

外加电场诱导大鼠血管平滑肌细胞形态及迁移行为变化与血管紧张素 ① 受体和血小板源生长因子受体的关系

刘建平, 唐波, 何国祥

(第三军医大学附属西南医院心内科, 重庆市 400038)

[关键词] 内科学; 电场; 血管平滑肌细胞; 细胞迁移; 血小板源生长因子; 血管紧张素 ① 受体

[摘要] 目的 探讨电场作用下血管平滑肌细胞膜表面细胞生长因子受体表达的变化及其对细胞增殖迁移的影响。方法 通过电场实验小室, 对体外培养的大鼠主动脉血管平滑肌细胞给予直流电场干预, 间断显微细胞图像记录和分析, 研究不同强度电场、不同作用时间下血管平滑肌细胞迁移和细胞形态的变化; 采用免疫细胞化学或免疫荧光染色方法, 检测电场干预后与血管平滑肌细胞迁移密切相关的血小板源生长因子受体、血管紧张素 ① 1型受体和2型受体等受体的表达情况。结果 150 V/m 电场长时间作用下, 培养的血管平滑肌细胞有明显的电场趋化性, 细胞向负极迁移的距离明显高于无电场作用的对照组。④改进的电场干预装置作用下, 血管平滑肌细胞膜血小板源生长因子受体表达增加, 部分细胞内血小板源生长因子受体表达上调, 呈不对称分布, 在电场负极面较集中; 细胞中血管紧张素 ① 1型受体表达亦增加, 但无明显不对称分布现象; 血管紧张素 ① 2型受体表达改变不显著。结论 外加直流电场干预下, 大鼠血管平滑肌细胞发生形状改变和定向迁移。血管平滑肌细胞中血小板源生长因子受体和血管紧张素 ① 1型受体表达上调和重分布, 可能与细胞定向迁移的启动和维持有关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The Relationship between Change of Angiotensin ① Receptors and Platelet Derived Growth Factor Receptor and the Morphous and Migration of Rat Vascular Smooth Muscle Cells under Electrical Fields

LIU Jiann-Ping, TANG Bo, and HE Guo-Xiang

(Department of Cardiovascular Diseases, Southwest Hospital, the Third Military Medical University, the People's Liberation Army, Chongqing 400038, China)

[KEY WORDS] Electrical Fields; Vascular Smooth Muscle Cells; Migration; Platelet Derived Growth Factor; Angiotensin ① Receptor

[ABSTRACT] **Aim** To study the change of cellular growth factor receptor and its effect on the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells (VSMC) under electrical field. **Methods** An electrophoresis apparatus was designed for applying the direct current electric fields to the cultured VSMC, which got from the aorta of rat. Interval photographs were used to analyse the direction and distance of VSMC migration. The cellular growth factors such as platelet derived growth factor receptor (PDGFR), angiotensin ① type 1 receptor (AT1R) and its type 2 receptor (AT2R) were studied by immunohistochemistry or immunofluorescence to show the mechanism relation to the migration of VSMC. **Results** The longer time of exposure to the 150 V/m electric field, the more electrotaxis the cells showed, that is, the distance of cellular migration increased obviously with the time of exposure to the electric field compared with control group. Under the direct current electric field, the expression of PDGFR were increased obviously and distributed asymmetricly on the membrane of VSMC. This receptor were mainly focused on the cathodal side of cellular membrane in electric field. The AT1R were also enhanced in the cells after exposure to the electric field, and the expression of AT2R had showed the changeless. **Conclusion** Our study indicates that electric fields applied to the rat VSMC can change the growth characteristic and increase the directly migration of VSMC. These effects maybe relate to the up-regulated expression and re-distribution of some cellular growth factors such as PDGFR, AT1R and AT2R.

新生内膜形成是血管再狭窄的病理基础, 而内膜损伤后创面不能及时修复, 血管平滑肌细胞(vas-

cular smooth muscle cells, VSMC) 内膜下迁移、增殖是新生内膜形成的原因^[1]。有关细胞局部内生电场对细胞生物学行为影响的研究提示, 内生电场可使细胞定向、有序生长, 是最终形成组织或修复组织的一个重要条件^[2]。根据电场对细胞生物学行为的这一影响作用, 结合血管损伤后局部内皮细胞生长缓慢, 内膜创面不能及时修复以及 VSMC 异常迁移、增殖

[收稿日期] 2005-04-11 [修回日期] 2006-02-26

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30170236)

[作者简介] 刘建平, 博士, 副主任医师, 副教授, 主要研究方向为冠心病发病机制及防治, E-mail 为 ljp1022@mail.tmmu.com.cn。唐波, 博士, 主治医师。何国祥, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为冠心病发病机制及防治。

等病理变化存在,本研究拟通过外加电场干预的方式,研究损伤血管局部 VSMC 胞膜表面血小板源生长因子受体(platelet derived growth factor receptor, PDGFR)、血管紧张素 ① (angiotensin ① , Ang ①) 1 型受体(Ang ① type 1 receptor, AT1R) 和 2 型受体(Ang ① type 2 receptor, AT2R) 等受体的表达变化及其对细胞形态和迁移的影响。

1 材料与方法

1.1 血管平滑肌细胞培养

采用 6~8 周龄 Wistar 大鼠,雌雄不拘,每次 2 只,无菌操作下取主动脉血管,按常规组织块贴壁法培养 VSMC,并经抗 α -SM-actin 免疫组织化学鉴定。第 3~5 代传代 VSMC 用于实验研究。

1.2 电场实验小室

改进制作作用于培养细胞的电场(electric fields, EF)发生装置^[3],基本结构包括:观测小室和细胞培养室、电极系统、直流电源(图 1)。细胞培养室的中央部分是观测小室,用倒置显微镜通过观测小室对细胞行为直接观察和测量。与细胞培养室相连的电极采用琼脂—盐桥电极。电源系统为输出电压 0.1~200 V,输出电流 0.01~10 mA,连续可调的电压电流双稳直流电源。

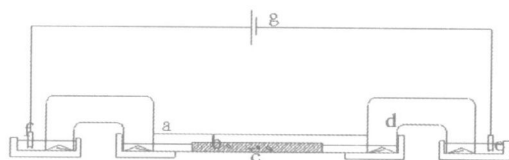


图 1. 电场实验小室示意图 a 为细胞培养室; b 为观测小室; c 为细胞; d 为琼脂—盐桥; e 为电解质; f 为电极; g 为电源。

1.3 电场干预血管平滑肌细胞的方法

将传代培养的 VSMC 接种于盖玻片上,37℃5% CO₂ 细胞培养箱中培养 12~24 h,使细胞单层贴壁生长,放入细胞培养室中,并分组施加电场干预,按细胞分组调节电场强度及作用时间。

1.4 血管平滑肌细胞形态、迁移的观察记录

采用 SPOT INSIGHT 图像采集处理系统,定时记录 VSMC 图像,并对细胞图像进行灰度增减、图像反差的处理以及伪彩色的应用等,使细胞膜、细胞核等轮廓、运动状态更加清晰,以观察分析细胞迁移方向、速度、距离和形态的变化。

1.4.1 迁移方向分析

采用 Gruler 和 Nucci-

telli^[4]方法测定细胞迁移的方向。每个细胞在电场中迁移的方向被定义为函数 $\cos\theta$,细胞沿电场方向向负极迁移为 $\cos\theta=1$,向正极迁移为 $\cos\theta=-1$,垂直迁移或不迁移为 $\cos\theta=0$,按以下公式计算: $\cos\theta=\sum \cos\theta_i/n$ (式中 θ 为细胞移动方向与电场方向的夹角, i 为单个细胞, n 是细胞总数)。

1.4.2 迁移速度的计算 采用 Li 的方法^[5]测定电场干预 6 h 细胞迁移的绝对距离,计算平均迁移速度($\mu\text{m/h}$)。

1.4.3 迁移距离测定 参照 Sarkar 等建立的方法^[6],测定电场干预后 VSMC 迁移距离的改变。主要步骤是培养的 VSMC 于玻片上长满后,在解剖显微镜下用无菌刮刀将玻片两侧的 VSMC 平行刮除,再放回培养板,细胞刮线与电场垂直,每 24 h 记录各组细胞图像一次,测定电场作用后迁移的 VSMC 至刮线边缘的距离,以迁移最远的 VSMC 迁移距离作为细胞迁移距离。每组观察 16 个盖玻片的细胞迁移距离,取平均值。

1.4.4 血管平滑肌细胞形态改变检测^[5] 用改良的 Kolega 方法分析电场干预下 VSMC 板状突起的变化情况,评价细胞形态的改变。主要方法是将细胞板状突起定义为一个矢量—细胞伸展指数,以细胞突起与电场平行线的关系记分,突向负极记+1,突向正极记-1,没有变化记 0。

1.5 血管平滑肌细胞膜上血管紧张素 ① 受体表达的检测

以 150 V/m 电场强度,按 5 min、10 min、30 min 及 1 h、3 h、6 h 分组作用于 VSMC,用免疫组织化学法检测 AT1R 的膜表达;用激光共聚焦显微镜(Leica TCS-NT 型,德国)方法检测 AT2R 表达,主要步骤是各处理组细胞先用 PBS 清洗 3 次,加 TRITC 荧光标记鬼笔环肽(1 mg/L, Sigma 公司)和 4% 多聚甲醛液,湿盒内 37℃、避光温育 3 h,倾去反应液, PBS 清洗后用 50% 甘油/胎牛血清液封片,用激光共聚焦显微镜(波长 568 nm、点孔径 100 μm)检测 AT2R 的荧光表达;用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)方法检测 AT1R、AT2R mRNA 表达:用 TriPure 试剂盒(Boehringer Mannheim 公司)提取各组细胞总 RNA,取 10 μg 总 RNA 进行逆转录(GIBCO 试剂盒),再取 1 μL 逆转录产物用 PCR 扩增仪(美国, PE9600)进行 PCR 扩增,PCR 扩增条件为 94℃变性 $\rightarrow$ 60℃退火 $\rightarrow$ 72℃延伸,共 30 个循环。AT1R 引物序列为:正义 5'-TTC CAC CCG ATC ACC GAT CA-3' 和反义 5'-CGG TGG ATG ACA GCT GGC AA-3',扩增片段为 392 bp; AT2R 的引物序列为:正义 5'-TGA GTC CGC ATT TAA CTG C-

3' 和反义 5'-ACC ACT GAG CAT ATT TCT CGG G-3', 扩增片段为 536 bp。以三磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH) PCR 作为内参照(扩增片段长度为 461 bp)^[7]。

1.6 血小板源生长因子受体表达的检测

各组细胞在不同电场强度及作用时间干预后, 以激光共聚焦显微镜检测 PDGFR 表达变化, 以了解 PDGFR 表达变化与电场作用的关系。主要步骤同 AT2R 检测。

1.7 数据统计

数据资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表达, 两组间差异比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 电场对血管平滑肌细胞生物学行为的影响

2.1.1 对血管平滑肌细胞迁移方向的影响 在含有 10% 胎牛血清(FBS)的培养基中, 以 100~250 V/m 电场作用, VSMC 迁移的平均 cosine θ 较无血清培养基中(DMEM)提高, 细胞迁移显示明显的不对称, 向负极迁移($P < 0.01$)。VSMC 在电场作用下, 无论片状伪足最初向负极、正极或垂直于电场, 细胞均向负极迁移, 与它们最初极性无关。分散细胞和细胞团(3 个或 3 个以上细胞互相连接)在电场中均向负极迁移(表 1)。

表 1. 不同强度电场作用下血管平滑肌细胞迁移方向的变化 ($\bar{x} \pm s$)

电场强度 (V/m)	DMEM		DMEM+ 10% FBS	
	细胞数	cosine θ	细胞数	cosine θ
0	81	0.09 $\pm$ 0.11	87	0.06 $\pm$ 0.12
50	47	0.05 $\pm$ 0.12	74	0.13 $\pm$ 0.06
100	64	-0.03 $\pm$ 0.08	78	0.55 $\pm$ 0.08 ^{ab}
150	73	0.06 $\pm$ 0.09	92	0.80 $\pm$ 0.23 ^{ab}
200	69	0.04 $\pm$ 0.10	85	0.68 $\pm$ 0.09 ^{ab}
250	66	0.13 $\pm$ 0.07	81	0.73 $\pm$ 0.12 ^{ab}

a 为 $P < 0.01$, 与 DMEM 组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 DMEM+ 10% FBS 组 0 V/m 比较。

2.1.2 对血管平滑肌细胞迁移速度的影响 不施加电场作用时, 无血清培养基中, VSMC 随机迁移, 无明显定向特征, 迁移速度缓慢($1.43 \pm 0.22 \mu\text{m/h}$)。在培养基中加入 10% FBS 后, VSMC 迁移速度($4.32 \pm 0.42 \mu\text{m/h}$)显著加快($P < 0.01$), 亦无明显定向性。施加电场作用后, 无血清培养基中 VSMC 迁移速度无显著变化。在含有 10% FBS 培养

基中 VSMC 迁移速度明显加快, 细胞向负极迁移, 呈明显定向迁移特性。迁移速度在一定范围呈电压依赖性, 提高电场强度可以提高迁移速度。提高 VSMC 迁移速度的最佳电场强度为 150 V/m(图 2)。

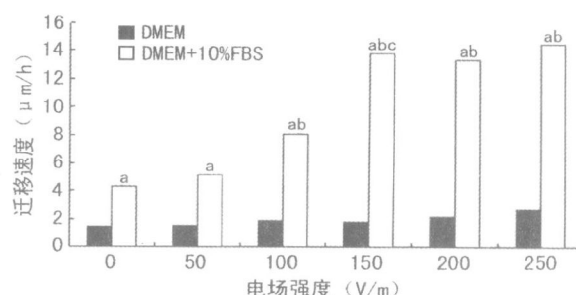


图 2. 电场作用下血管平滑肌细胞迁移速度的变化 a 为 $P < 0.01$, 与 DMEM 组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 0 V/m DMEM+ 10% FBS 组比较; c 为 $P < 0.01$, 与 100 V/m DMEM+ 10% FBS 组比较。

2.1.3 对血管平滑肌细胞迁移距离的影响 在含有 10% FBS 培养基中, 150 V/m 电场干预培养的 VSMC, 在 24 h、48 h、72 h, VSMC 向负极迁移的距离明显高于无电场干预的对照组($P < 0.05$), 且显著高于向正极迁移的距离($P < 0.01$, 表 2)。

表 2. 150 V/m 电场干预不同时间对血管平滑肌细胞迁移距离的影响 ($\bar{x} \pm s$, μm)

分 组	24 h	48 h	72 h
对照组	183.86 $\pm$ 47.65	287.64 $\pm$ 54.18	352.6 $\pm$ 57.82
向负极	238.49 $\pm$ 52.78 ^{ab}	341.61 $\pm$ 63.57 ^{ab}	467.85 $\pm$ 61.36 ^{ab}
向正极	144.56 $\pm$ 49.35	213.67 $\pm$ 53.32 ^a	257.52 $\pm$ 49.11 ^a

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与向正极比较。

2.1.4 对血管平滑肌细胞形态的影响 在加入 10% FBS 的培养基中, 未受电场干预的细胞有多种多样的板状突起, 大小不均, 在细胞周围随机分布。这些板状突起伸展、收缩, 没有明显的协同作用, 产生散发、零星的细胞迁移, 迁移方向是随机的。在施加电场(≥ 100 V/m)后, 部分细胞新的板状突起在 VSMC 膜的负极面芽生、伸展, 原有的板状突起向负极加速伸展, 变得更宽大, 而正极面已有的细胞突起则收缩。测定 VSMC 板状突起在细胞周围突出的方向定量—伸展指数, 发现板状突起分布的平均向量与对照组差异有显著性($P < 0.05$)。

2.2 电场对血管平滑肌细胞血管紧张素 α 受体表达的影响

2.2.1 血管紧张素 α 促进电场对血管平滑肌细胞迁移的影响作用 在 DMEM 和含 10% FBS 培养

基中加入不同浓度 Ang Ⅱ, 150 V/m 电场干预 6 h。结果发现: 在 150 V/m 电场干预下, DMEM 培养基中, Ang Ⅱ各浓度组 VSMC 迁移无明显定向特点, 迁移方向是随机的。加入 10% FBS 后, Ang Ⅱ各浓度组 VSMC 在电场作用下均发生定向迁移, 迁移方向与无 Ang Ⅱ刺激组差异无显著性 ($P > 0.05$), 提示 Ang Ⅱ对电场诱导细胞迁移的负级定向没有影响。

在 150 V/m 电场干预下, Ang Ⅱ使 VSMC 迁移速度明显增快, 与 DMEM 对照组相比差异有显著性 ($P < 0.01$), 而且在一定范围内, VSMC 迁移速度对 Ang Ⅱ呈浓度依赖性(图 3)。

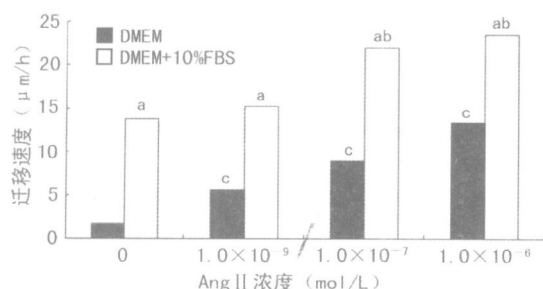


图 3. 血管紧张素 Ⅱ对电场干预下血管平滑肌细胞迁移速度的影响 a 为 $P < 0.01$, 与 DMEM 组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 0 mol/L Ang ⅡDMEM+10% FBS 组比较; c 为 $P < 0.01$, 与 0 mol/L Ang ⅡDMEM 组比较。

2.2.2 电场作用对血管紧张素 Ⅱ受体表达的影响

免疫细胞化学法检测结果发现, 150 V/m 电场干预 72 h 后, 干预组与对照组培养的细胞相比, VSMC 上 AT1R 表达明显增加。以激光共聚焦法检测 AT2R 表达, 结果发现干预组和对照组各作用时间点 VSMC 上 AT2R 均呈低表达或无表达。电场干预后 VSMC 的 AT1R mRNA 表达随干预时间延长明显增加, 而 AT2R mRNA 表达则无明显变化(图 4)。

2.3 电场对血管平滑肌细胞血小板源生长因子受体表达的影响

正常状态下, VSMC 即表达 PDGFR, 施加 150 V/m 电场干预后, 其表达显著增加, 并随电场作用时间延长而逐渐增加, 结果与对照组差异有显著性(图 5)。进一步分析 PDGFR 表达的免疫荧光照片, 正常状态下, VSMC 表达 PDGFR 在细胞质和细胞膜上均匀分布, 施加 150 V/m 电场干预后, PDGFR 表达增加, 部分细胞 PDGFR 表达呈不对称分布, 主要集中于电场负极面的细胞膜和板状突起中, 这一特性与细胞迁移方向的变化是一致的。

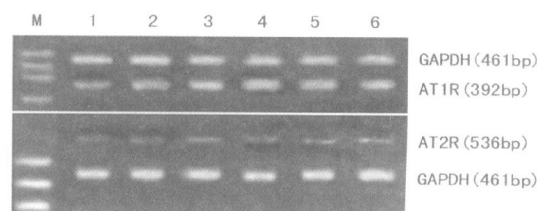


图 4. 逆转录聚合酶链反应检测血管紧张素 Ⅱ型受体、2 型受体 mRNA 的表达 M 为分子质量 Marker, 1 为对照组, 2~6 分别为电场作用 10 min、30 min、60 min、180 min、600 min 组。

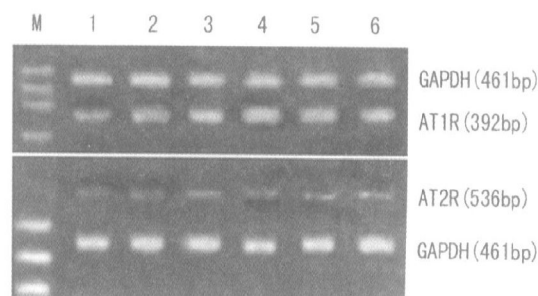


图 5. 电场干预对血小板源生长因子受体蛋白表达荧光强度的影响 a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

3 讨论

电场影响细胞生物学行为的现象普遍存在于胚胎发育和损伤修复等生物现象中^[2]。有实验表明电场诱导细胞定向迁移中可见到一些细胞生长因子受体表达上调, 并在细胞膜表面重新分布, 主要表现为这些受体聚集在细胞迁移的前缘, 电场的负极侧。如内生理电场可上调表皮细胞生长因子受体、肝细胞生长因子受体的表达, 并使表皮细胞生长因子受体和肝细胞生长因子受体在细胞膜发生重新分布, 聚集于负极面边缘^[8]。这些变化可能与细胞定向迁移有关, 但目前还不能肯定受体在细胞膜的这种不对称分布是定向迁移所必须的。电场还可以诱导细胞即早基因表达, 如 *c-fos*、*jun* 和 *c-myc* 等, 诱导肌动蛋白细胞骨架在细胞重新分布。另外, 电场诱导细胞生长因子受体表达改变, 可启动下游的信号通路, 参与这一过程的信号通路可能包括有丝分裂活化蛋白激酶信号通路、第二信使信号分子 ERK1/ERK2 的重分布、蛋白激酶 A 信号通路等^[9-11]。这些机制可能与电场的促细胞迁移作用有关。

本实验通过外加电场作用于培养的 VSMC 来研究电场对 VSMC 生物学行为的影响, 结果发现 VSMC

在电场作用下向电场负极面作定向迁移,而且迁移速度明显增加。同时本实验还研究了 Ang Ⅱ受体及 PDGFR 在这一过程中的变化,结果发现,在一定浓度范围内,Ang Ⅱ可显著增强电场的促 VSMC 定向迁移作用,电场还可诱导 VSMC AT1R 表达上调,提示 Ang Ⅱ通过 AT1R 介导促进电场诱导的 VSMC 迁移。电场对 AT2R 没有明显影响,可能与 VSMC 在通常情况下 AT2R 表达较少或不表达有关^[12]。PDGFR 的变化与 AT1R 变化类似,在这一过程中受电场作用表达明显上调,有趣的是在电场作用下 PDGFR 在部分 VSMC 膜表面呈明显不对称分布,主要集中于电场负极面细胞膜和板状突起上。上述这些变化与细胞迁移特性变化是一致的。本研究没有发现 Ang Ⅱ直接参与电场中 VSMC 迁移方向调整的证据,但 Ang Ⅱ是否可以通过调节 PDGF 和 PDGFR 的表达影响 VSMC 定向迁移尚待进一步研究。

在电场作用下 VSMC 迁移也伴随着其细胞形态的改变,主要是细胞板状突起增加,并顺电场方向伸展。表现为细胞向电场负极方向定向地芽生或伸展细胞板状突起,这一变化与细胞定向迁移是一致的,表明细胞在电场作用下的定向迁移是靠细胞的运动完成的。另一方面,VSMC 在电场作用下定向迁移有赖于培养基中血清的存在,在无血清培养基中 VSMC 不受电场作用发生定向迁移,这可能与其在无血清环境中生长受限或不生长有关。上述结果提示,在电场作用下 VSMC 定向迁移是与细胞生长相关的一种主动行为,而不是在电场作用下的一种被动的泳动。

本实验结果提示,通过外加电场并调节适宜的电场强度及方向,可能调节细胞的生物学行为,使其定向地加速生长。将这一作用应用于损伤的血管内

膜,则可加速内膜的修复。同样如果施加反向电场,则可能使向内膜下迁移的 VSMC 迁移受到抑制或反向迁移。这些作用将有利于血管损伤后再狭窄的防治。但电场对在体细胞生物学行为的影响作用如何及如何在体施加适宜的电场尚有待进一步的研究。

[参考文献]

- [1] Nikol S, Huehns TY, Hoffling B. Molecular biology and post angioplasty restenosis [J]. *Atherosclerosis*, 1996, **123** (1-2): 17-31
- [2] Zhao M, Forrester JV, McCaig CD. A small, physiological electric field orients cell division [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1999, **96**: 4 942-946
- [3] Zhao M, Agius-Fernandez A, Forrester JV, McCaig CD. Orientation and directed migration of cultured corneal epithelial cells in small electric fields are serum dependent [J]. *J Cell Sci*, 1996, **109**: 1 405-414
- [4] Gruler H, Nuccitelli R. Neural crest cell galvanotaxis: new data and a novel approach to go the analysis of both galvanotaxis and chemotaxis [J]. *Cell Motil Cytoske*, 1991, **19** (2): 121-133
- [5] Li XF, Kolega J. Effects of direct current electric fields on cell migration and actin filament distribution in bovine vascular endothelial cells [J]. *J Vasc Res*, 2002, **39**: 391-404
- [6] Sarkar R, Memberg EG, Stanley JC, Gordon D, Webb RC. Nitric oxide reversibly inhibits the migration of cultured vascular smooth muscle cells [J]. *Circ Res*, 1996, **78** (2): 225-230
- [7] Matrougui K, Loufrani L, Heymes C, Levy BI, Henrion D. Activation of AT (2) receptors by endogenous angiotensin II is involved in flow-induced dilation in rat resistance arteries [J]. *Hypertension*, 1999, **34** (4 Pt 1): 659-665
- [8] Ishida T, Ishida M, Suero J, Takahashi M, Berk BC. Agonist-stimulated cytoskeletal reorganization and signal transduction at focal adhesions in vascular smooth muscle cells require c-Src [J]. *J Clin Invest*, 1999, **103** (6): 789-797
- [9] McBain VA, Forrester JV, McCaig CD. HGF, MAPK, and a small physiological electric field interact during corneal epithelial cell migration [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, **44** (2): 540-547
- [10] Wang E, Zhao M, Forrester JV, McCaig CD. Electric fields and MAP kinase signaling can regulate early wound healing in lens epithelium [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, **44** (1): 244-249
- [11] Dekker LV, Segal AW. Perspectives: signal transduction, signals to move cells [J]. *Science*, 2000, **287** (5455): 982-985
- [12] 刘建平,何国祥,景涛,史光鉴,陈渝,张小荣.腺病毒介导血管平滑肌细胞转染表达血管紧张素 Ⅱ2 型受体的研究 [J]. *高血压杂志*, 2001, **9** (1): 46-49

(此文编辑 胡必利,许雪梅)