

## 纤维蛋白原诱导大鼠主动脉平滑肌细胞增殖及趋化

韩雅玲<sup>1</sup>, 齐岩梅<sup>2</sup>, 康 建<sup>1</sup>, 梁 明<sup>1</sup>, 刘海伟<sup>1</sup>, 陈兴华<sup>1</sup>

(1. 沈阳军区总医院心内科; 2. 辽宁省金秋医院心内科, 辽宁省沈阳市 110016)

[关键词] 病理学与病理生理学; 纤维蛋白原; 血管平滑肌细胞; 细胞增殖; 趋化反应

[摘要] **目的** 观察不同浓度纤维蛋白原对体外培养的血管平滑肌细胞增殖、趋化和随机迁移的影响, 探讨其致动脉粥样硬化的可能作用及其机制。**方法** 采用胶原酶消化法培养大鼠主动脉平滑肌细胞, 用 BrdU 掺入法和细胞计数法观察其增殖能力, 刮伤实验及慢速显微摄像技术检测其随机迁移能力, 微孔滤膜法观察其趋化性, Western 印迹法检测其明胶酶 A 的表达, 明胶酶谱分析其分泌的明胶酶活性。**结果** 细胞计数 ( $r = 0.860, P < 0.05$ ) 和 BrdU 掺入实验 ( $r = 0.880, P < 0.05$ ) 发现 0.2 g/L~ 3.2 g/L 纤维蛋白原呈剂量依赖性地促进血管平滑肌细胞增殖, 其中 0.4、0.8、1.6 和 3.2 g/L 纤维蛋白原作用 48 h, 细胞计数依次为  $(6.32 \pm 0.39) \times 10^7/L$ 、 $(10.63 \pm 0.25) \times 10^7/L$ 、 $(12.31 \pm 0.44) \times 10^7/L$  和  $(13.59 \pm 0.43) \times 10^7/L$ , BrdU 掺入率依次为  $5.2\% \pm 2.2\%$ 、 $17.5\% \pm 2.0\%$ 、 $21.5\% \pm 2.3\%$  和  $25.5\% \pm 2.5\%$ , 与对照组 [分别为  $(5.63 \pm 0.34) \times 10^7/L$  和  $2.0\% \pm 0.8\%$ ] 比较差异均有显著性 ( $P < 0.01$ )。微孔滤膜法趋化实验发现 0.2 g/L~ 3.2 g/L 纤维蛋白原呈剂量依赖性地促进血管平滑肌细胞趋化 ( $r = 0.957, P < 0.01$ )。刮伤实验中细胞迁移速度及慢速显微摄像单细胞随机迁移速度在纤维蛋白原组及对照组细胞均无明显差别 ( $P > 0.05$ )。Western 印迹及明胶酶谱发现纤维蛋白原促使血管平滑肌细胞明胶酶 A 的表达及活性上调。**结论** 纤维蛋白原可能通过促进血管平滑肌细胞增殖和趋化在动脉粥样硬化发生过程中起重要作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

### Fibrinogen Induces the Proliferation and Chemotaxis of Rat Aorta Smooth Muscle Cell

HAN Ya-Ling<sup>1</sup>, QI Yan-Mei<sup>2</sup>, KANG Jian<sup>1</sup>, LIANG Ming<sup>1</sup>, LIU Hai-Wei<sup>1</sup>, and CHEN Xing-Hua<sup>1</sup>

(1. Department of Cardiology, General Hospital of Shenyang Military Region; 2. Department of Cardiology, Jinqiu Hospital of Liaoning Province, Shenyang 110016, China)

[KEY WORDS] Fibrinogen; Vascular Smooth Muscle Cell; Proliferation; Chemotaxis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of fibrinogen on proliferation, chemotaxis and migration of vascular smooth muscle cell (VSMC) and to explore the possible effect and mechanism of fibrinogen in the formation of atherosclerosis. **Methods** Rat aorta smooth muscle cells were primarily cultured. VSMC proliferation was evaluated by BrdU incorporation assay and visual cell counting. VSMC migration and chemotaxis were measured with scrape assay, time-lapse microcinematography and Boyden's chemotaxis assay. Glutininase A expression and activity were assessed by Western blotting and zymography techniques.

**Results** BrdU incorporation assay ( $r = 0.880, P < 0.05$ ) and visual cell counting ( $r = 0.860, P < 0.05$ ) showed that fibrinogen stimulated the proliferation of VSMC dose-dependently in the range between 0.2 g/L and 3.2 g/L. The cell counts of VSMC after 48 h incubation with the concentrations of fibrinogen as 0.4, 0.8, 1.6 and 3.2 g/L were significantly higher than control group [ $(6.32 \pm 0.39) \times 10^7$  cells/L,  $(10.63 \pm 0.25) \times 10^7$  cells/L,  $(12.31 \pm 0.44) \times 10^7$  cells/L and  $(13.59 \pm 0.43) \times 10^7$  cells/L vs.  $(5.63 \pm 0.34) \times 10^7$  cells/L, ( $P < 0.01$ )]. The BrdU incorporation rates of fibrinogen of 0.4, 0.8, 1.6 and 3.2 g/L were also significantly higher than control group ( $5.2\% \pm 2.2\%$ ,  $17.5\% \pm 2.0\%$ ,  $21.5\% \pm 2.3\%$  and  $25.5\% \pm 2.5\%$  vs.  $2.0\% \pm 0.8\%$ ,  $P < 0.01$ ). Fibrinogen stimulated the chemotaxis of VSMC dose-dependently in the range between 0.2 g/L and 3.2 g/L in Boyden's chemotaxis assay ( $r = 0.957, P < 0.01$ ). Fibrinogen had no obvious effect on VSMC migration in scrape assay and on VSMC migration at random direction in Time-lapse microcinematography ( $P > 0.05$ ). Fibrinogen induced the up-regulation of expression and activity of glutininase A. **Conclusion** By recruiting vascular smooth muscle cells from the media into the intima and promoting them proliferate, fibrinogen may be involved in the pathogenesis of atherosclerosis.

流行病学和前瞻性临床试验证实纤维蛋白原

(fibrinogen, Fg) 是动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 独立危险因素<sup>[1,2]</sup>, 但对于两者之间是否存在因果关系目前还存在争议。已提出的 Fg 致 As 可能机制包括其对血管壁的浸润、对血流动力学的影响以及促进血小板对二磷酸腺苷的反应性脱颗粒<sup>[3]</sup>。有些学者认为 Fg 转化为纤维蛋白 (fibrin, Fb) 后才具有致 As 作用, 但这些研究中使用的 Fg 是含有血清的, 不

[收稿日期] 2004-09-30 [修回日期] 2005-05-25

[基金项目] 辽宁省优秀青年基金资助项目(973012)

[作者简介] 韩雅玲, 博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 主要从事冠心病的介入治疗及研究, 联系电话为 024-23056123, E-mail 为 hanyal@mail.sy.ln.cn。齐岩梅, 硕士研究生, 副主任医师, 研究方向为冠心病的诊断和治疗。康建, 副主任技师, 研究方向为血管平滑肌细胞生物学行为。

能排除血清中各种成分对实验结果的干扰,并且其使用的干预性 Fg 浓度远低于生理浓度<sup>[4]</sup>,而 As 的发生却与血浆 Fg 浓度的升高呈明显正相关关系<sup>[2]</sup>。本实验观察较低和较高浓度的 Fg 对体外培养的大鼠血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 增殖和移行的影响,探讨较高浓度的 Fg 是否具有直接致 As 的作用。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

①型胶原酶、二氨基联苯胺购自上海生工生物公司;牛 Fg、BrdU 购自 Sigma;新生牛血清购自杭州四季青;DMEM 购自 Gibco;BCA 蛋白定量试剂盒购自 Pierce;抗平滑肌  $\alpha$  肌动蛋白单抗、抗 BrdU 单抗和抗明胶酶 A 单抗购自北京中杉金桥生物技术公司;Boyden 小室购自 Corning Corstar;倒置相差显微镜(日本 Olympus, IX-70)。

### 1.2 大鼠主动脉平滑肌细胞培养及鉴定

雄性 Wistar 大鼠(体重 150 g~200 g)由沈阳军区总医院实验动物中心提供。乙醚麻醉大鼠后取胸主动脉,取中膜剪成 1 mm<sup>3</sup> 组织块,①型胶原酶 6 g/L 消化后收集细胞,加入含 20% FBS 的 DMEM 培养基,置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度培养箱内培养,细胞近汇合时消化传代。细胞鉴定采用免疫组织化学法观察平滑肌特异性标志蛋白  $\alpha$ -actin,测定细胞生长曲线,估价细胞增殖特性,取对数生长期细胞用于实验。本实验所用细胞均在 10 代之内。同步化采用去血清培养 48 h。本实验所应用的 Fg 均不含血清,对照组为无血清 DMEM。

### 1.3 细胞计数法

平滑肌细胞消化后接种于 24 孔培养板,每一浓度平行 4 孔,各孔细胞密度为 4×10<sup>7</sup>/L。同步化后以 Hank's 液洗涤 3 次,各组均加入 100 U/L 肝素钠以排除凝血酶干扰,以 Fg(或 DMEM)培养 48 h 后,行台盼兰染色计数,每孔平行测量 3 次。

### 1.4 BrdU 掺入法

将 1×10<sup>8</sup>/L VSMC 接种于 35 mm 培养皿中的盖玻片(每组 4 张)上,同步化后给予 Fg(或 DMEM)继续培养 12 h。随后加入 BrdU 7.5 mg/L,培养 12 h 后取出盖玻片,常规固定、通透,浓盐酸变性 5 min,封闭后加抗 BrdU 抗体(1:100) 4℃过夜,二抗(1:100)室温 2 h 后 DAB 显色。各样本先行镜检照相,光镜(100×)下计数 500 个细胞,BrdU 阳性细胞占总计数细胞的百分比即为 BrdU 掺入率。阳性结果判断:细

胞核内着染棕黄色颗粒者为 BrdU 阳性细胞。

### 1.5 刮伤实验

在 24 孔培养板中以相同密度接种 VSMC(每组 4 孔),待细胞汇合后同步化,用无菌枪头沿每孔中央刮一直线,洗弃悬浮细胞,在倒置显微镜(200×)下随机选取 5 点测量每孔直线两侧细胞间距离并作标记。以 Fg(或 DMEM)继续培养 7 天,在倒置显微镜下观察标记点两侧细胞间距离,计算细胞迁移距离=刮伤前距离-刮伤后距离,取平均值。

### 1.6 慢速显微摄像

将 VSMC 以 1×10<sup>5</sup>/L 密度铺于直径 35 mm 细胞培养皿,同步化后加入 Fg(或 DMEM),继续培养 12 h 后在倒置相差显微镜下 37℃、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度微型细胞培养室中继续培养,同时以 1 h 为时间间隔摄像,观察单个细胞 5 h 移行轨迹。

### 1.7 趋化实验

采用 Boyden 小室,下室加入 Fg(对照组加 DMEM)0.6 mL,上室加入 1×10<sup>9</sup>/L VSMC 及无血清的 DMEM,上下室之间隔以聚碳酸酯微孔膜(孔径 8  $\mu$ m)。培养 24 h 后取出上室,棉棒擦除上室滤膜上层细胞,移行并粘附到滤膜下层面的细胞以 4% 甲醇固定,经瑞氏染色,移行的细胞呈深蓝色,随机观察 6 个高倍视野,计数移行细胞数,取均值。每次实验每组设 2 个复份,实验重复 5 次。

### 1.8 Western 印迹

参照文献[5]检测 VSMC 中明胶酶 A 的表达。在 90 mm 培养皿中以相同密度接种 VSMC,待细胞汇合后同步化,Fg(或 DMEM)作用 48 h 后收集细胞,提取总蛋白,BCA 法测定蛋白含量。每泳道上样 40  $\mu$ g 蛋白。用 12% 分离胶行 SDS-PAGE 电泳。电泳后转膜,5% 脱脂奶粉封闭 2 h,明胶酶 A 一抗(1:2 500) 4℃过夜,辣根过氧化物酶标记二抗(1:2 500)室温培育 2 h,ECL 显影,以 Bio-Rad Geldoc2000 图像分析仪扫描分析。

### 1.9 明胶酶谱

将 VSMC 以相同细胞密度接种于 24 孔板,培养至 90% 汇合。同步化后,加入不同浓度 Fg 200  $\mu$ L。培养 24 h 后收集上清,离心 200 g×5 min 去除沉淀。配制含 0.1% 明胶的 8% 分离胶。上清液与上样缓冲液等体积混合,以各孔细胞数调上样体积,电泳。随后用 2.5% Triton X-100 洗脱凝胶,浸入孵育液(50 mmol/L Tris-HCl,150 mmol/L NaCl,5 mmol/L CaCl<sub>2</sub>,pH 7.6)中 37℃水浴 12~16 h。考马斯亮蓝染色 4 h,用脱色液脱色至显现出清晰的透明条带为止。蒸馏水漂洗,以 Bio-Rad Geldoc2000 图像分析仪扫描分析。

1.10 统计学处理

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用统计软件 SPSS 11.0 进行多组间的方差分析及两组间 *t* 检验。细胞增殖率及 BrdU 掺入阳性率的比较采用  $\chi^2$  检验。

2 结果

2.1 纤维蛋白原对主动脉平滑肌细胞增殖的影响

分别用 0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 和 6.4 g/L Fg 处理 VSMC 48 h 后进行活细胞计数, 结果发现 0.4~6.4 g/L Fg 组活细胞数比对照组明显增加 ( $P < 0.01$ , 表 1, Table 1)。相关分析发现, Fg 浓度在 0.2~3.2 g/L 范围内时, VSMC 活细胞计数与 Fg 浓度呈明显线性相关 ( $r = 0.860, P < 0.05$ ), 6.4 g/L Fg 组活细胞计数不再随浓度呈线性增加。

分别以上述浓度 Fg 处理 VSMC 后采用 BrdU 染色观察细胞 DNA 复制(图 1, Figure 1)。 $\chi^2$  检验结果发现, 0.4~6.4 g/L Fg 组 BrdU 掺入率较对照组明显增加(表 1, Table 1)。相关分析发现, Fg 浓度在 0.2~3.2 g/L 范围内时, VSMC BrdU 掺入率与 Fg 浓度呈明显线性相关 ( $r = 0.880, P < 0.05$ ), 6.4 g/L Fg 组 BrdU 掺入率不再随浓度呈线性增加。

2.2 纤维蛋白原对主动脉平滑肌细胞迁移的影响

刮伤后 1、3、5 和 7 天上述各浓度 Fg 组 VSMC 移行距离与对照组相比无明显差异, 不同浓度组间比较亦无明显差异 ( $P > 0.05$ , 图 2, Figure 2)。

表 1. 纤维蛋白原对大鼠主动脉平滑肌细胞增殖的影响

Table 1. Effect of fibrinogen on the proliferation of rat aorta smooth muscle cells

Fg 浓度	细胞计数 ( $\times 10^7/L$ )	BrdU 掺入率
0.0 g/L	5.63 $\pm$ 0.34	2.0% $\pm$ 0.8%
0.2 g/L	5.68 $\pm$ 0.28	3.2% $\pm$ 1.5%
0.4 g/L	6.32 $\pm$ 0.39 <sup>a</sup>	5.2% $\pm$ 2.2% <sup>a</sup>
0.8 g/L	10.63 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	17.5% $\pm$ 2.0% <sup>a</sup>
1.6 g/L	12.31 $\pm$ 0.44 <sup>a</sup>	21.5% $\pm$ 2.3% <sup>a</sup>
3.2 g/L	13.59 $\pm$ 0.43 <sup>a</sup>	25.5% $\pm$ 2.5% <sup>a</sup>
6.4 g/L	11.28 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>	19.4% $\pm$ 2.1% <sup>a</sup>

a:  $P < 0.01$ , 与对照组(0.0 g/L 组)相比。

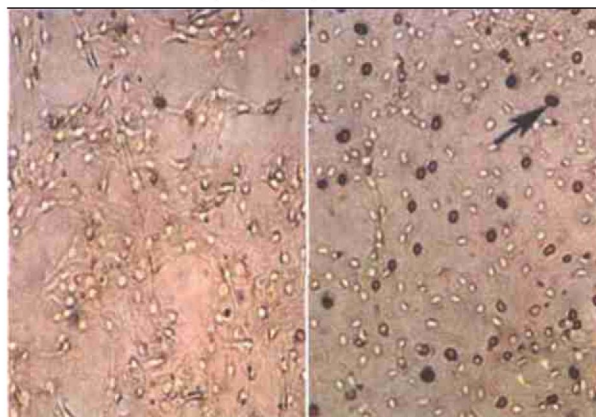


图 1. 纤维蛋白原促进血管平滑肌细胞增殖(BrdU 掺入法) (100 $\times$ ) 左为 DMEM 组(对照组), 右为纤维蛋白原 3.2 g/L 组。箭头所指为 BrdU 阳性细胞。

Figure 1. Fibrinogen induce proliferation of VSMC in BrdU incorporation assay

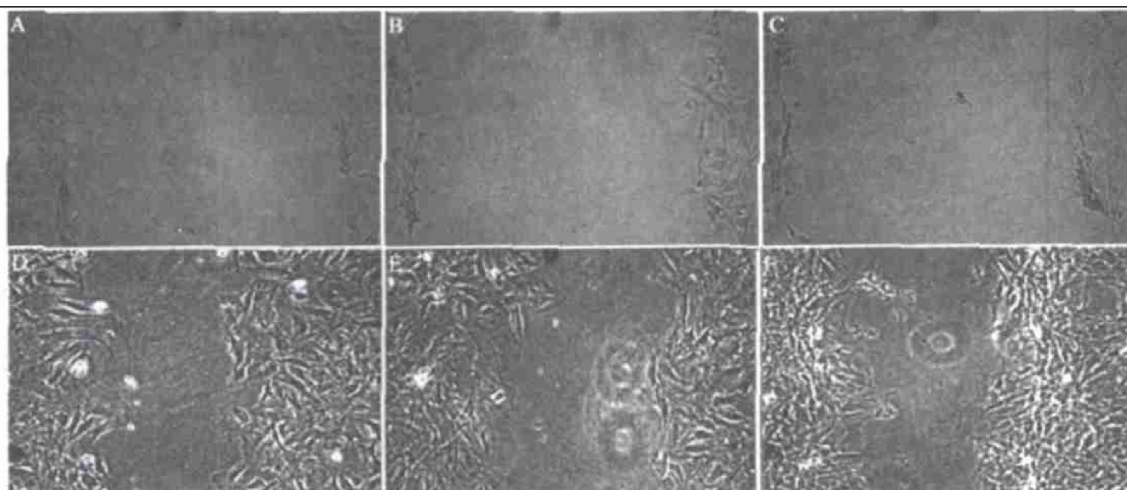


图 2. 纤维蛋白原对血管平滑肌细胞迁移的影响(刮伤实验) (100 $\times$ ) A、B、C 为刮伤即刻, D、E、F 为刮伤 3 天时。A、D 为对照组, B、E 为 0.8 g/L 纤维蛋白原组, C、F 为 3.2 g/L 纤维蛋白原组。

Figure 2. The effect of fibrinogen on migration of VSMC in scrape assay

为进一步观察 Fg 对 VSMC 随机迁移的影响, 用慢速显微摄像方法分析单个细胞移行轨迹。结果发现各浓度 Fg 组与对照组相比单个细胞移行轨迹总

长度无明显差异, 不同浓度组间比较亦无明显差异 ( $P > 0.05$ , 图 3, Figure 3)。

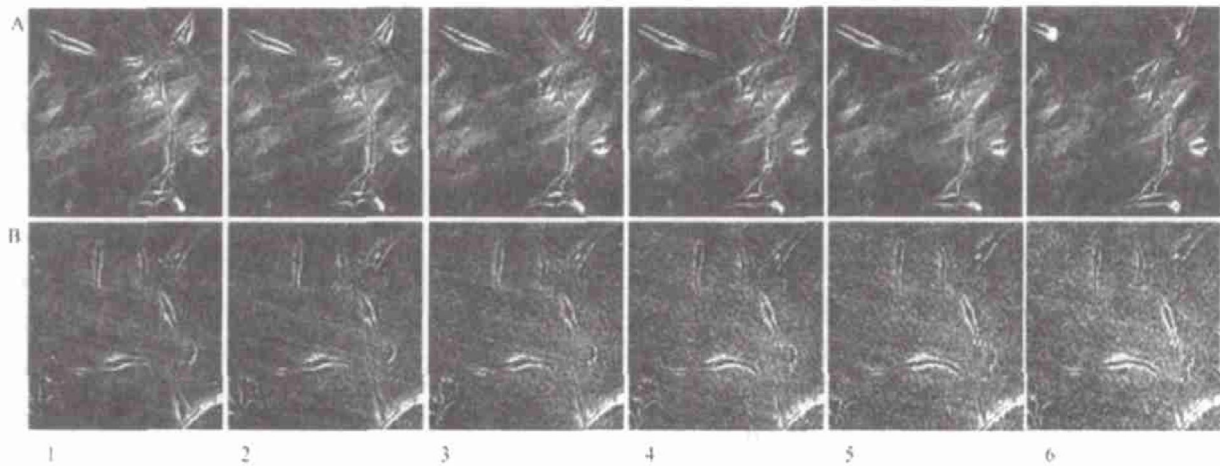


图3. 慢速显微摄像单个细胞移行轨迹分析纤维蛋白原对血管平滑肌细胞随机迁移的影响(100×) A为对照组, B为纤维蛋白原3.2 g/L组。图中1~6每两图间隔1 h。

Figure 3. Effect of fibrinogen on random migration of VSMC showed by time-lapse microcinematography

### 2.3 纤维蛋白原对大鼠主动脉平滑肌细胞趋化的影响

以DMEM和上述浓度Fg作用于VSMC, 24 h后染色计数移行细胞数(表2, Table 2)。相关分析发现移行VSMC数与Fg浓度(0.2 g/L~3.2 g/L)呈明显剂量依赖关系( $r=0.957, P<0.01$ ), 6.4 g/L Fg组移行细胞数不再随浓度升高而增加。

表2. 纤维蛋白原对大鼠主动脉平滑肌细胞趋化的影响

Table 2. Effect of fibrinogen on the chemotaxis of rat aorta smooth muscle cells

Fg 浓度	移行细胞数 (cells/hpf)
0.0 g/L	6.1 ± 0.5
0.2 g/L	11.0 ± 1.0
0.4 g/L	14.9 ± 1.9
0.8 g/L	19.4 ± 2.3
1.6 g/L	26.2 ± 2.6
3.2 g/L	33.5 ± 3.5
6.4 g/L	29.8 ± 2.0

### 2.4 纤维蛋白原对大鼠主动脉平滑肌细胞明胶酶A表达及活性的影响

纤维蛋白原(Fg)与VSMC共培养48 h后, 0.2 g/L~3.2 g/L Fg呈浓度依赖性刺激VSMC明胶酶A表达增加(图4, Figure 4), 而6.4 g/L Fg组明胶酶A表达略有下调。

上述浓度的Fg与VSMC共培养24 h后, 用明胶

酶谱法检测培养上清中明胶酶活性, 结果发现, 明胶酶活性呈剂量依赖性升高。无细胞单纯3.2 g/L Fg试剂组未检测到明胶酶活性(图5, Figure 5)。

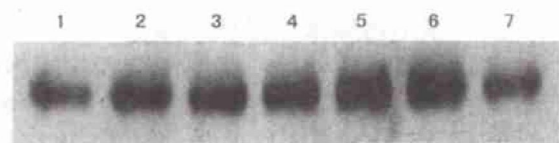


图4. 纤维蛋白原对血管平滑肌细胞明胶酶A表达的影响

从左至右依次为对照组、纤维蛋白原0.2 g/L组、0.4 g/L组、0.8 g/L组、1.6 g/L组、3.2 g/L组及6.4 g/L组。

Figure 4. Effect of fibrinogen on gelatinase A expression of VSMC

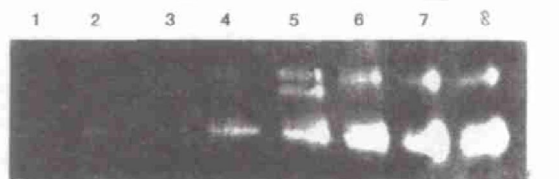


图5. 明胶酶谱分析纤维蛋白原对血管平滑肌细胞培养上清明胶酶活性的影响

从左至右依次为试剂组、对照组、纤维蛋白原0.2 g/L组、0.4 g/L组、0.8 g/L组、1.6 g/L组、3.2 g/L组和6.4 g/L组。

Figure 5. Effect of fibrinogen on gelatinase activity of VSMC conditioned culture

## 3 讨论

前瞻性研究发现, 在无其他心血管危险的男性

中, 血浆 Fg 水平高者心肌梗死发病率明显升高。既往多数学者把其机制研究集中在 Fb(Fg 中加入凝血酶转化而来) 上<sup>[6]</sup>。然而许多实验证实, 无论正常主动脉内膜还是纤维性或脂质主动脉斑块中都有完整的 Fg 分子存在<sup>[7,8]</sup>。正常人主动脉内膜(内弹力膜的管腔侧) 中 Fg 的浓度约为血浆浓度的 50%, 中膜(内弹力膜的管壁侧) 内层其浓度约为血浆浓度的 15.8%<sup>[9]</sup>, 即动脉内膜与中膜 Fg 含量与其血浆浓度呈正相关, 可随其在血浆中浓度的升高而升高。而且 As 斑块中 Fg 含量的增加比 Fb 更显著, 几乎达 Fb 的 3 倍<sup>[9]</sup>。然而渗透到动脉内膜中的 Fg 在转化为 Fb 之前是否具有致 As 作用以及多大浓度 Fg 具有该作用至今尚不明确。澄清这些问题对缺血性心脏病的预防显然具有重要意义。因此本实验采用由低到高不同浓度 Fg 以便更真实地反映 Fg 与 As 的关系。同时, 本实验中所应用 Fg 不含血清, 排除了血清中其他混杂因素的干扰。

本研究结果表明, Fg 并不能增强 VSMC 随机迁移能力, 却对 VSMC 具有明显趋化作用, 且该趋化作用随 Fg 浓度升高而增强。这与 Naito 等<sup>[10]</sup>研究方法虽不同但结果一致。该结果与 As 发病过程中 VSMC 由中膜向内膜方向(Fg 浓度由低到高) 垂直迁移而不向随机方向迁移是一致的。由于 Fg 对 VSMC 的趋化作用与 VSMC 中明胶酶 A 的表达以及 VSMC 条件培养基中明胶酶活性基本成平行关系, 推测 Fg 有可能通过促进 VSMC 降解细胞外基质和基底膜实现由中膜向内膜的迁移, 参与 As 和血管重构的病理生理过程。本研究还表明, 0.2 g/L ~ 3.2 g/L Fg 对 VSMC 的趋化作用和促增殖作用呈剂量依赖关系。如前所述, 即使在正常人, 动脉内膜与中膜之间 Fg 亦存在浓度梯度。随着血浆 Fg 浓度的升高, 该浓度梯度可能相应增大, 推测 Fg 很可能会诱导 VSMC 顺着该浓度梯度穿过内弹力层由中膜向内膜作趋化运动。由于内膜 Fg 浓度的升高比中膜更显著, 因而迁移至内膜的 VSMC 比中膜的 VSMC 增殖更明显, 这也许是病理学研究及动物实验中发现内膜 VSMC 增殖比中膜明显增强的可能机制之一。提示 Fg 可作为一种趋化因子和促增殖因子促进 VSMC 向动脉内

膜的迁移和增殖, 启动 As 病理过程的发生和发展。虽然这一结论还有待于进一步的动物及临床实验证实, 然而这很可能是 Fg 致 As 的又一机制和证据。

本实验中 6.4 g/L Fg 对 VSMC 的趋化和促增殖作用不随浓度呈线性增加, 其原因可能与过高浓度 Fg 对培养基胶体渗透压的影响有关; 但不排除 Fg 对细胞双重调控作用, 即低浓度促进作用, 高浓度抑制作用。6.4 g/L Fg 组细胞明胶酶 A 表达不随浓度呈线性增加, 而明胶酶活性却随浓度升高而增强, 可能由于: 前者检测的是细胞内明胶酶 A 的表达, 而后者检测的是细胞上清液, 即分泌至细胞外的明胶酶; 两者是否也受到培养基胶体渗透压的影响尚不清楚; ④前者只能表明细胞内明胶酶 A 的表达量, 不能说明明胶酶的活性; 有关 Fg 是否通过上调明胶酶翻译前的基因表达或翻译后的蛋白修饰调控酶活性尚不清楚, 其详细机理还有待进一步研究。

基于上述结果, 提示在防治 As 过程中积极治疗高 Fg 血症可能具有重要意义。

#### [参考文献]

- [1] Engstrom G, Lind P, Hedblad B, Stavenow L, Janzon L, Lindgarde F. Effects of cholesterol and inflammation-sensitive plasma proteins on incidence of myocardial infarction and stroke in men. *Circulation*, 2002, **105** (22): 2 632-637
- [2] Engstrom G, Stavenow L, Hedblad B, Lind P, Tyden P, Janzon L, et al. Inflammation-sensitive plasma proteins and incidence of myocardial infarction in men with low cardiovascular risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, **23** (12): 2 247-251
- [3] Kamath S, Lip CY. Fibrinogen: biochemistry, epidemiology and determinants. *QJM*, 2003, **96** (10): 711-729
- [4] Wang XQ. The role of fibrinogen in the pathogenesis of atherosclerosis and the mechanisms of its action. *生理科学进展*, 1996, **27** (3): 245-248
- [5] Sambrook J, Fritsh E F, Maniatis T(金冬雁, 黎孟枫译). *分子克隆实验指南*. 第2版, 北京: 科学出版社, 2002; 888-898
- [6] Reinhart WH. Fibrinogen marker or mediator of vascular disease? *Vasc Med*, 2003, **8** (3): 211-216
- [7] Bini A, Kudryk BJ. Fibrin and its derivatives in the normal and diseased vessel wall. *Ann NY Acad Sci*, 1992, **667**: 112-126
- [8] Smith EB, Alexander KM, Massie IB. Insoluble "fibrin" in human aortic intima. Quantitative studies on the relationship between insoluble "fibrin", soluble fibrinogen and low density lipoprotein. *Atherosclerosis*, 1976, **23** (1): 19-39
- [9] Smith EB, Staples EM. Distribution of plasma proteins across the human aortic wall-barrier functions of endothelium and internal elastic lamina. *Atherosclerosis*, 1980, **37** (4): 579-590
- [10] Naito M, Hayashi T, Kuzuya M, Funaki C, Asai K, Kuzuya F. Effects of fibrinogen and fibrin on the migration of vascular smooth muscle cells in vitro. *Atherosclerosis*, 1990, **83** (1): 9-14

(此文编辑 胡必利, 朱雯霞)