

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2005)13-06-0676-05

普罗布考抑制大鼠血管平滑肌细胞 周期素 D1 蛋白表达和 G1[→]S 转换

涂永生^{1,2}, 严鹏科¹, 朱炳阳¹, 黄红林¹, 廖端芳¹

(1. 南华大学药物药理研究所, 湖南省衡阳市 421001; 2. 广州医学院生理教研室, 广东省广州市 510182)

[关键词] 药理学; 普罗布考; 平滑肌细胞; 细胞周期; 细胞增殖

[摘要] **目的** 研究普罗布考是否通过阻滞细胞周期抑制平滑肌细胞增殖。**方法** 首先用普罗布考和氧化型低密度脂蛋白与平滑肌细胞共同孵育。然后用 MTT 法和细胞计数法测定细胞增殖, 用流式细胞术观察细胞周期, 最后用蛋白印迹测蛋白表达。**结果** MTT 法和细胞计数法显示 25~100 mg/L 氧化型低密度脂蛋白都能刺激平滑肌细胞增殖, 效应呈浓度依赖性, 普罗布考能显著抑制氧化型低密度脂蛋白所诱导的细胞增殖, 效应呈浓度和时间依赖性。流式细胞术分析表明普罗布考增加了 G₀/G₁ 细胞比例达 28.6% ($P < 0.01$, $n = 3$), 减少 S 期细胞比例达 83.5% ($P < 0.01$, $n = 3$)。蛋白印迹结果显示氧化型低密度脂蛋白诱导细胞周期素 D₁ 蛋白表达, 高峰在 6~12 h, 普罗布考显著减少周期素 D₁ 蛋白表达, 在 6 h 和 12 h 分别减少达 26% 和 23% (P 均 < 0.01 , $n = 3$)。**结论** 普罗布考显著抑制氧化型低密度脂蛋白所诱导的细胞增殖, 其抗增殖活性与普罗布考下调周期素 D₁ 蛋白表达, 从而阻滞细胞由 G₀/G₁ 期向 S 期转换有关。

[中图分类号] R972.6

[文献标识码] A

Probucol Reduces Cyclin D1 Protein Expression and G1[→]S Transition in Rat Vascular Smooth Muscle Cells

TU Yong-Sheng^{1,2}, YAN Peng-Ke¹, ZHU Bing-Yang¹, HUANG Hong-Lin¹, and LIAO Duar Fang¹

(1. Institute of Pharmacy and Pharmacology, Nanhua University, Hengyang 421001; 2. Department of Physiology, Guangzhou Medical College, Guangzhou 510182, China)

[KEY WORDS] Probucol; Smooth Muscle Cell; Cell Cycle; Cell Proliferation

[ABSTRACT] **Aim** To examine whether probucol could inhibit vascular smooth muscle cells (VSMC) proliferation by impairing cell cycle progression. **Methods** Initially, quiescent rat VSMC were treated with probucol in the presence of oxidized low density lipoprotein (ox-LDL). Then cell proliferation was measured by MTT assay and cell counts, and cell cycle distribution was analyzed by Flow-cytometry (FCM). Finally, protein expression was examined by western blot. **Results** MTT assay and cell counts revealed that 25 mg/L, 50 mg/L and 100 mg/L ox-LDL stimulated VSMC proliferation in a dose dependent manner. Probucol significantly inhibited VSMC proliferation induced by ox-LDL in a dose and time dependent manner. FCM analysis showed that probucol increased cells in G₀/G₁ by 28.6% ($P < 0.01$, $n = 3$), reduced the cells in S by 83.5% ($P < 0.01$, $n = 3$). Also, 100 mg/L ox-LDL induced cyclin D1 expression, with peak in 6~12 h. Probucol markedly inhibited cyclin D1 expression by 26% at 6 h and 23% at 12 h respectively (both $P < 0.01$, $n = 3$). **Conclusions** Probucol significantly inhibits ox-LDL induced VSMC proliferation. This antiproliferative effect of probucol is correlated with suppression of cell progression by blocking the cell cycle in G₀/G₁. Furthermore, suppression of cell cycle progression is associated with the down expression of cyclin D₁ protein by probucol

经皮腔内冠状动脉成形术(percutaneous transluminal coronary angioplasty, PTCA) 是治疗动脉粥样硬化(atherosclerosis, As) 所致缺血性心脏病安全、有效的方法, 但术后约 30%~50% 患者易发再狭窄^[1]。目前研究表明再狭窄的发生、发展涉及到多种细胞

和分子机制。其中血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC) 增殖迁移, 内膜增厚是再狭窄发生、发展的重要病理过程。受损血管释放多种信号分子, 如生长因子, 激活 VSMC 进入细胞周期, 过度增殖、迁移和分泌细胞外基质^[2]。因此抑制 VSMC 增殖是治疗再狭窄的重要策略。细胞周期是 VSMC 增殖信号转导的最终共同通路。其有条不紊运行由一系列相继出现的正、负调控蛋白操纵。其中周期素 D/CDK 复合物是控制限制点 G1[→]S 推进的重要正性调节因子。在动物再狭窄模型和人类再狭窄患

[收稿日期] 2005-06-27 [修回日期] 2005-09-29

[基金项目] 国家自然科学基金(30171084) 资助; 国家 973 子项目(G2000056905) 资助

[作者简介] 涂永生, 硕士, 助教, 联系电话 020-81340199, E-mail 为 tuysh1976@163.com。通讯作者廖端芳, 教授, 博士研究生导师, 主要从事信号转导与分子生物学方面的研究, 联系电话为 0734-8281308, E-mail 为 dfliao@hotmail.com。

者切除的病灶上均已证实,细胞周期蛋白参与了再狭窄和 As 发生、发展中 VSMC 增殖^[3,4]。因此细胞周期蛋白为防治再狭窄和 As 等疾病中 VSMC 的增殖提供了新的有效靶点^[5]。普罗布考 (probucol, PBC) 是一种降胆固醇药物,具有强大的抗氧化活性。新近发现在兔再狭窄模型上,普罗布考促进功能性内皮再生的同时抑制 VSMC 增殖^[6],并在临床上用血管内超声技术发现普罗布考抑制内膜增生^[7],但其确切分子机制仍知之甚少。考虑到 VSMC 增殖是再狭窄发生、发展的关键因素,细胞周期又是 VSMC 增殖的最终共同通路。因此在本研究中,我们探讨了普罗布考对氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 诱导 VSMC 增殖、细胞周期运行和细胞周期蛋白的作用。

1 材料和方法

1.1 主要材料和试剂

兔抗鼠周期素 D1 单克隆抗体购于 Santa Cruz 公司,普罗布考、 α 型胶原酶、弹性蛋白酶、胰酶和 MTT 都购于 Sigam 公司,胎牛血清购于 Hyclone 公司;Dulbecco 改进的 Eagle 培养基 (Dulbecco's modified eagle's medium, DMEM) 购于 GIBCO BRL 公司;二甲亚砜 (DMSO) 购于 Merck 公司,其余试剂均为市售分析纯。

1.2 低密度脂蛋白的氧化修饰及鉴定

参照文献[8],人血浆 LDL 采用超速离心法分离,经琼脂糖凝胶电泳、十二烷基磺酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳,均显示为单一蛋白带。将 LDL 置于 PBS 溶液中,4℃透析 36 h,充分除去二乙胺四乙酸 (EDTA) 后,用含 10 μ mol/L CuSO₄ 的 PBS 溶液 (pH 7.2),37℃透析 20 h,进行氧化修饰。氧化修饰后的 LDL 置含 100 μ mol/L EDTA 的 PBS 中,4℃透析 24 h,终止氧化。取 LDL 和 ox-LDL,经 5% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳,2.5% 考马斯亮蓝常规染色,脱色后可见经 CuSO₄ 处理的 LDL,电泳迁移率明显增快;检测硫代巴比妥反应物含量分别为 4.26 \pm 0.52 μ mol/g 蛋白和 19.84 \pm 0.22 μ mol/g 蛋白 ($n=8$),说明 LDL 已被氧化。超滤除菌,BCA 法定量蛋白,调蛋白浓度至 1 g/L 用于实验。

1.3 细胞培养

按本室所建立的酶消化法培养 VSMC^[9]。无菌条件下取出大鼠胸主动脉,PBS 洗 2~3 次,小心剥离外膜,纵向剪开血管、去掉内皮。然后将血管中层置于含 2 g/L α 型胶原酶和 0.25 g/L 弹性蛋白酶消

化液中 (1.5 mL),在 37℃,5% CO₂ 培养箱中消化约 1.5~2 h,离心收集细胞,然后以 (1~3) $\times 10^7$ /L 的细胞接种于 25 mL 培养瓶中,在 37℃,5% CO₂ 培养箱中培养。4~5 天 70%~80% 融合时按常规方法传代。光镜下细胞呈典型“峰与谷”样生长,采用小鼠抗大鼠 α actin 抗体进行免疫组织化学染色鉴定证实为血管平滑肌细胞。取 5~15 代用于实验。

1.4 细胞增殖测定

1.4.1 MTT 法 取对数生长期 SMC,以 1 $\times 10^7$ /L 接种于 96 孔板,100 μ L/孔,每组设 8 个平行孔。在 37℃,5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 后,加入不同的处理因素继续孵育 24 h,普罗布考 (用 DMSO 配制, DMSO 浓度不高于 0.1%) 在 30 min 前加入 (以下实验皆同),在结束培养前 4~6 h,每孔加用 PBS 配制的 MTT (10 g/L) 10 μ L,翻板法倾去培养液,然后加入 DMSO 100 μ L/孔,振荡 10 min 待完全溶解后,用 ELx800 酶联仪在波长 570 nm 处读取吸光度 A 值。

1.4.2 细胞计数法 取对数生长期 VSMC 以 1 $\times 10^8$ /L 均匀接种到 6 孔培养板中,放入 37℃5% CO₂ 培养箱中培养。24 h 后加入不同的处理因素。实验分组如下: 对照组用 0.1% FCS 处理; ④ox-LDL 100 mg/L 组; ④ox-LDL 100 mg/L+ PBC 25 μ mol/L 组; ox-LDL 100 mg/L+ PBC 50 μ mol/L 组; ox-LDL 100 mg/L+ PBC 100 μ mol/L 组。接种 24 h 后计数细胞,作为第 0 天细胞数量,分别计数第 1、2 和第 3 天的细胞数。

1.5 流式细胞术观察血管平滑肌细胞周期

取对数生长期 VSMC 以 1 $\times 10^8$ /L 均匀接种在 50 mL 培养瓶中,放入 37℃,5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 后换 0.1% FCS 静止 48 h,然后加不同处理因素。实验分组如下: 对照组; ④ox-LDL 100 mg/L 组; ④ox-LDL 100 mg/L+ PBC 100 μ mol/L 组。继续培养 24 h,收集细胞 PBS 洗两遍,然后用 50 μ L PBS 将细胞吹打成单个细胞,加入 75% 乙醇 600 μ L 4℃ 固定过夜, PBS 洗一遍,加 PI 荧光染料 (5 mg/L PI, 20 mg/L RNase A) 于 4℃ 冰箱中放置 45 min,300 目尼龙网滤过,上流式细胞仪检测。计算 10 000 个细胞,观察细胞周期。

1.6 蛋白印迹测周期素 D1 蛋白表达^[10]

取对数生长期细胞,以 1 $\times 10^8$ /L 均匀接种在 100 mm 培养皿中,放入 37℃,5% CO₂ 培养箱培养。24 h 后换 0.1% FCS 静止 48 h,然后加不同的处理因素按要求处理不同时间后,用冰 PBS 洗 2~3 遍,然后置冰上,加入裂解液后用细胞刮子刮下细胞,超声波细胞破碎仪破碎细胞,蛋白保存于 -80℃ 超低温

温冰箱中。用 BCA 法按厂家说明书测蛋白浓度。采用 5% 的积层胶和 10% 的分离胶, 每孔加入 50 μ g 蛋白, 电泳完毕后将蛋白转至硝酸纤维素膜, 丽春红染色见蛋白条带后双蒸水洗膜, PBST 配制的 5% 脱脂牛奶室温封闭 1.5~ 2 h, 一抗 4 $^{\circ}$ C 过夜(周期素 D1 一抗浓度为 1: 500)。次日 TBST 洗膜 3 次, 每次 5 min, 再加辣根过氧化物酶标记的二抗室温温育 2 h, TBST 洗膜, 发光剂孵育, 曝光, 显影定影, 水洗。并用 LabWork 计算机软件对胶片条带光密度进行扫描定量分析。

1.7 统计学处理

用统计学软件 SPSS 10.0 进行统计。实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两样本均数比较采用 *t* 检验, 多样本均数比较采用单因素方差分析, 多样本均数间两两比较采用 *q* 检验。 $P < 0.05$ 认为差异具有显著性统计学意义。

2 结果

2.1 普罗布考抑制氧化型低密度脂蛋白诱导的血管平滑肌细胞增殖

首先我们观察了 ox-LDL 诱导 VSMC 增殖的作用。如表 1(Table 1) 所示, 25~ 100 mg/L ox-LDL 都能诱导 VSMC 增殖, 100 mg/L ox-LDL 达最大值 ($P < 0.01, n = 8$), 而 ≥ 200 mg/L 则具明显的细胞毒性。故随后的实验均采用 100 mg/L ox-LDL 作为诱导 VSMC 增殖的实验因素。

表 1. 氧化型低密度脂蛋白对血管平滑肌细胞增殖的诱导作用($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1. Inducing effect of ox-LDL on VSMC proliferation by MTT assay

ox-LDL 浓度(mg/L)	细胞增殖 (A570 nm)
0(对照)	0.56 \pm 0.05
25	0.64 \pm 0.04 ^a
50	0.70 \pm 0.03 ^b
100	0.86 \pm 0.04 ^b
200	0.37 \pm 0.03 ^b

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

为观察普罗布考对 VSMC 增殖的作用, 我们用 MTT 法观察了 25 μ mol/L、50 μ mol/L 和 100 μ mol/L 三个浓度的普罗布考对 VSMC 增殖的作用。如表 2 (Table 2) 所示, 25 μ mol/L~ 100 μ mol/L 的普罗布考都能抑制 100 mg/L ox-LDL 所诱导的 VSMC 增殖($P < 0.01$), 100 μ mol/L 普罗布考的作用最大, 抑制率

达 44.1%。

表 2. 普罗布考对血管平滑肌细胞增殖的抑制作用($\bar{x} \pm s$)。

Table 2. Inhibiting effect of probucol on VSMC proliferation measured by MTT assay

分组	n	细胞增殖(A570 nm)
对照	8	0.37 \pm 0.04 ^d
ox-LDL(100 mg/L)	8	0.71 \pm 0.03 ^b
普罗布考 25+ ox-LDL	8	0.52 \pm 0.04 ^e
普罗布考 50+ ox-LDL	8	0.43 \pm 0.05 ^e
普罗布考 100+ ox-LDL	8	0.39 \pm 0.06 ^e

普罗布考 25、50 和 100 为普罗布考的浓度分别是 25、50 和 100 μ mol/L, ox-LDL 的浓度都是 100 mg/L。b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; e 为 $P < 0.01$, 与 100 mg/L ox-LDL 组比较。

细胞计数结果发现, 用普罗布考处理后 VSMC 增殖在第 2 天便受到抑制(图 1, Figure 1), 到第 3 天 25 μ mol/L 普罗布考处理组抑制率为 42.8%, 100 μ mol/L 处理组抑制率为 63.6% ($P < 0.01$)。结果表明, 普罗布考能抑制 ox-LDL 所诱导 VSMC 增殖, 其效应呈时间和浓度依赖性, 故随后的实验均采用 100 μ mol/L 普罗布考来观察其效应。

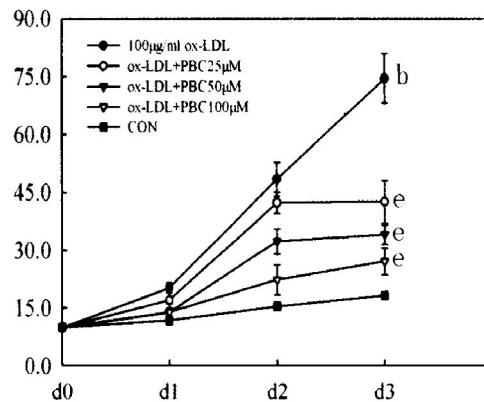


图 1. 普罗布考对血管平滑肌细胞增殖的抑制作用 横坐标为培养天数, 纵坐标为细胞计数($\times 10^7/L$)。b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; e 为 $P < 0.01$, 与 100 mg/L ox-LDL 组比较。

Figure 1. Inhibiting effect of probucol on VSMC proliferation by cell counts

2.2 普罗布考抑制 $G_1 \rightarrow S$ 转换

为研究普罗布考抑制 VSMC 增殖是否与细胞周期相关, 我们用流式细胞术观察了普罗布考对 VSMC 细胞周期的作用, 结果见表 3(Table 3)。经 0.1% FCS 静止 48 h 后 89.1% VSMC 被静止于 G0/G1, 而经 ox-LDL 100 mg/L 处理 24 h 后 VSMC 从 G0/G1 进入 S 期。用普罗布考处理后 G0/G1 细胞百分比增高 28.6% ($P < 0.01$), S 期细胞百分比降低 83.

5% ($P < 0.01$)。这说明普罗布考能阻止 ox-LDL 所诱导的 VSMC 由 G0/G1 期向 S 期转换, 从而将 VSMC 阻滞于 G0/G1。但对 G2/M 的影响较小。

表 3. 普罗布考对血管平滑肌细胞周期运行的抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

分 组	G ₀ /G ₁ 期	S 期	G ₂ /M 期
对照	89.1% \pm 1.0%	3.6% \pm 0.4%	7.2% \pm 0.7%
ox-LDL	66.6% \pm 3.9% ^b	24.4% \pm 4.5% ^b	8.9% \pm 0.7%
ox-LDL+ PBC	85.7% \pm 0.8% ^e	4.0% \pm 0.3% ^e	10.2% \pm 0.6%

b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; e 为 $P < 0.01$, 与 100 mg/L ox-LDL 组比较。

3.3 普罗布考下调氧化型低密度脂蛋白诱导的周期素 D1 蛋白表达

用蛋白印迹法检测普罗布考对周期素 D1 蛋白表达的结果见图 2 和图 3 (Figure 2 and Figure 3)。可见 100 mg/L ox-LDL 能诱导周期素 D1 蛋白表达, 高峰在 6~12 h。经普罗布考处理 6 h 和 12 h 后可见周期素 D1 蛋白表达分别减少 26% 和 23% (两者 $P < 0.01$)。

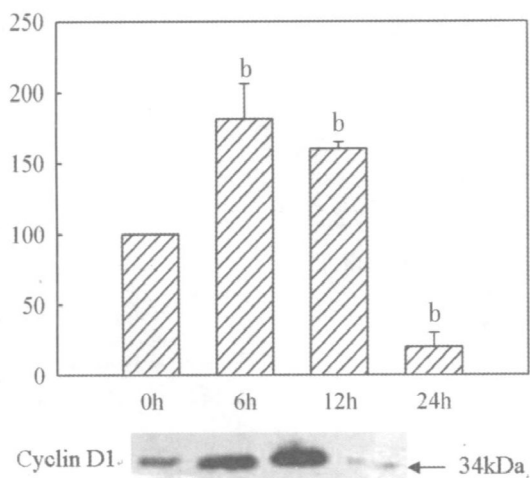


图 2. 100 mg/L 氧化型低密度脂蛋白对周期素 D1 蛋白表达的作用 b 为 $P < 0.01$, 与对照(0 h)组比较。

Figure 2. Effect of ox-LDL 100 mg/L on expression of cyclin D1. All bars indicate ox-LDL

3 讨论

已证明普罗布考能有效减少再狭窄的发生, 在体内、体外以及动物模型和人类患者上均发现普罗布考可以抑制 VSMC 增殖、内膜增生^[6, 11], 但其防治再狭窄具体的分子机制却不清楚。本研究中, 我们的结果显示普罗布考能有效抑制 ox-LDL 诱导的细

胞周期由 G0/G1 期向 S 期运行, 抑制 VSMC 增殖, 我

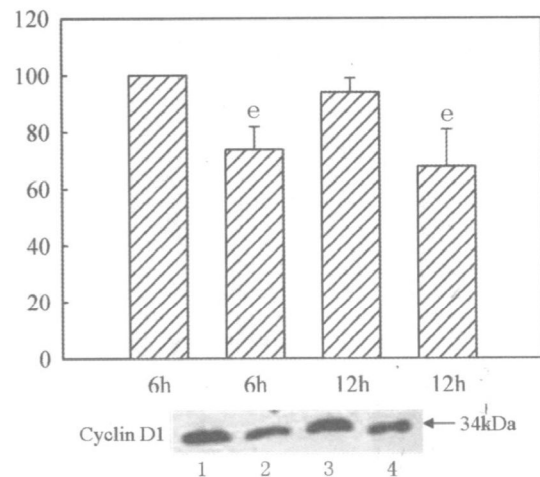


图 3. 普罗布考对氧化型低密度脂蛋白诱导周期素 D1 蛋白表达的抑制作用 1 和 3 为 100 mg/L ox-LDL 组, 2 和 4 为 ox-LDL+ 普罗布考组。e 为 $P < 0.01$, 与 100 mg/L ox-LDL 组比较。

Figure 3. Inhibiting effect of probucol on cyclin D1 protein expression induced by ox-LDL 100 mg/L

们还发现普罗布考下调 ox-LDL 诱导的周期素 D1 蛋白表达。氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)是再狭窄和 As 发生、发展的关键危险因子, ox-LDL 可以促进 VSMC 增殖^[12], 新近临床资料表明 ox-LDL 与重塑有关^[7]。而普罗布考能有效抑制 ox-LDL 诱导的 VSMC 增殖。然后我们用 FCM 分析发现, ox-LDL 处理 24 h 能诱导 VSMC 由 G0/G1 期向 S 期推进, 经普罗布考处理后, VSMC 积聚在 G0/G1 期, S 期细胞明显减少。这表明普罗布考抗增殖活性与其调节细胞周期运行有关, 我们进一步推测普罗布考可能通过作用于细胞周期调控蛋白来调控细胞周期。

正如流式细胞仪检测结果所示, 普罗布考能阻止 VSMC 由 G0/G1 期向 S 期推进, 而周期素 D/CDK 复合物是控制限制点 $G1 \rightarrow S$ 推进的关键物质, 因此我们重点观察了普罗布考对周期素 D1 蛋白表达的影响。结果表明普罗布考能显著下调 ox-LDL 诱导的周期素 D1 蛋白表达。由此可推测普罗布考可能通过抑制周期素 D1 蛋白表达, 将细胞阻滞在 G0/G1 期, 从而抑制 VSMC 增殖。综上所述, 普罗布考能有效抑制 VSMC 增殖、内膜增厚, 从而防治再狭窄。本文报道, 普罗布考抑制周期素 D1 蛋白表达, 阻止 VSMC 由 G0/G1 期向 S 期推进。结合以前的结果, 普罗布考能抑制兔再狭窄模型血管壁周期素 D1 蛋白表达, 抑制内膜增生^[13], 有助于解释普罗布考抗再狭窄作用的分子机制。普罗布考对平滑肌细胞周期素 D1 蛋白表达和细胞周期运行的抑制作用是

本文的新发现。值得注意的是细胞周期蛋白是治疗再狭窄和 As 等血管增殖性疾病又一新的有效靶点。

[参考文献]

- [1] Serruys PW, Luijten HE, Beatt KJ, Geuskens R, de Feyter PJ, van den Brand M, et al. Incidence of restenosis after successful coronary angioplasty: a time-related phenomenon. A quantitative angiographic study in 342 consecutive patients at 1, 2, 3, and 4 months. *Circulation*, 1988, **77**: 361-371
- [2] Bauters C, Isner JM. The biology of restenosis. *Prog Cardiovasc Dis*, 1997, **40**: 97-106
- [3] Zettler ME, Pierce GN. Cell cycle proteins and atherosclerosis. *Herz*, 2000, **25** (2): 100-107
- [4] 涂永生, 唐圣松, 廖端芳. 细胞周期与 PTCA 术后再狭窄. 国外医学·生理、病理科学与临床分册, 2002, **22** (5): 509-511
- [5] Bicknell KA, Surry EL, Brooks G. Targeting the cell cycle machinery for the treatment of cardiovascular disease. *J Pharm Pharmacol*, 2003, **55** (5): 571-591
- [6] Lau AK, Leichtweis SB, Hume P, Mashima R, Hou JY, Chaufour X, et al. Probucol promotes functional reendothelialization in balloon-injured rabbit aortas. *Circulation*, 2003, **107**: 2 031-036
- [7] Yoneyama S, Arakawa K, Yonemura A, Isoda K, Nakamura H, Ohsuzu F. Oxidized low density lipoprotein and high density lipoprotein cholesterol modulate coronary arterial remodeling: an intravascular ultrasound study. *Clin Cardiol*, 2003, **26**: 31-35
- [8] 严鹏科, 廖端芳, 杨永宗. 普罗布考对巨噬细胞分泌基质金属蛋白酶 9 的抑制作用. 中国动脉硬化杂志, 2003, **11** (3): 199-202
- [9] 涂永生, 黄红林, 朱炳阳, 廖端芳. Ⅲ型胶原酶/弹性蛋白酶消化法培养大鼠血管平滑肌细胞. 中国动脉硬化杂志, 2001, **9** (5): 438-440
- [10] Liao DF, Jin ZC, Bass As, Daum G, Gygi SP, Aebersold R, et al. Purification and identification of secreted oxidative stress-induced factors from vascular smooth muscle cell. *J Biol Chem*, 2000, **275**: 189-196
- [11] Wakeyama T, Ogawa H, Iida H, Takaki A, Iwami T, Mochizuki M, et al. Effects of candesartan and probucol on restenosis after coronary stenting. *Circ J*, 2003, **67**: 519-524
- [12] Yang CM, Chien CS, Hsiao LD, Pan SL, Wang CC, Chiu CT, et al. Mitogenic effect of oxidized low-density lipoprotein on vascular smooth muscle cells mediated by activation of Ras/Raf/MEK/MAPK pathway. *Br J Pharmacol*, 2001, **132** (7): 1 531-541
- [13] 涂永生, 杨云波, 廖端芳. 丙丁酚对兔经皮血管成形术后内膜增生和细胞周期蛋白表达的抑制作用. 中国心血管杂志, 2003, **8** (1): 1-3
(此文编辑 胡必利)