

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00937

## 慢性哮喘肺组织组蛋白去乙酰化酶活性降低对气道平滑肌细胞表型转变的影响

胥武剑<sup>1</sup>, 宁允叶<sup>1</sup>, 洪伟峻<sup>1</sup>, 邵艳<sup>1</sup>, 蔡在龙<sup>2</sup>, 李强<sup>1\*</sup>

1. 第二军医大学长海医院呼吸内科, 上海 200433

2. 第二军医大学长海医院中心实验室, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 探讨慢性哮喘病理生理过程中肺组织组蛋白去乙酰化酶(HDAC)活性变化趋势及其对气道平滑肌细胞表型及生物学性状的影响。**方法** 构建慢性哮喘小鼠模型,检测肺组织 HDAC 活性。以 HDAC 抑制剂曲古霉素 A(TSA)刺激体外培养的大鼠气管平滑肌及人原代支气管平滑肌细胞,采用蛋白质印迹、MTT、Transwell 及三维凝胶收缩等方法检测抑制 HDAC 活性对气道平滑肌细胞表型转变的影响及其相应的细胞增殖、迁移、收缩能力的变化。**结果** 慢性哮喘组小鼠肺组织 HDAC 活性为 $(0.371 \pm 0.054) \mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \mu\text{g})$ ,较正常对照组的 $(0.603 \pm 0.034) \mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \mu\text{g})$ 显著降低,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。TSA( $0.5 \mu\text{mol}/\text{L}$ )作用后 12~24 h,体外培养的大鼠气管平滑肌环及人支气管平滑肌细胞的  $\alpha\text{-sm-actin}$ 、SM22- $\alpha$  表达明显增加,作用后 24 h 及 48 h 支气管平滑肌细胞数目分别为 $(1.719 \pm 0.044) \times 10^4$  及  $(1.808 \pm 0.009) \times 10^4$  个,明显低于空白对照组的 $(1.911 \pm 0.048) \times 10^4$  及  $(2.537 \pm 0.01) \times 10^4$  个( $P < 0.05$ )。血小板源性生长因子(PDGF)诱导的支气管平滑肌细胞迁移数也在 TSA 作用后显著降低( $88 \pm 7.632$  vs  $52 \pm 7.5$ ,  $P < 0.05$ )。此外,TSA 作用 24 h 后的三维凝胶收缩率 $[9.885 \pm 7.084]\%$ 较空白对照组 $[44.844 \pm 3.808]\%$ 及 PDGF 组 $[41.315 \pm 7.943]\%$ 明显降低( $P < 0.05$ )。**结论** 慢性哮喘小鼠肺部 HDAC 的活性下降,可能与气道平滑肌细胞向“收缩型”转变有关,但 HDAC 活性下降并不增加细胞的收缩能力。

**[关键词]** 哮喘;平滑肌细胞;组蛋白脱乙酰基酶类;曲古霉素 A**[中图分类号]** R 562.25 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2010)09-0937-05

## Pulmonary histone deacetylase is involved in phenotype transformation of airway smooth muscle cells in chronic asthmatic mice

XU Wu-jian<sup>1</sup>, NING Yun-ye<sup>1</sup>, HONG Wei-jun<sup>1</sup>, SHAO Yan<sup>1</sup>, CAI Zai-long<sup>2</sup>, LI Qiang<sup>1\*</sup>

1. Department of Respiratory Diseases, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Central Laboratory, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the changes of histone deacetylase (HDAC) activity during chronic asthma and its effects on the phenotype and biological activities of airway smooth muscle cells. **Methods** Chronic asthma model was established with mice using repeated sensitization and challenge with OVA, and the lung was homogenated for total HDAC activity assay. Rat airway smooth muscle cells and human bronchial smooth muscle cells were stimulated with trichostatin A (TSA), an HDAC inhibitor. The effect of HDAC inhibition on phenotype switching was detected by Western Blotting analysis, and its effects on proliferation, migration and contraction of smooth muscle cells were examined by MTT, Transwell and gel contraction, respectively. **Results** The total HDAC activity was significantly decreased in chronic asthmatic mice compared with saline-treated controls ( $[0.371 \pm 0.054]$  vs  $[0.603 \pm 0.034] \mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \mu\text{g})$ ,  $P < 0.01$ ). Incubation of the rat trachea ring and human bronchial smooth muscle cells with TSA ( $0.5 \mu\text{mol}/\text{L}$ ) for 12-24 h increased the expression of  $\alpha\text{-sm-actin}$  and SM22- $\alpha$ . TSA significantly decreased cell number after 24 h treatment ( $[1.719 \pm 0.044] \times 10^4$  vs  $[1.911 \pm 0.048] \times 10^4$ ,  $P < 0.05$ ) and 48 h  $[1.808 \pm 0.009] \times 10^4$  vs  $[2.537 \pm 0.01] \times 10^4$ ,  $P < 0.05$ ) compared with DMSO controls. TSA treatment for 24 h also significantly decreased the migrated cells compared with the PDGF-treated cells ( $52 \pm 7.5$  vs  $88 \pm 7.632$ ,  $P < 0.05$ ). Furthermore, the gel contraction rate was significantly lower in the TSA-treated cells than in the DMSO or PDGF-treated cells ( $[9.885 \pm 7.084]\%$  vs  $[44.844 \pm 3.808]\%$  and  $[41.315 \pm 7.943]\%$ ,  $P < 0.05$ ). **Conclusion** HDAC activity is decreased in

**[收稿日期]** 2010-04-06 **[接受日期]** 2010-07-07**[基金项目]** 第二军医大学重点培育学科基金. Foundation for Key Discipline of Second Military Medical University.**[作者简介]** 胥武剑, 硕士, 住院医师. E-mail: wujian216@126.com

\* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-81873231, E-mail: liqressh@yahoo.com.cn

the lung of chronic asthmatic mice, which may be related to switching of the airway smooth muscle cells to a “contractive” phenotype, but with no increase of their contraction capability.

[Key words] asthma; smooth muscle myocytes; histone deacetylases; trichostatin A

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31(9):937-941]

气道结构重塑尤其是气道平滑肌重塑是支气管哮喘的重要特征<sup>[1]</sup>。在重塑的过程中,支气管平滑肌细胞在增殖、凋亡、迁移、收缩等细胞生物学性状上发生一系列改变,现已认识到这些改变与气道平滑肌细胞表型转变密切相关,其中涉及多种表型蛋白的表达调控,但具体机制尚不明确<sup>[2]</sup>。组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)能通过调节组蛋白的乙酰化状态而调控基因的转录,有研究报道哮喘患者气道组织及肺泡灌洗液中 HDAC 活性下降<sup>[3-4]</sup>,提示其可能参与了哮喘的病理生理过程,但其是否参与慢性哮喘病程中支气管平滑肌细胞的表型转变的调控尚未见报道。

## 1 材料和方法

1.1 实验材料 4~6 周龄雄性 BALB/c 小鼠 16 只,清洁级,体质量 15~21 g;雄性 SD 大鼠,体质量 150~200 g,均由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,实验动物许可证号:SCXX(沪)2007-0003。饲养于空调房间(25℃左右),无卵清蛋白(OVA)饮食。人支气管平滑肌细胞株(美国 Science Cell 公司),OVA(Grade V、98%,美国 Sigma 公司),氢氧化铝(美国 Sigma 公司),HDAC 检测试剂盒(美国 BioVision 公司),高级 DMEM/F12 培养液、胎牛血清(美国 Gibco 公司),曲古霉素 A(TSA,美国 Sigma 公司),甲基噻唑基四唑(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT,美国 Amresco 公司),I 型胶原蛋白(杭州生友生物技术有限公司),血小板源性生长因子-BB(PDGF-BB,美国 R&D 公司),抗 GAPDH 抗体(上海康成生物工程有限公司),HRP 标记的抗  $\alpha$ -sm-actin 抗体(美国 Abcam 公司),HRP 标记的抗 SM22- $\alpha$  抗体(美国 Santa Cruz 公司)。

1.2 动物分组及哮喘小鼠模型构建 采用随机数字表法将小鼠分为 2 组:正常对照组和慢性哮喘组,每组 8 只。参考 Temelkovski 等<sup>[5]</sup>方法建立慢性哮喘小鼠模型。慢性哮喘组于第 0、7、14 天腹腔注射 200  $\mu$ l 0.01% OVA(每 10 ml 含 OVA 1 mg、氢氧化铝 8 ml)致敏,并自第 21 天开始,每周给予 2.5% OVA 雾化激发 3 次,每次 30 min,共 8 周。正常对照组同时给予相同体积的生理盐水腹腔注射及雾化。末次激发后 24 h,脱颈法处死小鼠并取材。

1.3 体外气管环培养 参照文献<sup>[6-7]</sup>方法,将

1.5%的琼脂倒入培养皿中,待琼脂凝固后形成厚度为 10 mm 左右的琼脂板,在其上打出直径为 10 mm 大小的琼脂孔。SD 大鼠脱颈处死后,无菌分离出气管并剔除内膜、周围血管及结缔组织,循气管软骨剪成宽约 1 mm 的气管环,将气管环置于制备好的琼脂孔中,加高级 DMEM/F12 培养液 1 ml,37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培养 48 h。

1.4 细胞培养 人原代支气管平滑肌细胞以含 5%胎牛血清的高级 DMEM/F12 培养液于 37℃、5%CO<sub>2</sub> 孵箱中培养。第 5~9 代细胞用于后续实验。细胞在药物处理前撤血清饥饿 24 h。TSA 采用 DMSO 溶解,实验时采用同等浓度的 DMSO 作为空白对照组。

1.5 肺组织病理切片及染色 将肺组织 4% 多聚甲醛固定,常规脱水,石蜡包埋,切片(厚度为 5  $\mu$ m)。H-E 染色,观察炎症细胞浸润及气道重塑情况。

1.6 肺组织 HDAC 活性检测 按照试剂盒说明书,从液氮保存的小鼠肺组织中抽提出核蛋白并定量后,在 96 孔板中每孔加入 100  $\mu$ g 核蛋白,并补 ddH<sub>2</sub>O 至 85  $\mu$ l。先后加入 HDAC 分析缓冲液及显色底物后,37℃孵育 1 h。然后加入赖氨酸显色剂继续孵育 30 min,并于酶标仪中 405 nm 检测光密度。

1.7 细胞增殖实验 对数增长长期细胞以  $1 \times 10^4$ /孔的密度接种于 96 孔板中,并以不同浓度(0、0.5、1、2、6  $\mu$ mol/L)的 TSA 作用细胞,并分别于 24、48、72 h 采用 MTT 法检测细胞数目以评价细胞增殖。

1.8 细胞迁移实验 采用 Millicell 公司的细胞迁移小室(8  $\mu$ m 孔径,24 孔板)完成细胞迁移实验。细胞以  $5 \times 10^5$ /孔的密度接种至 6 孔板中并以 PDGF-BB 或 TSA 处理 24 h。将处理后的细胞收获并与无血清高级 DMEM/F12 培养液重悬后,以  $1 \times 10^4$ /孔的密度接种至迁移小室的上室,下室添加含 10% 高级 DMEM/F12 培养液。迁移 5 h 后,固定细胞,拭去上室细胞后,以 0.1% 结晶紫染色并于显微镜下计数。

1.9 细胞收缩实验 对数生长期细胞以  $5 \times 10^5$ /孔接种至 60 mm 培养皿中,贴壁过夜后,分别加 PDGF-BB 或 TSA 处理 24 h。配制三维凝胶(含 I 型胶原蛋白 450  $\mu$ l,1 mol/L NaOH 30  $\mu$ l,10  $\times$  PBS 53  $\mu$ l),加入细胞悬液 967  $\mu$ l(含  $3 \times 10^5$  个细胞)后使凝胶终浓度为 1.5 mg/ml 并接种至 35 mm 培养皿

中。室温孵育 20 min 至完全凝固后置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵箱中继续培养过夜以使细胞完全伸展。接种后 24 h 以沿培养皿边缘针头分离凝胶开始凝胶收缩实验。24 h 后拍照并采用 Image Pro Plus 6.0 软件测量凝胶面积。

1.10 蛋白质印迹分析 收获的肺组织或细胞总蛋白经定量、变性、电泳、转膜及封闭后,分别采用 HRP 标记的  $\alpha$ -sm-actin、SM22- $\alpha$  抗体检测这 2 种蛋白的表达。GAPDH 作为内参照。

1.11 统计学处理 数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,应用 SPSS 13.0 软件,2 组间均数的比较采用 *t* 检验,多组间均数的比较采用方差分析。检验水平 ( $\alpha$ ) 为 0.05。

## 2 结果

2.1 慢性哮喘小鼠肺组织病理及 HDAC 活性 OVA 反复激发后,病理切片 H-E 染色结果显示正常对照组肺组织变化不明显(图 1 A),而慢性哮喘组小鼠肺部炎症细胞浸润,气道黏膜明显增厚,气道平滑肌层增厚,符合典型的哮喘慢性气道炎症及气道重塑表型(图 1B)。分别抽提 2 组小鼠肺组织总蛋白并检测其 HDAC 活性 [ $\mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \mu\text{g})$ ],发现慢性哮喘组小鼠肺组织 HDAC 活性较正常对照组明显降低 [ $(0.371 \pm 0.054) \text{ vs } (0.603 \pm 0.034)$ ,  $P < 0.01$ ]。提示慢性哮喘状态下肺组织 HDAC 活性降低。

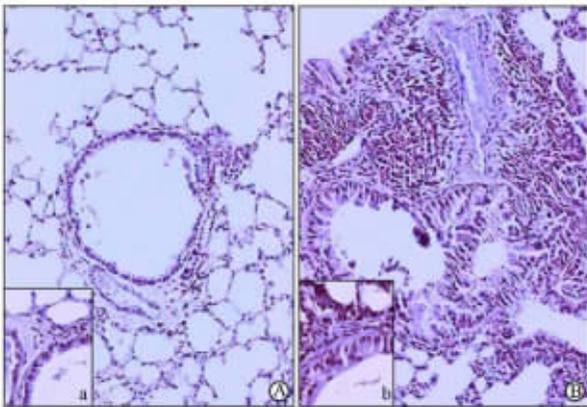


图 1 慢性哮喘小鼠模型的肺组织病理图

Fig 1 Pathological findings of lung in mouse chronic asthma models and control animals(H-E staining)

A, a: Saline-treated control mouse; B, b: OVA-sensitized/challenged mouse. Original magnification:  $\times 100$ (A, B);  $\times 400$ (a, b)

2.2 抑制 HDAC 活性对支气管平滑肌细胞表型转变的影响 为明确 HDAC 活性下降对气道平滑肌表型转变的影响,我们首先分离 SD 大鼠气管环并进

行体外培养。蛋白质印迹结果显示,体外无血清培养后 48 h,气道平滑肌组织 SM22- $\alpha$  表达显著增加,而  $\alpha$ -sm-actin 变化不明显,提示低血清环境下支气管平滑肌细胞向“收缩型”转变。PDGF 具有促进平滑肌细胞向“分泌型”转变的作用,体外培养的支气管平滑肌细胞加入 PDGF-BB(50 ng/ml)后, $\alpha$ -sm-actin、SM22- $\alpha$  表达均明显降低。而在加入 TSA(0.5  $\mu\text{mol}/\text{L}$ )抑制 HDAC 活性后,PDGF 诱导的平滑肌细胞表型转变被逆转,同时,TSA 单独作用也可促进  $\alpha$ -sm-actin、SM22- $\alpha$  的表达(图 2A)。细胞实验进一步证实,人原代支气管平滑肌细胞在 TSA 处理 12、24 h 后, $\alpha$ -sm-actin、SM22- $\alpha$  蛋白的表达均明显升高(图 2B)。这些结果提示抑制 HDAC 活性可促进气道平滑肌细胞向“收缩型”转变。

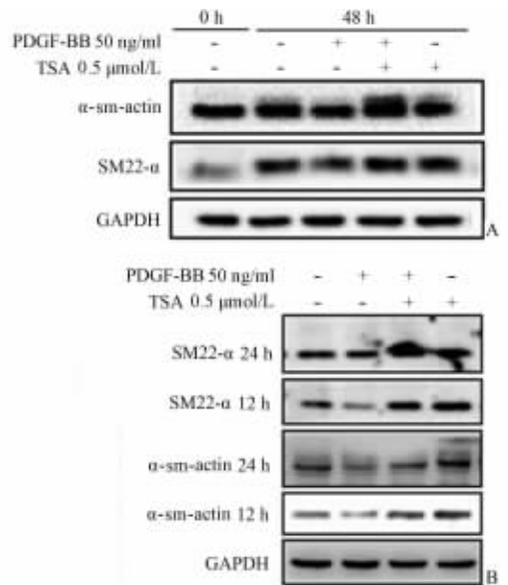


图 2 HDAC 活性降低对气道平滑肌细胞表型转变的影响

Fig 2 Effect of decreased HDAC activity on expression of smooth muscle cell markers

Expression of  $\alpha$ -sm-actin and SM22- $\alpha$  in cultured rat tracheas (A) and human bronchial smooth muscle cells (B) after incubation with trichostatin(TSA)

2.3 抑制 HDAC 活性对支气管平滑肌细胞增殖、迁移、收缩的影响 已知支气管平滑肌细胞的表型转变伴随着细胞生物学特性的改变。为进一步明确 HDAC 活性降低对气道平滑肌细胞生物学特性的影响,我们检测了细胞增殖、迁移的变化。不同浓度的 TSA 处理后 24 h 即可观察到明显的细胞增殖抑制,该抑制效果可持续至 72 h,并且随 TSA 浓度的增大而增加。但过高浓度的 TSA ( $>0.5 \mu\text{mol}/\text{L}$ ) 会在 48 h 后导致显著的细胞死亡(图 3A),提示降低

HDAC 活性可抑制支气管平滑肌细胞的增殖。细胞迁移实验显示,PDGF-BB(50 ng/ml)处理 24 h 可显著增加支气管平滑肌细胞的迁移,而 TSA(0.5 μmol/L) 不仅可抑制细胞迁移能力,而且可逆转 PDGF 的促迁移作用(图 3B),提示降低 HDAC 活性可抑制支气管平滑肌细胞的迁移。细胞的收缩实验显示,PDGF-BB 处理后支气管平滑肌细胞收缩能力较空白对照组略有减弱,但 TSA(0.5 μmol/L)处理 24 h 后,其收缩能力较空白对照组及 PDGF-BB 组显著降低,组间比较差异有统计学意义(图 3C、3D),提示降低 HDAC 活性可抑制支气管平滑肌的收缩能力。

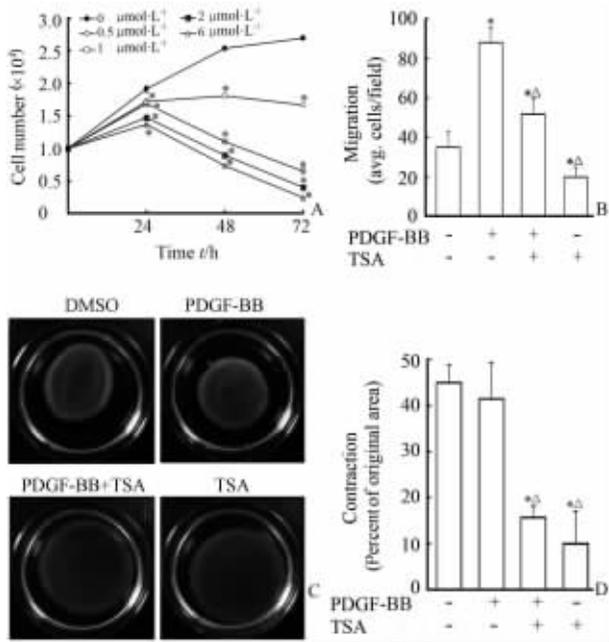


图 3 抑制 HDAC 活性对人支气管平滑肌细胞生物学性状的影响

Fig 3 Effect of HDAC activity inhibition on

bioactivities of human bronchial smooth muscle(HBSM) cells

A: Proliferation of HBSM cells treated with various concentrations of TSA for 24 h, 48 h and 72 h as measured by MTT colorimetric assay; B: PDGF-mediated migration of HBSM cells is blocked by TSA; C,D: Effect of 0.5 μmol/L TSA on collagen gel contraction mediated by HBSM cells. \* P<0.05 vs DMSO controls; Δ P<0.05 vs PDGF-treated cells. n=6,  $\bar{x} \pm s$

### 3 讨论

哮喘气道结构重塑包括气道平滑肌重塑,本质上是哮喘特异性炎症介质长期作用下气道组织反复损伤及修复的结果,这一过程存在大量的基因活化表达。乙酰化修饰在基因的转录调节中发挥关键作用,机体组蛋白总的乙酰化状态有赖于组蛋白乙酰化酶与去乙酰化酶的平衡<sup>[8]</sup>。本研究中,通过构建

慢性哮喘小鼠模型,发现慢性哮喘状态下肺部 HDAC 活性显著下降,这一结果与 Ito 等<sup>[3]</sup>在哮喘患者气道组织中的研究一致。慢性哮喘状态下组蛋白乙酰化程度相对增高,这将有利于基因的表达,从而适应慢性炎症过程中大量炎症与抗炎介质的活跃表达。

气道平滑肌细胞存在“收缩型”和“分泌型”2种表型,前者分化程度高,具有较强收缩能力,而后者分化程度低,收缩能力相对较弱,但细胞增殖、迁移及炎症因子分泌能力明显增加。平滑肌细胞的表型转变与细胞所处的环境密切相关,低血清诱导平滑肌细胞向“收缩型”变化,而 PDGF 等则诱导细胞向“分泌型”转变,这在我们的气管环培养中进一步得到证实。同时,通过体外培养的气管环及支气管平滑肌,我们发现降低 HDAC 活性可促进 α-sm-actin、SM22-α 等平滑肌表型蛋白的表达,提示平滑肌细胞表型向“收缩型”转变。此外,体外培养的支气管平滑肌实验进一步显示,降低 HDAC 活性不仅可抑制平滑肌细胞的增殖、迁移能力,而且还具有减弱细胞收缩的功能。

既往研究显示在 ES 细胞,总 HDAC 活性下降可以促使细胞向平滑肌细胞分化<sup>[9]</sup>,同样,在胚胎发育过程中,HDAC7 的高表达可显著增加 sm-22α 的表达<sup>[10]</sup>。在血管平滑肌细胞中,降低 HDAC 活性可促进 sm-22α 的表达,而且 II 型 HDAC 如 HDAC5 等可通过影响 myocardin、myogenin 的功能而抑制平滑肌特异性基因的转录<sup>[11-12]</sup>。但在成纤维细胞及肝星形细胞中,HDAC 活性的下降可下调 α-sm-actin 的表达,从而抑制其向肌成纤维细胞分化<sup>[13-14]</sup>。这些研究提示 HDAC 活性程度及不同的 HDAC 亚型对不同细胞的分化调节存在差异。尽管支气管平滑肌细胞与血管平滑肌细胞在胚胎起源上具有很大的同源性,但两者在发育过程中所处的环境不同导致两者在基因表达调控上存在一定的差异。例如,对血管平滑肌细胞具有重要调控作用的转录因子 myocardin,在支气管平滑肌细胞的基因转录调控中则不具有同等重要的地位。因此,本研究探索了 HDAC 活性变化对支气管平滑肌细胞表型转变的影响,进一步证实抑制总 HDAC 活性可促使平滑肌细胞向“收缩型”转变。

本研究显示抑制总 HDAC 活性后,支气管平滑肌细胞增殖、迁移能力显著减弱,与细胞向“收缩型”转变有关,这与以往报道一致<sup>[15-16]</sup>。但是,我们也发现尽管收缩相关蛋白表达升高,支气管平滑肌细胞的收缩能力却显著下降。Waltregny 等<sup>[17]</sup>报道 I

型 HDAC 中的 HDAC8 亚型在分化的人平滑肌细胞中高表达,且与  $\alpha$ -sm-actin、sm-MHC 等共表达于细胞胞浆中。采用 siRNA 沉默 HDAC8 的表达后,平滑肌细胞的收缩能力显著减弱。由于本研究采用的 HDAC 抑制剂 TSA 具有同时抑制 I 型及 II 型 HDAC 的作用<sup>[18]</sup>,因此,我们推测支气管平滑肌细胞收缩能力的下降可能与 HDAC8 或其他影响收缩的 HDAC 亚型有关。此外,由于平滑肌细胞完整收缩功能的实验有赖于多种收缩蛋白及收缩调节蛋白的协作,降低总 HDAC 活性是否会影响到其中的某个关键蛋白并进而抑制平滑肌细胞的收缩,这需要进一步的研究证实。

总之,本研究中,我们发现慢性哮喘病程中肺组织总 HDAC 活性下降,其可能通过促使气道平滑肌细胞向“收缩型”转变而抑制细胞收缩、迁移能力,但并不增加细胞的收缩能力。本研究提示调节气道 HDAC 活性可能在慢性哮喘的治疗中具有良好的应用前景。

#### [参考文献]

- [1] Siddiqui S, Martin J G. Structural aspects of airway remodeling in asthma[J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2008, 8: 540-547.
- [2] Halayko A J, Tran T, Gosens R. Phenotype and functional plasticity of airway smooth muscle[J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2008, 5: 80-88.
- [3] Ito K, Caramori G, Lim S, Oates T, Chung K F, Barnes P J, et al. Expression and activity of histone deacetylases in human asthmatic airways[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 166: 392-396.
- [4] Hew M, Bhavsar P, Torrego A, Meah S, Khorasani N, Barnes P J, et al. Relative corticosteroid insensitivity of peripheral blood mononuclear cells in severe asthma[J]. 2006, 174: 134-141.
- [5] Temelkovski J, Hogan S P, Shepherd D P, Foster P S, Kumar R K. An improved murine model of asthma: selective airway inflammation, epithelial lesions and increased methacholine responsiveness following chronic exposure to aerosolised allergen [J]. *Thorax*, 1998, 53: 849-856.
- [6] Nicosia R F, Ottinetti A. Growth of microvessels in serum-free matrix culture of rat aorta: a quantitative assay of angiogenesis *in vitro* [J]. *Lab Invest*, 1990, 63: 115-122.
- [7] 温进坤, 韩梅. 血管平滑肌细胞[M]. 北京: 科学出版社, 2005: 384-385.
- [8] Urnov F D, Wolffe A P. Chromatin remodeling and transcriptional activation: the cast (in order of appearance) [J]. *Oncogene*, 2001, 20: 2991-3006.
- [9] Illi B, Scopece A, Nanni S, Farsetti A, Morgante L, Biglioli P, et al. Epigenetic histone modification and cardiovascular lineage programming in mouse embryonic stem cells exposed to laminar shear stress[J]. *Circ Res*, 2005, 96: 501-508.
- [10] Margariti A, Xiao Q, Zampetaki A, Zhang Z, Li H, Martin D, et al. Splicing of HDAC7 modulates the SRF-myocardin complex during stem-cell differentiation towards smooth muscle cells [J]. *J Cell Sci*, 2009, 122: 460-470.
- [11] Qiu P, Li L. Histone acetylation and recruitment of serum responsive factor and CREB-binding protein onto SM22 promoter during SM22 gene expression[J]. *Circ Res*, 2002, 90: 858-865.
- [12] Long X, Creemers E E, Wang D Z, Olson E N, Miano J M. Myocardin is a bifunctional switch for smooth *versus* skeletal muscle differentiation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 16570-16575.
- [13] Niki T, Rombouts K, De Bleser P, De Smet K, Rogiers V, Schuppan D, et al. A histone deacetylase inhibitor, trichostatin A, suppresses myofibroblastic differentiation of rat hepatic stellate cells in primary culture[J]. *Hepatology*, 1999, 29: 858-867.
- [14] Glenisson W, Castronovo V, Waltregny D. Histone deacetylase 4 is required for TGFbeta1-induced myofibroblastic differentiation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1773: 1572-1582.
- [15] Okamoto H, Fujioka Y, Takahashi A, Takahashi T, Taniguchi T, Ishikawa Y, et al. Trichostatin A, an inhibitor of histone deacetylase, inhibits smooth muscle cell proliferation *via* induction of p21(WAF1) [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2006, 13: 183-191.
- [16] Yan Z Q, Yao Q P, Zhang M L, Qi Y X, Guo Z Y, Shen B R, et al. Histone deacetylases modulate vascular smooth muscle cell migration induced by cyclic mechanical strain[J]. *J Biomech*, 2009, 42: 945-948.
- [17] Waltregny D, De Leval L, Glénisson W, Ly Tran S, North B J, Bellahcène A, et al. Expression of histone deacetylase 8, a class I histone deacetylase, is restricted to cells showing smooth muscle differentiation in normal human tissues [J]. *Am J Pathol*, 2004, 165: 553-564.
- [18] Waltregny D, Glénisson W, Tran S L, North B J, Verdin E, Colige A, et al. Histone deacetylase HDAC8 associates with smooth muscle alpha-actin and is essential for smooth muscle cell contractility[J]. *Faseb J*, 2005, 19: 966-968.

[本文编辑] 孙岩