

过氧化体增殖物激活型受体 α 在血管紧张素 Ang II 诱导的心脏细胞外基质重构中的抑制作用及机制

侯晓阳, 卜培莉, 公茂磊, 郝明秀, 李传保, 张 运

(教育部和卫生部心血管重构和功能研究重点实验室 山东大学齐鲁医院心内科, 山东省济南市 250012)

[关键词] 病理学与病理生理学; 过氧化体增殖物激活型受体 α ; 血管紧张素 Ang II ; 心肌, 纤维化; 活性氧; 转录因子; 大鼠

[摘要] 目的 探讨体外条件下过氧化体增殖物激活型受体 α 激动剂苯扎贝特对血管紧张素 Ang II 促心肌纤维化的抑制作用及活性氧在其中的作用。方法 新生 Wistar 大鼠的原代心肌成纤维细胞培养, 以血管紧张素 Ang II (10^{-7} mol/L) 刺激模拟体外心肌纤维化, 用过氧化体增殖物激活型受体 α 激动剂苯扎贝特 (10^{-5} mol/L) 作用于细胞, 用 MTT 比色法检测心肌成纤维细胞的增殖情况, 采用逆转录聚合酶链反应检测 iv 型胶原、 Col IV 型胶原和基质金属蛋白酶 2 mRNA 的表达, 用 2', 7' 二氯荧光黄双乙酸盐荧光染色法检测心肌成纤维细胞内活性氧的水平。结果 血管紧张素 Ang II 明显促进心肌成纤维细胞增殖, 但苯扎贝特不能抑制血管紧张素 Ang II 的促增殖作用。血管紧张素 Ang II 刺激后 12 h, 心肌成纤维细胞 iv 型胶原和 Col IV 型胶原 mRNA 表达增加, 基质金属蛋白酶 2 表达降低; 预先用苯扎贝特干预 30 min 可以抑制血管紧张素 Ang II 的作用, 过氧化体增殖物激活型受体 α 特异性拮抗剂 MK886 可以抑制苯扎贝特的作用。血管紧张素 Ang II 增加心肌成纤维细胞内活性氧的生成, 苯扎贝特能够抑制血管紧张素 Ang II 的促活性氧作用, MK886 可以阻断苯扎贝特的作用。结论 过氧化体增殖物激活型受体 α 通路的激活能够抑制血管紧张素 Ang II 的促心肌纤维化作用。其作用可能是通过抑制活性氧生成来实现的。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Mechanism of Peroxisome Proliferators-Activated Receptor α in the Inhibition of Myocardial Extracellular Matrix Remodeling Induced by Angiotensin Ang II

HOU Xiao-Yang, BU Pei-Li, GONG Mao-Lei, HAO Ming-Xiu, LI Chuang Bao, and ZHANG Yun

(Key Laboratory of Cardiovascular Remodeling and Function Research, Chinese Ministry of Education and Chinese Ministry of Public Health; Department of Cardiology, Qilu Hospital, Shandong University, Jinan 250012, China)

[KEY WORDS] Peroxisome Proliferators-Activated Receptor α ; Angiotensin Ang II ; Myocardial Fibrosis; Reactive Oxygen Species; Transcription Factors; Rats

[ABSTRACT] **Aim** To examine the role of peroxisome proliferators-activated receptor α (PPAR α) in myocardial fibrosis induced by angiotensin Ang II (Ang II) in vitro. **Methods** Cardiac fibroblasts (CFs) of neonatal Wistar rats were isolated and cultured, then was stimulated with Ang II . CFs proliferation was measured by thiazolyl blue (MTT) assay. mRNA expression of collagen iv, collagen Col IV matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) was measured by reverse transcription-polymerase chain reaction, reactive oxygen species levels in CFs were detected with DCFH-DA. **Results** Compared with control group, after treatment with Ang II for 12 hours, MTT value of cardiac fibroblasts was increased, mRNA expression of collagen iv, collagen Col IV in CFs was increased, and MMP-2 was decreased significantly; the increasing of reactive oxygen species (ROS) levels in CFs was also showed with fluorescence stain; Bezafibrate, a kind of PPAR α activators, inhibited the above changes with no effect on CFs proliferation; MK886, a kind of PPAR α antagonist, abrogated the action of Bezafibrate. **Conclusion** The results suggest that PPAR α dependent pathway is critically involved in the inhibition of myocardial fibrosis in vitro, which may be through inhibiting the generation of ROS.

高血压所致心肌间质纤维化主要表现为心肌

成纤维细胞(cardial fibroblasts, CF)的增殖和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)沉积。在心脏 ECM 中,胶原占 85%,其中主要是胶原 iv 和胶原 Col IV 因此抑制 CF 的增殖和胶原的合成并促进其降解是预防和逆转细胞外基质重构的关键环节。CF 占心脏组织细胞总数的 2/3,是心脏胶原合成最主要的细胞。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)属于蛋白酶家族,可降解 ECM 蛋白,在心脏 ECM 重构

[收稿日期] 2006-02-20 [修回日期] 2006-06-29

[基金项目] 山东省自然科学基金(Y2004C21)资助

[作者简介] 侯晓阳,硕士研究生,主要从事高血压心肌重构的基础研究工作。张运,中国工程院院士,博士研究生导师,主要从事动脉粥样硬化及血流动力学方面的研究, E-mail 为 yun_zhang@163.com。

通讯作者 卜培莉,博士研究生导师,主要从事高血压心肌重构的基础和临床研究工作,联系电话为 13791123039, E-mail 为 bupeili@med-mail.com.cn。

中起重要作用。过氧化体增殖物激活型受体 α (peroxisome proliferators-activated receptor α , PPAR α) 是核受体超家族成员,在调节脂质代谢中起关键作用,与心血管疾病密切相关。我们在体外条件下,以血管紧张素 $\text{I}\alpha$ (angiotensin $\text{I}\alpha$, Ang $\text{I}\alpha$) 刺激模拟体外心肌纤维化^[1],来探讨 PPAR α 通路在心脏细胞外基质重构中的调控作用及机制,为心肌纤维化的防治探索新的思路。

1 材料和方法

1.1 主要试剂及仪器

新生 Wistar 大鼠(山东大学医学院试验动物中心);低糖 DMEM 培养基(GIBCO)、新生小牛血清(杭州四季青公司)、胰蛋白酶(Sigma); Bezafibrate、[Val⁵]-Angiotensin II(Sigma); MK886(Alexis); 2', 7'-二氯荧光黄双乙酸盐(DCFH-DA, Sigma); MTT (Sigma); 异硫氰酸胍(山东大学齐鲁医院心血管重构和功能实验室提供),引物(上海博雅生物公司),Taq DNA Polymerase、M-MLV、dNTP (Fermentas); 小鼠抗大鼠波形蛋白单克隆抗体、小鼠抗大鼠肌动蛋白单克隆抗体、羊抗小鼠 IgG-FITC 二抗(武汉博士德生物公司); 荧光倒置显微镜(Olympus DP70), 聚合酶链反应扩增仪(Biometra), 凝胶照相系统(Alpha Innotech), 酶联免疫检测仪(InTec Reader 2010)。

1.2 心肌成纤维细胞的培养和鉴定

无菌条件下开胸取出新生 Wistar 大鼠心室部分,磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗后,剪成约 1 mm² 碎块,0.25% 胰蛋白酶 37℃ 消化 20 min,等量含 20% 小牛血清的 DMEM 终止消化,1 000 r/min 离心 8 min, PBS 洗涤 1 次,将所得细胞在含 10% 小牛血清的 DMEM 培养基中,37℃ 5% CO₂ 培养箱内贴壁 60~90 min,差速贴壁除去心肌细胞。细胞生长至近汇合状态时按 1:3 传代,实验采用第 3~4 代细胞。心肌成纤维细胞生长至汇合的 70% 时,换含 1% 小牛血清的 DMEM 培养基,37℃ 继续孵育 24 h,使细胞进入生长静止期。随机分组加不同的干预因素:空白对照组;④苯扎贝特(10⁻⁵ mol/L)组;④Ang $\text{I}\alpha$ (10⁻⁷ mol/L)组; 苯扎贝特+ Ang $\text{I}\alpha$ 组; MK886(10⁻⁷ mol/L)+ 苯扎贝特+ Ang $\text{I}\alpha$ 组。各组干预平行进行,每组设 5 个样本,MK886 预先干预 30 min 后加苯扎贝特干预 30 min,再加 Ang $\text{I}\alpha$ 作用 12 h,不加药时加溶解药物的溶剂。

1.3 心肌成纤维细胞的鉴定

原代细胞培养至接近汇合,胰酶消化,接种到铺

有载玻片的培养皿中,继续培养至细胞接近汇合状态,吸去培养基,PBS 洗 3 次,1 min/次;4% 甲醛固定 15 min, PBS 洗 3 次,2 min/次;0.5% TritonX-100 孵育 5 min,2 次;3% H₂O₂ 处理标本 15 min,后于含 5% 羊血清的 PBS 中封闭 20 min,分别加不同的一抗 4℃ 过夜, PBS 洗 3 次,5 min/次,加荧光标记的二抗孵育 30 min, PBS 洗 3 次,5 min/次,然后在荧光倒置显微镜下观察并照相。

1.4 MTT 比色法检测心肌成纤维细胞的增殖

将对数生长期 CF 接种在 96 孔板中,5 × 10³ 细胞/孔,37℃ 5% CO₂ 饱和湿度下培养,24 h 后换含 1% 血清 DMEM 培养基,继续培养 24 h,使细胞进入生长静止期。弃上清,分别加入含各种干预药物的全培养基 180 μ L 按分组条件继续培养 48 h,每组设 5 个复孔。各组于药物刺激结束前 4 h 加 MTT (5 g/L) 20 μ L/孔,继续培养 4 h 后终止,吸弃孔内培养基,每孔加入二甲亚砜 150 μ L,振荡 10 min 使结晶充分溶解。在酶联免疫检测仪上 490 nm 波长处测定光吸收值(A490),用只加二甲亚砜没有细胞的空白孔调零。

1.5 逆转录聚合酶链反应检测基因 mRNA 的表达

测定 CF 胶原 iv、胶原 $\text{I}\alpha$ 和 MMP-2 mRNA 的表达。采用异硫氰酸胍—氯仿一步法提取细胞总 RNA,适量 DEPC 水溶解 RNA 沉淀,紫外分光光度计测定 260 nm 和 280 nm 处吸光度值 A(A260 和 A280)以估计 mRNA 的浓度和纯度。以 1 μ g 总 RNA 反转录生成 20 μ L 产物,反转录体系在 37℃ 反应 60 min,95℃ 反应 5 min,4℃ 冷浴,完成 cDNA 的合成。配 PCR 反应体系扩增目的基因及内参照 GAPDH,所用引物均由 Primer5.0 软件设计。内参照 GAPDH 扩增引物:上游 5'-TCC CTC AAG ATT GTC AGC AA-3',下游 5'-AGA TCC ACA ACG GAT ACA TT-3';片段长度 308 bp,退火温度为 52℃。胶原 iv 扩增引物:上游 5'-ACA GCA CGC TTG TGG AT-3',下游 5'-GTC TTC AAG CAA GAG GAC CA-3';片段长度 469 bp,退火温度为 50℃。胶原 $\text{I}\alpha$ 扩增引物:上游 5'-AGA TCA TGT CTT CAC TCA A-3',下游 5'-TTT ACA TTG CCA TTG GCC TGA-3';片段长度 463 bp,退火温度为 50℃。MMP-2 扩增引物:上游 5'-GTG CTG AAG GAC ACC CTC AAG AAG A-3',下游 5'-TTG CCG TCC TTC TCA AAG TTG TAC G-3';片段长度 605 bp,退火温度为 56℃。PCR 反应条件:95℃ 预变性 5 min;95℃ 变性 45 s \rightarrow 退火 45 s \rightarrow 72℃ 延伸 60 s,进行 30 个循环;72℃ 延伸 7 min。将 PCR 产物 10 μ L 加 2 μ L 溴酚蓝,在 1.2% 琼脂糖凝胶上电泳,紫外灯下凝

胶成像分析系统记录结果,待测基因 mRNA 相对表达量以其扩增带光密度值与相应内参照扩增带光密度值的比值表示。

1.6 2', 7' 二氯荧光黄双乙酸盐荧光染色检测活性氧的水平

参考文献[2],采用 2', 7' 二氯荧光黄双乙酸盐 (DCFH-DA) 荧光染色检测细胞内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平。CF 在 10% 小牛血清的 DMEM 中培养至汇合 60%, 换无血清培养基继续培养 48 h, 然后加各种试剂干预 12 h, 再加 ROS 敏感的 DCFH-DA (10^{-5} mol/L) 37 °C 培养 10 min, PBS 洗后于荧光显微镜下蓝光激发观察并照相。

1.7 统计学处理

所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS13.0 分析软件, 分析采用单因素方差分析, 作各组间均数两两比较。 $P < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞鉴定

倒置显微镜下观察, 细胞呈梭形, 胞体较大, 细胞浆透明, 细胞核较大, 呈椭圆形, 通常含 2~3 个核, 无自发性搏动。以台盼蓝拒染法计数, 活细胞率达 99%。免疫细胞荧光可见波形蛋白抗体呈阳性, 肌动蛋白抗体呈阴性, CF 纯度达 95% (图 1)。



图 1. 心肌成纤维细胞免疫荧光鉴定 A 为波形蛋白细胞免疫荧光图阳性 ($\times 200$), B 为肌动蛋白细胞免疫荧光图阴性 ($\times 200$)。

2.2 过氧化体增殖物激活型受体 α 激动剂对心肌成纤维细胞增殖的影响

与对照组比较, 苯扎贝特对 CF 的增殖没有显著影响 ($P > 0.05$), Ang II 可明显促进 CF 增殖 ($P < 0.01$); 与 Ang II 组比较, 苯扎贝特+ Ang II 组细胞增殖没有明显改变 ($P > 0.05$); 与苯扎贝特+ Ang II 组比较, MK886+ 苯扎贝特+ Ang II 组细胞增殖没有明显差异 ($P > 0.05$) (表 1)。

表 1. 各组心肌成纤维细胞 MTT 的 A490 值 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

分 组	MTT-A490
对照组	0.203 \pm 0.009
苯扎贝特组	0.208 \pm 0.008
Ang II 组	0.256 \pm 0.007 ^a
苯扎贝特 (10^{-7} mol/L) + Ang II 组	0.253 \pm 0.009
苯扎贝特 (10^{-6} mol/L) + Ang II 组	0.253 \pm 0.006
苯扎贝特 (10^{-5} mol/L) + Ang II 组	0.254 \pm 0.004
MK886+ 苯扎贝特+ Ang II 组	0.251 \pm 0.006

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

2.3 过氧化体增殖物激活型受体 α 激动剂对胶原代谢基因表达的影响

使用 AlphaEaseFC 凝胶分析系统可测知扩增条带代表的片段大小与预先设计相符。与对照组比较, Ang II 组 CF 胶原 I 和胶原 III mRNA 的表达明显增加, MMP-2 mRNA 表达减少 ($P < 0.01$); 与 Ang II 组比较, 苯扎贝特+ Ang II 组 CF 胶原 I 和胶原 III mRNA 的表达明显降低, MMP-2 mRNA 表达增加 ($P < 0.01$); 与苯扎贝特+ Ang II 组比较, MK886+ 苯扎贝特+ Ang II 组 CF 胶原 I 和胶原 III mRNA 的表达明显增加, MMP-2 mRNA 表达降低 ($P < 0.01$) (表 2 和图 2)。

表 2. 苯扎贝特对血管紧张素 II 诱导的胶原 I 、 III 和基质金属蛋白酶 2 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

分 组	胶原 I /GAPDH	胶原 III /GAPDH	MMP-2/GAPDH
对照组	0.127 \pm 0.012	0.456 \pm 0.008	0.772 \pm 0.011
Ang II 组	0.737 \pm 0.005 ^a	0.703 \pm 0.017 ^a	0.138 \pm 0.013 ^a
BAng II 组	0.191 \pm 0.015 ^b	0.469 \pm 0.02 ^b	0.779 \pm 0.018 ^b
MBAng II 组	0.669 \pm 0.019 ^c	0.676 \pm 0.015 ^c	0.153 \pm 0.005 ^c
苯扎贝特组	0.161 \pm 0.013	0.047 \pm 0.012	0.825 \pm 0.009

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 Ang II 组比较; c 为 $P < 0.01$, 与苯扎贝特+ Ang II 组比较。MBAng II 为 MK886+ 苯扎贝特+ Ang II 组, BAng II 组为苯扎贝特+ Ang II 组。

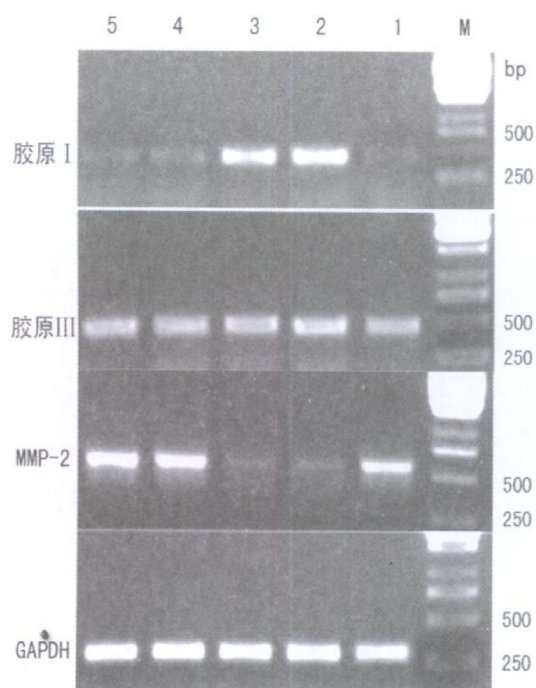


图2. 各组胶原iv、胶原Ⅲ和基质金属蛋白酶2 mRNA的表达 ($n=5$) M为Marker, 1为空白对照组, 2为Ang Ⅱ组, 3为MK886+ 苯扎贝特+ Ang Ⅱ组, 4为苯扎贝特+ Ang Ⅱ组, 5为苯扎贝特组。

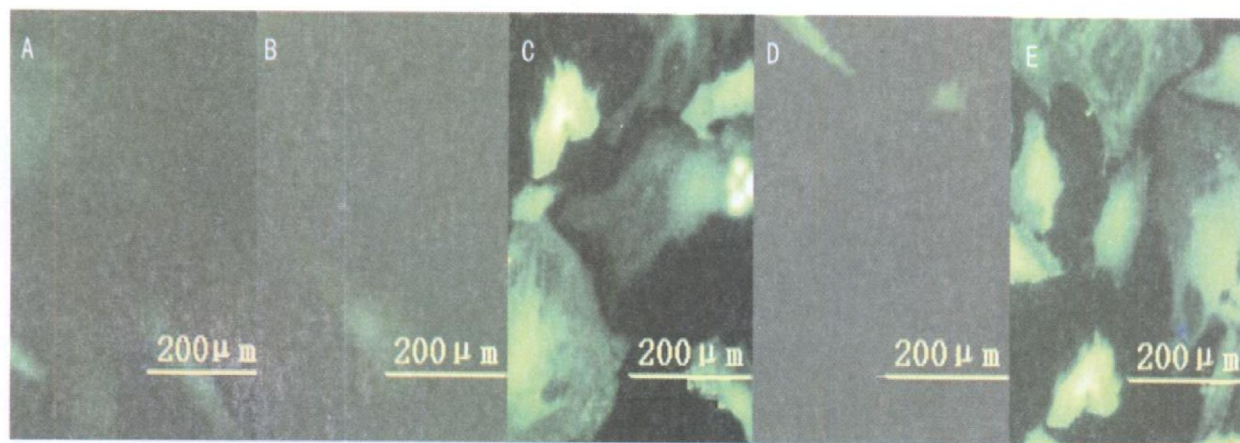


图3. 各组心肌成纤维细胞内活性氧的水平 A为对照组, B为苯扎贝特组, C为Ang Ⅱ组, D为苯扎贝特+ Ang Ⅱ组, E为MK886+ 苯扎贝特+ Ang Ⅱ组。

Ⅲ及纤维连接蛋白、弹性蛋白、明胶^[4]。CF是胶原合成和降解的主要细胞^[5], 凡是影响心肌成纤维细胞的因素如血流动力改变、化学刺激、氧化刺激和细胞因子等都可以引起ECM数量和结构的改变, 从而影响心脏的功能。本研究结果发现, Ang Ⅱ能刺激CF的增殖, 并上调胶原iv和胶原ⅢmRNA表达, 同时下调MMP-2 mRNA表达, 使ECM降解减少, 有致心肌纤维化的作用, 与文献[6]报道一致。

过氧化体增殖物激活型受体(PPAR)是核受体超家族中配体激活的核转录因子, PPARs家族主要包括3种蛋白亚型: PPAR α 、PPAR β 和PPAR γ 。

2.4 过氧化体增殖物激活型受体 α 激动剂对活性氧的影响

2', 7' 二氯荧光黄双乙酸盐是一种渗透性的细胞内ROS指示剂, 对过氧化物敏感, 起反应后在蓝光激发下产生绿色荧光, 荧光的强弱可反映氧化应激水平的高低。由图3可见, 对照组和苯扎贝特组荧光较弱; 与对照组比较, Ang Ⅱ组荧光强度明显增强; 与Ang Ⅱ组比较, 苯扎贝特+ Ang Ⅱ组荧光强度明显减弱; 与苯扎贝特+ Ang Ⅱ组比较, MK886+ 苯扎贝特+ Ang Ⅱ组荧光强度明显增强。

3 讨论

高血压心肌肥厚表现为心肌细胞肥大和心肌成纤维细胞(CF)增殖以及细胞外基质(ECM)沉积, 造成心肌舒张功能异常, 僵硬增加。ECM的沉积主要是胶原的产生增多和/或降解减少。ECM的降解主要是由基质金属蛋白酶(MMPs)来调节的^[3], 其中MMP-2(明胶酶)能够降解ECM中的胶原iv、Ⅲ

PPARs与其激动剂结合后被激活, 而后与视黄醛X受体(RXR)结合形成异二聚体, 并结合到目的基因启动子PPAR反应元件(PPAR response elements, PPRE)上, 促进目的基因的转录^[7]。PPAR α 在以脂肪酸氧化作为主要能量来源的组织中表达丰富, 如心脏和肝脏, 调节脂肪代谢, 抗动脉粥样硬化, 与心血管疾病密切相关^[8]。本研究结果说明, 苯扎贝特能够抑制Ang Ⅱ诱导的CF胶原iv和胶原Ⅲ的转录, 减少ECM的生成; 同时, 苯扎贝特还能够抑制Ang Ⅱ对MMP-2转录的抑制作用, 增加ECM的降解, 该作用能被PPAR α 拮抗剂MK886阻断, 说明苯扎贝特

是通过激活 PPAR α 通路来调节 ECM 的。但是, 苯扎贝特不能抑制 Ang II 对 CF 的促增殖作用。因此, 我们认为 PPAR α 通路的激活能够抑制胶原的合成和促进其降解, 从而来调节 ECM 的沉积, 有利于抑制心肌 ECM 的重构。

据文献[9, 10]报道, Ang II 刺激 NADPH 氧化酶, 促进 ROS 的合成和释放, 并认为 ROS 是 Ang II 诱导心血管疾病的重要机制。别嘌呤醇(黄嘌呤氧化酶抑制剂)通过抑制 ROS 的产生, 减轻心肌梗死后左心室重构和胶原沉积, 改善心功能, 证明 ROS 在心肌纤维化过程中发挥重要作用^[11]。本研究发现, Ang II 刺激成纤维细胞 ROS 的合成, 与文献[12]报道一致; 苯扎贝特能够抑制 Ang II 对 ROS 的刺激作用, 因此我们认为苯扎贝特通过抑制 Ang II 对 ROS 的刺激作用来调节 ECM 相关基因的表达和活性, 从而发挥其抑制心肌纤维化的作用; PPAR α 拮抗剂 MK886 能阻断苯扎贝特的作用, 说明苯扎贝特是通过激活 PPAR α 起作用的。但 PPAR α 抑制 ROS 生成的机制还有待进一步的研究。在心脏, NADPH 氧化酶是 ROS 生成的主要来源^[13], 因此 PPAR α 可能是通过抑制 NADPH 氧化酶的生成。文献[14]报道核因子 κ B 是一种氧化敏感的转录因子, ROS 激活核因子 κ B 从而调节相关基因的表达; PPAR α 激动剂能够抑制核因子 κ B 的转录活性^[15], 因此我们得出这样一个结论: PPAR α 可能通过抑制核因子 κ B 的转录活性, 从而抑制 Ang II 诱导的 ROS 促心肌纤维化作用, 从而调节 ECM 的沉积, 改善心肌纤维化。

研究表明 PPAR α 有抗心肌纤维化作用, 那么其激活配体贝特类药物是否能够被用来治疗和预防心肌纤维化呢? 尚有待临床进一步探索, 这将为临床高血压心肌重构和舒张性心力衰竭的治疗提供新的思路。

[参考文献]

- [1] Kawano H, Do YS, Kawano Y, Starnes V, Barr M, Law RE, et al. Angiotensin II has multiple profibrotic effects in human cardiac fibroblasts[J]. *Circulation*, 2000, **101**: 130-137
- [2] Masuko UF, Alexander RW, Akers M, Griendling KK. P38 mitogen activated protein kinase is a critical component of the redox-sensitive signaling pathways activated by angiotensin II[J]. *J Biol Chem*, 1998, **273** (12): 15 022-029
- [3] Cleutjens JP, Kandala JC, Guarda E, Guntaka RV, Weber KT. Regulation of collagen degradation in the rat myocardium after infarction[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1995, **27** (6): 1 281-292
- [4] Li YY, McTiernan CF, Feldman AM. Interplay of matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and their regulators in cardiac matrix remodeling[J]. *Cardiovascular Research*, 2000, **46**: 214-224
- [5] Heeneman S, Cleutjens JP, Faber BC, Creemers EE, Suylen RJ, Lutgens E, et al. The dynamic extracellular matrix: intervention strategies during heart failure and atherosclerosis[J]. *J Pathol*, 2003, **200**: 516-525
- [6] Peng JF, Gurantz D, Tran V, Cowling RT, Greenberg BH. Tumor necrosis factor- α induced AT1 receptor upregulation enhances angiotensin II mediated cardiac fibroblast responses that favor fibrosis[J]. *Circ Res*, 2002, **91**: 1 119-126
- [7] Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator activated receptors: nuclear control of metabolism[J]. *Endocr Rev*, 1999, **20** (5): 649-688
- [8] 胡琴, 张运. 过氧化体增殖物激活型受体各亚型与动脉粥样硬化形成[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005, **13** (5): 662-666
- [9] Reckelhoff JF, Romero JC. Role of oxidative stress in angiotensin II induced hypertension[J]. *Am J Physiol*, 2003, **284**: R893-R912
- [10] Harrison DG, Cai H, Landmesser U, Griendling KK. Interactions of angiotensin II with NAD(P)H oxidase, oxidant stress and cardiovascular disease[J]. *J Renin Angiot Aldost Sys*, 2003, **4** (2): 51-61
- [11] Engberding N, Spiekermann S, Schaefer A, Heineke A, Wiencke A, Müller M, et al. Allopurinol attenuates left ventricular remodeling and dysfunction after experimental myocardial infarction: a new action for an old drug[J]. *Circulation*, 2004, **110**: 2 175-179
- [12] Cheng TH, Cheng PY, Shih NL, Chen IB, Wang DL, Chen JJ. Involvement of reactive oxygen species in angiotensin II-induced endothelin-1 gene expression in rat cardiac fibroblasts[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2003, **42** (10): 1 845-854
- [13] Zafari AM, Masuko UF, Akers M, Yin Q, Shah A, Harrison DG, et al. Role of NADH/NADPH oxidase-derived H₂O₂ in angiotensin II-induced vascular hypertrophy[J]. *Hypertension*, 1998, **32**: 488-495
- [14] Storz P, Toker A. NF- κ B signaling: an alternate pathway for oxidative stress responses[J]. *Cell Cycle*, 2003, **2** (1): 9-10
- [15] Ogata T, Miyauchi T, Sakai S, Takanashi M, Yoko H, Yamaguchi I. Myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in deoxycorticosterone acetate salt hypertensive rats is ameliorated by the peroxisome proliferator-activated receptor- α activator fenofibrate, partly by suppressing inflammatory responses associated with the nuclear factor- κ B pathway[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2004, **43**: 1 481-488

(此文编辑 朱雯霞)