

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002654

琥珀酸盐受体介导 Foxm1 表达促进肺纤维化

吕燕华¹, 梁剑平¹, 张丹丹¹, 王燕红¹, 李 军², 余常辉³, 肖冠华³

(1. 中山市人民医院呼吸与危重症医学科, 中山 528400; 2. 南方医科大学南方医院胸外科, 广州 510665;

3. 南方医科大学南方医院呼吸与危重症医学科, 广州 510515)

【摘要】目的:探讨琥珀酸盐受体(succinate receptor, SUCNR1)在肺纤维化发生发展中的作用和机制。**方法:**用 SUCNR1 敲除(SUCNR1^{-/-})小鼠构建博来霉素诱导的肺纤维化模型, 观察对肺纤维化的影响。组织生长因子 $\beta 1$ (tissue growth factor $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 刺激 SUCNR1^{-/-} 原代肺成纤维细胞, MTT 检测细胞增殖、Western blot 检测细胞外基质(Collagen I 和 α -SMA)生成。检测各组肺纤维化小鼠肺组织中叉头框蛋白 M1(forkhead box protein M1, Foxm1)表达, 使用 Foxm1 抑制剂处理 TGF- $\beta 1$ 和琥珀酸盐刺激的原代肺成纤维细胞, 观察对细胞增殖和细胞外基质生成的影响。**结果:**SUCNR1^{-/-} 小鼠肺纤维化较 SUCNR1^{+/+} 明显减轻。刺激 SUCNR1^{-/-} 原代肺成纤维细胞增殖能力、Collagen I 和 α -SMA 生成明显降低。Foxm1 在博来霉素诱导的肺纤维化模型中明显升高, 但在 SUCNR1^{-/-} 模型中明显减少; 抑制 Foxm1 可减少 TGF- $\beta 1$ 和琥珀酸盐诱导的肺成纤维细胞增殖、Collagen I 和 α -SMA 生成。**结论:**SUCNR1 参与了肺纤维化的发生发展, 其可能机制是通过促进 Foxm1 表达而启动肺成纤维细胞。

【关键词】肺纤维化; 肺成纤维细胞; 琥珀酸盐受体; 琥珀酸盐; 叉头框蛋白 M1

【中图分类号】R34

【文献标志码】A

【收稿日期】2020-02-29

Succinate receptor mediates Foxm1 expression to promote pulmonary fibrosis

Lü Yanhua¹, Liang Jianping¹, Zhang Dandan¹, Wang Yanhong¹, Li Jun², Yu Changhui³, Xiao Guanhu³

(1. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Zhongshan People's Hospital; 2. Thoracic Surgery, The Third Affiliated Hospital of Southern Medical University; 3. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Nanfang Hospital of Southern Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the role and mechanism of succinate receptor(SUCNR1) in the occurrence and development of pulmonary fibrogenesis. **Methods:** A bleomycin-induced lung fiber model was constructed using SUCNR1 knockout(SUCNR1^{-/-}) mice to observe the effects on pulmonary fibrosis. Transforming growth factor $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) stimulated SUCNR1^{-/-} primary lung fibroblasts cell proliferation was detected by MTT, and extracellular matrix(Collagen I and α -SMA) was detected by western blot. The expression of forkhead box protein M1(Foxm1) in the lung tissue of each group of pulmonary fibrosis mice was detected. TGF- $\beta 1$ and succinate stimulated primary lung fibroblasts were treated with Foxm1 inhibitor, and the effects on cell proliferation and extracellular matrix formation were observed. **Results:** The pulmonary fibrosis of SUCNR1^{-/-} mice were significantly less than SUCNR1^{+/+}. The cells proliferation, and Collagen I and α -SMA production was significantly reduced in SUCNR1^{-/-} primary lung fibroblasts. Foxm1 was significantly elevated in the bleomycin-induced pulmonary fibrosis model, but significantly reduced in the SUCNR1^{-/-} model. Inhibition of Foxm1 reduces TGF- $\beta 1$ and succinate-induced lung fibroblast proliferation, Collagen I and α -SMA generation. **Conclusion:** SUCNR1 participates in the development of pulmonary fibrosis, and its possible mechanism may be to activate lung fibroblasts by promoting Foxm1 expression.

【Key words】 pulmonary fibrosis; lung fibroblasts; succinate receptor; succinate; forkhead box protein M1

肺纤维化是一类以间质大量细胞外沉积为特征的进行性疾病^[1-3]。研究发现, 有氧糖酵解在肺纤

维化的发生发展中起重要作用, 而有氧糖酵解的增强导致三羧酸循环抑制, 使中间产物琥珀酸盐累积^[4]。有研究发现, 琥珀酸盐通过启动琥珀酸盐受体(succinate receptor, SUCNR1)可进一步启动钙离子通道、细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)磷酸化和其他促炎因子的生成, 因此参与炎症反应、组织重构等^[5-7]。但 SUCNR1

作者介绍: 吕燕华; Email: lyhzhongshan@163.com,

研究方向: 慢性气道疾病和肺纤维化。

通信作者: 肖冠华; Email: 251168021@qq.com。

基金项目: 广东省医学科学技术研究基金资助项目(编号: A2017561)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20201013.1355.010.html>

(2020-10-14)

在肺纤维化中的作用目前尚不可知。因此,本研究探讨 SUCNR1 在肺纤维化中的表达、作用及其作用的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

博来霉素(bleomycin, BLM)(同仁朱会社,日本),TGF- β 1(Sigma 公司,美国),SUCNR1、Collagen I, α 平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)一抗(Abcam 公司,美国),叉头框蛋白 M1(forkhead box protein M1,Foxm1)、 β -actin 一抗(CST 公司,美国),苏木素、伊红、Masson 试剂盒(碧云天生物技术公司,中国),免疫组化试剂盒(中杉金桥,中国)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的制备 10 只 SUCNR1 敲除(SUCNR1^{-/-})和 20 只野生型(SUCNR1^{+/+})C57BL/6 小鼠(8 周,20~25 g/只)购自赛业生物。小鼠饲养于南方医科大学实验动物中心 IPF 级动物房,严格遵照南方医科大学实验动物中心实验动物伦理要求执行动物实验。

肺纤维化模型制备:小鼠用适量戊巴比妥腹腔注射麻醉后,剪开颈部皮肤,小心分离颈前肌肉暴露主气管,用 1 mL 注射器从气管软骨环间向气道内打入 200 μ L(10 mg/kg)BLM,缝合皮肤。1 个月后,断颈处死小鼠后,肺泡灌洗,右下肺 4%多聚甲醛固定做病理切片,其余肺组织于-80 $^{\circ}$ C 冻存提取蛋白。

1.2.2 HE 染色 右下肺 4%多聚甲醛固定后,包埋成蜡块后切片。经 60 $^{\circ}$ C 烘烤 2 h 后,二甲苯 10 min $\times$ 2 次,梯度酒精和去离子水等脱蜡水化后,苏木素染色 5 min,1%盐水酒精分化,流水返蓝 30 min,伊红染色 1 min,梯度酒精脱水,中性树脂封片,显微镜拍照。纤维化程度参照 Ashcroft Scores 进行评分^[8]。

1.2.3 Masson 染色 石蜡切片脱蜡水化后,先后经苏木素染细胞核,1%的盐酸酒精分化数秒,自来水冲洗,流水冲洗数分钟返蓝,丽春红染色 5~10 min,蒸馏水快速漂洗,磷钼酸处理 3~5 min,苯胺蓝染色 5 min,1%冰醋酸分化 1 min。梯度酒精脱水,中性树脂封片,显微镜拍照。Image J 软件测量图片中蓝色的灰度,每个肺组织切片取 9 个视野,算平均值,计算相对值。

1.2.4 Western blot 提取肺组织或细胞的总蛋白,配置 SDS-PAGE 电泳胶,80 V 电泳 30 min 后 90 V 电泳 60 min,再将电泳胶的蛋白通过 90 V 电转 120 min 到 PDVF 膜上。5%去脂奶粉常温封闭 2 h,一抗(1:1 000)孵育过夜,二抗(1:10 000)常温孵育 1 h 后 ECL 显影。条带用 Image J 软件测量灰度值,与 β -actin 的比值作为相对表达量。

1.2.5 原代成纤维细胞的分离和培养 SUCNR1^{-/-}和野生型 C57BL/6 小鼠断颈处死后,经右心室灌注去除肺内血管中的血液,分离出肺组织。将肺组织用眼科剪剪碎为 1 mm $\times$ 1 mm $\times$ 1 mm 小块后用含 1%双抗和 10% FBS 的培养基重悬后均匀平铺到细胞培养瓶底部,翻转培养瓶。再加入 3 mL 含 1%双抗和 10% FBS 的培养基,放入 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 孵箱中 4 h,再翻转培养瓶,继续培养。一周后可见平底长满梭状细胞,可用胰酶消化后传代培养,使用 3~5 代细胞进行实验。

1.2.6 MTT 使用第 3 代原代成纤维细胞,胰酶消化计数后按 1×10^4 个/孔种于 96 孔板中,培养 24 h。按细胞分组给予适当刺激,在预定时间去除培养基,加入 200 μ L 无血清的 DMEM 培养基,再加入 10 μ L 的 MTT(5 mg/mL)继续培养 4 h 后去除培养基,每孔加 100 μ L DMSO,振荡 10 min,使结晶物充分溶解。酶标仪 490 nm 波长检测光密度值。

1.2.7 免疫组化 肺组织石蜡切片常规脱蜡水化,柠檬酸盐微波修复抗原,3%过氧化氢浸泡 10 min。山羊血清封闭后 Foxm1 一抗(1:100)孵育 4 $^{\circ}$ C 过夜,PBS 清洗后,辣根标记的二抗(1:200)常温孵育 1 h。PBS 清洗,加入 DAB 显色。脱水,封片,显微镜拍照。

1.2.8 琥珀酸水平检测 肺泡灌洗液和细胞培养基上清中琥珀酸水平检测使用琥珀酸比色测定试剂盒(BioVision Milpitas, CA, USA)进行。实验过程严格按照说明书进行。

1.2.9 Q-PCR 应用 Trizol(Life 公司,美国)法提总 RNA,用 Takara 反转录试剂盒(Takara 公司,日本)逆转成 cDNA。取 2 μ L cDNA,与 10 μ L 2 $\times$ SYBR GREEN 混合,再加入 6 μ L ddH₂O 和上、下游引物各 1 μ L(I-COM-1 引物:F ACCAGA-CCCTGGAGATGGAGA,R ACCGTGGGCTTCACACTTCA;CT-GF 引物:F ATCCCTGCGACCCACACAA,R GTACACGGACC-CACCGAAGA;IL-6 引物:F CCACTGCCTTCCCTACTT,TTG-GTCCTTAGCCACTCC;GAPDH 引物:F GCACCGTCAAGGC-TGAGAAC,R TGGTGAAGACGCCAGTGA),混匀为 20 μ L 反应体系,反应条件为 95 $^{\circ}$ C、5 min;95 $^{\circ}$ C、15 s,60 $^{\circ}$ C、60 s,40 个循环。相对表达量用 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 计算。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 22.0 统计学软件,所有数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)形式表示,采用 One-Way ANOVA 方差分析法,首先利用 Levene 法进行方差齐性检验,确定方差齐性且整体比较组间差异有统计学意义后进一步作多重比较,多重比较采用 LSD 法。检验水平 $\alpha=0.05$ 。采用 GraphPad Prism 5.0 软件将实验数据生成统计图表。

2 结果

2.1 敲除 SUCNR1 减轻 BLM 诱导的小鼠肺纤维化

首先用 SUCNR1^{+/+}和 SUCNR1^{-/-}小鼠构建肺纤维化模型,

行病理 HE 染色, Ashcroft Score 评分可见 BLM 诱导的 SUCNR1^{wt} 小鼠肺组织纤维化非常明显 (5.76 ± 1.36 vs. 0.43 ± 0.65 , $t=14.364$, $P<0.001$), 而 BLM 诱导的 SUCNR1^{-/-} 小鼠肺纤维化较 BLM 组明显减轻 (2.94 ± 1.27 vs. 5.76 ± 1.36 , $t=2.432$, $P=0.008$) (图 1A)。Masson 染色也可见 BLM 诱导的 SUCNR1^{-/-} 小鼠肺组织中的胶原沉积较 BLM 组明显减少 (5.46 ± 0.80 vs. 12.89 ± 1.54 , $t=4.294$, $P=0.004$) (图 1A)。提取肺组织全蛋白, 可见 BLM 组小鼠肺组织中 SUCNR1 和 Collagen I 蛋白水平都较 control 组明显增加 (SUCNR1: 0.29 ± 0.02 vs. 0.07 ± 0.003 , $t=13.77$, $P<0.001$; Collagen I: 0.51 ± 0.02 vs. 0.24 ± 0.02 , $t=10.87$, $P=0.002$), 而 BLM+SUCNR1^{-/-} 小鼠肺组织中基本不表达 SUCNR1 蛋白, Collagen I 蛋白水平较 BLM 组也明显下降 (0.39 ± 0.02 vs. 0.51 ± 0.02 , $t=4.711$, $P=0.000$) (图 1B)。进一步检测肺泡灌洗液中 SUCNR 激动剂琥珀酸盐的水平, 发现 BLM 组和 BLM+SUCNR1^{-/-} 组小鼠肺组织中琥珀酸盐水平都较 control 组明显增加 (61.10 ± 11.89 vs. 24.29 ± 4.87 , $t=2.864$, $P=0.014$; 73.78 ± 12.45 vs. 24.29 ± 4.87 , $t=3.701$, $P=0.001$) (图 1C)。

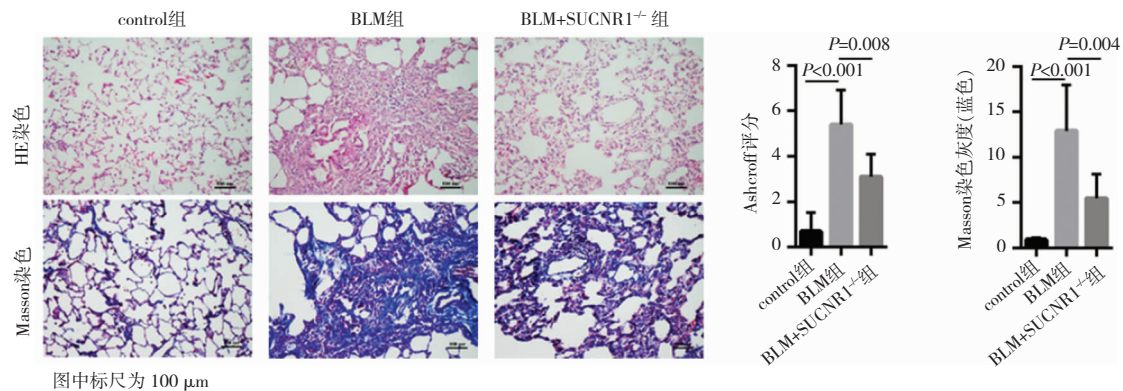
2.2 敲除 SUCNR1 减轻 TGF- β 1 诱导的肺成纤维细胞增殖和细胞外基质生成

用不同浓度组织生长因子 β 1 (tissue growth factor β 1,

TGF- β 1) 诱导小鼠原代成纤维细胞, 可见 SUCNR1 蛋白和琥珀酸盐水平呈浓度依赖性增加 (SUCNR1: 0.48 ± 0.03 、 0.59 ± 0.04 、 0.63 ± 0.04 vs. 0.17 ± 0.02 ; $t=10.240$, $P=0.001$; $t=8.979$, $P=0.009$; $t=10.73$, $P=0.000$; 琥珀酸盐: 47.45 ± 7.31 、 65.05 ± 5.39 、 85.15 ± 5.07 vs. 29.63 ± 2.88 ; $t=2.270$, $P=0.086$; $t=5.798$, $P=0.004$; $t=9.526$, $P=0.001$) (图 2A、B)。用 TGF- β 1 诱导原代肺成纤维细胞, 可见敲除 SUCNR1 的原代肺成纤维细胞增殖能力较 SUCNR1^{wt} 组明显减弱 (48 h: 1.90 ± 0.02 vs. 2.27 ± 0.04 , $t=7.841$, $P=0.000$) (图 2C), 并且细胞外基质 Collagen I 和 α -SMA 生成也较 SUCNR1^{wt} 组明显减少 (Collagen I: 0.73 ± 0.04 vs. 0.91 ± 0.04 , $t=3.328$, $P=0.029$; α -SMA: 0.83 ± 0.04 vs. 1.01 ± 0.05 , $t=3.071$, $P=0.037$) (图 2D)。

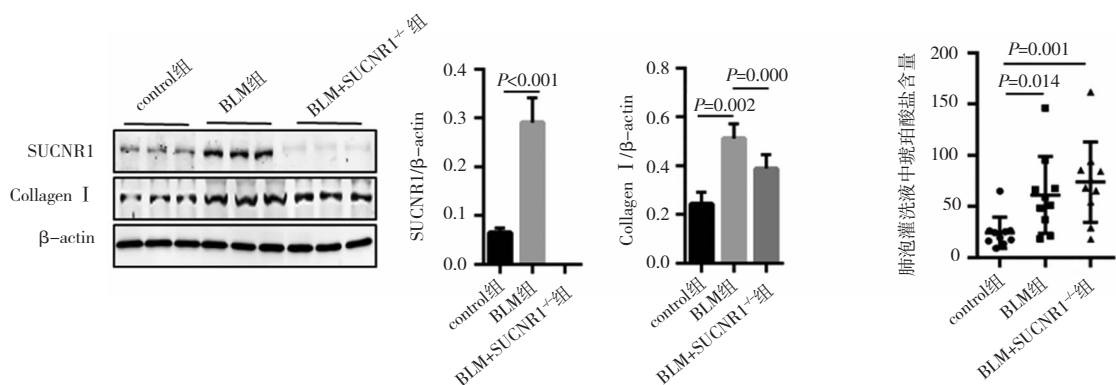
2.3 SUCNR1 参与 TGF- β 1 诱导的 Foxm1 表达

首先检测各模型组小鼠肺组织中 Foxm1 的表达情况。免疫组织化学 (immunohistochemistry, IHC) 和 Western blot 结果显示, BLM 诱导的 SUCNR1^{wt} 小鼠肺纤维化组中 Foxm1 表达较 control 组明显升高 (IHC: 8.50 ± 0.76 vs. 2.70 ± 0.52 , $t=6.287$, $P<0.001$; Western blot: 0.27 ± 0.02 vs. 0.06 ± 0.01 , $t=10.860$, $P<0.001$), 而 BLM 诱导的 SUCNR1^{-/-} 小鼠肺组织中 Foxm1 表达较纤维化组明显降低 (IHC: 3.90 ± 0.69 vs. 8.50 ± 0.76 , $t=4.468$, $P<0.001$; Western blot: 0.11 ± 0.02 vs. 0.27 ± 0.02 ,



图中标尺为 100 μ m

A. HE 和 Masson 染色检测小鼠肺组织纤维化程度和胶原沉积水平



B. Western blot 检测肺组织蛋白中 SUCNR1 和 Collagen I 蛋白水平

C. ELISA 检测肺泡灌洗液中琥珀酸盐水平

图 1 SUCNR1 在 BLM 诱导的小鼠肺纤维化中的作用

$t=6.973, P<0.001$)(图 3A、B)。在 TGF- $\beta 1$ 和琥珀酸盐诱导的小鼠原代肺成纤维细胞中, Foxm1 表达较 control 组明显升高 (TGF- $\beta 1$: 0.17 ± 0.01 vs. $0.020 \pm 0.003, t=9.999, P=0.001$; 琥珀酸盐: 0.16 ± 0.02 vs. $0.020 \pm 0.003, t=11.72, P=0.000$);

SUCNR1 $^{-/-}$ 小鼠原代肺成纤维细胞, TGF- $\beta 1$ 和琥珀酸盐诱导的 Foxm1 表达被明显抑制 (TGF- $\beta 1$: 0.07 ± 0.01 vs. $0.17 \pm 0.01, t=5.616, P=0.005$; 琥珀酸盐: 0.04 ± 0.004 vs. $0.16 \pm 0.01, t=10.380, P=0.001$)(图 3C)。

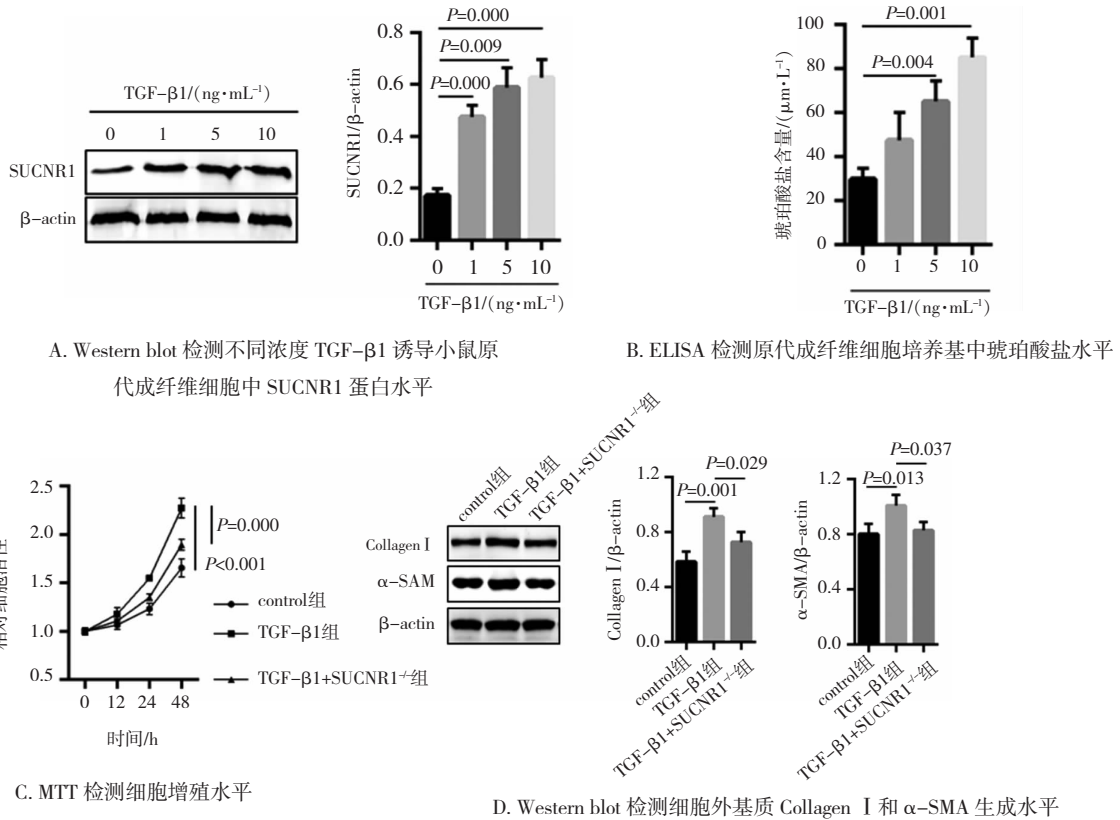


图 2 敲除 SUCNR1 对 TGF- $\beta 1$ 诱导的肺成纤维细胞增殖和细胞外基质生成的影响

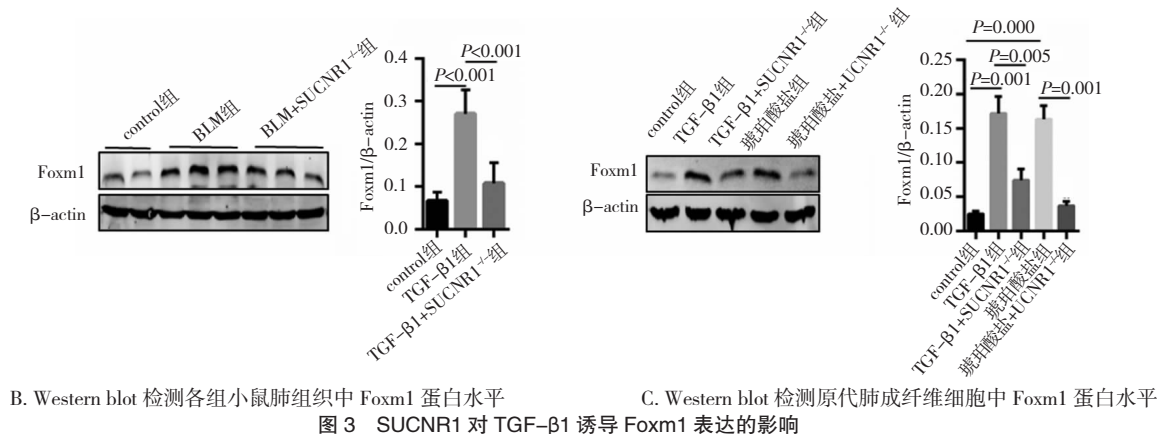
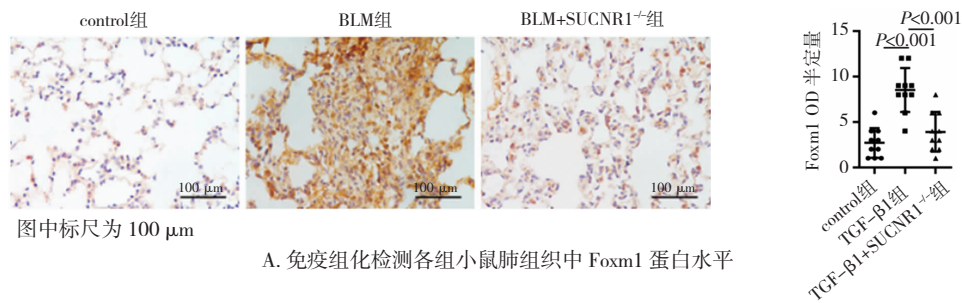


图 3 SUCNR1 对 TGF- $\beta 1$ 诱导 Foxm1 表达的影响

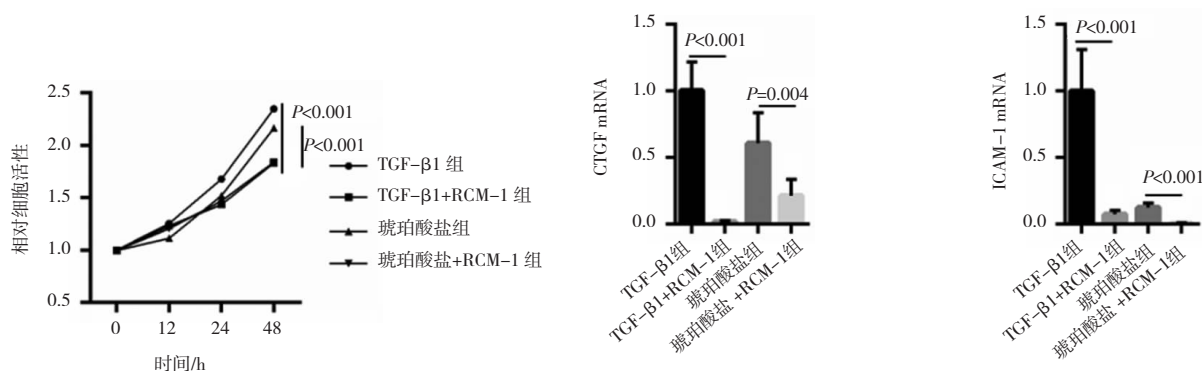
2.4 活化的 SUCNR1 通过启动 Foxm1 促进促纤维化因子和细胞外基质生成

使用 Foxm1 抑制剂 RCM-1 预处理原代成纤维细胞,可以明显抑制 TGF- β 1 和琥珀酸盐诱导的细胞增殖(48 h TGF- β 1: 1.83 ± 0.03 vs. 2.35 ± 0.05 , $t=9.232$, $P<0.001$; 琥珀酸盐: 1.84 ± 0.02 vs. 2.17 ± 0.01 , $t=14.80$, $P<0.001$) (图 4A), 促纤维化因子 CTGF、ICAM-1 和 IL-6 mRNA (CTGF: TGF- β 1: 0.02 ± 0.00 vs. 1.00 ± 0.09 , $t=11.210$, $P<0.001$; 琥珀酸盐: 0.21 ± 0.05 vs. 0.61 ± 0.09 , $t=3.727$, $P=0.004$ 。ICAM-1: TGF- β 1: 0.07 ± 0.01 vs. 1.00 ± 0.13 , $t=7.278$, $P<0.001$; 琥珀酸盐: 0.01 ± 0.00 vs. 0.12 ± 0.01 , $t=8.972$, $P<0.001$; IL-6: TGF- β 1: 0.10 ± 0.01 vs. 1.00 ± 0.08 , $t=11.190$, $P<0.001$; 琥珀酸盐: 0.42 ± 0.05 vs. 1.15 ± 0.14 , $t=4.836$, $P<0.001$) 水平 (图 4B~D) 和细胞外基质 Collagen I 和 α -SMA 的生成 (Collagen I: TGF- β 1: 0.03 ± 0.00 vs. 0.17 ± 0.01 , $t=9.645$, $P<0.001$; 琥珀酸盐: 0.15 ± 0.02 vs. 0.30 ± 0.03 , $t=3.883$, $P=0.018$; α -SMA: TGF- β 1: 0.26 ± 0.03 vs. 0.77 ± 0.04 , $t=11.490$, $P<0.001$; 琥珀酸盐: 0.54 ± 0.05 vs. 0.89 ± 0.04 , $t=6.841$, $P=0.002$) (图 4E)。

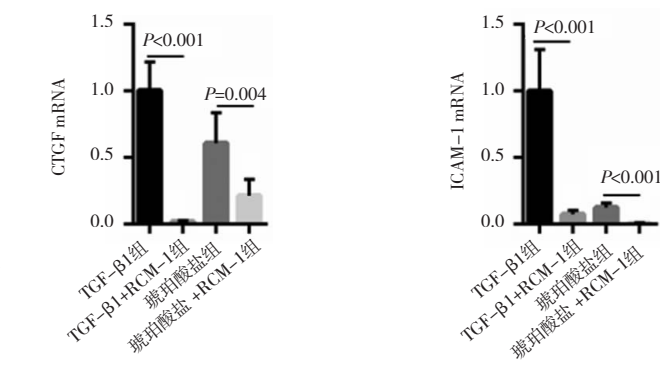
3 讨论

SUCNR1 也叫 GPR91, 是三羧酸循环代谢中间产物琥珀酸盐的受体, 是 G 蛋白偶联受体家族的成员^[9-10], 可介导溃疡性结肠炎、肝纤维化、糖尿病和类风湿关节炎等疾病过程^[7, 11-13]。既往研究发现, SUCNR1 在肾、肠纤维化中也有重要作用^[5, 14]。

肺纤维化是一类进行加重的肺部疾病, 目前的治疗方案效果不佳^[1]。越来越多的研究发现, 代谢紊乱在纤维化的发生发展中有重要作用^[15-16]。琥珀酸盐是三羧酸循环代谢中间产物, 本研究观察到在有的小鼠肺纤维模型和 TGF- β 1 诱导的成纤维细胞模型中, 琥珀酸盐水平明显增加。琥珀酸盐进一步活化其受体 SUCNR1 后可启动很多信号通路, 参与细胞的生理和病理过程^[4-6]。本研究发现, 博来霉素诱导的小鼠肺纤维化模型中, 肺组织中 SUCNR1 表达

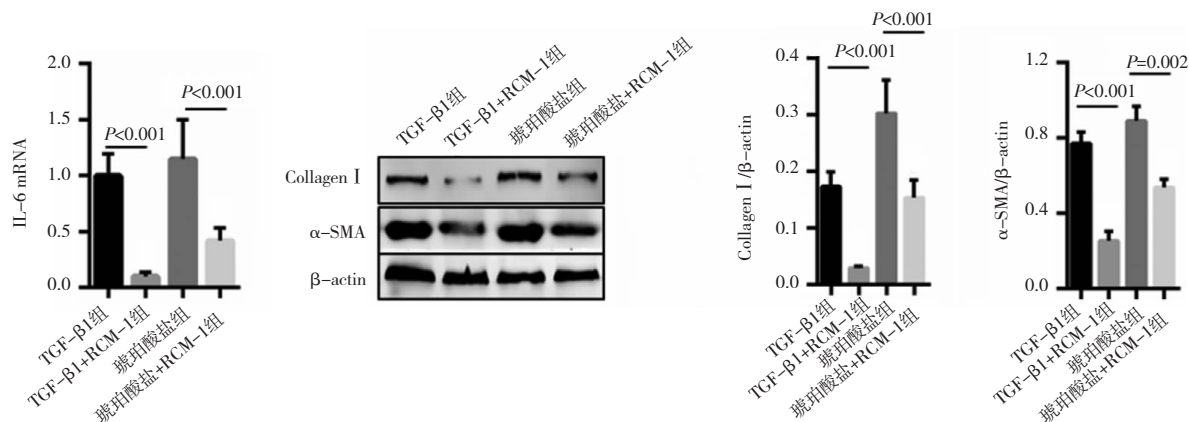


A. MTT 检测细胞增殖水平



B. Q-PCR 检测 CTGF mRNA 的水平

C. Q-PCR 检测 ICAM-1 mRNA 的水平



D. Q-PCR 检测 IL-6 mRNA 的水平

E. Western blot 检测细胞外基质 Collagen I 和 α -SMA 生成水平

图 4 Foxm1 在活化的 SUCNR1 促进促纤维化因子和细胞外基质生成的作用

明显增加;同时在细胞模型中,TGF- β 1 诱导的成纤维细胞中 SUCNR1 表达呈浓度依赖性增加。敲除肺间质细胞中 SUCNR1 后,可以明显抑制博来霉素诱导的小鼠肺纤维化和 TGF- β 1 诱导的成纤维细胞外基质生成、细胞增殖。由此提示,SUCNR1 参与肺纤维化的发生发展。

Foxm1 是叉头框(forkhead box,FOX)蛋白家族成员之一。FOX 是一类具有一段特定“翼状螺旋结构”DNA 结合域的转录因子^[17-18]。既往研究发现,Foxm1 在调控细胞增殖细胞外基质生成中有重要作用,是促进组织纤维的重要因子之一^[17-18]。本研究发现,在博来霉素诱导的肺纤维化中,Foxm1 表达明显增加;而敲除 SUCNR1 的小鼠中,博来霉素和 TGF- β 1 诱导的 Foxm1 增加被明显抑制。更为重要的是,使用 Foxm1 抑制剂能抑制 TGF- β 1 和琥珀酸盐诱导的肺成纤维细胞增殖、促纤维因子产生和细胞外基质生成。由此提示,琥珀酸盐活化的 SUCNR1 可增加 Foxm1 表达而促进肺纤维化的发生发展。

综上所述,SUCNR1 参与了肺纤维化的发生发展,其机制可能是通过促进 Foxm1 表达而启动肺成纤维细胞。希望 SUCNR1 能成为肺纤维化治疗的靶点。本研究也存在很多不足,首先没有明确肺纤维化中 SUCNR1 表达升高的机制,同时对活化的 SUCNR1 如何促进 Foxm1 表达没有深入探讨。

参 考 文 献

- [1] Cottin V, Wollin L, Fischer A, et al. Fibrosing interstitial lung diseases: knowns and unknowns[J]. Eur Respir Rev, 2019, 28(151): 180100.
- [2] Flaherty KR, Wells AU, Cottin V, et al. Nintedanib in progressive fibrosing interstitial lung diseases[J]. N Engl J Med, 2019, 381(18): 1718-1727.
- [3] Wollin L, Distler J, Redente EF, et al. Potential of nintedanib in treatment of progressive fibrosing interstitial lung diseases[J]. Eur Respir J, 2019, 54(3): 1900161.
- [4] Tannahill GM, Curtis AM, Adamik J, et al. Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1 β through HIF-1[J]. Nature, 2013, 496(7444): 238-242.
- [5] Macias-Ceja DC, Ortiz-Masia D, Salvador P, et al. Succinate receptor mediates intestinal inflammation and fibrosis[J]. Mucosal Immunol, 2019, 12(1): 178-187.
- [6] Mills E, O'Neill LA. Succinate: a metabolic signal in inflammation[J]. Trends Cell Biol, 2014, 24(5): 313-320.
- [7] Haffke M, Fehrmann D, Rummel G, et al. Structural basis of species-selective antagonist binding to the succinate receptor[J]. Nature, 2019, 574(7779): 581-585.
- [8] Ashcroft T, Simpson JM, Timbrell V. Simple method of estimating severity of pulmonary fibrosis on a numerical scale[J]. J Clin Pathol, 1988, 41(4): 467-470.
- [9] Gilissen J, Jouret F, Pirotte B, et al. Insight into SUCNR1 (GPR91) structure and function[J]. Pharmacol Ther, 2016, 159: 56-65.
- [10] de Castro Fonseca M, Aguiar CJ, Da Rocha Franco JA, et al. GPR91: expanding the frontiers of Krebs cycle intermediates[J]. Cell Commun Signal, 2016, 14: 3.
- [11] Park SY, Le CT, Sung KY, et al. succinate induces hepatic fibrogenesis by promoting activation, proliferation, and migration, and inhibiting apoptosis of hepatic stellate cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 496(2): 673-678.
- [12] Littlewood-Evans A, Sarret S, Apfel V, et al. GPR91 senses extracellular succinate released from inflammatory macrophages and exacerbates rheumatoid arthritis[J]. J Exp Med, 2016, 213(9): 1655-1662.
- [13] van Diepen JA, Robben JH, Hooiveld GJ, et al. SUCNR1-mediated chemotaxis of macrophages aggravates obesity-induced inflammation and diabetes[J]. Diabetologia, 2017, 60(7): 1304-1313.
- [14] Ariza AC, Deen PM, Robben JH. The succinate receptor as a novel therapeutic target for oxidative and metabolic stress-related conditions[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2012, 3: 22.
- [15] Maher TM. Aerobic glycolysis and the warburg effect. An unexplored realm in the search for fibrosis therapies?[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2015, 192(12): 1407-1409.
- [16] Zhao H, Dennery PA, Yao H. Metabolic reprogramming in the pathogenesis of chronic lung diseases, including BPD, COPD, and pulmonary fibrosis[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2018, 314(4): L544-554.
- [17] Lam EW, Brosens JJ, Gomes AR, et al. Forkhead box proteins: tuning forks for transcriptional harmony[J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(7): 482-495.
- [18] Zaiss D, Coffey PJ. Forkhead box transcription factors as context-dependent regulators of lymphocyte homeostasis[J]. Nat Rev Immunol, 2018, 18(11): 703-715.
- [19] Li Y, Wu F, Tan Q, et al. The multifaceted roles of Foxm1 in pulmonary disease[J]. Cell Commun Signal, 2019, 17(1): 35.
- [20] Im J, Lawrence J, Seelig D, et al. Foxm1-dependent RAD51 and BRCA2 signaling protects idiopathic pulmonary fibrosis fibroblasts from radiation-induced cell death[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(6): 584.

(责任编辑:唐秋姗)