

丝裂原诱导基因 6 在砷致人肝星状细胞活化及细胞外基质沉积中的作用

阮文丽¹, 范丽丽¹, 徐慧芬¹, 宋倩¹, 何瑞¹, 刁珩¹, 张玉琼², 张爱华¹, 王大朋¹

1. 贵州医科大学, 公共卫生与健康学院毒理学系/环境污染与疾病监控教育部重点实验室, 贵州 贵阳 550025

2. 贵州省疾病预防控制中心, 贵州 贵阳 550004

摘要:

[背景] 砷是一种环境毒物, 长期或过量砷暴露可致机体肝纤维化损伤, 其具体机制尚不清楚; 丝裂原诱导基因 6(*Mig-6*)在多种疾病或癌症中具有保护作用, 但其在砷致肝纤维化损伤过程的作用尚不清楚。

[目的] 探讨 *Mig-6* 在亚砷酸钠(NaAsO₂)致人肝星状细胞(HSC)活化及细胞外基质(ECM)沉积中的作用及机制。

[方法] 采用 0、1.875、3.75、7.5、15 μmol·L⁻¹ NaAsO₂ 处理体外常规培养的人肝星状细胞株(Lx-2)24 h, 另以 7.5 μmol·L⁻¹ NaAsO₂ 处理 Lx-2 细胞 0、12、24、48、72 h, 到达处理终点收集细胞。进一步采用 pcDNA3.1(+)/*Mig-6* 质粒转染 Lx-2 细胞, 并在此基础上以 7.5 μmol·L⁻¹ NaAsO₂ 处理细胞 24 h, 另设空白对照组、pcDNA3.1(+)空载体转染组、pcDNA3.1(+)/*Mig-6* 转染组、单独染砷组(7.5 μmol·L⁻¹)；收集各组细胞及培养上清, Western blotting 法检测 *Mig-6* 及 Lx-2 细胞活化相关蛋白[α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA)、转化生长因子 β1(TGF-β1)]表达水平, ELISA 法检测培养细胞上清中 ECM 主要成分[透明质酸(HA)、层黏连蛋白(LN)、IV 型胶原(COL-IV)、III 型前胶原氨基端肽(PIIINP)]的分泌水平。

[结果] NaAsO₂ 处理 Lx-2 细胞后, 与对照组(1.000±0.000)比较, 3.75、7.5、15 μmol·L⁻¹ 染砷组 *Mig-6* 蛋白表达水平降低(0.561±0.095、0.695±0.048、0.401±0.030)(*P*<0.05)；染砷 24、48、72 h 后 *Mig-6* 蛋白表达水平(0.856±0.036、0.515±0.077、0.491±0.060)均较 0 h 时(1.000±0.000)降低(*P*<0.05)。过表达 *Mig-6* 后, Lx-2 细胞活化相关蛋白检测结果显示, 与对照组比较, 单独染砷组 α-SMA 和 TGF-β1 蛋白表达水平均升高(*P*<0.05)；而与单独染砷组比较, *Mig-6* 过表达联合染砷组 α-SMA、TGF-β1 蛋白表达水平则降低(*P*<0.05)；ELISA 法检测结果显示, 与对照组比较, 单独染砷组 HA、LN、PIIINP、COL-IV 分泌水平升高(*P*<0.05)；而与单独染砷组比较, *Mig-6* 过表达联合染砷组 HA、LN、PIIINP、COL-IV 分泌水平则降低(*P*<0.05)。

[结论] 砷可下调 HSC 中 *Mig-6* 蛋白表达水平, 过表达 *Mig-6* 可逆转砷暴露所引起的 HSC 活化及 ECM 沉积, 提示 *Mig-6* 在砷所致 HSC 激活及 ECM 沉积中具有保护作用。

关键词: 丝裂原诱导基因 6; 亚砷酸钠; 肝星状细胞; 肝纤维化; 细胞外基质

Role of mitogen-inducible gene 6 in the activation of human hepatic stellate cells and deposition of extracellular matrix induced by sodium arsenite RUAN Wenli¹, FAN Lili¹, XU Huifen¹, SONG Qian¹, HE Rui¹, DIAO Heng¹, ZHANG Yuqiong², ZHANG Aihua¹, WANG Dapeng¹ (1. Key Laboratory of Environmental Pollution Monitoring and Disease Control, Ministry of Education/ Department of Toxicology, School of Public Health, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550025, China; 2. Guizhou Center for Disease Control and Prevention, Guiyang, Guizhou 550004, China)

Abstract:

[Background] Arsenic is a well-known environmental toxicant. Hepatic fibrosis could occur due to excessive or long-term exposure to arsenic, while associated molecular mechanisms remain undefined. Mitogen-inducible gene 6 (*Mig-6*) exhibits a protective effect on numerous diseases or cancers. However, the specific role of *Mig-6* in the mechanisms of arsenite-induced hepatic



DOI 10.11836/JEOM21293

基金项目

国家自然科学基金(81660525, 81872657, 82060582)

作者简介

阮文丽(1989—), 女, 硕士生;
E-mail: wenli_ruan@163.com

通信作者

王大朋, E-mail: wojishiwdp@126.com

伦理审批 不需要

利益冲突 无申报

收稿日期 2021-06-27

录用日期 2021-12-23

文章编号 2095-9982(2022)02-0200-06

中图分类号 R114

文献标志码 A

▶引用

阮文丽, 范丽丽, 徐慧芬, 等. 丝裂原诱导基因 6 在砷致人肝星状细胞活化及细胞外基质沉积中的作用 [J]. 环境与职业医学, 2022, 39(2): 200-205.

▶本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM21293

Funding

This study was funded.

Correspondence to

WANG Dapeng, E-mail: wojishiwdp@126.com

Ethics approval Not required

Competing interests None declared

Received 2021-06-27

Accepted 2021-12-23

▶ To cite

RUAN Wenli, FAN Lili, XU Huifen, et al. Role of mitogen-inducible gene 6 in the activation of human hepatic stellate cells and deposition of extracellular matrix induced by sodium arsenite[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2022, 39(2): 200-205.

▶ Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM21293

fibrosis remains indistinct.

[Objective] To investigate the specific role of *Mig-6* in the activation of hepatic stellate cells (HSC) and the deposition of extracellular matrix (ECM) induced by sodium arsenite (NaAsO_2).

[Methods] Human hepatic stellate cells (Lx-2) were treated with 0, 1.875, 3.75, 7.5, and 15 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ of NaAsO_2 for 24 h, or with 7.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO_2 for 0, 12, 24, 48, and 72 h. Additionally, Lx-2 cells were transfected by pcDNA3.1(+)/*Mig-6*, then treated with 7.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO_2 for 24 h; a blank control group, a pcDNA3.1(+)-control group, a pcDNA3.1(+)/*Mig-6* group, and an arsenic (7.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO_2) group were also set up. After transfection, the cells and culture supernatants were collected, and the protein levels of *Mig-6*, α -smooth muscle actin (α -SMA), and transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) in Lx-2 cells were identified by Western blotting analysis; moreover, the secretion levels of main ECM components in supernatants such as hyaluronic acid (HA), laminin (LN), collagens IV (COL-IV), and procollagen-III (PIIINP) were tested by ELISA.

[Results] The *Mig-6* expression decreased in the 3.75, 7.5, and 15 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO_2 groups (0.561 ± 0.095 , 0.695 ± 0.048 , and 0.401 ± 0.030) compared to the control group (1.000 ± 0.000) in Lx-2 cells ($P<0.05$). After administration with 7.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ of NaAsO_2 for 24, 48, and 72 h, the *Mig-6* expression (0.856 ± 0.036 , 0.515 ± 0.077 , 0.491 ± 0.060) decreased compared with the 0 h group (1.000 ± 0.000) ($P<0.05$). After over-expression of *Mig-6*, the results of Lx-2 activation related protein levels showed that compared to the control group, the α -SMA and TGF- β 1 expression were up-regulated in the arsenic group ($P<0.05$); meanwhile, the α -SMA and TGF- β 1 in the *Mig-6* over-expression combined arsenic exposure group reduced compared to the arsenic (7.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) group ($P<0.05$). The results of ELISA showed that compared with the control group, the HA, LN, PIIINP, COL-IV in the arsenic group were up-regulated ($P<0.05$); while compared to the arsenic group, the HA, LN, PIIINP, and COL-IV in the *Mig-6* over-expression combined with arsenic exposure group were decreased ($P<0.05$).

[Conclusion] Arsenic down-regulates *Mig-6* expression in HSC, and over-expression of *Mig-6* can reverse the activation of HSC and ECM deposition induced by arsenic exposure. It suggests that *Mig-6* plays a protective role in arsenic-induced HSC activation and ECM deposition.

Keywords: mitogen-inducible gene 6; sodium arsenite; hepatic stellate cell; hepatic fibrosis; extracellular matrix

砷是一种环境毒物, 砷及砷化合物在人类社会生产活动中应用也极为广泛, 是油漆、木材防腐剂、电子线路用金属合金及杀虫剂等的重要原料^[1]。研究已证实, 长期砷暴露可对人体多器官多系统造成损害, 如皮肤、呼吸系统、消化系统等^[1-2]。而肝脏作为重要的外源毒物代谢场所, 是砷毒性作用的重要靶器官之一, 研究发现砷暴露可导致肝炎性损伤、肝纤维化、肝硬化、肝癌等多种不同程度、不同类型的肝脏损伤^[3-5]。因肝纤维化损伤具有可逆性特点, 成为近年来砷致肝损伤机制及防治研究的热点。

肝纤维化是各种致病因子引起的以细胞外基质(extracellular matrix, ECM)过度沉积为特征的病理生理过程, 其中肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化是肝纤维化起始过程中的关键事件^[6]。各种因素导致机体肝细胞受损后, 均能促使HSC活化标志物[如 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)等]的表达增加, 进而促进HSC活化^[7-9]。以往研究证实, 透明质酸(hyaluronic acid, HA)、层黏连蛋白(laminin, LN)、IV型胶原(collagens IV, COL-IV)及III型前胶原氨基端肽(procollagen III, PIIINP)是ECM的主要组成成分, 其分泌水平可用于肝纤维化损伤的诊断或辅助诊断^[10-11]。课题组前期研究已证实, 砷暴露可诱导体外培养的HSC活化, 增加其ECM分泌水平^[12], 但其具体分子机制尚有待进一步研究探讨。

丝裂原诱导基因6(mitogen-induced gene 6, *Mig-6*)是一种非激酶可溶性蛋白质, 研究证实其为肿瘤抑制基因, 可抑制多种不同类型肿瘤的发生及转移^[13-14]。研究已表明*Mig-6*通过各种复杂的内在机制启动相关信号通路, 参与非小细胞肺癌、肝癌、乳腺癌等疾病发生发展^[15-17]。然而, *Mig-6*在砷致HSC活化及肝纤维化损伤中的具体作用目前尚未见相关报道。

本研究在课题组既往研究结果的基础上, 从体外细胞层面, 探讨亚砷酸钠(NaAsO_2)暴露对HSC中*Mig-6*蛋白表达的影响, 进而通过质粒转染方法过表达*Mig-6*, 观察其对砷致HSC活化及ECM分泌水平的影响, 为砷致肝纤维化损伤分子机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞来源

正常人肝星状细胞系Lx-2细胞, 购自中南大学湘雅细胞库。

1.2 主要试剂及仪器

主要试剂有 DMEM 高糖培养基、胎牛血清、胰蛋白酶(Gibco, 美国), ELISA 试剂盒(上海基免实业有限公司, 中国), BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天生物技术研究所, 中国), α -SMA、TGF- β 1、Mig-6 抗体(CST, 美国), 甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)一抗(Immunoway, 美国), 羊抗鼠/羊抗兔二抗(碧云天生物技术研究所, 中国), PVDF 膜、ECL 发光液、彩虹蛋白 Maker(Millipore, 美国), NaAsO₂(Merck, 德国), 脂质体 LipofectamineTM 2000 (Invitrogen, 美国), 真核表达载体 pcDNA3.1(+)-质粒、Mig-6 真核表达载体 pcDNA3.1(+)/Mig-6 质粒(Invitrogen, 美国)。

主要仪器有 CO₂ 培养箱(Memmert, 德国), 稳压稳流定时电泳仪、蛋白电泳/转膜槽、凝胶成像系统(Bio-Rad, 美国), 多功能酶标仪(Thermo Fisher, 美国), 超净工作台(苏州安泰空气净化有限公司, 中国)。

1.3 实验设计

1.3.1 Lx-2 细胞培养 Lx-2 细胞接种于含 10% 胎牛血清、100 IU·mL⁻¹ 青霉素、100 μ g·mL⁻¹ 链霉素及 4 mmol·L⁻¹ 谷氨酰胺的 DMEM 高糖培养基中, 37°C、5%CO₂ 条件下培养。

1.3.2 NaAsO₂ 染毒 Lx-2 细胞 根据课题组既往试验得出的半数抑制浓度及最佳染毒结果^[12], 设置染毒剂量梯度及时间。(1)量-效关系研究: 分别采用 0、1.875、3.75、7.5、15 μ mol·L⁻¹ NaAsO₂ 染毒体外常规培养的 Lx-2 细胞 24 h 后, 观察 Mig-6 蛋白表达水平变化。(2)时效关系研究: 以 7.5 μ mol·L⁻¹ NaAsO₂ 分别处理 Lx-2 细胞 0、12、24、48、72 h 后, 观察不同染毒时间 Mig-6 蛋白表达水平改变。

1.3.3 质粒转染过表达 Mig-6 采用的哺乳动物表达载体为 pcDNA3.1(+)、pcDNA3.1(+)/Mig-6 载体。取对数生长期的细胞接种于 6 孔板, 待细胞生长到 80%, 按脂质体 LipofectamineTM 2000 转染试剂盒进行转染, 试验分为 5 组: 对照组、空载体对照组 [pcDNA3.1(+)], Mig-6 过表达组 [pcDNA3.1(+)/Mig-6]、单独染砷组 [NaAsO₂(7.5 μ mol·L⁻¹)], Mig-6 过表达联合染砷组 [NaAsO₂(7.5 μ mol·L⁻¹)+pcDNA3.1(+)/Mig-6], 处理时间为 24 h。

1.4 Mig-6、 α -SMA 和 TGF- β 1 蛋白表达水平检测

在各处理终点收集细胞沉淀, 加入适量裂解液, 冰浴后 16000×g 离心, 提取细胞总蛋白, 采用 BCA 法测定 Mig-6 蛋白浓度, Western blotting 法检测 Mig-

6 蛋白表达水平。用上样缓冲液将样品蛋白浓度调节一致, 煮沸变性 10 min, 冷却后用 SDS/PAGE 上样, 恒压电泳至溴酚蓝跑至底部, 冰上恒流转膜, 牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)封闭后, 将 Mig-6、 α -SMA、TGF- β 1 和 GAPDH 蛋白一抗分别按 1:1000、1:2000、1:1000、1:5000 进行 4 °C 孵育过夜, 采用 1:2000 辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育后, 用 ECL 电化学发光液在凝胶成像系统中进行显影, Image J2x 2.1.4.8 软件进行蛋白灰度值分析。

1.5 ECM 中 HA、LN、COL-IV、PIIINP 水平检测

在各处理终点后收集细胞培养上清, 采用 ELISA 法检测细胞上清液中的 HA、LN、COL-IV、PIIINP 分泌水平, 根据 ELISA 试剂盒说明书依次进行。包被抗原, 孵育, 封闭酶标反应孔, 洗涤, 加入待测样品, 加入酶标抗体后孵育, 加入底物, 孵育显色, 加入终止液终止反应, 使用酶标仪检测 450 nm 处光密度值, 依据标准品绘制标准曲线, 最终采用 Curve Expert 2.2.3 软件进行结果分析。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 22.0 对数据进行统计分析, Mig-6、 α -SMA、TGF- β 1 蛋白表达水平及 HA、LN、COL-IV、PIIINP 分泌水平均属于计量资料, 经正态性及方差齐性检验符合正态分布且方差齐, 用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析进行比较, 两两比较采用 LSD 法, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

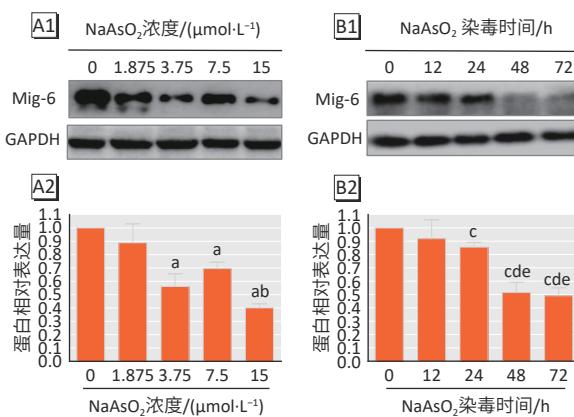
2.1 NaAsO₂ 对 Lx-2 细胞 Mig-6 蛋白表达的影响

Western blotting 结果显示, Mig-6 蛋白表达水平在 3.75、7.5、15 μ mol·L⁻¹ 染砷组(0.561±0.095、0.695±0.048、0.401±0.030)较对照组(1.000±0.000)均降低($P < 0.05$)。进一步采用 7.5 μ mol·L⁻¹ NaAsO₂ 分别处理 Lx-2 细胞 0、12、24、48、72 h, 其 Mig-6 蛋白表达水平在染砷 24、48、72 h(0.856±0.036、0.515±0.077、0.491±0.060)时均较 0 h(1.000±0.000)时降低($P < 0.05$); 且随染砷时间的增加, Mig-6 蛋白表达水平逐渐降低($P < 0.05$), 见图 1。

2.2 过表达 Mig-6 对砷致 Lx-2 细胞活化相关蛋白 α -SMA、TGF- β 1 表达的影响

与对照组比较, Mig-6 过表达组 Mig-6 蛋白表达水平增加($P < 0.05$), 单独染砷组 Mig-6 蛋白水平降低; 而与单独染砷组比较, Mig-6 过表达联合染砷组 Mig-6 蛋白表达水平表达升高($P < 0.05$)。进一步检测 Lx-2 细胞活化相关蛋白表达水平发现, 与对照组相比,

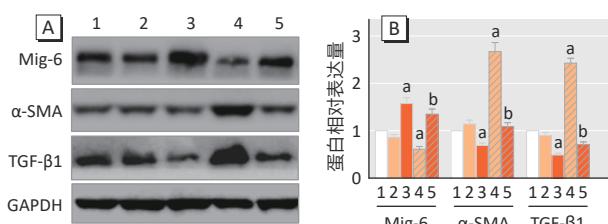
Mig-6 过表达组 α -SMA 和 TGF- β 1 蛋白表达水平均降低 ($P < 0.05$)，单独染砷组 α -SMA 和 TGF- β 1 蛋白表达水平均升高 ($P < 0.05$)；而与单独染砷组比较，Mig-6 过表达联合染砷组 α -SMA 和 TGF- β 1 蛋白表达水平则降低 ($P < 0.05$)。见图 2。



[注] A: 不同浓度 NaAsO₂ 染毒 24 h; B: 7.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO₂ 染毒不同时间; 1: 蛋白条带图; 2: 相对表达量直条图。a: 与 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组相比, b: 与 1.875 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组相比, c: 与 0 h 相比, d: 与 12 h 相比, e: 与 24 h 组相比, $P < 0.05$ 。

图 1 NaAsO₂ 处理 Lx-2 细胞后 Mig-6 蛋白表达水平 ($n=3$)

Figure 1 Protein expression levels of Mig-6 in Lx-2 cells after NaAsO₂ exposure ($n=3$)



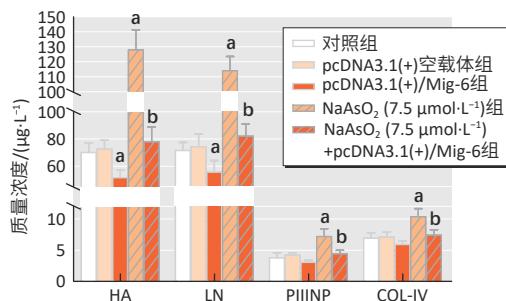
[注] A: 蛋白条带图; B: 相对表达量。1: 对照组; 2: pcDNA3.1 空载体组; 3: pcDNA3.1(+)/Mig-6 组; 4: NaAsO₂ (7.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 组; 5: NaAsO₂ (7.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) +pcDNA3.1(+)/Mig-6 组。a: 与对照组相比, b: 与 NaAsO₂ (7.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 组相比, $P < 0.05$ 。Mig-6: 丝裂原诱导基因 6; α -SMA: α -平滑肌动蛋白; TGF- β 1: 转化生长因子- β 1。

图 2 过表达 Mig-6 后 Lx-2 各组细胞中 Mig-6 及 α -SMA、TGF- β 1 蛋白表达水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Figure 2 Protein levels of Mig-6, α -SMA, and TGF- β 1 in Lx-2 cells after over-expression of Mig-6 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

2.3 过表达 Mig-6 对砷致 Lx-2 细胞 ECM 主要成分的影响

ELISA 结果如图 3 所示：Mig-6 过表达组 HA、LN 分泌水平均较对照组降低；单独染砷组 HA、LN、PIIINP、COL-IV 分泌水平均较对照组增高 ($P < 0.05$)；而 Mig-6 过表达联合染砷组 HA、LN、PIIINP、COL-IV 分泌水平均较单独染砷组降低 ($P < 0.05$)。



[注] HA: 透明质酸; LN: 层黏连蛋白; PIIINP: III 型前胶原氨基端肽; COL-IV: IV 型胶原; ECM: 细胞外基质。a: 与对照组相比, b: 与 NaAsO₂ (7.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 组相比, $P < 0.05$ 。

图 3 过表达 Mig-6 后 Lx-2 各组细胞培养上清中 ECM 主要成分分泌水平 ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Figure 3 Secretion levels of ECM elements in culture supernatants of Lx-2 cells after over-expression of Mig-6 ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3 讨论

研究已表明，Mig-6 可作为一个抑癌基因在机体内发挥作用^[13]。在多种肿瘤组织或细胞中均观察到 Mig-6 表达下调^[18-20]。然而砷是否可致 Mig-6 表达改变，从而发挥砷的毒性作用尚未见相关报道。为观察 Mig-6 在砷暴露状态下的表达水平变化，本研究采用了不同浓度的 NaAsO₂ 处理 Lx-2 细胞 24 h，并用同一浓度 (7.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理 Lx-2 细胞不同时间，结果观察到 NaAsO₂ 处理 Lx-2 细胞后，Mig-6 蛋白表达水平降低，并呈现一定程度的量-效及时-效关系，说明砷可致 Lx-2 细胞中 Mig-6 蛋白表达水平下调。而课题组前期研究已发现，砷可致人肝星状细胞中 α -SMA、TGF- β 1 蛋白表达升高，诱导 HSC 活化^[12]。在此基础上，我们推测砷所致 HSC 活化可能与 Mig-6 低表达有关。

如前言所述，TGF- β 1、 α -SMA、等细胞因子已被公认为 HSC 活化的主要标志物，其中 TGF- β 1 是目前发现的最强促 HSC 活化的细胞因子。为进一步验证 Mig-6 在砷致 Lx-2 细胞活化过程中的具体作用，本研究采用 pcDNA3.1/Mig-6 质粒转染过表达 Lx-2 细胞中 Mig-6，随后检测其 TGF- β 1、 α -SMA 蛋白表达水平。结果发现过表达 Mig-6 可下调 Lx-2 细胞中 α -SMA 和 TGF- β 1 蛋白表达水平，从而逆转砷暴露所引起的 HSC 活化。以上结果表明 Mig-6 在砷致肝纤维化损伤过程中起保护作用。与本研究结果相一致，以往其他研究也发现 Mig-6 在疾病过程中发挥保护作用，徐炜等^[21]采用同样方式过表达 Mig-6 后，发现子宫内膜腺癌细胞的增殖水平和侵袭能力均受到抑制。Li 等^[22]的研究发现上调 Mig-6 的表达可增强肝癌细胞的自噬水平，进一步采用 Mig-6 过表达质粒转染肝癌细胞后发现上调

Mig-6 可增加 Caspase-3 的活性,从而抑制肝癌细胞增殖,促进肝癌细胞凋亡,在肝癌发生发展中发挥重要保护作用^[23]。

ECM 过度沉积是肝纤维化损伤的特征性病变过程。正常肝脏中存在有限数量的 ECM,而活化增殖的 HSC 可导致大量 ECM 的产生,进而导致肝纤维化^[11]。HA、LN、PIIINP、COL-IV 作为 ECM 的主要成分,被广泛用作判断肝纤维化程度的血清学指标。其中 HA 在肝纤维化中水平异常增高,研究已表明 HA 在肝纤维化改变过程中具有较高敏感性^[10]; LN 是非胶原性结构糖蛋白,是细胞外骨架支撑的重要结构,肝纤维化发生时沉积在肝窦内并释放入血; PIIINP 是肝纤维化 III 型胶原代谢的直接血清标志物^[11, 24-25]; 而 COL-IV 是肝损伤时最早增生的纤维,在肝纤维化诊断中具有较好特异性^[10]; 新近综述总结出 COL-IV 在机体纤维化发生过程中是一个驱动因素^[26]; 课题组前期已证实,砷暴露诱导 HSC 活化的同时,可增加 ECM 分泌水平^[12]。本研究在发现过表达 Mig-6 可降低砷暴露所致 HSC 活化相关蛋白表达水平基础上,进一步检测了其培养上清中 ECM 主要成分分泌水平,发现过表达 Mig-6 亦可改善砷暴露所致 Lx-2 细胞 ECM 主要成分沉积,提示 Mig-6 对砷所致的肝纤维化损伤有抑制作用。

综上所述,砷可致人肝星状细胞中 Mig-6 蛋白表达下调,促使 HSC 活化标志物 TGF-β1、α-SMA 表达增加,诱导 HSC 活化并促进其 ECM 主要成分沉积。该过程可能是砷致肝纤维化损伤的重要机制之一,但 Mig-6 抑制砷致 HSC 活化的具体分子机制尚待进一步深入研究。

参考文献

- [1] PALMA-LARA I, MARTÍNEZ-CASTILLO M, QUINTANA-PÉREZ JC, et al. Arsenic exposure: a public health problem leading to several cancers[J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2020, 110: 104539.
- [2] TORRES-ARELLANO JM, OSORIO-YÁÑEZ C, SÁNCHEZ-PEÑA LC, et al. Natriuretic peptides and echocardiographic parameters in Mexican children environmentally exposed to arsenic[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, 403: 115164.
- [3] 张涛,王庆陵,葛建梅,等.燃煤污染型砷中毒患者血尿常规与肝肾生化指标特征[J].环境与职业医学,2018,35(12):1089-1093,1099.
ZHANG T, WANG QL, GE JM, et al. Characteristics of blood routine indices, urine routine indices, and biochemical indices of liver and kidney in patients with coal-burning arsenism[J]. *J Environ Occup Med*, 2018, 35(12): 1089-1093,1099.
- [4] FREDIANI JK, NAIOTI EA, VOS MB, et al. Arsenic exposure and risk of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) among U. S. adolescents and adults: an association modified by race/ethnicity, NHANES 2005–2014[J]. *Environ Health*, 2018, 17(1): 6.
- [5] HSU LI, WANG YH, HSIEH FI, et al. Effects of arsenic in drinking water on risk of hepatitis or cirrhosis in persons with and without chronic viral hepatitis[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2016, 14(9): 1347-1355.e4.
- [6] ZHANG CY, YUAN WG, HE P, et al. Liver fibrosis and hepatic stellate cells: etiology, pathological hallmarks and therapeutic targets[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(48): 10512-10522.
- [7] DEWIDAR B, MEYER C, DOOLEY S, et al. TGF-β in hepatic stellate cell activation and liver fibrogenesis-updated 2019[J]. *Cells*, 2019, 8(11): 1419.
- [8] DAS SK, VASUDEVAN D M. Genesis of hepatic fibrosis and its biochemical markers[J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2008, 68(4): 260-269.
- [9] DAWOOD RM, EL-MEGUID M A, SALUM G M, et al. Key players of hepatic fibrosis[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2020, 40(10): 472-489.
- [10] 刘淑妍,王丽洁,孟营.肝纤维化四项检测在判断乙肝患者肝纤维化程度中的应用[J].世界最新医学信息文摘,2021,21(24):213,217.
LIU SY, WANG LJ, MENG Y. Application of four tests of liver fibrosis in judging the degree of liver fibrosis in patients with hepatitis B[J]. *World Latest Med Inf*, 2021, 21(24): 213,217.
- [11] KHURANA A, SAYED N, ALLAWADHI P, et al. It's all about the spaces between cells: role of extracellular matrix in liver fibrosis[J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(8): 728.
- [12] 范丽丽,陈雄,邹忠兰,等.亚砷酸钠对人肝星状细胞活化及细胞外基质分泌的影响[J].中华预防医学杂志,2018,52(10):983-987.
FAN LL, CHEN X, ZOU ZL, et al. Effects of sodium arsenite exposure on activation and extracellular matrix secretion of human hepatic stellate cells[J]. *Chin J Prev Med*, 2018, 52(10): 983-987.
- [13] ZHANG YW, STAAL B, SWIATEK P, et al. Evidence that MIG-6 is a tumor-suppressor gene[J]. *Oncogene*, 2007, 26(2): 269-276.
- [14] ZHANG YW, WOODE GF V. Mig-6, signal transduction, stress response and cancer[J]. *Cell Cycle*, 2007, 6(5): 507-513.
- [15] 李紫璇,钟红珊,徐克,等. Mig-6通过负向调控EGFR通路抑制肺癌细胞增殖[J].现代肿瘤医学,2014,22(10):2259-2262.
LI ZX, ZHONG HS, XU K, et al. Mig-6 inhibiting lung cancer cell proliferation by negatively regulating EGFR pathway[J]. *Mod Oncol*, 2014, 22(10): 2259-2262.
- [16] LI H, CHEN H, WANG H, et al. MicroRNA-374a promotes hepatocellular carcinoma cell proliferation by targeting mitogen-inducible gene 6 (MIG-6)[J]. *Oncol Res*, 2018, 26(4): 557-563.
- [17] HE J, LI CF, LEE HJ, et al. MIG-6 is essential for promoting glucose metabolic reprogramming and tumor growth in triple-negative breast cancer[J]. *EMBO Rep*, 2021, 22(5): e50781.
- [18] LI Z, QU L, LUO W, et al. Mig-6 is down-regulated in HCC and inhibits the proliferation of HCC cells via the P-ERK/Cyclin D1 pathway[J]. *Exp Mol Pathol*, 2017, 102(3): 492-499.
- [19] LIU J, CHO SN, WU SP, et al. Mig-6 deficiency cooperates with oncogenic Kras to promote mouse lung tumorigenesis[J]. *Lung Cancer*, 2017, 112: 47-56.
- [20] OKUDA K, UMEMURA A, UMEMURA S, et al. Honokiol prevents non-alcoholic steatohepatitis-induced liver cancer via EGFR degradation through the glucocorticoid receptor—MIG6 axis[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(7): 1515.
- [21] 徐炜,施秀,晋一超,等.过表达丝裂原诱导基因6对子宫内膜癌细胞凋亡和侵袭力的影响[J].南京医科大学学报(自然科学版),2015,35(5): 626-630,643.
XU W, SHI X, JIN YC, et al. Effects of mitogen-inducible gene 6(MIG6) on apoptosis, proliferation and invasion of endometrial carcinoma[J]. *Acta*

- Univ Med Nanjing (Nat Sci), 2015, 35(5): 626-630,643.
- [22] LI Z, TIAN Y, QU L, et al. AAV-Mig-6 increase the efficacy of TAE in VX2 rabbit model, is associated with JNK mediated autophagy[J]. *J Cancer*, 2019, 10(4): 1060-1069.
- [23] 李紫璇, 翟欢, 钟红珊, 等. Mig-6基因表达对肝癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. *现代肿瘤医学*, 2016, 24(12): 1857-1861.
- LI ZX, ZHAI H, ZHONG HS, et al. Effects of Mig-6 expression on cell proliferation and apoptosis in hepatocellular carcinoma[J]. *Mod Oncol*, 2016, 24(12): 1857-1861.
- [24] MAK KM, MEI R. Basement membrane type IV collagen and laminin: an overview of their biology and value as fibrosis biomarkers of liver disease[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2017, 300(8): 1371-1390.
- [25] TANWAR S, TREMBLING PM, GUHA IN, et al. Validation of terminal peptide of procollagen III for the detection and assessment of nonalcoholic steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatology*, 2013, 57(1): 103-111.
- [26] WILLIAMS L, LAYTON T, YANG N, et al. Collagen VI as a driver and disease biomarker in human fibrosis[J/OL]. *FEBS J*, 2021. <https://doi.org/10.1111/febs.16039>.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 陈姣)

· 告知栏 ·

《环境与职业医学》出版伦理声明

《环境与职业医学》遵循出版道德委员会 (Committee on Publication Ethics, COPE) 的指导方针调查和处理不当行为的指控或怀疑。

对于作者：①所投稿件必须是作者的原创作品，之前不得以印刷或在线形式发表，或同时投给其他出版物，如文中使用先前发表的资料(如图、表格)需要提供相关的归属权和许可证明；②作者应保证所投稿件不存在任何学术不端行为，学术不端行为定义见 CY/T 174—2019《学术出版规范—期刊学术不端行为界定》；③所有作者在投稿时需签署“利益冲突声明”，声明是否存在实际或潜在的利益冲突。

对于编辑与审稿人：编辑和审稿人必须公开任何实际或潜在的竞争性利益，包括所有被合理视为与审稿有关的经济利益或非经济利益；有关竞争性利益和其他道德问题的更详细信息，请参阅 COPE 指导方针。

《环境与职业医学》编辑部

2022 年 2 月 25 日