

## • 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2005)13-03-0292-05

## 化合物 48/80 对载脂蛋白 E 基因敲除小鼠主动脉斑块的影响

王双<sup>1,2</sup>, 杨永宗<sup>2</sup>, 唐雅玲<sup>2</sup>, 唐朝克<sup>2</sup>, 易光辉<sup>2</sup>, 孙玉慧<sup>2</sup>, 叶旭<sup>2</sup>, 许增祥<sup>2</sup>, 彭旷<sup>2</sup>, 彭倩<sup>2</sup>, 万载阳

(1. 中南大学湘雅医学院病理生理学系, 湖南省长沙市 410078; 2. 南华大学心血管病研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 病理学与病理生理学; 肥大细胞; 主动脉斑块; 载脂蛋白 E 基因敲除小鼠; 化合物 48/80

[摘要] 目的 目前, 肥大细胞与动脉粥样硬化的关系研究主要是病理学观察和细胞学实验。基于此种现状, 本课题拟用化合物 48/80 探讨肥大细胞脱颗粒与载脂蛋白 E 基因敲除小鼠主动脉斑块的关系。方法 40 只 10 周龄载脂蛋白 E 基因敲除小鼠给予高脂高胆固醇饲养至 16 周龄, 随机分为 2 组 ( $n=20$ ), 实验组给予腹腔注射化合物 48/80 (0.5 mg/kg), 隔日一次, 共 4 次; 对照组腹腔注射 D-hank's。第 4 次注射后半小时, 安乐死处死动物, 摘眼球取血, 分离血清, 采用酶法测定血清脂质含量, 采用比色法测定血清类胰蛋白酶活性浓度。原位灌流固定, 取主动脉置 10% 中性缓冲福尔马林中固定, 石蜡包埋, 连续切片, HE 染色、甲苯胺蓝染色以及  $\alpha$  平滑肌肌动蛋白、Mac3、VE-cadherin 免疫组织化学染色。HMIAS2000 高清晰度彩色医学图文分析系统进行图像分析。结果 实验组血清类胰蛋白酶活性浓度明显高于对照组 ( $0.57 \pm 0.13$  u/L 比  $0.36 \pm 0.10$  u/L), 但两组血清脂质含量无明显差异。实验组与对照组相比, 主动脉外膜脱颗粒肥大细胞百分率升高 ( $80.6\% \pm 17.8\%$  比  $13.5\% \pm 4.1\%$ ,  $P < 0.05$ ), 主动脉斑块最大横截面积增大 [ $(1.25 \pm 0.36) \times 10^4 \mu\text{m}^2$  比  $(0.79 \pm 0.24) \times 10^4 \mu\text{m}^2$ ,  $P < 0.05$ ], 斑块内  $\alpha$  平滑肌肌动蛋白阳性细胞百分率下降 ( $36.2\% \pm 14.9\%$  比  $69.7\% \pm 31.3\%$ ,  $P < 0.05$ ) 斑块内 Mac3 阳性细胞百分率升高 ( $58.6\% \pm 17.3\%$  比  $28.5\% \pm 16.4\%$ ,  $P < 0.05$ ), 而斑块内膜 VE-cadherin 平均光密度减小 ( $48 \pm 8$  比  $65 \pm 10$ ,  $P < 0.05$ )。结论 化合物 48/80 促使肥大细胞脱颗粒, 并使载脂蛋白 E 基因敲除小鼠主动脉斑块最大横截面积增大、斑块内 Mac3 阳性细胞百分率升高、 $\alpha$  平滑肌肌动蛋白阳性细胞百分率下降、斑块内膜 VE-cadherin 平均光密度减小。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Effect of Compound 48/80 on Thoracic Aortic Plaque in Apolipoprotein E-knock out Mice

WANG Shuang<sup>1,2</sup>, YANG Yong-Zong<sup>2</sup>, TANG Ya-Ling<sup>2</sup>, TANG Chao-Ke<sup>2</sup>, YI Guang-Hui<sup>2</sup>, SUN Yu-Hui<sup>2</sup>, YE Xu<sup>2</sup>, XU Zeng-Xiang<sup>2</sup>, PENG Kuang<sup>2</sup>, PENG Qian<sup>2</sup>, and WAN Zai-Yang<sup>2</sup>

(1. Department of Pathophysiology, Xiangya Medical College, Central South University, Changsha, 410078; 2. Institute of Cardiovascular Disease, Nanhua University, Hengyang 421001, China)

[KEY WORDS] Mast Cell; Aorta Plaque; Apolipoprotein E-Knockout Mice; Compound 48/80

[ABSTRACT] Aim So far, research on the relationship of mast cells, atherosclerosis and angiogenesis is mostly pathological observation and cytology experiments. Based on the status, compound 48/80 and apolipoprotein E-knockout mice were used to investigate the effect of mast cell degranulation on plaque. Methods 40 apoE<sup>-/-</sup> mice were fed a Western type diet from 10 weeks old. At 16 weeks old, mice were divided into 2 groups and treated for 8 days as follows: group 1, mice were intraperitoneal injected with compound 48/80, 0.5 mg/kg, every other day; and group 2, control mice were intraperitoneal injected with buffer. After half an hour of the fourth injection, euthanasia, blood was collected from the orbit for measurement of plasma lipids and trypase, mice were in situ perfusion fixed with 10% neutral buffered formalin and aortas were removed. Then aortas were fixed in neutral buffered formalin, and embedded in paraffin. Sections were routinely stained with hematoxylin and eosin. Corresponding sections on separate slides were stained immunohistochemically with antibodies against a macrophage-specific antigen (Mac3),  $\alpha$  smooth muscle actin, VE-cadherin. The images were analyzed with a Olympus BX51 microscope and HMIAS2000 software to distinguish the maximum cross section area of aorta plaque and expression of Mac3,  $\alpha$  smooth muscle actin, VE-cadherin between the two groups. Results Trypase levels were  $0.54 \pm 0.29$  versus  $0.36 \pm 0.13$  mmol/L in the Compound 48/80 and control groups, respectively ( $P < 0.05$ ). There was no difference on serum lipids content. Compound 48/80 group were compared with control group, the maximum cross section area of aorta plaque was significantly increased [ $(1.25 \pm 0.36) \times 10^4 \mu\text{m}^2$  VS  $(0.79 \pm 0.24) \times 10^4 \mu\text{m}^2$  in control group,  $P < 0.05$ ], the percent of Mac3+ cell was increased ( $58.6\% \pm 17.3\%$  vs  $28.5\% \pm 16.4\%$ ,  $P < 0.05$ ), the percent of  $\alpha$  smooth muscle actin cell was reduced ( $36.2\% \pm 14.9\%$  vs  $69.7\% \pm 31.3\%$ ,  $P < 0.05$ ) and the MOD of VE-cadherin of aorta endothelium was reduced ( $48 \pm 8$  vs  $65 \pm 10$ ,  $P < 0.05$ ). Conclusions Compound 48/80 promotes mast cell degranulation and increase the maximum cross section area and the percent of Mac3+ cell, reduce the the percent of  $\alpha$  smooth muscle actin cell and the MOD of VE-cadherin of aorta endothelium of aorta plaque.

[收稿日期] 2005-04-26 [修回日期] 2005-05-20

[基金项目] 湖南省重点科技项目 (01SSY1003) 资助

[作者简介] 王双, 讲师, 博士研究生, 主要从事动脉粥样硬化性疾病研究, 联系电话 0734-8281277, swansino@hotmail.com。通讯作者杨永宗, 教授, 博士研究生导师, 主要从事动脉粥样硬化性疾病研究, E-mail 为 yzyanghy@163.com。唐雅玲, 硕士研究生。

肥大细胞(mast cell, MC)来源于骨髓前体细胞,主要位于结缔组织内,其主要特征为胞浆内含有大量异染性颗粒,颗粒中含有多种生物活性成分<sup>[1]</sup>。近年来对颈动脉粥样硬化切除标本及尸检标本的研究表明,肥大细胞对动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)斑块的形成起着重要作用<sup>[2,3]</sup>。本研究所在细胞学水平,多方面探讨了肥大细胞促进动脉粥样硬化发生发展的机制,得到的主要结论有:肥大细胞促进氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导的平滑肌细胞泡沫化<sup>[4]</sup>;④肥大细胞抑制巨噬细胞源性泡沫细胞胆固醇流出<sup>[5]</sup>。到目前为止,肥大细胞与动脉粥样硬化的关系研究主要是病理学观察和细胞学实验,而有关的动物学实验资料较少。基于此种现状,本课题拟用动物实验探讨肥大细胞脱颗粒与斑块形态、细胞组成、血管内皮钙粘蛋白(VE-cadherin)表达量之间的关系。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

六周龄雄性载脂蛋白 E 基因敲除(载脂蛋白 E<sup>-/-</sup>)小鼠购自北京大学医学部实验动物中心;化合物 48/80、甲苯胺蓝、BAPNA 购自 Sigma 公司;大鼠抗小鼠 Mac3 一抗为 Santa Cruz 公司产品;兔抗小鼠 VE-cadherin 一抗、兔 IgG 即用型 SABC 免疫组织化学试剂盒、鼠抗小鼠  $\alpha$  肌动蛋白(actin)一抗、鼠 IgG 即用型 SABC 免疫组织化学试剂盒、AB 显色试剂盒均购自武汉博士德公司。

### 1.2 实验动物及分组

10 周龄雄性载脂蛋白 E<sup>-/-</sup>小鼠 40 只饲养于无特异病原体动物房,高脂高胆固醇饮食(0.25% 胆固醇+15% 猪油)喂养至实验结束。于 14 周龄时,随机将小鼠分为两组,每组各 20 只:对照组腹腔注射 D-Hank's 0.1 mL;实验组腹腔注射化合物 48/80(0.5 mg/kg 体重)0.1 mL。两组均为隔天腹腔注射一次,共注射 4 次。

第 4 次注射后 30 min,腹腔注射 1% 戊巴比妥钠溶液(50 mg/kg),采血、原位灌注,自主动脉弓至髂总动脉分支剪取主动脉,置于 10% 中性缓冲福尔马林中固定 8~12 h,石蜡包埋,连续切片。

### 1.3 血清中脂质含量的测定

采用酶法并用全自动生物化学分析仪测定新鲜血清中甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL)的含量。

### 1.4 血清中类胰蛋白酶活性浓度的测定

参照文献[6]的方法测定血清中类胰蛋白酶活性浓度,将 40  $\mu$ L 待测样本加入到 1.5 mL Tris-HCl 缓冲液中,震荡混匀后,加入 40  $\mu$ L BAPNA 二甲基亚砷溶液,3  $^{\circ}$ C 水浴并计时,20 min 后,30% 乙酸终止反应,立即用紫外分光光度计取 410 nm 波长测定吸光值;再利用公式  $\Delta A \times 10\,000 \times V / (\Delta t \times v \times \epsilon \times L)$  计算类胰蛋白酶活性浓度(u/L),式中:  $\Delta A$  为光密度的差值,  $V$  为反应总体积,  $v$  为待测样本体积,  $\epsilon$  为摩尔吸光系数,  $L$  为光程。

### 1.5 苏木素-伊红(HE)染色

连续切片中,每二十张切片做一张 HE 染色,程序如下:石蜡切片 60  $^{\circ}$ C 烤片 30 min  $\rightarrow$  二甲苯 iv 浸泡 3~5 min  $\rightarrow$  二甲苯 ①浸泡 3~5 min  $\rightarrow$  95% 酒精浸泡 3~5 min  $\rightarrow$  85% 酒精浸泡 3~5 min  $\rightarrow$  蒸馏水 3~5 min  $\rightarrow$  苏木素 5 min  $\rightarrow$  稍水洗后用 1% 盐酸水溶液分化数秒钟  $\rightarrow$  流水冲洗 15 min 以上  $\rightarrow$  0.5% 伊红酒精溶液 1 min  $\rightarrow$  85% 酒精浸泡数秒钟  $\rightarrow$  95% 酒精浸泡数秒钟  $\rightarrow$  100% 酒精 iv 浸泡 1~3 min  $\rightarrow$  100% 酒精 ②浸泡 1~3 min  $\rightarrow$  二甲苯 iv 浸泡 5 min  $\rightarrow$  二甲苯 ③浸泡 5 min  $\rightarrow$  中性树胶封片。

### 1.6 甲苯胺蓝肥大细胞染色

石蜡切片常规脱蜡至水,0.5% 甲苯胺蓝酒精溶液染色 1~2 min,蒸馏水速洗,0.01% 伊红水溶液染色 30 s~1 min,95% 酒精分色 1~2 min  $\times$  2 次,100% 酒精脱水 3 min,二甲苯透明,中性树胶封片。

### 1.7 免疫组织化学染色

石蜡切片常规脱蜡至水;3%  $H_2O_2$  5~10 min 灭活内源性过氧化物酶,蒸馏水洗 3 min  $\times$  3 次;热修复抗原;5% BSA 封闭液,室温 20 min,甩去多余液体,不洗;滴加 1:50 稀释的一抗(小鼠或大鼠、兔 IgG),37  $^{\circ}$ C 1 h 或 4  $^{\circ}$ C 过夜,PBS 洗涤 3 min  $\times$  3 次;滴加生物素化山羊抗小鼠(大鼠或兔) IgG,37  $^{\circ}$ C、20 min。PBS 洗涤 3 min  $\times$  3 次;滴加试剂 SABC,37  $^{\circ}$ C、20 min。PBS 洗涤 5 min  $\times$  4 次;DAB 显色:使用 DAB 显色试剂盒。取 1 mL 蒸馏水,加试剂盒中 A、B、C 试剂各 1 滴,混匀后加至切片。室温显色,显微镜下控制反应时间,一般在 5~10 min 之间,蒸馏水洗涤;苏木素复染 5 min,1% 盐酸水溶液分化数秒钟,流水冲洗 1 h 以上。梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,显微镜下观察。

### 1.8 图像分析

HMIAS2000 高清晰度彩色医学图文分析系统测量斑块最大横截面积、计算脱颗粒的肥大细胞百分率,并定量分析免疫组织化学染色。(1) 阳性细胞百分率:每只小鼠选取 2 张非连续性免疫组织化学染

色切片,40 倍物镜下计数斑块内阳性细胞数(不论染色强弱,凡显色者均为阳性),将斑块内阳性细胞除以总细胞数(按细胞核总数计算)即得阳性细胞百分率。(2)目标平均光密度<sup>[7]</sup>:每只小鼠随机选取2张非连续性免疫组织化学染色切片,40 倍物镜下测定目标平均灰度、标定空白处平均灰度和目标面积,依据公式计算目标平均光密度=lg 标定空白处平均灰度/目标平均灰度。

1.9 统计学分析

所有数据均用  $\bar{x} \pm s$  表示。用 SPSS10.0 进行统计处理,统计学采用 *t* 检验,以  $P < 0.05$  判定差异的显著性。

2 结果

2.1 化合物 48/80 对载脂蛋白 E 基因敲除小鼠血脂成分及含量的影响

化合物 48/80 对载脂蛋白 E<sup>-/-</sup>小鼠血脂成分及含量无明显影响(表 1, Table 1)。

表 1. 血清脂质含量 ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)

Table 1. Lipid composition of mouse serum

分 组	TG	TC	HDL	LDL
对照组	1.30 ± 0.37	12.74 ± 0.93	0.46 ± 0.12	12.02 ± 0.91
实验组	0.94 ± 0.22	11.74 ± 3.56	0.53 ± 0.06	11.01 ± 4.13

2.2 化合物 48/80 对载脂蛋白 E 基因敲除小鼠血清类胰蛋白酶活性

实验组小鼠血清中类胰蛋白酶活性( $0.57 \pm 0.13$  u/L)明显高于对照组( $0.36 \pm 0.10$  u/L;  $P < 0.05$ )。

2.3 化合物 48/80 对载脂蛋白 E 基因敲除小鼠主动脉斑块最大面积

对照组斑块(图 1A, Figure 1A)平均面积为( $0.79 \pm 0.24$ )  $\times 10^4 \mu\text{m}^2$ ,实验组斑块(图 1B, Figure 1B)平均面积为( $1.25 \pm 0.36$ )  $\times 10^4 \mu\text{m}^2$ ,两组比较,差异有显著性( $P < 0.05$ )。

2.4 化合物 48/80 促进主动脉外膜肥大细胞脱颗粒

实验组套环侧主动脉外膜脱颗粒的肥大细胞百分率明显高于对照组( $80.6\% \pm 17.8\%$  比  $13.5\% \pm 4.1\%$ ,  $P < 0.05$ ),表明化合物 48/80 显著促进肥大细胞脱颗粒(图 2, Figure 2)。

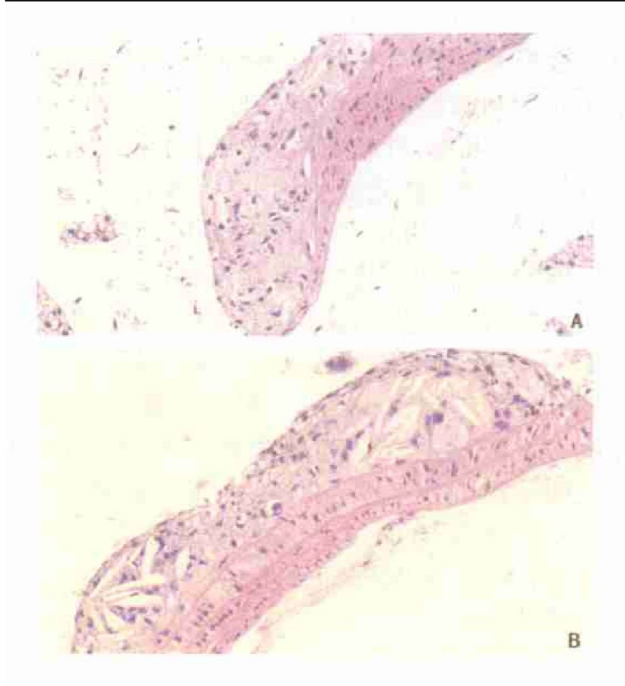


图 1. 主动脉石蜡切片 HE 染色结果 (10 × 20) A 为对照组, B 为实验组。

Figure 1. Sections of aorta were stained with hematoxylin and eosin

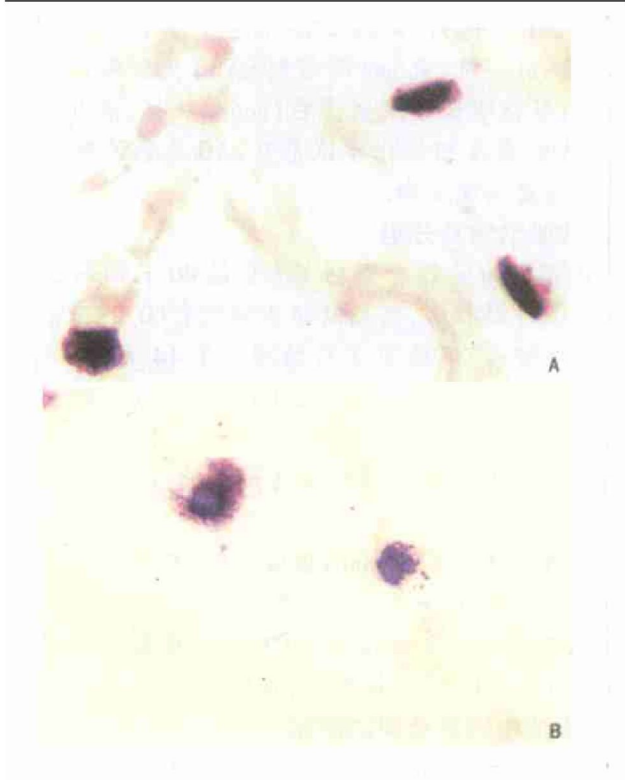


图 2. 主动脉石蜡切片甲苯胺蓝染色结果 (10 × 100) A 为对照组, B 为实验组。

Figure 2. Sections of aorta were stained with Toluidine blue



2.5 主动脉斑块内  $\alpha$  肌动蛋白阳性细胞百分率  
实验组套环侧主动脉斑块内  $\alpha$  actin 阳性细胞

百分率明显低于对照组( $36.2\% \pm 14.9\%$  比  $69.7 \pm 31.3\%$ ,  $P < 0.05$ ); 见图 3(Figure 3)。

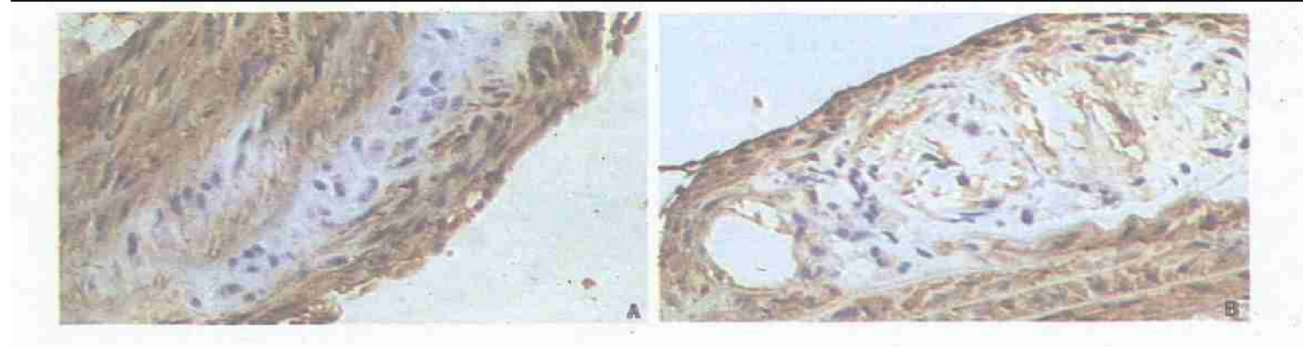


图 3. 主动脉石蜡切片  $\alpha$  actin 免疫组织化学 ( $10 \times 20$ ) A 为对照组, B 为实验组。

Figure 3. Sections of aorta were stained with  $\alpha$ -smooth muscle actin

2.6 主动脉斑块内 Mac3 阳性细胞百分率  
实验组套环侧主动脉斑块内 Mac3 阳性细胞百

分率明显高于对照组( $58.6\% \pm 17.3\%$  比  $28.5\% \pm 16.4\%$ ,  $P < 0.05$ ), 见图 4(Figure 4)。

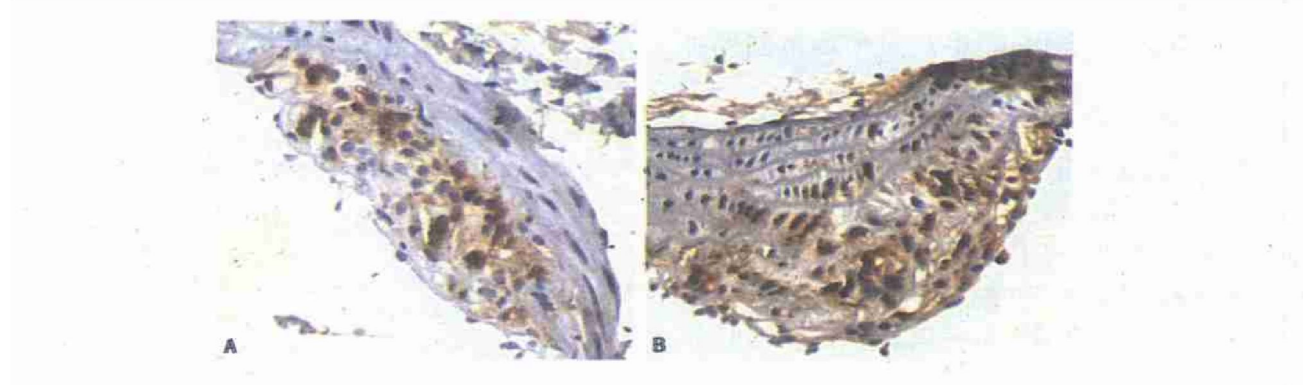


图 4. 主动脉石蜡切片 Mac3 免疫组织化学 ( $10 \times 20$ ) A 为对照组, B 为实验组。

Figure 4. Sections of aorta were stained with Mac3

2.7 主动脉斑块处内膜 VE-cadherin 平均光密度  
实验组套环侧主动脉斑块内 VE-cadherin 免疫

组织化学染色平均光密度明显低于对照组( $48 \pm 8$  比  $65 \pm 10$ ,  $P < 0.05$ ), 见图 5(Figure 5)。

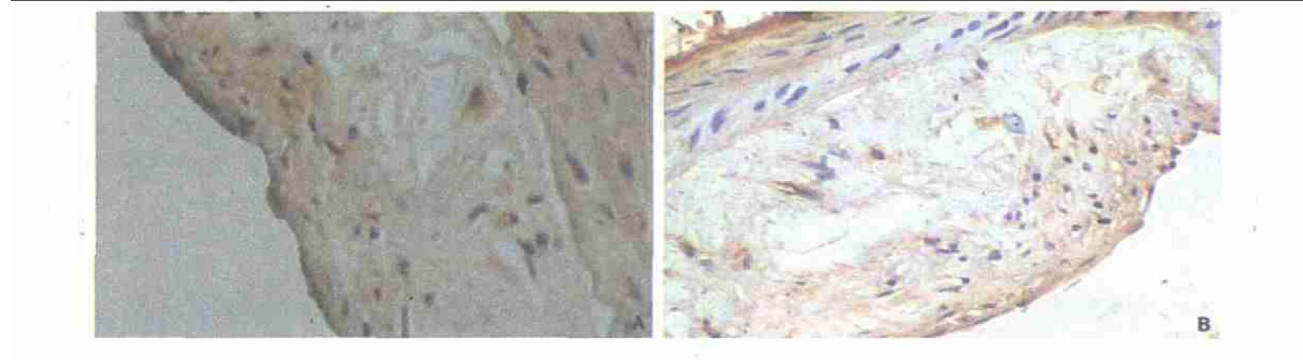


图 5. 主动脉石蜡切片 VE-cadherin 免疫组织化学 ( $10 \times 20$ ) A 为对照组, B 为实验组。

Figure 5. Sections of aorta were stained with VE-cadherin

### 3 讨论

近年来对颈动脉粥样硬化切除标本及尸检标本的研究表明,动脉粥样硬化性斑块病灶的外膜和内膜肥大细胞数量增多,学者们因此推测肥大细胞脱颗粒释放的多种介质促进了动脉粥样硬化斑块的发生和发展,但两者是否真的存在因果联系,还是仅仅为伴随现象,尚缺动物学在体实验研究。

本课题利用化合物 48/80 促进载脂蛋白 E 基因敲除鼠肥大细胞脱颗粒,观察后者对主动脉斑块面积、形态学分类和各细胞成分(包括斑块内平滑肌细胞、巨噬细胞和斑块内膜的内皮细胞)的改变的影响。实验结果表明,在化合物 48/80 的作用下,载脂蛋白 E 基因敲除鼠血清类胰蛋白酶活性浓度升高。类胰蛋白酶不仅是肥大细胞分泌颗粒中含量最多的酶(占细胞总蛋白含量的 20%),而且由于未能在机体其它细胞中检测出类胰蛋白酶的存在<sup>[8]</sup>,类胰蛋白酶成为鉴定肥大细胞的特异性标志。此结果表明,用腹腔注射化合物 48/80 促进肥大脱颗粒的方法是可行的。至于化合物 48/80 通过何种机制促进肥大细胞脱颗粒,目前一致公认的是其直接激活 G 蛋白而诱导胞裂外排<sup>[9]</sup>,但是 G 蛋白通过何种下游途径触发细胞脱颗粒还存在争议<sup>[10]</sup>。据相关文献报道,普通染料甲苯胺蓝染色可很好显示结缔组织肥大细胞的异染颗粒。因此,采用主动脉石蜡包埋连续切片甲苯胺蓝染色,以观察双侧主动脉肥大细胞脱颗粒情况。结果表明,实验组套环侧主动脉外膜脱颗粒肥大细胞的比例增加。但未能在斑块内膜发现肥大细胞,这与人的斑块内膜存在肥大细胞有差异,初步判断这是由于种属差异所致。

化合物 48/80 使载脂蛋白 E 基因敲除鼠套环侧主动脉斑块面积增大,表明肥大细胞促进斑块的发展,分析其机制,可能与其释放的多种活性物质有关。如其释放的巨噬细胞趋化蛋白 1(MCP-1)、巨噬细胞炎性蛋白 1 $\alpha$ (MIP-1 $\alpha$ )、巨噬细胞炎性蛋白 1 $\beta$ (MIP-1 $\beta$ )等多种趋化因子,可作用于单核细胞,使外周血单核细胞迁入血管内膜,分化为巨噬细胞,构成动脉粥样硬化早期的重要事件<sup>[11]</sup>。

主动脉斑块内 Mac3 阳性细胞的百分率升高,不

仅来源于外周血的单核细胞的迁入和分化,还可能来自平滑肌细胞的转化。Rong 等<sup>[12]</sup>的研究结果表明,荷脂后的小鼠动脉平滑肌细胞  $\alpha$ -actin 表达减少,Mac2、CD68 表达增多,提示荷脂后平滑肌细胞可向巨噬细胞转化。本实验中,实验组主动脉斑块内  $\alpha$ -actin 阳性细胞百分率较对照组减少,可能与化合物 48/80 促进平滑肌细胞内脂质聚集,导致部分  $\alpha$ -actin 阳性细胞转化为 Mac3 阳性细胞所致。VE-cadherin 是血管内皮细胞特异表达的钙离子依赖性的粘附分子,介导内皮与内皮细胞之间的连接。目前对肥大细胞是否促进 VE-cadherin 降解存在不一致的意见<sup>[13]</sup>。本实验结果则显示,肥大细胞脱颗粒可促进血管内膜 VE-cadherin 降解,后者可能是肥大细胞脱颗粒促进斑块发生发展的重要机制之一。

### [参考文献]

- [1] Kovanen PT. Role of mast cell in atherosclerosis. *Chem Immunol*, 1995, **62**: 132-170
- [2] Erno MP, Lehtonen-Smedsa, Lindsberg PJ, Lauri Soine, Eija Saimanen, et al. Carotid plaque mast cells associate with atherogenic serum lipids, high grade carotid stenosis and symptomatic carotid artery disease. *Cerebrovasc Dis*, 2005, **19**: 291-301
- [3] Kelley JL, Chi DS, Abour'Auda W, Smith JK, Krishnaswamy G. The molecular role of mast cells in atherosclerotic cardiovascular disease. *Mol Med Today*, 2000, **6** (8): 304-308
- [4] 甘露,刘录山,万载阳,万腊香,杨永宗. 肥大细胞对平滑肌源性泡沫细胞 iv 型胶原和  $\alpha$ 2(I)型胶原表达的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (5): 541-544
- [5] 赵战芝,杨永宗. 肥大细胞抑制 HDL<sub>3</sub> 介导 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞胆固醇流出的研究. 待发表.
- [6] Lavens SE, Proud D, Warner JA. A sensitive colorimetric assay for the release of tryptase from human lung mast cells in vitro. *J Immunol*, 1993, **166**: 93-102
- [7] 郑智勇,吴文钰. 图像分析仪与定量诊断病理学. *诊断病理学杂志*, 1996, **4** (3): 246-247
- [8] Payne V, Kam PC. Mast cell tryptase: a review of its physiology and clinical significance. *Anaesthesia*, 2004, **59** (7): 695-703
- [9] Aridor M, Traub LM, Sagr-Eisenberg R. Exocytosis in mast cells by basic ecratagogs: evidence for direct activation of GTP-binding proteins. *J Cell Biol*, 1990, **111**: 909-917
- [10] Pinxteren JA, O'Sullivan AJ, Larbi KY, Tatham PE, Gomperts BD. Thirty years of stimulus secretion coupling: from Ca<sup>2+</sup> to GTP in the regulation of exocytosis. *Biochimie*, 2000, **82** (4): 385-393
- [11] 阮秋蓉. 趋化因子与动脉粥样硬化. 见: 杨永宗,等. *动脉粥样硬化性心脏病—基础与临床*. 北京: 科学出版社, 2004; 609-618
- [12] Rong JX, Shapiro M, Trogan E, Fisher EA. Transdifferentiation of mouse aortic smooth muscle cells to a macrophage-like state after cholesterol loading. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100** (23): 13 531-536
- [13] Sendo T, Sumimura T, Itoh Y, Aki K, Yano T, Oike M, et al. Involvement of proteinase-activated receptor-2 in mast cell tryptase-induced barrier dysfunction in bovine aortic endothelial cells. *Cell Sig*, 2003, **15** (8): 773-781

(此文编辑 胡必利,文玉珊)