

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.12.003

Nodal 及其受体在不同发育期小鼠组织器官中的表达*

王 轲¹, 朱 敏², 顾 洪³, 李念峰³, 胡湘麟¹, 曾凡才^{3Δ}
 (西南医科大学: 1. 临床医学院; 2. 康复医学系; 3. 基础医学院
 生物化学与分子生物学实验室, 四川泸州 646000)

[摘要] **目的** 研究 Nodal 生长分化因子(Nodal)及其受体在不同发育期小鼠的不同组织器官中的表达情况。**方法** 将 10 对(雌雄各一只为一对)小鼠分为 4 组: 3 对小鼠作为成年鼠组, 剩余 7 对使其交配, 其中 3 只孕鼠为胎鼠组, 3 只孕鼠为新生鼠组, 1 只孕鼠为仔鼠组。分别选取胎鼠、新生鼠、仔鼠、成年鼠的脑、肝、肾、心、肺等全身多种组织器官制备蛋白样品, 采用 Western blot 方法检测 Nodal 及其 I 型受体激活素受体样激酶(ALK)7、ALK4 和辅助受体 Cripto-1 蛋白的表达。**结果** 仅大脑、小脑、肝脏、肾脏等 4 种组织器官在小鼠个体发育 4 个不同时期均有 Nodal 蛋白表达, 其中只有肝和肾在 4 个发育时期同时表达 Nodal 及其受体蛋白。此外, 与胎鼠、新生鼠和仔鼠 3 个发育阶段明显不同的是, 大多数成年鼠组织器官均表达 Nodal 及其受体蛋白。**结论** 在小鼠个体发育后期, Nodal 信号对肝脏和肾脏器官的生长发育可能具有一定作用。

[关键词] Nodal 信号; 小鼠; 个体发育; 蛋白表达

[中图分类号] Q71

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)12-1575-05

Expression of Nodal and its receptors in mouse tissues and organs at different ontogenetic stages

WANG Ke¹, ZHU Min², GU Hong³, LI Nianfeng³, HU Xianglin¹, ZENG Fancai^{3Δ}

(1. Clinical Medical School; 2. Rehabilitative Medical School; 3. Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of Nodal and its receptors in different tissues and organs of different development stages of mice. **Methods** Ten pairs(male and female each for a pair) of mice were divided into the four groups; 3 pairs served as adult mice group, the rest 7 pairs were allowed to mate, among them 3 pregnant mice served as the fetal group, and 3 pregnant mice served as the neonatal group and 1 pregnant mouse served as filial group. The multiple tissues and organs such as brain, liver, kidney, heart, lung were selected from fetal, neonatal, filial and adult mice for preparing the protein samples. Western blot was performed to detect the expression of Nodal and its type I receptors of ALK7 and ALK4 as well as auxiliary receptor Cripto-1. **Results** Only cerebrum, cerebellum, liver and kidney had Nodal express in the four different mouse ontogenetic stages, in which only liver and kidney simultaneously expressed Nodal and its receptor protein in the whole four ontogenetic stages. Besides, most tissues and organs of adult mice expressed Nodal and its receptor protein, which was significantly different from the fetal, neonatal and filial mice. **Conclusion** Nodal signaling might have a certain effect on the growth and development of mouse liver and kidney during the late development stage.

[Key words] Nodal signaling; mice; ontogenesis; protein expression

Nodal 生长分化因子(Nodal)作为转化生长因子β(TGF-β)超家族的一员, 是一种主要通过自分泌和旁分泌经细胞膜信号转导发挥作用的细胞因子^[1]。经典的 Nodal 信号通路为两分子成熟形式 Nodal 先形成同源二聚体, 然后与两分子 II 型受体 ACTR II A 或 ACTR II B 结合形成四聚体, 再招募两分子 I 型受体激活素受体样激酶 4(activin receptor-like kinase 4,

ALK4)或激活素受体样激酶 7(activin receptor-like kinase 7, ALK7)形成六聚体复合体, 复合体中的 II 型受体使 I 型受体 ALK4 或 ALK7 被磷酸化后激活, 同时 Cripto-1 分子可能作为辅助受体参与 Nodal 信号转导作用^[2]。激活的 ALK4 或 ALK7 可使细胞质内 Smad2 和 Smad3 分子发生磷酸化后转位到细胞核以调节靶基因表达并发挥相应生物学效应^[3]。

* 基金项目: 四川省教育厅自然科学基金项目(110324); 国家级大学生创新创业训练计划项目(201410632008, 201510632002); 四川省科技厅-泸州市-泸州医学院联合专项基金(LY-100)。 作者简介: 王轲(1993-), 在读本科, 主要从事肿瘤分子生物学方面研究。 Δ 通信作者, E-mail: zfcail@swmu.edu.cn。

真核生物基因普遍存在选择性剪接现象^[4]。基因预测 Nodal 分子可能有两种剪接异构体,不过目前为止仅检测到一种剪接异构体蛋白,该剪接异构体蛋白有前体(Pro-Nodal)和成熟肽(Nodal)两种形式。ALK7 是 Nodal 分子已知的两个 I 型受体之一,ALK7 通过选择性剪接可产生 4 种剪接异构体,它们分别是: ALK7-1, ALK7-2, ALK7-3 和 ALK7-4^[5]。ALK4 是 Nodal 信号通路中的另一个 I 型受体,剪接异构体主要有 ALK4-1 和 ALK4-2。Nodal 分子的辅助受体 Cripto-1 仅观察到一种剪接异构体蛋白。

大量研究表明 Nodal 分子主要在动物体胚胎发育和体轴左右不对称形成过程中发挥重要作用^[6]。最近也有研究发现 Nodal 分子在多种恶性肿瘤中高表达,可能与肿瘤的发生和发展过程相关,并且认为其可能是肿瘤诊断的标志分子和治疗靶点^[7-9]。但是 HOOIJKAAS 等^[10]却提出由于 Nodal 在人肾脏组织中有较强表达,可能并不适于作为肿瘤免疫治疗的靶点。由于人的正常组织器官不易获取,目前还不十分清楚 Nodal 分子在其他正常组织器官中的表达情况,甚至也未见 Nodal 分子在动物组织器官中表达分布的相关报道;此外,虽然已知 Nodal 分子在早期胚胎发育过程有重要作用,但是还不清楚 Nodal 分子在个体发育后期是否也同样发挥作用。本实验基于上述两个问题,以小鼠为动物模型,选取胎鼠、新生鼠、仔鼠、成年鼠 4 个不同发育时期小鼠,用 Western blot 方法检测其多种器官中 Nodal 及其受体 ALK7、ALK4 和辅助受体 Cripto-1 蛋白的表达,以探讨 Nodal 及其受体在不同生长发育时期的表达情况,为进一步研究 Nodal 分子功能及其是否可作为肿瘤免疫治疗靶点提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 昆明小鼠,5~6 周龄,体质量 26~30 g,由西南医科大学实验动物中心提供。

1.1.2 主要仪器和试剂 SCIENTZ-II 型超声细胞粉碎机(宁波新芝公司),TGL-16R 型低温高速离心机(珠海黑马公司),Forma 900 系列-86 °C 立式超低温冰箱(Thermo 公司),DYCZ-24 系列双垂直蛋白电泳仪(北京六一仪器厂),GelDocXR + System(BIO-RAD 公司)。苯甲基磺酰氨(PMSF)、RIPA 裂解液均购自碧云天研究所。0.45 μm 聚偏二氟乙烯(PVDF)膜(Millipore IPVH00010)、Nodal(sc-28913, Santa Cruz 公司,1:300)、ALK7(sc-135001, Santa Cruz 公司,1:300)、ALK4(ab64831, Abcam 公司,1:1000)、Cripto-1(ab19917, Abcam 公司,1:1000)、β-actin(BS6007M, Bioworld 公司,1:10000)。二抗:HRP 标记山羊抗兔(BS13278, Bioworld 公司,1:5000),HRP 标记山羊抗鼠(BS12478, Bioworld 公司,1:5000)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型建立 从新购进的 20 只小鼠(雌雄各 10 只)中选择 6 只(雌雄各 3 只)分为 3 组直接取各组织器官提取蛋白作为成年鼠组样品,其中雌鼠只取乳腺组织蛋白样品,其余组织器官样品均来自雄鼠。剩下的 14 只(雌雄各 7 只)小鼠在 23 °C 环境下继续饲养两周以保证其充分性成熟。两周后,下午 6 点左右将剩下的 14 只小鼠按雌雄 1:1 合为 7 笼,次日早上将雌鼠和雄鼠分开,取 3 笼雌鼠标记为胎鼠组,3 笼雌鼠标记为新生鼠组,1 笼雌鼠标记为仔鼠组后继续饲养。将雌雄鼠分开时记为孕 0 d,饲养两周后未见小鼠腹部明显变大者继续合笼。根据此方法,将 3 只孕鼠在孕第 18 天时做剖宫产,取出胎鼠并提取胎鼠各组织器官的蛋白样品。将同一孕鼠的胎鼠组织收集在一起作为一组样本,共收集到 3 组胎鼠组样本;标记为新生鼠组的 3 只孕鼠正常分娩后,在小鼠出生 2.5~3.0 d 时对新生小鼠进行解剖,取其各组织器官,将同一胎新生鼠组织收集在一起作为一组样本,共收集到 3 组新生鼠组织样本;标记为仔鼠组的那一只孕鼠生产的小鼠哺乳 18 d,将其产下的同一胎仔鼠分为 3 组,解剖 3 组仔鼠并获得仔鼠组各组织器官蛋白样品。每个发育阶段小鼠均有 3 组样本,分别对各组样本进行检测,蛋白表达分布结果基本一致,选择其中具有代表性的一组予以展示。其中由于胎鼠、新生鼠、仔鼠个体器官很小,难以单独进行蛋白测定,因此将同组小鼠的同种器官收集在一起进行蛋白检测,成年鼠为单独个体蛋白检测。整个实验过程均遵循中国科学技术委员会颁发的《实验动物管理条例》。

1.2.2 蛋白样品制备 从活体取到组织后,将其迅速放入液氮速冻,然后将速冻的组织放入-80 °C 长期保存。待制备蛋白样品时从-80 °C 超低温冰箱取出需要的组织,液氮下研磨,研磨好的组织装在 1.5 mL 灭菌 EP 管内。按照 0.1 g 组织加入 1 mL 的 RIPA 和 10 L PMSF 的比例加入 RIPA 和 PMSF 并用涡旋震荡混匀器充分震荡混匀,混匀后的混合液置于冰上裂解 1.5 h,由于 PMSF 在水溶液中不稳定,因此在裂解 40 min 左右补加一定比例的 PMSF。随后超声破碎 DNA,4 °C,16 000 r/min 离心取上清液并按一定比例加入 Loading Buffer,沸水浴 5 min,分装样品,蜡膜密封 EP 管,-20 °C 保存,使用时取出融化、混匀、低速离心即可。

1.2.3 Western blot 采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶电泳,浓缩胶浓度为 4%,分离胶浓度为 10%。湿转膜法,250 mA 恒流将凝胶上的蛋白转移到 PVDF 膜上。转完膜后取出 PVDF 膜,用 TBST 洗膜 5 min 以洗去膜上的电转液,并用 5% 的脱脂牛奶室温封闭 1 h,4 °C 孵育一抗过夜(12~16 h)。次日回收一抗,TBST 洗膜 3×10 min,之后室温孵育二抗 1 h,TBST 2×5 min 再 TBS 1×5 min 洗二

抗,ECL 发光,X 线片暗盒曝光并用 GelDocXR + System 采集图像。图像采集和分析均来自于 Image Lab software(Bio-Rad Laboratories;Version 4.0.1)。

2 结 果

2.1 Nodal 及其受体在胎鼠组织器官中的表达分布

取 13 种胎鼠组织器官进行 Western blot 检测,发现大脑、小脑、皮肤、肝、胰腺、骨骼肌和肾等多种器官中有不同程度 Pro-Nodal 蛋白表达,其中肝脏表达最强,大脑、小脑、胰腺、骨骼肌和肾脏表达较强,只有皮肤有少量表达,其余 6 种胎鼠组织器官未见 Nodal 蛋白表达(图 1)。在表达 Nodal 蛋白的几种器官中,骨骼肌有少量 Nodal 受体 ALK7-1 和 ALK4-1 蛋白表达,以及较强的辅助受体 Cripto-1 蛋白表达。此外,在胎鼠骨骼肌中还检测到 ALK7 的剪接异构体 ALK7-3 和 ALK4 的剪接异构体 ALK4-2 蛋白有较强表达。在胎鼠肾脏、肝脏和皮肤中检测到 ALK7-1 蛋白表达。此外,这 3 种组织器官还不同程度地表达了 ALK4 和 ALK7 的其他剪接异构体,肝脏还表达了较强的 Cripto-1 蛋白。大脑、小脑、胰等组织器官虽然表达 Nodal 蛋白,但是未检测到 ALK7-1 和 ALK4-1 蛋白表达,只是不同程度表达了 ALK7-1 和 ALK4-1 以外的剪接异构体蛋白,这 3 种器官均无 Cripto-1 蛋白表达。在不表达 Nodal 的器官中,胎鼠小肠、胸腺和心脏几乎未能检测到这几种蛋白的表达,而肺、胃和膀胱有较弱的 ALK4-2 表达,其中肺和胃还有较强 Cripto-1 蛋白表达。

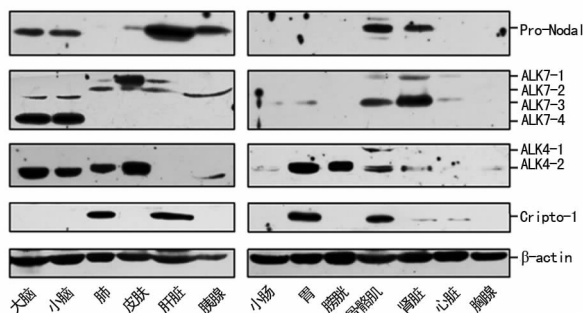


图 1 Nodal 及其受体在胎鼠组织器官中的表达分布

2.2 Nodal 及其受体在新生鼠组织器官中的表达分布

用 Western blot 方法共检测 14 种新生鼠组织器官,其中大脑、小脑、肝、脾、皮肤、胰腺、脾、骨骼肌和心脏等 9 种器官中有不同程度的 Pro-Nodal 蛋白表达,与胎鼠一样,肝脏有最强表达,并且还观察到少量成熟 Nodal 蛋白表达(图 2)。在表达 Nodal 蛋白的 9 种器官中,皮肤、骨骼肌、心脏和肾脏中检测到 ALK7-1 和 ALK4-1 蛋白表达。在肝脏中虽高表达 Nodal 蛋白,但未检测到 ALK7-1 蛋白表达,不过有较强的 ALK4-1 和 Cripto-1 蛋白表达。大脑、小脑、肺和脾 4 种器官中虽然有较强的 Nodal 蛋白表达,但是无受体 ALK7-1 或 ALK4-1 蛋白表达。小肠、胃、膀胱和胸腺

4 种器官均观察到较强的受体 ALK7-1 蛋白表达,但是未检测 Nodal 表达。

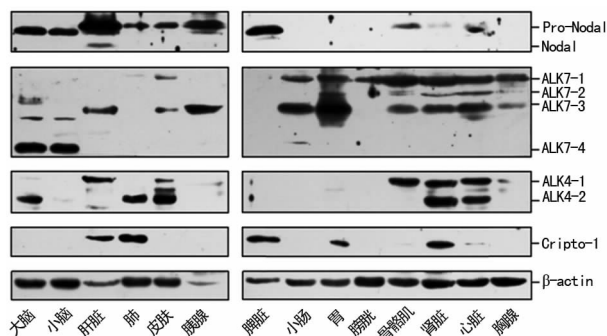


图 2 Nodal 及其受体在新生鼠组织器官中的表达分布

2.3 Nodal 及其受体在仔鼠组织器官中的表达分布

在已检测的 14 种仔鼠组织器官中,仅有大脑、小脑、肝、脾和肾等 5 种器官中有 Nodal 蛋白表达,可见仔鼠表达 Nodal 的器官明显比新生鼠更少(图 3)。此外,在肝和肾主要观察到的是成熟 Nodal 蛋白而不是前体蛋白,这也明显与胎鼠和新生鼠不同。在表达 Nodal 蛋白的器官中,肾既表达 ALK7-1 又表达 ALK4-1 蛋白,并且还同时表达 Cripto-1,大脑、小脑和肝只表达了 ALK4-1,而脾仅同时表达 ALK7-1 蛋白。其余不表达 Nodal 蛋白的 9 种组织器官中,大肠、小肠、胃、膀胱、骨骼肌和心脏均有受体 ALK7-1 蛋白表达。

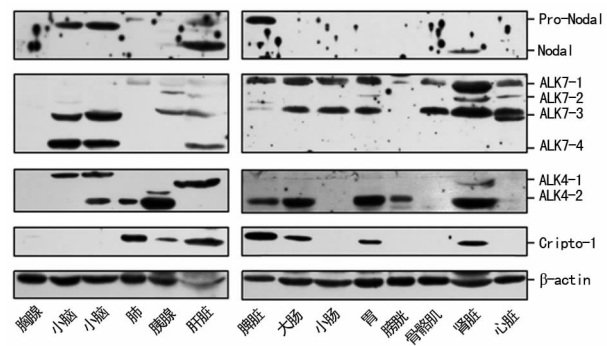


图 3 Nodal 及其受体在仔鼠组织器官中的表达分布

2.4 Nodal 及其受体在成年鼠组织器官中的表达分布

4 个时期的小鼠组织器官中,成年鼠检测的器官数量最多,并且表达模式也最丰富,特别是在检测的所有器官中均有较强的 ALK7-1 蛋白表达(图 4)。在选取的 20 种成年鼠组织器官中,肝、大脑、小脑、脊髓、睾丸、肺、乳腺、脾、胃、大肠、肾、心和前列腺等 13 种器官有不同程度的 Nodal 蛋白表达。以表达成熟 Nodal 蛋白为主,特别在肾和心脏两种器官中高表达成熟 Nodal 蛋白。在表达 Nodal 蛋白的组织器官中,肝、小脑和脊髓同时表达了 ALK7-1 和 ALK4-1 及 Cripto-1 蛋白。大脑、睾丸、肺、乳腺、脾、胃、大肠、肾、心和前列腺等 10 种表达 Nodal 的器官同时也表达了 ALK7-1 蛋白,大部分组织器官还表达了 Cripto-1 蛋

白,均未检测 ALK4-1 表达。不仅所有成年鼠组织器官表达 ALK7-1,而且 ALK7 的其他剪接异构体也在这些器官中有较强表达。但是仅有肝、胰、小脑和脊髓等 4 种组织器官表达 ALK4 的剪接异构体,这明显与前面 3 个时期的表达模式不同。

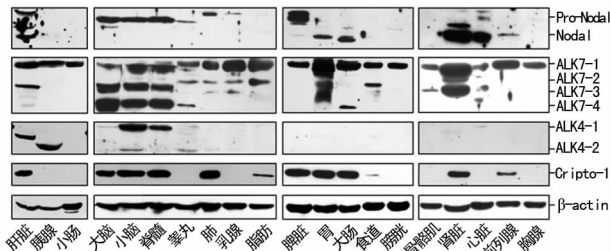


图 4 Nodal 及其受体在成年鼠组织器官中的表达分布

3 讨论

现有研究已知 Nodal 分子在早期胚胎发育和体轴左右不对称形成过程中发挥重要作用^[3,6],但是 Nodal 分子在个体发育后期是否发挥作用并未见相关报道。本研究检测了 Nodal 及其受体蛋白在小鼠个体发育后期的 4 个不同时期中的表达情况,以提示其可能具有的功能。结合 4 个发育时期的结果进行分析,发现 Nodal 蛋白在 4 个时期的大脑、小脑、肝、肾等 4 种组织器官中均有表达;由于受个体大小的限制,未检测胎鼠脾脏中 Nodal 蛋白,不过在新生鼠、仔鼠和成年鼠 3 个时期的脾脏中均检测到 Nodal 蛋白;此外,除胎鼠肺中未检测到 Nodal 蛋白外,在新生鼠、仔鼠和成年鼠 3 个时期的肺中均检测到 Nodal 蛋白。如果再结合 Nodal 受体的表达进行分析,仅仅只有肝和肾这两种器官是既有 Nodal 分子表达又有受体 ALK7-1 和(或)ALK4-1,以及辅助受体 Cripto-1 蛋白表达。这些结果提示在已检测的多种器官中,Nodal 信号通路可能对小鼠肝和肾的生长发育过程有一定作用。在大脑、小脑、脾和肺等 4 种器官发育过程中均有 Nodal 蛋白表达,但未检测到其受体 ALK7-1 和(或)ALK4-1 蛋白表达,这有可能 Nodal 分子通过 ALK7 或 ALK4 的其他剪接异构体或者通过其他未知 Nodal 受体起作用。此外,只有胰腺和骨骼肌这两种被检测的器官是在较早期的胎鼠和新生鼠阶段有 Nodal 蛋白表达,而在后期的仔鼠和成年鼠阶段却不表达。

关于 Nodal 及其受体在胚胎发育过程中表达与功能研究的文献较多,但是未检索到 Nodal 及其受体在个体发育后期至成年之前时基因表达和功能研究的文献,不过已有少量文献报道了 Nodal 及其受体在成年动物中表达。ZHAO 等^[11]发现 Nodal 在草鱼的垂体、大脑、心、肾和脾等组织器官中有少量 mRNA 表达,而在生殖腺细胞中有较强表达。Nodal 及其受体还在小鼠的乳腺上皮细胞、睾丸雄性生殖细胞^[12-15],以及成年人的胰岛和子宫内膜中有表

达^[16-18]。本实验结果发现大多数成年鼠组织器官中均有 Nodal 及其受体蛋白的表达。这不仅印证和进一步丰富了现有相关文献,也提示 Nodal 可能并不适宜作为肿瘤免疫治疗的靶点。因为最近已有文献报道 Nodal 在恶性肿瘤细胞中高表达,可能与肿瘤的发生、侵袭和转移相关^[9],甚至已开发出单克隆抗体进行治疗实验^[19]。但是如果在人正常组织中存在 Nodal 表达,针对 Nodal 分子的单克隆抗体治疗很可能会影响正常组织器官的功能。HOOIJKAAS 等^[10]报道 Nodal 蛋白在健康人肾脏组织中有较强表达,本研究也发现在所有检测的成年鼠组织器官中肾脏有最强的 Nodal 蛋白表达。

本研究除检测到已知作为 Nodal 分子受体的 ALK7-1 和 ALK4-1 蛋白表达外,还在不同发育时期和不同组织器官中不同程度地检测到 ALK7 和 ALK4 功能未知的其他剪接异构蛋白表达。提示 ALK7 和 ALK4 的这些剪接异构蛋白应该在相应的小鼠组织器官具有一定功能,具体功能有待进一步探索。另一有趣现象是发现胎鼠和新生鼠检测到的 Nodal 蛋白均为前体形式,而仔鼠和成年鼠的多种组织器官中仅检测到成熟 Nodal 蛋白。成熟 Nodal 一般不稳定,为什么会在这类组织器官中被大量检测到还有待进一步研究。

综上所述,Nodal 分子在小鼠个体发育后期 4 个阶段的多种组织器官中有较强表达,特别是在成年鼠的大部分组织器官中均存在不同程度表达,提示 Nodal 分子可能并不适合作为肿瘤免疫治疗的靶点。Nodal 及其受体在小鼠个体发育 4 个不同阶段的肝和肾脏中均有表达,提示 Nodal 信号可能对这两种器官的生长发育有一定作用。此外,在大多数成年鼠组织器官中有完整的 Nodal 信号通路,说明 Nodal 信号对维持这些器官的功能活动应有相应作用。因此,有必要在后续研究中进一步探究 Nodal 信号在维持个体发育和成年鼠组织器官中发挥作用的分子机制。

参考文献

- [1] SCHIER A F, SHEN M M. Nodal signalling in vertebrate development[J]. *Nature*, 2000, 403(6768): 385-389.
- [2] ROMANO V, RAIMONDO D, CALVANESSE L A, et al. Toward a better understanding of the interaction between TGF-beta family members and their ALK receptors[J]. *J Mol Model*, 2012, 18(8): 3617-3625.
- [3] SCHIER A F. Nodal morphogens[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2009, 1(5): a003459.
- [4] MOORE M J, SILVER P A. Global analysis of mRNA splicing[J]. *RNA*, 2008, 14(2): 197-203.
- [5] ROBERTS H J, HU S Q, QIU Q, et al. Identification of novel isoforms of activin receptor-like kinase 7 (ALK7) generated by alternative splicing and expression of ALK7 and its ligand, Nodal, in human placental[J]. *Biol Reprod*, 2003, 68(5): 1719-1726.

- [6] SAMPATH K, ROBERTSON E J. Keeping a lid on nodal: transcriptional and translational repression of nodal signalling[J]. *Open Biol*, 2016, 6(1):150-200.
- [7] QUAIL D F, SIEGERS G M, JEWER M, et al. Nodal signalling in embryogenesis and tumourigenesis[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(4):885-898.
- [8] SEFTOR E A, SEFTOR R E, WELDON D S, et al. Melanoma tumor cell heterogeneity: a molecular approach to study subpopulations expressing the embryonic morphogen nodal[J]. *Semin Oncol*, 2014, 41(2):259-266.
- [9] 曾凡才, 赵太强, 周红. Nodal 与肿瘤: 表达特征和功能分析[J]. *中国免疫学杂志*, 2014(1):133-136.
- [10] HOOIJKAAS A I, GADIOT J, VAN BOVEN H, et al. Expression of the embryological morphogen Nodal in stage III/IV melanoma[J]. *Melanoma Res*, 2011, 21(6):491-501.
- [11] ZHAO T. Molecular and functional characterization of grass carp squint/nodal-related 1: a potential regulator of activin signaling in teleost pituitary cells[J]. *Domest Anim Endocrinol*, 2012, 42(4):239-248.
- [12] SPILLER C M, FENG C W, JACKSON A, et al. Endogenous nodal signaling regulates germ cell potency during mammalian testis development[J]. *Development*, 2012, 139(22):4123-4132.
- [13] MILES D C, WAKELING S I, STRINGER J M, et al. Signaling through the TGF beta-activin receptors ALK4/5/7 regulates testis formation and male germ cell development[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1):e54606.
- [14] TIAN H R. NODAL secreted by male germ cells regulates the proliferation and function of human Sertoli cells from obstructive azoospermia and nonobstructive azoospermia patients[J]. *Asian J Androl*, 2015, 17(6):996-1005.
- [15] BIANCO C, ADKINS H B, WECHSELBERGER C, et al. Cripto-1 activates nodal-and ALK4-dependent and-independent signaling pathways in mammary epithelial cells[J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(8):2586-2597.
- [16] BOERNER B P, GEORGE U U, TARQY N M, et al. TGF-beta superfamily member Nodal stimulates human beta-cell proliferation while maintaining cellular viability[J]. *Endocrinology*, 2013, 154(11):4099-4112.
- [17] PAPAGEORGIOU I, NICHOLLS P K, WANG F, et al. Expression of nodal signalling components in cycling human endometrium and in endometrial cancer[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2009(7):122.
- [18] CRUZ C D, DEL PUERTO H L, ROCHA A L, et al. Expression of nodal, cripto, SMAD3, phosphorylated SMAD3, and SMAD4 in the proliferative endometrium of women with endometriosis[J]. *Reprod Sci*, 2015, 22(5):527-533.
- [19] STRIZZI L, SANDOMENICO A, MARGARYAN N V, et al. Effects of a novel Nodal-targeting monoclonal antibody in melanoma[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(33):34071-34086.

(收稿日期:2017-09-18 修回日期:2017-12-16)

(上接第 1574 页)

- 肌缺血再灌注损伤影响的研究进展[J]. *实用药物与临床*, 2016, 5(8):1026-1030.
- [3] ZHANG X, XIONG H, LIU L. Effects of taraxasterol on inflammatory responses in lipopolysaccharide-induced RAW 264. 7 macrophages[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(1):206-211.
- [4] WANG W W, HAN J H, WANG L, et al. Scutellarin may alleviate cognitive deficits in a mouse model of hypoxia by promoting proliferation and neuronal differentiation of neural stem cells[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2017, 20(3):272-279.
- [5] WANG Y, LI G H, LIU X Y, et al. In vivo anti-inflammatory effects of taraxasterol against animal models[J]. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2017, 14(1):43-51.
- [6] XUESHIBOJIE L, DUO Y, TIEJUN W. Taraxasterol inhibits cigarette smoke-induced lung inflammation by inhibiting reactive oxygen species-induced TLR4 trafficking to lipid rafts[J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 11(3):301-307.
- [7] YANG D, LIU X, LIU M et al. Protective effects of quercetin and taraxasterol against H₂O₂-induced human umbilical vein endothelial cell injury in vitro[J]. *Exp Ther Med*, 2015, 10(4):1253-1260.
- [8] XIONG H, CHENG Y, ZHANG X et al. Effects of taraxasterol on iNOS and COX-2 expression in LPS-induced RAW 264. 7 macrophages[J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 155(1):753-757.
- [9] 韩勇, 贺滢, 郭立荣, 等. 心肌缺血再灌注损伤大鼠中 20-HETE 对 ROS 生成及 NADPH 氧化酶活性的影响[J]. *现代医药卫生*, 2016, 6(18):2781-2784.
- [10] CERRETANI D, RIEZZO I, FIASCHI A I, et al. Cardiac oxidative stress determination and myocardial morphology after a single ecstasy (MDMA) administration in a rat model[J]. *Int J Legal Med*, 2008, 122(6):461-469.
- [11] 杜斌, 陈炜, 陈俊良, 等. α -硫辛酸对百草枯中毒大鼠胸腺 Bax, Bcl-2 表达及 SOD 活力、MDA 水平的影响[J]. *中国医院药学杂志*, 2015, 10(23):2071-2074.
- [12] 康天济, 韩宇博, 田苗, 等. 苓桂术甘汤对心肌缺血再灌注损伤 SOD、MDA 含量的影响[J]. *中医药信息*, 2014, 5(3):53-55.
- [13] CARGNELLO M, ROUX P P. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases[J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2011, 75(1):50-83.
- [14] 刘慧, 卢少平, 尚福军, 等. 辛伐他汀对结缔组织生长因子诱导大鼠心肌细胞肥大的影响及其与 ERK1/2 的关系[J]. *山西医科大学学报*, 2016, 5(6):489-492.
- [15] RAPP UR, GÖTZ R, ALBERT S. BuCy RAFs drive cells into MEK addiction[J]. *Cancer Cell*, 2006, 9(1):9-12.

(收稿日期:2017-09-22 修回日期:2017-12-21)