

• 论 著 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.35.001

Wnt/ β -连环蛋白信号通路在诱导气道平滑肌细胞 外基质蛋白沉积中的作用*

霍雅婷¹,程远雄^{1△},赖文岩²,蔡开灿³

(南方医科大学南方医院:1.呼吸科;2.心血管内科;3.心胸外科,广州 510515)

[摘要] 目的 探讨 Wnt/ β -连环蛋白信号通路在 TGF- β 1 诱导人气道平滑肌细胞(HASMC)细胞外基质(ECM)蛋白沉积中的作用。方法 将原代培养的 HASMC 用于实验。用 Western blot 的方法来分析蛋白表达量,用实时荧光定量 PCR 的方法来分析 ECM 蛋白的基因表达。结果 用 TGF- β 1 刺激体外培养的 HASMC,可以引起胶原蛋白 I α 1($P<0.01$)及 ECM 蛋白 mRNA(包括胶原蛋白 I α 1、纤连蛋白、多功能蛋白聚糖、层粘连蛋白 α 2 及核心蛋白多糖)表达增加($P<0.01$)。TGF- β 1 可以引起 β -连环蛋白($P<0.05$)及其 mRNA 表达显著增加($P<0.01$)。TGF- β 1 通过抑制糖原合酶激酶 3(GSK3) β 活化($P<0.01$)而引起非磷酸化的 β -连环蛋白表达增加($P<0.01$)。此外,用 Wnt 信号通路药理学抑制剂 PKF115-584 可以明显抑制 TGF- β 1 诱导的胶原蛋白 I α 1($P<0.01$)及 ECM 蛋白(包括胶原蛋白 I α 1、纤连蛋白及多功能蛋白聚糖)的基因表达($P<0.01$)。结论 HASMC 中 Wnt/ β -连环蛋白信号通路的活化,参与了 TGF- β 1 诱导的 ECM 蛋白沉积。

[关键词] 肌细胞,平滑肌;细胞外基质;转化生长因子 β 1; β -连环蛋白

[中图分类号] R562.25

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)35-4897-03

Effect of β -Catenin signaling pathway on extra cellular matrix deposition by using airway smooth muscle cells induction*

Huo Yating¹,Cheng Yuanxiong^{1△},Lai Wenyan²,Cai Kaican³

(1. Department of Respiratory;2. Department of Cardiology;3. Department of Thoracic Cardiovascular Surgery,Nanfng Hospital,Southern Medical University,Guangzhou,Guangdong 510515,China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of Wnt/ β -Catenin signaling pathway on EMC(extra cellular matrix) deposition by HASMC(human airway smooth muscle cells) in response to TGF- β 1. **Methods** The primary cultured human bronchial smooth muscle cells were applied in this experiment. Protein expression was analyzed by Western blot and gene expression of ECM was evaluated by real-time fluorescent quantitative PCR. **Results** HASMC,cultured in vitro,by the stimulation of TGF- β 1,can increase the expression of collagen I α 1($P<0.01$) and ECM protein mRNA(including collagen I α 1,fibronectin,versican,laminna α 2 and decorin) ($P<0.01$). Meanwhile,TGF- β 1 can cause an increase of nonphosphorylated β -Catenin protein expression and it's mRNA ($P<0.01$) by inhibited the activation of glycogen synthase kinase 3(GSK3) β ($P<0.01$),but not induced the increase of phosphorylated β -Catenin($P<0.01$). Besides,Wnt sigals pharmacology inhibitors PKF 115-584 can inhibit the gene expression of TGF- β 1 induced collagen I α 1($P<0.01$) and ECM protein(including collagen I α 1,fibronectin,and versican) ($P<0.01$). **Conclusion** The activation of Wnt/ β -Catenin signaling pathway in HASMC(human airway smooth muscle cells),which involving the deposition of TFG β 1 induced ECM protein.

[Key words] mgocytes,smooth muscle;extra cellular matrix;transforming growth factor β 1; β -Catenin

气道重塑是支气管哮喘的病理特征之一,是导致哮喘气道高反应性和气流受限的关键因素,彻底控制或延缓气道重塑,对哮喘尤其是难治性哮喘的治疗及改善预后有重要意义^[1]。有文献报道气道平滑肌细胞(ASMC)可通过细胞增殖、释放多种炎症介质、生长因子及细胞外基质(ECM)蛋白参与气道重塑^[2]。而 Thomson 等^[3]认为,由 ASMC 分泌的 ECM 蛋白占气道重塑组分的 50%之多,是气道重塑的关键因素。因此,研究气道平滑肌细胞分泌 ECM 蛋白的机制,对控制气道重塑具有十分重要的意义。转化生长因子 β (TGF- β)可以刺激肺脏中的结构细胞和炎性细胞产生 ECM,参与气道重塑^[4]。 β -连环蛋白是 Wnt/ β -连环蛋白信号通路中的核心蛋白,它参与调节成纤维细胞中纤连蛋白^[5]及血管平滑肌细胞中多功能蛋白聚糖等 ECM 蛋白的基因转录。然而, β -连环蛋白在 ASMC 分泌 ECM 蛋白中的作用研究尚少。因此,本文探讨 β -连环蛋白在气道平滑肌细胞分泌 ECM 蛋白中的作用,为治疗气道重塑寻

找新的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 材料 优级胎牛血清(Gibco 公司)、DMEM(Hyclone 公司)、胰蛋白酶(Hyclone 公司);TGF- β 1(Prospec 公司)、PKF115-184(Tocris 公司);BCA100 蛋白定量分析试剂盒和全蛋白提取试剂盒(上海碧云天生物技术研究);总 RNA 提取试剂(Trizol 公司)、逆转录试剂盒(TOYOBO 公司)SYBR[®] Premix Ex Taq[™]、PrimeScript[®] RTreagentKit(TOYOBO 公司);小鼠抗平滑肌肌动蛋白(α -SMA,上海碧云天生物技术研究)、小鼠抗 β -actin(北京中杉金桥生物技术有限公司)、小鼠抗 GAPDH 抗体(北京博奥森生物技术有限公司)、兔抗 β -连环蛋白抗体(Millipore 公司)、小鼠抗非磷酸化 β -连环蛋白抗体(Millipore 公司)、兔抗糖原合酶激酶 3(GSK3) α + β 抗体(Abcam 公司)、兔抗磷酸化 GSK3 β 抗体(Abcam 公司)、兔抗胶原蛋白 I α 1 抗体(北京博奥森生物技术有限公司)、山羊抗兔、小

* 基金项目:广东省自然科学基金资助项目(s2012010009036);南方医院院长基金资助项目(2014A001)。 作者简介:霍雅婷(1988—),在读硕士,主要从事哮喘气道重塑研究。 △ 通讯作者,Tel:(020)61641572;E-mail:drchengyx@126.com。

鼠 IgG-HRP 二抗(杭州弗德生物技术有限公司)、FITC-山羊抗小鼠(北京中杉金桥生物技术有限公司);DAPI(广州威佳科技有限公司);ECL 化学发光染色液(杭州弗德生物技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 原代 HASMC 的培养与鉴定 采用组织块贴壁法原代培养 HASMC。经患者家属同意,取南方医院胸外科肺叶切除术手术标本,无菌条件下分离叶、段支气管中膜平滑肌层,剪成约 1 mm³ 大小贴于培养瓶底,加入含 20% 胎牛血清的 DMEM,置于 37 ℃、5% CO₂ 孵箱中培养。待细胞从组织块周围爬出并生长融合,传代,用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养,取第 2~6 代对数生长期细胞用于实验研究。用细胞免疫荧光 α-SMA 特异性染色对细胞进行鉴定。

1.2.2 qRT-PCR 检测 mRNA 表达量 细胞培养结束后,采取 Trizol 一步法提取细胞总 RNA,再经试剂盒逆转录为 cDNA,以 GAPDH 为内参,实时荧光定量检测基因相对表达量。各基因的基因库编号及上下游引物序列如下:

β-连环蛋白(NM_001904):5'-CCC ACT AAT GTC CAG CGT TT-3',5'-AAT CCA CTG GTG AAC CAA GC-3';

胶原蛋白 I (NM_000088):5'-AGC CAG CAG ATC GAG AAC AT-3',5'-TCT TGT CCT TGG GGT TCT TG-3';

纤连蛋白(NM_212482):5'-TCG AGG AGG AAA TTC CAA TG-3',5'-ACA CAC GTG CAC CTC ATC AT-3';

层粘连蛋白 α2(NM_000426):5'-GCC TTC TTC TCG GTG ACT TG-3',5'-CCC TCT GCC AGC TGA ATA AG-3';

多功能蛋白聚糖(NM_004385):5'-GGG AAC CTG GTG AAG AAA CA-3',5'-CTT CCA CAG TGG GTG GTC TT-3';

核心蛋白多糖(NM_001920):5'-AAT TGA AAA TGG GGC TTT CC-3',5'-GCC ATT GTC AAC AGC AGA GA-3';

GAPDH(NM_002046):5'-GCA CCG TCA AGG CTG AGA A-3',5'-TGG TGA AGA CGC CAG TGG A-3'。

逆转录反应条件为:37 ℃ 变性 15 min,98 ℃ 退火 5 min,逆转录为 cDNA。于罗氏 480 定量 PCR 仪行标准两步法 PCR 反应,第一阶段:95 ℃ 预变性 30 s;第二阶段:95 ℃ 变性 5 s,60 ℃ 退火及延伸 30 s;重复 40 个循环,冷却 40 ℃,30 s。反应结束后观察融解曲线、扩增曲线,以 2^{-ΔΔCT} 值表示各组目的基因相对表达水平。

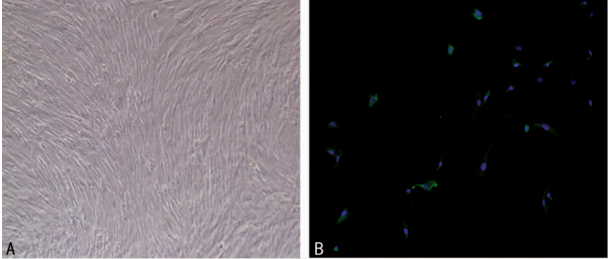
1.2.3 Western blot 检测蛋白水平变化 细胞培养结束后,按全蛋白提取试剂盒说明书程序操作:细胞经预冷的 PBS 液洗 2 次,快速加入蛋白裂解液,冰上充分裂解后,收集细胞,转移至 EP 管,4 ℃ 12 000 g 离心 20 min。吸取上清液,BCA 法测定蛋白浓度。与 5×loading buffer 按 4:1 体积比混匀,煮沸变性 7 min。取 20 μg 总蛋白以 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳,湿转蛋白质至 PVDF 膜,室温下 5% BSA 封闭 2 h 后,分别加入兔抗 β-连环蛋白(1:5 000 稀释)、GSK3(α+β)(1:1 000 稀释),磷酸化 GSK3β(1:500 稀释)、胶原蛋白 I α1(1:500 稀释),小鼠抗非磷酸化 β-连环蛋白(1:1 000 稀释)、β-actin(1:1 000 稀释)、GAPDH(1:1 000 稀释)一抗,4 ℃ 孵育过夜。漂洗 3 次后加入山羊抗兔、鼠 IgG-HRP 二抗(1:5 000 稀释),室温孵育 1 h,漂洗 3 次后,ECL 化学发光法显示结果。用 ImageJ2x 图像分析软件分析条带灰度值,以目的蛋白与 β-actin 或 GAPDH 条带灰度值之比表示相应蛋白表达水平;p-GSK3β 与 GSK3(α+β)条带灰度值之比表示 GSK3β 磷酸化水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行分析处理,多组比较采用单向方差分析,先进行方差齐性检验,方差齐,选用

LSD 即最小差异法;若方差不齐,采用校正的 F 检验(Welch 法),并选用 DunnettT3 做多重比较。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 原代 HASMC 培养与鉴定 光学显微镜下,HASMC 呈长梭形,卵圆形胞核位于中央,生长融合后呈典型峰谷征;α-SMA 免疫荧光染色阳性,鉴定为平滑肌细胞,见图 1。

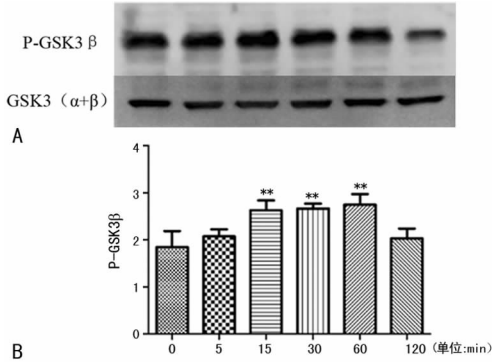


A:普通光可见“峰谷征”;B:免疫荧光染色可见 α-SMA 为荧光。

图 1 原代培养的 HASMC 形态及表型鉴定(×100)

2.2 TGF-β1 引起 β-连环蛋白表达上调 用递增浓度的 TGF-β1(0.1~10.0 ng/mL)刺激 HASMC 24 h,不同浓度的 TGF-β1 均能引起 β-连环蛋白表达增加,对照组、0.1 ng/mL 组、1.0 ng/mL 组、10.0 ng/mL 组的蛋白相对表达量分别为 0.287 7±0.035 0、0.455 8±0.250 3、0.444 4±0.288 0、0.471 6±0.423 5,且与对照组比较差异均有统计学意义(P<0.05);选取 2.0 ng/mL 作为刺激浓度,TGF-β1 组 β-连环蛋白表达量较对照组显著增加(P<0.05);TGF-β1 也可引起 β-连环蛋白 mRNA 表达增加(P<0.001)。

2.3 TGF-β1 引起 GSK3β 磷酸化 用 TGF-β1(2.0 ng/mL)刺激细胞不同时间(0~2 h),P-GSK3β 蛋白表达量在 15~60 min 范围内明显增加(P<0.01),说明 TGF-β1 在早期即可引起 GSK3β 磷酸化,见图 2。



** :P<0.01,与 0 min 比较。

图 2 不同时间 GSK-3β 蛋白磷酸化水平的改变

2.4 TGF-β1 导致非磷酸化 β-连环蛋白表达增加 用 TGF-β1(2.0 ng/mL)刺激细胞不同时间(0~24 h),非磷酸化 β-连环蛋白表达量在 2~16 h 范围内增加,且在 16 h 时达到最大(P<0.01),说明 TGF-β1 可以引起非磷酸化(活化的)β-连环蛋白表达增加,见图 3。

2.5 β-连环蛋白信号通路在 TGF-β1 诱导 ECM 基因表达中的作用 用 TGF-β1(2 ng/mL)刺激细胞 24 h,层粘连蛋白 α2、多功能蛋白聚糖 mRNA 表达增加(P<0.01),胶原蛋白 I α1、纤连蛋白 mRNA 表达增加(P<0.01),而核心蛋白多糖 mRNA 表达减少(P<0.01),见图 4A。用药理学抑制剂 PKF115-584(100 nM)干预后,有效抑制了胶原蛋白 I α1、纤连蛋白、多功能蛋白聚糖 mRNA 的表达(P<0.01),见图 4B。

2.6 β -连环蛋白信号通路在胶原蛋白表达中的作用 用 TGF- β 1(2 ng/mL)刺激 HASMC,胶原蛋白 I α 1 表达量增加($P<0.01$),再用药理学抑制剂 PKF115-584(100 nM)干预细胞,胶原蛋白 I α 1 表达量明显减少($P<0.01$),见图 5。

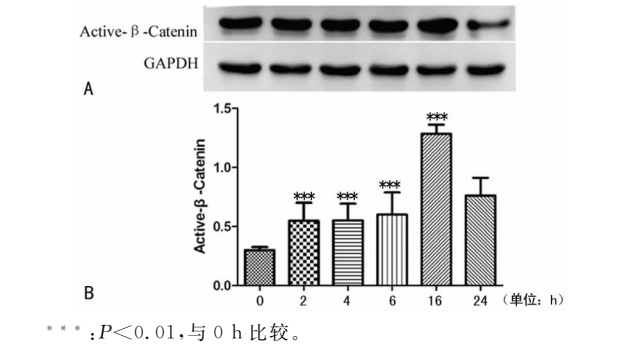


图 3 非磷酸化 β -连环蛋白表达水平

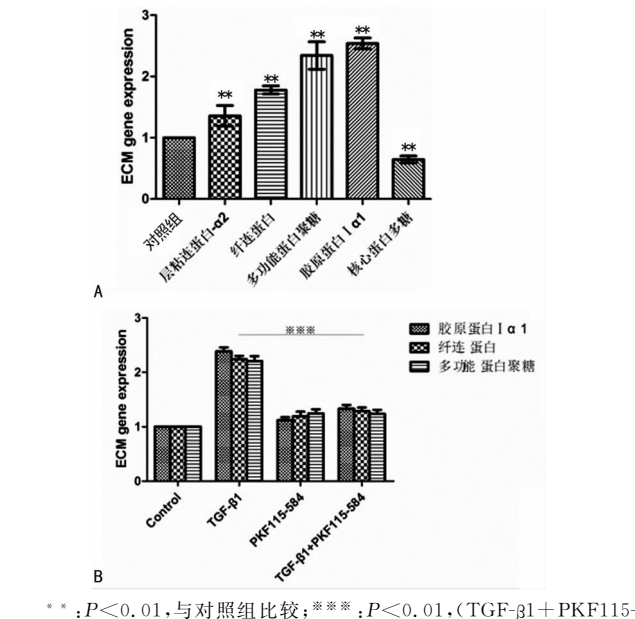


图 4 β -连环蛋白信号通路在 ECM 基因表达中的作用

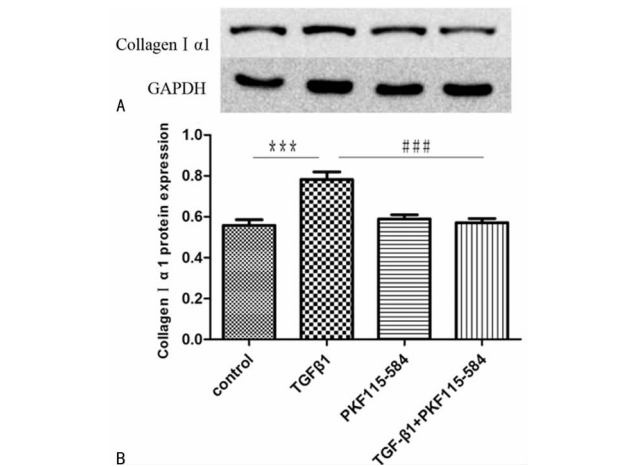


图 5 PKF115-584 对 TGF- β 1 引起的胶原蛋白 I α 1 表达的抑制作用

3 讨论

TGF- β 是一种多功能细胞因子,在哮喘患者气道中表达上

调,并能刺激肺脏中多种结构细胞和炎性细胞产生大量 ECM 蛋白^[6]。ECM 是一种具有复杂结构的大分子物质,发挥机械支撑作用,以维持气道的正常功能。但在哮喘患者气道平滑肌层中 ECM 蛋白表达异常增多^[7],增多的胶原蛋白 I α 1 和纤连蛋白可以促进 ASMC 增殖、迁移^[6],促使气道重塑的发生、发展。

β -连环蛋白是 Armadillo 蛋白家族中的一员,与细胞粘连接处的钙粘蛋白/连环蛋白复合物相关,发挥稳定细胞-细胞接触的作用^[8]。同时, β -连环蛋白在经典的 Wnt/ β -连环蛋白信号通路中调节 T 细胞因子/淋巴增强因子(TCF/LEF)介导的基因转录^[9]。既往对 Wnt 通路的研究主要集中在肿瘤的发生上,近年来有研究发现 Wnt/ β -连环蛋白信号通路还与某些增生性疾病有关,如特发性肺纤维化等^[10]。目前还认为 β -连环蛋白可能在哮喘气道重塑过程中起重要作用^[11]。有文献报道 β -连环蛋白通过稳定细胞间的接触而调节 ASMC 的主动张力^[12],还可以促进 ASMC 增殖^[13],但在分泌 ECM 蛋白中的作用尚缺乏详细研究。

本研究发现 2.0 ng/mL 为 TGF- β 1 的有效刺激浓度,用此浓度的 TGF- β 1 刺激 HASMC,可引起 β -连环蛋白在细胞质中表达上调,且 β -连环蛋白 mRNA 表达增加,说明 β -连环蛋白的再合成也受到 TGF- β 1 的调控。同样浓度的 TGF- β 1 也可诱导多种 ECM 蛋白的 mRNA 转录增强(层粘连蛋白 α 2、多功能蛋白聚糖、胶原蛋白 I α 1、纤连蛋白等),其中以胶原蛋白 I α 1 mRNA 表达增加最为明显,故在后续实验中,可将胶原蛋白 I α 1 作为 ECM 蛋白的代表。有文献认为细胞质中 β -连环蛋白水平是由 GSK3 严格调控的^[14]。在本实验中,TGF- β 1 引起 GSK3 β 持续而强烈的磷酸化,继而活化的(非磷酸化) β -连环蛋白表达增加,与文献报道相符。Wnt 信号通路药理学抑制剂 PKF115-584 主要破坏细胞核中活化的 β -连环蛋白与 TCF-4 之间的相互作用,进而抑制包括 ECM 蛋白在内的靶基因转录^[15]。本研究用 100 nM 浓度的 PKF115-584 对细胞进行干预,结果发现胶原蛋白 I α 1、纤连蛋白、多功能蛋白聚糖 mRNA 及胶原蛋白 I α 1 蛋白表达均受到抑制,表明阻止 β -连环蛋白与细胞核中转录因子的相互作用可以有效抑制 ECM 蛋白的表达增加。

综上所述,经典的 Wnt/ β -连环蛋白信号通路是 TGF- β 1 诱导 HASMC 分泌 ECM 蛋白中的关键途径,阻断该通路可显著减少 ECM 表达。

目前,吸入糖皮质激素是治疗哮喘的主要方法,但这只能控制哮喘症状,却不能充分抑制 ECM 蛋白表达导致的气道重塑。因此,抑制 β -连环蛋白的活化及其与细胞核内转录因子 LEF/TCF 复合物的结合,可能成为治疗哮喘气道重塑的新靶点。

参考文献

- [1] 牛毅,程远雄,李宁,等. ERK 信号通路在血管紧张素 II 诱导的人气道平滑肌细胞增殖中的作用[J]. 广东医学, 2013,34(3):352-355.
- [2] Lazaar AL, Panettieri RA. Airway smooth muscle: a modulator of airway remodeling in asthma[J]. J Allergy Clin Immunol, 2005, 116(3):488-495.
- [3] Thomson RJ, Bramley AM, Schellenberg RR. Airway muscle stereology: implications for increased shortening in asthma[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1996, 154(3 Pt 1):749-757.

(下转第 4903 页)

- TNF- α -induced apoptosis in pulmonary artery endothelial cells and TGF- β 1-induced migration in pulmonary artery smooth muscle cells[J]. *Int J Mol Med*, 2013, 32(3): 685-693.
- [2] Jiang JX, Zhang SJ, Liu YN, et al. EETs alleviate ox-LDL-induced inflammation by inhibiting LOX-1 receptor expression in rat pulmonary arterial endothelial cells[J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 727: 43-51.
 - [3] Xu DY, Davis BB, Wang ZH, et al. A potent soluble epoxide hydrolase inhibitor, t-AUCB, acts through PPAR γ to modulate the function of endothelial progenitor cells from patients with acute myocardial infarction[J]. *Int J Cardiol*, 2013, 167(4): 1298-1304.
 - [4] Shao J, Li Q, Wang H, et al. P-450-dependent epoxygenase pathway of arachidonic acid is involved in myeloma-induced angiogenesis of endothelial cells[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2011, 31(5): 596-601.
 - [5] Li L, Li N, Pang W, et al. Opposite effects of gene deficiency and pharmacological inhibition of soluble epoxide hydrolase on cardiac fibrosis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e94092.
 - [6] Shen L, Peng H, Zhao S, et al. A potent soluble epoxide hydrolase inhibitor, t-AUCB, modulates cholesterol balance and oxidized low density lipoprotein metabolism in adipocytes in vitro[J]. *Biol Chem*, 2014, 395(4): 443-451.
 - [7] Borghini A, Sbrana S, Vecoli C, et al. Stromal cell-derived factor-1-3' A polymorphism is associated with decreased risk of myocardial infarction and early endothelial disturbance[J]. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*, 2014, 15(9): 710-716.
 - [8] Wan C, Li J, Yang C, et al. Dynamics of endogenous endothelial progenitor cells homing modulated by physiological ischaemia training[J]. *J Rehabil Med*, 2015, 47(1): 87-93.
 - [9] Bertelsen LB, Hagensen M, Busk M, et al. In vivo bio-distribution and homing of endothelial outgrowth cells in a tumour model[J]. *Nucl Med Biol*, 2014, 41(10): 848-855.
 - [10] Liberda EN, Cuevas AK, Qu Q, et al. The acute exposure effects of inhaled Nickel nanoparticles on murine endothelial progenitor cells[J]. *Inhal Toxicol*, 2014, 26(10): 588-597.
 - [11] Huang L, Wang F, Wang Y, et al. Acidic fibroblast growth factor promotes endothelial progenitor cells function via Akt/FOXO3a pathway[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0129665.
 - [12] Li W, Du D, Wang H, et al. Silent information regulator 1 (SIRT1) promotes the migration and proliferation of endothelial progenitor cells through the PI3K/Akt/eNOS signaling pathway[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(3): 2274-2287.
 - [13] Liu LH, Lai Y, Linghu LJ, et al. Effect of different concentrations of medroxy-progesterone acetate combined with 17 β -estradiol on endothelial progenitor cells[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2015, 19(10): 1790-1795.
 - [14] Kwon YW, Heo SC, Jeong GO, et al. Tumor necrosis factor- α -activated mesenchymal stem cells promote endothelial progenitor cell homing and angiogenesis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832(12): 2136-2144.
 - [15] Shih CM, Chen YH, Lin YW, et al. MK-0626, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, improves neovascularization by increasing both the number of circulating endothelial progenitor cells and endothelial nitric oxide synthetase expression[J]. *Curr Med Chem*, 2014, 21(17): 2012-2022.

(收稿日期: 2015-05-18 修回日期: 2015-07-24)

(上接第 4899 页)

- [4] Duvernelle C, Freund V, Frossard N. Transforming growth factor-beta and its role in asthma[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2003, 16(4): 181-196.
- [5] Gradl D, Kühl M, Wedlich D. The Wnt/Wg signal transducer beta-catenin controls fibronectin expression[J]. *Mol Cell Biol*, 1999, 19(8): 5576-5587.
- [6] De Boer WI, Van Schadewijk A, Sont JK, et al. Transforming growth factor beta1 and recruitment of macrophages and mast cells in airways in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1998, 158(6): 1951-1957.
- [7] Prakash YS. Airway smooth muscle in airway reactivity and remodeling: what have we learned? [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2013, 305(12): L912-933.
- [8] Clevers H. Wnt/ β -Catenin signaling in development and disease[J]. *Cell*, 2006, 127(3): 469-480.
- [9] Thompson B, Townsley F, Rosin-Arbesfeld R, et al. A new nuclear component of the Wnt signalling pathway [J]. *Nat Cell Biol*, 2002, 4(5): 367-373.
- [10] Chilosì M, Poletti V, Zamò A, et al. Aberrant Wnt/ β -catenin pathway activation in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Am J Pathol*, 2003, 162(5): 1495-1502.
- [11] Kumawat K, Koopmans T, Gosens R. β -catenin as a regulator and therapeutic target for asthmatic airway remodeling[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2014, 18(9): 1023-1034.
- [12] Jansen SR, Van Ziel AM, Baarsma HA, et al. β -Catenin regulates airway smooth muscle contraction[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2010, 299(2): L204-214.
- [13] Gosens R, Baarsma HA, Heijink IH, et al. De novo synthesis of beta-catenin via H-Ras and MEK regulates airway smooth muscle growth[J]. *FASEB J*, 2010, 24(3): 757-768.
- [14] Jope RS, Yuskaitis CJ, Beurel E. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): inflammation, diseases, and therapeutics [J]. *Neurochem Res*, 2007, 32(4/5): 577-595.
- [15] Baarsma HA, Menzen MH, Halayko AJ, et al. β -Catenin signaling is required for TGF- β 1-induced extracellular matrix production by airway smooth muscle cells[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2011, 301(6): L956-965.

(收稿日期: 2015-05-08 修回日期: 2015-07-11)