

• 论 著 •

miR-181 通过调控 TGFBR1 表达抑制颅内动脉瘤中平滑肌细胞的表型转换*

王如科¹, 孙源源², 李克芬¹, 李一帆¹, 于国渊^{1△}

1. 河北省邯郸市中心医院神经外科, 河北邯郸 056001 ; 2 河北省邯郸市
第一医院影像科, 河北邯郸 056001

摘 要:目的 探讨颅内动脉瘤(IA)中 miR-181 在血管平滑肌细胞(VSMC)表型转换中的作用及机制。方法 收集邯郸市中心医院神经外科确诊为 IA 的患者 80 例, 以及同期健康体检中心 80 例年龄、性别匹配的健康对照者作为研究对象。采用实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)检测 IA 患者和健康对照者血清 miR-181 水平。miR-181 模拟物(miR-181 mimics)转染人脑 VSMC 检测收缩表型基因 α -平滑肌肌动蛋白(SMA)、平滑肌 22 α 蛋白(SM22 α)、合成表型基因骨桥蛋白(OPN)及基质金属蛋白酶(MMP)-2 和 MMP-9 的表达水平。采用 TargetScan 软件预测 miR-181 的靶基因, 根据预测结果, 采用双荧光素酶报告基因检测系统验证 miR-181 与转化生长因子 β 受体 1(TGFBR1)的靶向调控关系; 采用 Western bolt 检测手术中取出的 IA 组织和接受颅脑治疗的创伤患者的颞浅动脉组织中 TGFBR1 的表达水平。细胞中过表达 TGFBR1 同时转染 miR-181 mimics 检测 SMA、SM22 α 和 OPN 的表达水平。结果 qPCR 检测结果显示, IA 患者与健康对照者比较, 血清 miR-181 表达水平降低。Western bolt 检测结果显示, miR-181 mimics 转染 VSMC 后 SMA、SM22 α 的表达水平升高, OPN、MMP-2、MMP-9 表达水平降低。TargetScan 软件预测结果显示, TGFBR1 为 miR-181 的靶向调控基因, 双荧光素酶报告基因检测结果显示, 较 TGFBR1-mut 与 NC mimics 共转染组比较, TGFBR1 与 miR-181 mimics 共转染组荧光素酶活性强度明显降低。IA 组织较正常颞浅动脉组织中 TGFBR1-wt 的蛋白表达水平升高。与单独 miR-181 mimics 转染组比较, 细胞中过表达 TGFBR1 同时转染 miR-181 mimics 后 SMA、SM22 α 表达水平降低, OPN 表达水平升高。结论 IA 中 miR-181 表达水平降低, TGFBR1 表达水平升高。过表达 miR-181 通过调控 TGFBR1 的表达水平抑制平滑肌细胞表型转换。

关键词: 颅内动脉瘤; miR-181; 转化生长因子 β 受体 1; 平滑肌细胞表型转换

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2021. 23. 014 **中图法分类号:** R739. 41

文章编号: 1673-4130(2021)23-2885-05 **文献标志码:** A

miR-181 inhibits the phenotypic transition of smooth muscle cells in intracranial aneurysms by regulating the expression of TGFBR1*

WANG Ruke¹, SUN Yuanyuan², LI Kefen¹, LI Yifan¹, YU Guoyuan^{1△}

1. Department of Neurosurgery, Handan Central Hospital, Handan, Hebei 056001, China ;

2. Department of Imaging, Handan First Hospital, Handan, Hebei 056001, China

Abstract: Objective To explore the function and mechanism of miR-181 in the phenotypic transition of vascular smooth muscle cells (VSMC) in intracranial aneurysms (IA). **Methods** Collected 80 patients diagnosed with IA in the Department of Neurosurgery of Handan Central Hospital, and 80 healthy controls of age and sex matched at the health examination center during the same period as the research objects. Real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was used to detect serum miR-181 levels in IA patients and healthy controls. miR-181 mimics was transfected into human cerebral VSMC to detect the expression levels of contractile phenotype genes α -smooth muscle actin (SMA), smooth muscle 22 α protein (SM22 α), synthetic phenotypic gene osteopontin (OPN) and the expression levels of matrix metalloproteinase

* 基金项目: 河北省医学科学研究课题计划项目(20200439)。

作者简介: 王如科, 男, 主治医师, 主要从事颅内动脉瘤方面的研究。 △ 通信作者, E-mail: wangrk52@163. com。

本文引用格式: 王如科, 孙源源, 李克芬, 等. miR-181 通过调控 TGFBR1 表达抑制颅内动脉瘤中平滑肌细胞的表型转换[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(23): 2885-2889.

(MMP)-2 and MMP-9. Used TargetScan software to predict the target genes of miR-181, according to the prediction results, the dual luciferase reporter gene detection system was used to verify the relationship between miR-181 and targeted regulation of transforming growth factor β receptor 1 (TGFBR1). Western bolt was used to detect the expression level of TGFBR1 in the IA tissue removed during the operation and the superficial temporal artery tissue of trauma patients receiving craniocerebral treatment. The cells overexpressed TGFBR1 and transfected miR-181 mimics to detect the expression levels of SMA, SM22 α and OPN. **Results** The qPCR detection results showed that the serum miR-181 expression level in IA patients was lower than that in healthy controls. Western bolt detection results showed that the expression levels of SMA and SM22 α increased after miR-181 mimics was transfected into VSMC cells, and the expression levels of OPN, MMP-2 and MMP-9 decreased. The prediction results of TargetScan software show that TGFBR1 was a targeted regulatory gene of miR-181. The dual luciferase reporter gene detection results showed that compared with the TGFBR1-mut and NC mimics co-transfection group, the luciferase activity intensity of the TGFBR1-wt and miR-181 mimics co-transfection group was significantly reduced. The protein expression level of TGFBR1-wt in IA tissue was higher than that in normal superficial temporal artery tissue. Compared with the miR-181 mimics single transfection group, the expression levels of SMA and SM22 α decreased and the expression level of OPN increased after the cells were overexpressed with TGFBR1 and simultaneously transfected with miR-181 mimics. **Conclusion** The expression level of miR-181 decreased, and the expression level of TGFBR1 increased in IA. Overexpression of miR-181 inhibits smooth muscle cell phenotypic transition by regulating the expression level of TGFBR1.

Key words: intracranial aneurysms; miR-181; transforming growth factor β receptor 1; phenotypic transition of smooth muscle cells

颅内动脉瘤(IA)是脑动脉主要分叉的病理性扩张,是一种常见的脑血管疾病,急性病死率约为 50%^[1-2]。3%~5%的成年人患有未破裂的 IA^[3]。IA 发生和破裂的机制仍不清楚,IA 的病因可能与血流对血管壁的剪切力应激、炎症、氧化应激和凋亡等因素有关。炎症级联反应触发后大量炎症因子和氧化因子被释放,会导致许多病理过程,包括中膜弹力层中断、血管平滑肌细胞(VSMC)表型转换和细胞外基质重塑等^[4-5]。当血管壁退化时,颅内动脉变得太薄弱,无法抵抗血液动态力,脑动脉管壁发生囊状扩张。VSMC 是血管壁中主要的细胞类型,VSMC 有两种表型:收缩型和合成型^[6]。在炎症和氧化应激等病理刺激下,收缩型 VSMC 可以转换为合成型^[7]。VSMC 表型转换在几种心血管疾病中发挥重要作用^[8]。microRNAs (miRNAs)是一种短链单链非编码 RNA,广泛参与许多转录后调控过程,在调控各种细胞过程中发挥重要作用^[9]。miRNAs 除参与肿瘤的发生和发展外,也参与 IA 的发生和发展。有研究报道,miR-370-3p 通过靶向 IA 中的 KDR/AKT 信号通路抑制平滑肌细胞增殖^[10]。有研究发现,VSMC 中 miR-181 的异常表达可能与动脉粥样硬化和脑血管疾病的发生相关^[11-12]。例如,在 VSMC 中血管紧张素 II (Ang II)降低了 miR-181 的表达水平,过表达 miR-181 抑制了 Ang II 诱导的合成表型基因骨桥蛋

白(OPN)的表达和平滑肌细胞与胶原的黏附^[13],提示 miR-181 可能通过调节 OPN 介导的 VSMC 功能,参与动脉粥样硬化的病理生理过程。本研究旨在探究 IA 中 miR-181 在平滑肌细胞表型转换中的作用,采用 TargetScan 预测其靶蛋白并验证其作用机制。

1 资料与方法

1.1 标本收集 收集邯郸市中心医院神经外科 2016 年 11 月至 2019 年 5 月确诊为 IA 并进行手术的患者 80 例,并收集同期健康体检中心年龄、性别匹配无 IA 家族史的健康对照者 80 例作为研究对象。手术中取出的 IA 组织在液氮中快速冷冻。收集接受开颅治疗的创伤患者的正常颞浅动脉。本研究经邯郸市中心医院伦理委员会批准,所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 主要材料 Trizol 试剂购自美国 Thermo 公司, TaqMan 反转录试剂盒购自日本 Takara 公司,实时荧光定量反转录聚合酶链反应(qRT-PCR)试剂盒购自美国 Biotuim 公司。miR-181 模拟物(miR-181 mimics)由上海吉凯基因公司合成,人脑 VSMC 购自美国 ScienCell 公司。Lipofectamine 2000 转染试剂购自美国 Thermo 公司。 α -平滑肌肌动蛋白(SMA)、平滑肌 22 α 蛋白(SM22 α)、 β -actin 抗体均购自武汉三鹰生物技术有限公司。OPN、基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9 抗体均购自美国 Abcam 公司。转化生长因子 β 受体 1(TGFBR1)的 3'非翻译区(3'-UTR)荧光

素酶报告基因载体[TGFBR1 野生型(wt)及突变型(mut)]由上海吉凯基因公司构建,双荧光素酶活性检测试剂盒购自上海翊圣生物科技有限公司。DMEM 培养基、胎牛血清(FBS)均购自美国 Gibco 公司。辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗购自武汉三鹰生物技术有限公司。PVDF 膜购自美国 Millipore 公司。

1.3 实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR) IA 患者和健康对照者均抽取空腹肘静脉血约 5 mL,室温静置 30 min,3 000 r/min 离心 5 min,吸取上清液置于-80 ℃冰箱保存。标本收集完毕后,向 200 μ L 上清液中加入 1 mL Trizol 裂解液吹打混匀后室温裂解 5 min。每管中加入 200 μ L 氯仿,室温放置 15 min,12 000 r/min,4 ℃离心 15 min。吸取上清液加入等体积异丙醇,室温放置 10 min,12 000 r/min,4 ℃离心 10 min,弃掉上清液,用 1 mL 75%乙醇(DEPC 水配制)重悬沉淀,8 000 r/min,4 ℃离心 5 min,晾干沉淀。用去离子水溶解 RNA。

将 RNA 进行反转录得到模板单链 cDNA,然后采用 qPCR 试剂盒对 cDNA 进行 qPCR。按照试剂盒说明书配制 20 μ L 体系,收集荧光信号。每个样品做 3 个复孔。Ct 值为荧光信号达到设定阈值的循环数。用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 miR-181 的相对表达水平。miR-181 引物 F:GCGAACATTTCATTGCTGTCG;R:GCAC TGGATACGACACCCAC。用 U6 作为内参,U6 引物 F:GCGCGTCGTGAAGCGTTCT;R:CACTGGA TACGACAAATATG。

1.4 细胞培养 人脑 VSMC 快速复苏后,800 r/min 离心 5 min,弃掉冻存液,采用含 10% FBS 的 DMEM 高糖培养基重悬细胞,放置在 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养,每隔 2 d 更换一次细胞培养基。当细胞生长至 80%~90%融合时用 0.25%胰酶进行消化,磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 3 次后,细胞计数,以每孔 1×10^5 个接种到 6 孔培养板中,放置在 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中继续培养。

1.5 细胞转染 人脑 VSMC 呈对数生长期时,采用 0.25%胰酶消化细胞,PBS 冲洗 3 次,采用含 10% FBS 的 DMEM 高糖培养基重悬制成单个细胞悬液。细胞计数后以每孔 1×10^5 个铺至 6 孔板中,分为 miR-181 mimics 和 NC mimics,细胞贴壁 18~24 h 后,按照 Lipofectamine 2000 说明书将 miR-181 mimics 和 NC mimics 分别与无血清培养基混匀后加入各组待转染的细胞中,置于培养箱中培养 48 h 后进行后续实验。

1.6 Western bolt 收集转染完成的细胞,每孔中加入 100 μ L 蛋白裂解液,在冰上裂解 20 min。加入适量上样缓冲液,以 100 ℃水浴煮沸 5 min 使蛋白变

性。按照 50 μ g 总蛋白加入上样孔进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜封闭完成后,在 4 ℃冰箱孵育一抗过夜,第 2 天洗膜后孵育相应的二抗,洗膜后进行增强化学发光法。条带用 Image J 进行灰度值半定量计算,采用 β -actin 作为内参,分析各目的蛋白的相对表达水平。

1.7 荧光素酶报告基因实验 取对数生长期的人脑 VSMC,接种于 24 孔板中(每孔细胞 2×10^4 个),培养至细胞达 70%~80%融合时将 TGFBR1 的 3'-UTR 荧光素酶报告基因载体及 NC mimics 导入细胞,分为 4 组,每组设置 3 个复孔:miR-181 mimics + TGFBR1-wt 共转染组;miR-181 mimics + TGFBR1-mut 共转染组;NC mimics + TGFBR1-wt 共转染组;NC mimics + TGFBR1-mut 共转染组。培养 24 h 后弃去培养液,用预冷的 PBS 冲洗 2 次后,加入 100 μ L $1 \times$ 被动裂解液,孵育 15 min 后每孔吸取 20 μ L 上清液加入 96 孔发光检测板中,放入发光检测仪中读数,数据用 GraphPad Prism 8 进行作图与分析。

1.8 统计学处理 采用 GraphPad Prism 8 和 SPSS17.0 统计软件作图和进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间及多组间比较分别采用 *t* 检验和 One-way ANOVA。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 IA 患者和健康对照者血清 miR-181 表达水平比较 采用 qPCR 检测 IA 患者和健康对照者血清 miR-181 表达水平,结果显示,IA 患者血清 miR-181 表达水平与健康对照者比较明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1。

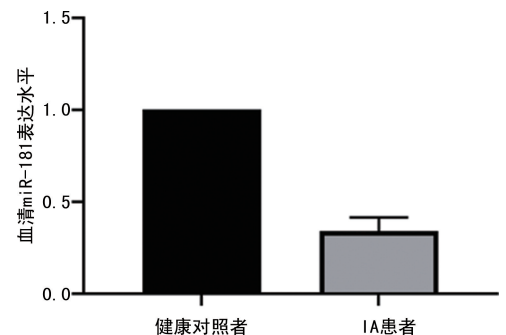


图 1 IA 患者和健康对照者血清 miR-181 表达水平

2.2 miR-181 抑制 VSMC 表型转换 人脑 VSMC 细胞转染 miR-181 mimics 和 miR-181 抑制剂(miR-181 inhibitor)后采用 Western bolt 检测 VSMC 收缩表型基因 SMA 和 SM22 α 及合成表型基因 OPN 的表达水平,以及其分泌的 MMP-2 和 MMP-9 的表达水平,结果显示,转染 miR-181 mimics 升高了 SMA 和 SM22 α 的表达水平,降低了 OPN 的表达水平,同时

MMP-2、MMP-9 的表达水平也降低。转染 miR-181 inhibitor 降低了 SMA 和 SM22α 的表达水平,上调了 OPN 的表达水平,同时 MMP-2、MMP-9 的表达水平也上调。见图 2。

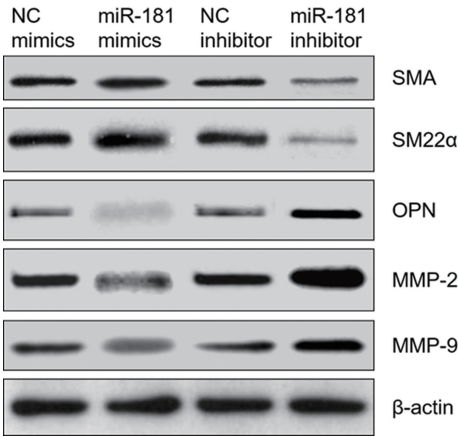
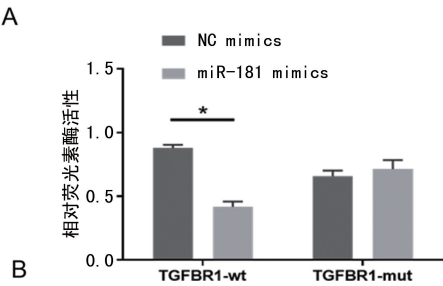
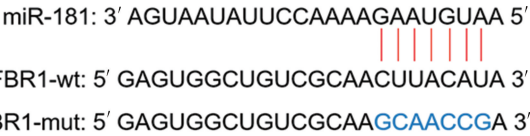


图 2 miR-181 对脑动脉 VSMC 表型转换的影响

2.3 TGFBR1 是 miR-181 的直接靶点 TargetScan 软件预测结果显示,miR-181 与 TGFBR1 的 3'-UTR 存在互补结合位点(图 3A),miR-181 可能通过靶向调控 TGFBR1 的表达水平而发挥作用。双荧光素酶报告基因检测结果显示,TGFBR1-wt 与 miR-181 mimics 共转染组荧光素酶活性明显低于阴性对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);而 TGFBR1-mut 各组间荧光素酶活性比较,差异无统计学意义($P>0.05$),图 3B。



注:A 为 TargetScan 软件预测 TGFBR1 是 miR-181 的靶基因;B 为双荧光素酶报告基因检测结果,与 NC mimics 比较,* $P<0.05$ 。

图 3 miR-181 的直接靶点

2.4 IA 组织中 TGFBR1 蛋白表达水平 采用 Western blot 检测 IA 患者手术切除的 IA 组织中 TGFBR1 蛋白表达水平,并采用接受开颅治疗的创伤患者的正常颞浅动脉作为对照。结果显示,与对照者比较,IA 患者 IA 组织标本中 TGFBR1 蛋白表达水平升高,见图 4。

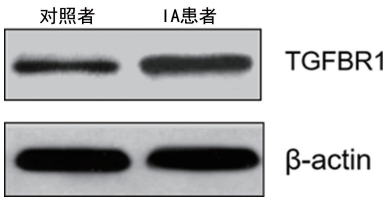


图 4 IA 组织中 TGFBR1 表达水平

2.5 miR-181 靶向调控 TGFBR1 的蛋白表达水平 Western blot 分析表明,转染 miR-181 mimics 降低了 TGFBR1 的蛋白表达水平,转染 miR-181 inhibitor 升高 TGFBR1 的蛋白表达水平。见图 5。

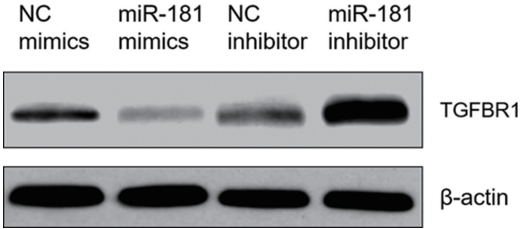


图 5 miR-181 靶向调控 TGFBR1 的蛋白表达水平

3 讨 论

虽然 IA 的发病机制尚不清楚,但氧化应激、炎症、血流动力学失调和细胞外基质降解均有助于 IA 的形成和发展。VSMC 表型转换在 IA、动脉粥样硬化和动脉瘤等疾病中发挥重要作用。有研究表明,miR-181 通过调控 VSMC 表型转换参与动脉粥样硬化的发生和发展^[11]。有研究表明,VSMC 表型调控与 IA 的形成、生长和破裂相关^[14-15]。VSMC 由收缩型转换为合成型,合成型 VSMC 刺激促炎过程、细胞外基质重构和细胞凋亡,最终促进 IA 的形成和破裂。本研究结果显示,IA 患者血清 miR-181 表达水平低于健康对照者。为了探究 IA 中 miR-181 对 VSMC 表型转换的作用,采用 miR-181 mimics 和 miR-181 inhibitor 转染人脑 VSMC 检测收缩表型的标记 SMA、SM22α 及 OPN 的表达水平,结果表明,VSMC 过表达 miR-181 基因细胞 SMA、SM22α 表达水平升高,OPN 表达水平降低。同时抑制 miR-181 表达水平后 SMA、SM22α 表达水平降低,OPN 表达水平升高。VSMC 合成表型与收缩基因的表达降低有关,虽然 VSMC 失去了收缩能力,但有助于招募促炎细胞和血管壁细胞外基质重构。本研究结果提示,抑制 miR-181 基因 VSMC MMP-2、MMP-9 表达水平均升高。

miRNA 可通过调控基因转录后水平抑制 mRNA 的降解和翻译。miRNA 与其靶基因转录体序列互补,通过切断靶基因的 mRNA 分子和(或)抑制靶基因的翻译来发挥作用。几个 miRNA 可以共同调控某一基因的表达^[16]。TargetScan 软件预测结果表

明, TGFBR1 为 miR-181 的靶向调控基因。TGFBR1 是一种特异性 TGF- β 受体, 介导 TGF- β 的生理和病理功能, 已有文献证明 TGFBR1 是动脉粥样硬化过程的主要成分^[17]。TGFBR1 在 TGF- β 介导的心血管疾病涉及的几乎所有细胞类型中均起作用, 包括内皮细胞、VSMC、肌成纤维细胞和巨噬细胞^[18]。本研究采用 Western blot 检测了 IA 患者手术切除的 IA 组织中 TGFBR1 的蛋白表达水平, 并用接受开颅治疗的创伤患者的正常颞浅动脉作为对照, 结果显示, 与对照者比较, IA 组织中 TGFBR1 的蛋白表达水平升高。因此猜测, 在 IA 中 miR-181 通过调控 TGFBR1 的蛋白表达水平调控 VSMC 表型转换。

为了研究 miR-181 与 TGFBR1 的靶向调控关系, 本研究采用 TargetScan 软件预测及荧光素酶报告基因检测验证上述猜测。结果表明, TGFBR1 是 miR-181 直接调控的靶基因。通过 Western blot 检测发现, 过表达 miR-181 后 TGFBR1 的蛋白表达水平降低; 而抑制 miR-181 后 TGFBR1 的蛋白表达水平升高。

综上所述, IA 患者血清中 miR-181 表达水平下降, 过表达 miR-181 抑制 VSMC 收缩表型向合成型表型转换。miR-181 直接靶点是 TGFBR1, IA 组织中 TGFBR1 的蛋白表达水平升高。因此, IA 中 miR-181 可能通过调控 TGFBR1 的蛋白表达水平抑制 VSMC 的表型转换, 这为治疗 IA 及控制蛛网膜下腔出血提供了新的靶点。

参考文献

- [1] 雷华娟, 滕永杰, 周启, 等. 右美托咪定对颅内动脉瘤栓塞术患者局部脑氧饱和度和脑功能的影响[J]. 中国药房, 2021, 32(7): 865-869.
- [2] 苏俊, 黄豪, 辛元君, 等. 颅内动脉瘤夹闭术后迟发性脑梗死危险因素分析[J]. 第三军医大学学报, 2021, 43(7): 635-639.
- [3] RINKEL G J. Natural history, epidemiology and screening of unruptured intracranial aneurysms[J]. J Neuroradiol, 2008, 35(2): 99-103.
- [4] SIGNORELLI F, SELA S, GESUALDO L, et al. Hemodynamic stress, inflammation, and intracranial aneurysm development and rupture: a systematic review[J]. World Neurosurg, 2018, 115: 234-244.
- [5] LIU P, SONG Y, ZHOU Y, et al. Cyclic mechanical stretch

induced smooth muscle cell changes in cerebral aneurysm progress by reducing collagen type IV and collagen type VI levels[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 45(3): 1051-1060.

- [6] STARKE R M, CHALOUHI N, DING D, et al. Vascular smooth muscle cells in cerebral aneurysm pathogenesis[J]. Transl Stroke Res, 2014, 5(3): 338-346.
- [7] WANG G, JACQUET L, KARAMARITI E, et al. Origin and differentiation of vascular smooth muscle cells[J]. J Physiol, 2015, 593(14): 3013-3030.
- [8] WALL V Z, BORNFELDT K E. Arterial smooth muscle[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34(10): 2175-2179.
- [9] 王倩倩, 任传利. miR-486-5p 在肿瘤发生与发展及其他疾病中的最新研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(22): 2801-2804.
- [10] HOU W Z, CHEN X L, WU W, et al. MicroRNA-370-3p inhibits human vascular smooth muscle cell proliferation via targeting KDR/AKT signaling pathway in cerebral aneurysm[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(5): 1080-1087.
- [11] 范翥元, 刘丹, 张广炜. 动脉粥样硬化相关 miRNAs 研究新进展[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(18): 2967-2972.
- [12] VOLNY O, KASICKOVA L, COUFALOVA D, et al. MicroRNAs in cerebrovascular disease[J]. Adv Exp Med Biol, 2015, 888: 155-159.
- [13] MARISSETTY A, WEI J, KONG L Y, et al. MiR-181 family modulates osteopontin in glioblastoma multiforme[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(12): 3813-3819.
- [14] 张军浩. 受体酪氨酸激酶 Axl 调控血管平滑肌细胞表型转化在颅内动脉瘤中的作用[D]. 杭州: 浙江大学, 2021.
- [15] CHALOUHI N, ALI M S, JABBOUR P M, et al. Biology of intracranial aneurysms: role of inflammation[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2012, 32(9): 1659-1676.
- [16] ASADZADEH Z, MANSOORI B, MOHAMMADI A, et al. MicroRNAs in cancer stem cells: biology, pathways, and therapeutic opportunities[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(7): 10002-10017.
- [17] 吴玉婷. 木犀草素通过转化生长因子 β 受体 1 抑制血管平滑肌细胞增殖、迁移及血管内膜增生的作用研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2020.
- [18] GOUMANS M J, TEN DIJKE P. TGF-beta signaling in control of cardiovascular function[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2018, 10(2): a022210.

(收稿日期: 2021-04-06 修回日期: 2021-09-17)