

自发性高血压大鼠 TGF β_1 / Smad7 通路与心室纤维化的关系

高修仁, 翟原生, 彭龙云, 何旭瑜, 郭小刚, 朱莺莺
(中山大学附属第一医院心内科, 广东 广州 510080)

摘要:【目的】探讨自发性高血压大鼠心室纤维化过程中TGF β_1 及其下游分子 Smad7 蛋白的表达规律。【方法】雄性自发性高血压大鼠(SHR)14只随机分为2组,SHR 22周龄组和 SHR 14周龄组,另14只WKY大鼠也分为WKY大鼠22周龄组和WKY大鼠14周龄组。在实验动物14周龄和22周龄时,分别测定血压、心室质量指数;以氯胺T法测定心肌羟脯氨酸的含量,免疫组化测定I型和III型胶原在心肌组织中的表达水平;RT-PCR和Western-blot测定心肌中TGF β_1 及其下游分子 Smad7 的表达。【结果】自发性高血压大鼠在14周龄和22周龄时收缩压都显著高于同龄的WKY大鼠($P < 0.001$),同时22周龄SHR的收缩压也比14周龄明显升高($P < 0.001$)。与SHR 14周龄组相比,SHR22周龄组的心室质量指数、心肌羟脯氨酸的含量、I型和III型胶原均明显增加($P < 0.01$);在mRNA水平或蛋白水平,心肌中的TGF β_1 的表达上调,Smad7的表达下调。【结论】在一定的时间窗内,自发性高血压大鼠血压的升高及心肌纤维化随着病程的进展而发展,同时伴随着TGF β_1 的表达上调,Smad7的表达下调。

关键词: 心室纤维化; TGF β_1 ; Smad7; 自发性高血压大鼠

中图分类号: R363

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2008)02-0163-05

Exploration of Relationship between TGF β_1 / Smad7 Signaling Pathway and Ventricular Fibrosis in Spontaneously Hypertensive Rats

GAO Xiu-ren, ZHAI Yuan-sheng, PENG Long-yun, HE Xu-yu, GUO Xiao-gang, ZHU Ying-ying
(Department of Cardiology Heart Center, The First Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】 To explore the correlation between TGF β_1 / Smad7 signaling and ventricular fibrosis in spontaneously hypertensive rats (SHRs). 【Methods】 Fourteen male SHRs and 14 Wister Kyoto (WKY) rats matched with the same age and sex, were divided into 2 groups respectively according to the aging of 14 weeks as well as 22 weeks. Tail-cuff pressure was investigated before and at the end of the test, and the left ventricular mass index (LVMI) was measured after autopsy of the animals. Collagen type I, type III as well as hydroxyproline contents which reflect myocardial fibrosis was determined by using immunohistochemical analysis. RT-PCR and Western-blot were performed to detect the expression of TGF-1 and Smad7 in the heart. 【Results】 14-weeks or 22-weeks SHRs showed significantly higher blood pressure than those of WKY rats matched with age ($P < 0.001$). 22-weeks SHRs appeared higher blood pressure than that of 14-weeks SHRs ($P < 0.001$). There were significantly higher LVMI, hydroxyproline contents, Collagen type I and III along with up-expression of TGF-1 and down-expression of Smad7 in 22-weeks SHRs comparing with 14-weeks SHRs. 【Conclusion】 In terms of myocardial fibrosis, there are high blood pressure, rich collagen type I, type III, hydroxyproline contents with up-expression of TGF-1 and down-expression of Smad7 during the development of heart remodeling in SHRs.

Key words: myocardial fibrosis; TGF β_1 ; Smad7; spontaneously hypertensive rat

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2008,29(2):163-167]

高血压心室肥厚是多种原因作用后的结果,被认为是心血管疾病死亡的独立危险因素。心室

肥厚表现为心脏形状、大小、功能的改变,包括心肌细胞的肥大,成纤维细胞的增殖,心肌间质纤维

收稿日期:2007-09-21

基金项目:广东省自然科学基金资助项目(4009437)

作者简介:高修仁(1956-),男,广东潮阳人,教授, E-mail:xiurengao@yahoo.com

化,细胞凋亡^[1,2]。其中,以 I 型和 III 型胶原纤维积聚为特征的心肌间质纤维化在心室肥厚过程中占有重要的地位。心肌纤维化直接损害心脏的收缩和舒张功能,最终导致心力衰竭的发生^[3]。因此,对心肌纤维化发生、发展的分子生物学机制的研究一直备受重视。多项研究结果发现,心室肥厚受多条信号转导通路的调控,如 PI3K/AKT、Ras/ERK 等。在心肌梗死的动物模型研究中,已证明 TGF β_1 参与介导了心肌纤维化过程,而其下游负调控因子 Smad7 的表达上调可能延缓心肌纤维化的过程^[4]。但是,关于高血压心肌纤维化过程中 TGF β_1 和 Smad7 的表达规律至今尚未见报道。本研究旨在从分子水平探讨高血压心室肥厚的机制,期望为更好的改善心室肥厚提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验动物与分组

雄性 12 周龄自发性高血压大鼠 (spontaneously hypertensive rat, SHR) 14 只,性别、年龄匹配的 wister-kyoto (WKY) 大鼠 14 只(由北京维通利华实验动物技术有限公司提供),饲养于恒温 (25℃ ± 2℃),恒湿 (60% ± 5%),自由摄食和取水,人为提供明暗交替各 12 h(由中山大学动物实验中心技术人员负责)。SHR 随机分为 2 组,每组 7 只,具体分组为:组 1,自发性高血压大鼠 14 周龄组 (SHR14);组 2,自发性高血压大鼠 22 周龄组 (SHR22);组 3, WKY 大鼠 14 周龄组 (WKY14);组 4, WKY 大鼠 22 周龄组 (WKY22);其中组 1 和组 3 在 14 周龄时处死,组 2 和组 4 在 22 周龄时处死。

1.2 收缩压、左室质量与体质量比测定

在大鼠 14 周龄和 22 周龄时,按照 Powerlab (NIBP) 无创测压系统说明书,由同一技术员测量各组大鼠尾动脉收缩压,每只大鼠测 3 次,每次隔 1 min。大鼠称质量后给予 100 mL/L 水合氯醛 3 mL/kg 腹腔内注射麻醉,固定,开胸摘取心脏,4℃生理盐水冲洗,滤纸吸干,快速剪去大血管、心房及右心室,称取左室及室间隔质量,计算 LVW/BW, (left ventricular weight/body weight) 将心脏组织横切成 3 小块:心尖、心底及中间部分,分别保存于丙酮-乙醚混合液、液氮及 40 g/L 多聚甲醛中备用。

1.3 心肌羟脯氨酸含量的测定

将前述心尖组织置于丙酮-乙醚混合液(体积

比,1:1)用氯胺 T 法测定、计算心肌羟脯氨酸的含量。

1.4 免疫组织化学方法测定胶原在心肌组织的表达

用保存于 40 g/L 多聚甲醛石蜡中的心肌组织根据即用型 SABC 免疫组化染色试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司)说明书,检测 I 型和 III 型胶原在心肌组织中的表达水平。实验中以 PBS 代替一抗作为阴性对照,所有标本均取自心室同一部位,并且各组免疫组化染色在同一时间进行。染片结果用 IBAS 2.5 全自动图像分析系统(德国)作图像分析。阳性单位的计算据文献所述^[5]。每个标本随机取 5 个视野进行分析,计算其均值。

1.5 RT-PCR 检测心肌组织 TGF β_1 和 Smad7 mRNA 的表达

按照 Trizol 试剂(美国 GBCO 公司)说明书提取心肌组织总 RNA,采用核酸蛋白测定仪检测其浓度和纯度后,取合乎试验要求 1 μ g 总 RNA,参照日本 Toyobo 公司提供的 RT-PCR 试剂盒说明书进行逆转录反应。然后取 2 μ L 逆转录产物,采用 Taq DNA 聚合酶进行 PCR 扩增反应,以 β -actin 作为内参照。TGF β_1 引物:上游引物,5'-GAA GCC ATC CGT GGC CAG AT -3',下游引物,5'-CCA GTG ACG TCA AAA GAC AG-3',产物 461 bp。Smad7 引物:上游引物,5'-CCAACTG CAGACTGTCCAGA-3',下游引物,5'-CAGGCTC CAGAAGAAGTTGG-3',产物 106 bp。 β -actin 引物:上游引物,5'-CCT TCC TGG GTA TGG AAT CCT-3';下游引物,5'-GGA GCA ATG ATC TTG ATC TT-3',产物 214 bp。PCR 反应条件为:变性 94℃、30 s,退火 62.5℃(TGF β_1)或 62℃(Smad7)或 62.5℃(β -actin)、1 min;延伸 72℃、1 min,进行 30 个循环,首次循环前先预变性 95℃、3 min,结束前 72℃、5 min。反应结束后,各取 10 μ L 产物在 15 g/L 含溴化乙锭琼脂糖凝胶上电泳,经 SynGene Gene Genius 凝胶显像系统对电泳条带进行灰度分析,以 β -actin 为内参照,求得各样本 TGF β_1 、Smad7 与 β -actin 条带光密度值的比值。

1.6 Western blot 测定心肌组织 TGF β_1 和 Smad7 蛋白的表达

用液氮保存的心室组织剪碎提取心肌组织总蛋白。BCA 蛋白检测试剂盒(上海申能博彩生物科技有限公司)定量后,取 50 μ g 总蛋白上样,室温下

SDS-PAGE 电泳, 完毕后 4 °C、100 V 电泳转膜。转膜结束后, 硝酸纤维素膜于 50 mL/L 的脱脂牛奶封闭液中室温下封闭 1 h, 加入一抗工作液 [TGF β 1 和 Smad7(美国 Santa Cruz) 1:200 稀释; Actin(武汉博士德生物工程有限公司): 1:400 稀释], 4 °C 过夜, 洗涤后, HRP 标记的二抗工作液 (美国 Cell Signaling Technology 公司, 1:2000 稀释), 室温下孵育 1 h。洗膜后, 将硝酸纤维素膜置于化学发光试剂中反应 1 min; 常规显影定影。每张膜先行 TGF β 1 或 Smad7 检测, 然后洗脱 1 次检测 Actin 的含量。用 SynGene Gene Genius 凝胶显像系统对图片进行分析, 测定条带的光密度, 以 Actin 的蛋白含量作为内参照来校正后, TGF β 1 的表达水平以各 SHR 组和 WKY 22 周龄组与 WKY 14 周龄组的光密度比值来表示, 而 Smad7 的表达水平则以其它各组与 SHR22 周龄组的光密度比值来表示。

1.7 统计学

各实验数据以均数 $\pm$ 标准差表示。用 SAS8.0 统计软件, 以配对 *t*-test 分析组内的差异, 以 One-way ANOVA 分析各组别之间的差异, 各组间的比较采用 SNK 检验, 采用 Pearson 法分析直线相关。

2 结 果

2.1 血流动力学的结果

与 WKY 大鼠相比, SHR 的收缩压在 14 周和 22 周均显著升高 ($P < 0.001$); 同时 22 周龄的 SHR 的收缩压也较 14 周龄的 SHR 明显增加 ($P < 0.001$); 但两组 WKY 大鼠的收缩压差别无统计学意义 ($P > 0.05$)。各组间心率的差异也不显著(表 1)。

表 1 不同组别收缩压和心率的变化的比较

Table 1 Comparison of systolic blood pressure and heart rate in groups

Group	$P_{\text{systolic}}/\text{mmHg}$		$f_{\text{heart}}/\text{min}^{-1}$	
	14-weeks	22-weeks	14-weeks	22-weeks
WKY14	120 $\pm$ 14	—	388 $\pm$ 13	—
SHR14	192 $\pm$ 7 ¹⁾	—	405 $\pm$ 15	—
WKY22	120 $\pm$ 10	121 $\pm$ 11	394 $\pm$ 10	386 $\pm$ 8
SHR22	194 $\pm$ 9 ¹⁾	206 $\pm$ 7 ^{1) 2)}	402 $\pm$ 17	406 $\pm$ 12

1) Compared with WKY of corresponding age, $P < 0.01$; 2) Compared with 14-weeks of corresponding group, $P < 0.01$

2.2 左室质量、左室质量指数的结果

SHR 的左室质量(left ventricular mass, LVM)、

左室质量指数 (left ventricular mass index, LVMI, LVM/BW) 明显高于同龄 WKY 大鼠 ($P < 0.001$)。与 14 周龄的 SHR 比较, 22 周龄 SHR 的 LVM、LVMI 显著增加, 表明随着周龄的增加, SHR 的左室肥厚明显加重(表 2)。

表 2 各组间左室质量、左室质量指数的比较

Table 2 Comparison of LVM and LVMI in groups

Group	m_{Body}/g	LVM/mg	LVMI/(mg·g ⁻¹)
WKY14	294 $\pm$ 17	596 $\pm$ 101	2.01 $\pm$ 0.20
SHR14	288 $\pm$ 11	853 $\pm$ 62 ¹⁾	3.03 $\pm$ 0.11 ¹⁾
WKY22	365 $\pm$ 12	750 $\pm$ 52	2.12 $\pm$ 0.22
SHR22	310 $\pm$ 11	1124 $\pm$ 59 ^{1) 2)}	3.61 $\pm$ 0.11 ^{1) 2)}

1) Compared with WKY of corresponding age, $P < 0.001$; 2) Compared with SHR of 14-weeks $P < 0.001$

2.3 心肌胶原的沉积

与 WKY 大鼠相比, SHR 在 14 周和 22 周均出现明显的心肌纤维化, 左心室心肌间质 I 型和 III 型胶原明显增多 ($P < 0.01$); 而与 14 周 SHR 相比, 22 周 SHR 的左心室心肌间质 I 型和 III 型胶原也显著增加 ($P < 0.01$)。而反映心肌胶原总含量的羟脯氨酸含量也有相似的结果(图 1, 表 3)。

表 3 各组心肌胶原 I、III、羟脯氨酸的比较

Table 3 Comparison in myocardium of collagen I, III and hydroxyproline in groups

Group	Collagen I	Collagen III	Hydroxyproline
WKY14	4.9 $\pm$ 2.0	3.2 $\pm$ 1.6	3.16 $\pm$ 0.18
SHR14	18.0 $\pm$ 2.7 ¹⁾	12.6 $\pm$ 3.0 ¹⁾	3.61 $\pm$ 0.24 ¹⁾
WKY22	5.3 $\pm$ 3.6	4.3 $\pm$ 1.9	3.19 $\pm$ 0.13
SHR22	23.1 $\pm$ 3.5 ^{1) 2)}	14.3 $\pm$ 3.6 ^{1) 2)}	4.06 $\pm$ 0.08 ^{1) 2)}

1) Compared with WKY in the same age, $P < 0.01$; 2) Compared with 14-week SHR, $P < 0.01$

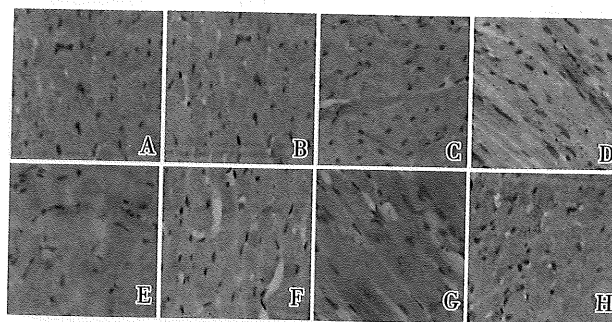


图 1 各组间胶原 I 和胶原 III 的比较

Fig.1 Comparison of collagen I and collagen III between groups

A1~A4: collagen I; B1~B4: collagen III; A1, B1: WKY14 group; A2, B2: WKY22 group; A3, B3: SHR14 group; A4, B4: SHR22 group

2.4 RT-PCR 检测心肌组织 $TGF\beta_1$ 和 Smad7 mRNA 表达

采用 RT-PCR 检测心肌组织的 $TGF\beta_1$ 和 Smad7 mRNA 的表达水平发现, 所有 SHR 的 $TGF\beta_1$ mRNA 的表达均明显高于 WKY 大鼠 ($P < 0.01$), 而 Smad7 mRNA 的表达却显著低于 WKY 大鼠 ($P < 0.01$)。与 14 周龄 SHR 比较, 22 周龄 SHR 的 $TGF\beta_1$ mRNA 的表达水平明显升高 ($P < 0.01$), 而 Smad7 mRNA 的表达水平却明显降低 ($P < 0.01$, 图 2, 表 4)。

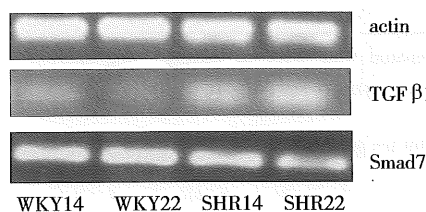


图 2 各组间 $TGF\beta_1$ 与 Smad7 mRNA 的表达
Fig.2 Expression of $TGF\beta_1$ and Smad7 in groups

表 4 各组 $TGF\beta_1$ 和 Smad7 的 mRNA 与蛋白质的表达
Table 4 Expression of $TGF\beta_1$ and Smad7 in mRNA and protein between groups

Group	Expression of mRNA		Expression of Protein	
	$TGF\beta_1$	Smad7	$TGF\beta_1$	Smad7
WKY14	0.31 ± 0.02	1.77 ± 0.23	1.03 ± 0.01	4.11 ± 0.53
SHR14	$0.85 \pm 0.15^{1)}$	$1.25 \pm 0.24^{1)}$	$2.39 \pm 0.52^{1)}$	$2.81 \pm 0.41^{1)}$
WKY22	0.31 ± 0.03	1.75 ± 0.21	1.01 ± 0.02	4.06 ± 0.52
SHR22	$1.60 \pm 0.11^{1)2)}$	$0.33 \pm 0.03^{1)2)}$	$5.14 \pm 0.45^{1)2)}$	$1.00 \pm 0.01^{1)2)}$

1) Compared with WKY in the same age, $P < 0.01$; 2) Compared with 14-week SHR, $P < 0.01$

2.5 Western-Blot 检测, 心肌组织 $TGF\beta_1$ 和 Smad7 蛋白表达

Western-Blot 检测发现心肌组织 $TGF\beta_1$ 和 Smad7 蛋白表达水平与 mRNA 的表达水平基本一致, 即所有 SHR 的 $TGF\beta_1$ 蛋白的表达均明显高于 WKY 大鼠 ($P < 0.01$), 而 Smad7 蛋白的表达却显著低于 WKY 大鼠 ($P < 0.01$)。与 14 周龄 SHR 比较, 22 周龄 SHR 的 $TGF\beta_1$ 蛋白的表达水平明显升高 ($P < 0.01$), 而 Smad7 蛋白的表达水平却明显降低 ($P < 0.01$, 图 3, 表 4)

2.6 相关分析

羟脯氨酸含量与收缩压呈正相关 ($r=0.59$, $P < 0.01$) 提示血压可能在心肌纤维化中起了一定的作

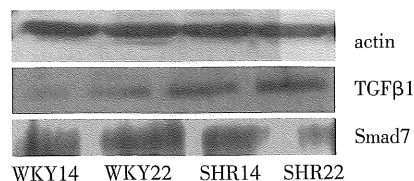


图 3 各组间心肌组织 $TGF\beta_1$ 和 Smad7 蛋白表达的比较
Fig.3 Expression of $TGF\beta_1$ and Smad7 protein

用。此外, 羟脯氨酸含量与 $TGF\beta_1$ 、Smad7 的表达密切相关 ($P < 0.01$), 其中与 $TGF\beta_1$ 呈正相关 ($r=0.73$), 而与 Smad7 呈负相关 ($r=-0.74$)。

3 讨论

自发性高血压大鼠 (SHR) 是目前公认的最接近于人类原发性高血压的动物模型。本实验的结果显示, 与同周龄的 WKY 大鼠比较, 14 周龄和 22 周龄自发性高血压大鼠的收缩压均显著增高, 同时 22 周龄 SHR 较 14 周龄 SHR 也明显升高, 表明 SHR 的血压随着年龄增长而升高, 这与人类原发性高血压的自然病程相似, 显示了 SHR 模型在原发性高血压中的研究价值。

在心脏的细胞外基质中, 含量最多的是胶原, 其中 I 型胶原约占 80%, III 型胶原约占 20%, 这些胶原主要是由心肌成纤维细胞合成分泌, 成纤维细胞受到牵拉刺激时, 细胞计数明显增加, 胶原合成也增加, 提示心脏的负荷增加而导致心肌受牵拉时, 心肌成纤维细胞的活性增强, 合成分泌大量的胶原纤维, 引起心肌纤维化^[6]。本实验发现: 与 WKY 大鼠相比, 自发性高血压大鼠左室质量、左室质量指数显著增加, 心肌中的 I 型胶原和 III 型胶原的合成明显增加, 积聚于细胞间质, 而羟脯氨酸含量测定也表明心肌的胶原总含量明显增加; 同时 22 周龄 SHR 较 14 周龄 SHR 的上述指标也明显升高; 进一步的相关分析显示 SHR 的羟脯氨酸含量与收缩压呈正相关。这提示血压的升高是自发性高血压大鼠心肌纤维化和心肌肥厚重要因素之一。

业已证明, $TGF-\beta$ 由成纤维细胞产生, 参与调节多种细胞的增殖、分化、迁移、凋亡和细胞外基质的生成。近年在心肌纤维化过程中, $TGF\beta_1$ 的作用已越来越受重视。肾动脉狭窄建立的高血压动物模型研究显示, 随着 $TGF\beta_1$ mRNA 表达的上调,

心肌出现明显的纤维化^[7]。但是,在手术前注射 TGF β ₁ 抗体后,以上的现象并没有出现。这表明了 TGF β ₁ 在负荷增加引起的心肌纤维化中具有重要的作用。我们的研究发现,SHR 大鼠 TGF β ₁ 表达显著高于同周龄的 WKY,同时 22 周龄 SHR 心肌中的 TGF β ₁ 表达水平明显高于 14 周龄的 SHR;相关分析结果同时揭示 SHR 中的羟脯氨酸的含量与 TGF β ₁ 的表达显著相关。由此可见,自发性高血压大鼠的心肌纤维化与 TGF β ₁ 的表达分子水平关系密切。那么,TGF β ₁ 的表达上调为什么会加重心肌纤维化呢?近年 RAS 系统的血管紧张素 II 被证实可以引起心肌纤维化, TGF β ₁ 可能是血管紧张素 II 的下游效应因子^[8]。

TGF β ₁ 作为重要的促纤维化细胞因子,被合成并分泌到细胞外,结合到靶细胞的相应受体上,通过激活一系列的细胞内信号传导通路,引起靶基因的转录^[9]。目前认为,Smad 通路是 TGF β ₁ 行使功能的主要通路。而 Smad7 就是这一通路的重要负调控因子^[10]。Smad7 可竞争性的与转化生长 β 受体(TBRI)结合成受体复合物,从而阻止了 R-Smads 的磷酸化,阻断了 TGF β ₁ 的细胞内效应。近年,关于 Smad 通路在心肌纤维化中的作用的研究逐渐增多。新近,Wang 等^[11]用携带 Smad7 基因的腺病毒感染心肌成纤维细胞并观察到其抑制纤维化作用主要与下调 TGF β ₁ 和上调 MMP2 的表达有关;在 SHR 模型中 MMP2 的表达与 RAS 系统的激活及心肌纤维化有关^[12];在心肌梗死后的大鼠心肌中发现 Smad7 含量明显减少并伴随着 TGF β ₁ 的增加^[4],因此认为 Smad7 介导了心肌梗死后的心肌纤维化,起负调控的作用。但是,在高血压所致的心肌纤维化中,Smad7 的表达情况,目前尚未见报道。本实验发现,SHR 大鼠心肌中 Smad7 的表达明显低于 WKY;随着周龄的增加,SHR 心肌中的 Smad7 的水平逐渐降低同时伴随着 TGF β ₁ 的增加,并观察到 SHR 心肌中的 Smad7 的水平与心肌纤维化的程度呈负相关。值得一提的是:我们检测的是心肌中的 Smad7 的总含量,而不单是胞浆中的含量。一般认为正常心肌中 TGF β ₁ 的存在,使 Smad7 的表达稳定在一定的基线水平。当心脏的负荷升高、TGF β ₁ 持续的表达增加时,反馈性抑制 Smad7 的表达,进而影响细胞核中的基因转录,这可能是引起心肌纤维化的原因之一。

参考文献:

- [1] Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling [J]. J Am Coll Cardiol, 2000, 35(3): 569-582.
- [2] Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling [J]. Physiol Rev, 1999, 79(1): 215-262.
- [3] Wu Y, Tobias AH, Bell K, et al. Cellular and molecular mechanisms of systolic and diastolic dysfunction in an avian model of dilated cardiomyopathy [J]. J Mol Cell Cardiol, 2004, 37(1): 111-119.
- [4] Wang B, Hao J, Jones SC, et al. Decreased Smad 7 expression contributes to cardiac fibrosis in the infarcted rat heart [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2002, 282(5):H1685-696.
- [5] 申红.免疫组织化学染色定量方法研究(Ⅲ) [J].中国组织化学与细胞化学杂志,1995,4(1): 89-92.
- [6] Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and the renin angiotensin aldosterone system [J]. Circulation, 1991, 83(6): 1849-1865.
- [7] Kuwahara F, Kai H, Tokuda K, et al. Transforming growth factor-beta function blocking prevents myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in pressure-overloaded rats [J]. Circulation, 2002, 106 (1):130-135.
- [8] Schultz Jel J, Witt SA, Glascock BJ, et al. TGF- β 1 mediates the hypertrophic cardiomyocyte growth induced by angiotensin II [J]. J Clin Invest, 2002, 109(6):787-796.
- [9] 陈爱兰,陈敏生. TGF- β ₁、Ang II 与心肌肥大关系的研究进展 [J]. 热带医学杂志,2005,5(3):411-413.
- [10] Derynck R, Zhang YE. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signaling [J]. Nature, 2003, 425(6958):577-584.
- [11] Wang B, Omar A, Angelovska T, et al. Regulation of collagen synthesis by inhibitory Smads7 in cardiac myofibroblasts [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007, 293(8):H1282-H1290.
- [12] 高修仁,彭龙云,麦炜颐,等.高血压大鼠心肌中 MMP2 的蛋白表达及其 RAS 阻断后的变化 [J]. 中山大学学报:医学科学版,2003,24(1): 30-34.