

## ·实验研究·

# Smad7, Smad3 和 Smad2 在 DEHP 诱导的尿道下裂大鼠阴茎中的表达

李明勇<sup>1</sup> 王 星<sup>1</sup> 石秦林<sup>2</sup> 魏光辉<sup>2</sup> 曹友汉<sup>1</sup> 邓 湘<sup>1</sup> 许韩峰<sup>1</sup> 李 清<sup>1</sup>

**【摘要】 目的** 研究 Smads(7,3 和 2) 在邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯[di-(2-ethylhexyl) phthalate, (DEHP)] 诱导的尿道下裂大鼠阴茎组织中的表达变化,探讨尿道下裂发生机制。 **方法** 将 SD 孕鼠随机分为 2 组:实验组(将 DEHP 溶于 1.5 mL 大豆油中灌胃大鼠)和对照组(以 1.5 mL 大豆油灌胃大鼠),每组 20 只,自孕 12 d (gestation day, GD12) 至 19 d (GD19) 连续每天定时给药 1 次。至 GD20 行剖宫产取出雄性胎鼠,切取阴茎组织,采用实时定量 PCR 和免疫组化法分别检测胎鼠阴茎中 Smad7, Smad3 和 Smad2 三者 mRNA 和蛋白质表达水平。 **结果** 经 qPCR 检测分析后发现,Smad7, Smad3 和 Smad2 三者 mRNA 在正常对照组相对于内参 GAPDH 的表达分别是 1.00, 0.84 和 1.14, 在 DEHP 暴露组其相对表达分别是 1.87, 1.36 和 1.49, 且三者在实验组的表达与正常对照组比较,均升高( $P$  值分别为  $<0.001$ ,  $0.041$  和  $0.021$ );观察实验组 Smad7 和 p-Smad2/3 蛋白表达水平亦有增加趋势。 **结论** DEHP 诱导的先天性尿道下裂可能与胎鼠阴茎组织中 Smads(7,3 和 2) 的过度表达有关。

**【关键词】** 尿道下裂; 二乙基己基邻苯二甲酸; Smad7 蛋白质; Smad3 蛋白质; Smad2 蛋白质; 大鼠

**Exprssion of Smad7, Smad3 and Smad2 in the hypospadiac penis of fetal rats induced by DEHP.** Li Mingyong<sup>1</sup>, Wang Xing<sup>1</sup>, Shi Qinlin<sup>2</sup>, Wei Guanghui<sup>2</sup>, Cao Youhan<sup>1</sup>, Deng Xiang<sup>1</sup>, Xu Hanfeng<sup>1</sup>, Li Qing<sup>1</sup>. 1. Department of Urology Surgery, First Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang 421001, China. 2. Department of Urology Surgery, Children's hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400014, China.

**【Abstract】 Objective** To investigate the expression of Smads (7,3 and 2) in the hypospadias penis of fetal rats induced by maternal exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP), in order to explore the etiology of hypospadias. **Methods** Pregnant rats were randomly divided into experiment group and control group, 20 rats for each group. Each rat in the experiment group was treated with DEHP dissolved in 1.5ml soybean oil by savaging, while control group were treated with 1.5ml soybean oil, once a day from the 12th gestation days (GD12) to GD19. Fetal rats were obtained on the GD20 by caesarean section, and were investigated for the mRNA and protein expression levels of Smad7, Smad3 and Smad2 by using real-time quantitative PCR and immunohistochemistry assay respectively. **Results** The expression of Smad7, Smad3 and Smad2 mRNA in hypospadias rats foreskin tissue increased 97.0%, 22.8% and 59.9% times compared with normal control groups, respectively, and the differences were significant (all  $P < 0.05$ ). Moreover, the protein levels of Smad7 and phosphorylated Smad 2/3 in foreskin from children with hypospadias showed an incremental trend. **Conclusion** Our results preliminary indicate that Smads(7,3 and 2) overexpression might be associated with the DEHP-induced congenital hypospadias.

**【Key words】** Hypospadias; Diethylhexyl Phthalate; Smad7 Protein; Smad3 Protein; Smad2 Protein; Rats

尿道下裂是儿童常见的先天性泌尿生殖器畸

形,发生率约为 16.9/10 000,且报道有明显上升趋势<sup>[1]</sup>。畸形主要是由于尿道和包皮的环形闭合障碍而导致尿道开口异位,可异位于阴茎腹侧任何位置,甚至阴囊和会阴区。但其病因尚不明确。

邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯[di-(2-ethylhexyl) phthalate, (DEHP)] 是一种塑化剂,也属于白色污染源,是一种重要的人工合成的环境内分泌干扰物,具有环境内分泌干扰作用,国内外相关研究以

DOI:10.3969/j.issn.1671-6353.2018.02.012

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(81401190)

作者单位:1. 南华大学附属第一医院泌尿外科科室(湖南省衡阳市,421001);2. 重庆医科大学附属儿童医院泌尿外科科室(重庆市,400014)

通信作者:许韩峰;Email:200327419xhf@163.com;李清;Email:liq73@163.com

及我们以往研究已成功利用 DEHP 诱导建立先天性尿道下裂大鼠模型<sup>[2-4]</sup>。这是一个成熟的可以直接利用的动物模型。

Ross 等<sup>[5]</sup>通过对尿道下裂大鼠全基因组芯片分析,发现差异性表达最丰富的区域主要包含  $\beta$  型转化生长因子(*TGF- $\beta$* )信号级联系统。国内外有大量报道证实 *TGF- $\beta$* 1 表达上调与尿道发育和尿道下裂发生密切相关<sup>[3,4]</sup>。Smad 蛋白,作为 *TGF- $\beta$*  信号系统的细胞内效应器,能将细胞膜信号带入细胞核内。一般 Smads 蛋白家族根据结构和功能的不同可以分为 3 级:①通路限制性 Smads(*Smad*1,2,3,5,8);②普通 Smads(*Smad*4 或 *Smad*4 $\beta$ );③*TGF- $\beta$*  信号抑制性 Smads(*Smad*6,7)。不同的 Smads 家族成员在信号通路中扮演不同的角色。

之前研究人尿道下裂包皮组织时,发现 Smads 蛋白中的 *Smad*7,*Smad*3 和 *Smad*2 在尿道下裂患者包皮组织中表达上调<sup>[6]</sup>。限于伦理学局限,本研究拟在前期 DEHP 成功诱导的尿道下裂动物模型<sup>[2]</sup>,在大鼠尿道下裂阴茎组织中观察 Smads(7,3 和 2)的表达是否仍存在差异,以进一步验证并探索 *Smad*7,*Smad*3 和 *Smad*2 与尿道下裂发生的相关性及尿道下裂的可能发病机制。

## 材料与方法

### 一、材料

1. 实验动物:SPF 级 Sprague-Dawley (SD) 大鼠,约 10 周龄,雌性 40 只,体重( $260 \pm 10$ )g,雄性 10 只,体重( $320 \pm 10$ )g,购买及饲养于南华大学实验动物中心(许可证号:SYXK(湘)2015-0001)。SPF 级别饲养间。孕期计算以雌、雄大鼠按 1:1 比例合笼后,每天上午固定时间检查笼底有无精液栓,发现精液栓的当天确定为孕 0 天(Gestation day, GD0)。分 4 批合笼,准确记录并标记每只雌鼠受孕

成功的时间。本研究遵从国际实验动物护理和使用指南。

2. 试剂:DEHP(分析纯,浓度 >99%,上海化学试剂有限公司生产);市售精制大豆油(金龙鱼,上海生产);兔(小鼠)二步法检测试剂盒(含 3%  $H_2O_2$  液)和 DAB 显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司),封闭用正常山羊血清工作液(北京康为世纪生物科技有限公司),小鼠来源 Smad7 单克隆抗体(sc-101152, Santa Cruz Biotechnology)和兔来源 Phospho-Smad2/3 单克隆抗体(#8828, Cell Signaling Technology),0.01M 枸橼酸盐缓冲液参照 CST 公司抗体说明书配制,Prime script RT 试剂盒(大连 Takara 生物科技有限公司),高纯总 RNA 快速提取试剂盒和 2 $\times$ SYBR Real-time PCR Premixture(北京百泰克生物科技有限公司)。

### 二、方法

1. 动物分组、给药:GD12 的 40 只健康孕鼠随机分为 2 组,每组 20 只。包括 DEHP  $750 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  剂量组(根据之前报道得出的最适诱导浓度<sup>[2]</sup>,DEHP 暴露组)、大豆油对照组(正常对照组)。对照组以 1.5 mL 大豆油灌胃,实验组将相应剂量药物溶于 1.5 mL 大豆油中,自 GD12 至 GD19 连续每天定时给药 1 次。

2. 组织标本的制备:孕鼠在怀孕第 20 天行剖宫产取出胎鼠,以有无睾丸或子宫判断胎鼠性别,从每窝雄性胎鼠的阴茎组织中取一个用 4% 多聚甲醛溶液固定 48 h;其余的立即置于液氮中冻存备用。

3. RNA 提取和实时定量聚合酶链反应(qPCR):候选基因特异性引物和最适退火温度见表 1;具体实验操作步骤参照说明书和以往报道<sup>[7]</sup>。

4. 免疫组化检测:一抗稀释度:Smad7,1:100 稀释,p-Smad2/3,1:1 000 稀释;具体实验操作步骤参照说明书和以往报道<sup>[7]</sup>。

表 1 qPCR 特异性引物、退火温度和产物长度

Table 1 Primers and temperature for annealing in qPCR as well as length of amplified products

基因	登记号	引物序列(5'→3')	退火温度(℃)	产物大小(bp)
Smad7	NM_030858.1	F:CTGGTTTCTCCATCAAGGC R:CGAAGCTAATCTGCACGGT	60.5	114
Smad3	NM_013095.2	F:GGAGCTTACAAGGCGGC R:GTTGGGAGACTGGACGAAA	59.5	109
Smad2	NM_019191.1	F:TGCGCGAGTGCCTAAGTGAT R:GGTTACAGCCTGGTGGGATT	58.5	108
GAPDH	NM_017008.3	F:GCCAGCTCGTCTCATAGACA R:TGGTAACCAAGCGCTCCGATA	与 Smads 相同	75

### 三、统计学处理

本研究利用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析, 实验中计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间比较采用独立样本  $t$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、胎鼠阴茎组织 *Smad7*, *Smad3* 和 *Smad2* mRNA 表达情况

经 qPCR 检测分析后发现, *Smad7*、*Smad3* 和 *Smad2* 三者 mRNA 在正常对照组相对于内参 GAPDH 的表达分别是 1.00, 0.84 和 1.14, 在 DEHP 暴露组其相对表达分别是 1.87, 1.36 和 1.49, 且三者在实验组的表达与正常对照组比较, 均升高 ( $P$  值分别是  $<0.001$ , 0.041 和 0.021, 见图 1)。荧光扩增曲线见图 2。

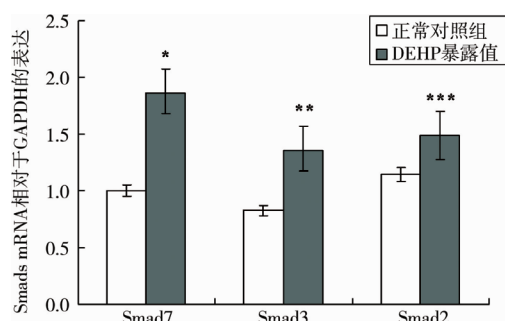


图1 qPCR 分析 DEHP 暴露后胎鼠阴茎组织中 Smads mRNA 相对于正常的表达

Fig.1 The expression of Smads mRNA in DEHP exposed rat penis and normal control (qPCR)

注: \* 与正常对照组比较,  $t = -6.314$ ,  $P < 0.001$ 。\* \* 与正常对照组比较,  $t = -2.753$ ,  $P = 0.041$ 。\* \* \* 与正常对照组比较,  $t = -2.875$ ,  $P = 0.021$ 。

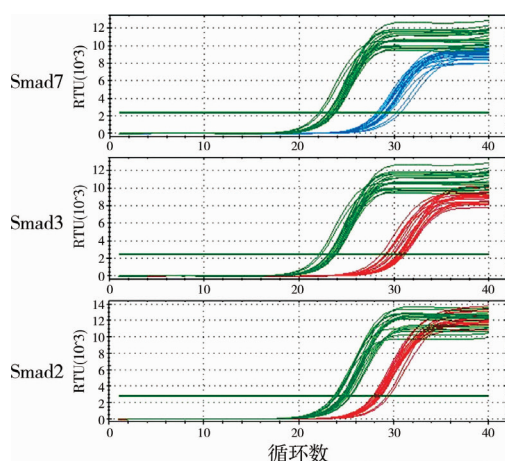
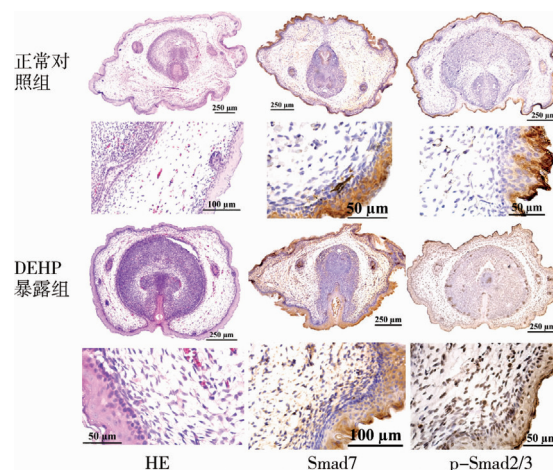


图2 胎鼠阴茎组织中 *Smad7*, *Smad3* 和 *Smad2* 基因 mRNA 的 qPCR 扩增曲线

Fig.2 The qPCR amplification curves of Smads mRNA in fetal genital tubercles

### 二、胎鼠阴茎组织中 *Smad7* 和 *p-Smad2/3* 蛋白的表达

胎鼠阴茎横切面免疫组织化学结果显示, *Smad7* 和 *p-Smad2/3* 蛋白主要分布于阴茎包皮皮下和尿道周围海绵体, 二者在 DEHP 暴露组胎鼠阴茎组织中的表达较正常对照组有显著增强趋势; 分布更广, 且更多地分布于皮下疏松结缔组织层 (棕黄色提示阳性表达, 见图 3)。



*Smad7* 和 *p-Smad2/3* 在 DEHP 暴露后胎鼠阴茎组织中的表达更强, 分布更广, 且多分布于阴茎皮下疏松结缔组织层。图 3 *Smad7* 和 *p-Smad2/3* 在正常和 DEHP 暴露组胎鼠阴茎中的表达 (免疫组织化学染色)

Fig.3 The expression of *Smad7* and *p-Smad2/3* level between normal and DEHP exposed fetal rat penis (Immunohistochemistry)

## 讨 论

本研究中, 我们在之前研究的基础上利用 DEHP 诱导的先天性尿道下裂大鼠模型<sup>[2,7]</sup>, 发现 DEHP 暴露后, 胎鼠阴茎组织中 *Smad7*, *Smad3* 和 *Smad2* 基因 mRNA 表达水平较对照组显著升高, 且 *Smad7* 和磷酸化 *Smad2/3* 蛋白的表达水平亦有明显增强。因此我们提出假说 *Smad7*, *Smad3* 和 *Smad2* 表达上调参与尿道发育并与尿道下裂的发生有关。目前许多关于 Smads 蛋白功能的研究多集中在发育和肿瘤发生过程中 *TGF-β* 信号通路的调控。然而就我们所知, 还没有关于 *Smad7* 和磷酸化 *Smad2/3* 过表达与尿道发育和尿道下裂发生相关的研究。因此, 有必要通过对已知 Smads 蛋白功能的推测来解释和提供 Smads 过表达与尿道下裂之间关系。

雄性外生殖器的发育过程及调控非常复杂, 包括基因编程、细胞分化、激素信号、酶活性和组织重



塑;这些都必须以时间和浓度依赖的方式有条不紊地进行才能保证形成正常的阴茎<sup>[8]</sup>。鼠尿道的形成与人类尿道的发育类似,并具有相关性。Baskin等<sup>[9]</sup>在研究老鼠阴茎尿道的形成和发育过程发现,尿道的形成存在尿道襞在中线处接触融合形成上皮缝以及随后的尿道上皮细胞层消失,被正常管状尿道取代的过程;该过程是通过间充质细胞迁移到达腹侧尿道中部去取代残余的上皮细胞实现的。任何对细胞迁移或尿道缝形成和重塑产生影响的因素均可能导致尿道下裂。

Ross等<sup>[5]</sup>报道尿道下裂的发生不仅与 *TGF-β* 信号系统有关,而且与 MAPK 信号系统系统也密切相关,JNK 作为 MAPK 成员中非常重要的一员,有报道证实 JNK 在各种细胞迁移中扮演重要角色<sup>[10,11]</sup>。我们以往研究不仅从尿道下裂患者包皮组织还从尿道下裂大鼠阴茎组织证实 JNK 的表达上调与尿道下裂的发生相关<sup>[7,12]</sup>。Maire等<sup>[13]</sup>研究发现 *Smad7* 过表达能诱导 JNK 激酶活化;因此,我们认为 *Smad7* 过表达影响细胞迁移,从而阻碍尿道发育,可能是通过上调 JNK 激酶的表达而导致尿道下裂产生的一个重要的信号转导蛋白。

雄性生殖系统形成必然经历外生殖器男性化的过程,这种男性化的突出特征就是尿道的性别分化和性器官的大小,也就是说阴茎的大小发育和正常形态,雄激素是维持这一过程正常进行的一个关键诱导剂<sup>[14]</sup>。有学者<sup>[15]</sup>证实雌激素受体(ER)抑制 *TGF-β* 诱导的 *Smad3* 活性的激活,同时,*TGF-β* 信号通路能反馈性增强 ER 介导的转录活性。有报道雄激素受体(AR)与 *Smad3* 有直接相关<sup>[16]</sup>;其配体结合区直接抑制 *Smad3* 与 *Smad*-结合元件的结合,进而可抑制 *TGF-β* 转录应答。也就是说,AR 和 ER 均能抑制 *Smad3* 的活性,但同时 AR 通过抑制 *TGF-β* 表达,有减弱 *TGF-β* 对 ER 的反馈性激活作用;因而在尿道下裂患者 *Smad3* 表达上调。Li CG等<sup>[17]</sup>研究发现小鼠 *Smad3* 基因敲除后 *TGF-β1* 表达水平明显下降,这刚好解释了为什么 *Smad3* 基因上调,*TGF-β1* 上调时尿道下裂发生这一系列的合理性。同时,Chong Q等<sup>[18]</sup>研究大鼠模型时也证实 *TGF-β/Smad3* 通路在尿道下裂发生中扮演重要角色。

*Smad2* 与 *Smad3* 有 92% 的序列同源性,两者同属于 1 型受体激酶的底物,被激活素和 *TGF-β* 受体所活化,具有通路特异性。*Smad2* 作为 *TGF-β* 的一个下游转录因子,对牙龈创面愈合过程中的上皮再

生具有抑制效应<sup>[19]</sup>。Shimoe等<sup>[20]</sup>研究发现 *Smad2* 的过表达促进 p15 和 p21 表达,阻碍进入细胞周期,在牙龈上皮细胞产生抗增殖作用。同时有报道<sup>[21]</sup>证实作为 *TGF-β* 信号通路的转导中介,*Smad2* 在创面愈合调控角质化细胞的迁移和上皮再生过程中起决定性作用。本研究中 DEHP 暴露后阴茎组织中 *Smad2* 在 mRNA 和蛋白磷酸化水平表达上调。其导致尿道发育障碍或尿道下裂发生是否通过对尿道上皮细胞的增殖、迁移和上皮化的抑制效应而实现,还有待深入研究。

综上所述,我们推测 DEHP 暴露后诱导尿道下裂的产生可能是由于 *Smads* (7,3 和 2) 表达上调,通过 *TGF-β1* 过度表达,反馈性增强 ER 介导的转录活性,导致的 *Smad3* 上调,以及通过激活 JNK 激酶抑制尿道上皮细胞增殖、迁移和上皮化等途径,从而影响尿道的正常环形闭合。但是这样一个推测的 *TGF-β/Smad* 信号通路,其中 *Smad7*, *Smad3* 和 *Smad2* 三者之间确切的信号传递和上下游调控机制尚不明确。因此,有必要进一步进行体外阴茎的组织培养实验及信号传递和干预方面的研究,以便更好的解释 *Smads* 在尿道下裂发病机制中的作用。

## 参考文献

- 1 Nissen KB, Udesen A, Garne E. Hypospadias: Prevalence, birthweight and associated major congenital anomalies [J]. *Congenital anomalies*, 2015, 55 (1): 37-41. DOI: 10. 1111/cga. 12071.
- 2 李明勇,陈柏林,邱林,等. 塑化剂邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯诱导大鼠尿道下裂的研究 [J]. 第三军医大学学报, 2012, 34 (20): 2124-2126.  
Li MY, Chen BL, Qiu L, et al. Study on hypospadiac male rats induced by maternal exposure to di-(2-Ethylhexyl) phthalate plasticizer [J]. *Journal of Third Military Medical University*, 2012, 34 (20): 2124-2126.
- 3 陈柏林,刘星,吴盛德,等. 邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯诱导大鼠尿道下裂及对阴茎 *TGF-β1*、*TGF-β3* 表达的影响 [J]. 生殖与避孕, 2011, 31 (1): 347-352. 0253-357X (2011)02-0088-05.  
Chen BL, Liu X, Wu SD, et al. Di (2-ethylhexyl) phthalate Induces Hypospadias in Rat and Its Effect on the Expression of *TGF-β1*, *TGF-β3* in Genital Tubercles [J]. *Reproduction and Contraception*, 2011, 31 (1): 347-352. 0253-357X (2011) 02-0088-05.
- 4 Liu X, He DW, Zhang DY, et al. Di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) increases transforming growth factor-beta1 expres-

- sion in fetal mouse genital tubercles [J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2008, 71 ( 19 ) : 1289 - 1294. DOI: 10. 1080/15287390.802114915.
- 5 Ross AE, Marchionni L, Phillips TM, et al. Molecular effects of genistein on male urethral development [J]. *J Urol*, 2011, 185 ( 5 ) : 1894 - 1898. DOI: 10. 1016/j. juro. 2010. 12. 095.
  - 6 李明勇, 华燚, 涂生芬, 等. Smad7, Smad3 和 Smad2 在尿道下裂发病机制中的作用 [J]. *中华小儿外科杂志*, 2013, 34 ( 4 ) : 1 - 4. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0253 - 3006. 2013. 04. 011.  
Li MY, Hua Yi, Tu SF, et al. The expression of Smad7, Smad3 and Smad2 in foreskin from children with hypospadias [J]. *Chin J Pediatr Surg*, 2013, 34 ( 4 ) : 1 - 4. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0253 - 3006. 2013. 04. 011.
  - 7 李明勇, 邱林, 何大维, 等. c-Jun 氨基末端激酶在邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯诱导的尿道下裂大鼠阴茎组织中的表达 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2013, 26 ( 6 ) : 825 - 828. 1004 - 5503 ( 2013 ) 06 - 0825 - 04.  
Li MY, Qiu L, He DW, et al. Expression of c-Jun N-terminal kinase in hypospadias penis of fetal rats induced by maternal exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate [J]. *Chinese Journal of Biologicals*, 2013, 26 ( 6 ) : 825 - 828. 1004 - 5503 ( 2013 ) 06 - 0825 - 04.
  - 8 Kalfa N, Sultan C, Baskin LS. Hypospadias: etiology and current research [J]. *Urol Clin North Am*, 2010, 37 ( 2 ) : 159 - 166. DOI: 10. 1016/j. ucl. 2010. 03. 010.
  - 9 Baskin LS, Erol A, Jegatheesan P, et al. Urethral seam formation and hypospadias [J]. *Cell Tissue Res*, 2001, 305 ( 3 ) : 379 - 387.
  - 10 Chuanyu S, Yuqing Z, Chong X, et al. Periostin promotes migration and invasion of renal cell carcinoma through the integrin/focal adhesion kinase/c-Jun N-terminal kinase pathway [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39 ( 4 ) : 1010428317694549. DOI: 10. 1177/1010428317694549.
  - 11 Zhang F, Yu J, Yang T, et al. A Novel c-Jun N-terminal Kinase (JNK) Signaling Complex Involved in Neuronal Migration during Brain Development [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291 ( 22 ) : 11466 - 75. DOI: 10. 1074/jbc. M116. 716811.
  - 12 李明勇, 刘星, 吴盛德, 等. c-Jun 氨基末端激酶在尿道下裂发病机制中的作用 [J]. *中华小儿外科杂志*, 2013, 34 ( 1 ) : 38 - 41. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0253 - 3006. 2013. 01. 010.  
Li MY, Liu X, Wu SD, et al. Expression and phosphorylation of c-Jun N-terminal kinase in the foreskin of the children with hypospadias [J]. *Chin J Pediatr Surg*, 2013, 34 ( 1 ) : 38 - 41. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0253 - 3006. 2013. 01. 010.
  - 13 Maire M, Florin A, Kaszas K, et al. Alteration of transforming growth factor-beta signaling system expression in adult rat germ cells with a chronic apoptotic cell death process after fetal androgen disruption [J]. *Endocrinology*, 2005, 146 ( 12 ) : 5135 - 5143. DOI: 10. 1210/en. 2005 - 0592.
  - 14 Suzuki K, Numata T, Suzuki H, et al. Sexually dimorphic expression of Mafk regulates masculinization of the embryonic urethral formation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111 ( 46 ) : 16407 - 16412. DOI: 10. 1073/pnas. 1413273111.
  - 15 Matsuda T, Yamamoto T, Muraguchi A, et al. Cross-talk between transforming growth factor-beta and estrogen receptor signaling through Smad3 [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276 ( 46 ) : 42908 - 42914. DOI: 10. 1074/jbc. M105316200.
  - 16 Chipuk JE, Cornelius SC, Pultz NJ, et al. The androgen receptor represses transforming growth factor-beta signaling through interaction with Smad3 [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277 ( 2 ) : 1240 - 1248. DOI: 10. 1074/jbc. M108855200.
  - 17 Li CG, Liang QQ, Zhou Q, et al. A continuous observation of the degenerative process in the intervertebral disc of Smad3 gene knock-out mice [J]. *Spine*, 2009, 34 ( 13 ) : 1363 - 1369. DOI: 10. 1097/BRS. 0b013e3181a3c7c7.
  - 18 Qian C, Dang X, Wang X, et al. Molecular Mechanism of MicroRNA-200c Regulating Transforming Growth Factor-beta (TGF-beta)/SMAD Family Member 3 (SMAD3) Pathway by Targeting Zinc Finger E-Box Binding Homeobox 1 (ZEB1) in Hypospadias in Rats [J]. *Med Sci Monit*, 2016, 22 : 4073 - 4081. DOI: 10. 12659/MSM. 896958.
  - 19 Tomikawa K, Yamamoto T, Shiomi N, et al. Smad2 decelerates re-epithelialization during gingival wound healing [J]. *J Den Res*, 2012, 91 ( 8 ) : 764 - 770. DOI: 10. 1177/0022034512451449.
  - 20 Shimoe M, Yamamoto T, Shiomi N, et al. Overexpression of Smad2 inhibits proliferation of gingival epithelial cells [J]. *J Periodontol Res*, 2014, 49 ( 3 ) : 290 - 298. DOI: 10. 1111/jre. 12106.
  - 21 Hosokawa R, Urata MM, Ito Y, et al. Functional significance of Smad2 in regulating basal keratinocyte migration during wound healing [J]. *J Invest Dermatol*, 2005, 125 ( 6 ) : 1302 - 1309. DOI: 10. 1111/j. 0022 - 202X. 2005. 23963. x.
- ( 收稿日期: 2016-09-11 )
- 本文引用格式:** 李明勇, 王星, 石秦林, 等. Smad7, Smad3 和 Smad2 在 DEHP 诱导的尿道下裂大鼠阴茎中的表达 [J]. *临床小儿外科杂志*, 2018, 17 ( 2 ) : 136 - 140. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671 - 6353. 2018. 02. 012.
- Citing this article as:** Li MY, Wang X, Shi QL, et al. Expression of Smad7, Smad3 and Smad2 in the hypospadiac penis of fetal rats induced by DEHP [J]. *J Clin Ped Sur*, 2018, 17 ( 2 ) : 136 - 140. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671 - 6353. 2018. 02. 012.