

心血管疾病

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002569

外源性硫化氢调节 TGF- β 1/Smad7 信号通路改善高同型半胱氨酸血症所致的大鼠心肌纤维化易嘉莉¹, 聂连桂¹, 李亚灵¹, 郑霞¹, 王森¹, 刘达¹, 宋熊¹, 张晶晶¹, 褚春², 杨军¹

(1. 南华大学附属第一医院心血管内科, 衡阳 421001; 2. 南华大学附属第二医院药剂科, 衡阳 421001)

【摘要】目的:观察外源性硫化氢(hydrogen sulfide, H_2S)对高同型半胱氨酸血症(hyperhomocysteinemia, HHcy)诱导的大鼠心肌纤维化及转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)和 Smad7 蛋白表达的影响。**方法:**将 40 只成年雄性 SD 大鼠随机均分为对照(Control)组、模型(HHcy)组、 H_2S 干预模型(HHcy+ H_2S)组和 H_2S 对照(H_2S)组, 每组 10 只。本实验模型大鼠的建立通过将 L-蛋氨酸(10 g/L)加入大鼠的饮用水, 持续 10 周喂养建立。建模成功后, HHcy+ H_2S 组及 H_2S 组大鼠每日经腹内注射硫化氢钠(sodium hydrosulfide, NaHS)溶液, 持续干预 4 周。各组大鼠心肌胶原纤维沉积情况由 Masson 染色法观察, 心肌组织中Ⅲ型胶原的表达情况由免疫组织化学染色法检测, CBS、TGF- β 1 和 Smad7 蛋白的表达情况通过 Western blot 检测。**结果:**与对照组相比, 模型组心肌细胞排列紊乱、胶原沉积明显增加, 心肌组织中Ⅲ型胶原沉积明显增加($P=0.000$), TGF- β 1 蛋白表达明显升高($P=0.004$), CBS($P=0.006$)及 Smad7($P=0.001$)蛋白表达水平明显下调; 与模型组相比, HHcy+ H_2S 组大鼠心肌细胞排列相对整齐, 胶原沉积相对减轻, 组织中Ⅲ型胶原沉积减轻($P=0.003$), TGF- β 1 蛋白表达相对下调($P=0.006$), CBS($P=0.005$)及 Smad7($P=0.000$)蛋白表达水平增加。**结论:**外源性硫化氢可以改善 HHcy 诱导的大鼠心肌纤维化, 其调节机制可能与 TGF- β 1/Smad7 信号通路有关。

【关键词】硫化氢; 高同型半胱氨酸血症; 心肌纤维化; TGF- β 1/Smad7 通路

【中图分类号】R542.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2020-02-19

Exogenous hydrogen sulfide alleviates hyperhomocysteinemia-induced myocardial fibrosis in rats by regulating TGF- β 1/Smad7 signaling pathwayYi Jiali¹, Nie Liangui¹, Li Yaling¹, Zheng Xia¹, Wang Sen¹, Liu Da¹,Song Xiong¹, Zhang Jingjing¹, Chu Chun², Yang Jun¹

(1. Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of University of South China;

2. Department of Pharmacy, The Second Affiliated Hospital of University of South China)

【Abstract】Objective: To observe the effect of exogenous hydrogen sulfide(H_2S) on myocardial fibrosis and expression of transforming growth factor- β 1(TGF- β 1) and Smad7 in hyperhomocysteinemia(HHcy)-induced rats. **Methods:** A total of 40 adult male SD rats were randomly assigned into 4 groups($n=10$): the control group(Control), the model group(HHcy), the H_2S -intervention model group(HHcy+ H_2S) and the H_2S -intervention normal group(H_2S). L-methionine(10 g/L) was added into the drinking water for consecutive ten weeks to establish the model. After successful modeling, sodium hydrosulfide(NaHS) was intraperitoneally injected into the rats in the HHcy+ H_2S group and the H_2S group for consecutive four weeks. Masson staining method was used to observe the deposition of myocardial collagen, immunohistochemical staining was used to detect the expression of Collagen Ⅲ and Western blotting was used to determine the expression of CBS, TGF- β 1 and Smad7. **Results:** Compared with the control group, cardiomyocytes were arranged in disorder, the collagen deposition was significantly increased, the expression of collagen Ⅲ was significantly increased($P=0.000$), the

expression of TGF- β 1 was increased apparently($P=0.004$), and CBS($P=0.006$) and Smad7($P=0.001$) proteins were obviously down-regulated in the HHcy group. Compared with the HHcy group, cardiomyocytes were arranged in a relatively order manner, the collagen deposition was comparatively reduced, the expression of collagen Ⅲ was relatively decreased($P=0.003$), the expression of TGF- β 1 was down-regulated distinctly($P=0.006$),

作者介绍: 易嘉莉, Email: jiali323@163.com,

研究方向: 心肌纤维化。

通信作者: 杨军, Email: yangjunincn@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金面上资助项目(编号: 81870230); 湖南省自然科学基金资助项目(编号: 2017JJ3271, 2017JJ3278); 2019年湖南省研究生科研创新资助项目(编号: CX20190765)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20200618.1632.048.html>

(2020-06-19)

and CBS($P=0.005$) and Smad7($P=0.000$) proteins were increased in the HHcy+H₂S group. **Conclusion:** H₂S may improve myocardial fibrosis in hyperhomocysteinemia-induced rats and its mechanism may be related to the regulation of TGF- β 1/Smad7 signaling pathway.

[Key words] hydrogen sulfide; hyperhomocysteinemia; myocardial fibrosis; TGF- β 1/Smad7 pathway

同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是由蛋氨酸或半胱氨酸在机体内正常代谢所产生,是一种具有细胞毒性作用的含硫氨基酸。高同型半胱氨酸血症(hyperhomocysteinemia, HHcy)是指机体内空腹血浆总 Hcy 水平 $\geq 15.0 \mu\text{mol/L}$ ^[1]。目前相关研究已经表明,HHcy 是心血管疾病的一项独立危险因素,与心血管系统的疾病发展和预后存在千丝万缕的联系。同时也有研究显示,HHcy 可促进发生心肌纤维化和心室重塑,甚至最终发展成为不可逆的心力衰竭^[2]。但目前对于高同型半胱氨酸血症诱导的心肌纤维化发生的具体机制尚不明确,转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)是一种促纤维化生长因子,在哺乳动物中广泛存在,并通过负性调节其下游蛋白 Smad7 参与纤维化的发生发展^[3-4]。相关文献报道,TGF- β 1/Smad7 通路可能参与了心肌重构和心肌纤维化的发生发展^[5-6]。目前硫化氢(hydrogen sulfide, H₂S)已被大量实验证实具有广泛的心肌保护作用,可能通过调节自噬、抑制炎症反应、抗氧化应激、抗凋亡等途径来发挥作用。研究报道发现,H₂S 可以改善 HHcy 诱导的心肌重构,但具体机制目前尚不十分明确^[7]。本研究的目的在于进一步探讨外源性 H₂S 对 HHcy 所致大鼠心肌纤维化的影响及其可能的内在调节机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

自南华大学动物实验中心购买 40 只成年清洁级雄性 SD 大鼠,实验动物生产许可证号:SYXK(湘)2015-0002,体重(200 $\pm$ 20) g,动物使用合格证号:SYXK(湘)2015-0001,分笼饲养,环境温度设定为(24 $\pm$ 2) °C,不限水源和饲料,人工控制照明,保持 12 h 昼夜更替。

1.2 主要实验试剂

L-蛋氨酸购于美仑生物公司;硫化氢钠(NaHS, H₂S 供体)购于 Sigma 公司;GAPDH 一抗(兔源)、TGF- β 1、Smad7 和 CBS 一抗及羊抗兔二抗均购自 Proteintech 公司。

1.3 动物模型的建立

本实验经由南华大学实验动物伦理委员会批准,实验过程中严格遵循南华大学实验动物管理和使用准则。为排除外界环境因素对实验结果的影响,实验开始前 1 周对 40 只成年雄性 SD 大鼠进行适应性喂养,大鼠适应饲养环境后随机等分为对照(Control)组、模型(HHcy)组、H₂S 干预模型(HHcy+H₂S)组、H₂S 对照(H₂S)组。HHcy 组和 HHcy+H₂S 组大鼠均通过予以普通饮用水中加入 L-蛋氨酸(10 g/L)的喂养方法来建立本次实验所需要的 HHcy 大鼠模型(现配现用,每天更换 1 次),同时,Control 组及 H₂S 组大鼠予以同等剂量的普通饮用水喂养,持续 10 周^[8-9]。尾静脉采血测量大鼠体内的 Hcy,以 Hcy 浓度 $\geq 15.0 \mu\text{mol/L}$ 认为建模成功。建模成功后,HHcy+H₂S 组及 H₂S 组大鼠给予 NaHS[56 $\mu\text{mol}/(\text{kg}\cdot\text{d})$,现配现用]腹腔注射,Control 组和 H₂S 组大鼠使用同等剂量的生理盐水腹腔注射,4 周后麻醉处死大鼠并取出大鼠心脏。清洗后分离出各组大鼠心脏的左室及室间隔,取部分心肌固定后用于 Masson 染色及免疫组化法检测,余下组织置于-80 °C 冰箱内保存,用于日后的 Western blot 检测。

1.4 Masson 染色法观察心肌胶原沉积情况

取各组已经固定好的部分心室肌组织,分浓度梯度酒精脱水、适量石蜡浸没包埋、切片、脱蜡至水化,经苏木素染色后再次冲洗,最后严格按照说明书行 Masson 染色。经以上处理后,置于 40 $\times$ 10 倍光镜下观察,选取不同视野观察心肌细胞排列情况及胶原纤维沉积情况。

1.5 免疫组化法检测各组心肌中Ⅲ型胶原的表达

将用石蜡包埋好的组织切片,脱蜡后水洗,后予以修复抗原,适当比例的山羊血清封闭,加入稀释后的一抗Ⅲ型胶原抗体(1:100),4 °C 冰箱中过夜,隔日取出,经漂洗、孵二抗、漂洗、显色、脱水、封片,最后置于适当倍数光镜下阅片。用 Image-Pro Plus 6.0 得出图片中棕色染色的面积和整个视野中的心肌面积,以两者面积的比值评估Ⅲ型胶原在各组心肌组织中的沉积的情况。

1.6 Western blot 检测心肌组织 CBS、TGF- β 1 和 Smad7 蛋白的表达

取冻存的左室心肌,经称重、研磨、离心、提取蛋白后,按 BCA 比色法将蛋白定量,取适量煮好的蛋白标本,经电泳、转膜、封闭,当天予以适当比例的兔源性一抗孵育(4 °C,过夜),隔日取出,予以现场配置的 TBST 溶液反复漂洗(3次 $\times$

10 min),后加入配置好的羊抗兔二抗孵育 1 h,取出膜后经 TBST 溶液漂洗 3 次(10 min/次),滴加适量的 ECL 显影液显影,曝光后使用合适的图像分析软件对靶蛋白条带进行分析。本实验选取 GAPDH 蛋白作为内参,采用目的蛋白与内参的灰度比值作为 CBS、TGF- β 1 和 Smad7 蛋白在各组心肌中的表达值。

1.7 统计学处理

用 SPSS 18.0 软件对所得实验结果进行相关统计分析。采用单因素方差分析计量资料数据,相关数据使用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间两两比较采用配对样本的 t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠血浆中 Hcy 水平

建模后,检测各组大鼠 Hcy 水平,HHcy 组与 HHcy+H₂S 组 Hcy 水平分别为 18.220 ± 2.703 、 18.780 ± 2.723 ($n=10$),均 $\geq 15.0 \mu\text{mol/L}$;Control 组与 H₂S 组 Hcy 水平分别为 8.490 ± 2.039 、 8.820 ± 1.568 ($n=10$),均 $\leq 15.0 \mu\text{mol/L}$,提示建模成功。

2.2 大鼠存活情况

14 周后,HHcy 组有 2 只大鼠死亡,HHcy+H₂S 组有 1 只大鼠死亡,合计共有 37 只老鼠完成本次实验。

2.3 各组心肌细胞排列及胶原沉积情况

使用 Masson 染色后,视野中胶原纤维呈蓝色,心肌细胞呈红色(图 1)。与 Control 组对比,HHcy 组心肌细胞排列明显紊乱、胶原纤维沉积明显增多;与 HHcy 组对比,HHcy+H₂S 组心肌组织在光镜下心肌细胞排列相对整齐、胶原纤维沉积减少;而 Control 组大鼠的心肌胶原沉积情况与 H₂S 组相比,未见统计学差异。

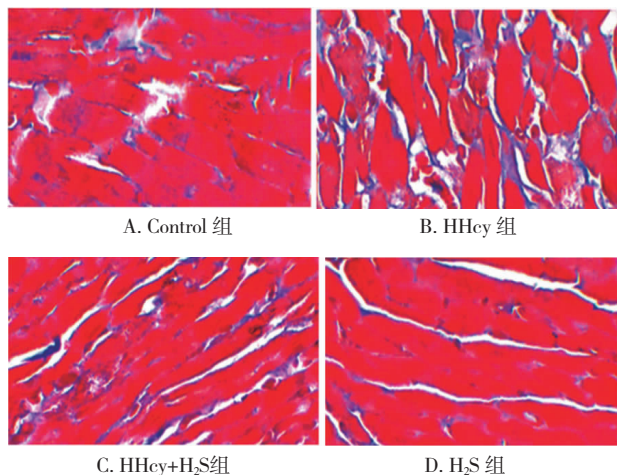


图 1 各组大鼠心肌组织的胶原沉积情况 (Masson 染色,400 $\times$)

2.4 Ⅲ型胶原蛋白在各组大鼠心肌组织中的表达情况

Ⅲ型胶原蛋白在光镜下观察到的阳性表达显示为棕染。

以棕色染色的面积和整个视野中的心肌面积的比值作为Ⅲ型胶原表达情况的数值,分别为 9.758 ± 0.796 、 15.328 ± 1.398 、 11.223 ± 1.187 、 10.480 ± 1.277 ($n=3$),4 组心肌组织中Ⅲ型胶原蛋白的表达情况有统计学意义 ($F=13.256$, $P=0.002$)。与 Control 组对比,HHcy 组在光镜下显示的棕染阳性表达增多 ($P=0.000$);与 HHcy 组对比,HHcy+H₂S 组在光镜下显示的棕染阳性表达减少 ($P=0.003$);Control 组与 H₂S 组大鼠心肌组织中棕染物质表达水平比较,差异无统计学意义 ($P=0.465$) (图 2、图 3)。

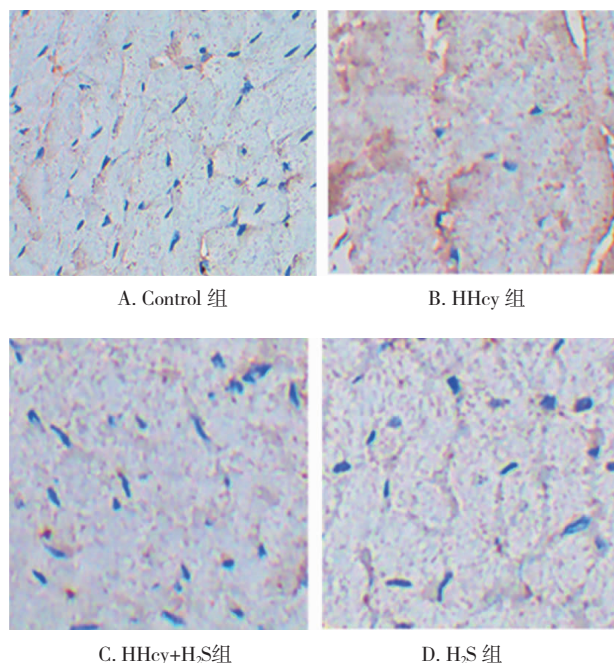
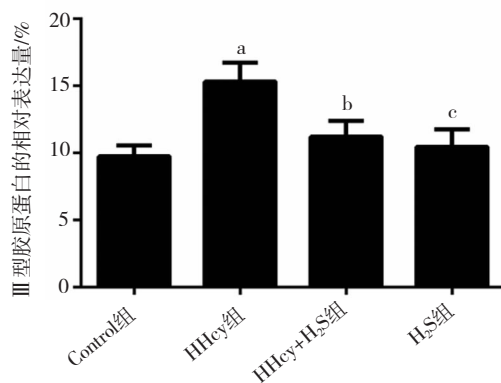


图 2 免疫组化法检测各组大鼠心肌组织中Ⅲ型胶原蛋白的表达 (免疫组化,400 $\times$)



注:a,与 Control 组比较, $P=0.000$;b:与 HHcy 组比较, $P=0.003$;c:与 Control 组比较, $P=0.465$

图 3 Ⅲ型胶原蛋白在各组大鼠心肌组织中相对表达情况

2.5 CBS、TGF- β 1、Smad7 蛋白在各组大鼠心肌组织中的表达

Western blot 检测 CBS、TGF- β 1、Smad7 蛋白在大鼠心肌组织中的表达。采用 SPSS18.0 软件统计分析各蛋白的表达

情况,得到 CBS ($F=7.072, P=0.012$)、TGF- $\beta 1$ ($F=7.709, P=0.010$)、Smad7 ($F=18.241, P=0.001$), 方差分析各蛋白在各组心肌中的表达数据,结果具有统计学意义。与 Control 组相比, HHcy 组 TGF- $\beta 1$ 蛋白的表达相对增多 (0.914 ± 0.090 vs. $1.190 \pm 0.104, P=0.004$), CBS (0.635 ± 0.071 vs. $0.423 \pm 0.455, P=0.006$) 及 Smad7 (0.627 ± 0.080 vs. $0.326 \pm 0.031, P=0.001$) 蛋白的表达相对减少;与 HHcy 组相比, HHcy+H₂S 组 TGF- $\beta 1$ 蛋白表达明显降低 (1.190 ± 0.104 vs. $0.938 \pm 0.079, P=0.006$), CBS (0.423 ± 0.455 vs. $0.644 \pm 0.783, P=0.005$) 及 Smad7 (0.326 ± 0.031 vs. $0.703 \pm 0.080, P=0.000$) 蛋白表达明显增多;而 Control 组与 H₂S 组中 CBS (0.635 ± 0.071 vs. $0.637 \pm 0.081, P=0.983$)、TGF- $\beta 1$ (0.914 ± 0.090 vs. $0.915 \pm 0.052, P=0.991$)、Smad7 (0.627 ± 0.081 vs. $0.699 \pm 0.086, P=0.256$) 蛋白的表达水平比较,差异无明显统计学意义(图 4、图 5)。

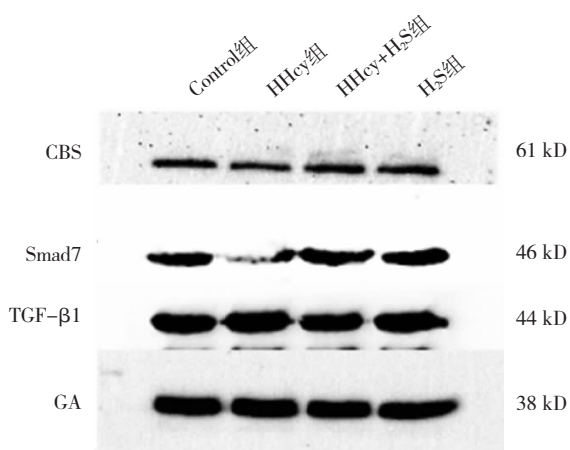
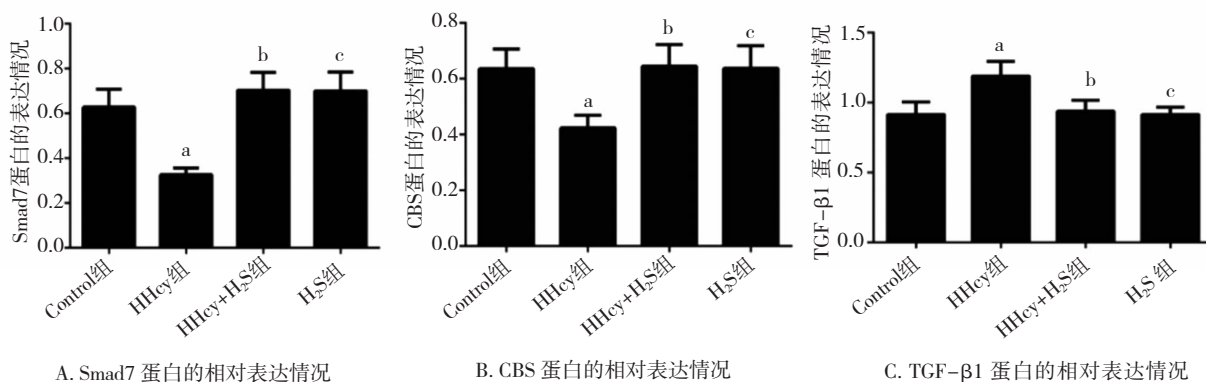


图 4 Western blot 检测各组心肌组织中 CBS、TGF- $\beta 1$ 、Smad7 蛋白的相对表达情况



注: A 图中, a: 与 Control 组比较, $P=0.001$; b: 与 HHcy 组比较, $P=0.000$; c: 与 Control 组比较, $P=0.256$; B 图中, a: 与 Control 组比较, $P=0.006$; b: 与 HHcy 组比较, $P=0.005$; c: 与 Control 组比较, $P=0.983$; C 图中, a: 与 Control 组比较, $P=0.004$; b: 与 HHcy 组比较, $P=0.006$; c: 与 Control 组比较, $P=0.991$

图 5 各组心肌组织中 Smad7、CBS、TGF- $\beta 1$ 蛋白的相对表达情况

3 讨论

Hcy 是由蛋氨酸和半胱氨酸经过正常代谢途径所产生的一种在体内不能自主合成的含硫必需氨基酸。一般情况下,人体血浆中的 Hcy 浓度处于动态平衡中,但随着居民饮食结构及生活方式的转变,上述平衡被打破,增高的 Hcy 将被释放到细胞外液中,进而引起机体的代谢紊乱。目前,HHcy 是指机体空腹情况下血浆总 Hcy 水平 $\geq 15.0 \mu\text{mol/L}$ [10]。HHcy 是心血管疾病的重要危险因素 [10]。有研究显示, HHcy 可刺激成纤维细胞释放胶原蛋白,引起胶原沉积,进而导致心肌间质纤维化的发生 [11]。本研究通过在饮用水中加入蛋氨酸,成功建立了 HHcy 大鼠模型,结果表明建模成功的大鼠体内血浆总 Hcy 水平明显升高,而 HHcy 大鼠心肌组织中出现明显胶原纤维沉积。这说明 HHcy 可导致心肌纤维化。

既往研究中, H₂S 已被证实在多种心肌受损的动物模型中发挥重要心肌保护作用,可通过抗炎、抗氧化应激、抗凋亡及调节自噬等多种途径来改善及抑制心肌重构的发生 [12-13]。在哺乳动物体内,胱硫醚- β -合成酶(cystathionine β synthase, CBS)参与了酶促反应催化 L-半胱氨酸,进而生成 H₂S 的过程,并在其中发挥重要作用。CBS 也是 Hcy 转甲基化途径中的重要催化酶。有研究显示,该酶活性的降低或缺乏会导致血浆中 Hcy 水平的上升 [14]。升高的 Hcy 也会影响 CBS 蛋白的活性,进而影响机体内源性

硫化氢的生成。本研究中,HHcy 组心肌中 CBS 蛋白表达降低,胶原纤维在心肌组织中沉积明显增加,说明 HHcy 组大鼠体内可能存在内源性 H₂S 的降低。而 HHcy+H₂S 组大鼠在予以外源性硫化氢的相关干预后,与 HHcy 组相比较,CBS 蛋白的表达水平上调,胶原纤维沉积相对减少,以上说明外源性 H₂S 可改善 HHcy 诱导的心肌纤维化。

有研究认为,TGF- β /Smads 转导通路参与了如心肌梗死、扩张型心肌病、糖尿病心肌病等多种实验动物模型的发生过程,并介导了其中心肌纤维化的发生^[15-17]。TGF- β 1 是目前已知的与器官纤维化发生发展联系最紧密的细胞因子之一,而 Smads 蛋白家族是将 TGF- β 所发出的信息传递至下一环节的重要媒介,是 TGF- β 相关通路的重要下游蛋白,其中 Smad7 属于 Smads 蛋白家族中的抑制型受体之一。在自发型高血压及心肌梗死的实验动物模型中,已有研究显示 Smad7 蛋白的表达可改善相应模型中心肌纤维化的发生过程^[7,16,18]。模型组大鼠被予以长期高蛋氨酸饮食喂养,在 HHcy 诱导大鼠心肌发生心肌纤维化的同时,同样存在 TGF- β 1 蛋白表达的上调及 Smad7 蛋白的下降,这一结果表明 TGF- β 1/Smad7 通路可能参与并介导了 HHcy 诱导的大鼠心肌发生纤维化的过程。外源性 H₂S 在改善 HHcy 诱导心肌纤维化的同时,伴有 TGF- β 1 蛋白的相对下调及 Smad7 蛋白的明显上调。这说明外源性 H₂S 可能通过调控 TGF- β 1/Smad7 通路来改善 HHcy 诱导的心肌纤维化。

综上所述,本研究发现外源性 H₂S 可改善 HHcy 诱导的大鼠心肌纤维化,其机制可能与调节 TGF- β 1/Smad7 通路有关,但具体的内在分子机制目前仍不明确,需要进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] 《中国高血压防治指南》修订委员会. 中国高血压防治指南 2018 年修订版[J]. 心脑血管病防治,2019,19(1):1-44.
- [2] Jakubowski H. Homocysteine modification in protein structure/function and human disease[J]. Physiol Rev,2019,99(1):555-604.
- [3] Wang L,Chen H,Liu XH,et al. Ozone oxidative preconditioning inhibits renal fibrosis induced by ischemia and reperfusion injury in rats[J]. Exp Ther Med,2014,8(6):1764-1768.
- [4] Yang F,Luo L,Zhu ZD,et al. Chlorogenic acid inhibits liver fibrosis by blocking the miR-21-regulated TGF- β 1/Smad7 signaling pathway *in vitro* and *in vivo*[J]. Front Pharmacol,2017,8:929.
- [5] Wei Y,Wu Y,Feng K,et al. Astragaloside IV inhibits cardiac fibrosis via miR-135a-TRPM7-TGF- β /Smads pathway[J]. J Ethnopharmacol,2019,249:112404.
- [6] He JG,Chen YL,Chen BL,et al. B-type natriuretic peptide attenuates cardiac hypertrophy via the transforming growth factor- β 1/Smad7 pathway *in vivo* and *in vitro*[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol,2010,37(3):283-289.
- [7] Kesharwani V,Nandi SS,Sharawat SK,et al. Hydrogen sulfide mitigates homocysteine-mediated pathological remodeling by inducing miR-133a in cardiomyocytes[J]. Mol Cell Biochem,2015,404(1-2):241-250.
- [8] de Rezende MM,D'Almeida V. Central and systemic responses to methionine-induced hyperhomocysteinemia in mice[J]. PLoS One,2014,9(8):e105704.
- [9] Ungvari Z,Csiszar A,Edwards JG,et al. Increased superoxide production in coronary arteries in hyperhomocysteinemia:role of tumor necrosis factor- α ,NAD(P)H oxidase,and inducible nitric oxide synthase[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2003,23:418-424.
- [10] 张晶,丛洪良,曹路,等. 中老年正常高值血压人群中高同型半胱氨酸血症与脉压及冠状动脉粥样硬化性心脏病的关系[J]. 中华高血压杂志,2019,27(1):70-73.
- [11] Raaf L,Noll C,Cherifi MH,et al. Myocardial fibrosis and TGFB expression in hyperhomocysteinemic rats[J]. Mol Cell Biochem,2011,347(1-2):63-70.
- [12] Liang B,Xiao T,Long J,et al. Hydrogen sulfide alleviates myocardial fibrosis in mice with alcoholic cardiomyopathy by downregulating autophagy[J]. Int J Mol Med,2017,40(6):1781-1791.
- [13] 李芳,李妍,李琳,等. 外源性 H₂S 对糖尿病大鼠心肌纤维化及 MMP-13、MMP-14 和 TIMP-1 表达的影响[J]. 重庆医科大学学报,2015,40(7):993-996.
- [14] 李香,秦咏,王维,等. NOD2 致高同型半胱氨酸血症小鼠心室重构的作用及其机制[J]. 山东医药,2019,59(22):29-32,36.
- [15] Lu M,Qin QZ,Yao JG,et al. Induction of LOX by TGF- β 1/Smad/AP-1 signaling aggravates rat myocardial fibrosis and heart failure[J]. IUBMB Life,2019,71(11):1729-1739.
- [16] 高修仁,翟原生,彭龙云,等. 自发性高血压大鼠 TGF- β 1/Smad7 通路及心室纤维化的关系[J]. 中山大学学报(医学科学版),2008,29(2):163-167.
- [17] 张会超,韩丽华,索红亮,等. 基于 TGF- β 1/Smad3 信号通路调控的温阳益气方对心梗后结构重塑的干预作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(6):114-120.
- [18] Wang B,Hao J,Jones SC,et al. Decreased Smad7 expression contributes to cardiac fibrosis in the infarcted rat heart[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2002,282(5):H1685-H1696.

(责任编辑:冉明会)