ C、10 s、60  $^{\circ}$ C、10 s、72  $^{\circ}$ C、10 s,共 40 个循环;溶解曲线 95  $^{\circ}$ C、10 s、60  $^{\circ}$ C、60 s、95  $^{\circ}$ C、10 s。小鼠肺组织 *Mmp14*、*N - cadherin* 以  $\beta - actin$  (鼠) 为内参,16HBE 细胞 *Mmp14*、*N - cadherin* 以  $\beta - actin$  (人) 为内参,采用 2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup> 法定量分析。引物序列详见表 1,均购自上海生物工程有限公司。

**1.4.7 蛋白免疫印迹 (Western blot, WB)** 将组织或细胞样本在含有 RIPA: 磷酸酶抑制剂 I: 磷酸酶抑制剂 II: PMSF 为 97: 1: 1: 1 的蛋白裂解液中冰上裂解 30 min 以上,4  $^{\circ}$ C 条件 13 500 r/min 离心 15 min,收集上清液蛋白,进行蛋白定量与变性处理。蛋白通过十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS - PAGE) 分离,并转移到聚偏二氟乙烯膜 (PVDF) 膜上。在室温下使用快速封闭液封闭 30 min 后,加入 GAPDH (1: 10 000)、MMP14 (1: 1 000) 以及 N - cadherin (1: 1 000) 一抗在 4  $^{\circ}$ C 下孵育过夜,在室温下孵育鼠抗 (1: 20 000)、兔抗 (1: 20 000) 二抗 1 h。采用电化学发光法 (ECL) 显色,以 GAPDH 作为内参,使用 Image J 对

表 1 引物序列

Table 1 Sequences of primers used for RT - qPCR

基因名称	引物序列 (5' - 3') (上游 F, 下游 R)
$\beta - actin$ (鼠)	F: GTGACGTTGACATCCGTAAAGA R: GCCGGACTCATCGTACTCC
<i>Mmp14</i> (鼠)	F: CTCGCCCTGCTCACCCTT R: TCCCTGGAGGTAGGTAGCC
<i>N - cadherin</i> (鼠)	F: AGCCAACCTTAACCTGAGGAGT R: GGCAAGTTGATTGAGGGATG
$\beta - actin$ (人)	F: CTGGCACCACACCTTCTACAATG R: CCTCGTAGATGGGCACAGTGTG
<i>Mmp14</i> (人)	F: TAAACCCAAAAACCCACCTA R: TTGCCATCCTTCTCTCTGTAG
<i>N - cadherin</i> (人)	F: AGCCAACCTTAACCTGAGGAGT R: GGCAAGTTGATTGAGGGATG

蛋白表达强度进行分析。

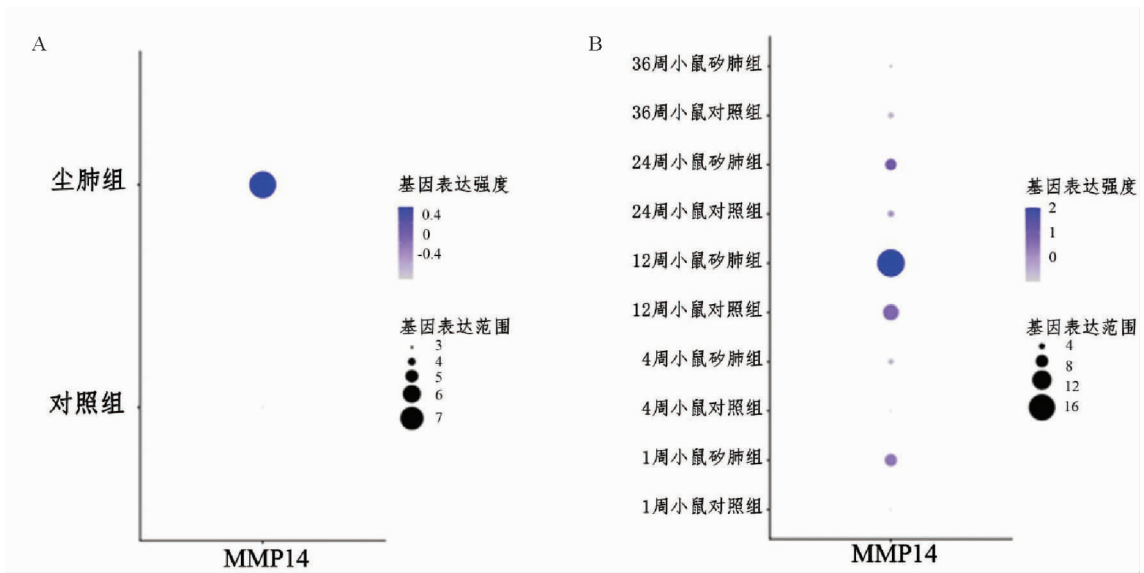
**1.4.8 统计学分析** 采用 GraphPad Prism 8.0 软件处理,变量以  $\bar{x} \pm s$  表示。样本多组间比较采用单因素方差分析,组间比较为 Dunnett - *t* 检验。两组间比较若正态分布且方差齐性,则采用 *t* 检验,若不符合标准则采用 Mann - Whitney *U* 检验。检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 MMP14 为矽肺中高表达分子** 用尘肺患者肺组织穿刺标本及 SiO<sub>2</sub> 小鼠矽肺模型肺组织样本行单细胞测序。结果显示,与对照组样本相比,MMP14 表达水平在人尘肺组织及小鼠不同时间点矽肺模型组肺组织中均表达增高 (图 1A - B)。在小鼠矽肺模型组中, SiO<sub>2</sub> 作用 12 周时 MMP14 表达增高最为显著 (图 1B)。

**2.2 小鼠矽肺模型建立** 根据单细胞测序结果,建立 12 周小鼠矽肺模型。HE 染色结果显示,模型组炎性细胞浸润、肺泡间隔显著增厚及肺组织结构破坏 (图 2A),且其炎症评分显著高于对照组 (图 2B)。Masson 染色结果显示,模型组中小鼠肺组织肌成纤维细胞数量及胶原纤维沉积均显著增多 (图 2C)。定量结果表明,模型组纤维化程度比对照组高约 9 倍 (图 2D)。

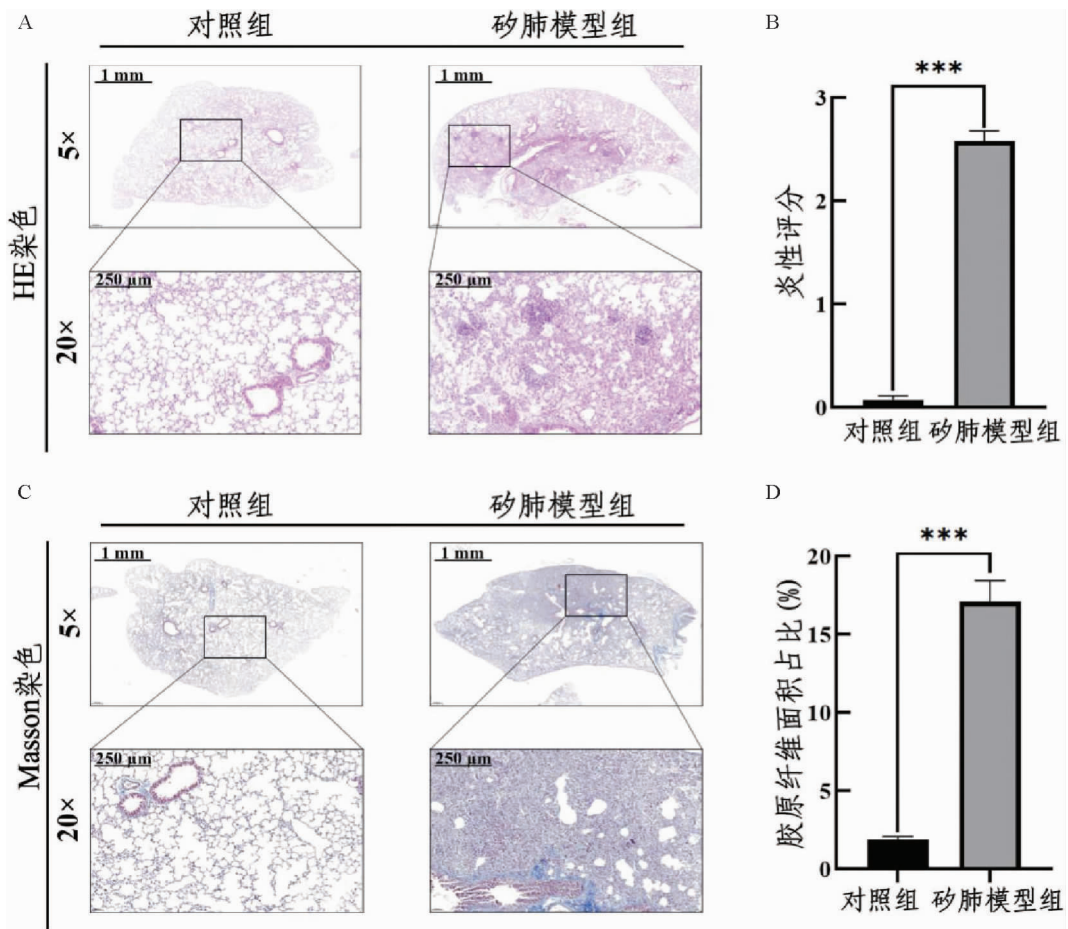
**2.3 小鼠矽肺模型中 MMP14 表达增高** 采用 12 周小鼠矽肺模型肺组织进行验证,RT - qPCR 结果显示 MMP14 mRNA 表达较对照组上调约 3.78 倍 (图 3A),且 EMT 关键分子间充质细胞标志物 N - cadherin mRNA 上调约 2.42 倍 (图 3B)。WB 结果显示,与对照组相比,模型组 MMP14 和 N - cadherin 蛋白表达水平亦显著上调 (图 3C - D)。IHC 结果显示, MMP14 在模型组纤维结节区域呈强阳性表达,阳性信号为黄棕色,定位于细胞浆 (图 3E - F)。



注:A,单细胞测序结果显示,在尘肺患者肺组织穿刺样本中 MMP14 表达增高。B,单细胞测序结果显示在小鼠矽肺模型组中 MMP14 表达增高。基因表达范围面积越大,代表相对表达范围越大。基因表达强度颜色越深,代表相对表达强度越高。

图 1 MMP14 在矽肺组织中表达增高

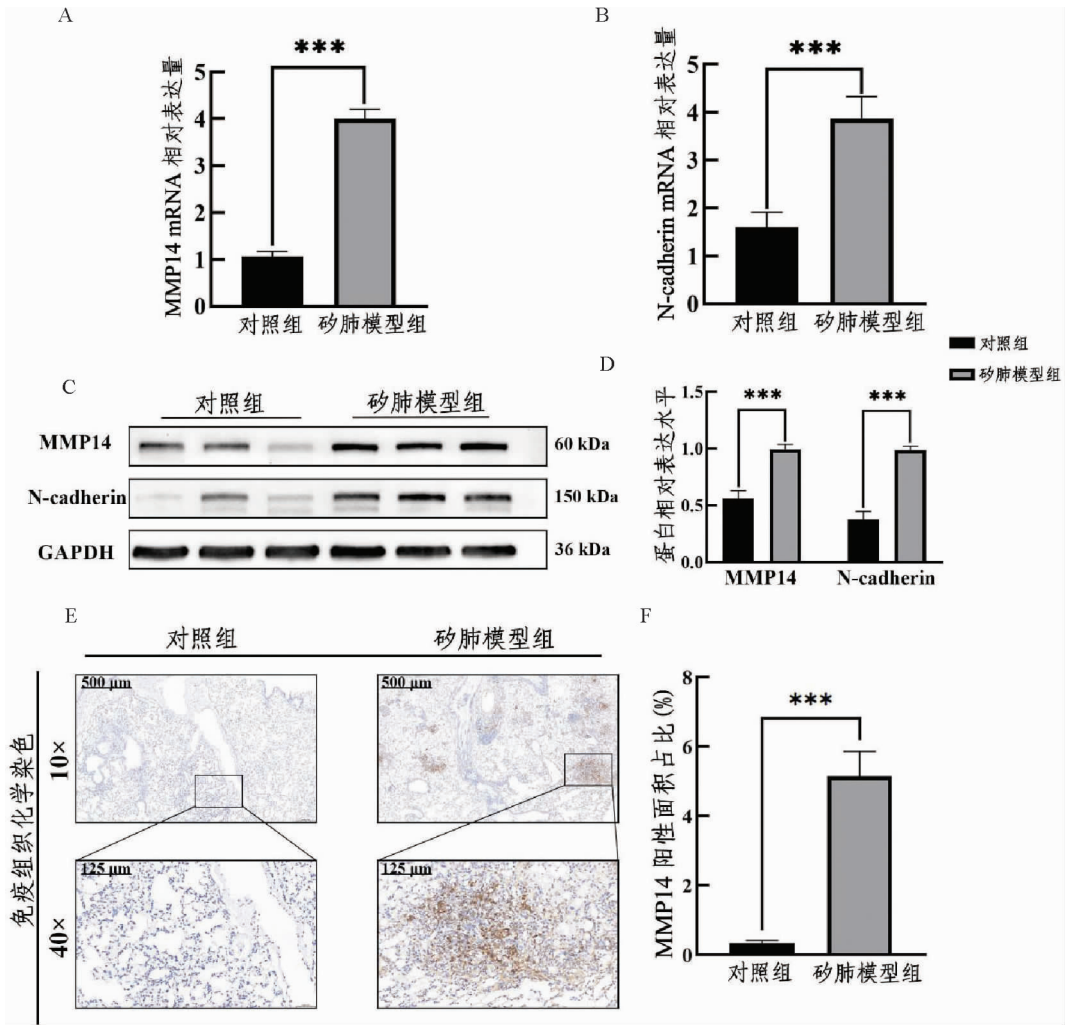
Fig. 1 Elevated MMP14 expression in silicosis



注:A,为 HE 染色(放大倍数分别为 5 × 和 20 ×),结果显示,与对照组相比,模型组出现炎性细胞浸润、肺泡正常生理结构破坏。B,为 Szapiel 炎症评分。C,为 Masson 染色(放大倍数分别为 5 × 和 20 ×),模型组可见胶原纤维沉积。D,为胶原纤维面积占比。\*\*\* 与对照组相比,  $P < 0.001$ 。

图 2 小鼠矽肺模型肺组织病理染色

Fig. 2 Histopathological staining of the silicosis mouse lungs



注:A - B,12 周小鼠矽肺模型肺组织中 MMP14、N - cadherin mRNA 表达增高。C, WB 显示, MMP14 蛋白表达在矽肺模型组显著增高。D, WB 蛋白半定量分析。E, 免疫组织化学染色显示(放大倍数为 10x 和 40x), MMP14 在小鼠矽肺模型组肺组织纤维结节区域呈阳性表达。F, MMP14 阳性表达强度和面积半定量分析。\*\*\* 与对照组相比,  $P < 0.001$ 。

图 3 MMP14 在 12 周小鼠矽肺模型肺组织中高表达  
Fig. 3 MMP14 overexpression in lung of the 12 - week mouse silicosis

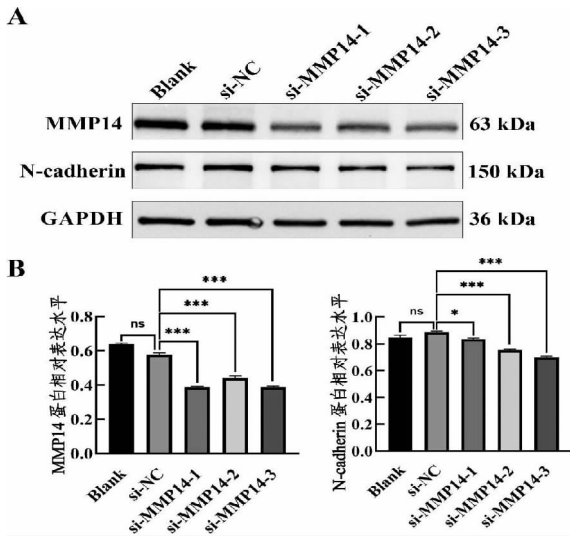
**2.4 敲低 MMP14 抑制 N - cadherin 表达** 为验证 MMP14 通过调控 N - cadherin 促进上皮细胞 EMT 发生, 本课题采用 siRNA 敲减上皮细胞 16BHE 中 MMP14, WB 结果显示 si - MMP14 可显著下调 MMP14 表达, 同时抑制 N - cadherin 蛋白表达(图 4A - B)。其中以 si - MMP14 - 3 敲减效果最为显著, 后续采用 si - MMP14 - 3(后文均简称 si - MMP14)进行实验验证。

**2.5 敲减 MMP14 抑制 SiO<sub>2</sub> 诱导的上皮细胞迁移** RT - qPCR 结果显示, 在 200 μg/ml SiO<sub>2</sub> 暴露下, 上皮细胞 16HBE 中 MMP14 表达水平上升, 转染 si - MMP14 后, 可抑制 MMP14 表达(图 5A)。采用细胞划痕实验评估 16HBE 细胞迁移能力, 结果显示, SiO<sub>2</sub> 刺激 16HBE 细胞迁移能力增强, 而采用 si - MMP14 抑制 MMP14 则可逆转该效应, 细胞迁移面积降低

约 0.56 倍。提示, 敲减 MMP14 可能通过抑制上皮细胞 EMT 过程, 减缓矽肺进展。

### 3 讨论

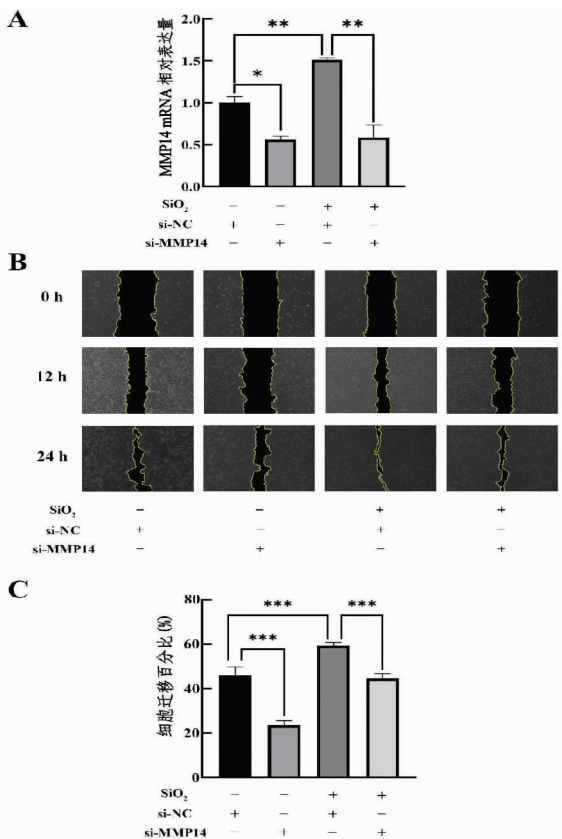
矽肺是一种在职业环境中长期吸入二氧化硅粉尘所引起的、以进行性肺功能损害为特征的职业性疾病<sup>[13]</sup>。肺纤维化是矽肺晚期的关键病理表现, 目前尚无有效疗法能够逆转。目前研究认为, 部分成纤维细胞可能起源于肺内上皮细胞的 EMT 过程, 肺成纤维细胞被促纤维化因子刺激后, 分化为肌成纤维细胞促进纤维化发展<sup>[5]</sup>。本研究成功建立 12 周小鼠矽肺模型, 发现 MMP14 在矽肺模型组中表达显著增高, 且集中定位于纤维结节区域, 提示 MMP14 在矽肺纤维化发生中发挥重要调控作用。



注：A, WB 图示 si - MMP14 可同时抑制 MMP14 和 N - cadherin 蛋白表达。B, 为 WB 蛋白半定量分析。\* 与 si - NC 组相比,  $P < 0.05$ ; \*\*\* 与 si - NC 组相比,  $P < 0.001$ 。

图 4 MMP14 促进 N - cadherin 表达

Fig. 4 MMP14 enhances the expression of N - cadherin



注：A, 在上皮细胞 16HBE 中, si - MMP14 可显著抑制 SiO<sub>2</sub> 诱导的 MMP14 表达。B, 细胞划痕实验显示, 敲低 MMP14 可抑制 SiO<sub>2</sub> 诱导的 16HBE 细胞迁移。C, 上皮细胞迁移面积量化结果。\* 两组相比,  $P < 0.05$ ; \*\* 两组相比,  $P < 0.01$ ; \*\*\* 两组相比,  $P < 0.001$ 。

图 5 敲减 MMP14 抑制 SiO<sub>2</sub> 诱导的上皮细胞迁移

Fig. 5 Knockdown of MMP14 in 16HBE inhibits SiO<sub>2</sub> - induced cell migration

MMP14 可通过多种机制调控纤维化发生。在心脏特异性过表达 CD147 的转基因小鼠中, MMP2 和 MMP14 的表达增高促进心脏纤维化和病理性左室重构发生<sup>[14]</sup>。在以慢性炎症和纤维化为主要特征的 Duchenne 型肌营养不良疾病中, MMP14 敲低可减少成纤维细胞的胶原分泌, 缓解纤维化进程<sup>[15]</sup>。MMP14 在皮肤纤维化发生中也发挥重要作用<sup>[16]</sup>。在纤维化超敏反应性肺炎中, 高表达 MMP14 的巨噬细胞亚群具有 M2 型表型特征, 将过表达 MMP14 的巨噬细胞转移到小鼠体内可加重肺部炎症和纤维化程度, 且过表达 MMP14 的巨噬细胞源外泌体能促进成纤维细胞向肌成纤维细胞转化<sup>[17]</sup>。在小鼠矽肺模型中, 肝素结合性表皮生长因子 (Heparin - Binding EGF - Like Growth Factor, HBEGF) - CD44 轴和集落刺激因子 1 及其受体 CSF1 - CSF1R 轴可促进高表达趋化因子配体 10 (C - X - C motif chemokine ligand 10, Cxcl10<sup>+</sup>) / MMP14<sup>+</sup> 的单核细胞与趋化因子配体 3<sup>+</sup> (chemokine (C - C motif) ligand 3, Ccl3<sup>+</sup>) 中性粒细胞的募集和活化, 进而导致肺纤维化发生<sup>[18]</sup>。

肺泡上皮细胞在维持肺泡稳态中发挥关键作用, 包括产生肺表面活性物质和自我更新, 当其发生功能障碍时可导致异常的细胞信号传导、ECM 异常沉积且发生 EMT 获得间质细胞表型, 从而促进纤维化过程<sup>[19]</sup>。当上皮细胞发生 EMT 时, 侵袭能力增强, 间质细胞标记物表达增加, 上皮细胞标记物表达和细胞黏附能力减弱<sup>[20]</sup>。在 SiO<sub>2</sub> 诱导人支气管上皮细胞 16HBE 使 NLRP3 炎症小体活化促进 IL - 1 $\beta$  分泌, 激活转化生长因子激酶 -  $\beta$  激活激酶 1 (Transforming growth factor -  $\beta$  - activated kinase 1, TAK1) 和丝裂原活化蛋白激酶 (Mitogen - activated protein kinase, MAPK), 促进 EMT 信号分子 Snail 表达, 诱导矽肺肺纤维化形成<sup>[21]</sup>。在小鼠矽肺模型及 SiO<sub>2</sub> 刺激的小鼠 II 型肺泡上皮细胞 MLE 12 中, 采用天然多肽化合物 Ac - SDKP 进行分子干预, 可抑制胶原蛋白 Collagen I、Collagen III 以及波形蛋白 Vimentin 表达, 并促进 E - cadherin 表达, 抑制上皮细胞 EMT, 减缓肺纤维化发生<sup>[10]</sup>。上述研究表明上皮细胞 EMT, 促进矽肺肺纤维化发生, 我们聚焦于 MMP14, 研究其对上皮细胞 EMT 的调控。在上皮细胞中敲低 MMP14, N - cadherin 表达降低, 且抑制上皮细胞迁移, 提示 MMP14 可能通过调控 N - cadherin, 促进上皮细胞发生 EMT, 影响矽肺纤维化发生。

MMP14 参与调控 EMT 的发生, 例如在膀胱尿路上皮细胞癌中, 活化诱导性胞嘧啶核苷脱氨酶 (Activation - induced cytidine deaminase, AID) 通过 DNA 去甲基化修饰促进 MMP14 表达, 同时影响 E -

cadherin 和 N-cadherin 表达,促进 EMT 进程<sup>[22]</sup>。在肾细胞癌中,环状 RNA circPTCH1 作为 miR-489-5p 的海绵,解除 miR-489-5p 对 MMP14 的转录后抑制作用,促进 MMP14 表达,使 EMT 信号分子 E-cadherin 下调、N-cadherin 及 Vimentin 上调,促进肾癌细胞 A498 和 OS-RC-2 的迁移和侵袭<sup>[23]</sup>。在博来霉素诱导的小鼠和 A549 细胞模型中,内质网蛋白 Nogo-B 通过增强 MMP14 的表达促进 TGF- $\beta$ 1 的活化,使 EMT 标志物 Vimentin、 $\alpha$ -SMA 表达上调和 E-cadherin 的表达下调,促进肺纤维化发生<sup>[24]</sup>。

综上所述,本研究发现 MMP14 在小鼠矽肺模型中显著高表达,并通过体外实验证实了 MMP14 通过调控 N-cadherin 促进上皮细胞迁移。这些结果与上述相关研究报道共同表明,MMP14 可能通过促进上皮细胞 EMT,在矽肺发生和发展中起重要调控作用,为矽肺机制研究及治疗提供了新视角和潜在靶点。

**利益冲突声明** 本研究不存在任何利益冲突

#### 参考文献

- [1] 毛翎,彭莉君,王焕强,等. 尘肺病治疗中国专家共识(2024 年版)[J]. 环境与职业医学,2024,41(1):1-21.  
Mao L, Peng LJ, Wang HQ, et al. Consensus of Chinese experts on pneumoconiosis treatment (2024)[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2024, 41(1): 1-21. (In Chinese)
- [2] Li T, Yang XY, Xu DJ, et al. OC-STAMP overexpression drives lung alveolar epithelial cell type II senescence in silicosis[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2021, 2021(1): 4158495.
- [3] Zhou H, Zhang Q, Huang W, et al. NLRP3 inflammasome mediates silica-induced lung epithelial injury and aberrant regeneration in lung stem/progenitor cell-derived organotypic models[J]. International Journal of Biological Sciences, 2023, 19(6): 1875-1893.
- [4] Chen KQ, Xu MM, Lu F, et al. Development of matrix Metalloproteinases-Mediated extracellular matrix remodeling in regenerative medicine: a mini review[J]. Tissue Engineering and Regenerative Medicine, 2023, 20(5): 661-670.
- [5] Alabi A, Xia XD, Gu HM, et al. Membrane type 1 matrix metalloproteinase promotes LDL receptor shedding and accelerates the development of atherosclerosis[J]. Nature Communication, 2021, 12(1): 1889.
- [6] Hey S, Linder S. Matrix metalloproteinases at a glance[J]. Journal of Cell Science, 2024, 137(2): jcs261898.
- [7] Tian Y, Xia J, Yang G, et al. A2aR inhibits fibrosis and the EMT process in silicosis by regulating Wnt/ $\beta$ -catenin pathway[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2023, 249: 114410.
- [8] Wang T, Ou L, Li XT, et al. Inhibition of galectin-3 attenuates silica particles-induced silicosis via regulating the GSK-3 $\beta$ / $\beta$ -catenin signal pathway-mediated epithelial-mesenchymal transition[J]. Chemico-Biological Interactions, 2022, 368: 110218.
- [9] Yang G, Tian YY, Li C, et al. LncRNA UCA1 regulates silicosis-related lung epithelial cell-to-mesenchymal transition through competitive adsorption of miR-204-5p[J]. Toxicology and

Applied Pharmacology, 2022, 441: 115977.

- [10] Li SM, Li YQ, Zhang Y, et al. N-Acetyl-Seryl-Asparyl-Lysyl-Proline regulates lung renin-angiotensin system to inhibit epithelial-mesenchymal transition in silicotic mice[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2020, 408: 115255.
- [11] 王梦祝,赵曼羽,陈晴,等. 颗粒蛋白前体在矽肺模型中的表达及其对肺成纤维细胞增殖与分化的影响[J]. 现代预防医学, 2021, 48(24): 4491-4496.  
Wang MZ, Zhao MY, Chen Q, et al. Expression of progranulin in silicosis model and its effect on proliferation and differentiation of lung fibroblasts[J]. Modern Preventive Medicine, 2021, 48(24): 4491-4496. (In Chinese)
- [12] Hogarth MW, Uapinyoying P, Múzala DAG, et al. Pathogenic role and therapeutic potential of fibro-adipogenic progenitors in muscle disease[J]. Trends in Molecular Medicine, 2022, 28(1): 8-11.
- [13] Zhao MY, Wang LQ, Wang MZ, et al. Alveolar macrophage-derived progranulin mediated pro-inflammatory IL-6 expression via regulating Creb1 in silicosis model[J]. International Immunopharmacology, 2022, 107: 108705.
- [14] Zavadzkas JA, Plyler RA, Bouges S, et al. Cardiac-restricted overexpression of extracellular matrix metalloproteinase inducer causes myocardial remodeling and dysfunction in aging mice[J]. American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology, 2008, 295(4): H1394-H1402.
- [15] Pach E, Brinckmann J, Rübsem M, et al. Fibroblast MMP14-Dependent collagen processing is necessary for melanoma growth[J]. Cancers, 2021, 13(8): 1984.
- [16] Zigrino P, Brinckmann J, Niehoff A, et al. Fibroblast-derived MMP-14 regulates collagen homeostasis in adult skin[J]. Journal of Investigative Dermatology, 2016, 136(8): 1575-1583.
- [17] Peng D, Li J, Li Y, et al. MMP14high macrophages orchestrate progressive pulmonary fibrosis in SR-Ag-induced hypersensitivity pneumonitis[J]. Pharmacological Research, 2024, 200: 107070.
- [18] Cheng DM, Lian WX, Wang T, et al. The interplay of Cxcl10+/Mmp14+ monocytes and Ccl3+ neutrophils proactively mediates silica-induced pulmonary fibrosis[J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 467: 133713.
- [19] Zhang Y, Wang J. Cellular and molecular mechanisms in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Advances in Respiratory Medicine, 2023, 91(1): 26-48.
- [20] Yan L, Xu F, Dai C liu. Relationship between epithelial-to-mesenchymal transition and the inflammatory microenvironment of hepatocellular carcinoma[J]. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 2018, 37(1): 203.
- [21] Li X, Yan XP, Wang YL, et al. NLRP3 inflammasome inhibition attenuates silica-induced epithelial to mesenchymal transition (EMT) in human bronchial epithelial cells[J]. Experimental Cell Research, 2018, 362(2): 489-497.
- [22] Li HY, Li Q, Ma Z, et al. AID modulates carcinogenesis network via DNA demethylation in bladder urothelial cell carcinoma[J]. Cell Death & Disease, 2019, 10(4): 251.
- [23] Liu H, Hu G, Wang Z, et al. circPTCH1 promotes invasion and metastasis in renal cell carcinoma via regulating miR-485-5p/MMP14 axis[J]. Theranostics, 2020, 10(23): 10791-10807.
- [24] Xiong Y, Zhang J, Shi L, et al. NOGO-B promotes EMT in lung fibrosis via MMP14 mediates free TGF- $\beta$  formation[J]. Oncotarget, 2017, 8(41): 71024-71037.

收稿日期:2024-09-10