

# PPP2R3A 通过调控 p53 的表达促进矽肺肺纤维化

史晓妮<sup>1,2</sup>, 杨少奇<sup>1,2</sup>, 成于思<sup>2</sup>, 巢杰<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>东南大学公共卫生学院环境医学工程教育部重点实验室,南京 210009; <sup>2</sup>东南大学医学院生理学系,南京 210009)

**摘要** 矽肺是世界范围内较严重的职业病之一,其发病机制尚未完全阐释清楚。蛋白磷酸酶2A(PP2A)具有调节肿瘤信号通路、细胞发育进程及细胞周期的功能,PP2A的调节亚基B与核心酶结合,导致PP2A全酶复合物的组织表达特异性和底物特异性。蛋白磷酸酶2A调节亚基B"α(PPP2R3A)是PP2A调节亚基B"中的一个亚基,是细胞增殖的调节因子,但目前的研究尚不清楚PPP2R3A在肺纤维化中所发挥的作用。本研究采用气管滴注二氧化硅(SiO<sub>2</sub>, 250 mg/kg)构建肺纤维化模型;采用5 ng/mL TGF-β1刺激人肺成纤维细胞(HPF-a)构建纤维化相关的细胞模型;qRT-PCR实验检测*Ppp2r3a*转录水平;免疫荧光和蛋白免疫印迹实验检测蛋白水平;采用CCK-8实验检测细胞活力;划痕实验检测细胞迁移能力。实验结果表明,SiO<sub>2</sub>模型组小鼠出现矽结节且胶原沉积明显,PPP2R3A在肺脏成纤维细胞中表达上升,可以影响细胞的活力和迁移能力,且可能通过调控p53信号通路的表达促进肺纤维化的进程。本研究为肺纤维化的防治提供了新的思路。

**关键词** PPP2R3A; 矽肺; 肺纤维化; 二氧化硅;p53信号通路

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2022)04-0490-08

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20220412

引用本文 史晓妮,杨少奇,成于思,等. PPP2R3A 通过调控 p53 的表达促进矽肺肺纤维化[J]. 中国药科大学学报, 2022, 53(4): 490–497.

Cite this article as: SHI Xiaoni, YANG Shaoqi, CHENG Yusi, et al. PPP2R3A promotes silicosis by regulating the expression of p53[J]. *J. China Pharm Univ*, 2022, 53(4): 490–497.

## PPP2R3A promotes silicosis by regulating the expression of p53

SHI Xiaoni<sup>1,2</sup>, YANG Shaoqi<sup>1,2</sup>, CHENG Yusi<sup>2</sup>, CHAO Jie<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Environmental Medicine Engineering, Ministry of Education, School of Public Health, Southeast University, Nanjing 210009; <sup>2</sup>Department of Physiology, School of Medicine, Southeast University, Nanjing 210009, China

**Abstract** Silicosis, one of the most serious occupational diseases in the world, is a complex pathological process with multi-cell involvement and multi-factor regulation, and its pathogenesis has not been fully elucidated. Protein phosphatase 2A (PP2A) regulates tumor signaling pathways, cell development and cell cycle. The regulatory subunit B of PP2A binds to the core enzyme, resulting in tissue expression specificity and substrate specificity of the PP2A holoenzyme complex. Protein phosphatase 2A regulatory subunit B"α (PPP2R3A) is a subunit of PP2A regulatory subunit B", which is a regulator of cell proliferation. However, the role of PPP2R3A in pulmonary fibrosis is still unclear. In this study, the pulmonary fibrosis model was established by endotracheal infusion of silica (SiO<sub>2</sub>, 250 mg/kg). Human pulmonary fibroblast-adult cells (HPF-a) were stimulated with 5 ng/mL TGF-β1 to construct fibro-related cell models. The transcription level of *Ppp2r3a* was detected by qRT-PCR assay. Immunofluorescence and Western blot experiments were performed to detect protein levels. Cell viability was detected by CCK-8 assay. The cell migration ability was detected by scratch test. Experimental results showed that silica nodules and collagen deposition were obvious in the SiO<sub>2</sub> group, and the expression of PPP2R3A in lung fibroblasts increased, which could affect cell viability and migration ability, and may promote the progression of pulmonary fibrosis by regulating the expression of p53 signaling pathways. This study provides a new idea for the prevention and treatment of pulmonary fibrosis.

收稿日期 2022-05-10 \*通信作者 025-83272312 E-mail: chaojie@seu.edu.cn

基金项目 国家自然科学基金资助项目(No. 81972987)

**Key words** PPP2R3A; silicosis; pulmonary fibrosis; silica; p53 signaling pathways

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81972987)

尘肺病是最常见的职业病之一<sup>[1-2]</sup>,而矽肺是尘肺病中发病率高、进展快、病死率高的一种疾病,其特点是长期吸入游离二氧化硅( $\text{SiO}_2$ )粉尘后肺纤维化进行性加重<sup>[3]</sup>。但其发病机制尚未完全阐释清楚,且目前药物治疗效果不佳。蛋白磷酸酶2A(PP2A)因参与重要肿瘤信号通路的调节、细胞发育进程及细胞周期的调控而受到众多学者的关注<sup>[4-5]</sup>。研究报道,在小鼠体内特异性敲除 $ppp2rla$ 基因(编码 PP2A A $\alpha$  亚基)会促进炎症的发生以及肝纤维化<sup>[6]</sup>。蛋白磷酸酶2A 调节亚基 B'' $\alpha$ (PPP2R3A)是 PP2A 调节亚基 B'' 中的一个亚基,不仅影响细胞周期,还参与不同生理和/或病理环境下的代谢和关键信号通路的调控,主要调控细胞周期和凋亡,是细胞增殖的主要调节因子<sup>[7]</sup>。PP2A 的 A 和 C 亚基普遍表达,但 B 亚基的表达水平和细胞定位在不同细胞类型和组织中存在显著差异<sup>[8]</sup>,且 PPP2R3A 在纤维化发生中的作用及其机制尚不明确,对于 PPP2R3A 与纤维化关系的研究报道相对较少。本研究探讨了 PPP2R3A 在矽肺肺纤维化过程中的作用及机制,为防治矽肺提供新的思路。

## 1 材 料

### 1.1 试 剂

转化生长因子 $\beta 1$ 蛋白(TGF- $\beta 1$ ,南京金斯瑞生物科技有限公司); $\text{SiO}_2$ (美国 Sigma 公司);DMEM 培养基、胎牛血清(美国 Gibco 公司);ACTB 抗体(美国 Santa 公司);GAPDH、PPP2R3A、p53、Collagen1、ACTA2 抗体(美国 Proteintech 公司);FN1 抗体(英国 Affinity 公司);RNA 提取液(日本 Takara 公司);Lipo3000 转染试剂(美国 Thermo 公司);小干扰 RNA(siRNA,上海吉玛医药科技有限公司);进口封闭山羊血清(美国 Life Technologies 公司);RIPA 裂解液(强)(上海碧云天生物科技有限公司);ECL 化学发光试剂盒(上海天能科技有限公司);其余试剂均为市售分析纯。

### 1.2 仪 器

激光共聚焦扫描显微镜 FV 3000(日本 Olym-

pus 公司);PCR 扩增仪(美国 Bio-Rad 公司);酶标仪(美国 BioTek 公司);高温低速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);凝胶成像曝光仪(上海天能科技有限公司)。

### 1.3 动 物

清洁级雄性 C57BL/6 小鼠,体重 20~25 g,购自南京医科大学实验中心,合格证编号 SYXK(苏)2016-0014。所有动物实验均符合动物伦理委员会标准。

### 1.4 细胞株

人成纤维细胞(HPF-a)株购自美国 ScienCell 公司,培养在含有 10% 胎牛血清、青霉素、链霉素、谷氨酰胺的 DMEM 完全培养基中。

## 2 方 法

### 2.1 构建小鼠矽肺肺纤维化模型

将小鼠置于恒温和湿度适宜的条件下,自由饮食,光/暗循环 12 h/12 h。小鼠腹腔注射戊巴比妥钠麻醉,手术暴露气管,采用提前制备的  $\text{SiO}_2$  悬浮液(250 mg/kg)气管滴注,建立小鼠矽肺肺纤维化模型。对照组给予等量的无菌生理盐水。造模 56 d 后取肺组织,用于做免疫荧光实验的肺组织首先灌注磷酸盐缓冲液,用 4% 多聚甲醛固定、30% 蔗糖溶液脱水,冰冻切片、染色。所有动物手术均严格按照 ARRIVE 指南(动物研究:体内实验报告)进行,动物手术均经东南大学医学院动物护理与使用委员会批准,符合有关实验动物管理和使用的规定。

### 2.2 TGF- $\beta 1$ 刺激 HPF-a 细胞构建纤维化相关的体外模型

HPF-a 细胞接种于培养瓶或培养皿中,在含有 5%  $\text{CO}_2$ 、37 °C 的培养箱中培养,2~4 d 进行一次传代扩增。之后在含有细胞的培养板依次加入 0, 1, 2, 5, 5, 10 ng/mL 的转化生长因子 $\beta 1$ 蛋白(TGF- $\beta 1$ ),处理 24 h 后收集样品,加裂解液提取蛋白,用 Western blot 实验选取最适刺激浓度。之后用最适浓度处理细胞,按 0, 1, 3, 6, 12, 24 h 收集样品,加细胞裂解液或 RNA 提取液(Trizol)检测细胞

内蛋白水平或mRNA表达变化。

### 2.3 天狼星红染色

成功建立小鼠模型后,将肺组织取出,用4%多聚甲醛固定,将肺组织切片备用。用磷酸盐缓冲液冲洗肺组织切片3次,加入天狼星红染液在室温孵育60 min,之后迅速用醋酸溶液冲洗2次,用乙醇溶液漂洗,浸泡和脱水,中性树胶封片,4 °C保存,待显微镜观察捕捉图像。

### 2.4 RNA干扰

将细胞接种在24孔板上,当细胞密度达到60%~80%时开始转染。在转染实验开始时,在一管无血清培养基中加入siRNA,另一管无血清培养基中加入转染试剂,静置5 min后,将两种溶液混合静置15 min。将混合溶液加入孔板中,孵育至少12 h,然后更换完全培养基,将细胞置于37 °C培养箱中继续培养用于后续实验。

### 2.5 统计分析数据

使用GraphPad Prism 8.0统计分析各项实验数据和作图,每组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组独立样本之间采用t检验,多组样本间采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 认为有统计学意义;使用Image J对Western blot条带、划痕实验进行统计分析。

## 3 结果

### 3.1 PPP2R3A在矽肺小鼠模型中表达增加

天狼星红染色结果显示,与生理盐水(NS)组相比,矽肺模型(SiO<sub>2</sub>)组胶原明显沉积,有典型的矽结节形成(图1-A),Western blot结果显示,ACTA2的蛋白水平在矽肺模型组显著高于NS组(图1-B,1-C),均可提示小鼠矽肺模型构建成功。Western blot结果显示,PPP2R3A的蛋白水平在矽肺模型组显著高于NS组(图1-D,1-E)。组织免疫荧光结果显示,在矽肺模型组中,与纤维化相关的标志物波形蛋白(vimentin)的水平增加,这提示肺中成纤维细胞增加,且PPP2R3A与vimentin存在共定位,同时PPP2R3A的蛋白水平高于NS组,说明在肺纤维化发生发展进程中,PPP2R3A在成纤维细胞中表达增加(图1-F)。

### 3.2 PPP2R3A在TGF-β1处理的细胞模型中表达显著上调

TGF-β1可作为矽肺早期生物标志物之一,在矽肺发生发展中有重要作用。采用TGF-β1刺激

HPF-a细胞构建体外模型,Western blot结果显示TGF-β1刺激HPF-a细胞,纤维化相关标志物FN1和ACTA2水平在5 ng/mL时最高(图2-A~2-C)。在之后的体外实验中,TGF-β1的质量浓度均采用5 ng/mL。TGF-β1刺激HPF-a细胞,Western blot结果显示纤维化相关标志物FN1和ACTA2水平呈时间依赖性上调(图2-D~2-F),纤维化相关细胞模型构建成功。

在体实验结果提示,PPP2R3A在矽肺模型组的蛋白水平高于NS组。本研究进一步探讨在体外细胞模型中PPP2R3A的变化。TGF-β1刺激HPF-a细胞后,Western blot结果显示PPP2R3A的蛋白水平呈短暂性上升,6 h达到峰值(图3-A~3-B)。qRT-PCR结果显示*Ppp2r3a*表达呈时间依赖性上升(图3-C)。进一步说明了PPP2R3A的上升可能参与了矽肺纤维化的病理进程。

### 3.3 PPP2R3A介导了TGF-β1诱导的HPF-a细胞功能

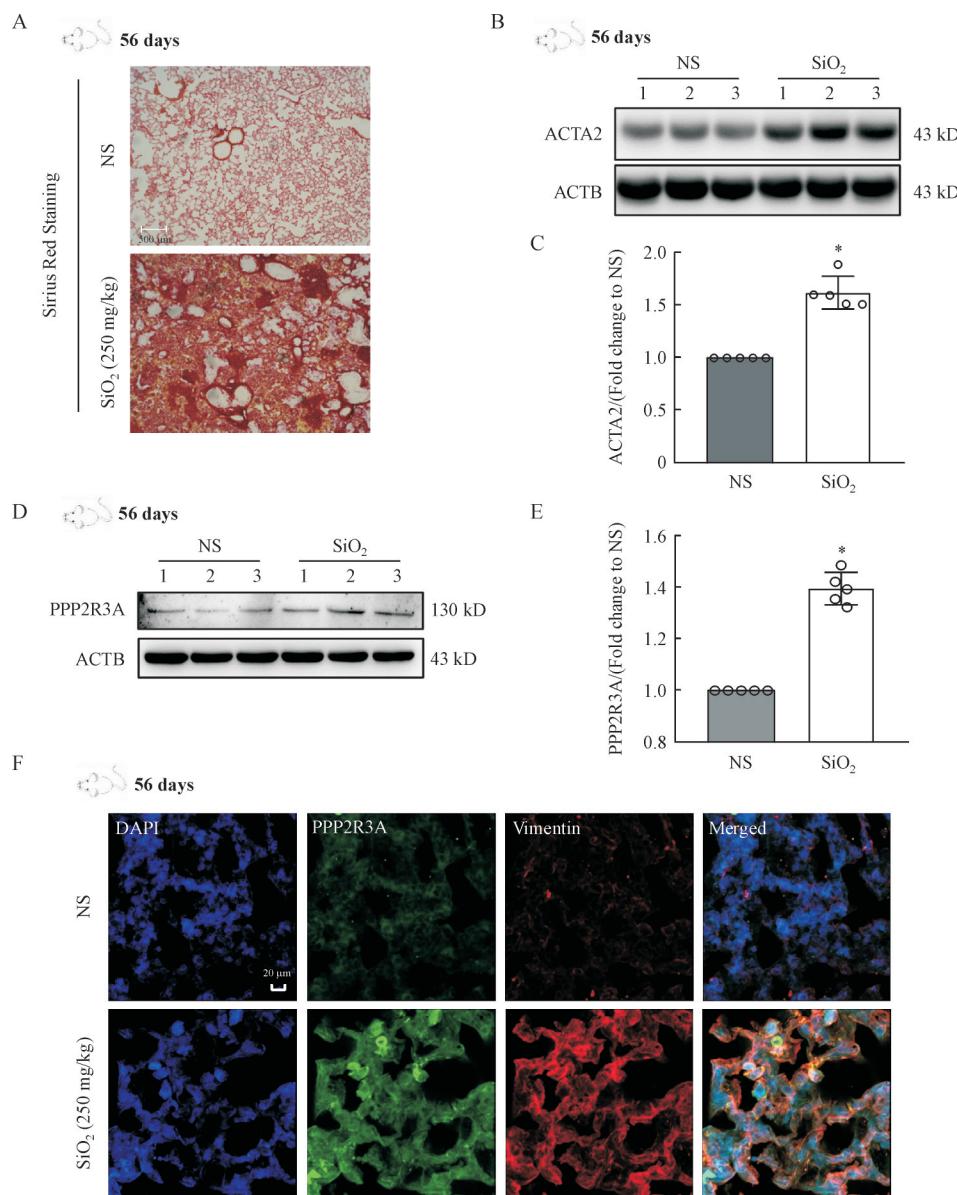
TGF-β1可以使HPF-a细胞活力升高、迁移速度增加(图4-A,4-E)。本研究进一步探究敲减*Ppp2r3a*是否可以逆转这一现象。首先采si-RNA敲减*Ppp2r3a*,Western blot结果发现siRNA-*Ppp2r3a-1174*敲减效率最高(图4-B~4-C);且敲减*Ppp2r3a*可以部分逆转TGF-β1引起的细胞活力和迁移能力的增加(图4-D~4-F)。

### 3.4 PPP2R3A介导了TGF-β1诱导的FN1升高

FN1和ACTA2是纤维化发生的两个标志物,文献报道FN1主要影响细胞迁移和增殖<sup>[9]</sup>,ACTA2是肌成纤维细胞最常用的分子标志物,是细胞活化的标志,同时影响细胞迁移和增殖<sup>[10-11]</sup>。敲减*Ppp2r3a*可以部分逆转TGF-β1引起的FN1的上升(图5-A~5-B),对ACTA2的水平影响不显著(图5-A,5-C)。

### 3.5 PPP2R3A介导了TGF-β1诱导的p53升高

通过String数据库分析发现,PPP2R3A与p53信号通路的相关蛋白有联系(图6-A)。用5 ng/mL TGF-β1刺激HPF-a细胞,发现p53的蛋白水平呈快速而短暂的上升(图6-B~6-C)。敲减*Ppp2r3a*可以部分逆转TGF-β1引起的p53的上升(图6-D),并结合实验室前期对于p53/PUMA的表达介导矽肺的细胞活化和迁移的研究<sup>[12]</sup>,提示p53可能作为PPP2R3A的下游促进矽肺纤维化进程的重要分



**Figure 1** PPP2R3A expression was increased in silicosis mouse models

A: Successful establishment of animal model; B–C: Expression of ACTA2 in mouse lung tissue was detected by Western blot ( $n = 5$ ); D–E: Expression of PPP2R3A in mouse lung tissue was detected by Western blot ( $n = 5$ ); F: Expression of PPP2R3A in mouse lung fibroblasts was detected by tissue immunofluorescence

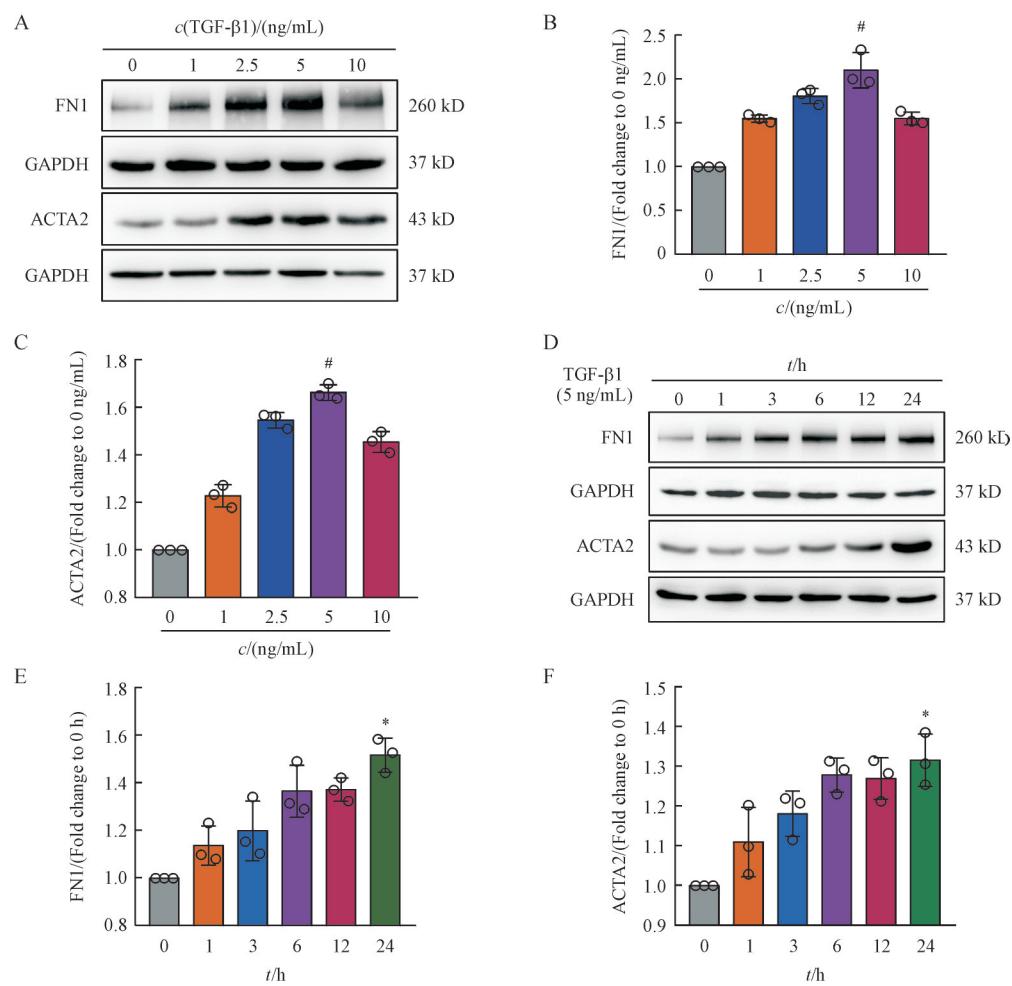
NS: Not significant.  $^*P < 0.05$  vs NS group

子, 从而进一步促进肺成纤维细胞的增殖和迁移, 加快矽肺纤维化进程。

#### 4 讨 论

PPP2R3A 主要通过靶向细胞周期调节因子和凋亡抑制因子调控细胞周期, 是细胞增殖的主要调节因子<sup>[13]</sup>, 这一蛋白与疾病的关系目前报道较少。结合本课题组前期环状 RNA 测序结果提示<sup>[14]</sup>, PPP2R3A 对应的环状 RNA 发生变化, 因此

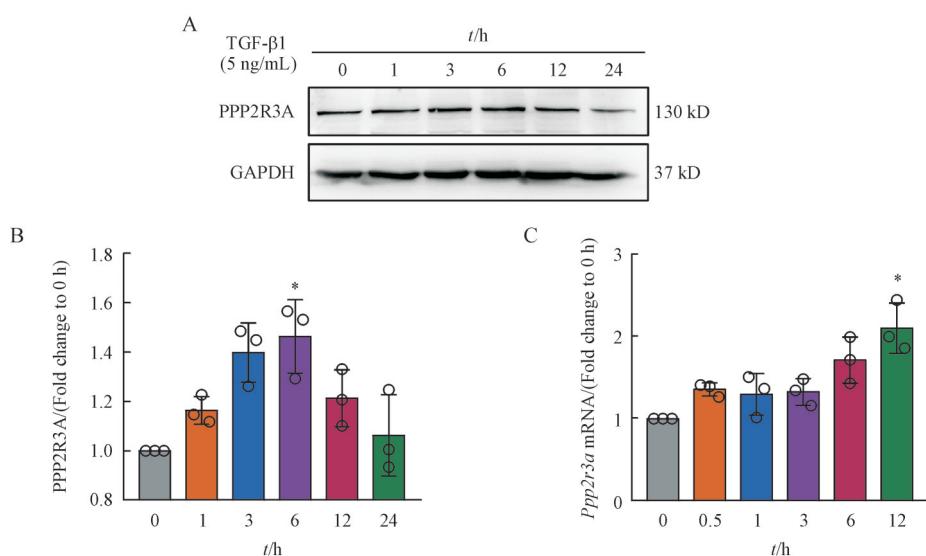
探究 PPP2R3A 与肺纤维化的关系势在必行。本研究采用课题组前期摸索的造模浓度和时间<sup>[15]</sup>, 气管滴注  $\text{SiO}_2$  成功构建小鼠矽肺肺纤维化模型, 矽肺肺纤维化小鼠中 PPP2R3A 的水平显著高于生理盐水组, 提示 PPP2R3A 在肺纤维化发生中可能发挥着重要的作用。相关文献报道 TGF- $\beta$ 1 可致纤维化<sup>[16–17]</sup>, 而在 HPF-a 细胞中 TGF- $\beta$ 1 是否也能致纤维化尚不明确。本研究采用 TGF- $\beta$ 1 在 HPF-a 细胞中成功构建肺纤维化体外模型。TGF- $\beta$ 1 刺激



**Figure 2** TGF- $\beta$ 1 stimulated HPF-a cells to construct *in vitro* model

A–C: Dose-effect relationship was detected by Western blot ( $n = 3$ ); D–F: Expression of FN1 and ACTA2 was detected by Western blot ( $n = 3$ )

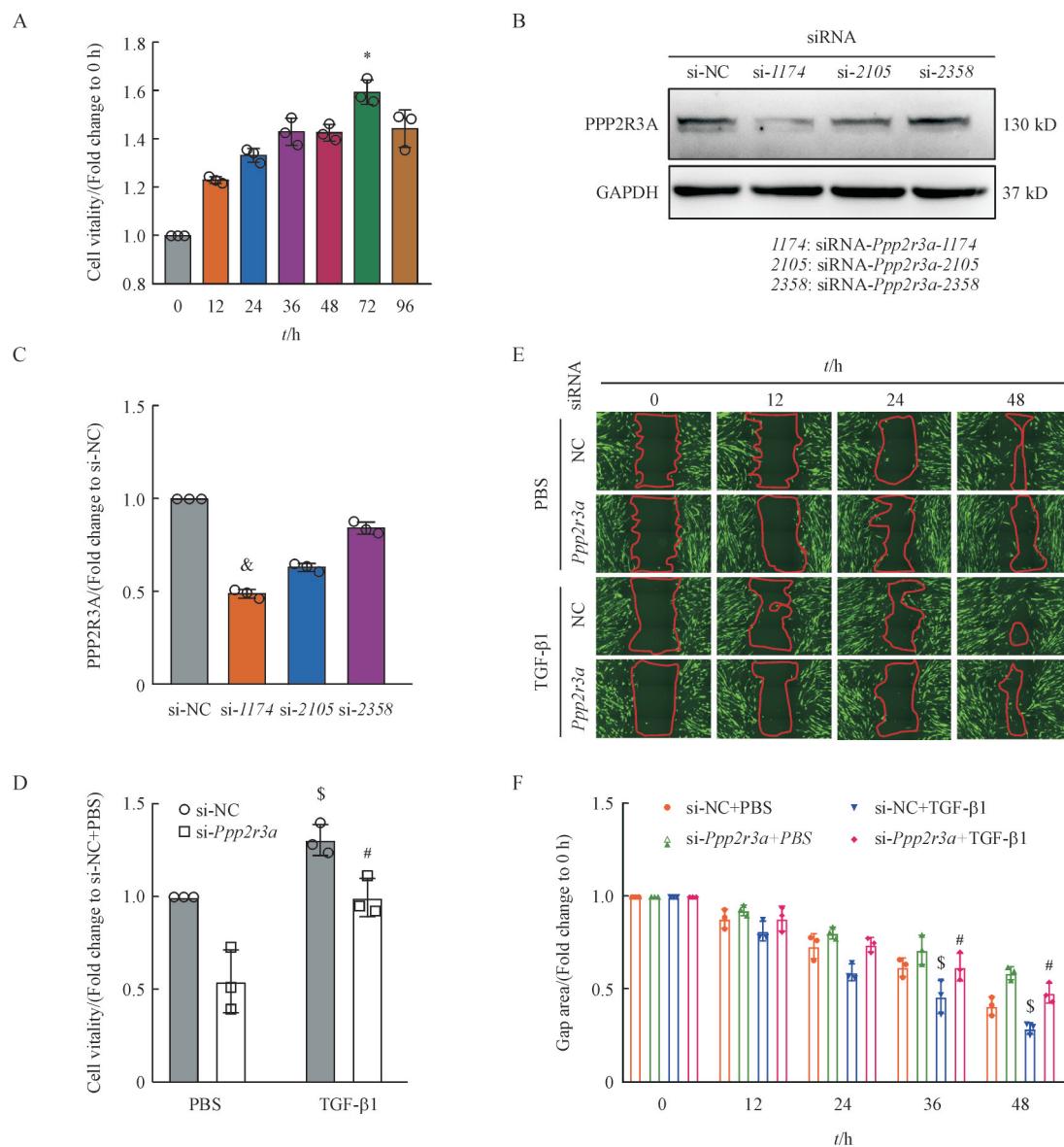
\* $P < 0.05$  vs 0 ng/mL group; \* $P < 0.05$  vs 0 h group



**Figure 3** Expression of PPP2R3A in cell models

A–B: Protein level of PPP2R3A in cell model was detected by Western blot ( $n = 3$ ); C: Expression of *Ppp2r3a* mRNA was detected by qRT-PCR ( $n = 3$ )

\* $P < 0.05$  vs 0 h group



**Figure 4** Effects of PPP2R3A on the function of HPF-a cells

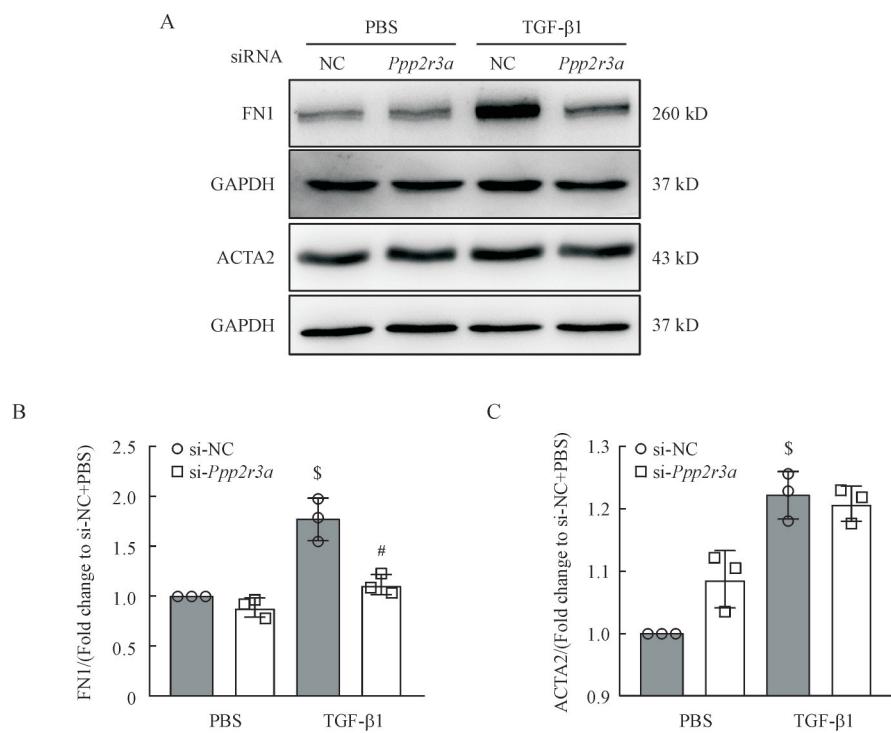
A: CCK-8 detected cell viability ( $n = 3$ ); B-C: Knockdown efficiency of *Ppp2r3a* detected by Western blot ( $n = 3$ ); D: CCK-8 detected cell viability after *Ppp2r3a* knockdown ( $n = 3$ ); E-F: Change of cell migration ability after *Ppp2r3a* knockdown was detected by scratch assay ( $n = 3$ )

\* $P < 0.05$  vs 0 h group; & $P < 0.05$  vs si-NC group;  $\$P < 0.05$  vs si-NC+PBS group;  $\#P < 0.05$  vs si-NC+TGF- $\beta$ 1 group

HPF-a 细胞, PPP2R3A 的蛋白水平呈短暂性的上升, FN1 和 ACTA2 的蛋白水平呈时间依赖性上升。本研究的结果提示 PPP2R3A 的蛋白变化在 mRNA 之前, 可能由于转录后调控和翻译及翻译后调控, 分析可能是翻译后调控或者是转录调控的正向调节在此过程中发挥调控作用, 后续将继续对此进行分析研究。本研究发现敲减 *Ppp2r3a* 之后, 细胞迁移能力和细胞活力降低, FN1 的蛋白水平下调, 但是对 ACTA2 的蛋白水平影响不显著。FN1 主要影响细胞迁移和增殖<sup>[9]</sup>, 研究结果与所报道的文献

一致。有趣的是, ACTA2 是细胞活化的标志, 敲减 *Ppp2r3a* 仅影响细胞活力而不影响 ACTA2 的蛋白水平, 说明细胞活力可能不仅仅受 ACTA2 的影响, 有待进一步探究。

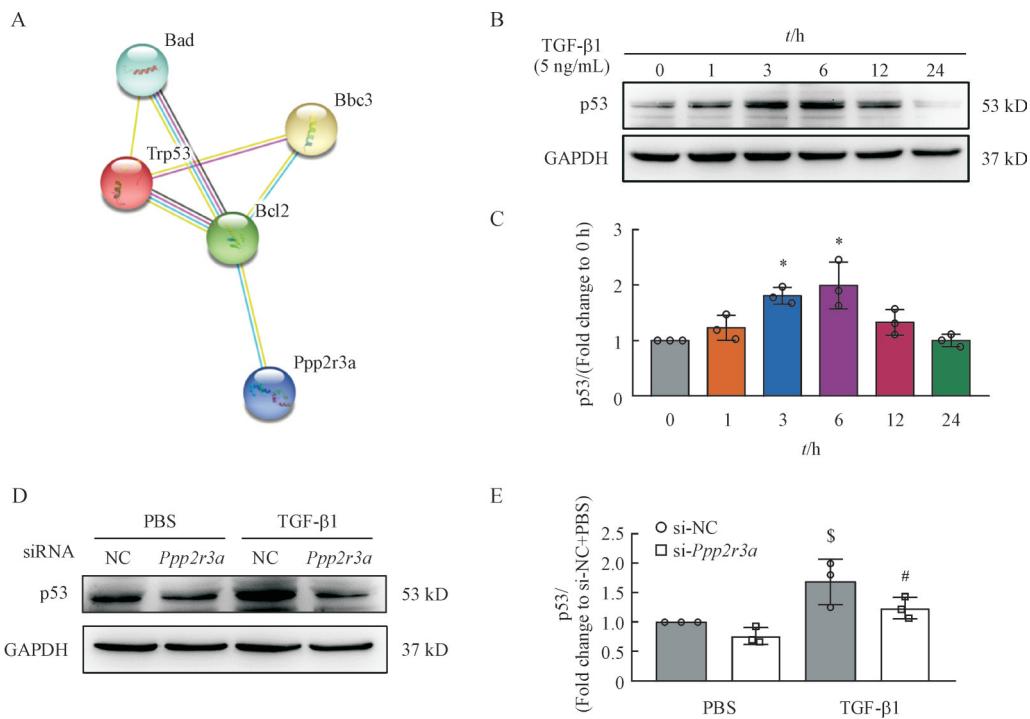
新近的研究理念提出肺成纤维细胞的活化以及细胞凋亡的失衡是肺纤维化发生的关键环节<sup>[18]</sup>, p53 信号通路通过调控成纤维细胞的增殖与活化在纤维化进展中发挥重要作用<sup>[19-21]</sup>。本研究发现, TGF- $\beta$ 1 刺激细胞后, p53 呈快速而短暂的上升, 且敲减 *Ppp2r3a* 部分逆转 TGF- $\beta$ 1 引起的 p53 的



**Figure 5** Effects of PPP2R3A on fibrosis markers FN1 and ACTA2

A–C: *Ppp2r3a* was knocked down, and the expression of FN1 and ACTA2 was detected by Western blot ( $n = 3$ )

$^{\$}P < 0.05$  vs si-NC+PBS group;  $^{\#}P < 0.05$  vs si-NC+TGF- $\beta$ 1 group



**Figure 6** Effect of PPP2R3A on p53 protein level

A: String analysis of PPP2R3A downstream targets (from String database); B–C: Western blot detected the level of p53 in the cell model ( $n = 3$ ); D–E: *Ppp2r3a* was knocked down, and the expression of p53 was detected by Western blot ( $n = 3$ )

$^{\ast}P < 0.05$  vs 0 h group;  $^{\$}P < 0.05$  vs si-NC+PBS group;  $^{\#}P < 0.05$  vs si-NC+TGF- $\beta$ 1 group

蛋白水平上升,结合本课题组前期的研究, p53 可以促进细胞迁移、增殖,使细胞活力增强<sup>[12]</sup>。因此,本研究证实了 PPP2R3A 在肺纤维化中发挥作用与 p53 有关。

综上所述,在肺纤维化中,PPP2R3A 和 p53 的水平均上调,这提示 PPP2R3A 和 p53 在纤维化的发生中发挥作用。进一步实验发现敲减 *Ppp2r3a* 部分逆转 TGF-β1 引起的细胞活力和迁移增加以及 p53 的蛋白水平上升,提示 PPP2R3A 可通过调控 p53 的表达促进纤维化的发生,这为肺纤维化的防治提供了新的思路。

致谢:本研究得到东南大学医学院核心实验室的支持。

## References

- [1] Shen K. China reports over 970,000 cases of occupational diseases[N]. *Xinhua*, 2019-05-18.
- [2] Shi P, Xing XY, Xi SH, et al. Trends in global, regional and national incidence of pneumoconiosis caused by different aetiologies: an analysis from the Global Burden of Disease Study 2017[J]. *Occup Environ Med*, 2020, **77**(6):407-414.
- [3] Pollard KM. Silica, silicosis, and autoimmunity[J]. *Front Immunol*, 2016, **7**:97.
- [4] Wlodarchak N, Xing YN. PP2A as a master regulator of the cell cycle[J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2016, **51**(3):162-184.
- [5] Sangodkar J, Perl A, Tohme R, et al. Activation of tumor suppressor protein PP2A inhibits KRAS-driven tumor growth[J]. *J Clin Invest*, 2017, **127**(6):2081-2090.
- [6] Chen LP, Guo P, Li WX, et al. Perturbation of specific signaling pathways is involved in initiation of mouse liver fibrosis [J]. *Hepatology*, 2021, **73**(4):1551-1569.
- [7] Chen HJ, Xu J, Wang PX, et al. Protein phosphatase 2 regulatory subunit B"Alpha silencing inhibits tumor cell proliferation in liver cancer[J]. *Cancer Med*, 2019, **8**(18):7741-7753.
- [8] O'Connor CM, Perl A, Leonard D, et al. Therapeutic targeting of PP2A[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2018, **96**:182-193.
- [9] Cai X, Liu C, Zhang TN, et al. Down-regulation of FN<sub>1</sub> inhibits colorectal carcinogenesis by suppressing proliferation, migration, and invasion[J]. *J Cell Biochem*, 2018, **119**(6):4717-4728.
- [10] Xu Z, Zhang LP, Yu Q, et al. The estrogen-regulated lncRNA H19/miR-216a-5p axis alters stromal cell invasion and migration via ACTA2 in endometriosis[J]. *Mol Hum Reprod*, 2019, **25**(9):550-561.
- [11] Zhang J, Jiang XH, Zhang C, et al. Actin alpha 2 (ACTA2) downregulation inhibits neural stem cell migration through rho GTPase activation[J]. *Stem Cells Int*, 2020, **2020**:4764012.
- [12] Wang W, Liu HJ, Dai XN, et al. p53/PUMA expression in human pulmonary fibroblasts mediates cell activation and migration in silicosis[J]. *Sci Rep*, 2015, **5**:16900.
- [13] Creyghton MP, Roel G, Eichhorn PJA, et al. PR130 is a modulator of the Wnt-signaling cascade that counters repression of the antagonist Naked cuticle[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, **103**(14):5397-5402.
- [14] Zhou ZW, Jiang R, Yang XY, et al. circRNA mediates silica-induced macrophage activation via HECTD1/ZC3H12A-dependent ubiquitination[J]. *Theranostics*, 2018, **8**(2):575-592.
- [15] Jiang R. Study on the mechanism of ZC3H4's involvement in interstitial transformation and influence on pulmonary fibrosis in silicosis(矽肺中 ZC3H4 参与间质转化影响肺纤维化的应用机制研究)[D]. Nanjing: Southeast University, 2019.
- [16] Wei P, Xie Y, Abel PW, et al. Transforming growth factor (TGF)-β1-induced miR-133a inhibits myofibroblast differentiation and pulmonary fibrosis [J]. *Cell Death Dis*, 2019, **10**(9):670.
- [17] Dees C, Pötter S, Zhang Y, et al. TGF-β-induced epigenetic deregulation of SOCS<sub>3</sub> facilitates STAT3 signaling to promote fibrosis[J]. *J Clin Invest*, 2020, **130**(5):2347-2363.
- [18] Hohmann MS, Habiol DM, Coelho AL, et al. Quercetin enhances ligand-induced apoptosis in senescent idiopathic pulmonary fibrosis fibroblasts and reduces lung fibrosis *in vivo* [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2019, **60**(1):28-40.
- [19] Meyer K, Hodwin B, Ramanujam D, et al. Essential role for premature senescence of myofibroblasts in myocardial fibrosis[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, **67**(17):2018-2028.
- [20] Tamaki Y, Iwanaga Y, Niizuma S, et al. Metastasis-associated protein, S100A4 mediates cardiac fibrosis potentially through the modulation of p53 in cardiac fibroblasts[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2013, **57**:72-81.
- [21] Wu Q, Zhang KJ, Jiang SM, et al. p53: a key protein that regulates pulmonary fibrosis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, **2020**:6635794.