

HSP47 siRNA 对体外培养 HTCF 细胞生物学行为及 TGF-β1 表达水平的影响

姚莎莎, 盘如刚, 甘春芳

引用:姚莎莎,盘如刚,甘春芳. HSP47 siRNA 对体外培养 HTCF 细胞生物学行为及 TGF-β1 表达水平的影响. 国际眼科杂志 2021;21(4):592-596

Ya'an People's Hospital, Ya'an 625000, Sichuan Province, China. 281419777@qq.com

Received:2020-06-27 Accepted:2021-03-12

作者单位:(625000)中国四川省雅安市人民医院眼科

作者简介:姚莎莎,毕业于泸州医学院,医学硕士,副主任医师,研究方向:青光眼、眼底病。

通讯作者:盘如刚,毕业于四川大学,医学博士,主任医师,副院长,研究方向:青光眼与眼底病. 281419777@qq.com

收稿日期:2020-06-27 修回日期:2021-03-12

摘要

目的:探究热休克蛋白 47(HSP47)siRNA 对体外培养人眼 Tenon 囊成纤维 (HTCF) 细胞生物学行为及转化生长因子-β1(TGF-β1)表达水平影响。

方法:体外培养 HTCF 细胞,并分为:空白对照组、空载体组和转染组;转染组根据 HSP47 基因序列设计并合成干扰 siRNA 序列,构建载体并导入 HTCF 细胞中;空载体组导入空白载体。采用 RT-PCR 和蛋白质印迹实验检测细胞中 HSP47 mRNA 和蛋白的表达情况,采用克隆形成实验、流式细胞术、Transwell 法及划痕实验检测细胞增殖、凋亡、侵袭及迁移,蛋白质印迹实验检测增殖、凋亡、侵袭、迁移蛋白和 TGF-β1 的表达情况。

结果:相比空载体组,转染组 HSP47 mRNA 和蛋白的表达、克隆形成率、细胞愈合率、侵袭细胞数目、Ki67、N-cadherin、TGF-β1 蛋白相对表达水平显著降低($P < 0.05$), E-cadherin 蛋白相对表达水平显著升高($P < 0.05$),但细胞凋亡率、Bcl-2 和 Bax 蛋白相对表达水平均无差异($P > 0.05$)。

结论:HSP47 siRNA 可以通过抑制 TGF-β1 蛋白的表达降低 HTCF 细胞的增殖、侵袭及迁移能力,但对 HTCF 细胞的凋亡无明显影响。

关键词:热休克蛋白 47;人眼 Tenon 囊成纤维细胞;转化生长因子-β1

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2021.4.05

Effects of HSP47 siRNA on biological behaviors of HTCF cells cultured *in vitro* and the expression level of TGF-β1

Sha-Sha Yao, Ru-Gang Pan, Chun-Fang Gan

Department of Ophthalmology, Ya'an People's Hospital, Ya'an 625000, Sichuan Province, China

Correspondence to:Ru-Gang Pan. Department of Ophthalmology,

Abstract

• **AIM:** To explore the effects of heat shock protein 47 (HSP47) siRNA on biological behaviors of human Tenon capsule fibroblasts (HTCF) cells cultured *in vitro* and the expression level of transforming growth factor-β1 (TGF-β1).

• **METHODS:** HTCF were cultured *in vitro* and divided into blank control group, empty vector group and transfection group. In transfection group, interfering siRNA sequences were designed and synthesized based on the HSP47 gene sequences, vectors were constructed and introduced into HTCF. The empty vector group was introduced with empty vectors. The expressions of HSP47 mRNA and protein in cells were detected by RT-PCR and Western blot. The proliferation, apoptosis, invasion and migration of cells were detected by clone formation assay, flow cytometry, Transwell method and scratch test. The expressions of proliferation, apoptosis, invasion and migration proteins, and TGF-β1 were detected by Western blot.

• **RESULTS:** Compared with empty vector group, expression of HSP47 mRNA and protein, clone formation rate, cell healing rate, number of invasive cells, relative expression levels of Ki67, N-cadherin and TGF-β1 were significantly decreased in transfection group ($P < 0.05$), relative expression level of E-cadherin protein was significantly increased ($P < 0.05$), but there was no difference in apoptosis rate, and relative expression levels of Bcl-2 and Bax ($P > 0.05$).

• **CONCLUSION:** HSP47 siRNA can reduce proliferation, invasion and migration abilities of HTCF cells by inhibiting the expression of TGF-β1 protein, without significant effects on the apoptosis of HTCF cells.

• **KEYWORDS:** heat shock protein 47; human Tenon capsule fibroblast cell; transforming growth factor-β1

Citation: Yao SS, Pan RG, Gan CF. Effects of HSP47 siRNA on biological behaviors of HTCF cells cultured *in vitro* and the expression level of TGF-β1. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2021; 21(4):592-596

0 引言

青光眼是常见的致盲眼病,目前主要采用青光眼滤过手术治疗^[1]。但手术操作会促进手术周围组织中成纤维细胞的增生,致使滤过通道闭合,导致青光眼滤过手术失

败,据统计青光眼滤过手术 2a 后失败率高达 20%^[2-3]。目前,常用抗代谢药物抑制青光眼滤过术后手术周围组织的自我修复,但这些药物具有一定的毒副作用,因此寻找毒副作用小且高效的治疗方法和药物是目前研究的热点^[4-5]。RNA 干扰技术是目前较为先进的技术之一,是利用配对的小片段 RNA 植入细胞达到阻止同源基因表达的技术^[6]。可以利用 RNA 干扰技术抑制成纤维细胞增生相关蛋白的表达,降低患者术后手术失败率。热休克蛋白 47 (heat shock protein47, HSP47) 属于热休克蛋白家族,参与组织器官纤维化的生理病理过程^[7]。近年来研究发现,相较于正常人群,胶原异常增生性疾病患者的 HSP47 阳性表达水平异常升高,如病理性瘢痕、梭形细胞脂肪瘤等^[8]。而青光眼滤过手术后 Tenon 囊的愈合与病理性瘢痕有极大的相似之处,因此,推测 HSP47 与青光眼滤过手术后 Tenon 囊的愈合有着一定的关联。本文将探究 HSP47 siRNA 对外培养人眼 Tenon 囊成纤维 (HTCF) 细胞生物学行为及 TGF- β 1 表达水平影响,以期为临床防控青光眼滤过手术治疗失败提供实验数据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要细胞 人眼 Tenon 囊成纤维细胞购自中国科学院细胞库。

1.1.2 主要试剂与仪器 Lipofectamine 2000 (货号:11668-027,批号:062018) 购自美国 Invitrogen; Trizol 试剂 (货号:15596026,批号:18T1905) 购自美国 Sigma; Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒购自杭州四季青生物工程材料有限公司; RPMI1640 培养基购自美国赛默飞世尔科技公司; Bcl-2 抗体 (货号:sc-56015;批号:20190603)、Bax 抗体 (货号:sc-70407;批号:20190606) 购自美国 Santa Cruze Biotechnology; HSP47 抗体 (货号:ab242006)、Ki67 抗体 (货号:ab205718)、N-cadherin 抗体 (货号:ab18203;批号:20190814)、E-cadherin 抗体 (货号:ab194982;批号:20191011) 购自美国 Abcam; Transwell 小室购自美国 Corning Coseter; 光学显微镜 (型号:BX50) 购自日本 Olympus; 流式细胞仪 (型号:Attune NxT) 购自美国赛默飞世尔科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及传代 取出保存在液氮罐中的 HTCF 细胞,置于 37℃ 的恒温水浴中解冻,放入离心机中以 1 000 r/min 离心 5min,使用含有 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基悬浮细胞,置于 37℃、5% CO₂ 条件下培养,待细胞融合到约 90% 时,去除旧的培养液使用 PBS 冲洗,消化细胞进行传代培养,取生长状况良好的细胞进行下列实验。

1.2.2 HSP47 siRNA 重组质粒的构建 根据 siRNA 的设计原则选择碱基序列,正义链:5'-ACCTCGCCACACTGGGATGAG AAATTTCAAGAGAATTTCTCATCCAGTGTGGCTT-3' 反义链:5'-CAAAAAGCCACACTGGGATGAGAAATTTCTCTTGAAATTTCTCACCCAGTGTGGCG-3。通过合成核苷酸序列的稀释,核苷酸的退火,目的基因与载体的连接,重组质粒的转化,重组质粒的抽提步骤构建 HSP47 siRNA 重组质粒并通过酶切鉴定和测序鉴定对重组的质粒进行鉴定。

1.2.3 重组质粒及分组 转染前将 HTCF 细胞在 CO₂ 细胞培养箱中培养生长汇合至 90%~95%,测定质粒 DNA 浓度达标后,经 Lipofectamine 2000 试剂盒将重组的质粒

转染 HTCF 细胞,并分为:空白对照组、空载体组和转染组。转染组根据 HSP47 基因序列设计并合成干扰 siRNA 序列,构建载体并导入 HTCF 细胞中;空载体组导入空白载体。

1.2.4 RT-PCR 检测 HSP47 mRNA 水平 取上述培养的 HTCF 细胞,使用恒温离心机在 4℃ 的恒温条件下离心 10min,后加入 Trizol 溶液提取总 RNA,经逆转录反应合成 cDNA 链,再以 cDNA 链为模板,通过实时荧光定量 PCR 仪进行扩增。以 GAPDH 为内参,计算 HSP47 mRNA 的相对水平,实验重复 3 次。

1.2.5 蛋白质印记实验检测蛋白表达 取上述培养的 HTCF 细胞,使用恒温离心机在 4℃ 的恒温条件下离心 10min,后加入裂解液裂解后提取总蛋白,测定蛋白浓度后混入 Loading Buffer 缓冲液,水浴变性 10min。电泳分离提取的蛋白样品,再转移到 PVDF 膜,浸于 5% 脱脂奶粉中室温下孵育 2h,再加入一抗液 (1:1000) 中,4℃ 下孵育过夜。接着加入二抗液 (1:8000) 中,37℃ 孵育 1h,最后暗室曝光显影。计算目的蛋白条带灰度值/内参蛋白 GAPDH 条带灰度值比值,表示目的蛋白的相对表达量,实验重复 3 次。

1.2.6 克隆形成实验检测细胞增殖 取上述培养的 HTCF 细胞,制备 1×10⁵/mL 单细胞悬液接种于六孔板,正常培养 2wk,显微镜下观察是否有肉眼可见的克隆形成,再滴加结晶紫染液染色并拍照,计算克隆形成率 (克隆数/所种细胞数×100%)。

1.2.7 流式细胞仪检测细胞凋亡 取上述培养的 HTCF 细胞,以 1 000r/min 离心 5min,充分混匀 100 μ L Binding Buffer,5 μ L Annexin V-FITC 和 5 μ L PI,悬浮细胞;室温避光孵育 15min 后,再次加入 400 μ L 的 Binding Buffer 混匀后,检测细胞凋亡情况,细胞凋亡率 (%) = (凋亡细胞数/所种细胞数)×100%。

1.2.8 Transwell 法检测细胞侵袭 以 5 μ g matrigel 均匀包被 Transwell 小室,调整细胞量 2×10⁵ 个/孔接种于上室,下室添加含有 20% 胎牛血清的培养基,正常培养 24h,去除小室中膜内侧表面多余的细胞,固定于多聚甲醛中,结晶紫染色后,随机选取 10 个视野,观察并计数染色细胞 (侵袭细胞) 数目平均值。实验重复检测 3 次。

1.2.9 划痕实验检测细胞迁移 取上述培养的 HTCF 细胞,制备 1×10⁵/mL 单细胞悬液接种于六孔板,正常培养 24h,用 1mL 枪头垂直于培养孔中央划线,100 倍显微镜下拍照并测量 0h“划痕”宽度,继续培养 24h 后再次拍照并测量“划痕”宽度,细胞愈合率 = (0h“划痕”宽度 - 24h“划痕”宽度)/0h“划痕”宽度×100%,实验重复检测 3 次。

统计学分析:采用统计学软件 SPSS22.0,多组间比较使用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验;检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 HSP47 siRNA 对 HTCF 细胞中 HSP47 表达的影响

由 RT-PCR 和蛋白质印迹实验可以看出,相比空白对照组,空载体组 HSP47 mRNA 和蛋白相对表达水平差异均无统计学意义 ($t=0.484, P=0.645; t=0.753, P=0.480$);相比空载体组,转染组 HSP47 mRNA 和蛋白相对表达水平均显著降低 ($t=6.133, P<0.001; t=5.017, P<0.001$),见图 1 和表 1。

2.2 沉默 HSP47 对 HTCF 细胞增殖影响 由克隆形成实验和蛋白质印迹实验可以看出,相比空白对照组,空载体组克隆形成率和 Ki67 蛋白相对表达水平差异均无统计学



图1 HSP47 siRNA对HTCF细胞中HSP47蛋白表达的影响。

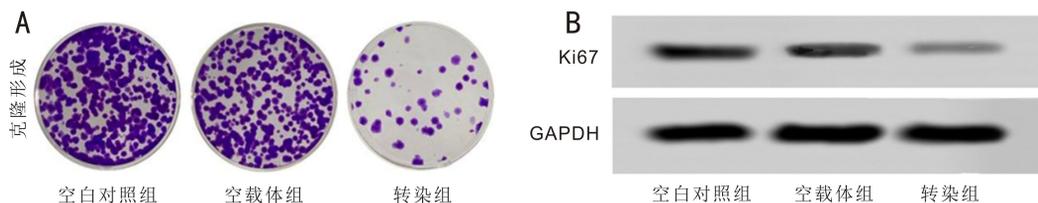


图2 沉默HSP47对HTCF细胞增殖影响 A:克隆形成实验拍照($\times 100$);B:增殖相关蛋白Ki67表达情况。

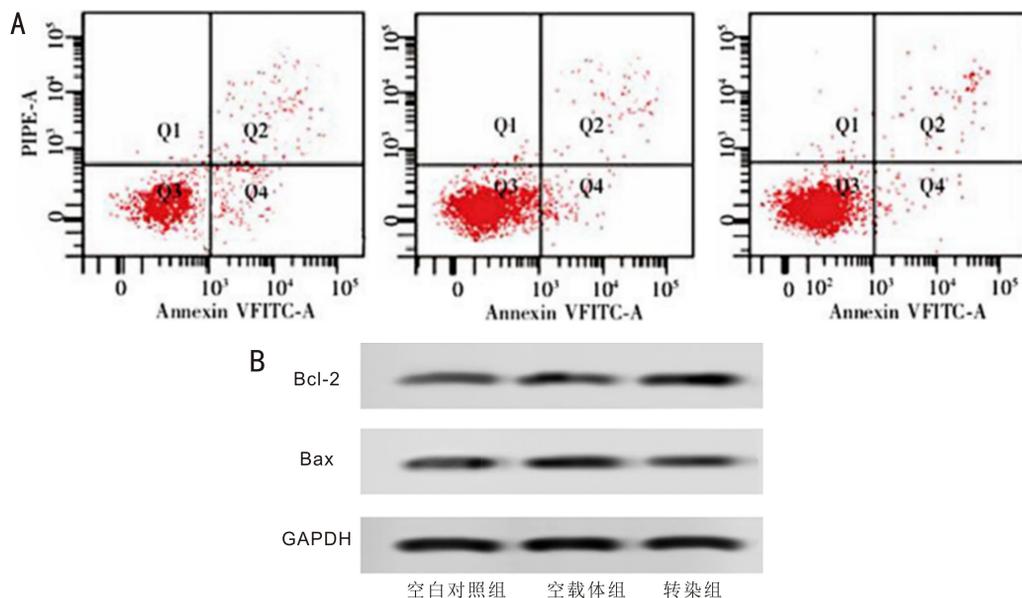


图3 沉默HSP47对HTCF细胞凋亡影响 A:流式细胞仪检测细胞凋亡情况;B:凋亡相关蛋白Bcl-2和Bax表达情况。

表1 HSP47 siRNA对HTCF细胞中HSP47表达的影响

组别	$(n=3, \bar{x} \pm s)$	
	HSP47 mRNA	HSP47/GAPDH
空白对照组	1.00 \pm 0.21	0.45 \pm 0.09
空载体组	0.94 \pm 0.15	0.51 \pm 0.15
转染组	0.18 \pm 0.05 ^{a,c}	0.11 \pm 0.03 ^{a,c}
<i>F</i>	27.213	483.452
<i>P</i>	<0.001	<0.001

注:^a $P < 0.05$ vs 空白对照组;^c $P < 0.05$ vs 空载体组。

表2 沉默HSP47对HTCF细胞增殖影响 $(n=3, \bar{x} \pm s)$

组别	克隆形成率(%)	Ki67/GAPDH
空白对照组	85.36 \pm 8.85	0.91 \pm 0.07
空载体组	79.98 \pm 9.14	0.89 \pm 0.09
转染组	24.01 \pm 3.07 ^{a,c}	0.21 \pm 0.04 ^{a,c}
<i>F</i>	61.834	97.890
<i>P</i>	<0.001	<0.001

注:^a $P < 0.05$ vs 空白对照组;^c $P < 0.05$ vs 空载体组。

意义($t=1.034, P=0.341; t=0.351, P=0.737$);相比空载体组,转染组克隆形成率和Ki67蛋白相对表达水平均显

表3 沉默HSP47对HTCF细胞凋亡影响 $(n=3, \bar{x} \pm s)$

组别	凋亡率(%)	Bcl-2/GAPDH	Bax/GAPDH
空白对照组	23.87 \pm 5.98	0.78 \pm 0.13	0.69 \pm 0.13
空载体组	20.36 \pm 6.11	0.73 \pm 0.15	0.71 \pm 0.17
转染组	19.98 \pm 2.08	0.81 \pm 0.14	0.65 \pm 0.14
<i>F</i>	0.535	0.249	0.128
<i>P</i>	0.611	0.787	0.882

著降低($t=9.072, P < 0.001; t=11.938, P < 0.001$),见图2,表2。

2.3 沉默HSP47对HTCF细胞凋亡影响 由流式细胞仪检测细胞凋亡和蛋白质印迹实验可以看出,各组细胞凋亡率、Bcl-2和Bax蛋白相对表达水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见图3,表3。

2.4 沉默HSP47对HTCF细胞侵袭及迁移影响 由划痕实验和Transwell小室实验可以看出,相比空白对照组,空载体组细胞愈合率($t=0.375, P=0.721$)、E-cadherin($t=0.470, P=0.655$)和N-cadherin蛋白相对表达水平($t=0.773, P=0.469$)、单位面积侵袭细胞数目($t=0.561, P=0.595$)差异均无统计学意义;相比空载体组,转染组细胞愈合率($t=3.197, P=0.019$)、N-cadherin蛋白相对表达

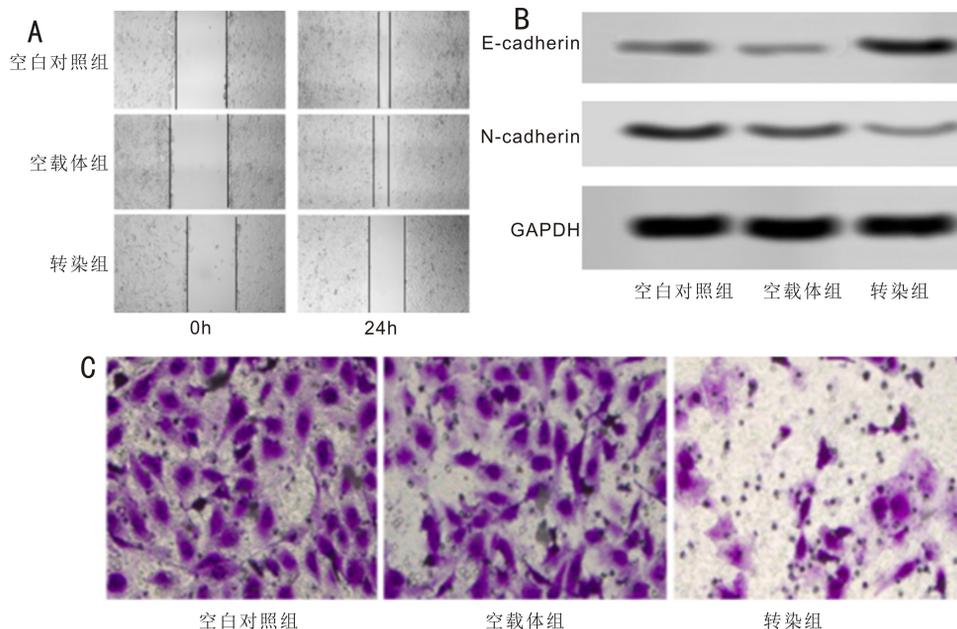


图4 沉默HSP47对HTCF细胞侵袭迁移影响 A:划痕实验拍照图($\times 100$);B:迁移相关蛋白E-cadherin和N-cadherin蛋白表达情况;C:Transwell小室检测结果($\times 400$)。

表4 沉默HSP47对HTCF细胞侵袭迁移影响

($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	细胞愈合率(%)	E-cadherin/GAPDH	N-cadherin/GAPDH	侵袭细胞数目(个/视野)
空白对照组	70.12 \pm 8.24	0.45 \pm 0.07	0.84 \pm 0.12	78.37 \pm 9.17
空载体组	67.87 \pm 7.94	0.49 \pm 0.09	0.76 \pm 0.17	74.48 \pm 10.11
转染组	48.69 \pm 5.57	0.97 \pm 0.14 ^{a,c}	0.41 \pm 0.07 ^{a,c}	40.80 \pm 5.51 ^{a,c}
<i>F</i>	7.707	23.117	9.766	17.730
<i>P</i>	0.022	<0.001	0.013	0.003

注:^a $P < 0.05$ vs 空白对照组;^c $P < 0.05$ vs 空载体组。

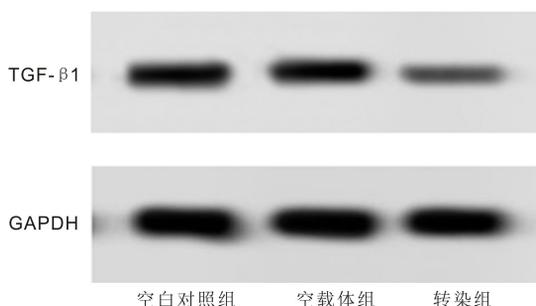


图5 沉默HSP47对HTCF细胞TGF- $\beta 1$ 表达水平影响。

水平($t=3.382, P=0.015$)、单位面积侵袭细胞数目($t=4.854, P=0.003$)均显著降低,E-cadherin蛋白相对表达水平显著升高($t=5.639, P=0.001$),见图4,表4。

2.5 沉默HSP47对HTCF细胞TGF- $\beta 1$ 表达水平影响

三组TGF- $\beta 1$ 蛋白相对表达水平比较,差异有统计学意义($F=13.982, P=0.006$)。相比空白对照组(0.78 \pm 0.15),空载体组TGF- $\beta 1$ 蛋白(0.81 \pm 0.10)相对表达水平差异均无统计学意义($t=0.323, P=0.758$);相比空载体组,转染组TGF- $\beta 1$ 蛋白(0.37 \pm 0.09)相对表达水平显著降低($t=4.732, P=0.003$),见图5。

3 讨论

青光眼滤过手术失败的机制较为复杂,其中HTCF细胞的过度增殖是重要因素之一^[9]。Ki67是一种常见的调控细胞增殖的蛋白,可维持DNA结构的稳定,并促进细胞

有丝分裂,其表达水平越高细胞增殖能力越强^[10-11]。本研究通过克隆形成实验发现,HSP47 siRNA可以抑制HTCF细胞的增殖。为了探究其机制,本研究进一步采用蛋白质印迹实验检测了Ki67的水平发现,相比空载体组,转染组克隆形成率和Ki67蛋白相对表达水平均显著降低。说明HSP47 siRNA可以通过抑制增殖相关蛋白的表达实现抑制HTCF细胞的增殖。

HTCF属于结膜下结缔组织,在受到手术创伤刺激下成纤维细胞就会发生转分化而形成肌成纤维细胞,激活了整个瘢痕反应^[12]。其中细胞的凋亡就会促进整个反应,细胞的凋亡受到相关基因的调控,如Bcl-2家族蛋白,该家族中主要包括:Bcl-2蛋白和Bax蛋白,其中Bcl-2是一种抗凋亡基因,Bax是一种凋亡基因,Bcl-2/Bax平衡的变化是促进或抑制细胞凋亡的重要信号^[13-14]。本研究发现,HSP47 siRNA对细胞的凋亡及相关蛋白表达水平并没有影响。说明沉默HSP47确实对HTCF细胞的凋亡无影响。

细胞外基质中瘢痕组织的过多聚集也是导致青光眼滤过手术失败的重要因素之一^[15]。HTCF细胞的运动能力增强可以促进细胞外基质中瘢痕组织的聚集,故抑制HTCF细胞的运动能力可以一定程度上防止细胞外基质中瘢痕组织的聚集。上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)是调节细胞运动能力的重要机制^[16],上皮细胞暂时极性的丧失将导致细胞获得间质细胞移动能力^[17-18]。同时,E-钙黏蛋白(E-cadherin)对

于细胞连接、维持细胞正常结构有重要作用,E-cadherin表达下调,将增强细胞的侵袭能力^[19-20]。本研究中,转染组细胞的侵袭和迁移能力受到了显著的抑制。随后采用蛋白质印迹实验发现,转染组细胞中N-cadherin表达降低,E-cadherin表达升高。说明HSP47 siRNA可以通过调控HTCF细胞的EMT过程实现抑制其运动能力,故沉默HSP47表达可减少细胞外基质中瘢痕组织的过多聚集。

TGF-β1是一种多肽类生长因子,是目前为止研究最为广泛的纤维化因子^[21]。TGF-β1可以促进成纤维细胞的增殖,同时还能诱使成纤维细胞的分化,促进前胶原的合成。青光眼滤过手术后,若手术周围瘢痕组织的过多聚集,将引起手术区域瘢痕性愈合,最终导致手术失败^[22-23]。本研究检测了HTCF细胞中的TGF-β1含量水平发现,相比空载体组,转染组TGF-β1蛋白相对表达水平显著降低。说明沉默HSP47可以有效抑制TGF-β1蛋白的表达,防止手术后区域瘢痕性愈合导致手术失败。这可能是因为HSP47 siRNA抑制了TGF-β1促进胶原合成的作用,缓解了细胞外基质中瘢痕组织的聚集。Zhu等^[24]研究表明:通过RNA干扰技术可以有效抑制TGF-β1的合成,抑制HTCF细胞的增殖和成纤维细胞的形成,本研究得出的结论与其相一致。

综上所述,HSP47 siRNA可以抑制TGF-β1促进HTCF细胞的增殖、侵袭及迁移能力,但对HTCF细胞的凋亡无明显影响。

参考文献

- 1 Aihara M, Kuwayama Y, Miyata K, et al. Twelve-month efficacy and safety of glaucoma filtration device for surgery in patients with normal-tension glaucoma. *Japan J Ophthalmol* 2019;63(5):22-25
- 2 Abbas A, Agrawal P, King AJ. Exploring literature-based definitions of hypotony following glaucoma filtration surgery and the impact on clinical outcomes. *Acta Ophthalmol* 2018;8(5):55-57
- 3 孔亚男, 陆宏, 陈颖, 等. 青光眼滤过术后瘢痕形成机制及抗瘢痕化研究进展. *国际眼科杂志* 2019;19(10):59-64
- 4 Kang X, Shen Y, Zhao H, et al. Anti-scarring effect of rapamycin in rabbits following glaucoma filtering surgery. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2018;38(11):1389-1394
- 5 喻娟, 彭俊, 颜家朝. 青光安颗粒对青光眼滤过术后滤过泡瘢痕化的抑制作用. *世界中医药* 2019;14(3):679-681,686
- 6 van der Veen AG, Maillard PV, Schmidt JM, et al. The RIG I like receptor LGP2 inhibits Dicer-dependent processing of long double-stranded RNA and blocks RNA interference in mammalian cells. *Embo Journal* 2018;37(4):97479-97492
- 7 Chen J, Wang S, Zhang Z, et al. Heat shock protein 47 (HSP47) binds to discoidin domain-containing receptor 2 (DDR2) and regulates its protein stability. *J Biol Chem* 2019;294(45):312-322

- 8 田倪妮, 田敏, 杨俊, 等. 急性心肌梗死患者血清 caspase-12 酶活性, CHOP 蛋白, HSP47 表达水平与冠状动脉病变的相关性研究. *临床心血管病杂志* 2019;35(7):631-633
- 9 康欣, 申颖. 青光眼术后滤过道瘢痕形成相关细胞因子及传导通路调节机制的研究进展. *内蒙古医科大学学报* 2019;41(4):435-438
- 10 Yan W, Li K, Buhe A, et al. Salidroside inhibits the proliferation and migration of gastric carcinoma cells and tumor growth via the activation of ERS-dependent autophagy and apoptosis. *RSC Advances* 2019;9(2):22-24
- 11 郑皓, 景嘉楠, 董慧, 等. 细胞周期蛋白依赖性激酶 16(CDK16)与细胞增殖指标 Ki67 在食管鳞癌中的表达及意义. *西安交通大学学报(医学版)* 2019;40(3):93-99
- 12 罗钢, 蔡丽英. 结缔组织生长因子对人眼 Tenon 囊成纤维细胞间质转化的影响及机制. *山东医药* 2016;56(28):31-33
- 13 Wei L, Chen Q, Guo A, et al. Asiatic acid attenuates CCl4-induced liver fibrosis in rats by regulating the PI3K/AKT/mTOR and Bcl-2/Bax signaling pathways. *Int Immunopharmacol* 2018;60(7):1-8
- 14 李阳, 舒德军, 彭慈军, 等. 促红细胞生成素对脂肪肝大鼠模型肝脏缺血再灌注损伤凋亡基因 bcl-2, bax mRNA 表达的影响. *临床肝胆病杂志* 2019;35(1):158-161
- 15 黄智华, 谭薇. 青光眼滤过术后抗瘢痕形成药物的研究新进展. *国际眼科杂志* 2018;18(7):68-72
- 16 Sola A, Burgo LSD, Ciriza J, et al. Microencapsulated macrophages releases conditioned medium able to prevent epithelial to mesenchymal transition. *Drug Deliv* 2018;25(1):91-101
- 17 Bronsert P, Enderle - Ammour K, Bader M, et al. Cancer cell invasion and EMT marker expression: a three-dimensional study of the human cancer-host interface. *J Pathol* 2015;234(3):410-422
- 18 刘冰冰, 韩芸蔚, 杨壹羚, 等. 浸润性微乳头状癌肿瘤细胞的极性倒转与侵袭转移. *中华内分泌外科杂志* 2017;11(2):115-117
- 19 Wang L, Zhao Z, Feng W, et al. Long non-coding RNA TUG1 promotes colorectal cancer metastasis via EMT pathway. *Oncotarget* 2016;7(32):51713-51719
- 20 Wang JH, Lee EJ, Ji M, et al. HDAC inhibitors, trichostatin A and valproic acid, increase E cadherin and vimentin expression but inhibit migration and invasion of cholangiocarcinoma cells. *Oncol Rep* 2018;40(1):346-354
- 21 张钊, 刘英宇, 刘岩, 等. 硫氧环蛋白过氧化物酶-2 对转化生长因子 β1 诱导的人胚肺成纤维细胞增殖及胶原合成的影响. *中华劳动卫生职业病杂志* 2020;38(1):7-12
- 22 Li M, Qiu L, Hu W, et al. Genetically-modified bone mesenchymal stem cells with TGF-beta(3) improve wound healing and reduce scar tissue formation in a rabbit model. *Exp Cell Res* 2018;367(1):24-29
- 23 Lodyga M, Hinz B. TGF-β1-A truly transforming growth factor in fibrosis and immunity. *Semin Cell Dev Biol* 2020;101(1):123-139
- 24 Zhu H, Dai L, Li X, et al. Role of the long noncoding RNA H19 in TGF-β1-induced Tenon's capsule fibroblast proliferation and extracellular matrix deposition. *Exp Cell Res* 2019;387(2):111802-111813