

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.07.031

肺纤维化患者血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 表达及其临床意义 *

胡学进 陈 进 丁 飞 刘碧翠 冉雪梅[△]

(重庆医科大学附属璧山医院呼吸与危重症医学科 重庆 402760)

摘要 目的:探讨肺纤维化患者血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 表达及其临床意义。**方法:**收集 2019 年 4 月 -2021 年 2 月我院就诊的肺纤维化患者 43 例作为研究组,同时收集 50 例健康体检患者作为对照组。采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测各组血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 表达水平。采用 Pearson 相关分析研究组患者血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 的表达水平与炎症指标、肺功能的相关性。应用 ROC 曲线分析血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 表达水平对肺纤维化患者的预测诊断价值。**结果:**研究组患者肺功能指标一秒用力呼气容积/用力肺活量(FEV₁/FVC)、一氧化碳弥散量占预计值的百分比(DLco%pred)、动脉血氧分压(PaO₂)均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。研究组患者血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 相对表达水平均显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。研究组患者血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 的表达水平与 FEV₁/FVC、DLco%pred、PaO₂ 均呈正相关($P<0.05$)。血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 及两者联合对肺纤维化患者诊断效能的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.743 (95%CI:0.574-0.914),0.761 (95%CI:0.597-0.926),0.848 (95%CI:0.699-0.997)。血清 MicroRNA let-7 和 MicroRNA-29 联合应用对肺纤维化的诊断价值优于两者单一应用。**结论:**肺纤维化患者血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 表达水平比正常人显著降低,且与肺功能指标呈正相关性,两者联合应用可提高预测诊断价值,可作为预测肺纤维化患者及其病情评估的生物学指标。

关键词:肺纤维化;MicroRNA let-7;MicroRNA-29;肺功能;诊断价值

中图分类号:R563 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2022)07-1343-05

Expression and Clinical Significance of Serum MicroRNA let-7 and MicroRNA-29 in Patients with Pulmonary Fibrosis*

HU Xue-jin, CHEN Jin, DING Fei, LIU Bi-cui, RAN Xue-mei[△]

(Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Bishan Hospital Affiliated to Chongqing Medical University, Chongqing, 402760, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression and clinical significance of serum MicroRNA let-7 and MicroRNA-29 in patients with pulmonary fibrosis. **Methods:** 43 patients with pulmonary fibrosis treated in our hospital from April 2019 to February 2021 were collected as the study group, and 50 healthy patients were collected as the control group. The expression levels of serum MicroRNA let-7 and MicroRNA-29 were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR). Pearson correlation analysis was used to study the correlation between the expression levels of serum MicroRNA let-7 and MicroRNA-29 and inflammatory indexes and pulmonary function. ROC curve was used to analyze the predictive diagnostic value of serum MicroRNA let-7 and MicroRNA-29 expression levels in patients with pulmonary fibrosis. **Results:** The lung function indexes FEV₁/FVC, DLco%pred and PaO₂ of the study group were lower than those of the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The relative expression levels of serum MicroRNA let-7 and MicroRNA-29 in the study group were significantly lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The expression levels of serum MicroRNA let-7 and MicroRNA-29 in the study group were positively correlated with FEV₁/FVC, DLco%pred, and PaO₂ ($P<0.05$). The area under the ROC curve (AUC) of serum MicroRNA let-7, MicroRNA-29 and the combination of the two in the diagnosis of pulmonary fibrosis patients were 0.743 (95%CI: 0.574-0.914) and 0.761 (95%CI: 0.597-0.926), 0.848 (95%CI: 0.699-0.997). The combined application of serum MicroRNA let-7 and MicroRNA-29 has better diagnostic value for pulmonary fibrosis than a single application of the two. **Conclusion:** The expression levels of serum MicroRNA let-7 and MicroRNA-29 in patients with pulmonary fibrosis were significantly lower than those in normal subjects, and were positively correlated with lung function indexes. The combined application of the two can improve the predictive diagnostic value and can be used as biological indexes for predicting patients with pulmonary fibrosis and evaluating their condition.

Key words: Pulmonary fibrosis; MicroRNA let-7; MicroRNA-29; Pulmonary function; Diagnostic value

* 基金项目:重庆市璧山区科研项目(bskj20200);重庆市卫生局医学科研计划重点项目(2011-1-050)

作者简介:胡学进(1985-),男,本科,主治医师,研究方向:肺部疾病,E-mail: hxj18623121189@163.com

[△] 通讯作者:冉雪梅(1986-),女,硕士,主治医师,研究方向:呼吸与肺疾病,E-mail: 532204515@qq.com

(收稿日期:2021-09-05 接受日期:2021-09-28)

Chinese Library Classification(CLC): R563 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2022)07-1343-05

前言

肺纤维化是一种由于肺间质细胞外基质沉积过多和结构改变而导致肺瘢痕化的病理状态,许多因长期接触有毒物质、慢性感染或自身免疫反应而引起的肺间质性疾病患者也会发生肺纤维化^[1-3]。肺纤维化病因尚不清楚,严重的肺纤维化患者,其中位生存期为2-3年^[4,5]。该病发病较隐匿,有症状的患者多已存在多年的病史,且此时多已存在肺功能下降,高分辨率胸部CT显示为双肺胸膜下多发网格状改变,伴蜂窝肺或牵拉性支气管扩张^[6]。尽管引发和维持肺纤维化反应的因素仍然不清楚,且没有有效的治疗方法来阻止肺纤维化的进展。虽然肺纤维化的病因和触发因素可能不同,但一些特征和机制对所有肺纤维化患者都是常见的,如肌成纤维细胞的激活和过量的肺间质细胞外基质产生。因此,寻找早期肺纤维化的诊断指标并积极寻找病因预防或治疗本病尤为重要。微小核糖核酸(MicroRNA)在血循环中表达稳定,且与机体的生理、病理状态紧密相关,有望作为疾病的诊断标志物。有研究显示 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 在多器官纤维化中发挥重要和共同的作用^[7-9],但血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 与炎症指标、肺功能的相关性及作为肺纤维化诊断价值的临床价值有待进一步研究和论证。因此,本研究旨在探讨肺纤维化患者血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 表达情况及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2019年4月-2021年2月我院就诊的肺纤维化患者43例作为研究组。纳入标准:(1)患者符合《特发性肺纤维化急性加重诊断和治疗中国专家共识》的诊断标准^[10];(2)胸部高分辨率CT表现为典型的肺纤维化患者;(3)胸部高分辨率CT表现不典型,但外科肺活检明确诊断的患者。排除标准:(1)合并慢性支气管炎、尘肺、结核、慢性阻塞性肺疾病、支气管哮喘、肺部炎症等其他呼吸道疾病患者;(2)近期有外伤、手术者;(3)合并肺癌、食管癌、乳腺癌等恶性肿瘤性病变或伴有炎症心、肝、肾、脑血管疾病者;(4)妊娠期或精神系统疾病者;(5)近期有使用糖皮质激素、免疫抑制剂等药物治疗者。其中男性26例,女性17例,年龄54-82岁,平均(67.61±7.52)岁。同时收集50例健康体检者作为对照组,其中男性34例,女性16例,年龄50-85岁,平均(66.61±7.52)岁。所有患者或其家属均知情本研究且签署知情同意书,且本次研究经本院伦理委员会批准开展实施。

1.2 血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 检测

(1)所有纳入研究患者均抽取肘静脉血各3 mL,置于未加入抗凝剂的肝素离心管中,在4℃、离心半径15 cm、3000 r/min条件下,离心15 min,离心后吸取上层血清并在-80℃低温条件下保存以备检测。采用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 表达水平。(2)血清 MicroRNA let-7 正向引物为 5'-GCCGCTGAGGTAGTAGGTTGTA-3',反

向引物为 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'。血清 MicroRNA-29 正向引物为 5'-CTGGAGTAGCACCATTGAAAT-3',反向引物为 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'。以 U6 作为内参,U6 正向引物为 5'-CTGCTTCGGCAGCAC-3',反向引物为 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。(3)按照 RNA 试剂盒(上海一基实业有限公司)说明书方法提取血清总 RNA,并用核酸蛋白测定仪测量总 RNA 浓度,采用反转录试剂盒(北京生东科技有限公司)将纯化的 RNA 逆转录合成 cDNA,以 cDNA 作为模板进行 qRT-PCR。qRT-PCR 反应条件:50℃、2 min,95℃、10 min,(95℃、15s,60℃、30s)40 个循环。反应结束后采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算各样本血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 相对表达水平。

1.3 统计学方法

使用 SPSS23.0 进行研究资料分析。观测资料中的计量数据,正态资料以($\bar{x}\pm s$)描述。两组间的比较为成组 t 检验或校正 t 检验(统计量为 t)。偏态资料以中位数 M(P25,P75)描述,两组间比较为 Wilcoxon 秩和检验(统计量为 U_c)。此外,相关分析为 Pearson 相关检验。血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 对肺纤维化患者的预测价值分析为接收者工作特征曲线(ROC)分析,两血清指标单独应用时以研究组为阳性样本,以对照组为阴性样本,建立 ROC 诊断分析模型,并采用组段建模模式:两指标按两组样本总水平数值范围划分为若干个组段,建立 ROC 曲线(折线)。再以软件拟合之 ROC 曲线读取约登指数最大值点,对应计算理论阈值和敏感度、特异度。两血清指标联合应用时采用 SPSS 软件的联合应用 ROC 理论模式(LogP 模式:对各单独应用指标进行综合回归,建立 Logistic 预测/诊断评估模型,再依据所得回归系数 B,归一化加权计算并对应处理各样本资料,并据其进行联合应用的 ROC 分析)。统计推断的检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 两组临床资料对比

研究组患者肺功能指标一秒用力呼气容积/用力肺活量(FEV1/FVC)、一氧化碳弥散量占预计值的百分比(DLco%pred)、动脉血氧分压(PaO₂)均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);研究组和对照组的一般临床资料(性别、年龄、吸烟史)和炎症指标[白细胞计数(WBC)、中性粒细胞百分比、C-反应蛋白(CRP)、白细胞介素-6(IL-6)]差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

2.2 两组血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 相对表达水平比较

研究组患者血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 相对表达水平均显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 研究组患者血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 的表达水平与炎症指标、肺功能的相关性分析

研究组患者血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 的表达水平与 FEV1/FVC、DLco%pred、PaO₂ 均呈正相关($P<0.05$),

而研究组血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 的表达水平与 (0.05)。见表 3。
WBC、中性粒细胞百分比、CPR、IL-6 均无显著相关性 ($P>$

表 1 对照组和研究组临床资料对比

Table 1 Comparison of clinical data between control group and study group

Indexes	Study group(n=43)	Control group(n=50)	$\chi^2(t)/[Uc]$	P
Gender (male/female)	26/17	34/16	0.573	0.449
Age (years)	67.61±7.52	66.61±7.52	(0.639)	0.524
Smoking history[n(%)]	19(44.19)	22(44.00)	0.000	0.986
WBC($\times 10^9/L$)	10.51±2.40	9.78±2.63	(1.389)	0.168
Neutrophil percentage(NEU%)	62.34±7.68	59.64±8.14	(1.637)	0.105
CPR(mg/L)	16.49(9.93,32.40)	12.07(8.76,35.87)	[1.382]	0.167
IL-6(pg/mL)	103.54±22.73	110.34±17.92	(1.612)	0.110
FEV ₁ /FVC(%)	68.34±4.67	89.37±4.16	(22.966)	0.000
DLco%pred(%)	43.67±5.30	88.67±5.06	(41.833)	0.000
PaO ₂ (mm Hg)	66.37±5.91	89.61±4.61	(21.283)	0.000

表 2 对照组和研究组血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 相对表达水平比较($\bar{x}\pm s$)Table 2 Comparison of relative expression levels of serum MicroRNA let-7 and MicroRNA-29 between control group and Study Group($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	MicroRNA let-7	MicroRNA-29
Control group	50	5.72±0.84	5.06±0.76
Study group	43	1.28±0.31	1.08±0.35
t		34.727	33.166
P		0.000	0.000

表 3 研究组患者血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 的表达水平与炎症指标、肺功能的相关性分析

Table 3 Correlation Analysis between the expression levels of serum MicroRNA let-7 and MicroRNA-29 and inflammatory indexes and lung function in the study group

Indexes	MicroRNA let-7		MicroRNA-29	
	r	P	r	P
WBC	0.237	0.062	0.106	0.523
Neutrophil percentage	0.214	0.071	0.118	0.113
CPR	0.196	0.090	0.206	0.062
IL-6	0.295	0.142	0.241	0.064
FEV ₁ /FVC	0.388	0.010	0.517	0.000
DLco%pred	0.605	0.000	0.539	0.000
PaO ₂	0.474	0.001	0.573	0.000

2.4 血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 对肺纤维化患者的预测价值

经 ROC 分析知,血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 对肺纤维化患者具有较高的诊断价值,ROC 曲线下面积(AUC) (0.95CI) 分别为 0.743 (95%CI:0.574-0.914),0.761 (95%CI:0.597-0.926)。血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 联合应用对肺纤维化患者的诊断价值的 AUC (0.95CI) 为 0.848 (95%CI:0.699-0.997),提示其诊断效能均比单一指标均有明显提高。见表 4 和图 1。

3 讨论

肺纤维化是一种肺间质性疾病,而胶原和其他细胞外基质相关蛋白,包括纤连蛋白和弹性蛋白,是肺间质的主要成分,肺中胶原蛋白的产生和降解维持着正常的肺结构和功能^[11-13]。各种损伤引起的肺上皮细胞损伤被认为是肺纤维化发病的第一步,随后基底膜的完整性被破坏,上皮-间充质细胞缺失,炎症细胞和成纤维细胞浸润,肌成纤维细胞分化和增殖,以及细胞外基质的过量产生和沉积并瘢痕形成,在某些情况下,如特发

表 4 血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 对肺纤维化患者的预测价值之 ROC 分析结果

Table 4 ROC analysis results of predictive value of serum microRNA let-7 and microrna-29 in patients with pulmonary fibrosis

Indexes	AUC(0.95CI)	Threshold	Sensitivity	Specificity	Youden index
MicroRNA let-7	0.743(95%CI:0.574-0.914)	3.5	0.762	0.723	0.485
MicroRNA-29	0.761(95%CI:0.597-0.926)	3.0	0.757	0.781	0.538
Combined application	0.848(95%CI:0.699-0.997)	-	0.852	0.840	0.692

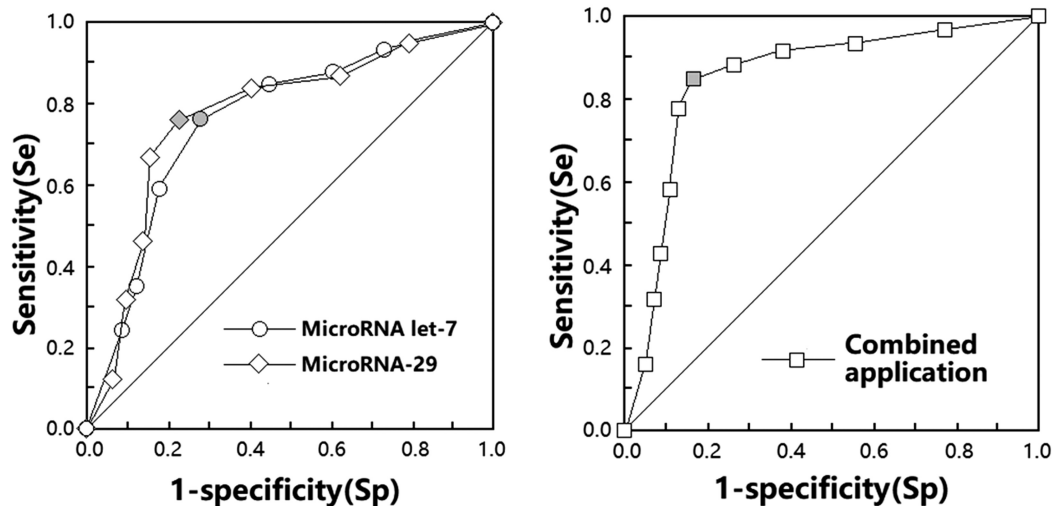


图 1 血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 诊断肺纤维化的 ROC 曲线

Fig.1 ROC curve of serum MicroRNA let-7 and MicroRNA-29 in the diagnosis of pulmonary fibrosis

性肺纤维化,会成为一个渐进性的、无法阻止的过程,最终导致肺部严重瘢痕和呼吸衰竭^[14-16]。

MicroRNA let-7 最早在秀丽隐杆线虫的 X 染色体上发现,目前表明在人类的 2、3、5、9、18、X 等多条染色体上均存在,其在多种细胞中广泛存在,且在肺组织中广泛分布,参与了各器官的功能调节^[17,18]。外泌体从经血干细胞分泌,并可将 MicroRNA let-7 转运至受体肺泡上皮细胞,作用机制上, MicroRNA let-7 通过与凝集素样氧化低密度脂蛋白受体-1 的 3'-UTR 区结合,调控其表达,与肺纤维化有着密切关系^[19]。Yang G 等人的研究显示,特发性肺纤维化患者血清中发现 47 种 miRNA 有不同程度的表达,包括 21 个上调的 miRNA 和 26 个下调的 miRNA,其中 MicroRNA let-7a 和 MicroRNA let-7d 明显下调^[20]。MicroRNA-29 家族有 3 个成员,分别为 MicroRNA-29a、MicroRNA-29b 和 MicroRNA-29c,它们由 2 个等位基因编码而来,其中包含一个二顺子转录单位,它们可能以同一组基因为靶点,因为它们成熟的 miRNA 序列保存良好,种子序列相同;然而,这些家族成员在稳定性和细胞分布方面存在差异,表明它们的表达、调节和功能不同^[21]。MicroRNA-29 在肺纤维化形成中有一个共同或相似的调控机制,在成纤维细胞或肌成纤维细胞中的表达被炎症细胞因子或促纤维化因子抑制,而炎症细胞因子或促纤维化因子在初始损伤和损伤后显著增加^[22,23]。大量基础研究显示,肺纤维化模型中 MicroRNA-29 的表达减少, MicroRNA-29 表达恢复可抑制纤维化的发生和发展,表明 MicroRNA-29 具有抗纤维化的作用^[24-26]。本研究显示肺纤维化患者肺功能指标 FEV1/FVC(%)、DLco%pred、PaO₂ 均低于对照组,血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 表达水平均显

著低于对照组,且研究组患者血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 与肺功能指标呈正相关,血清 MicroRNA let-7 和 MicroRNA-29 联合预测肺纤维化患者的诊断效能 ROC 曲线下面积均优于单一诊断效能。提示肺纤维化患者因肺部损伤,肺功能已存在不同程度的降低,此时血清 miRNA 表达水平也会出现变化,因此在肺纤维化早期,血清 miRNA 可能与健康人即存在一定差异,可作为预测肺纤维化患者及其病情评估的生物学指标。

因为肺纤维化患者抗炎治疗缺乏反应,因此炎症在肺纤维化发病机制中的重要性一直存在争议。本研究显示,肺纤维化患者血清和健康人血清炎症指标(WBC、中性粒细胞百分比、CPR、IL-6)相比无明显差别,且与血清 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 的表达水平无相关性,提示肺纤维化患者可能与炎症的发生、发展无相关性。然而,大量的研究表明,肺纤维化的生长因子和细胞因子(如转化生长因子 β 、肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素-1 β 、白细胞介素 4、干扰素 γ 和血小板源生长因子等)在纤维化的发病机制中发挥重要作用^[27-29];此外,这些细胞因子和生长因子在调控上皮-间充质细胞和肌成纤维细胞的分化、增殖、迁移和细胞外基质的产生中发挥了关键作用;而且它们在支气管肺泡灌洗液、肺泡巨噬细胞或人特发性肺纤维化肺组织中均显著升高^[30,31]。分析原因可能为本研究纳入研究对象相对较少,可能存在一定偏倚;此外 MicroRNA let-7、MicroRNA-29 均由多个家族成员组成,而各个家族成员的表达水平存在差异,在生物体的不同发育阶段、同一发育阶段不同组织和细胞中表达不同,且与是否处于肺纤维化的急性发病期相关,使得检测结果可能存在一定差异。

综上所述,肺纤维化患者血清 MicroRNA let-7、MicroR-

NA-29 表达水平比正常人显著降低,且与肺功能指标呈正相关性,可作为预测肺纤维化患者及其病情评估的生物学指标。

参考文献(References)

- [1] Amari DE, Dodia N, Deepak J, et al. Combined Pulmonary Fibrosis and Emphysema: Pulmonary Function Testing and a Pathophysiology Perspective[J]. *Medicina (Kaunas)*, 2019, 55(9): 580
- [2] Meyer KC. Pulmonary fibrosis, part I: epidemiology, pathogenesis, and diagnosis[J]. *Expert Rev Respir Med*, 2017, 11(5): 343-359
- [3] Wakwaya Y, Brown KK. Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Epidemiology, Diagnosis and Outcomes[J]. *Am J Med Sci*, 2019, 357(5): 359-369
- [4] 刘波.长期抗反流治疗可改善特发性肺纤维化患者的生存期[D]. 山东:山东大学, 2017
- [5] 李思佳,李文新.程序性坏死参与特发性肺纤维化的研究进展[J]. *医学研究生学报*, 2020, 33(11): 1218-1222
- [6] 石涵宇,魏路清.CT 定量分析在肺纤维化中的研究进展[J]. *中华放射学杂志*, 2020, 54(7): 719-722
- [7] Gilles ME, Slack FJ. Let-7 microRNA as a potential therapeutic target with implications for immunotherapy [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2018, 22(11): 929-939
- [8] Deng Z, He Y, Yang X, et al. MicroRNA-29: A Crucial Player in Fibrotic Disease[J]. *Mol Diagn Ther*, 2017, 21(3): 285-294
- [9] Sun L, Zhu M, Feng W, et al. Exosomal miRNA Let-7 from Menstrual Blood-Derived Endometrial Stem Cells Alleviates Pulmonary Fibrosis through Regulating Mitochondrial DNA Damage [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 4506303
- [10] 中华医学会呼吸病学分会间质性肺病学组, 中国医师协会呼吸医师分会间质性肺疾病工作委员会. 特发性肺纤维化急性加重诊断和治疗中国专家共识[J]. *中华医学杂志*, 2019, 99(26): 2014-2023
- [11] Snijder J, Peraza J, Padilla M, et al. Pulmonary fibrosis: a disease of alveolar collapse and collagen deposition[J]. *Expert Rev Respir Med*, 2019, 13(7): 615-619
- [12] Bernard K. Collagen Biosynthesis in Pulmonary Fibrosis: Unraveling the Metabolic Web[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2018, 58(5): 545-546
- [13] 李洪,王昌明.肺纤维化发病机制的研究进展[J]. *广西医学*, 2018, 40(19): 2325-2327, 2331
- [14] Lederer DJ, Martinez FJ. Idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(19): 1811-1823
- [15] Raghu G, Remy-Jardin M, Myers JL, et al. Diagnosis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, 198(5): e44-e68
- [16] Xu X, Dai H, Wang C. Epithelium-dependent profibrotic milieu in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis: current status and future directions[J]. *Clin Respir J*, 2016, 10(2): 133-141
- [17] 柳兆飞,李殿明. MicroRNA let-7 表达调控机制[J]. *国际呼吸杂志*, 2016, 36(1): 38-42
- [18] Elliot S, Piera-Simon S, Xia X, et al. MicroRNA let-7 Downregulates Ligand-Independent Estrogen Receptor-mediated Male-Predominant Pulmonary Fibrosis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 200(10): 1246-1257
- [19] 罗妍妍,吴升华,陈筱青. Let-7 家族与肺部疾病研究进展[J]. *中国全科医学*, 2016, 19(17): 1998-2001
- [20] Yang G, Yang L, Wang W, et al. Discovery and validation of extracellular/circulating microRNAs during idiopathic pulmonary fibrosis disease progression[J]. *Gene*, 2015, 562(1): 138-144
- [21] 杨鲁洁, 宋海燕.miRNA-29 家族生物学功能及临床展望 [J]. *新医学*, 2016, 47(10): 657-660
- [22] Deng Z, He Y, Yang X, et al. MicroRNA-29: A Crucial Player in Fibrotic Disease[J]. *Mol Diagn Ther*, 2017, 21(3): 285-294
- [23] Herrera J, Beisang DJ, Peterson M, et al. Dicer1 Deficiency in the Idiopathic Pulmonary Fibrosis Fibroblastic Focus Promotes Fibrosis by Suppressing MicroRNA Biogenesis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, 198(4): 486-496
- [24] 许梦婷,刘乃国,刘莹,等.基质金属蛋白酶 1、3、基质金属蛋白酶组织抑制剂 1 和 miR-29 在大鼠肺纤维化中及活性维生素 D3 处理后的表达与作用[J]. *解剖学杂志*, 2017, 40(3): 266-270, 285, 封 2
- [25] 岳中正,李娟,暴磊,等.特发性肺纤维化发生发展过程中 miR-29 的作用及上下游信号通路研究进展 [J]. *山东医药*, 2017, 57(11): 111-114
- [26] 张秀莉,邱静,李万成.肺纤维化中 microRNA-29 对 TGF- β 1/Smad3 通路调控机制[J]. *国际呼吸杂志*, 2018, 38(8): 627-630
- [27] 张映驰,史新琛,吴梦宇,等.转化生长因子 β 1 及相关生物分子在肺纤维化中作用的研究进展 [J]. *现代预防医学*, 2021, 48(13): 2473-2478
- [28] 庄文越,马周义,赵娜,等.肺纤维化细胞因子参与机制及中药治疗研究进展[J]. *北华大学学报(自然科学版)*, 2017, 18(5): 615-619
- [29] Distler JHW, Györfi AH, Ramanujam M, et al. Shared and distinct mechanisms of fibrosis[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2019, 15(12): 705-730
- [30] 刘睿超,李乐,王若利,等.支气管肺泡灌洗液中生物标志物在特发性肺纤维化中的研究进展[J]. *国际呼吸杂志*, 2020, 40(15): 1172-1176
- [31] 孙莹,宋晓萍,孙伟.探讨 TGF β 1、PDGF、VEGF 对特发性肺纤维化诊断及病情评估的临床意义[J]. *中华肺部疾病杂志(电子版)*, 2020, 13(1): 54-58