

文章编号 1006-8147(2019)03-0220-05

论 著

# 一步法制备携带治疗剂的树枝状大孔二氧化硅纳米粒子

郭朝阳,朱艳鹏,吴丽婷,陈 研,杨晓英

(天津医科大学药学院药物化学教研室,天津市临床药物关键技术重点实验室,天津 300070)

**摘要** 目的:通过双模板策略一步法制备携带治疗剂的树枝状大孔二氧化硅纳米粒子(DLMSNs)。方法:以十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)为模板剂,以治疗剂二茂铁甲酸(FCA)或血卟啉二盐酸盐(HP)为辅助模板剂,制备了 DLMSNs。通过透射电子显微镜(TEM)、激光粒度仪和红外光谱(FT-IR)表征了 DLMSNs 的形貌、粒径、红外吸收特征等。结果:所得 DLMSNs 具有中心径向结构,粒径小于 100 nm,单分散性好。通过调整 CTAB 与辅助模板的比例,可以很好地控制 DLMSNs 的孔径和粒径。通过选择合适的方法除掉 CTAB 后,辅助模板剂仍有一定量保留在 DLMSNs 中,并进一步发挥抗肿瘤的治疗作用。结论:该方法不仅避免了以前报道的有毒辅助模板剂的使用,而且仅以水为反应溶剂,避免了使用有毒的有机溶剂。将为 DLMSNs 的制备提供一种简单可行的方法。

**关键词** 大孔二氧化硅纳米粒子;双模板法;肿瘤治疗

中图分类号 O63

文献标志码 A

## One-step synthesis of therapeutic agent loaded dendritic large-pore mesoporous silica nanoparticles

GUO Zhao-yang, ZHU Yan-peng, WU Li-ting, CHEN Yan, YANG Xiao-ying

(Department of Medicinal chemistry, School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics(Theranostics), Tianjin 300070, China)

**Abstract Objective:** To prepare one-step synthesis of therapeutic agent loaded dendritic large-pore mesoporous silica nanoparticles (DLMSNs) via dual-templating strategy. **Methods:** DLMSNs were prepared by using cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) as templates and therapeutic agents as auxiliary templates in this study. The morphology, particle size and infrared absorption of DLMSNs were characterized by transmission electron microscopy (TEM), laser particle size analyzer and Fourier transform infrared spectra (FT-IR). **Results:** The obtained DLMSNs showed a central-radial structure with the size below 100 nm and excellent monodispersity. The pore size and particle size of DLMSNs were well controlled by adjusting the ratio of CTAB to auxiliary templates. Importantly, the auxiliary templates remained in DLMSNs after removing CTAB by choosing the appropriate treatment, indicating a therapeutic effect in tumor therapy. **Conclusion:** This method not only avoids using the toxic auxiliary templates reported previously, but also averts the toxic organic solvent by only using aqueous solution as reaction condition. The study will provide a simple and feasible way to prepare the DLMSNs for biomedical application.

**Key words** large-pore mesoporous silica nanoparticles; dual-templating method; tumor therapy

介孔硅在生物医药领域的应用一直是研究热点,主要包括生物成像、药物传递、无机纳米粒子相关的肿瘤联合治疗等<sup>[1-4]</sup>, Si-O 可以在体内降解,被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准认为是生物安全的<sup>[5]</sup>。然而普通介孔硅由于较小的孔道结构,只能携带粒径小于 2 nm 的分子,并且很容易被堵塞<sup>[6]</sup>。自从 Polshettiwar 等<sup>[7]</sup>在 2010 年报道具有树枝状孔的大孔介孔二氧化硅纳米粒子(dendritic large-pore mesoporous silica nanoparticles, DLMSNs),这种新型 DLMSNs 的制备

方法及其在生物医药领域的应用受到了极大的关注。相比普通介孔二氧化硅纳米粒子(mesoporous silica nanoparticles, MSNs), DLMSNs 能够更好地携带空间位阻较大的分子如光敏剂、蛋白质、酶、抗体和核酸等,其具有从内到外逐渐增大的中心放射状大孔道结构、高比表面积、可控的孔径和孔体积、可控的粒径、更好的人胞性能和更好的生物可降解性,使其成为用于肿瘤联合治疗的理想材料<sup>[8-12]</sup>。

DLMSNs 的制备目前主要有两种方法,即双乳液法<sup>[5,7,12-15]</sup>和双模板法<sup>[16]</sup>。目前报道的 DLMSNs 制备均是采用有毒的有机溶剂或有毒的辅助模板剂,并且在后处理过程中很难除净,因而不利于其生物应用,粒径小于 100 nm、DLMSNs 的大规模绿色合成对于其在生物医药领域的应用极其重要。笔者最近

基金项目 天津市自然科学基金资助项目(17JCQNJC14100);中国博士后科学基金资助项目(2016M590208)

作者简介 郭朝阳(1993-),女,硕士在读,研究方向:药剂学;通信作者:杨晓英, E-mail: yangxiaoying@tmu.edu.cn。

在 Yu 课题组工作的启发下,发现一些在碱性条件下具有负电性和一定疏水结构的治疗剂分子可以作为辅助模板剂,可以制备粒径可控的、单分散的、孔径可控的 DLMSNs<sup>[17]</sup>。本课题以十六烷基三甲基溴化铵(hexadecyl trimethyl ammonium bromide,CTAB)为模板剂,分别以二茂铁甲酸(ferrocenecarboxylic acid, FCA)和血卟啉二盐酸盐(hematoporphyrin dihydrochloride, HP)为辅助模板剂,以三乙醇胺(tri ethanolamine, TEA)为催化剂,以水为溶剂,制备了粒径小于 100 nm,孔径可控的 DLMSNs。通过选择合适的方法,在除掉模板剂 CTAB 后,仍保留了一定量的治疗剂 FCA 和 HP,并发挥了潜在的抗肿瘤作用。

## 1 材料与方法

1.1 试剂 CTAB(西格玛奥德里奇贸易有限公司),原硅酸四乙酯(天津希恩思生化科技有限公司),FCA(天津希恩思生化科技有限公司),HP(天津希恩思生化科技有限公司),TEA(天津凯密欧化学试剂有限公司),硝酸铵(艾览(上海)化工科技有限公司),氯化钠(天津市风船化学试剂科技有限公司),无水乙醇(分析纯,天津风船化学试剂科技有限公司),无水甲醇(天津凯密欧化学试剂有限公司),超纯水(自制)。

1.2 仪器 透射电子显微镜(日立 HT7700), ASAP2020 物理吸附仪,傅立叶变换红外光谱仪(Bruker, Tensor 27),动态激光粒度分析仪(Malvern, Zetasizer Nano ZS),电感耦合等离子发射光谱仪(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)(Thermo Electron Corporation, X7),633 nm 近红外激光器,生物学 X-ray 辐照仪(RadSource, RS2000Pro)。

### 1.3 方法

1.3.1 DLMSNs 的合成 DLMSNs 的合成方法如下:首先,在 50 mL 两颈圆底烧瓶中,加入 0.4 g TEA 和 20 mL 超纯水,在 80 °C 油浴的回流条件下,500 r/min 搅拌反应 30 min,然后加入 0.304 g CTAB,继续搅拌 1 h 后,加入一定数量的辅助模板剂 FCA 或 HP,保持温度和搅拌速度不变,继续反应 3 h,最后加入 3.2 mL 原硅酸四乙酯,反应 30 min,终止反应。产物经离心(15 500 r/min, 20 min)获得,用乙醇洗 2 次,除去残留反应物。在本实验中将 CTAB 和辅助模板剂 FCA 或 HP 的质量比设置了 3 个比例,分别是 1:0.1、1:0.2 和 1:0.3。以 FCA 为辅助模板剂得到的产品,根据 CTAB 与 FCA 质量比不同,分别定义为 DLMSNs-FCA(1:0.1)、DLMSNs-FCA(1:0.2)和 DLMSNs-FCA

(1:0.3),以 HP 为辅助模板剂得到的产品,分别定义为 DLMSNs-HP(1:0.1)、DLMSNs-HP(1:0.2)和 DLMSNs-HP(1:0.3)。

为了使 DLMSNs 保留一定量的治疗剂 FCA 和 HP,我们根据 FCA 和 HP 不同的物理化学性质采用不同除模板剂 CTAB 的方法。对于 DLMSNs-FCA,采用 10 wt% 硝酸铵乙醇溶液,在 80 °C 油浴回流 6 h,重复 3 次<sup>[18]</sup>。对于 DLMSNs-HP,采用 1 wt% 氯化钠甲醇溶液,常温搅拌 3 h,重复 3 次<sup>[19]</sup>。

1.3.2 FCA 和 HP 含量测定 采用 ICP-MS 法测定了各种 DLMSNs-FCA 中的 FCA 含量。对于不同 DLMSNs-HP 中 HP 的含量测定,先用氢氟酸将其溶蚀,然后测定残余物质在甲醇中的紫外吸光度值,代入 HP 紫外标准曲线中得出 HP 的含量。

1.3.3 DLMSNs-FCA 的  $^1\text{O}_2$  量子产率 采用氧化敏感染料 2,7-二氯二氢荧光素二乙酸酯(DCFH-DA)检测活性氧  $^1\text{O}_2$  水平<sup>[20]</sup>。DCFH 是一个不稳定的化合物,其不能存储,实验使用的 DCFH 溶液是将 DCFH-DA 溶液 15  $\mu\text{L}$  (20 mmol) 与 NaOH 溶液 1 200  $\mu\text{L}$  (10 mmol)混合 30 min 得到的。然后,加入 4.8 mL 1×PBS 备用。为测定 DLMSNs-FCA(1:0.3)在 X 射线照射下产生的 ROS 水平,将 100  $\mu\text{L}$  DLMSNs-FCA(1:0.3)水溶液按照 FCA 浓度分别为 0.5、1、1.5、2 mmol 配置,分别与上述制备的 DCFH 溶液 100  $\mu\text{L}$  混合。然后用 X 射线照射混合物,照射剂量分别为 0、4 和 8 Gy。用荧光分光光度计测定了 DCFH 的荧光强度,激发波长为 488 nm。

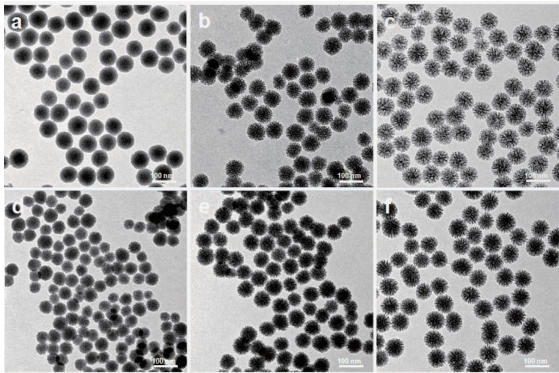
1.3.4 DLMSNs-HP 的  $^1\text{O}_2$  量子产率 采用氧化敏感染料 DCFH-DA 检测活性氧  $^1\text{O}_2$  水平<sup>[20]</sup>。实验使用的 DCFH 溶液是将 DCFH-DA 溶液 5  $\mu\text{L}$  (20 mmol) 与 NaOH 溶液 400  $\mu\text{L}$  (10 mmol)混合 30 min,加入 2 mL 1×PBS 备用。为测定 DLMSNs-HP(1:0.3)在激光照射下产生的 ROS 水平,以未携载 HP 的 DLMSNs 和游离 HP 为对照,将 100  $\mu\text{L}$  DLMSNs-HP(1:0.3)按照 DLMSNs-HP 浓度分别为 24、48 和 72 mg/mL 配置,然后分别与上述制备的 DCFH 溶液 100  $\mu\text{L}$  混合。将混合物在 633 nm、300 mW/cm<sup>2</sup> 激光下照射 5 min。用荧光分光光度计测定了 DCFH 的荧光强度,激发波长为 488 nm。

## 2 结果

2.1 TEM 表征 如图 1 所示,笔者利用透射电子显微镜(transmission electron microscope,TEM)对制备的各种 DLMSNs-FCA 和 DLMSNs-HP 进行了表征。从图片中可以看出合成的纳米粒子均为具有树枝状孔的球形结构,粒径大小均一,并且分散性良

好。随着辅助模板剂 FCA 或 HP 用量的增大,相应的 DLMSNs 粒径从 60 nm 增大至 80 nm, 孔径也逐渐增大。

2.2 水力直径和氮气吸附脱附表征 如表 1 所示, 用激光粒度分析仪测定的各种 DLMSNs 的水力直径( $D_h$ )比 TEM 图片中所得相应的 DLMSNs 的平均粒径( $D_n$ )大,并且也随着 FCA 或 HP 用量的增加而增大,多分散指数(polydispersity, PDI)均小于 0.125 (表 1),表明纳米粒子分散性良好。各种 DLMSNs 的 BET 比表面积( $S_{BET}$ )较大,分别在 700~800  $m^2/g$  之间。孔径也随着 FCA 或 HP 用量的增加而增大。



a.DLMSNs-FCA(1:0.1);b.DLMSNs-FCA(1:0.2);c.DLMSNs-FCA(1:0.3);  
d.DLMSNs-HP(1:0.1);e. DLMSNs-HP(1:0.2);f.DLMSNs-HP(1:0.3)

图 1 TEM 图片  
Fig 1 TEM images

表 1 不同 DLMSNs-FCA 和 DLMSNs-HP 的  $D_h$ ,PDI, $S_{BET}$  和孔径  
Tab 1  $D_h$ , PDI,  $S_{BET}$  and pore diameters of different DLMSNs-FCA  
and DLMSNs-HP

样品	$D_h/nm$	$D_n/nm$	PDI	$S_{BET}/(m^2/g)$	孔径/nm
DLMSNs-FCA(1:0.1)	90	65	0.112	784.6	7.1
DLMSNs-FCA(1:0.2)	118	74	0.077	793.7	9.0
DLMSNs-FCA(1:0.3)	156	80	0.076	808.7	10.2
DLMSNs-HP(1:0.1)	108	67	0.125	752.2	6.6
DLMSNs-HP(1:0.2)	126	70	0.025	774.0	7.1
DLMSNs-HP(1:0.3)	156	78	0.088	796.7	8.3

2.3 FT-IR 检测 本实验中合成的各个比例的 DLMSNs-FCA 和 DLMSNs-HP 的红外光谱(fourier transform infrared spectrometer, FT-IR)光谱图如图 2 所示。从 FT-IR 光谱上可以看出,所有除掉CTAB 之后的 DLMSNs 在 2 925  $cm^{-1}$ 、2 854  $cm^{-1}$  和 1 473  $cm^{-1}$  左右均没有 C-H 的特征峰,表明采用的萃取工艺完全去除了表面活性剂 CTAB。

2.4 FCA 含量和 DLMSNs-FCA 的  $^1O_2$  量子产率 采用 ICP-MS 法测定了各种 DLMSNs-FCA 中的 FCA 含量,如图 3 所示,不同 DLMSNs 中的 FCA 含量随 FCA 与 CTAB 质量比的增加而增加。DLMSNs-

FCA 溶液经 X 射线辐射后,其产生的 ROS 水平不仅与 FCA 浓度成正相关,也随辐射强度增大而升高。

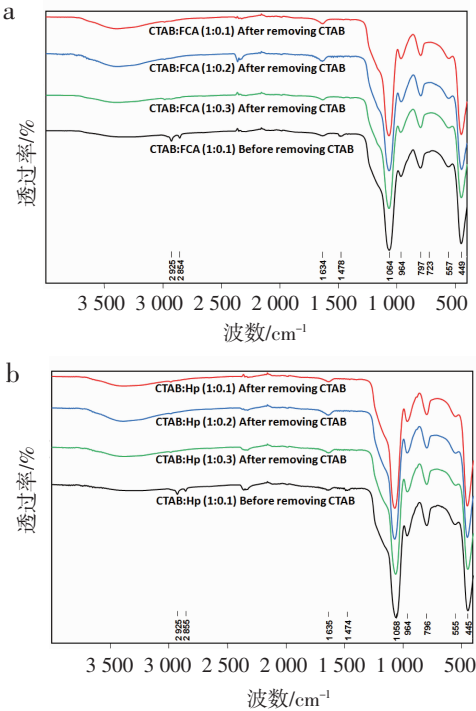


图 2 除掉 CTAB 前后的 DLMSNs-FCA(a)和 DLMSNs-HP(b)的 FT-IR 光谱图

Fig 2 FT-IR spectra of DLMSNs-FCA (a) and DLMSNs-HP (b) before and after removing CTAB, respectively

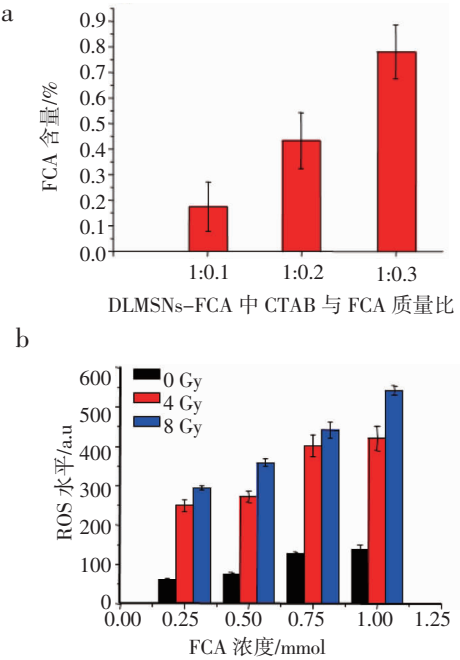


图 3 不同 DLMSN-FCA 中 FCA 的含量(a),DLMSNs-FCA(1:0.3) 溶液在不同浓度下,分别照射 0,4 和 8 Gy X 射线后产生的 ROS 水平(b)

Fig 3 The FCA content remained in different DLMSNs-FCA (a) and ROS level of DLMSNs-FCA (1:0.3) solution at different FCA concentrations at exposure of 0, 4 and 8 Gy radiations, respectively (b)



2.5 HP含量和DLMSNs-HP的 $^1\text{O}_2$ 量子产率 如图4所示,不同DLMSNs中的HP含量随HP与CTAB质量比的增加而增加。与对照组相比,DLMSNs-HP经激光照射后活性氧产量更高,性质更稳定。

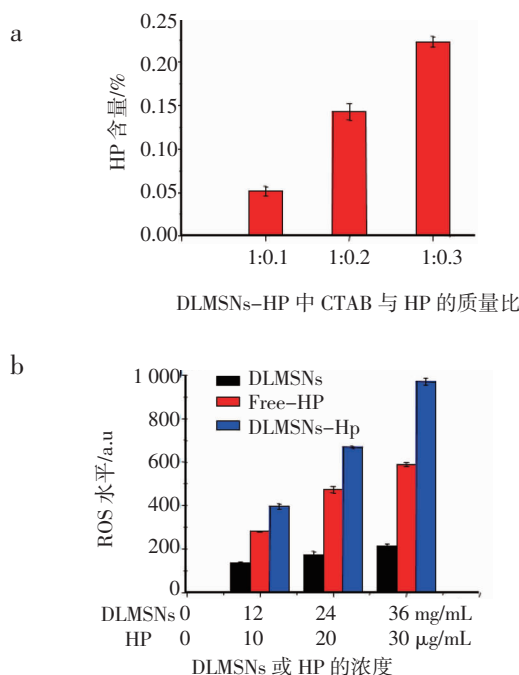


图4 不同DLMSNs-HP中HP含量(a),DLMSNs-HP(1:0.3)的溶液、无HP的DLMSNs溶液和游离HP溶液不同浓度下,在633 nm激光器2 W/cm<sup>2</sup>强度下照射5 min的ROS水平(b)

Fig 4 The HP content remained in different DLMSNs-HP (a) and ROS level of Free HP, DLMSNs without HP and DLMSNs-HP (1:0.3) solution at different concentrations at exposure of 633 nm laser irradiation at 2 W/cm<sup>2</sup> for 5 min (b)

### 3 讨论

单分散DLMSNs特别是粒径在200 nm以下的具有中心径向孔道结构的DLMSNs,被发现可以应用于药物、基因、蛋白质、显像剂传递、生物传感器等生物医药领域。到目前为止,DLMSNs的合成方法已经得到了很大的发展。DLMSNs的制备目前主要有两种方法,即双乳液法和双模板法。一般双模板法中使用的辅助模板剂没有实际应用的意义,有些甚至具有生物毒性,本实验中采用放疗增敏剂FCA和光敏剂HP为辅助模板剂,根据FCA和HP的化学性质采用不同的去除CTAB模板剂的方法,保留一定量的FCA<sup>[21]</sup>和HP<sup>[22]</sup>,达到一步制备携载治疗剂DLMSNs的目的。在实验中设置3种不同的CTAB和辅助模板剂的比例,结果发现,随着辅助模板剂用量的增大,两种模板剂组装后的胶束越大,最终形成的孔径和粒径也会增大,这与已有报道相一致,可以通过调节两种模板剂的比例调节孔径。

本实验中采用TEA作为碱性催化剂,其不仅可以作为催化剂控制二氧化硅分子前驱体的水解和缩合速率,得到粒径小于100 nm的颗粒,而且为改善辅助模板在水溶液中的溶解性提供了基本条件。用激光粒度分析仪测定的不同DLMSNs的 $D_h$ 均比TEM图片中各步所得产物的平均粒径大,这是由于DLMSNs表面含有羟基,亲水的纳米粒子在水溶液中处于粘连和高度溶胀的状态。

在去除模板剂CTAB方法的选择上,因为FCA在酸性乙醇溶液中的溶解度差,但对CTAB的去除没有影响,故选择硝酸铵的乙醇溶液去除CTAB。但是对于HP,其在甲醇中溶解性很好,加热会增大在甲醇中的溶解度,故采用1 wt%的氯化钠甲醇溶液在常温下去除CTAB。这两种去除CTAB的方法在文献中均有报道,实验结果也证明笔者采用的方法可以较好地除掉CTAB。根据实验结果,随着FCA或HP与CTAB质量比的增加,其辅助模板剂在DLMSNs中的含量也会增加。通过DLMSNs-FCA和DLMSNs-HP在X射线或激光照射下产生的 $^1\text{O}_2$ 水平的检测结果表明,本实验成功地通过一步法制备了携载治疗剂的DLMSNs。

在本课题中,笔者提供了一种方法,利用辅助模板剂与CTAB的相互作用,一步法制备出携载治疗剂的孔径和粒径均可控的树枝状大孔硅纳米粒子,通过调整辅助模板剂与CTAB的比例不仅可以改变大孔硅的孔径,还可以改变大孔硅纳米粒子的粒径。该方法为制备携载高空间位阻且不需释放的治疗剂分子的DLMSNs提供了简单可行的途径。

#### 参考文献:

- [1] Viveroescoto J L, Slowing I I, Trewyn B G, et al. Mesoporous silica Nanoparticles for intracellular controlled drug delivery [J]. Small, 2010, 6(18):1952
- [2] Wu S H, Hung Y, Mou C Y. Mesoporous silica nanoparticles as nanocarriers[J]. Chem Commun, 2011, 47(36): 9972
- [3] Du X, He J. Spherical silica micro/nanomaterials with hierarchical structures: Synthesis and applications[J]. Nanoscale, 2011, 3(10):3984
- [4] Du X, Qiao S Z. Dendritic silica particles with center-radial pore channels:promising platforms for catalysis and biomedical applications[J]. Small, 2015, 11(4):392
- [5] Shen D, Yang J, Li X, et al. Biphasic stratification approach to three-dimensional dendritic biodegradable mesoporous silica nanospheres[J]. Nano Lett, 2014, 14(2):923
- [6] Singh R, Bapat R, Qin L, et al. Atomic layer deposited (ALD) TiO<sub>2</sub> on fibrous nano-silica (KCC-1) for photocatalysis: nanoparticle formation and size quantization effect[J]. ACS Catal, 2016, 6(5):2770
- [7] Polshettiwar V, Cha D, Zhang X X, et al. High-surface-area silica nanospheres(KCC-1) with a fibrous morphology[J]. Angew Chem Int Edit, 2010, 49(50): 9652

- [8] Du X, Shi B, Tang Y, et al. Label-free dendrimer-like silica nanohybrids for traceable and controlled gene delivery[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(21): 5580
- [9] Tao C, Zhu Y, Xu Y, et al. Mesoporous silica nanoparticles for enhancing the delivery efficiency of immunostimulatory DNA drugs[J]. *Dalton T*, 2014, 43(13): 5142
- [10] Zhang Y, Zhi Z, Jiang T, et al. Spherical mesoporous silica nanoparticles for loading and release of the poorly water-soluble drug telmisartan[J]. *J Control Release*, 2010, 145(3): 257
- [11] Yu K, Zhang X, Tong H, et al. Synthesis of fibrous monodisperse core-shell Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>/KCC-1[J]. *Mater Lett*, 2013, 106(9):151
- [12] Nandiyanto A B D. Synthesis of spherical mesoporous silica nanoparticles with nanometer-size controllable pores and outer diameters[J]. *Micropor Mesopor Mat*, 2009, 120(3): 447
- [13] Yue Q, Li J, Luo W, et al. An interface coassembly in biliquid phase: toward core-shell magnetic mesoporous silica microspheres with tunable pore size[J]. *J Am Chem Soc*, 2015, 137(41):13282
- [14] Shen D K, Chen L, Yang J P, et al. Ultradispersed palladium nanoparticles in three-dimensional dendritic mesoporous silica nanospheres: toward active and stable heterogeneous catalysts[J]. *ACS Appl Mater Inter*, 2015, 7(31):17450
- [15] Yang J, Shen D, Wei Y, et al. Monodisperse core-shell structured magnetic mesoporous aluminosilicate nanospheres with large dendritic mesochannels[J]. *Nano Res*, 2015, 8(8): 2503
- [16] Zhang K, Xu L, Jiang J, et al. Facile large-scale synthesis of monodisperse mesoporous silica nanospheres with tunable pore structure[J]. *J Am Chem Soc*, 2013, 135(7): 2427
- [17] Yang Y, Bernardi S, Song H, et al. Anion assisted synthesis of large pore dendritic hollow mesoporous organosilica nanoparticles: understanding the composition gradient[J]. *Chem Mater*, 2016, 28(3): 704
- [18] Niedermayer S, Weiss V, Herrmann A, et al. Multifunctional polymer-capped mesoporous silica nanoparticles for pH-responsive targeted drug delivery[J]. *Nanoscale*, 2015, 7(17): 7953
- [19] Pan L, He Q, Liu J, et al. Nuclear-targeted drug delivery of TAT peptide-conjugated monodisperse mesoporous silica nanoparticles[J]. *J Am Chem Soc*, 2012, 134(13): 5722
- [20] Huang C, Chu C, Wang X, et al. Ultra-high loading of sinoporphyrin sodium in ferritin for single-wave motivated photothermal and photodynamic co-therapy[J]. *Biomater Sci*, 2017, 5(8): 1512
- [21] Tian J, Chen J, Ge C, et al. Synthesis of PEGylated ferrocene nanoconjugates as the radiosensitizer of cancer cells[J]. *Bioconjug Chem*, 2016, 27(6):1518
- [22] Wang P, Tang H, Zhang P. Highly efficient and biocompatible nanoparticle-based photosensitizer for treatment of acne vulgaris[J]. *Nanomedicine*, 2018, 13(20): 26

(2018-12-20 收稿)

(上接第 209 页)

- [17] Genevet A, Tapon N. The Hippo pathway and apico-basal cell polarity[J]. *Biochem J*, 2011, 436(2): 213
- [18] Narimatsu M, Labibi B, Wrana J L, et al. Analysis of Hippo and TGF $\beta$  signaling in polarizing epithelial cells and mouse embryos[J]. *Differentiation*, 2016, 91(4/5): 109
- [19] Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(3): 178
- [20] Uemura M, Swenson E S, Gaca M D, et al. Smad2 and Smad3 play different roles in rat hepatic stellate cell function and  $\alpha$ -smooth muscle actin organization[J]. *Mol Biol Cell*, 2005, 16(9): 4214
- [21] 房勃龙, 韩鸿玲, 张鹏, 等. TGF- $\beta$ 、Smad 信号通路蛋白及  $\alpha$ -SMA 在糖尿病肾病患者肾组织中的表达和意义[J]. *天津医药*, 2013, 41(11): 1067
- [22] Wieser R, Wrana J L, Massague J. GS domain mutations that constitutively activate T $\beta$ R-I, the downstream signaling component in the TGF- $\beta$  receptor complex[J]. *EMBO J*, 1995, 14(10): 2199
- [23] Hermann A, Wennmann D O, Gromnitsa S, et al. WW and C2 domain-containing proteins regulate hepatic cell differentiation and tumorigenesis through the hippo signaling pathway[J]. *Hepatology*, 2018, 67(4): 1546
- [24] Xu J, Li P X, Wu J, et al. Involvement of the Hippo pathway in regeneration and fibrogenesis after ischaemic acute kidney injury: YAP is the key effector[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2016, 130(5): 349
- [25] Hirate Y, Hirahara S, Inoue K, et al. Polarity-dependent distribution of angiomin localizes Hippo signaling in preimplantation embryos[J]. *Curr Biol*, 2013, 23(13): 1181
- [26] Aragona M, Panciera T, Manfrin A, et al. A mechanical checkpoint controls multicellular growth through YAP/TAZ regulation by actin-processing factors[J]. *Cell*, 2013, 154(5):1047

(2018-10-16 收稿)