

[文章编号] 1007-3949(2009)17-05-0371-04

• 实验研究 •

## 丙酮酸乙酯干预大鼠冠状动脉微栓塞对肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、白细胞介素 $1\beta$ 的影响

林运灵<sup>1</sup>, 王伟伟<sup>1</sup>, 陈宇宁<sup>2</sup>, 李淑梅<sup>3</sup>, 张飞龙<sup>1</sup>, 陈良龙<sup>4</sup>

(福建医科大学附属协和医院内科 &amp; 福建省冠心病研究所, 福建省福州市 350001)

[关键词] 冠状动脉微栓塞; 缺血性心脏病; 炎症因子; 丙酮酸乙酯; 肿瘤坏死因子  $\alpha$ ; 白细胞介素  $1\beta$ ; 大鼠

[摘要] **目的** 研究丙酮酸乙酯对大鼠冠状动脉微栓塞后炎症因子表达的影响。**方法** 通过心尖部注射大鼠自体血栓微粒建立大鼠冠状动脉微栓塞模型。36只大鼠分为假手术组、冠状动脉微栓塞未治疗组和丙酮酸乙酯预处理组, 每组各 12 只, 于术后 3 天处死。Western blot 测定肿瘤坏死因子  $\alpha$ 、白细胞介素  $1\beta$  的表达水平, 实时 PCR 检测肿瘤坏死因子  $\alpha$ 、白细胞介素  $1\beta$  mRNA 表达量。**结果** 与假手术组相比, 冠状动脉微栓塞后 3 天, 心肌组织肿瘤坏死因子  $\alpha$ 、白细胞介素  $1\beta$  mRNA 及蛋白水平明显升高; 左室功能显著恶化, 左室舒张末压明显增大, 左室收缩压、左室内压上升最大速率明显下降 ( $P < 0.01$ ); 心肌肿瘤坏死因子  $\alpha$ 、白细胞介素  $1\beta$  蛋白水平与心功能呈明显相关性。与冠状动脉微栓塞未治疗组比较, 丙酮酸乙酯预处理能够显著抑制冠状动脉微栓塞后肿瘤坏死因子  $\alpha$ 、白细胞介素  $1\beta$  的 mRNA 及蛋白水平表达, 改善心室功能。**结论** 丙酮酸乙酯预处理能够抑制大鼠冠状动脉微栓塞后促炎症因子的过度激活, 改善心功能。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Effect of Ethyl Pyruvate on Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ and Interferon- $1\beta$ After Coronary Microembolization in Rats

LIN Yun-Ling, WANG Wei-Wei, CHEN Yu-Ning, LI Shu-Mei, ZHANG Fei-Long and CHEN Liang-Long

(Cardiology Department, Union Hospital of Fujian Medical University &amp; Fujian Provincial Institute of Coronary Disease, Fuzhou 350001, China)

[KEY WORDS] Coronary Microembolization; Ischemic Heart Disease; Inflammation; Ethyl Pyruvate; Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ; Interferon- $1\beta$ ; Rat

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the role of cytokines in myocardium following coronary microembolization (CME) and the effects of ethyl pyruvate as a myocardial protective agent in the rat CME model. **Methods** We created a rat model of CME by injecting a suspension of autogenic microthrombotic particles into left ventricle. 36 rats were randomly divided into 3 groups: each consisted of 12 rats: sham-operation group (SO), CME model group and ethyl pyruvate intervention group (EP). Haemodynamic measurements were performed on day 3 and then the rats were sacrificed. Protein expressions of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interferon- $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) were analyzed by Western blotting. Alterations of TNF- $\alpha$ , IL- $1\beta$  mRNA were quantitatively assessed by Real-time PCR. **Results** Compared with the sham group, left ventricular systolic pressure (LVSP) and the maximum rise rate of left ventricular pressure ( $+dp/dt_{max}$ ) significantly decreased ( $P < 0.05$ ), while left ventricular end diastolic pressure (LVEDP) significantly increased ( $P < 0.05$ ) in the CME group. Compared with those of the sham group, the expressions of TNF- $\alpha$ , IL- $1\beta$  protein and gene were significantly increased in CME group ( $P < 0.05$ ). Ethyl pyruvate significantly suppressed protein and mRNA expression of TNF- $\alpha$ , IL- $1\beta$  ( $P < 0.05$ ), improved cardiac functions. **Conclusion** In this study of rat after coronary microembolization, ethyl pyruvate preserved cardiac function due to suppression of the TNF- $\alpha$  and IL- $1\beta$ .

动脉粥样硬化斑块自发或由于溶栓、介入治疗破裂产生的细小碎片(微栓子)造成的冠状动脉微循环栓塞和微梗死称为冠状动脉微栓塞(coronary

microembolization, CME), 冠状动脉微栓塞在急性期造成冠状动脉储备下降, 心肌组织水平灌注不足, 导致心肌收缩异常、介入术后无复流现象等严重后果<sup>[1-5]</sup>。以肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素  $1\beta$  (interferon- $1\beta$ , IL- $1\beta$ ) 为代表的炎症因子诱发的炎症反应是引起 CME 后心肌损害的重要机制, 调控炎症因子的表达可能是干预冠状动脉微栓塞的重要措施。丙酮酸乙酯

[收稿日期] 2009-02-12 [修回日期] 2009-05-10

[作者简介] 林运灵, 博士研究生, 研究方向为冠心病基础与临床, E-mail为 yunlingli@126.com。王伟伟, 硕士, 住院医师, 研究方向为冠心病基础与临床, E-mail为 wangweie2007@hotmail.com。陈宇宁, 硕士, 主治医师, 研究方向为冠心病基础与临床, E-mail为 wabos@126.com。

(ethyl pyruvate, EP)是稳定的亲脂性的丙酮酸酯化物,能够显著抑制缺血性损伤后炎症因子的表达,其疗效在多个疾病模型上得到证实<sup>[6]</sup>,本研究在建立大鼠冠状动脉微栓塞模型的基础上,探讨EP预处理对微栓塞后对TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物与主要试剂

36只清洁级SD雄性大鼠,体重 $300 \pm 20$  g,购自上海斯莱克实验动物中心。丙酮酸乙酯购自sigma公司(美国),羊抗大鼠TNF- $\alpha$ 抗体、兔抗大鼠IL-1 $\beta$ 抗体购自Santa Cruz公司(美国),HRP-GAPDH购自上海康成生物公司,蛋白提取试剂盒购自Active Motif公司(美国),考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所,ECL化学发光试剂盒购自北京中山生物公司。Trizol试剂盒购自GIBCO/BRL公司(美国),RT试剂盒购自Promega公司(美国),SYBR Premix Ex TaqTM购自TaKaRa公司(日本)。

### 1.2 模型建立

动物分为假手术组,其中冠状动脉微栓塞组又分为未治疗组(乳酸林格液1 mL术前半小时颈静脉内注射)、EP干预组(EP组,EP溶于乳酸林格液内,终浓度为28 mmol/L,术前半小时颈静脉内注射,用量40 mg/kg,随后以该剂量腹腔注射,每日一次,共3 d),每组各12只。建模方法<sup>[7]</sup>:每只大鼠取尾静脉血1 mL,凝固成血栓,37℃温箱过夜,玻璃研磨器研磨5 min,经42  $\mu$ m大小的过滤网过滤后使之成为直径为10~42  $\mu$ m较均匀的微栓子颗粒,腹腔注射氯胺酮(66.7 mg/kg)和安定(6.67 mg/kg)复合麻醉后,气管插管,小动物呼吸机辅助呼吸,开胸,暴露心脏,分离主动脉并穿细线。取血栓微粒5 mg于EP管中,加生理盐水0.3 mL,振荡器剧烈振荡后制成混悬液,细针抽吸,以血管钳钳夹升主动脉暂时阻断血流后,迅速以细针向心尖部注射血栓微粒,5 s后松开钳夹的升主动脉,局部棉签压迫止血,待心跳稳定后逐层关胸。待呼吸平稳后拔除气管套管,普通饲养,术后每日肌注青霉素40万U/只,连续3 d。假手术组大鼠手术方法同模型组,自心尖部注入生理盐水0.3 mL替代血栓微粒。各组动物术后3 d进行血流动力学检测,处死,垂直于左室长轴在乳头肌平面将心脏标本分为乳头肌段及心尖段(再分为两部分用来检测PCR及Western blot),于液氮中速冻,随后置于-80℃低温冰箱保

存。

### 1.3 血流动力学检测

各组实验动物均于处死前经右颈总动脉导管法行血液动力学检测,测压系统预先用肝素生理盐水冲洗、排气及压力定标,大鼠仰置位固定于手术台上,沿颈部正中切开皮肤,分离暴露右颈总动脉,结扎远心端,近端刺入20 G动脉留置针入颈动脉,连接生物信号采集处理系统记录,测定大鼠主动脉压力。随后动脉留置鞘进入左室,待心功能曲线稳定后,获取心功能参数,测量左心室收缩压(LVSP),左心室内压力上升最大速率(+LVdp/dt max),左心室舒张末压(LVEDP)。

### 1.4 Western blot检测心肌组织肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、白细胞介素1 $\beta$ 蛋白表达

取保存的心尖段心肌组织,加入适当液氮研磨后,加入细胞裂解液,充分作用后于100℃加热,12 kr/min离心10 min,取上清液,测定蛋白浓度(根据样品浓度调整上样蛋白量为50  $\mu$ g/L),经SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,电转移至硝酸纤维素滤膜上,脱脂奶粉封闭,加入1:500稀释的一抗,4℃过夜,用辣根过氧化物酶标记的二抗检测目标蛋白。ECL化学发光试剂显色,X线胶片压片,显影、定影,图像分析系统测定目的条带灰度值,以目的蛋白与GAPDH条带的吸光面积积分比值来评定其蛋白表达水平。

### 1.5 RT-PCR检测心肌组织肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、白细胞介素1 $\beta$ 的表达

取保存的心尖段心肌组织,实时PCR检测心肌组织TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  mRNA的表达。用TRIZOL试剂一步法分别提取心室肌的总RNA。分光光度计(贝克曼公司,美国)测A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub>比值为1.7~2.0,1%琼脂糖凝胶电泳观察18 s与28 s条带密度比值约等于2,确保RNA的纯度和完整性。取4  $\mu$ g总RNA行逆转录,采用Promega公司的反转录试剂盒按说明书进行。实时PCR在ABI7000荧光定量PCR仪(Applied Biosystems, CA, 美国)上进行,反应体系25  $\mu$ L, dDNA 2.0  $\mu$ L,上游引物(10  $\mu$ mol/L) 0.5  $\mu$ L,下游引物(10  $\mu$ mol/L) 0.5  $\mu$ L, SYBR Green Realtime PCR Master Mix 12.5  $\mu$ L。引物由TaKaRa公司设计合成,具体为:TNF- $\alpha$ 上游引物5'-ATACAC TGG CCC GAG GCA AC-3',下游引物5'-CCACAT CTC GGA TCA TGC TTT C-3'; IL-1 $\beta$ 上游引物5'-CGA CAG AAT CTA GTT GTC C-3',下游引物5'-TCA TAA ACA CTC TCA TCC ACA C-3'; GAPDH上游引物5'-TCC TGC ACC ACC AAC TGC TTA

G-3', 下游引物 5'-AGT GGC AGT GAT GGC ATG GAC T-3'。反应条件: 95℃ 10 min → 94℃ 15 s → 60℃ 1 min 共 45个循环。以 GAPDH 为管家基因, 校正每个样品 Ct值; 每个目的基因的 Ct平均值减去对应模板的内参基因 (GAPDH) 的 Ct平均值, 得到  $\Delta Ct$ ;  $2^{-\Delta Ct}$  为每个目的基因在某个模板中的平均相对含量。

## 1.6 统计学处理

结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析, 多组间比较选用单因素方差分析和 Dunnett-t 检验。以  $P < 0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 血流动力学检测结果

与假手术组相比, 未治疗组 LVEDP 明显增加, LVSP 和 +LVdp/dt<sub>max</sub> 明显下降 ( $P < 0.01$ ); 与未治疗组相比, EP 组 LVEDP 明显下降, LVSP 及 +LVdp/dt<sub>max</sub> 明显上升 ( $P < 0.01$ ; 表 1)。

表 1 各组血流动力学检测结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

分 组	n	LVSP (mmHg)	LV dp/dt <sub>max</sub> (mmHg/s)	LVEDP (mmHg)
假手术组	12	128.5 ± 9.4	7022 ± 629	4.4 ± 0.7
未治疗组	12	103.8 ± 7.4 <sup>a</sup>	4221 ± 411 <sup>a</sup>	16.0 ± 1.5 <sup>a</sup>
EP 组	12	115.7 ± 5.0 <sup>b</sup>	5860 ± 659 <sup>b</sup>	8.5 ± 1.0 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.05$  与假手术组比较; b 为  $P < 0.05$  与未治疗组比较。

### 2.2 肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、白细胞介素 $1\beta$ 蛋白的表达

Western blotting 显示, 与假手术组相比, 未治疗组 TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$  蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ ), 经 EP 处理后, TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$  蛋白表达水平明显下调 (图 1 和表 2)。

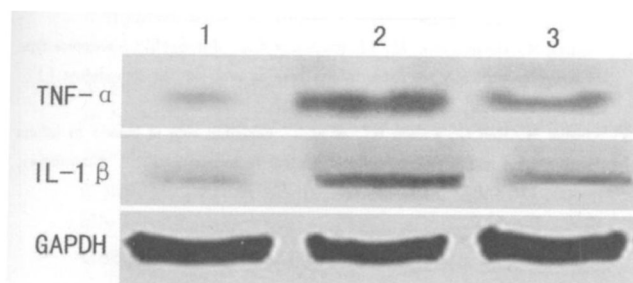


图 1 各组肿瘤坏死因子  $\alpha$ 、白细胞介素  $1\beta$  蛋白的表达  
1 为假手术组, 2 为未治疗组, 3 为 EP 预处理组。

表 2 各组肿瘤坏死因子  $\alpha$ 、白细胞介素  $1\beta$  蛋白的表达

分 组	n	TNF- $\alpha$ /GAPDH	IL- $1\beta$ /GAPDH
假手术组	12	0.07 ± 0.03	0.06 ± 0.02
未治疗组	12	0.45 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.51 ± 0.06 <sup>a</sup>
EP 组	12	0.22 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.18 ± 0.04 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.05$  与假手术组比较; b 为  $P < 0.05$  与未治疗组比较。

### 2.3 肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、白细胞介素 $1\beta$ mRNA 的表达

与假手术组相比, 未治疗组 TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$  mRNA 表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ ), 经 EP 治疗后, TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$  mRNA 表达水平明显下调 (表 3)。

表 3 各组肿瘤坏死因子  $\alpha$ 、白细胞介素  $1\beta$  mRNA 的表达

分 组	n	TNF- $\alpha$ ( $2^{-\Delta Ct}$ )	IL- $1\beta$ ( $2^{-\Delta Ct}$ )
假手术组	12	0.08 ± 0.01	0.05 ± 0.01
未治疗组	12	0.99 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.73 ± 0.08 <sup>a</sup>
EP 组	12	0.24 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.18 ± 0.04 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.05$  与假手术组比较; b 为  $P < 0.05$  与未治疗组比较。

### 2.4 心脏收缩及舒张功能与炎症因子的相关性

相关分析显示, +LVdp/dt<sub>max</sub> 与 TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$  mRNA 表达水平呈显著负相关, 分别为  $r = -0.86$ ,  $P < 0.05$ ;  $r = -0.87$ ,  $P < 0.05$ 。LVEDP 与 TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$  mRNA 表达水平呈显著正相关, 分别为  $r = 0.87$ ,  $P < 0.05$ ;  $r = 0.85$ ,  $P < 0.05$ 。

## 3 讨论

冠心病患者特别是急性冠状动脉综合征患者行冠状动脉造影或介入性治疗 (如球囊扩张、支架植入、斑块旋切等) 的过程中, 粥样斑块中的脂质碎片、基质成分及内皮细胞、炎症细胞脱落、血小板及白细胞粘附聚集均可造成微小血管栓塞<sup>[3]</sup>, 冠状动脉微栓塞的发生率明显增高<sup>[8]</sup>, 冠状动脉微栓塞导致心肌组织水平灌注不良, 冠状动脉微循环出现障碍, 心肌微梗死。不同于心外膜近端血管阻塞, CME 引起左室功能的降低与灌注缺损的心肌范围并非密切相关, CME 过程中心室收缩功能的进行性降低及其程度无法单纯用局部心肌血流灌注量、微小的梗死面积来解释, 其中细胞因子的激活与释放、放大炎症反应是炎症反应是引起 CME 后左室功能显著低下的重要原因<sup>[9, 10]</sup>, 其中, 以 TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$  最具代表性。虽然皮质激素能够减轻微栓塞后炎症细胞浸润, 改善心功能, 但是皮质激素对免疫系统的抑制及

对代谢等方面的不良作用限制了应用的前景。进一步探索抗炎药物在防治冠状动脉微栓塞方面的研究显得尤为迫切。

EP是机体内源性代谢物丙酮酸的衍生物。大量的动物实验研究证实, EP具有抗氧化清除自由基、抗炎、抗凝、抗凋亡作用, 在休克、缺血再灌注损伤中具有抑制炎症因子的表达、保护脏器功能及提高生存率的效果。Sim等<sup>[11]</sup>通过建立失血性休克大鼠模型证实, 与乳酸林格液相比, EP治疗组肠黏膜结构功能损伤得到修复, 肝肠黏膜脂质过氧化得以改善。EP能够抑制缺血再灌注后肝脏NF- $\kappa$ B激活及TNF- $\alpha$ 等炎症因子过度表达, 抑制p38及JNK信号通路的激活, 抑制细胞凋亡, 其对肝脏的保护效益具有明显的剂量依赖性<sup>[12, 13]</sup>。Yu等<sup>[14]</sup>建立大鼠缺血再灌注损伤模型, 研究结果发现, EP抗脑缺血再灌注损伤的治疗窗口很大, 无论是在缺血前30 min还是再灌注后12 h EP均能显著减少脑梗死面积, 改善脑缺血后运动功能及神经功能缺损评分。

心肌缺血后TNF- $\alpha$ 显著升高, 与心功能恶化明显相关<sup>[4, 5]</sup>。研究显示单纯冠状动脉内注入TNF- $\alpha$ 可诱导心肌收缩功能下降, 而TNF- $\alpha$ 抗体预处理后心肌收缩功能则无明显降低; CME后在浸润的白细胞及周边存活心肌内TNF- $\alpha$ 的表达与心肌收缩功能障碍存在因果关系<sup>[10]</sup>。IL-1 $\beta$ 在心肌缺血后早期就迅速合成释放, 是引起心肌缺血后炎症反应介导心肌损伤及炎症扩展的关键促炎因子, 通过特异性抗体或基因敲除的方法干预IL-1 $\beta$ 的作用, 能够抑制心肌梗死后炎症反应过度激活, 减轻心脏重塑, 改善心功能<sup>[15]</sup>。本研究结果显示, 冠状动脉微栓塞后心肌TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 的mRNA表达显著增强, 同时伴随蛋白表达水平显著增高, 于此同时, 血流动力学显示, LVSP下降, LV  $\pm$ dp/dt<sub>max</sub>均有降低; 提示大鼠CME后左室收缩、舒张功能显著下降; 相关分析显示, 炎症细胞因子的激活程度与心功能恶化程度显著相关, 进一步证实冠状动脉微栓塞后炎症因子激活是心功能恶化的重要影响因素。在微栓塞之前通过静脉途径给与丙酮酸乙酯预处理, 能够显著抑制大鼠微栓塞后心肌炎症因子(TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ )的表达, 同时带来心功能的明显改善。

本实验研究显示, 冠状动脉微栓塞早期就引发促炎因子大量表达, 诱发心肌内炎症反应, 造成心肌

损伤, 给予丙酮酸乙酯预处理能够有效抑制促炎因子的表达, 减轻心肌损伤, 将为临床防治微栓塞提供新的治疗策略<sup>[16]</sup>。

#### [参考文献]

- [1] Cura FA, Escudero AG, Berrocal D, et al. Protection of distal embolization in high-risk patients with acute st-segment elevation myocardial infarction (premier) [J]. *Am J Cardiol*, 2007, **99** (3): 357-363
- [2] Stone GW, Webb J, Cox DA, et al. Distal microcirculatory protection during percutaneous coronary intervention in acute st-segment elevation myocardial infarction: a randomized controlled trial [J]. *JAMA*, 2005, **293** (9): 1063-072
- [3] Topol EJ, Yadav JS. Recognition of the importance of embolization in atherosclerotic vascular disease [J]. *Circulation*, 2000, **101** (5): 570-580
- [4] 谢萍, 徐义先, 祝善俊, 等. 肿瘤坏死因子 $\alpha$ 介导大鼠心肌梗死后心功能变化的机制 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (6): 662-664
- [5] 云伟, 于艳秋, 卢晓梅, 等. 小鼠心肌梗死后肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、白细胞介素6和白细胞介素10表达变化及心肌病理改变 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, **15** (4): 245-247
- [6] Fink MP. Ethyl pyruvate: a novel anti-inflammatory agent [J]. *J Int Med*, 2007, **261** (4): 349-362
- [7] 张飞龙, 陈良龙, 李淑梅, 等. Janus激酶-信号转导子与转录激活子通路介导粒细胞集落刺激因子影响冠状动脉微栓塞后心肌细胞凋亡的实验研究 [J]. *中华心血管病杂志*, 2008, **36** (3): 254-259
- [8] Bahmann P, Wemer GS, Heusch G, et al. Detection of coronary microembolization by doppler ultrasound in patients with stable angina pectoris undergoing elective percutaneous coronary interventions [J]. *Circulation*, 2007, **115** (5): 600-608
- [9] Dorge H, Neumann T, Behrends M, et al. Perfusion-contraction mismatch with coronary microvascular obstruction: role of inflammation [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000, **279** (6): H2587-592
- [10] Dorge H, Schulz R, Belosjorow S, et al. Coronary microembolization: The role of TNF- $\alpha$  in contractile dysfunction [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2002, **34** (1): 51-62
- [11] Tavakoli ZS, Delude RL, Fink MP. Resuscitation from hemorrhagic shock with ringers' ethyl pyruvate solution improves survival and ameliorates intestinal mucosal hyperpermeability in rats [J]. *Shock*, 2002, **17** (6): 473-477
- [12] Uchiyama T, Delude RL, Fink MP. Dose-dependent effects of ethyl pyruvate in mice subjected to mesenteric ischemia and reperfusion [J]. *Intensive Care Med*, 2003, **29** (11): 2050-058
- [13] Tsung A, Kaizu T, Nakao A, et al. Ethyl pyruvate ameliorates liver ischemia-reperfusion injury by decreasing hepatic necrosis and apoptosis [J]. *Transplantation*, 2005, **79** (2): 196-204
- [14] Yu YM, Kim JB, Lee KW, et al. Inhibition of the cerebral ischemic injury by ethyl pyruvate with a wide therapeutic window [J]. *Stroke*, 2005, **36** (10): 2238-243
- [15] Bujak M, Dobaczewski M, Chatila K, et al. Interleukin-1 receptor type 1 signaling critically regulates infarct healing and cardiac remodeling [J]. *Am J Pathol*, 2008, **173** (1): 57-67
- [16] Bujak M, Ren G, Kwon HJ, et al. Essential role of smad3 in infarct healing and in the pathogenesis of cardiac remodeling [J]. *Circulation*, 2007, **116** (19): 2127-138

(此文编辑 李玲玲)