

大鼠正畸牙移动过程中转化生长因子- β /Smad信号通路相关蛋白质在Malassez上皮剩余细胞的表达变化

杨亚 陈鹏 戴红卫 张林

重庆医科大学附属口腔医院正畸科 口腔疾病与生物医学重庆市重点实验室
重庆市高校市级口腔生物医学工程重点实验室 重庆 401147

[摘要] 目的 通过检测大鼠正畸牙移动过程中转化生长因子(TGF)- β /Smad信号通路相关蛋白质在Malassez上皮剩余细胞(ERM)中的表达情况以及ERM的功能变化,探讨TGF- β /Smad信号通路调控ERM参与正畸牙移动的作机制。方法 30只雄性8周龄健康Sprague-Dawley(SD)大鼠,在上颌右侧第一磨牙与切牙间安装镍钛拉簧,加载50 g力,作为实验组,上颌左侧作为对照组。于加力前以及加力后1、4、7、10、14 d处死大鼠,取下双侧包括上颌第一磨牙及周围牙槽骨在内的组织块,采用免疫组织化学染色方法,通过Image-Pro plus图像分析系统软件对实验组和对照组切片进行分析,在同一光强度下测量染色阳性信号的积分光密度(IOD),观察ERM表达的TGF- β 1、Smad2、Smad3、增殖细胞核抗原(PCNA)的IOD值表达变化,并且比较实验组和对照组第一磨牙颈部和根分叉区ERM数量以及ERM集群表面积变化。所有数据使用SPSS 17.0软件进行t检验和秩和检验统计分析。结果 加力1 d后,TGF- β 1、Smad2、Smad3免疫组织化学染色阳性增强,7 d后达到高峰,随后呈下降趋势;加力1、4、7、10、14 d组,TGF- β 1、Smad2、Smad3的IOD值与对照组比较差异有统计学意义。加力4 d后,PCNA免疫组织化学染色阳性增强,加力7 d后明显增强,在第10 d达到高峰,随后呈下降趋势;加力4、7、10、14 d组,PCNA的IOD值与对照组比较差异有统计学意义。加力4、7、10、14 d组,ERM数量和ERM集群表面积与对照组比较差异有统计学意义。结论 在力学刺激的作用下,ERM的数量增多,ERM集群表面积也增大,TGF- β /Smad信号通路相关分子TGF- β 1、Smad2、Smad3在ERM内表达,并且随加力时间的增加而呈现趋势性变化,表明ERM在机械力作用下通过TGF- β /Smad信号通路来调控其在正畸牙移动过程中的作用。

[关键词] Malassez上皮剩余细胞; 正畸牙移动; 转化生长因子- β /Smad信号通路

[中图分类号] R 783.5 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/gjkq.2019028



开放科学(资源服务)
标识码(OSID)

Change in expression of transformation growth factor- β /Smad signalling pathway-related proteins in epithelial rests of Malassez during orthodontic tooth movement in rats Yang Ya, Chen Peng, Dai Hongwei, Zhang Lin. (Dept. of Orthodontics, Affiliated Stomatological Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing Key Laboratory of Oral Diseases and Biomedical Sciences, Chongqing Municipal Key Laboratory of Oral Biomedical Engineering of Higher Education, Chongqing 401147, China)

This study was supported by National Natural Science Foundation of China (81400541),

[收稿日期] 2018-09-09; **[修回日期]** 2018-12-28

[基金项目] 国家自然科学基金(81400541);重庆高校创新团队建设计划(CXTDG201602006);重庆市高校市级口腔生物医学工程重点实验室资助项目(2014)

[作者简介] 杨亚, 硕士, Email: 1289971655@qq.com

[通信作者] 张林, 主治医师, 博士, Email: zhanglinfine@126.com

Malassez上皮剩余细胞 (epithelial rests of Malassez, ERM) 是牙根发育完成后Hertwig's上皮根鞘发生分裂残留下的上皮细胞,是存在于牙周膜中唯一的牙源性上皮细胞,位于邻近牙骨质的牙周膜中,以小的上皮条索或上皮团与牙根表面平行。通过光学显微镜观察,ERM较小,呈立方形或卵圆形,细胞质少,嗜碱染色;通过电子显微镜观察,上皮剩余有基底膜,将细胞与牙周膜的基质分开,相邻细胞有桥粒相连,细胞质含有张力微丝和大量的核糖体^[1]。

过去通常认为ERM是没有功能的静止上皮团簇,现在越来越多的研究发现ERM具备重要的生理和病理作用。研究^[2]发现,ERM在预防根骨粘连、维持牙周膜间隙、防止牙根吸收、促进牙骨质的形成和修复以及胶原纤维的更新等方面发挥重要作用,表明ERM是可用于修复和再生的牙周上皮组分。体外研究^[3]显示,培养的ERM能够分泌基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP),从而降解胶原纤维,推测ERM的活性增强可能与其能够加速胶原纤维更新有关,从而促进牙周膜的新陈代谢。在正畸牙移动过程中,

ERM加速胶原纤维更新,进而促进正畸牙移动。

有文献^[4-5]发现,ERM可通过以下2种途径参与牙骨质的形成与修复:1)通过分泌牙骨质形成相关蛋白质直接参与;2)通过上皮-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition) 间接参与。上皮-间充质转化是指在一些特定的生理或病理状态下,上皮细胞转化为间充质细胞的现象^[6]。近年来的研究^[7]发现,上皮-间充质转化是多细胞生物胚胎发育与器官形成中的基础过程,与胚胎发育、肿瘤转移等过程密切相关。至今发现已有许多信号分子可以诱导上皮-间充质转化,其中包括肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF)、胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor, IGF)、表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 以及转化生长因子 (transforming growth factor, TGF) - β ^[8]。大部分信号分子的诱导作用都有赖于不同的细胞环境,而TGF- β 则被认为是几乎所有上皮组织发生上皮-间充质转化所必不可少的诱导因子。

TGF- β 信号网络主要包括2种信号转导通路,即Smad依赖通路和非Smad依赖通路,其中Smad

是TGF- β /Smad信号通路的核心转导物质。在Smad依赖通路中,由TGF- β 1启动细胞信号转导,首先与细胞膜上的TGF- β 型受体(TGF- β receptor, TGF- β R)结合,然后激活TGF- β 型受体(TGF- β receptor, TGF- β R)形成受体复合物,活化的TGF- β R反过来磷酸化Smad2和Smad3,磷酸化的Smad2和Smad3(pSmad2/3)与Smad4形成异聚体,然后转运至细胞核,与DNA结合转录因子相互作用,激活上皮-间充质转化相关基因的表达而介导上皮-间充质转化^[9]。

笔者猜想,通过TGF- β /Smad信号通路的调控作用,ERM可能发生上皮-间充质转化,从而参与正畸牙移动过程。ERM在牙周膜内及其在正畸牙移动过程中具有重要作用,但ERM在感受力学刺激后的功能变化和对正畸牙移动过程中牙槽骨改建的影响及作用机制尚不清楚。本实验通过建立大鼠牙齿移动模型,运用免疫组织化学染色的方法,检测牙移动过程中TGF- β /Smad信号通路相关蛋白质在ERM的表达情况以及ERM的功能变化情况,探讨ERM是否通过TGF- β /Smad信号通路调控ERM参与正畸牙移动过程及其作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

取30只健康雄性8周龄Sprague-Dawley(SD)大鼠(重庆医科大学动物实验中心提供),平均质量200~250 g,随机分为6组(0 d组,1 d组,4 d组,7 d组,10 d组和14 d组),每组5只;选取上颌右侧第一磨牙与切牙间安装镍钛拉簧,作为实验组,加载50 g力,上颌左侧作为对照组。

1.2 建立正畸牙齿移动模型

使用10%水合氯醛,按300~350 mg·kg⁻¹剂量对大鼠进行腹腔注射麻醉,在上颌右侧第一磨牙近中轴面角龈缘和上颌切牙牙颈部用低速金刚砂车针磨出深约0.2 mm的浅凹,用0.020 in结扎丝将镍钛螺旋拉簧分别固定于同侧的上颌切牙与第一磨牙之间,用正畸测力计加载50 g的初始力值。

1.3 标本制备

模型建立后,分别于加力前以及加力后1、4、7、10、14 d,在深度麻醉下通过断头法处死大鼠,取双侧包括上颌第一磨牙及周围牙槽骨在内的组织块,使用4%多聚甲醛固定12 h,然后在4 恒温条件下,用10%乙二胺四乙酸(elhylene

diamine tetraacetic acid, EDTA)脱钙约8周,常规系列乙醇脱水,石蜡包埋,沿上颌第一磨牙近中根长轴做近远中向连续切片(厚约5 μ m)。

1.4 免疫组织化学染色

标本用二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱水,每张切片加入体积分数3%过氧化氢去离子水以阻断内源性过氧化物酶,以防止标本中的内源性过氧化物酶使二氨基联苯胺发生显色反应。胰酶消化法抗原修复,使用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)冲洗。山羊血清封闭后,滴加一抗:兔抗TGF- β 1多克隆抗体工作浓度1:2 000(Cell Signaling Technology公司,美国)、兔抗Smad2多克隆抗体工作浓度1:1 000(Bioworld公司,美国)、兔抗Smad3多克隆抗体工作浓度1:1 000(Bioworld公司,美国)、兔抗PCNA多克隆抗体工作浓度1:1 000(Bioworld公司,美国)。抗体与目的蛋白质结合后,滴加二抗:兔抗羊多克隆抗体工作浓度1:2 000(Bioworld公司,美国)。二抗与一抗结合后,再滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液,二氨基联苯胺显色液显色,苏木精复染,中性快干胶封片。

切片观察和图像采集采用Olympus显微病理分析系统。阳性标准为细胞形态完整,细胞质呈特异性棕黄色。阳性细胞着色水平明显高于背景水平。细胞内无棕黄色或与背景着色一致的细胞为阴性细胞。

1.5 图像分析

采用Image-Pro plus图像分析系统软件进行处理。在组织切片上确定测量部位:在上颌第一磨牙牙颈部和根分叉区,随机选取3个ERM团块,在同一光强度下测量TGF- β 1、Smad2、Smad3、PCNA阳性信号的积分光密度(integrated optical density, IOD)以及ERM集群表面积。在光学显微镜下计数上颌第一磨牙牙颈部及根分叉区的ERM数量。

1.6 统计学处理

采用SPSS 17.0软件对相关数据采用*t*检验和秩和检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TGF- β 1、Smad2、Smad3、PCNA免疫组织化学染色阳性强度检测

对照组TGF- β /Smad信号通路相关蛋白质

TGF-β1、Smad2、Smad3免疫组织化学染色呈阴性(图1);加力后1 d, TGF-β1、Smad2、Smad3免疫组织化学染色阳性增强(图2), 7 d后达到高峰(图3), 之后逐渐下降, 14 d后免疫组织化学

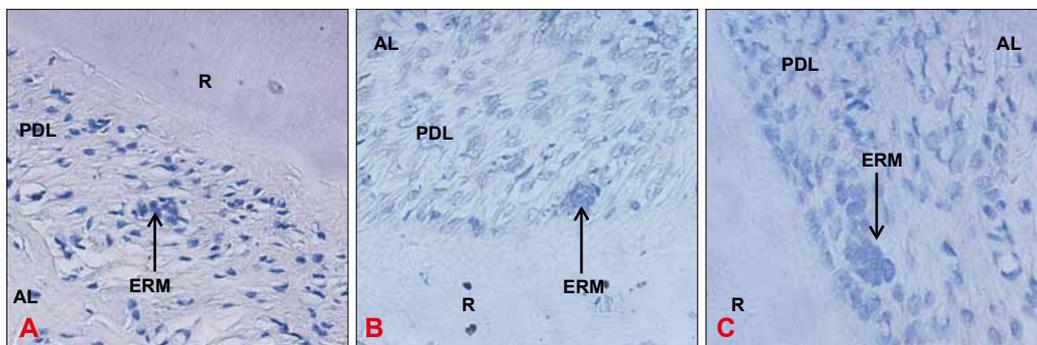
染色仍为阳性(图4)。加力后1、4、7、10、14 d实验组TGF-β1、Smad2、Smad3免疫组织化学染色与对照组的差异有统计学意义($P<0.01$)。相关数据见表1。

表 1 正畸牙移动大鼠ERM的TGF-β1、Smad2、Smad3、PCNA表达

Tab 1 Expression of TGF-β1, Smad2, Smad3 and PCNA in rat ERM during orthodontic tooth movement

时间/d	分组	TGF-β1	Smad2	Smad3	PCNA
0	实验组	47.7±7.0	38.0±10.0	38.2±9.7	23.0±2.6
	对照组	43.8±3.2	34.4±1.5	37.2±1.5	21.2±1.5
1	实验组	72.8±4.8	68.6±4.2	69.3±4.9	22.8±2.4
	对照组	48.0±2.4	42.2±2.4	39.0±2.1	21.5±1.4
4	实验组	136.2±6.4	142.9±4.9	143.5±5.2	41.2±7.7
	对照组	53.4±0.7	45.1±3.1	43.1±1.4	25.1±1.2
7	实验组	276.0±5.9	253.6±11.3	248.2±8.6	76.2±7.1
	对照组	52.9±1.6	43.7±4.0	52.8±2.0	32.5±1.5
10	实验组	201.7±5.9	178.9±1.5	179.8±2.0	155.0±5.3
	对照组	52.9±1.6	51.1±2.6	38.6±1.0	30.4±2.1
14	实验组	135.9±5.0	123.8±6.7	122.2±5.2	127.6±3.0
	对照组	55.6±1.9	41.2±1.6	44.1±1.3	35.8±2.1

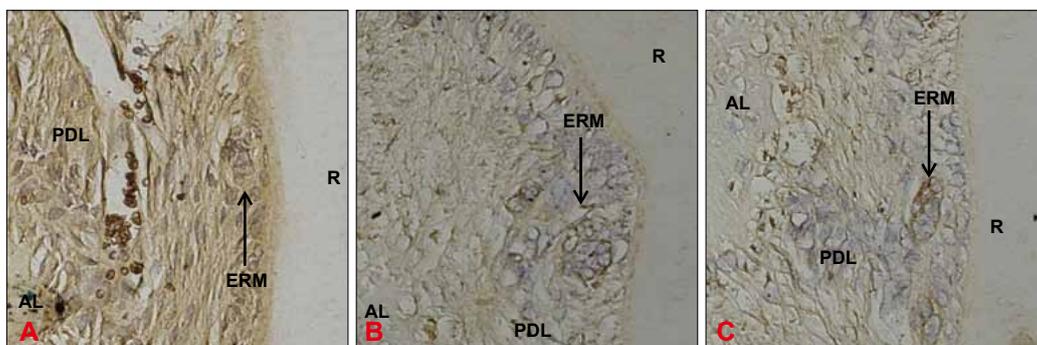
注: 数据为IOD值平均值±标准差。



A : TGF-β1 ; B : Smad2 ; C : Smad3。PDL : 牙周膜 ; R : 牙根 ; AL : 牙槽骨。箭头示ERM。

图 1 对照组ERM的TGF-β1、Smad2、Smad3表达情况 免疫组织化学染色 ×40

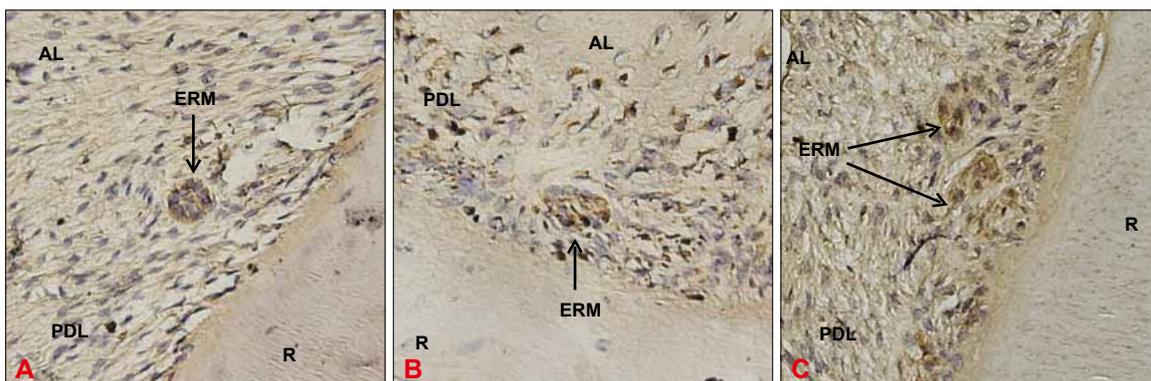
Fig 1 Expression of TGF-β1, Smad2 and Smad3 in ERM of control group immunohistochemical staining ×40



A : TGF-β1 ; B : Smad2 ; C : Smad3。PDL : 牙周膜 ; R : 牙根 ; AL : 牙槽骨。箭头示ERM。

图 2 加力1 d实验组ERM的TGF-β1、Smad2、Smad3表达情况 免疫组织化学染色 ×40

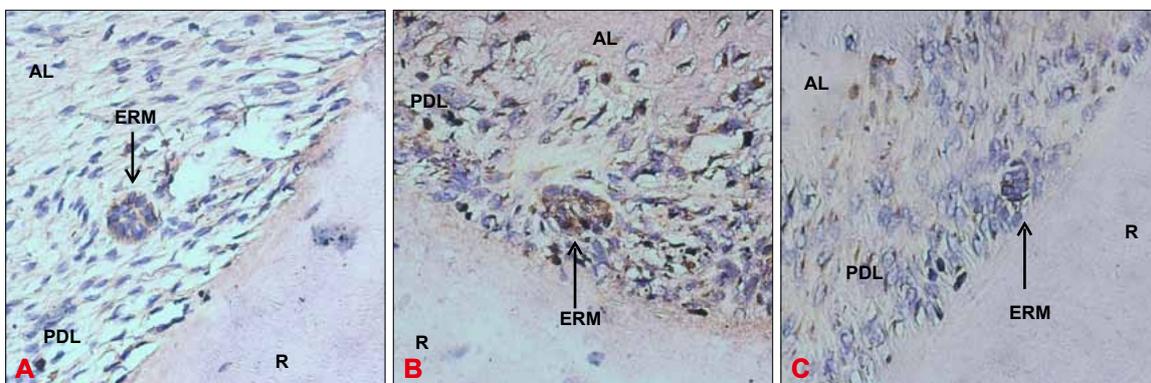
Fig 2 Expression of TGF-β1, Smad2 and Smad3 in ERM of 1 d group immunohistochemical staining ×40



A : TGF-β1 ; B : Smad2 ; C : Smad3。PDL : 牙周膜 ; R : 牙根 ; AL : 牙槽骨。箭头示ERM。

图 3 加力7 d实验组ERM的TGF-β1、Smad2、Smad3表达情况 免疫组织化学染色 × 40

Fig 3 Expression of TGF-β1, Smad2 and Smad3 in ERM of 7 d group immunohistochemical staining × 40



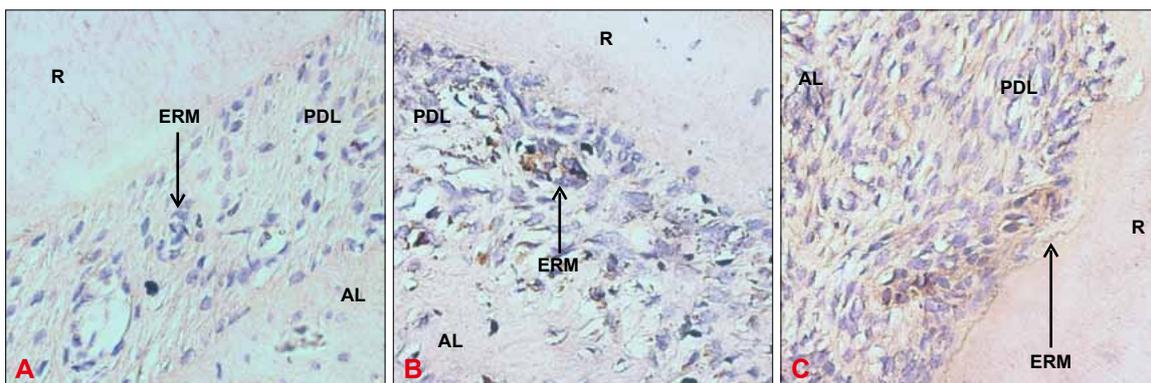
A : TGF-β1 ; B : Smad2 ; C : Smad3。PDL : 牙周膜 ; R : 牙根 ; AL : 牙槽骨。箭头示ERM。

图 4 加力14 d实验组ERM的TGF-β1、Smad2、Smad3表达情况 免疫组织化学染色 × 40

Fig 4 Expression of TGF-β1, Smad2 and Smad3 in ERM of 14 d group immunohistochemical staining × 40

加力4 d后，PCNA免疫组织化学染色阳性增强，加力7 d后明显增强，加力10 d后达到高峰（图5），然后开始下降。加力后1、4、7、10、

14 d实验组PCNA免疫组织化学染色阳性强度与对照组的差异有统计学意义 ($P<0.05$)。



A : 对照组 ; B : 加力4 d实验组 ; C : 加力10 d实验组。PDL : 牙周膜 ; R : 牙根 ; AL : 牙槽骨。箭头示ERM。

图 5 ERM的PCNA表达情况 免疫组织化学染色 × 40

Fig 5 Expression of PCNA immunohistochemical staining × 40

2.2 ERM数量和ERM集群表面积

加力前和加力后1 d，实验组和对照组ERM数量和ERM集群表面积差异无统计学意义。加力

后4、7、10、14 d，实验组ERM数量和ERM集群表面积明显高于对照组，差异具有统计学意义（详见表2）。

表 2 正畸牙移动大鼠ERM数量和ERM集群表面积
Tab 2 The number of ERM and the surface area of ERM cluster in rat ERM during orthodontic tooth movement

时间/d	分组	ERM细胞数量	ERM细胞集群表面积
0	实验组	5.3±0.6	525.4±6.2
	对照组	5.0±0.0	518.4±3.9
1	实验组	5.0±1.0	566.3±5.2
	对照组	4.7±1.2	536.4±5.2
4	实验组	7.3±0.6	803.2±11.3
	对照组	5.3±0.6	542.5±2.7
7	实验组	10.0±1.0	1 071.3±41.9
	对照组	6.0±1.0	565.4±7.9
10	实验组	9.3±1.5	1 141.5±55.8
	对照组	5.7±0.6	559.4±6.2
14	实验组	8.0±1.0	947.4±11.3
	对照组	5.3±0.6	569.0±4.2

3 讨论

近年来的研究^[10-11]证实,作用于ERM的力学刺激能够促进该细胞增殖,促使ERM特征性地表达热休克蛋白(heat shock protein, HSP) 70、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、骨桥蛋白(osteopontin)等因子。此外研究^[5,12-13]显示,体外培养的ERM在TGF-β、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)作用以及成骨诱导条件下均可发生上皮-间充质转化,而TGF-β则被认为是几乎所有上皮组织发生上皮-间充质转化所必不可少的诱导因子。然而关于机械力作用下ERM发生上皮-间充质转化进而参与正畸牙移动的机制并不清楚。探讨TGF-β/Smad信号通路在正畸牙移动过程中对ERM的调控机制,不但有助于了解TGF-β超家族信号传导对ERM的调控功能,而且也对探讨其他信号通路在信号转导过程中的作用有重要意义。

本实验通过对大鼠牙齿进行正畸加力处理后,采用免疫组织化学染色方法,观察到对照组中TGF-β/Smad信号通路相关蛋白质TGF-β1、Smad2、Smad3免疫组织化学染色呈阴性,实验组从加力后1 d开始,TGF-β1、Smad2、Smad3免疫组织化学染色阳性增强,7 d后达到高峰,之后逐

渐下降,加力后1、4、7、10、14 d组TGF-β1、Smad2、Smad3的表达与加力前的差异有统计学意义,说明ERM受机械力刺激诱导了TGF-β1、Smad2、Smad3的表达,并且随加力时间的增加呈现出趋势性变化,提示ERM通过TGF-β/Smad信号通路的调节活动来发挥其在正畸牙移动过程中的作用。

在Talic等^[14]的研究中,观察到在正畸牙移动刺激下,ERM增殖,细胞数量增加、体积增大,表明ERM通过增加细胞活性,加速牙周膜内的胶原更新,进而促进正畸牙移动。Hasegawa等^[4]建立大鼠正畸牙根吸收模型,在牙骨质修复期间观察到牙周膜内的ERM分布发生了变化,并且位于牙根吸收陷窝附近的ERM表达骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP) 2、骨桥蛋白以及成釉蛋白,同时牙根吸收处的ERM还表达PCNA,其免疫组织化学染色呈强阳性,提示ERM增殖,然而并没有检测到ERM细胞数量的增加,吸收陷窝附近结缔组织也未观察到ERM,提示ERM有可能通过上皮-间充质转化间接参与牙骨质修复。本实验加力4 d后,发现PCNA免疫组织化学染色阳性增强,加力7 d后明显增强,加力10 d后达到高峰;同时在加力4、7、10、14 d组,ERM数量明显高于对照组,ERM集群表面积也明显大于对照组,这与上述研究结果一致。与此同时,TGF-β/Smad信号通路相关蛋白质在ERM内表达,提示机械力作用下的ERM活性增加,能够通过直接分泌牙骨质相关蛋白质和上皮-间充质转化间接参与正畸牙移动过程。

Smad分子是TGF-β超家族信号分子在细胞内信号转导的始动因子,在将TGF-β信号从细胞膜受体传导至细胞核的过程中发挥着关键作用。以往研究^[15]已经阐明,Smad家族由多种细胞因子构成,按照结构和功能,大体上可以分为3个亚族:1)受体调节的Smad(receptor-regulated Smad, R-Smad),包括Smad1、Smad2、Smad3、Smad5和Smad8一共5个成员;2)共同通路型Smad(common partner Smad, Co-Smad),包括了Smad4;3)抑制性Smad(inhibitory Smad, I-Smad),包括Smad6和Smad7。R-Smad作为TGF-βR激酶的底物被磷酸化后,与Co-Smad结合形成复合物,进入细胞核内调节特定基因的表达。其中Smad1、Smad5、Smad8主要被骨形态发生蛋白受体(bone morphogenetic protein receptor,

BMPR)磷酸化激活,介导BMP信号通路的生物效应;Smad2、Smad3被TGF- β R磷酸化激活,介导TGF- β /Smad信号通路的效应;Smad4为TGF- β 和BMP信号通路所共享^[16]。可以认为Smad2、Smad3决定着TGF- β /Smad信号通路在细胞中的传导。因此,如果对以TGF- β 1、Smad2、Smad3为代表的TGF- β /Smad信号通路关键因子进行调控,进而调节TGF- β 超家族分子信号传递,从而影响ERM在正畸牙移动中的作用。

综上所述,在正畸牙移动过程中,TGF- β /Smad信号通路相关分子TGF- β 、Smad在ERM内表达,且随加力时间的增加而呈现趋势性变化,说明ERM在机械力作用下通过TGF- β /Smad信号通路来调控其在正畸牙移动过程中的作用。本研究为进一步研究ERM在正畸牙移动中的功能和作用提供依据,对于从新的角度更好地探索牙移动时牙周组织的改建机制及牙移动后牙周组织的恢复具有深远的意义。对于通过调控TGF- β /Smad信号通路相关蛋白质在ERM的表达,影响ERM的功能状态,进而调控正畸过程中的牙齿移动,仍然需要进一步研究。

4 参考文献

- [1] 于世凤. 口腔组织病理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 94.
- [2] Yu SF. Oral histopathology[M]. Beijing: People's Health Publishing House, 2012: 94.
- [3] Silva BSE, Fagundes NCF, Nogueira BCL, et al. Epithelial rests of Malassez: from latent cells to active participation in orthodontic movement[J]. Dent Press J Orthod, 2017, 22(3): 119-125.
- [4] Shimonishi M, Takahashi I, Terao F, et al. Induction of MMP-2 at the interface between epithelial cells and fibroblasts from human periodontal ligament[J]. J Periodontal Res, 2010, 45(3): 309-316.
- [5] Hasegawa N, Kawaguchi H, Ogawa T, et al. Immunohistochemical characteristics of epithelial cell rests of Malassez during cementum repair[J]. J Periodontal Res, 2003, 38(1): 51-56.
- [6] Xiong J, Mrozik K, Gronthos S, et al. Epithelial cell rests of Malassez contain unique stem cell populations capable of undergoing epithelial-mesenchymal transition[J]. Stem Cells Dev, 2012, 21(11): 2012-2025.
- [7] Greenburg G, Hay ED. Epithelia suspended in collagen gels can lose polarity and express characteristics of migrating mesenchymal cells[J]. J Cell Biol, 1982, 95(1): 333-339.
- [8] Nawshad A, Lagamba D, Polad A, et al. Transforming growth factor- β signaling during epithelial-mesenchymal transformation: implications for embryogenesis and tumor metastasis[J]. Cells Tissues Organs, 2005, 179(1/2): 11-23.
- [9] Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression[J]. Nat Rev Cancer, 2002, 2(6): 442-454.
- [10] Zhang YE. Mechanistic insight into contextual TGF- β signaling[J]. Curr Opin Cell Biol, 2018, 51: 1-7.
- [11] Haku K, Muramatsu T, Hara A, et al. Epithelial cell rests of Malassez modulate cell proliferation, differentiation and apoptosis via gap junctional communication under mechanical stretching *in vitro*[J]. Bull Tokyo Dent Coll, 2011, 52(4): 173-182.
- [12] Koshihara T, Matsuzaka K, Sato T, et al. Effect of stretching force on the cells of epithelial rests of Malassez *in vitro*[J]. Int J Dent, 2010, 2010: 458408.
- [13] Takahashi K, Shimonishi M, Wang R, et al. Epithelial-mesenchymal interactions induce enamel matrix proteins and proteases in the epithelial cells of the rests of Malassez *in vitro*[J]. Eur J Oral Sci, 2012, 120(6): 475-483.
- [14] Lee JH, Nam H, Um S, et al. Upregulation of GM-CSF by TGF- β 1 in epithelial mesenchymal transition of human HERS/ERM cells[J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2014, 50(5): 399-405.
- [15] Talic NF, Evans CA, Daniel JC, et al. Proliferation of epithelial rests of Malassez during experimental tooth movement[J]. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2003, 123(5): 527-533.
- [16] Xu F, Liu C, Zhou D, et al. TGF- β /SMAD pathway and its regulation in hepatic fibrosis[J]. J Histochem Cytochem, 2016, 64(3): 157-167.
- [17] Wu M, Chen G, Li YP. TGF- β and BMP signaling in osteoblast, skeletal development, and bone formation, homeostasis and disease[J]. Bone Res, 2016, 4: 16009.

(本文编辑 胡兴戎)