DOI:10.16016/j.1000-5404.202107073

热休克蛋白27调控RhoA在大鼠膀胱出口梗阻致平滑肌重塑中的作用

廖德洋,王永权,熊智勇,周晓洲,何 鹏,周占松 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院泌尿外科

[摘要] **目的** 探讨热休克蛋白27(heat shock protein 27,HSP27)调控RhoA在大鼠膀胱出口梗阻(bladder outlet obstruction,BOO)致平滑肌重塑中的作用及其机制。**方法** 采用透明质酸尿道口注射法制作大鼠膀胱出口梗阻模型(BOO组),对照组大鼠注射相同剂量生理盐水。4周后行膀胱组织HE染色,Western blot检测大鼠膀胱组织中HSP27及RhoA表达水平;建立人膀胱平滑肌细胞HSP27过表达(过表达组)及敲低(敲低组)模型,以转染相应空载体细胞作为对照组,Western blot检测各组HSP27、pHSP27、RhoA及G-actin、F-actin蛋白水平。F-actin鬼笔环肽荧光染色观察各组细胞中肌动蛋白结构改变。**结果** 成功建立BOO大鼠模型,4周后HE染色可见BOO组大鼠膀胱平滑肌明显肥厚;BOO组大鼠膀胱组织中HSP27及RhoA表达较对照组明显上调($P<0.05$)。成功建立HSP27过表达及敲低模型,Western blot结果显示,与对照组比较,HSP27过表达组HSP27、p-HSP27及RhoA表达水平明显上调($P<0.05$);HSP27敲低组HSP27、p-HSP27及RhoA表达水平均明显下调($P<0.05$);HSP27过表达组F-actin/G-actin(F/G)比值明显上升($P<0.05$),而敲低组F/G比值明显降低($P<0.05$);鬼笔环肽染色结果显示,HSP27敲低组平滑肌细胞内肌动蛋白丝含量较对照组和过表达组明显减少,HSP27过表达组平滑肌细胞内肌动蛋白丝含量较对照组明显增多,排列紊乱。**结论** HSP27可通过调控RhoA,影响膀胱平滑肌细胞内肌动蛋白结构,可能在大鼠膀胱出口梗阻后膀胱平滑肌重塑中发挥重要作用。

[关键词] 膀胱出口梗阻;平滑肌重塑;HSP27;RhoA

[中图法分类号] R341;R363.22;R694.2 [文献标志码] A

Role of HSP27 regulating RhoA in bladder smooth muscle remodeling in rats after bladder outlet obstruction

LIAO Deyang, WANG Yongquan, XIONG Zhiyong, ZHOU Xiaozhou, HE Peng, ZHOU Zhansong Department of Urology, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the role and underlying mechanism of heat shock protein 27 (HSP27) in bladder smooth muscle remodeling after bladder outlet obstruction (BOO). **Methods** Rat BOO model was established by urethral orifice hyaluronic acid injection, and the rats from the control group were given the injection of same amount of normal saline. In 4 weeks after model establishment, the bladder wall tissues of BOO and control group were observed by HE staining. The expression of HSP27 and RhoA was detected by Western blotting in both groups. Cultured human bladder smooth muscle cells (BSMCs) were transfected with lentiviral vectors expressing either HSP27 or HSP27-shRNA (shHSP27). Western blotting was used to detect the expression of HSP27, phosphorylated HSP27, RhoA, G-actin and F-actin. Phalloidin fluorescence staining of F-actin was performed in overexpression and control group to observe actin filaments in BSMCs. **Results** HE staining showed evident bladder smooth muscle hypertrophy in BOO group in 4 weeks after hyaluronic acid injection, indicating the successful establishment of rat BOO model. The expression

[基金项目] 重庆市自然科学基金(cstc2018jcyjAX0278)

[通信作者] 周占松,E-mail:zhouzhansong@sohu.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/)

levels of HSP27 and RhoA were increased significantly compared to those in the control group ($P<0.05$). BMSC cell models of HSP27 overexpression and knockdown were successfully established. The results of Western blotting showed increased expression of HSP27, phosphorylated HSP27 and RhoA in HSP27 overexpression cells ($P<0.05$), and decreased expression of these protein in shHSP27 cells ($P<0.05$). Also, the F-actin/G-actin ratio was elevated in HSP27 overexpression cells ($P<0.05$) and an opposite result was seen in the shHSP27 cells ($P<0.05$). Phalloidin fluorescence staining showed there were less actin filaments in shHSP27 cells than the control and HSP27 overexpression cells, and more actin filaments in abnormal arrangement were observed in the overexpression cells than the control cells. **Conclusion** HSP27 can affect the structure of actin by regulating RhoA, and may play a critical role in bladder smooth muscle remodeling after BOO in rats.

[**Key words**] bladder outlet obstruction; smooth muscle remodeling; HSP27; RhoA

Supported by the Natural Science Foundation of Chongqing (cstc2018jcyjAX0278). Corresponding author: ZHOU Zhansong, E-mail: zhouzhansong@sohu.com

前列腺增生、括约肌功能障碍、尿道狭窄等多种器质性或功能性病因引起的膀胱流出道压力增高常导致膀胱出口梗阻(bladder outlet obstruction, BOO)[1-2]。BOO 可导致膀胱平滑肌出现代偿性肥厚增生,可在一定程度上增加逼尿肌收缩力。但是当梗阻因素持续存在时,膀胱平滑肌可发生重塑,引起膀胱收缩效率下降、膀胱过度活动等一系列病理生理学和尿动力学改变,导致尿频尿急等下尿路症状[3],在解除梗阻因素后仍然不能完全恢复。目前 BOO 所致膀胱平滑肌重塑的分子机制仍不明确,我们在前期的研究中发现热休克蛋白 27(heat shock protein 27, HSP27)作为一种小分子应激蛋白,在急性尿潴留动物模型中呈现持续高表达和过磷酸化的改变,与膀胱收缩力改变有一定关联[4],但是具体机制及其在慢性梗阻所致平滑肌重塑中的作用尚不明了。RhoGTP 酶家族作为参与多种信号转导通路的重要蛋白,可起到分子开关的作用,与细胞的收缩、运动、黏附等过程密切相关[5-6]。ras 同源物家族成员 A(ras homolog family member A, RhoA)作为 RhoGTP 酶家族成员,可通过多种途径调节肌动蛋白聚合活性,影响细胞内肌动蛋白丝的组装,在细胞骨架调控及平滑肌细胞收缩中发挥关键作用[7]。本研究观察 HSP27 与 RhoA 信号通路的关系以及对膀胱平滑肌肌动蛋白的影响,初步探讨 HSP27 在 BOO 后膀胱平滑肌重塑中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

人原代膀胱平滑肌细胞(human bladder smooth muscle cells, HBSMC)购于赛百慷生物公司。30 只雌性 Sprague-Dawley 大鼠,体质量 220~260 g,购自陆军军医大学实验动物中心。

主要试剂与仪器:DMEM 培养基(美国 Corning 公司),胎牛血清(美国 Invitrogen 公司),HSP27 抗体(美国 Abcam 公司)、HSP27(phospho s82)抗体(美国 Abcam 公司)、RhoA 抗体(美国 CST 公司)、GADPH 抗体(美国 Proteintech 公司),透明质酸(瑞典 Restylane 公司),TRIzol(美国 Sigma 公司),HSP27 过表达载体 LV-013(上海懿贝瑞)、HSP27 敲低载体 LV-002(上海懿贝瑞),Hiscript QRT supermix for qPCR 试剂盒(南京诺唯赞)、AceQ qPCR SYBR Green master mix(南京诺唯赞)、immobilon Western Chemiluminescent HRP Substrote(美国 Millipore 公司),G-actin/F-actin 体外检测试剂盒(美国 Cytoskeleton 公司),Acti-stain™488 Phalloidin(美国 Cytoskeleton 公司),细胞二氧化碳培养箱(日本 SANYO 公司),稳压电泳仪(上海天能),蛋白转膜仪(上海天能),5417R 台式冷冻高速离心机(德国 Eppendorf 公司),qPCR 仪器(美国 ABI 公司),化学发光成像系统(美国 GE 公司)。

1.2 方法

1.2.1 建立 SD 大鼠 BOO 模型 将 SD 大鼠采用随机数字表法分为 BOO 组和对照组,每组 15 只。大鼠行戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔注射麻醉,BOO 组大鼠采用尿道周围注射透明质酸的方法模拟膀胱出口梗阻[8],对照组大鼠注射相同剂量生理盐水。饲养 4 周后处死所有实验大鼠,取出膀胱标本。

1.2.2 SD 大鼠膀胱组织 HE 染色 10%福尔马林固定大鼠膀胱标本后行石蜡包埋并切片。组织切片均行 HE 染色,镜下观察组织病理学变化。

1.2.3 Western blot 检测大鼠膀胱组织中 HSP27 及 RohA 表达水平 两组各取部分膀胱标本,剪碎,匀浆后转移至离心管中,12 000×g 离心 20 min 后、收集上清。测定蛋白含量,配制样本,行 SDS-PAGE 电泳。电泳结束后,使用转移电泳装置,将蛋白转移到 PVDF 膜上。在 PVDF 膜上孵育 HSP27 一抗(稀释比 1∶1 000)、

RHOA 一抗(稀释比 1∶1 000),4 ℃过夜。TBST 洗膜后加入羊抗兔 IgG 二抗(稀释比 1∶3 000),室温下孵育 1 h。行化学发光检测,记录结果。以 GADPH 为内参照。

1.2.4　人膀胱平滑肌细胞的体外培养与 HSP27 过表达和敲低模型构建　　构建 HSP27 过表达质粒载体 LV-013-HSP27 及敲低质粒载体 LV-002-shRNAHSP27,获得目的质粒后利用 HK293FT 细胞进行病毒包装,4 500×*g* 离心 20 min,留取上清备用。按照标准细胞培养方法体外培养人膀胱平滑肌细胞。将处于对数生长期的膀胱平滑肌细胞进行胰酶消化,制成细胞悬液。将细胞悬液(细胞数为 1 500~2 500)接种于 96 孔板中,37 ℃、5% CO_2 培养箱培养待细胞融合度达到 20%~30%。24 h 后,弃培养基,加入感染液,同时根据细胞 MOI 值,加入适量的病毒,对照组使用空病毒载体。感染 18~20 h 后,更换新制备的培养基。72 h 后,显微镜下观察荧光及感染效率。

1.2.5　HSP27 过表达和敲低模型的 qPCR 检测　取慢病毒感染后的膀胱平滑肌细胞,根据 TRIzol 操作说明书进行总 DNA 抽提,根据 Hiscript QRT supermix for qPCR 试剂盒的步骤进行逆转录获得 cDNA。配制反应体系,两步法进行 qPCR 检测及结果分析。

1.2.6　Western blot 检测 RhoA 的表达　　从培养箱中取出各组细胞,按照蛋白提取试剂盒说明进行细胞总蛋白抽提。按照凝胶配制说明书配制分离胶及浓缩胶,胶凝固后,将各组蛋白样品上样,行 SDS-PAGE 电泳。电泳结束后,使用转移电泳装置,将蛋白转移到 PVDF 膜上。PVDF 膜封闭后,加入 HSP27 一抗(稀释比 1∶1 000)、RhoA 一抗(稀释比 1∶1 000),4 ℃过夜。TBST 洗膜后加入羊抗兔 IgG 二抗(稀释比 1∶3 000),室温下孵育 1 h。使用化学发光成像仪进行化学发光检测。以 GADPH 为内参照。

1.2.7　Western blot 检测肌动蛋白水平　　从培养箱中取出各组细胞,按照 G-actin/F-actin 体外检测试剂盒所提供的步骤裂解细胞并收集裂解产物。取 100 μL 裂解产物上清液,37 ℃下 100 000×*g* 离心 1 h,以分离丝状肌动蛋白(filamentous-actin,F-actin)和球状肌动蛋白(globular-actin,G-actin)。将含 G-actin 的上清液收集到新的离心管中。向沉淀中加入 F-actin 解聚缓冲液。按照说明配制各组蛋白样本,进行 SDS-PAGE 电泳。电泳结束后,使用转移电泳装置,将蛋白转移到 PVDF 膜上。对 PVDF 进行封闭后,加入对应 actin 小鼠单克隆一抗(稀释比 1∶1 000),室温孵育 1 h。TBST 洗膜后加入抗鼠 Hrp 二抗(稀释比 1∶5 000),室温下孵育 1 h。对膜进行化学发光检测。记录结果,计算 F-actin/G-actin(F/G)比值。

1.2.8　F-actin 荧光染色　　各组细胞融合至 50%,4%甲醛溶液室温固定 10 min。按照说明配制鬼笔环肽工作液,渗透缓冲液处理固定后的细胞。滴加 200 μL FITC 标记鬼笔环肽工作液,室温避光孵育 30 min。滴加 200 μL DAPI 染核 30 s,将盖玻片倒置在滴有防褪色液的载玻片上,指甲油封片。荧光显微镜下观察,选择 FITC 激发/发射滤片和 DAPI 激发/发射滤片。

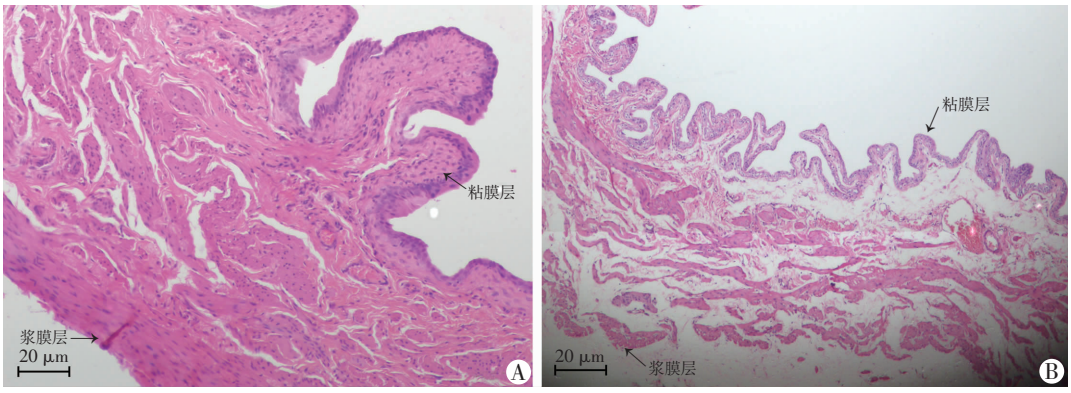
1.3　统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。两组间比较采用 Bonferroni t 检验,$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　大鼠膀胱组织病理学变化

与对照组相比,BOO 组大鼠膀胱平滑肌层明显肥厚增生,肌束间结缔组织减少,膀胱黏膜层及浆膜层增厚(图 1)。

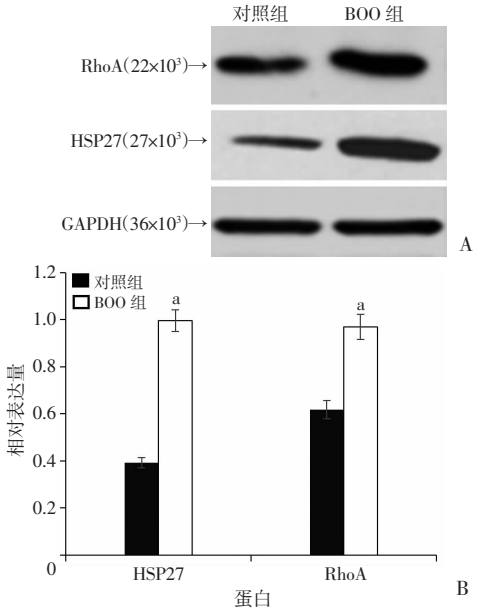


A:BOO 组;B:对照组

图 1　HE 染色观察 BOO 组及对照组大鼠膀胱组织病理学变化

2.2　大鼠膀胱组织中 HSP27 及 RhoA 的表达

结果显示,与对照组相比,模拟膀胱出口梗阻 4 周后,BOO 组大鼠膀胱平滑肌组织中 HSP27 及 RhoA 表达水平均明显增高($P<0.05$,图 2)。



A:Western blot 检测结果;B:蛋白表达半定量分析　a:$P<0.05$,与对照组比较

图 2　两组大鼠膀胱组织中 HSP27 及 RhoA 蛋白表达变化

2.3　人膀胱平滑肌细胞 HSP27 过表达及敲低模型建立

qPCR 结果显示,与转染相应空载体的对照组相比,HSP27 过表达组的 HSP27 mRNA 相对表达量显著增加(14 045.459±841.379,$P<0.001$),HSP27 敲低组的 HSP27 mRNA 相对表达量明显降低(0.176±0.001,$P<0.001$),表明成功构建 HSP27 敲低及过表达模型。

2.4　HSP27 过表达、敲低后 HSP27、p-HSP27 及 RhoA 的表达

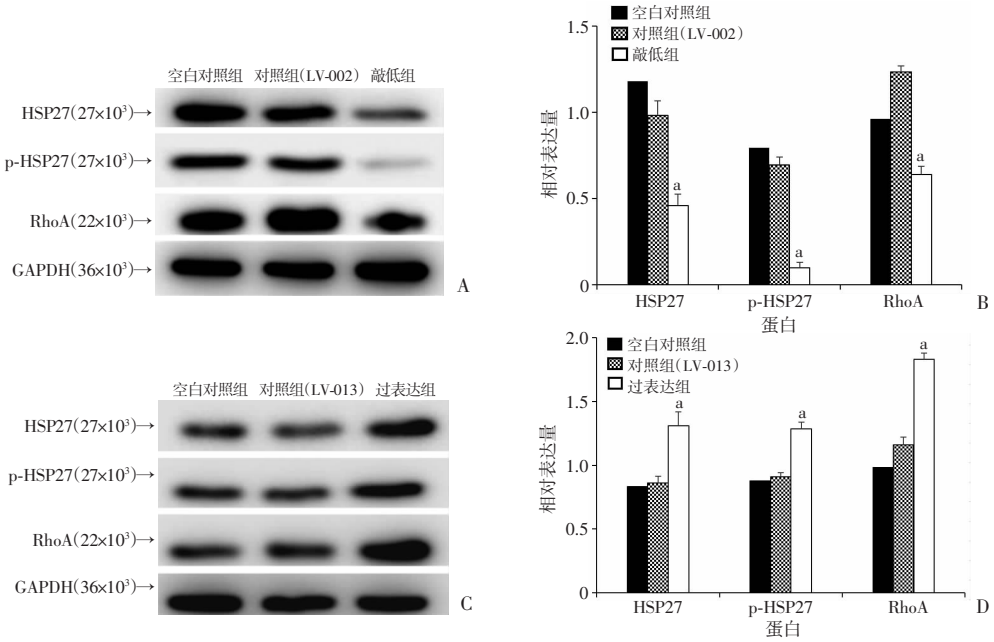
结果(图 3)显示,与对照组相比,HSP27 过表达组 HSP27、p-HSP27 及 RhoA 表达水平均上调($P<0.05$),HSP27 敲低组 HSP27、p-HSP27 及 RhoA 表达水平均下调($P<0.05$)。

2.5　HSP27 过表达、敲低后细胞 F-actin 结构变化

鬼笔环肽染色结果(图 4)可见,HSP27 敲低组平滑肌细胞内肌动蛋白丝含量较空白对照组和过表达组明显减少,荧光染色条索样结构模糊,细胞结构出现皱缩,排列较为紊乱,提示 F-actin 结构破坏;而 HSP27 过表达组 F-actin 含量明显增多且呈现肌动蛋白互相融合的表现,提示 F-actin 过度聚合增加。

2.6　HSP27 过表达、敲低后 F/G 比值变化

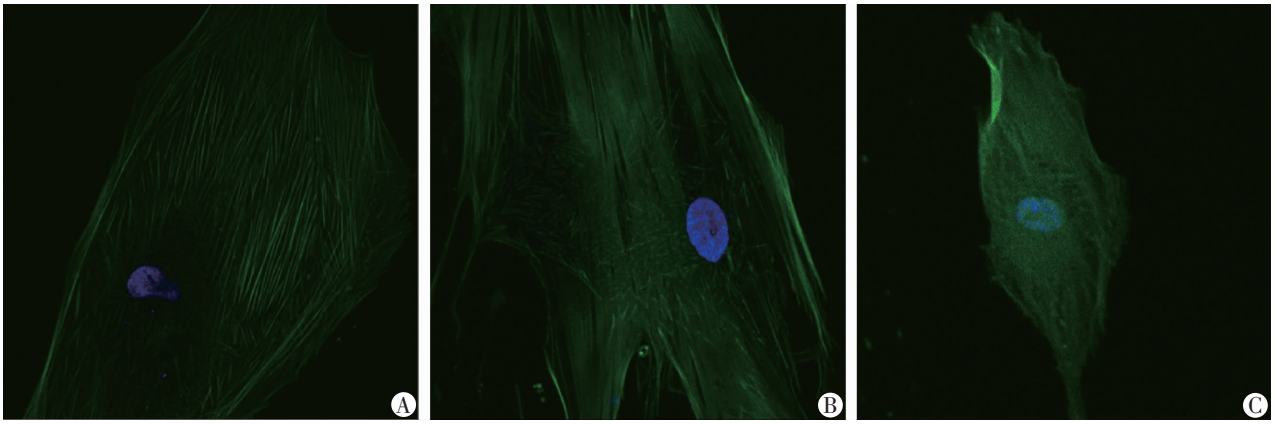
结果(图 5)显示,与空白对照组相比,HSP27 过表达组 F-actin 含量明显增高,F/G 比值升高($P<0.05$),HSP27 敲低组 G-actin 含量明显增高,F/G 比值降低($P<0.05$)。



a:$P<0.05$,与对应对照组及空白对照组比较

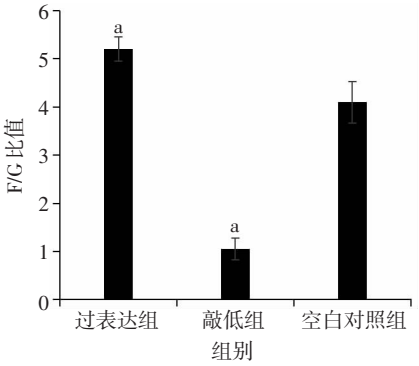
A:Western blot 检测 HSP27 敲低组、对照组(转染 LV-002 空载体)及空白对照组 HSP27、p-HSP27 及 RhoA 蛋白表达;B:HSP27 敲低组、对照组及空白对照组蛋白半定量分析;C:Western blot 检测 HSP27 过表达组、对照组(转染 LV-013 空载体)及空白对照组 HSP27、p-HSP27 及 RhoA 蛋白表达;D:HSP27 过表达组、对照组及空白对照组蛋白半定量分析

图 3　HSP27 过表达及敲低后蛋白表达变化



A:敲低组;B:空白对照组;C:过表达组

图 4 鬼笔环肽染色观察 HSP27 过表达、敲低后 F-actin 结构变化 (×400)



a:$P<0.05$,与空白对照组比较

图 5 HSP27 过表达及敲低后 F/G 比值变化

3 讨论

膀胱的主要功能(储尿与参与排尿过程)有赖于膀胱平滑肌生理性的收缩与舒张。在膀胱充盈时,膀胱平滑肌舒张并维持一定张力,排尿时,膀胱平滑肌快速收缩将尿液排出膀胱。膀胱平滑肌细胞的收缩机制与其他平滑肌类似,在电生理信号的控制下,肌动蛋白与肌球蛋白相互作用,使细胞产生收缩运动。肌动蛋白丝排列在肌球蛋白丝周围,共同组成平滑肌细胞的收缩装置。肌动蛋白丝也可作为细胞骨架的一部分,维持细胞形态并参与细胞活动。在细胞内,G-actin 以结合 ATP 的形式聚合为 F-actin,F-actin 也动态地解聚为 G-actin[9]。这种形态间的动态转换是细胞骨架形成及重构的基础,参与细胞运动、胞质分裂、胞膜运输等多种细胞过程[10-11]。在平滑肌细胞受到收缩刺激时,细胞内的 G-actin 可聚合为 F-actin,F/G 比值较舒张状态下升高。抑制肌动蛋白聚合将使平滑肌细胞收缩性降低[12]。肌动蛋白聚合/解聚的动态变化对于平滑肌细胞收缩功能具有重要意义。

Rho GTP 酶可在非活性 GDP 结合态和活性 GTP 结合态之间循环,通过多种信号通路在细胞收缩、运动、增殖、凋亡中发挥重要作用,与平滑肌相关疾病的发生发展有密切联系[13-14]。本研究发现 HSP27 过表达可导致 RhoA 表达水平升高,而干扰 HSP27 表达可引起 RhoA 表达降低,同时可观察到 G-actin 与 F-actin 水平的相应变化。既往研究表明 RhoA 可激活 Diaphanous 相关成蛋白(Diaphanous related formin,DRF)蛋白,其与肌动蛋白丝结合,抑制帽蛋白对肌动蛋白聚合的终止作用,促进肌动蛋白丝延长[15]。RhoA 亦可通过下游 ROCK 通路激活 LIMK 酶,使肌动蛋白解聚因子 cofilin 磷酸化而失去活性,从而促进 G-actin 聚合为 F-actin[16]。因此有理由推测 HSP27 可通过调控 RhoA 水平调节肌动蛋白聚合/解聚平衡。我们在之前的研究中发现膀胱出口梗阻时平滑肌细胞内 HSP27 持续升高,这将促进肌动蛋白丝的形成[4]。实际上,在对实验细胞进行鬼笔环肽染色后,也发现 HSP27 高表达的平滑肌细胞内肌动蛋白丝明显增加。然而与对照组相比,HSP27 敲低组的肌动蛋白丝排列较为杂乱,结构也有明显改变。这种膀胱平滑肌肌动蛋白的变化,一方面可能与 BOO 初期膀胱平滑肌收缩力代偿性增强有关,另一方面也可能参与膀胱平滑肌肥厚及继发性逼尿肌过度活动的形成。在 BOO 模型大鼠膀胱平滑肌中,也可检测到 HSP27 及 RhoA 蛋白水平升高。因此,综合体外实验及动物实验的结果,可认为 HSP27 可能通过磷酸化调控 RhoA 水平,引起膀胱平滑肌细胞骨架及收缩功能改变,并可能在膀胱出口梗阻后膀胱平滑肌重塑过程中发挥作用。也有研究表明在膀胱平滑肌细胞中沉默 Rac1(Rho GTP 酶家族的另一成员),亦可促进肌动蛋白丝解聚,破坏细胞骨架结构,并促进细胞凋亡,可能与膀胱过度活跃或糖尿

病相关的膀胱功能障碍有关[17],提示膀胱平滑肌结构与功能受到多种 Rho GTP 酶的调控。

下尿路梗阻导致的膀胱平滑肌重塑虽然可以代偿性增加逼尿肌收缩力,以对抗梗阻状态下的排尿阻力,但是其慢性危害不容忽视,尤其是在解除梗阻后逼尿肌过度活动的症状在临床上十分常见,包括尿频、尿急和急迫性尿失禁等,影响患者生活质量[18]。而目前临床上缺乏针对解除梗阻后膀胱平滑肌肥厚和重塑的治疗方法。因此,深入探讨膀胱重塑的分子机制,减轻逼尿肌过度活动所引起的下尿路症状是临床上亟需解决的问题。本研究探讨了 HSP27 对 RhoA 表达的影响,观察到 HSP27 的过表达和磷酸化增加可显著影响体外培养膀胱平滑肌细胞肌动蛋白结构,为下一步深入研究梗阻性膀胱平滑肌重塑的分子机制和临床治疗提供了新的切入点。

参考文献:

[1] D'ANCONA C, HAYLEN B, OELKE M, *et al*. The International Continence Society (ICS) report on the terminology for adult male lower urinary tract and pelvic floor symptoms and dysfunction[J]. Neurourol Urodyn, 2019, 38(2): 433-477. DOI:10.1002/nau.23897.

[2] FUSCO F, CRETA M, DE NUNZIO C, *et al*. Progressive bladder remodeling due to bladder outlet obstruction: a systematic review of morphological and molecular evidences in humans[J]. BMC Urol, 2018, 18(1): 15. DOI:10.1186/s12894-018-0329-4.

[3] KANNO Y, MITSUI T, KITTA T, *et al*. The inflammatory cytokine IL-1β is involved in bladder remodeling after bladder outlet obstruction in mice[J]. Neurourol Urodyn, 2016, 35(3): 377-381. DOI:10.1002/nau.22721.

[4] 王永权,沈文浩,邓建平,等. 热休克蛋白 27 在大鼠急性尿潴留膀胱中的表达及意义[J]. 局解手术学杂志, 2011, 20(2): 124-126. DOI:10.3969/j.issn.1672-5042.2011.02.005.
WANG Y Q, SHEN W H, DENG J P, *et al*. Expressions and significances of heat shock protein 27 in bladders of rats with acute urinary retention[J]. J Reg Anat Oper Surg, 2011,20(2):124-126. DOI:10.3969/j.issn.1672-5042.2011.02.005.

[5] NARUMIYA S, THUMKEO D. Rho signaling research: history, current status and future directions[J]. FEBS Lett, 2018, 592(11): 1763-1776. DOI:10.1002/1873-3468.13087.

[6] ROTTNER K, FAIX J, BOGDAN S, *et al*. Actin assembly mechanisms at a glance[J]. J Cell Sci, 2017, 130(20): 3427-3435. DOI:10.1242/jcs.206433.

[7] LEE S H, DOMINGUEZ R. Regulation of actin cytoskeleton dynamics in cells[J]. Mol Cells, 2010, 29(4): 311-325. DOI:10.1007/s10059-010-0053-8.

[8] WANG Y Q, XIONG Z Y, GONG W, *et al*. Urethral orifice hyaluronic acid injections: a novel animal model of bladder outlet obstruction[J]. BMC Urol, 2015, 15: 8. DOI:10.1186/s12894-015-0002-0.

[9] RIDLEY A J. Rho GTPases and actin dynamics in membrane protrusions and vesicle trafficking[J]. Trends Cell Biol, 2006, 16(10): 522-529. DOI:10.1016/j.tcb.2006.08.006.

[10] SCHAKS M, GIANNONE G, ROTTNER K. Actin dynamics in cell migration[J]. Essays Biochem, 2019, 63(5): 483-495. DOI:10.1042/ebc20190015.

[11] BLANCHOIN L, BOUJEMAA-PATERSKI R, SYKES C, *et al*. Actin dynamics, architecture, and mechanics in cell motility[J]. Physiol Rev, 2014, 94(1): 235-263. DOI:10.1152/physrev.00018.2013.

[12] TANG D D. Critical role of actin-associated proteins in smooth muscle contraction, cell proliferation, airway hyperresponsiveness and airway remodeling[J]. Respir Res, 2015, 16: 134. DOI:10.1186/s12931-015-0296-1.

[13] ZHANG Y, SARADNA A, RATAN R, *et al*. RhoA/Rho-kinases in asthma: from pathogenesis to therapeutic targets[J]. Clin Transl Immunology, 2020, 9(5): e01134. DOI:10.1002/cti2.1134.

[14] STRASSHEIM D, GERASIMOVSKAYA E, IRWIN D, *et al*. RhoGTPase in vascular disease[J]. Cell, 2019, 8(6): 551. DOI:10.3390/cells8060551.

[15] HIGASHIDA C, KIUCHI T, AKIBA Y, *et al*. F- and G-actin homeostasis regulates mechanosensitive actin nucleation by formins[J]. Nat Cell Biol, 2013, 15(4): 395-405. DOI:10.1038/ncb2693.

[16] DUAN X, ZHANG Y, CHEN K L, *et al*. The small GTPase RhoA regulates the LIMK1/2-cofilin pathway to modulate cytoskeletal dynamics in oocyte meiosis[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(8): 6088-6097. DOI:10.1002/jcp.26450.

[17] WANG R X, YU Q F, WANG X L, *et al*. Rac1 silencing, NSC23766 and EHT1864 reduce growth and actin organization of bladder smooth muscle cells[J]. Life Sci, 2020, 261: 118468. DOI:10.1016/j.lfs.2020.118468.

[18] OH M M, CHOI H, PARK M G, *et al*. Is there a correlation between the presence of idiopathic detrusor overactivity and the degree of bladder outlet obstruction?[J]. Urology, 2011, 77(1): 167-170. DOI:10.1016/j.urology.2010.05.034.

(收稿:2021-07-11;修回:2021-09-06)
(编辑 汪勤俭)