

人脑胶质瘤中Smad-1、Smad-2和Smad-4的表达及意义



陈彩霞¹, 蔡军¹, 魏晓霞¹, 邹杰¹, 鲍玉洲², 步星耀³

Expression and Significance of Smad-1, Smad-2 and Smad-4 in Human Glioma

CHEN Caixia¹, CAI Jun¹, WEI Xiaoxia¹, ZOU Jie¹, BAO Yuzhou², BU Xingyao³

1. Clinical Laboratory, He'nan Province People's Hospital, Zhengzhou 450003, China, 2. Ophthalmological Research Institute, 3. Three Department of Neurosurgery

Corresponding Authors: BAO Yuzhou, E-mail: baoyuzhou@126.com; BU Xingyao, E-mail: buxingyao@126.com

Abstract: Objective To detect the expressions of Smad-1, Smad-2 and Smad-4 of BMPs/BMPR/Smads signaling transduction pathway in human brain glioma, to research their role of them in tumorigenesis and progression of brain glioma and their correlation with clinical pathology. **Methods** The mRNA and protein expressions of Smad-1, Smad-2 and Smad-4 were detected in 20 normal brain tissues and 40 samples with human glioma by RT-PCR and SABC immunohistochemical methods, respectively, and analyzed the correlation with the patient's age, gender and pathological grade. **Results** Compared with normal brain tissues, Smad-1, Smad-2 and Smad-4 mRNA expressions in human glioma were reduced significantly (0.277 ± 0.125 vs. 0.573 ± 0.097 , $P < 0.01$; 0.282 ± 0.111 vs. 0.613 ± 0.105 , $P < 0.01$; 0.389 ± 0.101 vs. 0.483 ± 0.098 , $P < 0.05$) especially in III and IV stage tumor tissues (0.250 ± 0.106 vs. 0.327 ± 0.119 , $P < 0.05$; 0.2451 ± 0.109 vs. 0.315 ± 0.113 , $P < 0.05$; 0.347 ± 0.121 vs. 0.434 ± 0.102 , $P < 0.05$), and protein expressions in human glioma were reduced significantly (37.50% vs. 75.00%, $P < 0.01$; 20.00% vs. 65.00%, $P < 0.01$; 25.00% vs. 70.00%, $P < 0.01$) especially in III and IV stage tumor tissues (16.67% vs. 54.55%, $P < 0.05$; 5.56% vs. 31.82%, $P < 0.05$; 5.56% vs. 40.91%, $P < 0.05$). The difference was not related with the patient's age and gender. **Conclusion** Expressions of Smad-1, Smad-2 and Smad-4 in human glioma are closely related with glioma malignant degree. It prompts Smad-1, Smad-2 and Smad-4 participate in brain glioma occurrence and development process.

Key words: Glioma; Smads; Signal transduction pathways; Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR); Immunohistochemistry

摘要: 目的 检测BMPs/BMPR/Smads信号转导通路上的人脑胶质瘤组织中Smad-1、Smad-2、Smad-4的表达,探讨其在人脑胶质瘤发生发展中的作用及其与临床病理分级的关系。方法 分别应用RT-PCR技术和免疫组织化学SABC法检测20例正常脑组织和40例不同级别人脑胶质瘤组织中Smad-1、Smad-2、Smad-4 mRNA和蛋白质表达量,并分析其与患者的年龄、性别、病理分级的相关性。结果 人脑胶质瘤组织Smad-1、Smad-2、Smad-4 mRNA表达量比正常脑组织显著降低(0.277 ± 0.125 vs. 0.573 ± 0.097 , $P < 0.01$; 0.282 ± 0.111 vs. 0.613 ± 0.105 , $P < 0.01$; 0.389 ± 0.101 vs. 0.483 ± 0.098 , $P < 0.05$),且III+IV组显著低于I+II组(0.250 ± 0.106 vs. 0.327 ± 0.119 , $P < 0.05$; 0.2451 ± 0.109 vs. 0.315 ± 0.113 , $P < 0.05$; 0.347 ± 0.121 vs. 0.434 ± 0.102 , $P < 0.05$)。蛋白质表达的阳性率显著低于正常脑组织(37.50% vs. 75.00%, $P < 0.01$; 20.00% vs. 65.00%, $P < 0.01$; 25.00% vs. 70.00%, $P < 0.01$),且III+IV组显著低于I+II组(16.67% vs. 54.55%, $P < 0.05$; 5.56% vs. 31.82%, $P < 0.05$; 5.56% vs. 40.91%, $P < 0.05$)。上述指标的变化与患者的年龄及性别无关。结论 Smad-1、Smad-2、Smad-4在人脑胶质瘤中的表达水平

与胶质瘤的发生发展和恶性程度密切相关,提示Smad-1、Smad-2、Smad-4可能参与胶质瘤发生发展过程。

关键词: 脑胶质瘤; Smads; 信号转导通路; 反转录-聚合酶链式反应; 免疫组织化学

中图分类号: R739.41

文献标识码: A

收稿日期: 2012-10-15; 修回日期: 2013-02-22

基金项目: 河南省科技创新杰出人才计划项目资助课题(084200410011)

作者单位: 1.450003郑州,河南省人民医院检验科, 2.眼科研究所, 3.神经外科三

通信作者: 鲍玉洲, E-mail: baoyuzhou@126.com; 步星耀, E-mail: buxingyao@126.com

作者简介: 陈彩霞(1973-),女,硕士,主管技师,主要从事医学检验与分子生物化学研究

0 引言

脑胶质瘤既是颅内最常见的原发性恶性肿瘤，也是人体中血管化程度最高的肿瘤之一。迄今为止，因缺乏有效的治疗方法，患者平均生存期不到1年^[1]。脑胶质瘤的发生也是一个多基因参与的多阶段的发生发展过程，基因水平决定着胶质瘤的发生与发展，对胶质瘤进展相关基因的探索及其发病和分子机制的深入研究将为发现新的分子疗法和靶向治疗提供依据。已有研究发现^[2-3]，抑癌基因P53、PTEN/DMBT1的缺失或突变，EGF/EGFR和VEGF/VEGFR过表达，以及PDGF-PDGFR、RB、PI3K/AKT、Notch、JAK-STAT、MAPK、Wnt/ β -catenin、BMPs-Smads信号通路的改变等分子基因水平的改变与胶质瘤发生发展相关联，并相互之间存在着错综复杂的串话机制（cross talking），对脑胶质瘤的发展起到正调控或负调控的作用。为此，我们在检测脑胶质瘤BMP2、BMP4的基础上应用反转录-聚合酶链式反应（Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction, RT-PCR）技术和免疫组织化学染色SABC（Strept Actividin-Biotin Complex）法，检测BMPs/BMPR/Smads通路中关键分子Smad-1、Smad-2和Smad-4的mRNA及其蛋白在正常脑组织和脑胶质瘤组织中的表达，探讨其在脑胶质瘤组织中的表达及其与脑胶质瘤临床分级的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集河南省人民医院脑外科2009年1月—2010年11月手术切除的新鲜人脑胶质瘤标本40例，年龄最小为17岁，最大64岁，其中男26例，女14例。患者均为第一次接受手术治疗，且术前均未行任何放疗和化疗，术后均经病理学切片证实为胶质瘤。按照WHO脑肿瘤分类标准确定为I级胶质瘤13例，II级胶质瘤9例，III级胶质瘤11例，IV级胶质瘤7例。另取脑外伤患者行内减压手术而取得的新鲜正常脑组织20例作为对照组。从手术室取得的新鲜标本，切取瘤体中心部位组织，除部分留作常规病理诊断和免疫组织化学外，其余组织用无RNA酶去离子水处理后置于液氮中保存，作RT-PCR检测备用。

表1 Smads RT-PCR扩增引物

Table1 Smads RT-PCR Primers

Genes	Primer Sequences	Annealing temperature	Length
Smad-1	Upper Primer:5'-TGGGTGGAAACAGGGCGATG-3'	60℃	747 bp
Smad-1	Lower Primer:5'-TCCTCATAAGCAACCGCCTGA -3'		
Smad-2	Upper Primer:5'-GGAGCAGAATACCGAAGGCA-3'	60℃	128 bp
Smad-2	Lower Primer:5'-CTTGAGCAACGCACTGAAGG-3'		
Smad-4	Upper Primer:5'-GCATCGACAGAGACATACAG-3'	60℃	484 bp
Smad-4	Lower Primer:5'-CAACAGTAACAATAGGGCAG-3'		
GAPDH	Upper Primer:5'-ACCTGACCTGCCGTCTAGAA-3'	62℃	247 bp
GAPDH	Lower Primer:5'-TCCACCACCCTgTTgCTgTA-3'		

1.2 主要仪器与试剂

PCR仪为美国PE公司2720型产品。DNA Marker、Taq DNA聚合酶及一步法RT-PCR试剂盒均购于大连宝生物公司；琼脂糖为Oxoid公司产品；Trizol为Invitrogen公司产品；DAB显色剂购于北京中杉金桥公司；兔抗人Smad-1、Smad-2和Smad-4三种一抗均为多抗产品，均购自美国AB公司；二抗为羊抗兔IgG-HRP，由博迈德公司生产；其他试剂均为国产分析纯。RNA提取所用的实验耗材、去离子水均为Axygen公司生产的无RNA酶产品。

1.3 引物序列

由GenBank查找人Smad-1（GenBank Accession Number: NM_001003688）、Smad-2（GenBank Accession Number: NM_001135937.1）、Smad-4（GenBank Accession Number: NM_005359.5）及内参照GAPDH（GenBank Accession Number: NM_002046.3）基因序列，利用Primier5.0软件自行设计，进行特异性和唯一性分析后由北京三博远志生物技术有限责任公司DNA合成，其序列见表1。

1.4 RT-PCR

1.4.1 提取总RNA

严格按照Trizol说明书进行操作，用紫外分光仪测定RNA浓度，并保证 $A_{260}/A_{280} \geq 1.8$ 。

1.4.2 cDNA的合成

根据北京三博远志生物技术有限责任公司DNA合成报告单合成，本OligoDNA是以 OD_{260} 为单位来计量的，是指在1 ml体积1 cm光程标准比色皿中，260 nm波长下吸光度为 $1A_{260}$ nm的Oligo溶液定义为 $1OD_{260}$ 单位。根据此定义， $1OD_{260}$ 单位相当于33 μ g的OligoDNA，本公司提供的序列报告中分子量计算公式如下： $MW = (A \text{碱基数} \times 312) + (G \text{碱基数} \times 288) + (T \text{碱基数} \times 303) - 61$ 。

1.4.3 PCR扩增

取第一链cDNA 2 μ l，依次加入10 pM下游引物各2 μ l、dNTP4 μ l、2 u/ μ l Taq 酶1 μ l、10 \times PCR buffer 5 μ l后，再加入36 μ l 无RNA酶去离子水 H₂O，轻轻混匀构建50 μ l扩增体系。反应条件为95℃预变性5 min，94℃ 1 min，55℃ 40 s，72℃ 50 s，进

行35个循环, 72℃延伸7 min。取PCR产物约5 μl用1.2%琼脂糖凝胶电泳, 紫外透照下观察结果, 并拍照。

1.4.4 PCR产物半定量分析

将电泳凝胶置于Gel Doc2000凝胶图像分析系统进行灰度体积积分分析, 以各自内参照的灰度值为参照, 每张图片的每个指标重复6次进行灰度体积积分测定, 取其平均值来反映mRNA的表达水平。

1.5 免疫组织化学分析

1.5.1 免疫组织化学反应

所有反应均在湿盒中进行。将石蜡切片常规脱蜡入水后, 用pH6.0柠檬酸缓冲液煮沸法进行抗原修复, 0.3% H₂O₂消除内源性过氧化氢酶, 10% BSA室温封闭, 滴加稀释后的一抗(1:100)置湿盒中4℃过夜, 空白对照用等量的PBS替代一抗, 次日滴加生物素过氧化物酶复合物, 室温孵育1 h; 用含0.3% H₂O₂的DAB液显色5 min左右终止反应, 室温下光镜监视其显色、镜检。

1.5.2 结果判断

镜下观察各组进行免疫组织化学反应的标本, 以胞质内出现清晰可见的棕黄色或棕色颗粒为免疫组织化学阳性信号, 计为表达相应蛋白的阳性细胞。按照文献^[2]报道的人工计数法, 每张标本于高倍镜(×400)下随机选取10个互不重叠的视野, 统计阳性细胞百分率即阳性细胞占同类细胞的百分比, 以阳性细胞百分率≥10%者为阳性表达, 阳性细胞百分率<10%为阴性表达。部分切片染色呈棕黄色染色连成片状不易鉴别者, 阳性细胞百分率计算方法为:(高倍镜下棕黄色染色面积÷该高倍镜视野总面积)×100%。最后再计算每组标本的总体阳性率。总体阳性率(%)=(本组阳性标本总数÷本组标本总数)×100%。

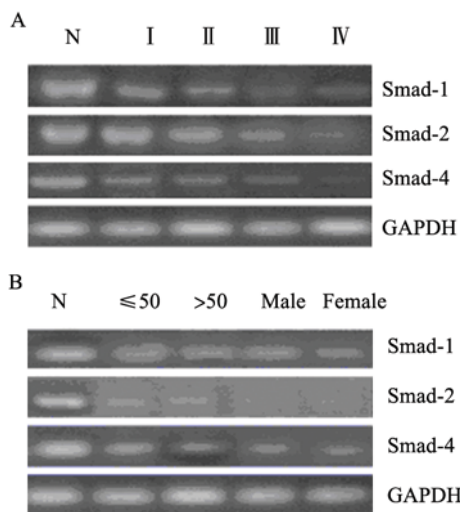
1.6 统计学方法

用SPSS 17.0 统计软件对检测结果进行统计分析, 以α=0.05为检验水准, 对相关数据采用χ²或t检验进行比较分析。

2 结果

RT-PCR扩增结果显示, Smad-1、Smad-2、Smad-4三者的mRNA在胶质瘤组织中表达显著低于正常脑组织, 且Ⅲ+Ⅳ组显著低于Ⅰ+Ⅱ组。

免疫组织化学染色结果显示, Smad-1、Smad-2、Smad-4蛋白质表达主要定位于正常脑组织和脑胶质瘤细胞的细胞质中, 呈弥漫分布的棕色或棕黄色颗粒, 强弱不等。蛋白质表达的阳性率显著低于正常脑组织, 且Ⅲ+Ⅳ组显著低于Ⅰ+Ⅱ组。而Smad-1、Smad-2、Smad-4三者蛋白质表达的阳性率在不同年龄组及不同性别组患者之间差异无统计学意义, 见图1、2, 表2、3。



A: Clinical pathologic stage; B: Clinical pathologic stage gender and age group; N: normal brain tissue; I-IV: I-IV stage

图1 Smads RT-PCR电泳图

Figure 1 Electrophoretic pattern of Smads after RT-PCR

3 讨论

Smads蛋白属于转录因子TGF-β超家族, 最早发现于果蝇细胞内的Mad (mothers against dpp) 蛋白和线虫的Sma蛋白, 并因此而命名为Smads, 其在TGF-β超家族的细胞内信号传递发挥着非常重要的作用。目前, 在哺乳动物体内已发现主要有Smad-1~8八个成员, 按其功能差异可分为三类: 受体调节型Smads(receptor-regulated Smads, R-Smads)、公用介体型Smads (common-mediator Smads, Co-Smads)和抑制型Smads(inhibitory Smads, I-Smads)^[4-6]。从分子结构上看, Smads蛋白拥有保守的N末端(MAD Homology 1, MH1)和C末端(MAD Homology 2, MH2), 两者之间的连接区是非保守的苏氨酸、丝氨酸与脯氨酸。MH1区是DNA结合的结构区, MH2区则是Smads蛋白的效应区。两者处于基础状态时互相结合并抑制对方的功能。R-Smads梭基末端的丝氨酸被BMPI型受体磷酸化, 同时激活的R-Smads/Co-Smads转录复合物形成并转位入核内, 再通过与各类共激活因子或抑制因子结合而调控下游靶基因的转录。

目前认为^[7], Smad-1、2属于R-Smads, 而Smad-4是目前唯一在哺乳动物细胞中发现的Co-Smad。Smad-1的主要作用是由BMPI型受体激活后负责BMPs的信息传导; Smad-2由activin和TGF-βI型受体激活后主要介导TGF-β和Activin信号转导, 而对BMP-2则无反应, TGF-β和Activin亦不能诱导Smad-1磷酸化; 而Smad-4是作为BMPs和TGF-β/activin两条信号途径共用的转录因子存在, 特别是对TGF-β信号的转导具有较强的控制作用; 同时, Smad-4还表现为其他Smads的

表2 Smad-1,Smad-2和Smad-4 mRNA在正常脑组织和脑胶质瘤组织中的表达 (灰度值, $\bar{x}\pm s$)

Table2 Expression of Smad-1,Smad-2 and Smad-4 mRNA in Human Glioma(Gray value, $\bar{x}\pm s$)

Group	n	Smad-1			Smad-2			Smad-4		
		mRNA	t	P	mRNA	t	P	mRNA	t	P
Tissues										
Normal brain	20	0.573±0.097			0.613±0.105			0.483±0.098		
Glioma	40	0.277±0.125	9.272	0.000	0.282±0.111	11.081	0.000	0.389±0.101	2.701	0.009
Age group										
≤50	31	0.298±0.101			0.276±0.109			0.368±0.091		
>50	9	0.276±0.107	0.568	0.573	0.304±0.098	-0.693	0.493	0.426±0.112	-1.599	0.118
Gender										
Male	26	0.304±0.109			0.300±0.104			0.372±0.114		
Female	14	0.272±0.097	0.919	0.364	0.250±0.113	1.407	0.167	0.398±0.108	-0.700	0.488
Level group										
I - II stage	22	0.327±0.119			0.315±0.113			0.434±0.102		
III -IV stage	18	0.250±0.106	2.137	0.039	0.241±0.109	2.093	0.043	0.347±0.121	2.468	0.018

表3 Smad-1/2/4蛋白在正常脑组织和脑胶质瘤组织中的表达(标本总体阳性率, %)

Table3 Expression of Smad-1/2/4 Protein in human glioma and normal brain tissues (the total positive rate of specimens,%)

Groups	n	Smad-1			Smad-2			Smad-4		
		Positive rate (%)	χ^2	P	Positive rate (%)	χ^2	P	Positive rate (%)	χ^2	P
Tissues										
Normal brain	20	75.00			65.00			70.00		
Glioma	40	37.50	7.5	0.006	20.00	11.868	0.001	25.00	11.25	0.001
Age group										
≤50	31	32.26			19.35			19.35		
>50	9	55.56	1.615	0.204	22.22	0.036	0.85	44.44	2.342	0.126
Gender										
Male	26	34.62			23.08			23.08		
Female	14	42.86	0.264	0.608	14.29	0.44	0.507	28.57	0.147	0.702
Level group										
I - II stage	22	54.55			31.82			40.91		
III -IV stage	18	16.67	6.061	0.014	5.56	4.268	0.039	5.56	6.599	0.01

伙伴, 与活化的R-Smads结合为异聚体后从细胞质向细胞核移行, 在细胞核内调控下游靶基因的表达, 进而改变细胞的生物学特性。

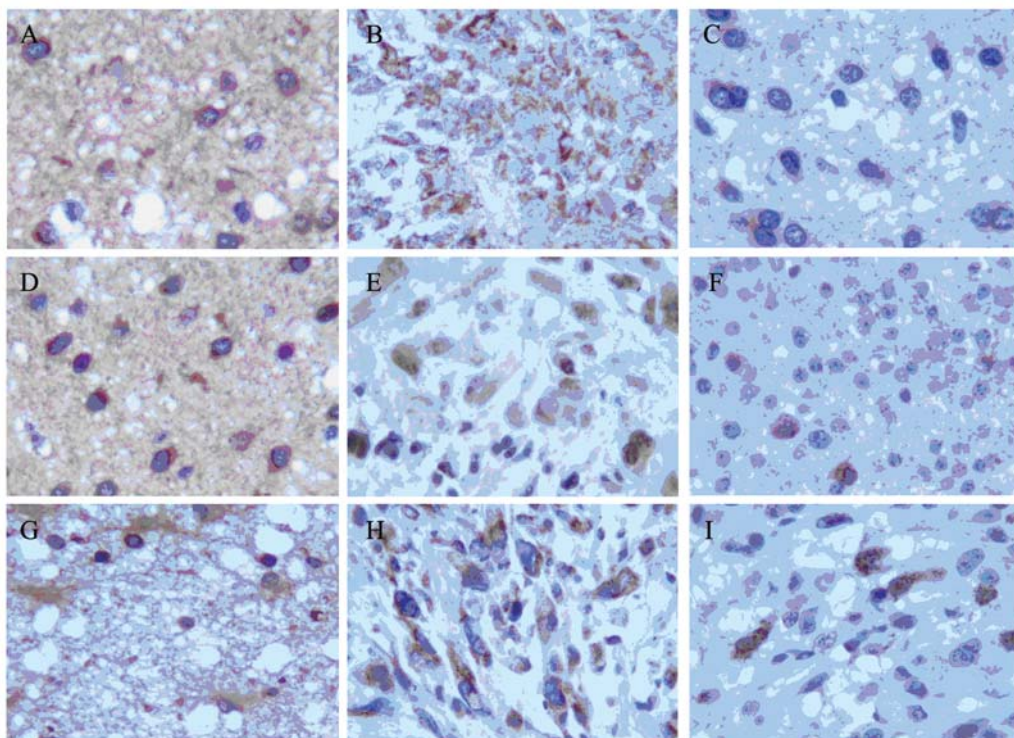
此外, 大量研究证实^[8-13], 某些Smads基因的突变、失活、异常表达, 以及因泛素化等原因引起的Smads蛋白的功能丧失与许多肿瘤的发生、发展、浸润及转移等相关, 如有研究结果提示^[7], 胶质瘤的发生和恶性进展过程中, 伴有磷酸化Smad-1(phosphorylated-Smad-1, P-Smad-1)的磷酸化活化障碍, Smad-1的蛋白表达随着胶质瘤恶性级别的增高而降低。已有人从体外研究证实了这一点^[14], 其结果显示, 磷酸化Smad-1(phosphorylated-Smad-1, P-Smad-1)可抑制胶母细胞瘤细胞系U251的增殖, 诱导瘤细胞的分化和凋亡, 其蛋白表达随着胶质瘤恶性级别的增高而降低。

本研究显示, 与正常脑组织相比, 脑胶质瘤组织中Smad-1、Smad-2、Smad-4 mRNA和蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$), 并随着肿瘤恶性级别的增高而降低, III+IV组与I+II组之间差异有统计学意义($P<0.05$), 与已有研究^[15-16]结果相近。

另外, Smad-1、Smad-2、Smad-4在人脑胶质瘤组织中随病理分级的增加而表达减少($P<0.05$), 也反映出人脑胶质瘤组织中与癌组织的分化有着明显的关系, 分化越低, 其表达越少。我们分析, 可能是由于其上游的BMPR I a、BMPR I b、BMPR II三种受体的表达降低, BMPs无法发挥调控其表达所致; 而正是因为Smad-1、Smad-2、Smad-4的表达降低, 直接失去了其自身或间接失去了其他细胞信号转导通路对细胞的增殖抑制和促进其分化、凋亡的作用, 而导致了肿瘤的发生与向恶化进展。比如除了直接丧失了Smad-1的作用外, 也可能因为Smad-2、Smad-4蛋白的表达缺失, 导致细胞逃脱TGF- β 的抑制作用, 促进了人脑胶质瘤的发生, 并在已发生癌变的组织中继续参与人脑胶质瘤的侵袭及演进。由于Smad-1、Smad-2、Smad-4在脑胶质瘤组织中, 是随着胶质瘤的发生和病理分级同步降低的, 我们认为三者可能对胶质瘤的发生和发展起着相同的作用。

参考文献:

[1] Yang T, Zhang X, Zhou L, et al.Expression and Significance



A:normal brain tissue(Smad-1);B: II Stage glioma(Smad-1);C:IV Stage glioma(Smad-1);D:normal brain tissue(Smad-2);E: II Stage glioma(Smad-2);F: IV Stage glioma(Smad-2);G:normal brain tissue(Smad-4);H: II Stage glioma(Smad-4);I: IV Stage glioma(Smad-4)

图2 Smad-1、Smad-2、Smad-4 蛋白在正常脑组织和脑胶质瘤组织中的表达(IHC ×200)

Figure2 Expression of protein of Smad-1,Smad-2,Smad-4 in human glioma and normal brain tissue(IHC ×200)

- of p57kip2 and p21cip1 in Human Glioma[J].Xi'an Jiao Tong Da Xue Xue Bao(Yi Xue Ban),2008, 29(5): 562-5.[杨涛, 张熙, 周乐, 等. p57kip2和p21cip1 在脑胶质瘤中的表达和临床意义[J].西安交通大学学报(医学版), 2008, 29(5): 562-5].
- [2] Amos S,Redpath GT,Polar G,*et al.*Farnesylthiosalicylic acid induces caspase activation and apoptosis in glioblastoma cells[J]. Cell Death Differ,2006,13(4): 642-51.
- [3] Parsa AT,Waldron JS,Panner A,*et al.* Loss of tumor suppressor PTEN function increase B7-H1 expression and immunoresistance in glioma[J]. Nat Med,2007,13 (1) : 84-8.
- [4] Massagué J.How cells read TGF-beta signals[J].Nat Rev Mol Cell Biol, 2000, 1 (3):169-78.
- [5] Zhang WL,Sun WW,Bu LS,*et al.*Smad protein families and BMPs signaling transduction [J].Zhongguo Di Fang Bing Xue Za Zhi, 2002,21(4):325-6.[张文岚, 孙文伟, 卜丽莎, 等.Smad蛋白家族与骨形态发生蛋白信号传导[J].中国地方病学杂志, 2002,21(4):325-6.]
- [6] Li L,Xin H,Xu X,*et al.*CHIP mediates degradation of Smad proteins and potentially regulates Smad-induced transcription[J]. Mol Cell Biol,2004,24(2):856-64.
- [7] Song XX.Bone morphogenetic proteins in basic study and clinical application[J].Xian Dai Yi Yao Wei Sheng, 2007,23(7): 1003-4.[宋兴贤.骨形态发生蛋白的基础研究及临床应用[J].现代医药卫生,2007,23(7): 1003-4.]
- [8] Xiangming C, Natsugoe S, Takao S, *et al.*Preserved Smad4 expression in the transforming growth factor beta signaling pathway is a favorable prognostic factor in patients with advanced gastric cancer [J]. Clin Cancer Res,2001,7 (2) :277-82.
- [9] Piestrzeniewicz Ulanska D,Brys M,Semczuk A,*et al.* Expression and intracellular localization of Smad proteins in human endometrial cancer[J].Oncol Rep, 2003,10 (5) :1539-44.
- [10] Derynck R, Zhang YE. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signalling[J]. Nature,2003,425(6958):577-84.
- [11] Nicolás FJ, Hill CS. Attenuation of the TGF-beta-Smad signaling path way in pancreatic tumor cells confers resistance to TGF-beta-induced growth arrest [J]. Oncogene,2003,22(24):3698-711.
- [12] Maliekal TT,Antony ML,Nair A,*et al.* Loss of expression,and mutation of Smad-2 and Smad-4 in human cervical cancer[J]. Oncogene 2003,22(31):4889-97.
- [13] Kim YH, Lee HS, Lee HJ, *et al.*Prognostic significance of the expression of Smad4 and Smad7 in human gastric carcinomas [J]. Ann Oncol,2004,15(4):574-80.
- [14] Liu S. Glioma BMPs/Smad, signal paths in the expression and function of the study[D]. Beijing:Academy of Military Medical Sciences, 2007. [刘爽. 胶质瘤中BMPs/Smad信号路径的表达及功能研究[D].北京:军事医学科学院,2007.]
- [15] Rosenzweig BL, Imamura T, Okadome T, *et al.* Cloning and characterization of a human type II receptor for bone morphogenetic proteins[J]. Proc Natl Sci U S A,1995,92(17):7632-6.
- [16] Shao BY, Chen QX, Liu G, *et al.* Expression and Effects of Smad4 and Smad7 in Human Glioma[J]. Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu,2005,32(3):132-4.[邵步云, 陈谦学, 刘刚, 等. Smad4和Smad7在人脑胶质瘤中的表达及意义[J]. 肿瘤防治研究,2005,32(3):132-4.]