

shRNA 靶向 autotaxin 对人胃癌细胞 AGS 裸鼠移植瘤的生长的抑制效应

陈周浚 郭 健 周 峰 杜 舟 朱冠保

摘 要 **目的** 探讨靶向 autotaxin 的短发夹 RNA (shRNA) 对人胃癌裸鼠移植瘤的生长抑制作用。**方法** 将已构建成功的靶向 autotaxin 及非特异性短发夹 RNA 的质粒载体 pSUPER-ATX、pSUPER-mock (阴性对照) 和空白质粒 pSUPER-control 转染胃癌 AGS 细胞株, 并将获得的相应各组细胞与野生型细胞 (WT) 分组种植到裸鼠皮下, 以建立人胃癌裸鼠移植瘤对比模型, 随后观察监测各组裸鼠的肿瘤生长情况, HE 染色检测移植瘤及各器官形态学改变。第 8 周裸鼠处死并剥离出肿瘤组织, HE 染色观察肿瘤细胞的形态, 免疫组化及 Western blot 方法检测 autotaxin 蛋白及相关蛋白 MMP-2、MMP-9 的表达。**结果** 各组裸鼠的内脏未受到明显的毒害和损伤。第 7 周 pSUPER-ATX 组裸鼠移植瘤的体积和质量与其余组相比均有显著性缩小 ($P < 0.05$), 抑制率大约在 50% 左右。与野生型组、阴性对照组及空白质粒组相比, pSUPER-ATX 组移植瘤的 autotaxin、MMP-2、MMP-9 表达均有显著性下调 ($P < 0.05$)。并且 autotaxin 和 MMP-2 的表达有明显相关性 ($r = 0.869$, $P < 0.01$)。而阴性对照组 pSUPER-mock 的上述指标与野生型组及空白对照组相比, 其差异无统计学意义。**结论** 所构建的靶向 autotaxin 的 shRNA 能够抑制人胃癌 AGS 细胞裸鼠移植瘤的生长。

关键词 RNA 干扰 胃癌 裸鼠 autotaxin 移植瘤

Inhibitory Effect of Short Hairpin RNA Targeting Autotaxin on the Growth of Human Gastric Cancer Xenografts in Nude Mice. Chen Zhouxun, Guo Jian, Zhou Feng, Du Zhou, Zhu Guanbao. Department of Gastrointestinal Surgery, The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325000, China

Abstract Objective To investigate the effect of short hairpin RNA (shRNA) targeting autotaxin on the growth of human gastric carcinoma xenografts in nude mice. **Methods** Three cell clones of gastric cancer cell line AGS were stable generated, which were established successfully by transfections of the constructed plasmid vectors of autotaxin shRNA (pSUPER-ATX), unspecific coding shRNA (pSUPER-mock) and the empty plasmid (pSUPER-control). Tumor xenograft model was generated by subcutaneous injection of AGS cells into the dorsum of nude mice. The growth of xenograft tumor was monitored and measured. Change of the tumor morphology and mice organs were observed by HE staining. The expressions of autotaxin, MMP-2 and MMP-9 protein in xenograft tumor tissue were detected by immunohistochemistry and western blot. **Results** No obvious damage of the organs was found. The pSUPER-ATX significantly suppressed the tumor volume and weight since the 7th week after cell transplantation, when compared to the pSUPER-mock, pSUPER-control and WT groups, and the inhibition rates were about 50% ($P < 0.05$). However, no significant difference in these parameters were found among the WT, pSUPER-mock and pSUPER-control groups. Furthermore, autotaxin, MMP-2, MMP-9 were expressed at significantly lower level in pSUPER-ATX group than in other three groups ($P < 0.05$), and a significant correlation between ATX and MMP-2 expression was displayed ($r = 0.869$, $P < 0.01$). **Conclusion** The shRNA targeting autotaxin inhibited the growth of human gastric cancer xenograft in nude mice.

Key words RNA interference; Gastric cancer; Nude mice; Autotaxin; Xenograft

autotaxin 是一种胞外磷酸二酯酶、细胞自分泌运动刺激因子, 首先由 Stracke ML 等从人类恶性黑色素瘤细胞 A2058 培养基中分离并纯化, 为 125kDa 胞外糖蛋白, 据报道能刺激黑素瘤细胞产生随机性或方向性的运动。蛋白序列分析研究表明 ATX 与细胞表面

一型溶血磷脂酶 D (lysophospholipase D) 有显著性的同源性^[2], 通过对其外部氨基酸的剪切而被释放到胞外, 能将溶血磷脂酰胆碱 (LPC) 水解转化为被称为多功能“磷脂调控因子”的胆碱溶血磷脂酸 (LPA)^[2,3]。近来发现 ATX 在胚胎发育过程中的血管生成有密切关系。目前国外对 ATX 在正常细胞及肿瘤细胞中的表达的研究主要集中在甲状腺癌^[4-11]、恶性黑色素瘤、乳腺癌、肾细胞癌以及成神

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 (Y207596)

作者单位: 325000 温州医学院附属第一医院胃肠外科

经细胞瘤,国内文献对 ATX 在肝癌中有相关报道^[4-11]。而基质金属蛋白酶 MMP-2、MMP-9 表达与胃癌的浸润和淋巴转移密切相关,曾被报道是胃癌侵袭转移检测的分子标志,可用于胃癌的预后判断^[12,13]。本研究组在前期的体外实验研究中发现:将靶向 ATX 的 shRNA 片段整合入质粒载体,并将其转染人胃癌细胞株 AGS,能有效持续抑制的 AGS 细胞的 ATX 基因与蛋白的表达,并降低细胞的增殖、迁移及侵袭力。本研究将在体内比较并观察 shRNA 抑制人胃癌裸鼠移植瘤的生长情况,揭示自分泌运动因子 ATX 与胃癌浸润、转移的关系,对于阐明胃癌发展的分子机制以及治疗提供实验数据。

材料与方法

1. 实验动物:取 SPF 级 5~7 周龄 BLBA/c 雄性裸鼠 20 只,体重 18~20g,购自中科院上海实验动物中心,饲养于温州医学院动物中心 SPF 级动物室。

2. 主要材料:人胃癌细胞株 AGS、大肠杆菌 DH5 α 由本研究组保存。pSUPER RNAi System,购自 Oligoengine 公司,Trizol 试剂及 LipofectamineTM 2000 Reagent 购自 Invitrogen 公司,RP-MI 1640 培养基及 10% 牛胎血清购自 GIBCO 公司, Autotaxin (E-12) 抗体 (sc-374222) 购自 Santa cruz biotechnology 公司。Anti-MMP-9 [EP1254] 抗体 (ab76003) 和 MMP2 (ab79781) 抗体购自 Abcam 公司。

3. 细胞培养:人胃癌 AGS 细胞贴壁培养于含 10% 胎牛血清、100U/ml 青霉素、100mg/ml 链霉素的 DMEM 高糖培养基, 37°C、5% CO₂ 饱和湿度条件下培养。取对数生长期细胞进行实验。

4. 裸鼠成瘤试验:20 只裸鼠随机分为 4 组,每组 5 只,分别为接种野型组 WT,转染靶向干扰质粒 pSUPER-ATX 组、阴性对照组 pSUPER-mock 和空白质粒组 pSUPER-control。收集对数期生长细胞,以 2×10^7 /个 (0.1 毫升/只) 接种于裸鼠背部右后腿外侧皮下。待裸鼠成瘤后,每 3 天用游标卡尺测量肿瘤长径 (a) 和短径 (b),按公式 $(a \times b^2)/2$ 计算肿瘤体积,根据各组肿瘤体积平均值绘制肿瘤生长曲线。8 周后处死裸鼠,剥离肿瘤,测量计算肿瘤的最终体积并用光电天平称取肿瘤的质量,分别从体积和质量两个不同的角度来判定肿瘤生长抑制率。各组瘤组织部分保存于液氮,部分用 10% 甲醛溶液固定后行 HE 染色、免疫组织化学及 Western blot 实验。

5. 免疫组织化学:切片经脱蜡、水化、去除内源过氧化物酶后,应用 Tris/EDTA (pH 9.0) 抗原修复液经微波炉法抗原修复。室温封闭 1h 后,应用 Autotaxin 抗体以 1:200 稀释后 4°C 孵育过夜。应用二步法免疫组化试剂盒和 DAB 试剂盒,标本 DAB 显色时间 3.5min。Mayer 苏木素复染后,脱水、封片,光学显微镜下读片。阳性对照使用人正常表皮标本,以 PBS 替代 Autotaxin 抗体作为阴性对照。

6. 蛋白质印迹法检测 ATX、MMP-2、MMP-9 蛋白的表

达:以 GAPDH 的水平作为等量蛋白质样本的内对照,每个标本至少重复 3 次进行 SDS-PAGE 电泳,并转至硝酸纤维素膜上,室温封闭 2h 后,用 TBST 缓冲液漂洗 3 次,再加入兔抗人 ATX 抗体 (1:1000),兔抗人 MMP-2 抗体 (1:2000),兔抗人 MMP-9 抗体 (1:2000) 4°C 孵育过夜。TBST 缓冲液漂洗 3 次后加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 二抗 (1:2000),室温摇床孵育 1h,增强化学发光系统显色,暗室内 X 线底片感光成像。

7. 统计学方法:计量数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 *t* 检验,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

结 果

1. Western blot 检测分析:ATX 蛋白表达各组细胞经 Western blot 检测分析表明,内参照 GAPDH 为均一显影的条带,但 ATX 显影条带密度不同。其中,野型组、pSUPER-control 组、pSUPER-mock 组及对照组和转染组细胞 ATX 表达量较高,相比之下,重组质粒转染组 pSUPER-ATX 表达 ATX 量显著下降,且差异具有显著性, $P < 0.05$ (图 1)。野型组、pSUPER-control 组、pSUPER-mock 组及 pSUPER-ATX 组转染 3 组肿瘤之间 ATX 和 MMP-2、MMP-9 表达差异有显著性 ($P < 0.01$),并且 ATX 和 MMP-2 的表达两者有明显相关 ($r = 0.869, P < 0.01$)。重组质粒转染组 pSUPER-ATX 建立的裸鼠移植瘤中的 MMP-9、MMP-2 蛋白表达与其他各组相比较明显减低,差异有显著性 ($P < 0.05$) (图 2)。

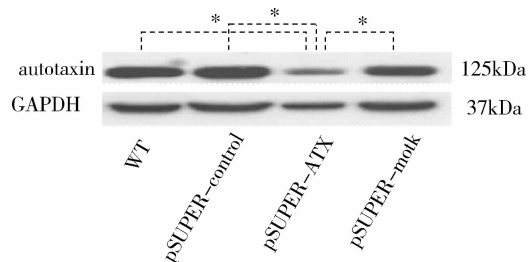


图 1 各组细胞移植瘤中 ATX 蛋白表达 (Western blot)
重组质粒转染组 pSUPER-ATX 建立的裸鼠移植瘤中 ATX 蛋白与其他各组相比较, * $P < 0.01$

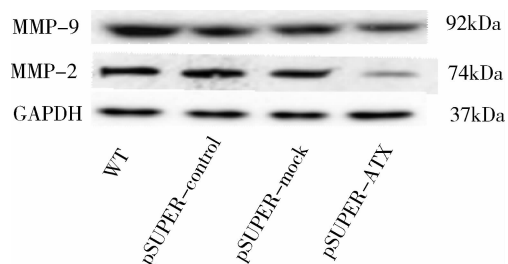


图 2 各组细胞移植瘤中 MMP-9、MMP-2 以及 GAPDH 的蛋白表达 (Western blot)

2. 裸鼠成瘤情况:平均 8 天,裸鼠右后腿外侧接种部位皮下开始长出肿瘤块,直径 3~4mm,成瘤率为 100%(20/20)。连续观察 8 周的肿瘤生长曲线见图 3。第 16 天开始干扰组 pSUPER-ATX 瘤体大小与野生组、pSUPER-control 组、pSUPER-mock 组相比有统计学差异($P<0.05$);第 8 周时,野生组、pSUPER-control 组、pSUPER-mock 组及 pSUPER-ATX 组的最终瘤体大小分别为 $477.1\pm8.4\text{mm}^3$ 、 $461.4\pm8.5\text{mm}^3$ 、 $483.6\pm5.2\text{mm}^3$ 和 $248.2\pm6.9\text{mm}^3$ (表 1),pSUPER-ATX 组明显小于野生组、pSUPER-control 组、pSUPER-mock 组($P<0.01$),阴性组与空白组间无显著性差异($P>0.05$)。靶向 shRNA 在裸鼠皮下抑制 AGS 细胞的增殖整个饲养过程中各组裸鼠饮食正常,精神状态良好,未出现明显的中毒等迹象。在第 8 周裸鼠处死时,野生组、pSUPER-control 组、pSUPER-mock 组及 pSUPER-ATX 组皮下移植瘤平均质量分别为 $2.21\pm0.21\text{g}$ 、 $2.54\pm0.17\text{g}$ 、 $2.36\pm0.36\text{g}$ 和 $0.97\pm0.23\text{g}$ 。干扰组 pSUPER-ATX 移植

瘤的体积和质量抑瘤率分别为 52.1% 和 52.3%(表 2、图 3、图 4)。

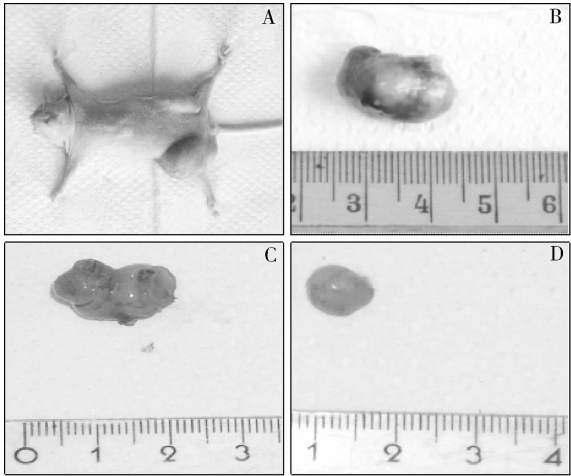


图 3 移植后第 8 周各组转染细胞系 AGS 异体移植瘤大体标本

A. 裸鼠解剖前;B. 野生组;C. pSUPER-mock 组;D. pSUPER-ATX 组

表 1 各组裸鼠的肿瘤在不同时间的体积比较(mm^3)

实验各组	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 6 周	第 8 周
WT 组	18.1 ± 0.3	59.3 ± 0.2	155.1 ± 4.1	238.2 ± 6.3	477.1 ± 8.4
pSUPER-control 组	18.2 ± 0.5	60.2 ± 1.1	159.1 ± 4.3	221.3 ± 5.1	461.4 ± 8.5
pSUPER-mock 组	18.6 ± 0.2	58.9 ± 0.9	154.2 ± 2.4	241.9 ± 5.8	483.6 ± 5.2
pSUPER-ATX 组	17.9 ± 0.2	45.2 ± 0.8	$90.7\pm3.5^*$	$163.5\pm6.2^*$	$248.2\pm6.9^*$

与 WT 组比较,* $P<0.05$

表 2 第 8 周处死时各组裸鼠的肿瘤各参数

实验各组	平均体重改变 变值(BWC/g)	肿瘤重量 (g)	抑制率 (%)
WT 组	3.5	2.54 ± 0.17	0
pSPUER-control 组	2.9	2.21 ± 0.21	13.0
pSPUER-mock 组	3.1	2.36 ± 0.15	7.0
pSPUER-ATX 组	2.8	0.97 ± 0.23	61.8

平均体重改变值(BWC/g);抑制率(%)=(1-各组肿瘤质量/野生组质量) $\times 100\%$

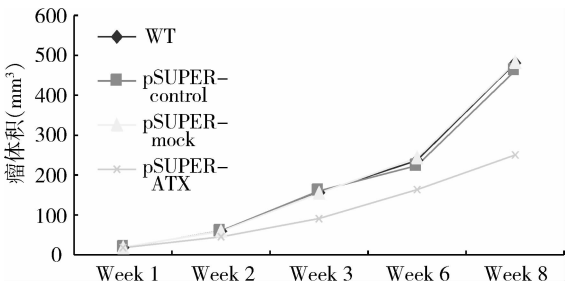


图 4 裸鼠异体移植瘤各时间段生长曲线

3. 免疫组化检测转染细胞系 AGS 异体移植瘤中 ATX 蛋白的表达状况:靶向 shRNA 抑制 ATX 蛋白的表达 HE 染色光镜下观察,移植瘤细胞核畸形、宽大、深染、偏位,核分裂相多见,有的癌细胞有多个细胞核。在裸鼠的心脏、肝脏、肾脏、脾等主要脏器,未发现明显异常改变。在空白和阴性对照组的免疫组化切片中,可见大量细胞的细胞质棕褐色颗粒(图 5)。

讨 论

胃癌的浸润转移是一个多基因调控和多因素综合作用的复杂的连续过程,在这个过程中,有许多不同因子在不同层次上单独调节,或者通过相互间的调节来调控整个浸润转移过程。它涉及到与一系列肿瘤侵袭转移相关基因的结构和(或)功能的异常。癌细胞在从原位转变为侵袭性癌肿的过程中需穿过基膜和基质间隙,这个过程需要有活力的细胞运动。有研究提示 MAPK 系统信号通路是影响控制细胞行为的底层重要通路,绝大多数细胞行为都受到此通路的

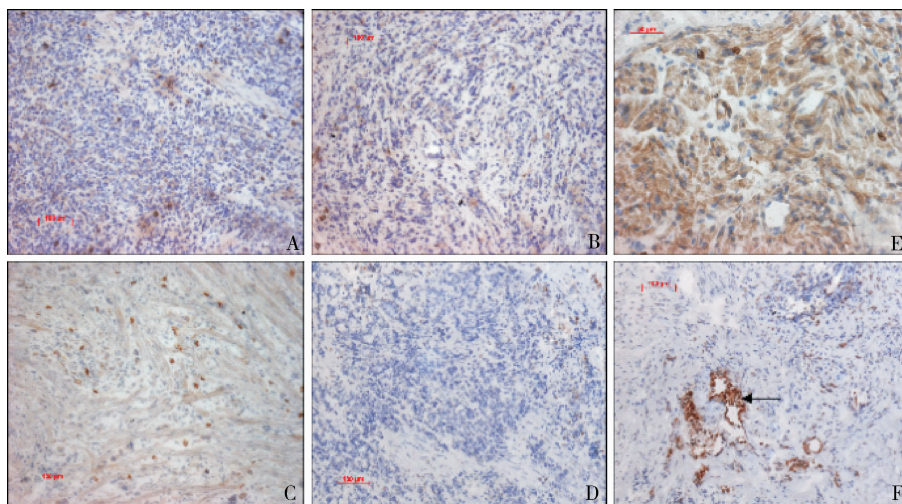


图5 免疫组化检测转染细胞系 AGS 异体移植瘤中 ATX 蛋白的表达状况

A. 野生组; B. pSUPER - control 组; C. pSUPER - mock 组分别有多处阳性 ATX 表达; D. pSUPER - ATX 组基本未见 ATX 蛋白阳性表达; E. 野生细胞异体移植瘤中的阳性 ATX 表达 ($\times 400$); F. 血管内皮的 ATX 阳性表达 (箭头所示)

影响,细胞凋亡与增殖,细胞的分化演变都受此通路控制。而 ATX 刺激肿瘤细胞是通过 ATX 的活性活化 Rho 信号途径来实现的^[14]。RhoGTP 酶家族是一类参与众多细胞信号转导通路的重要蛋白,其家族成员是联系膜表面受体与肌动蛋白细胞骨架的关键调节分子,起着分子开关的作用。反应于细胞外信号诱导肌动蛋白细胞骨架组织的相应改变,继发一系列的生物学反应,如细胞形态形成、趋化作用及轴突的定向等^[15]。

在其舌癌的关系研究中发现,ATX 可能是通过 Rho 信号途径来影响细胞的伪足或片足形成来促进肿瘤细胞的运动能力,从而增强其侵袭转移的能力。而在肝癌中,有报道认为,ATX 可以催化产生的 LPA 以自分泌/旁分泌的形式作用于 LPA1 受体,间接诱导 MMP-9 表达,从而促进肝癌细胞的浸润。ATX 与胃癌发生发展的关系目前研究较少,本研究组在前期的体外实验研究中发现 ATX 在胃癌中高表达,并与预后负相关;利用 RNA 干扰技术,将 ATX 经由 Xho I / Bg III 双酶切克隆至带有 H1 启动子的质粒载体 pSuper - neo - GFP 中,转染人胃癌细胞株,并建立稳定传代的低表达 ATX 的细胞株。在体外证实低表达自分泌因子 ATX 的胃癌细胞迁移和侵袭能力明显低于野生型细胞。从而证实 ATX 在胃癌细胞迁移过程中起重要作用,其参与介导瘤细胞的移动。因此有必要进一步研究 ATX 在体内中的影响情况。本实验揭示了靶向 autotaxin 的 shRNA 质粒能够在活体动物体内有效地下调 autotaxin 蛋白的表达,并抑制胃癌细胞

AGS 的生长。而且,shRNA 干扰靶向抑制 ATX 可以间接下调间质金属蛋白酶家族中的 MMP-2、MMP-9 的蛋白水平,从而降低胃癌细胞的侵袭能力。MMP-2 和 MMP-9 能有效的分解基膜的主要成分 IV 型及 V 型胶原蛋白,而胶原是细胞外基质的主要组成部分,细胞外基质尤其是基膜,是肿瘤浸润和转移过程必须克服的生理屏障,随着细胞外基质降解的增加,有利于肿瘤的浸润和转移。

除此之外,MMP-2、MMP-9 还具有一定的促进肿瘤血管生成作用,有利于血管内皮细胞迁移,从而促进肿瘤血管生成。同时,MMP-2、MMP-9 还能促进一些生长因子如 VEGF、bFGF、TGF- β 等合成与释放,促进肿瘤血管生成作用。随着胃癌组织中 ATX 表达降低,使 MMP-2、MMP-9 表达降低,抑制了肿瘤的浸润和转移。其分子机制可能是通过活化 Rho 信号系统来促进肿瘤细胞运动、促进血管生长因子来促进微血管的生成及作用于间质金属蛋白酶家族促进肿瘤周围基质的降解等方面来共同参与肿瘤发生、发展和转移等过程。研究说明 ATX 及 Rho、MMP 家族在胃癌细胞信号传导中存在通路,ATX 低表达和 MMP-2、MMP-9 的低表达共同作用,抑制胃癌的增殖和转移,从而影响病人预后,详细信号通路及机制有待进一步研究阐明。此结果为揭示胃癌转移分子机制提供新的证据,并为基因治疗的临床应用研究开辟了新思路。

参考文献

- 1 Stracke ML, Krutzsch HC, Unsworth EJ, *et al.* Identification, purifi-

- cation, and partial sequence analysis of autotaxin, a novel motility – stimulating protein[J]. J Biol Chem, 1992, 267(4):2524 – 2529
- 2 Umezu – Goto M, Kishi Y, Taira A, *et al.* Autotaxin has lysophospholipase D activity leading to tumor cell growth and motility by lysophosphatidic acid production[J]. J Cell Biol, 2002, 158(2):227 – 233
- 3 Saunders LP, Cao W, Chang WC, *et al.* Kinetic analysis of autotaxin reveals substrate – specific catalytic pathways and a mechanism for lysophosphatidic acid distribution[J]. J Biol Chem, 2011, 286(34):30130 – 30141
- 4 Seifert A, Klonisch T, Wulfaenger J, *et al.* The cellular localization of autotaxin impacts on its biological functions in human thyroid carcinoma cells[J]. Oncol Rep, 2008, 19(6):1485 – 1491
- 5 Saunders LP, Ouellette A, Bandle R, *et al.* Identification of small – molecule inhibitors of autotaxin that inhibit melanoma cell migration and invasion[J]. Mol Cancer Ther, 2008, 7(10):3352 – 3362
- 6 Liu S, Umezu – Goto M, Murph M, *et al.* Expression of autotaxin and lysophosphatidic acid receptors increases mammary tumorigenesis, invasion, and metastases[J]. Cancer Cell, 2009, 15(6):539 – 550
- 7 Chen M, O'Connor KL. Integrin alpha6beta4 promotes expression of autotaxin/ENPP2 autocrine motility factor in breast carcinoma cells [J]. Oncogene, 2005, 24(32):5125 – 5130
- 8 Panupinthu N, Lee HY, Mills GB. Lysophosphatidic acid production and action: critical new players in breast cancer initiation and progression[J]. Br J Cancer, 2010, 102(6):941 – 946
- 9 Stassar MJ, Devitt G, Brosius M, *et al.* Identification of human renal cell carcinoma associated genes by suppression subtractive hybridization[J]. Br J Cancer, 2001, 85(9):1372 – 1382
- 10 Hoelzinger DB, Nakada M, Demuth T, *et al.* Autotaxin: a secreted autocrine/paracrine factor that promotes glioma invasion[J]. J Neurooncol, 2008, 86(3):297 – 309
- 11 Wu JM, Xu Y, Skill NJ, *et al.* Autotaxin expression and its connection with the TNF – alpha – NF – kappaB axis in human hepatocellular carcinoma[J]. Mol Cancer, 2010, 9:71
- 12 Chen Y, Wei X, Guo C, *et al.* Runx3 suppresses gastric cancer metastasis through inactivation of MMP – 9 by upregulation of TIMP – 1 [J]. Int J Cancer, 2011, 129(7):1586 – 1598
- 13 Gong M, Meng L, Jiang B, *et al.* p37 from Mycoplasma hyorhinis promotes cancer cell invasiveness and metastasis through activation of MMP – 2 and followed by phosphorylation of EGFR[J]. Mol Cancer Ther, 2008, 7(3):530 – 537
- 14 Wang W, Wu F, Fang F, *et al.* Inhibition of invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma cells via targeting RhoC in vitro and in vivo[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(21):6804 – 6812
- 15 Croft DR, Olson MF. Transcriptional regulation of Rho GTPase signaling[J]. Transcription, 2011, 2(5):211 – 215

(收稿日期:2012 – 07 – 18)

(修回日期:2012 – 09 – 10)

雷帕霉素对双侧输尿管梗阻再通大鼠肾脏的保护作用

王 芳 张 岩 庄垟垟 陈必成 蔡 勇 夏 鹏 杨亦荣 郑少玲

摘 要 **目的** 探讨雷帕霉素对双侧输尿管梗阻再通(BUOR)大鼠肾脏肾小管的保护作用以及抗纤维化作用。**方法** 48只SD雄性大鼠随机均分为假手术组、BUO组和雷帕霉素组,每组各16只。BUO组和雷帕霉素组大鼠结扎双侧输尿管制作BUO模型,假手术组仅游离双侧输尿管。BUO组及雷帕霉素组输尿管梗阻24h后解除梗阻。雷帕霉素组于术前1天至处死当天每天予以雷帕霉素口服液[2mg/(kg·d)]灌胃。假手术组及BUO组用等体积生理盐水灌胃。3组大鼠于术后4、7天收集24h尿液及抽取静脉血检验,采用免疫组化及Western blot检测肾损伤分子-1(KIM-1)、白介素-18(IL-18)、转化生长因子-β1(TGF-β1)及α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA)在肾脏的表达。**结果** 雷帕霉素组大鼠第4、7天血肌酐及尿素氮均低于BUO组($P < 0.05$),肾脏KIM-1、IL-18、TGF-β1、α-SMA表达明显低于同时时间点BUO组,但仍高于假手术组($P < 0.05$)。**结论** 雷帕霉素可能通过下调TGF-β1、α-SMA、KIM-1和IL-18的表达减轻BUO术后所致的肾间质纤维化,保护肾小管。

关键词 雷帕霉素 KIM-1 IL-18 TGF-β1 α-SMA 输尿管梗阻

Protective Effect of Rapamycin on Rat Kidney after Bilateral Ureteral Obstruction. Wang Fang, Zhang Yan, Zhuang Yangyang, Cai Yong, Xia Peng, Yang Yirong, Zheng Shaoling. Centre for Transplantation, The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325000, China

Abstract Objective To explore the protective effects of rapamycin on bilateral ureteral obstruction recanalization rats. **Methods**

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(Y2110944)

作者单位:325000 温州医学院附属第一医院器官移植中心

通讯作者:郑少玲,电子信箱:zslhospital@163.com