

· 基础研究 ·

miR-200c 改善转化生长因子-β1 诱导的肾小管上皮细胞纤维化的机制

王争,裴小华,赵卫红*

(南京医科大学第一附属医院老年肾科,江苏省老年医学重点实验室,南京 210029)

【摘要】 目的 探讨 miR-200c 是否通过调节自噬缓解转化生长因子-β1 (TGF-β1) 诱导的肾小管上皮细胞纤维化。**方法** 不同浓度(0、5、10、15、20、30 ng/ml) TGF-β1 刺激 HK2 细胞 48 h 后倒置显微镜下观察细胞形态, CCK-8 检测细胞增殖情况。选择致 HK2 细胞增殖最快的 TGF-β1 浓度(c)进行转染实验;细胞转染 40 nmol/L 无意义序列 RNA (NC 组);细胞转染 40 nmol/L 无意义序列 RNA 后 c 浓度 TGF-β1 处理细胞 48 h (NC + T 组);细胞转染 40 nmol/L miR-200c mimics (M 组);细胞转染 40 nmol/L miR-200c mimics 后 c 浓度 TGF-β1 处理细胞 48 h (M + T 组)。qRT-PCR 检测 miR-200c 转染效率。Western blotting 检测 4 组细胞 Smad 通路蛋白 Smad2 和 Smad3、α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA)、钙黏蛋白(E-cad)表达量,以及自噬相关蛋白 LC3 (包括 LC3 II / LC3 I 比值)和 P62。**结果** 10 ng/ml 的 TGF-β1 刺激 HK2 细胞 48 h 后增殖最快,镜下细胞形态由正常的卵圆形铺路石状变为长梭形,纤维化形态最明显。qRT-PCR 显示 M 组 miR-200c 表达量是 NC 组 (212.42 ± 12.25) 倍 ($t = 24.41$, $P = 0.000$),说明转染有效。Western blotting 结果显示,与 NC 组比较,NC + T 组加入 10 ng/ml TGF-β1 的 HK2 细胞 Smad2、Smad3 和 α-SMA 表达量增加,E-cad 蛋白表达量降低 ($P < 0.05$)。与 NC + T 组比较,M + T 组 Smad2、Smad3 和 α-SMA 表达量减少,E-cad 表达量增加 ($P < 0.05$),提示 miR-200c 表达增加抑制了纤维化。进一步发现,M 组较 NC 组的 LC3- II / LC3- I 表达水平增加,P62 表达水平降低,提示自噬活性增加;M + T 组较 NC + T 组 LC3- II / LC3- I 表达水平增加,P62 表达水平降低,提示 miR-200c 表达升高缓解了纤维化程度。**结论** miR-200c 可能通过激活细胞自噬缓解 TGF-β1 诱导的肾小管上皮细胞纤维化。**【关键词】** miR-200c;自噬;转化生长因子-β1;纤维化**【中图分类号】** R692.1 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2020.08.143

Mechanism of miR-200c in alleviating fibrosis in renal tubular epithelial cells induced by transforming growth factor-β1

WANG Zheng, PEI Xiao-Hua, ZHAO Wei-Hong*

(Department of Geriatric Nephrology, First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Jiangsu Provincial Key Laboratory of Geriatrics, Nanjing 210029, China)

【Abstract】 Objective To investigate whether miR-200c can alleviate fibrosis in renal tubular epithelial cells induced by transforming growth factor-β1 (TGF-β1-induced) *via* the regulation of autophagy. **Methods** HK2 cells were stimulated with TGF-β1 at different concentrations (0, 5, 10, 15, 20, 30 ng/ml) for 48 h, the cell morphology was observed under an inverted microscope, and the cell proliferation was detected by CCK-8. The concentration (c) of TGF-β1, which induced the most rapid proliferation of HK2 cells, was selected for transfection. The cells were transfected with 40 nmol/L nonsense RNA (NC group), being treated with 40 nmol/L nonsense RNA (NC + T group) for 48 h, with 40 nmol/L miR-200c mimics (M group), and with 40 nmol/L miR-200c mimics (M + T group). qRT-PCR was used to detect the transfection efficiency of mir-200c. Western blotting was used to detect the expression of Smad pathway protein Smad2 and Smad3, α-smooth muscle actin(α-SMA), E-cadherin (E-cad), autophagy-related protein LC3 and p62. **Results** HK2 cells stimulated by TGF-β1 at 10 ng/ml proliferated the fastest 48 h later. Microscopic morphology of HK2 cells changed from normal oval paving stone to long fusiform with the most obvious fibrosis. qRT-PCR showed that the expression of miR-200c in group M was (212.42 ± 12.25) times higher than that in group NC ($t = 24.41$, $P = 0.000$), indicating that the transfection was effective. Western blotting showed that expression of Smad2, Smad3 and α-SMA in HK2 cells in NC + T group increased and E-cad protein expression decreased compared with NC group ($P < 0.05$). Compared with NC + T group, the expression of Smad2, Smad3

and α -SMA in M+T group decreased, and the expression of E-cad increased ($P<0.05$), suggesting that the increase of miR-200c expression inhibited fibrosis. It was further found that the expression of LC3-II/LC3-I in M group was higher than that in NC group, and the expression of p62 was lower, suggesting increased autophagy; the expression of LC3-II/LC3-I in M+T group was higher than that in NC+T group, and the expression of p62 was lower, suggesting that the increased expression of miR-200c alleviated fibrosis.

Conclusion miR-200c may alleviate TGF- β 1-induced renal tubular epithelial fibrosis by activating autophagy.

【Key words】 miR-200c; autophagy; transforming growth factor- β 1; fibrosis

This work was supported by National Natural Science Foundation of China (H0511-81670677), Jiangsu Provincial Key Medical Discipline Program (ZDXKA2016003), Jiangsu Provincial Key Medical Talents Program (ZDRCA2016021) and Jiangsu Provincial Cadres Health Care Research Program (BJ17018, BJ16016).

Corresponding author: ZHAO Wei-Hong, E-mail: zhaowei hongny@njmu.edu.cn

近年来,慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)的患病率逐年增高,已成为一个重大的公共卫生问题^[1]。其中,肾小管间质纤维化是CKD进展至终末期肾病的关键过程。微小RNA(miRNA, miR)是一类内源性短链(21~25个核苷酸)非编码RNA,可以在转录后水平负向调控mRNA,抑制转录,广泛参与肾脏的生理和病理过程^[2]。既往研究发现,miRNA参与了自噬的调节过程,在肿瘤、衰老、纤维化等发生发展过程中发挥重要作用。微管相关蛋白-轻链3(microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3)是自噬的标记蛋白,在自噬过程中LC3-I可募集磷脂酰乙醇胺形成LC3-II,LC3-II/LC3-I比值的大小可反映自噬小体的合成情况。在miRNA家族中,miR-200c定位于染色体12p13.31上,其在多种器官纤维化中均有参与,但作用机制仍不清楚。另外,Smad蛋白是转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)诱导纤维化作用的关键细胞内效应分子,其中Smad2和Smad3具有较高的同源性,在许多细胞中都可以被TGF- β 1激活;钙黏蛋白(E-cadherin, E-cad)减少或缺失是上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的标志性变化;同时 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)的重新表达或表达水平增加说明上皮细胞形态学发生了转化。本研究以TGF- β 1刺激人肾近曲小管上皮细胞HK2,体外构建纤维化细胞模型,探索miR-200c对小管细胞中自噬变化的调节,为延缓肾小管间质纤维化提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

人肾脏近曲小管上皮细胞HK-2(ATCC,美国),DMEM/F12培养基、胎牛血清(Gibco,美国),TGF- β 1(Peprotech,美国),兔抗LC3(LC3 II/I)、P62、E-cad、Smad2、Smad3、3-磷酸甘油醛脱氢酶

(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)多克隆抗体(CST,美国),兔抗 α -SMA多克隆抗体(三鹰生物技术有限公司,中国武汉),miR-200c引物、U6引物、micrON miRNA mimic、riboFECT CP转染试剂(锐博生物科技有限公司,中国广州)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 HK2细胞采用DMEM/F12培养基+10%胎牛血清,在5% CO₂、37℃完全饱和湿度的培养箱中培养,待细胞达80%~90%融合时用0.25%胰酶消化,以1:3比例传代,选择对数生长期细胞用于实验。

1.2.2 细胞形态学变化 分别在倒置显微镜下观察不同浓度(0、5、10、15、20、30 ng/ml) TGF- β 1刺激48 h后的HK2细胞形态变化,并拍照采集图片。

1.2.3 CCK8检测细胞活性 HK2细胞消化后以每孔5000个细胞接种至96孔板中,每个浓度设置5个复孔,待细胞贴壁后于含有10%胎牛血清的培养基中加入不同浓度TGF- β 1刺激HK2细胞48 h,然后每孔加入10 μ l CCK8试剂,于5% CO₂、37℃培养箱中孵育2 h,在450 nm处检测各孔吸光度 $A(A_{450nm})$ 。

1.2.4 细胞转染及分组 选择致细胞增殖最快的TGF- β 1浓度(c)制作纤维化模型。将约 4×10^5 个细胞接种于6孔板中,于培养箱内培养,细胞密度达到30%~50%融合时换无血清、无双抗培养液以备转染。按照转染试剂说明书操作,转染浓度40 nmol/L。分组:(1)细胞转染40 nmol/L无意义序列RNA(NC组);(2)细胞转染40 nmol/L无意义序列RNA后浓度为c的TGF- β 1处理细胞48 h(NC+T组);(3)细胞转染40 nmol/L miR-200c mimics(M组);(4)细胞转染40 nmol/L miR-200c mimics后浓度为c的TGF- β 1处理细胞48 h(M+T组)。

1.2.5 qRT-PCR检测转染效率 细胞处理完后,用TRIzol试剂提取总RNA,按照Bulge-LoopTM miRNA qRT-PCR Starter Kit试剂盒说明书逆转录合成cDNA, qRT-PCR定量检测。U6作为内参基因,

$2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算 miR-200c 相对表达量,以表达量升高 30 倍为转染有效。

1.2.6 Western blotting 检测蛋白表达 消化收集各组细胞,预冷 PBS 清洗 3 遍后,根据细胞量加入适量 RIPA 裂解液和蛋白酶抑制剂,冰上裂解 30 min,12 000 转/min,4℃ 离心 20 min。BCA 法测定蛋白浓度。取 5~30 μg 总蛋白进行凝胶电泳 (SDS-PAGE),然后转移蛋白至 0.22 μm 的 PVDF 膜上,5%脱脂牛奶 (TBST 配制) 室温封闭 1 h。加入 1:1 000 稀释的抗体 Smad2、Smad3、E-cadherin、α-SMA、LC3、P62 等 4℃ 孵育过夜,洗膜 (10 min×3 次)后,加入 1:10 000 的二抗 4℃ 2 h,再次洗膜 (10 min×3 次)后,显影。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。计量资料用均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示,组间比较采用 *t* 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度 TGF-β1 对 HK2 细胞形态的影响

不同浓度 (0、5、10、15、20、30 ng/ml) 的 TGF-β1 分别诱导 HK-2 细胞 48 h 后,随着 TGF-β1 浓度的增加 HK-2 细胞形态由正常的卵圆形铺路石状,逐渐呈成纤维细胞形态,即出现细胞长梭形改变。5 ng/ml 时细胞形态逐渐变化,10 及 15 ng/ml 时细胞纤维化形态明显,30 ng/ml 时细胞开始凋亡 (图 1)。

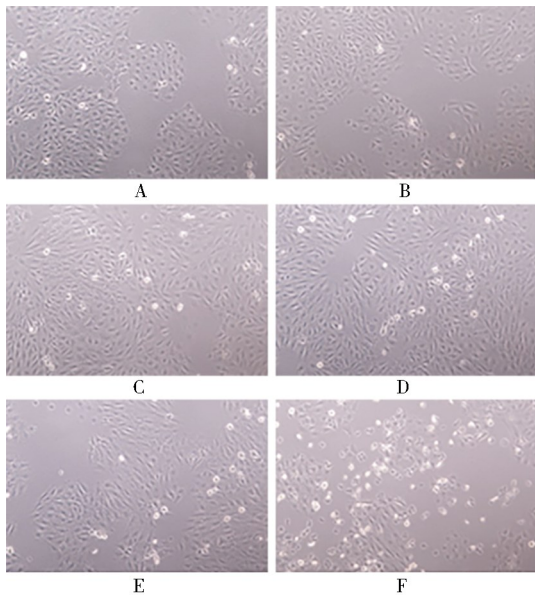


图 1 不同浓度 TGF-β1 刺激 HK2 细胞 48 h 后形态变化
Figure 1 Morphological changes of HK2 cells stimulated by different concentrations of TGF-β1 for 48 h (×100)
A: 0 ng/ml; B: 5 ng/ml; C: 10 ng/ml; D: 15 ng/ml; E: 20 ng/ml; F: 30 ng/ml. TGF-β1: transforming growth factor-β1.

2.2 不同浓度 TGF-β1 对 HK2 细胞活性的影响

CCK-8 结果显示,不同浓度 (0、5、10、15、20、30 ng/ml) TGF-β1 分别诱导 HK-2 细胞 48 h 后 A_{450nm} 分别为 1.59±0.02、1.68±0.02、1.85±0.03、1.70±0.03、1.29±0.00、1.21±0.00。TGF-β1 在 10 ng/ml 浓度时,细胞增殖最明显,与其他浓度组相比较差异有统计学意义 (*P*<0.05),结合 10、15 ng/ml 时细胞的形态改变,选择 10 ng/ml 作为刺激浓度。

2.3 转染效率检测

qRT-PCR 结果显示,转染了 miR-200c mimics 的细胞 (M 组) 中 miR-200c 的表达量是 NC 组的 (212.42±12.25) 倍 (*t*=24.41, *P*=0.000),说明转染有效。

2.4 4 组 HK2 细胞纤维化水平比较

Western blotting 结果显示,与 NC 组比较,NC + T 组加入 10 ng/ml 的 TGF-β1 刺激 HK2 细胞 48 h 后,Smad2、Smad3 和 α-SMA 蛋白表达量增加,E-cadherin 蛋白表达量降低 (*P*<0.05)。与 NC + T 组比较,M + T 组 Smad2、Smad3 和 α-SMA 蛋白表达量减少,E-cad 蛋白表达量增加 (*P*<0.05),提示 miR-200c 表达增加抑制了纤维化 (图 2)。

2.5 4 组 HK2 细胞自噬水平比较

进一步通过 Western blotting 分析发现,M 组较 NC 组的 LC3-II/LC3-I 表达水平增加,P62 表达水平降低,提示自噬活性增加。M + T 组较 NC + T 组的 LC3-II/LC3-I 表达水平增加,P62 表达水平降低,提示 miR-200c 缓解纤维化可能与增加自噬水平有关 (图 3)。

3 讨论

肾小管间质纤维化是各种慢性肾病的共同点,主要表现为细胞外基质大量沉积、炎症细胞的浸润、成纤维细胞的活化与激活、EMT 等,其中 EMT 是导致肾脏发生纤维化的重要因素^[3]。TGF-β1 作为 TGF-β 超家族的一员,是经典的致纤维化因子。本课题组前期多项研究也显示,肾小管上皮细胞在 TGF-β1 诱导下发生纤维化,磷酸化的 Smad 2/3 (p-Smad 2/3) 蛋白水平表达量增加,E-cad 在 mRNA 和蛋白水平表达量降低,α-SMA 在 mRNA 和蛋白水平表达量增加^[4-6]。TGF-β1 可将位于细胞胞质中的 Smad 2 和 Smad 3 磷酸化后转移至细胞核中调控下游基因的转录,介导 EMT 的发生^[7]。此过程中,上皮细胞标志物 E-cad 的表达减少,间质细胞标志物 α-SMA 表达增加。

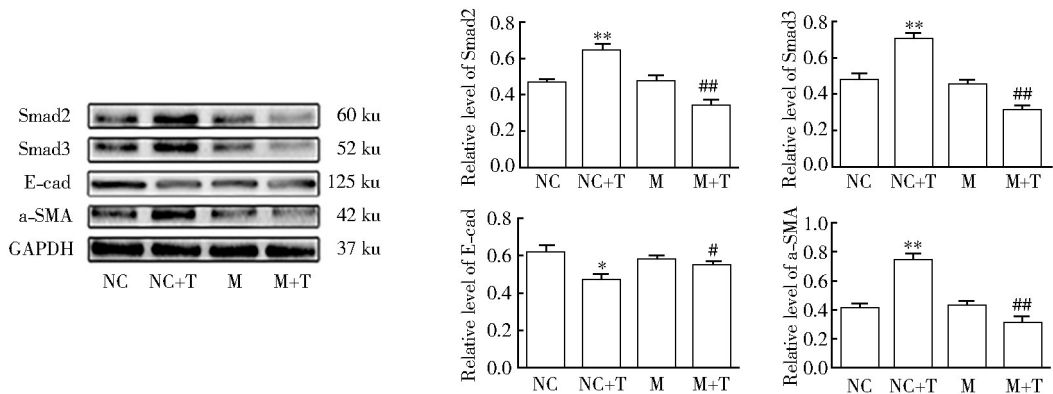


图2 转染 miR-200c mimics 后细胞纤维化标志物的表达

Figure 2 Expression of fibrosis markers after transfection of miR-200c mimics

NC: nonsense sequence group; NC + T: nonsense sequence + TGF-β1 group; M: miR-200c mimics group; M + T: miR-200c mimics + TGF-β1 group. E-cad: E-cadherin; α-SMA: α-smooth muscle actin; GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. Compared with NC group, * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$; compared with NC + T group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.001$.

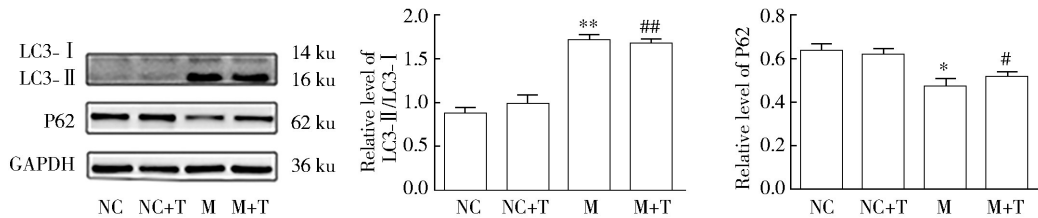


图3 转染 miR-200c mimics 后自噬相关蛋白的表达

Figure 3 Expression of autophagy-related proteins after transfection of miR-200c mimics

NC: nonsense sequence group; NC + T: nonsense sequence + TGF-β1 group; M: miR-200c mimics group; M + T: miR-200c mimics + TGF-β1 group. LC3: microtubule-associated protein 1 light chain3; GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. Compared with NC group, * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$; compared with NC + T group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.001$.

miR-200c 是 miR-200 家族的成员之一,参与肿瘤的发生、转移与侵袭,以及纤维化的发生发展。近年来研究 miR-200c 调控纤维化的机制主要分为两个方面,其一是参与 EMT 的过程,miR-200c 可以靶向调控 EMT 转录因子 ZEBs,抑制其表达水平^[8];另一方面,miR-200c 与 TGF-β/Smad 信号通路之间的相互调控是纤维化发生发展的重要机制^[9]。研究发现 miR-200c 的表达水平在特发性肺纤维化患者肺组织中下降^[10],在大鼠实验性肺纤维化组织中表达亦下调,高表达 miR-200c 后可抑制 TGF-β1 诱导的 EMT,从而逆转肺纤维化^[11]。Blahna 等^[12]研究发现在 TGF-β 的诱导下,位于 miR-200c 启动子序列上的 Smad 结合位点与 Smad3 结合,可以抑制 miR-200c 的表达。EMT 是指上皮细胞之间连接消失,细胞骨架重组,向间充质细胞转变,产生成纤维细胞,最终导致组织器官纤维化的过程。TGF-β1 是公认的致纤维化因子,主要以 TGF-β1/Smad 信号传导途径介导 EMT。miR-200c 具有抗纤维化作用。

本研究结果显示,在 TGF-β1 诱导的肾脏纤维化模型中,转染 miR-200c mimics 后,与 NC + T 组比较,Smad 2、Smad 3、α-SMA 表达水平降低,E-cadherin 表达水平增加,表明 miR-200c 可以抑制 TGF-β1 诱导的肾小管上皮细胞纤维化。

自噬 (autophagy) 是在饥饿、缺氧或应激等状态下,细胞内受损的细胞器或多余蛋白质被溶酶体降解的过程^[13]。LC3 和 P62 是监测自噬的重要标志物。Livingston 等^[14]使用 CAG-RFP-GFR-LC3 自噬报告转基因小鼠动态监测单侧输尿管梗阻 (unilateral ureteral obstruction, UUO) 模型小鼠体内自噬形成和成熟情况,结果显示 UUO 早期即可出现自噬体形成,中后期自噬保持高水平活化状态。新近的研究表明,miRNA 在自噬过程中发挥重要的调节作用。Xu 等^[15]发现 miR-326 可以靶向作用于 PTBP1 促进自噬,来缓解硅引起的肺纤维化。还有研究证明,在小鼠矽肺模型中过表达 miR-449a,可增加小鼠体内的自噬活性^[16]。然而,miR-200c 和自噬的调节

在肾纤维化中的作用机制仍不清楚。本研究中,正常 HK2 细胞转染 miR-200c mimics 后,自噬相关蛋白 LC3-II/LC3-I 表达明显增加,P62 表达降低,即 miR-200c 过表达促进了细胞自噬的发生。同时,M+T 组较 NC+T 组的细胞自噬水平增加,且 Smad2、Smad3、 α -SMA 表达水平降低,E-cadherin 表达水平增加,提示 miR-200c 过表达可能通过增加自噬水平使纤维化得到缓解。

综上所述,miR-200c 可以促进细胞自噬的发生,并且可能通过激活自噬部分缓解 TGF- β 1 诱导的肾小管上皮细胞纤维化。此实验探究了自噬与肾小管间质纤维化之间的相互作用,对寻找肾脏纤维化潜在的治疗靶点、发展新的预防措施和临床诊疗方法意义重大。

【参考文献】

[1] Ene-Iordache B, Perico N, Bikbov B *et al.* Chronic kidney disease and cardiovascular risk in six regions of the world (ISN-KD-DC): a cross-sectional study[J]. *Lancet Global Health*, 2016, 4(5): e307-e319. DOI: 10.1016/s2214-109x(16)00071-1.

[2] Ichii O, Horino T. MicroRNAs associated with the development of kidney diseases in humans and animals[J]. *J Toxicol Pathol*, 2018, 31(1): 23-34. DOI: 10.1293/tox.2017-0051.

[3] Togel F, Zhang P, Hu Z, *et al.* VEGF is a mediator of the reno-protective effects of multipotent marrow stromal cells in acute kidney injury[J]. *J Cell Mol Med*, 2009, 13(8B): 2109-2114. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2008.00641.x.

[4] He J, Wang Y, Sun S, *et al.* Bone marrow stem cells-derived microvesicles protect against renal injury in the mouse remnant kidney model[J]. *Nephrology (Carlton)*, 2012, 17(5): 493-500. DOI: 10.1111/j.1440-1797.2012.01589.x.

[5] Wang Y, Lu X, He J, *et al.* Influence of erythropoietin on microvesicles derived from mesenchymal stem cells protecting renal function of chronic kidney disease[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6: 100. DOI: 10.1186/s13287-015-0095-0.

[6] 赵亚亚, 钟成, 李悦, 等. TGF- β 1 介导的 Smad 通路在肾脏纤维化中的作用及机制[J]. *解放军预防医学杂志*, 2018, 36(4): 427-430, 458. DOI: CNKI: SUN: JYYX. 0. 2018-04-001.

Zhao YY, Zhong C, Li Y, *et al.* The role and mechanism of TGF- β 1-mediated smad pathway in renal fibrosis[J]. *J Prev Med Chin*

People's Liber Army, 2018, 36(4): 427-430, 458. DOI: 10.13704/j.cnki.jyyx.2018.04.001.

[7] Derynck R, Muthusamy BP, Saeteurn KY. Signaling pathway cooperation in TGF-beta-induced epithelial-mesenchymal transition[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2014, 31: 56-66. DOI: 10.1016/j.ceb.2014.09.001.

[8] Korpai M, Lee ES, Hu G, *et al.* The miR-200 family inhibits epithelial-mesenchymal transition and cancer cell migration by direct targeting of E-cadherin transcriptional repressors ZEB1 and ZEB2[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(22): 14910-14914. DOI: 10.1074/jbc.C800074200.

[9] Wang LY, Diao ZL, Zheng JF, *et al.* Apelin attenuates TGF-beta1-induced epithelial to mesenchymal transition *via* activation of PKC-epsilon in human renal tubular epithelial cells [J]. *Peptides*, 2017, 96: 44-52. DOI: 10.1016/j.peptides.2017.08.006.

[10] Yang G, Yang L, Wang W, *et al.* Discovery and validation of extracellular/circulating microRNAs during idiopathic pulmonary fibrosis disease progression [J]. *Gene*, 2015, 562(1): 138-144. DOI: 10.1016/j.gene.2015.02.065.

[11] Yang S, Banerjee S, de Freitas A, *et al.* Participation of miR-200 in pulmonary fibrosis[J]. *Am J Pathol*, 2012, 180(2): 484-493. DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.10.005.

[12] Blahna MT, Hata A. Smad-mediated regulation of microRNA biosynthesis[J]. *FEBS Lett*, 2012, 586(14): 1906-1912. DOI: 10.1016/j.febslet.2012.01.041.

[13] Antonioli M, Di Rienzo M, Piacentini M, *et al.* Emerging mechanisms in initiating and terminating autophagy [J]. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42(1): 28-41. DOI: 10.1016/j.tibs.2016.09.008.

[14] Livingston MJ, Ding HF, Huang S, *et al.* Persistent activation of autophagy in kidney tubular cells promotes renal interstitial fibrosis during unilateral ureteral obstruction [J]. *Autophagy*, 2016, 12(6): 976-98. DOI: 10.1080/15548627.2016.1166317.

[15] XU T, Yan W, Wu Q, *et al.* MiR-326 inhibits inflammation and promotes autophagy in Silica-induced pulmonary fibrosis through targeting TNFSF14 and PTBP1 [J]. *Chem Res Toxicol*, 2019, 32, 2192-2203. DOI: 10.1021/acs.chemrestox.9b00194.

[16] Han R, Ji X, Rong R, *et al.* MiR-449a regulates autophagy to inhibit silica-induced pulmonary fibrosis through targeting Bcl2[J]. *J Mol Med*, 2016, 94: 1267-1279. DOI: 10.1007/s00109-016-1441-0.

(编辑: 吕青远)