

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.16.014

松果菊苷对人肺癌 HCC827 细胞增殖、凋亡和迁移的影响*

李 猛,杨 力[△],朱建勇,尹义平,郭雅君

(湖北省十堰市人民医院·湖北医药学院附属人民医院呼吸与危重症医学中心,湖北 十堰 442000)

摘要:目的 探讨松果菊苷对人肺癌 HCC827 细胞增殖、凋亡和迁移的影响。方法 采用 MTT 法、以酶标仪分别检测松果菊苷(0,5,10,20,40,80,160 $\mu\text{mol/L}$)和顺铂(0,5,10,20,40,80,160,320 $\mu\text{mol/L}$)条件下 HCC827 细胞的生长情况,并计算细胞增殖率及半数致死浓度(LC_{50});实验分为阴性对照组(等体积培养基)、阳性对照组(顺铂 80 $\mu\text{mol/L}$)及松果菊苷低、中、高剂量组(实验 I、II、III 组,20,40,80 $\mu\text{mol/L}$)。采用细胞划痕法检测细胞迁移能力,流式细胞术检测细胞凋亡情况,实时荧光定量聚合酶链式反应法及 Western blot 法分别检测细胞中转化生长因子 β I 型受体(T β R I)、Smad 2 和 Smad 3 mRNA 及蛋白表达水平。结果 松果菊苷和顺铂的 LC_{50} 分别为(47.50 $\pm$ 6.21) $\mu\text{mol/L}$ 和(76.85 $\pm$ 14.89) $\mu\text{mol/L}$ 。与阴性对照组比较,阳性对照组和实验 I、II、III 组的细胞迁移距离均显著缩短,细胞凋亡率均显著升高,T β R I、Smad 2 和 Smad 3 mRNA 及蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$)。结论 松果菊苷可抑制 HCC827 细胞增殖及迁移,并促进细胞凋亡,机制可能与抑制 T β R I/Smad 信号通路激活有关。

关键词:松果菊苷;人肺癌 HCC827 细胞;T β R I/Smad 信号通路;增殖;迁移;凋亡

中图分类号:R961;R979.1

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)16-0057-05

Effect of Echinacoside on Proliferation, Apoptosis and Migration of Human Lung Cancer Cell Line HCC827

LI Meng, YANG Li, ZHU Jianyong, YIN Yiping, GUO Yajun

(Respiratory and Critical Care Medical Center, Shiyan People's Hospital · People's Hospital Affiliated to Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei, China 442000)

Abstract: Objective To investigate the effect of echinacoside on proliferation, apoptosis and migration of human lung cancer cell line HCC827. **Methods** Methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay and microplate reader were used to measure the growth of HCC827 cells under the conditions of echinacoside (0, 5, 10, 20, 40, 80, 160 $\mu\text{mol/L}$) and cisplatin (0, 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320 $\mu\text{mol/L}$), and the cell proliferation rate and half inhibitory concentration (LC_{50}) were calculated. The experiment was divided into the negative control group (equal volume of medium) and the positive control group (80 $\mu\text{mol/L}$ of cisplatin) and echinacoside low-, medium- and high-dose groups (experimental I, II, III groups, 20, 40, 80 $\mu\text{mol/L}$). The cell migration ability was detected by the cell scratch method, the cell apoptosis rate was detected by the flow cytometry, and the mRNA and protein expression levels of transforming growth factor type β I receptor (T β R I), Smad 2 and Smad 3 were detected by the real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot respectively. **Results** The LC_{50} of echinacoside and cisplatin were (47.50 $\pm$ 6.21) $\mu\text{mol/L}$ and (76.85 $\pm$ 14.89) $\mu\text{mol/L}$, respectively. Compared with those in the negative control group, the distance of cell migration was significantly shorter, and the cell apoptosis rate was significantly higher, while the mRNA and protein expression levels of T β R I, Smad 2 and Smad 3 were significantly lower in the positive control group and experimental I, II, III groups ($P < 0.05$). **Conclusion** Echinacoside can inhibit the proliferation and migration of HCC827 cells, and promote cell apoptosis, and the mechanism may be related to the inhibition of echinacoside on the activation of T β R I/Smad signaling pathway.

Key words: echinacoside; human lung cancer cell line HCC827; T β R I/Smad signaling pathway; proliferation; migration; apoptosis

肺癌是最常见癌症,其中约有83%为非小细胞肺癌(NSCLC)^[1]。虽然手术、化学药物治疗(简称化疗)、放射治疗(简称放疗)、免疫治疗等方案均可在一定程度上改善 NSCLC 患者的预后,但对于肿瘤发生转移者,其5年相对生存率仅约15%^[2]。松果菊苷属苯乙醇苷类化合物,具有清除氧自由基、抑制炎症和调节免疫等药理活性^[3]。松果菊苷能诱导乳腺癌细胞凋亡,同时抑制急

性髓系白血病细胞增殖,但其对肺癌作用的研究较少^[4-5]。上皮-间充质转化(EMT)与恶性肿瘤的迁移和侵袭密切相关,虽有大量研究揭示了 EMT 在 NSCLC 进展中的作用,但调控 EMT 的分子机制尚未明确^[6]。转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)通过经典的 Smad 信号或非典型信号传导,成为 NSCLC EMT 和转移的驱动因素^[7]。在 TGF- β_1 信号通路中, TGF- β_1 通过结合 TGF- β I 型

*基金项目:湖北省十堰市科学技术研究与开发项目计划[16Y41]。

第一作者:李猛,男,硕士研究生,主治医师,研究方向为肺部感染、机械通气、气道介入,(电子信箱)740979849@qq.com。

[△]通信作者:杨力,男,大学本科,主任医师,研究方向为间质性肺疾病、肺部感染、呼吸危重症、机械通气、气道介入,(电子信箱)yangl9321@sina.com。

受体(T β R I)激活信号,进而通过磷酸化激活 Smad 2 和 Smad 3,被激活的 Smad2 和 Smad3 进一步与 Smad 4 相互作用,激活或抑制其靶基因(如 *SNAIL*)^[8]。本研究中探讨了松果菊苷对人肺癌 HCC827 细胞增殖和迁移的影响,以及 T β R I / Smad 信号通路在整个过程中的作用。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与细胞

仪器:3000T 型 CO₂ 培养箱(美国 Thermo Revco 公司);Sunrise 型全自动酶标仪(瑞士 Tecan 公司);CKX53 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司);BD FACSCanto 型流式细胞仪、Stepone 型 Real-time PCR 扩增仪和 Mini Protean 3 型 BD 垂直电泳仪(美国 ABI 公司)。

试剂:松果菊苷(苏州润新生物科技有限公司,批号为 82854-37-3,纯度 98%);DMEM 培养基、胎牛血清(美国 Hyclone 公司);四氮唑蓝(MTT)、二甲基亚砜(DMSO)均购自美国 Amresco 公司;AnnexinV / PI 细胞凋亡检测试剂盒(美国 BD 公司,批号为 0220496);Trizol(美国 Invitrogen 公司,批号为 170933);基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、mRNA 反转录试剂盒和实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)试剂盒(宝生物工程<大连>有限公司,批号分别为 20210376,20211208);RIPA 裂解液(北京索莱宝生物技术公司,批号为 SL059332);T β R I、Smad 2、Smad 3 和 β -actin(美国 Santa Cruz 公司,批号分别为 210383,210315,210564,211206);辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗鼠免疫球蛋白(IgG,美国 Abcam 公司,批号为 AB21054372)。

细胞:人肺癌 HCC827 细胞(中国科学院细胞库)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与分组

在 37℃ 及 5% CO₂ 条件下,用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基培养 HCC827 细胞,隔天换液。实验分为阴性对照组(等体积培养基)、阳性对照组(顺铂 80 μ mol/L)及松果菊苷低、中、高剂量组(实验 I、II、III 组,20,40,80 μ mol/L)。

1.2.2 观察指标及检测

细胞增殖能力:采用 MTT 法。取对数生长期细胞,接种于 96 孔板(每孔 3×10^3 个),在 37℃ 及 5% CO₂ 条件下,每孔以 0(对照),5,10,20,40,80,160 μ mol/L 松果菊苷或 0(对照),5,10,20,40,80,160,320 μ mol/L 顺铂孵育 24 h,加入 MTT(每孔 20 μ L),继续培养 4 h,弃上清液,加入 DMSO(每孔 200 μ L)振荡 10 min,以酶标仪在 570 nm 波长处测定吸光度值(OD 值),平行测定 3 次,并计算细胞增殖率。细胞增殖率(%) = $OD_{\text{用药组}} / OD_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。以增殖率为 50% 时的药品质量浓度为半数致死浓度(LC₅₀)。

细胞迁移能力:采用细胞划痕法。取各组对数生长期细胞,接种于 6 孔板中(每孔 1×10^6 个),以 100 μ L 灭菌枪头在单层细胞上呈“一”字划痕,将细胞用磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗划痕。各组以相应药液孵育 24 h,从每个划痕伤口中随机选择 5 个视野,显微镜下观察,以图像分析仪测量划痕宽度。划痕越宽,表明细胞迁移能力越弱。

细胞凋亡情况:采用流式细胞术。取各组对数生长期细胞,接种于 6 孔板中(每孔 1×10^6 个),孵育细胞 24 h,预冷 PBS 洗涤,离心弃上清液,用 Annexin V Binding Solution($1 \times$)调整细胞密度为 1×10^6 / mL,悬浮于 400 μ L V-FITC 溶液中,黑暗中室温孵育 15 min,加入 PI 10 μ L,4℃ 避光孵育 5 min,以流式细胞仪检测细胞凋亡情况,并计算凋亡率。

MMP-9、T β R I、Smad 2、Smad 3 mRNA 表达水平:采用 qPCR 法。取各组对数生长期细胞,接种于 6 孔板中(每孔 1×10^6 个),孵育细胞 24 h,用预冷 PBS 洗涤,离心弃上清液,用 Trizol 提取总 RNA,反转录制备 cDNA。PCR 反应条件为,95℃ 预变性 10 s;94℃ 变性 15 s,40 个循环;55℃ 退火 30 s;70℃ 延伸 30 s 终止反应。以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 MMP-9、T β R I、Smad 2、Smad 3 mRNA 的相对表达量。各组设 3 个复孔,实验重复 3 次。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer's sequence

基因	上游引物	下游引物
T β R I	5'-CCACGCATCAGGCCAGCAG-3'	5'-CTTCCTGGGTAATTCAG-3'
Smad 2	5'-UCUACCGCGUGUCACGACA-3'	5'-CCUUG-CCUUGCCUCCU-3'
Smad 3	5'-GGTAATTGTCAGTCTGGAG-3'	5'-ACCAGCAGCATCCATGC-3'
β -actin	5'-CCCTCGAGACTTCGGCA-3'	5'-AAACGTCGTCGCTTCA-3'

T β R I、Smad 2、Smad 3 蛋白表达水平:采用 Western blot 法。取各组对数生长期细胞,接种于 6 孔板中(每孔 1×10^6 个),孵育细胞 24 h,用预冷 PBS 洗涤,离心弃上清,加入 RIPA 裂解液裂解 2 h,离心取上清,电泳,转到聚偏二氟乙烯膜上,然后用 5% 脱脂牛奶在室温下封闭 1 h,将膜与 T β R I (1:400)、Smad 2 (1:200)、Smad 3 (1:300) 和 β -actin (1:1 000) 抗体孵育,4℃ 过夜,将 HRP 标记山羊抗鼠 IgG (1:10 000) 在室温下孵育 30 min,显色,采集图像,利用 Image J 软件分析目的条带与内参条带灰度比值,即为各目的蛋白相对表达量。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 23.0 统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,两两比较行 SNK-q 检验;计数资料以率(%)表示,行 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞增殖能力和 LC₅₀

随着松果菊苷浓度的增加(10~160 μ mol/L)与 0 μ mol/L 比较,细胞增殖率显著降低($P < 0.05$)。当松

果菊苷浓度为 $40\text{ }\mu\text{mol/L}$ 时,增殖率约为 50% , LC_{50} 为 $(47.50 \pm 6.21)\mu\text{mol/L}$,故选择 $40\text{ }\mu\text{mol/L}$ 为松果菊苷干预浓度。随着顺铂浓度的增加($10 \sim 320\text{ }\mu\text{mol/L}$)与 $0\text{ }\mu\text{mol/L}$ 比较,细胞增殖率显著降低($P < 0.05$),当顺铂浓度为 $80\text{ }\mu\text{mol/L}$ 时,增殖率约为 50% , LC_{50} 为 $(76.85 \pm 14.89)\mu\text{mol/L}$,故选择 $80\text{ }\mu\text{mol/L}$ 为顺铂干预浓度。结果见表2。

2.2 细胞迁移和凋亡情况

与阴性对照组比较,阳性对照组及实验 I, II, III 组

表2 松果菊苷及顺铂对HCC827细胞增殖的影响($\bar{X} \pm s, n=3$)

Tab. 2 Effects of echinacoside and cisplatin on the proliferation of HCC827 cells ($\bar{X} \pm s, n=3$)

序号	松果菊苷				顺铂			
	浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	细胞增殖 率(%)	F值	P值	浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	细胞增殖 率(%)	F值	P值
1	0	100.00 ± 12.43			0	100.00 ± 8.28		
2	5	97.25 ± 8.68			5	95.28 ± 3.39		
3	10	$84.56 \pm 2.59^{\#}$			10	$85.11 \pm 4.43^{\#}$		
4	20	$69.40 \pm 8.10^{\#}$	64.813	<0.001	20	$73.20 \pm 5.21^{\#}$	52.142	<0.001
5	40	$55.29 \pm 8.13^{\#}$			40	$62.16 \pm 5.27^{\#}$		
6	80	$29.62 \pm 6.07^{\#}$			80	$47.26 \pm 4.46^{\#}$		
7	160	$5.41 \pm 1.41^{\#}$			160	$26.58 \pm 5.84^{\#}$		
8					320	$7.17 \pm 1.83^{\#}$		

注:与 $0\text{ }\mu\text{mol/L}$ 比较, $^{\#}P < 0.05$ 。

Note: Compared with those at $0\text{ }\mu\text{mol/L}$, $^{\#}P < 0.05$.

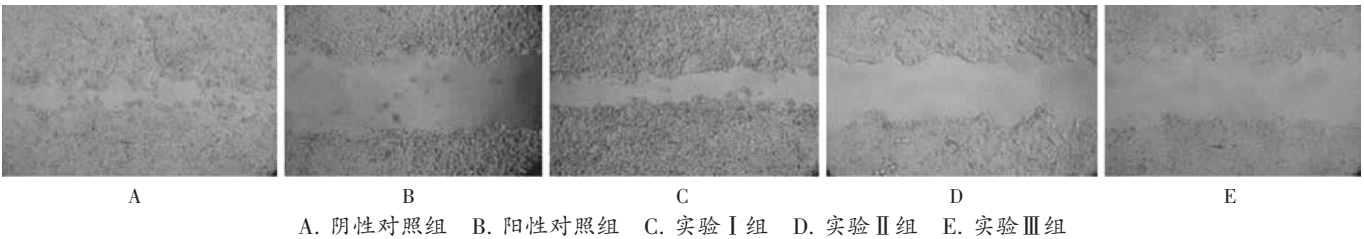
表3 各组HCC827细胞迁移、凋亡情况及细胞中mRNA和蛋白表达水平比较($\bar{X} \pm s, n=3$)

Tab. 3 Comparison of migration, apoptosis and the mRNA and protein expression levels of HCC827 cells in each group ($\bar{X} \pm s, n=3$)

组别	浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	HCC827细胞		mRNA			蛋白		
		迁移距离(μm)	细胞凋亡率(%)	T β R I	Smad 2	Smad 3	T β R I	Smad 2	Smad 3
阴性对照组	0	38.15 ± 4.59	0.16 ± 0.06	1.00 ± 0.10	1.00 ± 0.06	1.00 ± 0.05	0.53 ± 0.08	0.41 ± 0.05	0.47 ± 0.05
阳性对照组	80	$16.52 \pm 3.49^{\#}$	$1.14 \pm 0.34^{\#}$	$0.43 \pm 0.08^{\#}$	$0.16 \pm 0.05^{\#}$	$0.38 \pm 0.06^{\#}$	$0.12 \pm 0.03^{\#}$	$0.09 \pm 0.02^{\#}$	$0.16 \pm 0.05^{\#}$
实验 I 组	20	$31.10 \pm 4.58^{\#}$	$0.21 \pm 0.05^{\#}$	$0.91 \pm 0.04^{\#}$	$0.76 \pm 0.08^{\#}$	$0.84 \pm 0.09^{\#}$	$0.33 \pm 0.05^{\#}$	$0.29 \pm 0.04^{\#}$	$0.39 \pm 0.08^{\#}$
实验 II 组	40	$24.29 \pm 3.61^{\#}$	$0.32 \pm 0.06^{\#}$	$0.82 \pm 0.05^{\#}$	$0.60 \pm 0.15^{\#}$	$0.69 \pm 0.04^{\#}$	$0.25 \pm 0.07^{\#}$	$0.20 \pm 0.05^{\#}$	$0.31 \pm 0.04^{\#}$
实验 III 组	80	$19.54 \pm 2.39^{\#}$	$0.83 \pm 0.09^{\#}$	$0.61 \pm 0.12^{\#}$	$0.37 \pm 0.09^{\#}$	$0.53 \pm 0.07^{\#}$	$0.18 \pm 0.04^{\#}$	$0.14 \pm 0.02^{\#}$	$0.23 \pm 0.05^{\#}$
F值		15.841	27.306	12.637	25.339	19.205	23.352	26.173	14.620
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与阴性对照组比较, $^{\#}P < 0.05$ 。

Note: Compared with those in the negative control group, $^{\#}P < 0.05$.



A. 阴性对照组 B. 阳性对照组 C. 实验 I 组 D. 实验 II 组 E. 实验 III 组

图1 HCC827细胞迁移情况

A. Negative control group B. Positive control group C. Experiment I Group D. Experiment II group E. Experiment III group

Fig. 1 The migration of HCC827 cells

细胞迁移距离缩短,细胞凋亡率显著升高($P < 0.05$)。详见表3和图1、图2。

2.3 细胞中 mRNA 及蛋白表达水平

与阴性对照组比较,阳性对照组及实验 I, II, III 组细胞中 T β R I, Smad 2, Smad 3 mRNA 及蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$)。详见表3。

3 讨论

松果菊苷可通过诱导肝癌细胞凋亡抑制肝癌进展,对胰腺癌、乳腺癌等肿瘤细胞也有抑制作用^[9]。研究发现,松果菊苷通过抑制 EMT,进而抑制急性髓系白血病细胞体外迁移^[4],但松果菊苷对 HCC827 细胞的抗转移作用尚未见报道。本研究中,松果菊苷以剂量依赖的方式抑制 HCC827 细胞的迁移和增殖,并诱导其凋亡;同时,松果菊苷可抑制 T β R I / Smad 信号通路,作用虽无顺铂强,但潜在副作用较低。

EMT 在肿瘤细胞转移早期起着至关重要的作用,因为细胞失去黏附,获得了更强的迁移和侵袭能力,向远处组织扩散。EMT 的调控涉及多种信号通路,其中 TGF- β 信号通路较典型^[10]。TGF- β 主要由白细胞介素 4(IL-4)或白细胞介素 13(IL-13)刺激免疫细胞分泌,也可由 TGF- β 激活的 II 型肺泡上皮细胞、成纤维细胞、细胞外基质释放^[11]。T β R I 与 T β R II 结合形成一种能识别并结合配体的复合物(TGF- β)。TGF- β 可上调 T β R I mRNA 和蛋白表达,诱导细胞内 T β R I 肽

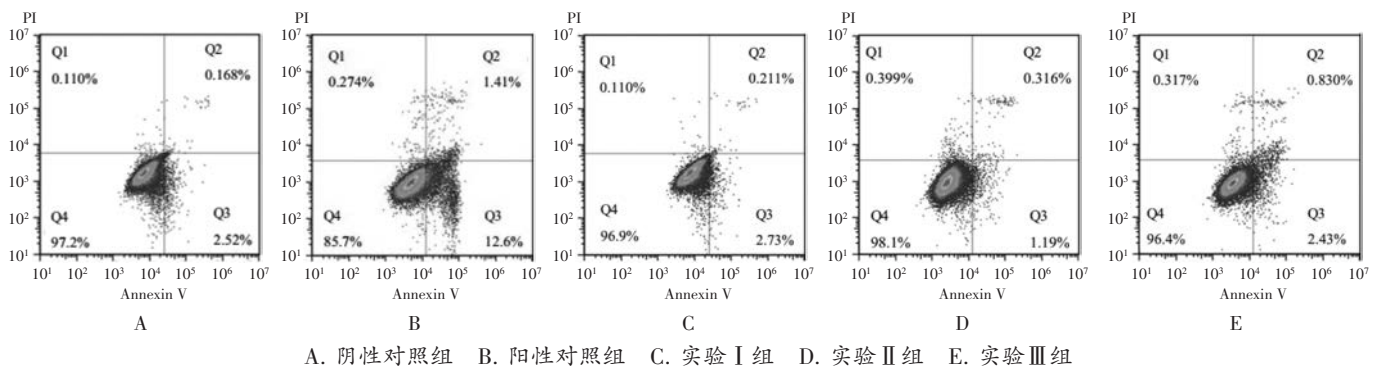


图2 HCC827细胞凋亡情况

A. Negative control group B. Positive control group C. Experiment I Group D. Experiment II group E. Experiment III group

Fig. 2 The apoptosis of HCC827 cells

磷酸化,激活细胞内信号转导,包括 Smad 通路和非 Smad 通路的信号转导^[12]。在 T β R I / Smad 通路中,激活 T β R I 使 Smad 2 / 3 磷酸化水平升高,并与 Smad 4 结合形成 Smad 2 / 3 - 4 复合物^[13]。Smad 7 属 Smad 通路拮抗剂,它可抑制 Smad 2 / 3 的磷酸化和 Smad 2 / 3 - 4 复合物的形成,并且抑制 TGF - β 下调^[14]。Smad 2 / 3 - 4 复合物随后易位进入细胞核,作为转录因子,导致纤维化转录因子上调^[15]。靶向 T β R I 的抑制剂,如 LY - 2157299、EW7197、SD - 208 和 SB431542,成功地抑制了临床前模型和 I ~ III 期临床试验中的肿瘤进展^[16]。本研究结果显示,松果菊苷可降低 HCC827 细胞中 T β R I mRNA 和蛋白表达水平,并抑制 Smad 2 和 Smad 3 mRNA 和蛋白表达,表明松果菊苷具有抑制 HCC827 细胞增殖和迁移的作用。

此外,T β R I 也可直接激活非 Smad 信号通路,包括丝裂原活化蛋白激酶 / c - Jun 氨基末端激酶 (MAPK / JNK)、MAPK / p38 和磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) / 蛋白激酶 B (Akt) 信号通路,可直接或间接调控细胞凋亡^[17]。在 MAPK / JNK 和 MAPK / p38 信号通路中,体外结果显示,经 SP - 600125 处理 24 h 后也降低了 JNK 和 p38 的磷酸化水平,诱导肿瘤细胞凋亡^[18]。同时,SD - 208 对 MAPK / JNK 和 MAPK / p38 信号通路的抑制作用被 SB203580 处理逆转^[19]。本研究结果显示,松果菊苷可诱导 HCC827 细胞凋亡,这可能与 T β R I 可直接激活非 Smad 信号通路有关,但本研究中未对 T β R I 非 smad 信号通路进行研究,后续将持续完善。

综上所述,松果菊苷可抑制 HCC827 细胞增殖及迁移,并促进细胞凋亡,机制可能与其抑制 T β R I / Smad 信号通路激活有关。

参考文献

[1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394 - 424.

[2] 程谟朝,徐姝丽,刘涛,等. 化学治疗与靶向治疗先后顺序对吸烟晚期肺腺癌疗效的影响[J]. 中国药业, 2019, 28(1): 75 - 78.

[3] LI L, WAN G, HAN B, et al. Echinacoside alleviated LPS - induced cell apoptosis and inflammation in rat intestine epithelial cells by inhibiting the mTOR / STAT3 pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 104: 622 - 628.

[4] 冯磊,马秋玲,石琳,等. 松果菊苷通过抑制 SOX4 / Wnt / β - Catenin 信号抑制急性髓系白血病细胞增殖[J]. 免疫学杂志, 2020, 36(2): 138 - 142.

[5] TANG C, GONG L, XU LZ, et al. Echinacoside inhibits breast cancer cells by suppressing the Wnt / β - catenin signaling pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 526 (1): 170 - 175.

[6] TANG Z, DING Y, SHEN Q, et al. KIAA1199 promotes invasion and migration in non - small - cell lung cancer (NSCLC) via PI3K - Akt mediated EMT [J]. J Mol Med, 2019, 97 (1): 127 - 140.

[7] KONG FF, ZHU YL, YUAN HH, et al. FOXM1 regulated by ERK pathway mediates TGF - β - induced EMT in NSCLC [J]. Oncol Res, 2014, 22(1): 29 - 37.

[8] LUO X, DENG Q, XUE Y, et al. Anti - Fibrosis Effects of Magnesium Lithospermate B in Experimental Pulmonary Fibrosis: By Inhibiting TGF - β RI / Smad Signaling [J]. Molecules, 2021, 26(6): 1715 - 1733.

[9] YE Y, SONG Y, ZHUANG J, et al. Anticancer effects of echinacoside in hepatocellular carcinoma mouse model and HepG2 cells [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(2): 1880 - 1888.

[10] LIN YT, WU KJ. Epigenetic regulation of epithelial - mesenchymal transition: Focusing on hypoxia and TGF - β signaling [J]. J Biomed Sci, 2020, 27(1): 39.

[11] MAEDA D, KUBO T, KIYA K, et al. Periostin is induced by IL - 4 / IL - 13 in dermal fibroblasts and promotes RhoA / ROCK pathway - mediated TGF - β secretion in abnormal scar formation [J]. J Plast Surg Hand Surg, 2019, 53(5): 288 - 294.

[12] TAZATA K, HECTOR - GREENEB M, BLOBEB GC, et al. T β R III independently binds type I and type II TGF - β recep-