DOI:10.16016/j.1000-5404.202009162

敲除 Vanin-1 促进肾缺血再灌注损伤后功能恢复的作用及机制

王 玲,汪晓月,封 蕾,王梨名,罗 佳,陈 佳,陈客宏 400042 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)大坪医院肾内科

[**摘要**] **目的** 探讨血管非炎症分子 1(vascular noninflammatory molecule-1,Vanin-1)在缺血再灌注损伤后肾组织的表达水平及其与肾脏功能恢复的关系。**方法** 选取 8 周龄 BALB/c 野生型、Vanin-1 基因敲除雄鼠,采用完全随机法分为假手术组、缺血再灌注组、敲除组、敲除+缺血再灌注组,每组 6 只。缺血再灌注组、敲除+缺血再灌注组分离双侧肾蒂后夹闭 35 min,后松开夹闭,恢复血流;假手术组、敲除组仅暴露肾蒂,不夹闭。术后 0、3、14 d,留取血清、尿液、肾组织标本,检测血清肌酐、尿素氮水平,检测尿液 TGF-β 水平,PAS 染色明确肾组织损伤严重程度,免疫组化检测肾组织 Vanin-1 表达水平。提取野生型和 Vanin-1 基因敲除鼠原代肾小管上皮细胞,传代至第 2 代,设置对照组、对照+损伤组、敲除组、敲除+损伤组,损伤条件为缺氧(1%O_2,94%N_2,5%CO_2,48 h)、复氧(5%CO_2,95%空气,24 h),模拟体内缺血再灌注损伤模型,收取肾小管上皮细胞和上清,检测 Vanin-1 蛋白和上清中 TGF-β 表达水平。**结果** 缺血再灌注损伤后第 3 天,与假手术组相比,缺血再灌注组、敲除+缺血再灌注组血清肌酐、尿素氮水平明显升高($P<0.05$),PAS 染色提示肾组织损伤明显;但缺血再灌注组与敲除+缺血再灌注组小鼠比较,血清肌酐、尿素氮水平无明显差异,PAS 染色提示两组肾组织损伤无明显差异。缺血再灌注后第 14 天,该两组血清肌酐、尿素氮、PAS 肾组织损伤均比缺血再灌注后第 3 天显著恢复,敲除+缺血再灌注组的恢复速度均明显快于缺血再灌注组,PAS 肾组织慢性化改变明显轻于缺血再灌注组($P<0.05$),且敲除+缺血再灌注组尿中 TGF-β 水平明显低于缺血再灌注组($P<0.05$)。免疫组化结果提示:损伤后第 14 天,肾组织 Vanin-1 表达明显升高($P<0.01$),且主要表达于受损肾小管上皮细胞。细胞实验结果显示:予以缺氧-复氧损伤后,对照+损伤组肾小管上皮细胞 Vanin-1 蛋白表达明显升高($P<0.01$),上清中 TGF-β 水平明显高于敲除+损伤组($P<0.05$)。**结论** Vanin-1 可促进缺血再灌注损伤后肾小管上皮细胞 TGF-β 分泌,延缓肾脏功能恢复,促进急性肾损伤向慢性肾脏病进展。

[**关键词**] 血管非炎症分子 1;再灌注损伤;肾小管细胞;转化生长因子 β;肾脏功能恢复;小鼠,基因敲除

[**中图法分类号**] R363.21;R364.12;R692 [**文献标志码**] A

Effect and mechanism of vanin-1 knockout in promoting recovery of kidney function after renal ischemia reperfusion injury in mice

WANG Ling, WANG Xiaoyue, FENG Lei, WANG Liming, LUO Jia, CHEN Jia, CHEN Kehong Department of Nephrology, Daping Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400042, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the expression level of vascular noninflammatory molecule-1 (Vanin-1) in renal tissue after renal ischemia-reperfusion (I/R) injury and its relationship with the recovery of renal function. **Methods** Eight-week-old male BALB/c wild-type and Vanin-1 knockout mice were

[**基金项目**] 国家自然科学基金面上项目(81770731);重庆市技术创新与应用发展专项面上项目(CSTC2019jscx-msxmX0258)

[**通信作者**] 陈客宏,E-mail:19346028@qq.com

1000-5404/Copyright © 2021,陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

subjected in this study. They were randomly divided into sham operation group, I/R group, knockout group, knockout+ I/R group, with 6 mice in each group. In the I/R model groups, the bilateral renal pedicles were separated and clamped for 35 min, and then the clamp was released to restore blood flow. For the sham operation and knockout groups, only the renal pedicles were exposed without clipping. Serum, urine, and kidney tissue specimens were collected at 0, 3, and 14 d after surgery to determine blood creatinine and urea nitrogen levels and urine TGF-β level. PAS staining was used to determine the severity of renal tissue damage, and immunohistochemical assay was employed to test the expression of Vanin-1 in renal tissue. After renal tubular epithelial cells were isolated from the kidneys of the wild-type and Vanin-1 knockout mice, the cells were primarily cultured and then passed down to the second generation. Then the cells were divided into control group, injury group, knockout group, and knockout+injury group. The cell injury was inflicted with culture condition of hypoxia (1%O_2, 94%N_2, 5%CO_2) for 48 h followed by reoxygenation (5%CO_2, 95% air) for 24 h to simulate *in vitro* I/R injury model. The expression of Vanin-1 and supernatant content of TGF-β were measured. **Results** In 3 d after I/R injury, serum creatinine and urea nitrogen levels were significantly higher ($P<0.05$), and PAS staining indicated obvious renal tissue damage in the I/R and knockout+I/R groups when compared the sham operation group. But there were no significant differences in the levels and the tissue damages between the I/R and knockout+I/R groups. However, on the 14th day after I/R injury, the 2 groups got the serum creatinine and urea nitrogen levels and renal tissue damage significantly recovered than the conditions on the 3rd day, but the knockout+I/R group recovered significantly faster and obtained milder renal damage ($P<0.05$), lower urine TGF-β level and higher Vanin-1 level when compared with the I/R group. In the *in vitro* study, the mimic I/R injury resulted in obviously increased Vanin-1 level ($P<0.01$), and increased TGF-β content in the supernatant ($P<0.05$) in the renal tubular epithelial cells when compared in the cells of the knockout+I/R group. **Conclusion** Vanin-1 promotes the secretion of TGF-β in renal tubular epithelial cells after I/R injury, delays the recovery of renal function, and promotes the progression of acute kidney injury (AKI) to chronic kidney disease (CKD).

[**Key words**] vascular noninflammatory molecule-1; reperfusion injury; renal tubular cells; transforming grwoth factor beta; recovery of kidney function; mice, knockout

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81770731) and the General Project of Special Program of Technology Innovation and Application Development of Chongqing (CSTC2019jscx-msxmX0258). Corresponding author: CHEN Kehong, E-mail:19346028@qq.com

缺血再灌注(ischemic reperfusion,I/R)是导致急性肾损伤(acute kidney disease,AKI)的一个常见原因,主要受损部位为肾小管,具有较高的发病率和死亡率,AKI后慢性肾脏病(chronic kidney disease,CKD)的发生率显著升高[1]。尽管在过去10年中,AKI向CKD进展的机制已有大量研究,但有效的治疗策略仍然匮乏。

血管非炎症分子1(vascular noninflammatory molecule-1, Vanin-1)是一种糖基磷脂酰肌醇(glycosylphosphatidylinositol,GPI)锚定的泛酰巯乙胺酶,是一种重要的氧化应激感受器,高表达于肾脏、肝脏和肠道[2]。BERRUYER等[3]研究发现:Vanin-1基因敲除鼠对氧化应激引起损伤的耐受能力明显增强。而既往已有报道指出:在I/R导致的AKI肾功能恢复过程中,活性氧(reactive oxygen species,ROS)水平持续升高,提示氧化应激损伤持续存在,与此同时,TGF-β表达水平持续升高[4]。TGF-β是公认的促进肾间质纤维化的关键因素之一,肾间质纤维化最终可导致肾功能无法恢复,是AKI走向CKD的主要的病理表现之一。那么,Vanin-1是否可调控I/R后的肾组织TGF-β的表达进而调控肾功能的恢复过程?本课题组通过建立I/R肾损伤模型,下调Vanin-1表达,评估各组小鼠肾组织Vanin-1表达水平、组织损伤严重程度及TGF-β表达水平,以探索Vanin-1在肾缺血再灌注损伤后功能恢复过程中的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

BALB/c野生型小鼠(8周龄),由本院实验动物

中心提供,动物实验方案获得本院伦理委员会批准(医研伦审2014第88号)。Vanin-1基因敲除鼠与野生型小鼠杂交,最终获得同窝出生野生型和Vanin-1基因敲除鼠[5],用于实验。

1.2 实验分组、造模及标本采集

实验分组:选取8周龄BALB/c野生型、Vanin-1基因敲除雄鼠各12只,体质量22~25 g,采用完全随机法分为假手术组、缺血再灌注组、敲除组、敲除+缺血再灌注组,每组6只。

造模方法:手术组小鼠全麻后仰卧位固定于手术台上,术区备皮,碘酒、75%酒精消毒,行腹部正中切口,暴露双侧肾蒂,血管夹夹闭肾蒂,肾脏由粉红色逐渐变为绛紫色,35 min后松开血管夹,肾脏血供恢复,关腹;敲除+缺血再灌注组处理方法同前;假手术组仅暴露双侧肾蒂;敲除组处理方法同假手术组。术后,小鼠放于保温箱内,密切观察小鼠生命体征。

标本采集:造模后0、3、14 d,经眼球取血,收集血浆送本院检验科检测血清尿素氮、肌酐,收集尿液及肾组织标本。

1.3 PAS染色明确肾组织损伤程度

石蜡标本切片,60 ℃烤片20 min,二甲苯、无水乙醇、95%乙醇、75%乙醇依次脱蜡复水,清水冲洗5 min,高碘酸浸染10 min,清水冲洗5 min,PAS滴染37 ℃ 30 min,清水冲洗5 min,苏木精浸染5 min,清水冲洗5 min,盐酸乙醇分化3 s,清水冲洗5 min,乙醇脱水20 s,二甲苯透明5 min,中性树脂封片。肾脏损伤判定方法:光镜下对皮髓交接区肾小管进行损伤评分。急性损伤评分标准[6]:根据肾小管上皮细胞坏死、刷状缘脱落、管型形成、肾小管扩张占肾小管总数百分比进行评价,0分,无损伤;1分,≤10%;2分,>10%~25%;3分,>25%~45%;4分,>45%~75%;5分,>75%。慢性损伤评分标准[7]:肾小管萎缩、纤维化所占百分比,0分,无纤维化;1分,<5%;2分,5%~<25%;3分,25%~<50%;4分,≥50%。每张切片观察10个连续视野,双盲条件下由实验者和病理医师观察病理变化,取平均值作为衡量肾小管损伤的指标。

1.4 免疫组化检测肾组织Vanin-1表达水平

石蜡标本切片,60 ℃烤片20 min,二甲苯、无水乙醇、95%乙醇、75%乙醇依次脱蜡复水,清水冲洗5 min,高压抗原修复,PBS浸泡5 min,山羊血清封闭30 min,PBS浸洗5 min×3次,用免疫组化笔以组织为中心画圈标记,3%过氧化氢36 ℃ 15 min,PBS浸洗5 min×3次,滴加一抗Vanin-1(浓度1∶100),4 ℃盒过夜,次日湿盒置于室温复温30 min,PBS浸洗5 min×3次,滴加二抗,湿盒内37 ℃孵育40 min,PBS浸洗5 min×3次,DAB工作液显微镜下显色,苏木精染液浸泡5 min,蒸馏水冲洗5 min,盐酸乙醇分化3 s,蒸馏水漂洗5 min,95%~100%乙醇梯度脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。

1.5 肾小管上皮细胞的提取及培养

参照文献[8]报道的方法,将2~3周龄BALB/c野生型和Vanin-1基因敲除雄性鼠断颈处死,无菌获取双肾,将肾脏皮质与髓质分离,留取肾皮质在培养皿中用组织剪充分剪碎,与低糖DMEM混合后,移入离心管中离心,去除上清,加入胶原酶后,置于37 ℃摇床消化30 min,双重过滤含DMEM溶液的肾皮质,终止液反复冲洗终止消化。将过滤液收集于大培养皿中,反复吹打后离心,去除上清,在细胞沉淀中加入原代培养基,反复吹打后接种,置入37 ℃、5%CO_2培养箱孵育,12 h内不宜晃动培养瓶。48 h后首次更换培养基,此后隔天更换1次。按文献[7]报道的方法对肾小管上皮细胞进行鉴定,细胞纯度达90%以上。

1.6 缺氧-复氧细胞模型的建立

原代肾小管上皮细胞传代至第2代用于实验,分别设置:对照组、对照+损伤组、敲除组、敲除+损伤组。两损伤组予以缺氧48 h(1%O_2,94%N_2,5%CO_2),复氧24 h(5%CO_2,95%空气)后分别收上清和细胞。对照组、敲除组不予任何处理。每组实验重复3次。

1.7 Western blot检测各组肾小管上皮细胞Vanin-1表达水平

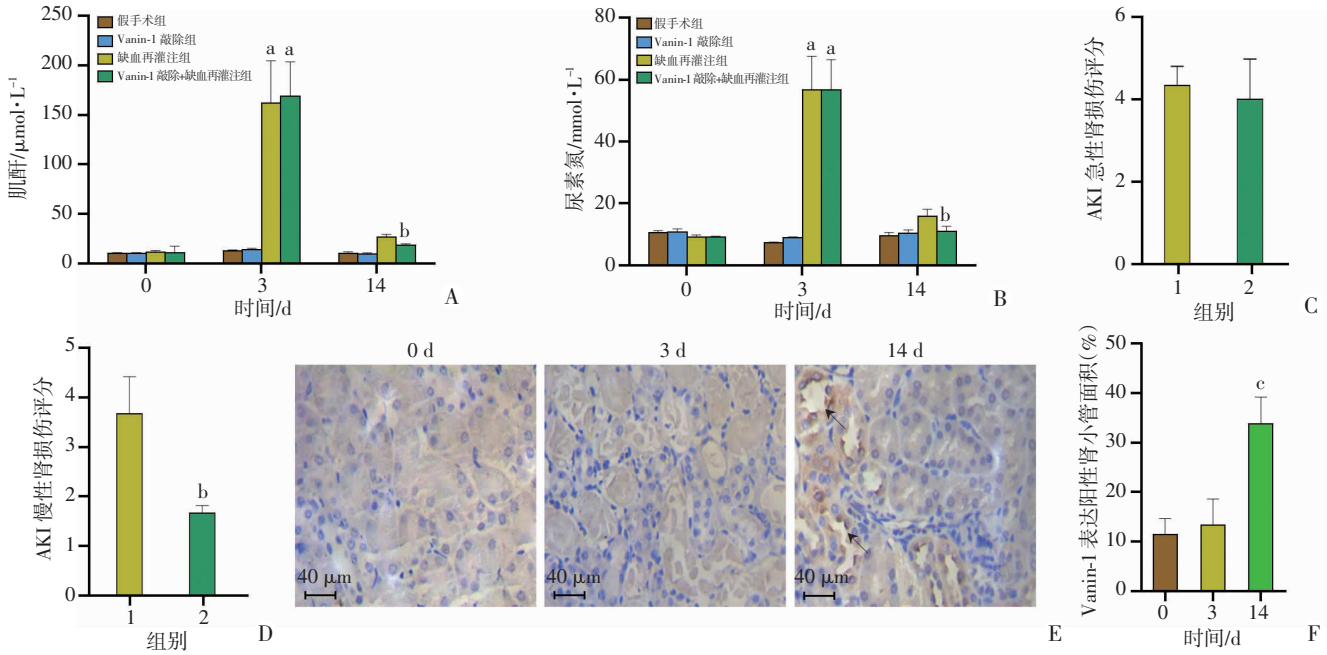
制备蛋白样品,按照蛋白含量的测定试剂盒步骤检测光密度值(BCA定量),计算蛋白含量和上样量,SDS-PAGE电泳,转膜,5%脱脂牛奶封闭,加入一抗Vanin-1(浓度1∶800,货号:21745-1-AP,Proteintech)或GAPDH一抗(浓度1∶10 000,货号:60004-1-lg),4 ℃过夜,次日室温下TBST脱色,显影液显影。

1.8 ELISA检测各组小鼠尿液及各组肾小管上皮细胞上清TGF-β表达水平

利用ELISA试剂盒标准流程(上海恒远生物科技有限公司)检测小鼠尿液和细胞培养上清TGF-β水平。不同血清样品分别加入96孔板中,37 ℃孵育30 min,洗涤液清洗5次后,加入50 μL的酶标试剂,37 ℃孵育30 min,洗涤液清洗5次,每孔加入显色液A 50 μL,再加入显色液B 50 μL,37 ℃避光显色10 min,最后加入终止液50 μL,然后于15 min内利用ELISA检测仪检测。

1.9 统计学分析

采用SPSS 19.0统计软件,计量资料以$\bar{x}\pm s$表示,采用双因素或多因素方差分析,两组多重比较采用Bonferroni法,$P<0.05$为差异有统计学意义。



1:缺血再灌注组;2:敲除+缺血再灌注组;a:$P<0.01$,与假手术组比较;b:$P<0.05$,与缺血再灌注组比较;c:$P<0.01$,与 0 d 比较

A、B:分别为各组术后不同时间血清肌酐、尿素氮水平;C:损伤后第 3 天急性肾脏损伤评分;D:缺血再灌注损伤后第 14 天慢性肾脏损伤评分;E:免疫组化检测缺血再灌注损伤后肾组织 Vanin-1 表达 箭头示 Vanin-1 表达;F:缺血再灌注损伤后肾组织 Vanin-1 表达阳性肾小管面积

图 1 基因敲除 Vanin-1 可促进 I/R 肾损伤小鼠肾脏结构和功能恢复

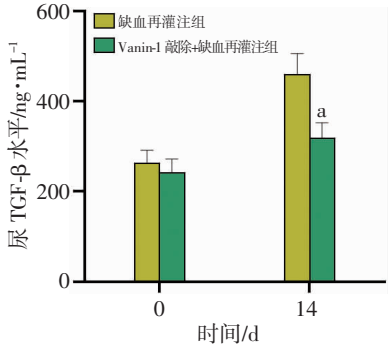
2 结果

2.1 基因敲除 Vanin-1 可促进 I/R 肾损伤小鼠肾脏结构和功能恢复

I/R 损伤后第 3 天,与假手术组相比,缺血再灌注组、敲除+缺血再灌注组血清肌酐、尿素氮水平明显升高($P<0.01$),PAS 染色提示可见大量肾小管上皮细胞坏死、脱落等,但缺血再灌注组、敲除+缺血再灌注组两组小鼠血清肌酐、尿素氮水平无明显差异,PAS 染色提示两组肾组织损伤无明显差异。I/R 后第 14 天,敲除+缺血再灌注组血清肌酐、尿素氮恢复速度均明显快于缺血再灌注组($P<0.05$),PAS 肾组织慢性损伤评分明显低于缺血再灌注组($P<0.05$,图 1A~D)。免疫组化结果提示:I/R 肾损伤第 14 天,缺血再灌注组肾组织 Vanin-1 表达明显升高($P<0.01$,图 1E、F),且主要表达于受损肾小管上皮细胞。

2.2 Vanin-1 可调控 I/R 肾损伤小鼠尿中 TGF-β 水平

I/R 损伤后第 14 天,敲除+缺血再灌注组尿中 TGF-β 水平明显低于缺血再灌注组($P<0.05$,图 2),提示 Vanin-1 可调节 TGF-β 分泌。

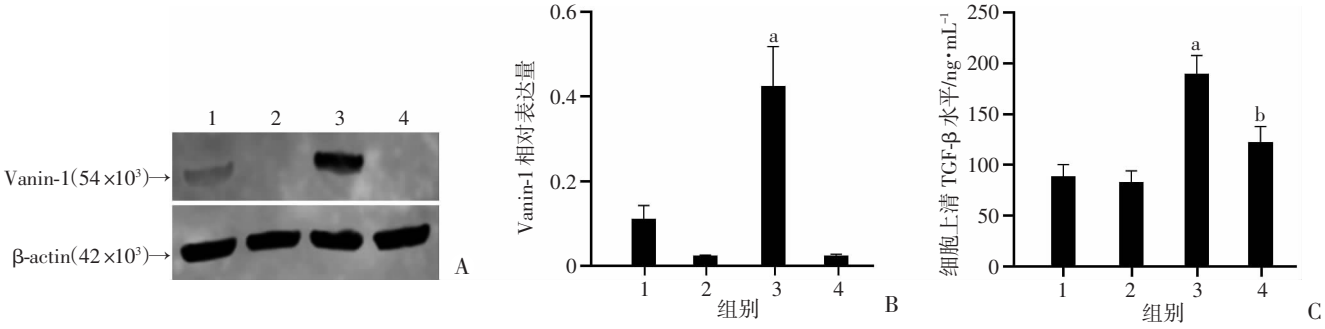


a:$P<0.05$,与缺血再灌注组比较

图 2 Vanin-1 敲除 I/R 肾损伤小鼠尿中 TGF-β 水平变化

2.3 Vanin-1 可促进肾小管上皮细胞分泌 TGF-β

体内实验结果提示 Vanin-1 可通调控 TGF-β 分泌,延缓肾脏功能恢复。体外实验结果显示:对照+损伤组肾小管上皮细胞 Vanin-1 表达明显升高($P<0.01$),对照+损伤组肾小管上皮细胞上清 TGF-β 水平明显高于敲除+损伤组($P<0.05$,图 3),提示 Vanin-1 可促进 TGF-β 表达。



1:对照组;2:敲除组;3:对照+损伤组;4:敲除+损伤组;a:$P<0.01$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与对照+损伤组比较

A:Western blot 检测各组细胞 Vanin-1 蛋白表达;B:各组细胞 Vanin-1 相对表达量;C:各组细胞上清 TGF-β 表达水平

图 3 Vanin-1 可促进肾小管上皮细胞分泌 TGF-β

3 讨论

I/R 是导致 AKI 的常见原因,针对 AKI,目前主要以对症支持治疗为主,缺乏有效的治疗手段,AKI 后的肾脏修复机制是目前肾脏病学者研究的重点。本研究通过血管夹夹闭双侧肾蒂 35 min,成功构建了 I/R 重度肾损伤模型,发现 I/R 损伤后第 14 天,小鼠肾组织 Vanin-1 表达水平明显升高。为进一步明确 Vanin-1 在 I/R 后肾脏恢复过程中的作用,本研究利用 Vanin-1 基因敲除鼠建立 I/R 肾损伤模型,发现在 I/R 损伤后第 3 天,缺血再灌注组与敲除+缺血再灌注组血清肌酐、尿素氮水平无明显差异,PAS 染色提示两组肾脏损伤严重程度无明显差异。但到 I/R 损伤后第 14 天,敲除+缺血再灌注组血清肌酐、尿素氮水平明显低于缺血再灌注组,PAS 提示肾组织慢性化改变明显轻于缺血再灌注组,证明基因敲除 Vanin-1 可促进 I/R 损伤后肾脏结构和功能恢复。

Vanin-1 是一种在肾、肺、肝脏等组织广泛表达泛酰巯基乙胺酶[1-2],在机体氧化应激反应中发挥着重要的调节作用[9]。目前已有动物实验证实:线粒体功能失调在 I/R 肾损伤后的 9 个月里持续存在,功能失调的线粒体可持续产生过量的活性氧,过量 ROS 产生可导致氧化应激损伤,予以线粒体保护剂可减少 ROS 产生,减轻氧化应激损伤,进而明显减轻 AKI 后的间质炎症水平、间质纤维化等[3],提示氧化应激损伤在 I/R 肾脏损伤后持续存在,且促进了 AKI 向 CKD 的进展。既往研究报道 Vanin-1 是调节氧化应激损伤的关键分子[2]。为进一步明确 Vanin-1 是否可调控 I/R 后的肾脏结构和功能恢复,本研究利用 Vanin-1 基因敲除和野生型小鼠同时建立 I/R 肾损伤模型,于造模后第 3、14 天检测肾脏功能及组织损伤严重程度,发现在第 3 天,缺血再灌注组与敲除+缺血再灌注组肾脏功能和组织损伤严重程度无明显差异,但到第 14 天,Vanin-1 基因敲除鼠肾脏结构和功能损伤较野生型明显降低,提示基因敲除 Vanin-1 可促进肾脏结构和功能恢复。

有研究报道:Vanin-1 可通过减少还原性谷胱甘肽导致 ROS 产生增多,进而通过脂质过氧化产物 4-羟基壬烯醛(4-hydroxy-2,3-nonenal,HNE)上调 TGF-β 的表达[10]。而 I/R 损伤后肾组织 TGF-β 表达明显上调[11],TGF-β 是导致肾小球、肾小管间质纤维化的重要致病因素[14],进而导致正常肾组织结构消失,最终进展为终末期肾脏疾病。为了进一步明确 Vanin-1 是否也可以通过上调 I/R 损伤后 TGF-β 水平延缓肾脏结构和功能恢复,本研究检测各组小鼠尿液中 TGF-β 水平,发现 Vanin-1 基因敲除鼠尿中 TGF-β 水平明显降低,提示 Vanin-1 可能是通过调控 TGF-β 分泌调控肾脏结构和功能恢复。在此基础上,本研究细胞实验结果显示:基因敲除 Vanin-1 可显著降低细胞上清 TGF-β 表达水平,证明 Vanin-1 可通过促进肾脏 TGF-β 表达,延缓肾脏功能恢复。

综上所述,本研究结果提示 Vanin-1 可通过促进肾小管上皮细胞 TGF-β 分泌,延缓 I/R 后肾脏功能恢复。应用 Vanin-1 抑制剂有望成为预防 AKI 向 CKD 进展的有效治疗措施。

参考文献:

[1] SATO Y, TAKAHASHI M, YANAGITA M. Pathophysiology of AKI to CKD progression[J]. Semin Nephrol, 2020, 40(2): 206-215. DOI:10.1016/j.semnephrol.2020.01.011.

[2] CHEN S Y, ZHANG W X, SUN C, *et al*. Systemic nanoparticle-mediated delivery of pantetheinase vanin-1 regulates lipolysis and adiposity in abdominal white adipose tissue[J]. Adv Sci, 2020, 7(14): 2000542. DOI: 10.1002/advs.202000542.

[3] BERRUYER C, MARTIN F M, CASTELLANO R, *et al*. Vanin-1$^{-/-}$ mice exhibit a glutathione-mediated tissue resistance to oxidative stress[J]. Mol Cell Biol, 2004, 24(16): 7214-7224. DOI: 10.1128/MCB.24.16.7214-7224.2004.

[4] SZETO H H, LIU S Y, SOONG Y, *et al*. Mitochondria protection after acute ischemia prevents prolonged upregulation of IL-1β and IL-18 and arrests CKD[J]. J Am Soc Nephrol, 2017, 28(5): 1437-1449. DOI: 10.1681/asn.2016070761.

[5] CHEN K H, CHEN J, WANG L, *et al*. Parkin ubiquitinates GATA4 and attenuates the GATA4/GAS1 signaling and detrimental effects on diabetic nephropathy[J]. FASEB J, 2020, 34(7): 8858-8875. DOI: 10.1096/fj.202000053r.

[6] CHEN J C, CHEN J K, HARRIS R C. Deletion of the epidermal growth factor receptor in renal proximal tubule epithelial cells delays recovery from acute kidney injury[J]. Kidney Int, 2012, 82(1): 45-52. DOI: 10.1038/ki.2012.43.

[7] GRGIC I, CAMPANHOLLE G, BIJOL V, *et al*. Targeted proximal tubule injury triggers interstitial fibrosis and glomerulosclerosis[J]. Kidney Int, 2012, 82(2): 172-183. DOI: 10.1038/ki.2012.20.

[8] CHEN J, CHEN K H, FU B Q, *et al*. Isolation and identification of senescent renal tubular epithelial cells using immunomagnetic beads based on DcR2[J]. Exp Gerontol, 2017, 95: 116-127. DOI: 10.1016/j.exger.2017.04.008.

[9] PITARI G, MALERGUE F, MARTIN F, *et al*. Pantetheinase activity of membrane-bound Vanin-1: lack of free cysteamine in tissues of Vanin-1 deficient mice[J]. FEBS Lett, 2000, 483(2/3): 149-154. DOI: 10.1016/s0014-5793(00)02110-4.

[10] LENARDUZZI G, SCAVAZZA A, BIASI F, *et al*. The lipid peroxidation end product 4-hydroxy-2,3-nonenal up-regulates transforming growth factor beta1 expression in the macrophage lineage: a link between oxidative injury and fibrosclerosis[J]. Faseb J, 1997, 11(11): 851-857. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1997.00602.x.

[11] ZHOU C, LIU J, GE Y, *et al*. Remote ischemic preconditioning ameliorates renal fibrosis after ischemia-reperfusion injury via transforming growth factor beta1 (TGF-β1) signalling pathway in rats[J]. Med Sci Monit, 2020, 26: e919185. DOI: 10.12659/MSM.919185.

(**收稿**:2020-09-19;**修回**:2021-01-11)

(编辑 汪勤俭)