

花刺参粘多糖对血小板源生长因子 BB 诱导的大鼠血管平滑肌细胞增殖和凋亡的影响

张健, 蔡生业, 姚成芳, 王丽, 周宪宾, 王华亭, 王恒孝

(山东省医学科学院基础医学研究所, 山东省济南市 250062)

[关键词] 病理学与病理生理学; 花刺参粘多糖; 血小板源生长因子; 血管平滑肌细胞; 动脉粥样硬化

[摘要] 目的 观察花刺参粘多糖对血小板源生长因子 BB 诱导的大鼠血管平滑肌细胞增殖和凋亡的影响, 以探讨花刺参粘多糖抗动脉粥样硬化、预防经皮腔内冠状动脉成形术后再狭窄的可能机制。方法 组织块贴片法体外原代培养大鼠血管平滑肌细胞, 细胞增殖采用四甲基偶氮唑盐、流式细胞周期分析; 流式细胞术、TUNEL 法观察细胞凋亡。结果 血小板源生长因子 BB 刺激后可促进血管平滑肌细胞增殖, 抑制其凋亡; 花刺参粘多糖则呈浓度依赖性地逆转此作用, 光密度值由 0.406 ± 0.003 减少到 0.187 ± 0.017 ($P < 0.01$), G0/G1 期细胞比例由 $77.4\% \pm 5.7\%$ 增加到 $88.1\% \pm 5.3\%$ ($P < 0.05$), 细胞凋亡率由 $8.6\% \pm 2.3\%$ 增加到 $22.6\% \pm 2.3\%$ ($P < 0.05$), 凋亡细胞比例由 $2.7\% \pm 0.4\%$ 增加到 $10.1\% \pm 0.9\%$ ($P < 0.01$)。结论 花刺参粘多糖可抑制血小板源生长因子 BB 诱导的血管平滑肌细胞增殖, 促进其凋亡, 这可能对延缓动脉粥样硬化的发生发展、防止经皮腔内冠状动脉成形术后再狭窄的发生起到一定作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effects of Stichopus Variegates on Proliferation and Apoptosis Induced by Platelet-Derived Growth Factor-BB in Rat Vascular Smooth Muscle Cells

ZHANG Jian, CAI Sheng-Ye, YAO Cheng-Fang, WANG Li, ZHOU Xian Bin, WANG Hua-Ting, and WANG Heng-Xiao

(Institute of Basic Medicine, Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250062, China)

[KEY WORDS] Stichopus Variegates; Platelet-Derived Growth Factor; Vascular Smooth Muscle Cell; Atherosclerosis; Cell Apoptosis; Restenosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of Stichopus Variegates on proliferation and apoptosis induced by platelet-derived growth factor-BB (PDGF-BB) in rat vascular smooth muscle cells (VSMC), and to explore its mechanism of anti-atherosclerosis role, prevention from restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA). **Methods** The tissue plate method was employed to culture rat thoracic aorta smooth muscle cells in vitro. The effects of Stichopus Variegates on proliferation were analysed using methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) colorimetry and flowcytometry. Cell apoptosis was investigated by flowcytometry and TUNEL methods. **Results** Treatment of VSMC with PDGF-BB led to promote proliferation and suppress apoptosis, oppositely Stichopus Variegates significantly reversed these effects. MTT colorimetry showed mean OD value decreased from 0.406 ± 0.003 to 0.187 ± 0.017 ($P < 0.01$). Flow cytometry showed the percentage of G0/G1 phase cells increased from $77.4\% \pm 5.7\%$ to $88.1\% \pm 5.3\%$ ($P < 0.05$) and the percentage of apoptotic cells increased from $8.6\% \pm 2.3\%$ to $22.6\% \pm 2.3\%$ ($P < 0.05$). TUNEL results showed that the percentage of apoptotic cells increased from $2.7\% \pm 0.4\%$ to $10.1\% \pm 0.9\%$ ($P < 0.01$). **Conclusion** Stichopus Variegates significantly inhibited PDGF-induced proliferation and promoted cell apoptosis of VSMC, which may play important roles in the prevention of atherosclerosis and restenosis after PTCA in vivo.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)性疾病是严重危害人类健康的常见临床疾病, 血管平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)的增殖和细胞凋亡在 As 斑

块形成过程中起着重要的作用。许多资料表明, 血管重塑和斑块形成主要受 SMC 增殖与凋亡平衡的影响^[1]。研究表明, 使用药物抑制血管 SMC 增殖, 促进血管 SMC 凋亡可以有效地减少 As 形成, 防止血管成形术后再狭窄的发生。因此, 研究此类药物对 As 等血管疾病的防治具有重要意义。我们从海洋棘皮门动物花刺参中成功提取了花刺参粘多糖^[2], 其主要含有己糖醛酸、岩藻糖、半乳糖、氨基己糖等单糖。已往的研究工作证实, 复方花刺参粘多糖具有降低大鼠血脂、抗凝血、抗血栓形成的作用,

[收稿日期] 2006-08-10 [修回日期] 2006-11-01

[基金项目] 国家自然科学基金(30271674); 山东省自然科学基金(Y2002C43)

[作者简介] 张健, 硕士研究生, 助理研究员, 主要从事中西医结合基础研究, 现在山东省皮肤病性病防治研究所工作, E-mail 为 zhangjiant1@163.com。通讯作者蔡生业, 研究员, 硕士研究生导师, 主要从事中西医结合基础研究, E-mail 为 shycai2@163.com。姚成芳, 博士, 研究员, 硕士研究生导师, 主要从事中药免疫和中西医结合基础研究。

抑制家兔动脉损伤后的血管重塑、保护血管内皮、减轻内膜增生及管腔狭窄、减轻粥样斑块的发生发展^[3,4];体外抑制血管 SMC 表面血管细胞粘附分子 1 (vascular cell adhesion molecular-1, VCAM-1)、细胞间粘附分子 1 (intercellular adhesion molecular-1, ICAM-1) 的表达、减少单核细胞与血管 SMC 的粘附^[5]。但花刺参粘多糖对体外培养的血管 SMC 增殖和凋亡的影响未见报道。本文对此进行研究,以进一步探讨其有效防治 As 和再狭窄的机制。

1 材料和方法

1.1 材料

健康雄性 Wistar 大鼠 10 只,体重 100~120 g,购于山东大学实验动物中心。花刺参粘多糖由本室制备,纯度达 99%。DMEM 培养基为美国 Invitrogen 公司生产;胎牛血清为杭州四季青生物公司生产;人重组血小板源生长因子 BB (platelet-derived growth factor-BB, PDGF-BB) 购自 Cytolab 公司;四甲基偶氮唑盐 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT) 购自美国 Sigma 公司; α -平滑肌肌动蛋白单克隆抗体、SABC-FITC 免疫荧光试剂盒、TUNEL 细胞凋亡检测试剂购于武汉博士德生物工程公司;annexin V-FITC 和碘化丙啶为美国 Invitrogen 公司产品。

1.2 细胞培养与鉴定

无菌条件下取 Wistar 大鼠(每组 2 只,共 5 组)胸主动脉中层平滑肌,剪成 1 mm³ 大小组织块,混合后按组织贴块法培养血管 SMC,置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中静止培养,待其汇合后用 0.25% 胰蛋白酶消化传代。取生长稳定的 5~10 代细胞用于实验。

1.3 实验分组

将细胞按 2×10^5 /L 的密度接种于培养板中,待细胞约 90% 汇合时,换无血清 DMEM 培养基饥饿 24 h 使细胞同步化,然后用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基继续培养,取生长良好血管 SMC 随机分组:空白对照组(未加任何干预因素)、PDGF-BB 组(20 μ g/L)和 PDGF-BB 加不同浓度(20 g/L、10 g/L 和 5 g/L)花刺参粘多糖组。继续孵育 24 h 后进行以下检测。

1.4 四甲基偶氮唑盐法测定细胞增殖率

将制备的血管 SMC 悬液接种在 96 孔培养板中,每孔接种含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基 100 μ L,含 1×10^4 个细胞。经 CO₂ 培养箱孵育 24 h,换无血清 DMEM 培养基同步化细胞(使细胞同步于 G0/G1 期)24 h,加入不同剂量的药物。孵育 20 h 后

每孔加入 5 g/L MTT 10 μ L,继续孵育 4 h,终止反应。弃培养液,加二甲基亚砜 100 μ L,微量振荡器振荡至甲瓚颗粒溶解,自动酶标光度计测定各孔 A 值, $\lambda_{\text{测}}$ 为 570 nm, $\lambda_{\text{参}}$ 为 630 nm。OD 值 = $\lambda_{\text{测}} - \lambda_{\text{参}}$ 。

1.5 流式细胞仪检测细胞增殖周期

血管(SMC)悬液接种在 50 mL 培养瓶中,细胞量 1.5×10^6 个,CO₂ 培养箱静止培养 24 h,换无血清 DMEM 培养基使细胞同步于 G0/G1 期 24 h,加入不同剂量的药物。继续培养 24 h,胰蛋白酶消化收集各组细胞,1 000 r/min 离心 7 min,弃上清,PBS 洗 2 遍,加入 75 μ L 破膜剂,振荡 10 s,加 700 μ L 碘化丙啶染料,室温避光 30 min,过滤,上机检测。使用 Phoenix Multi Cycle 3.11 软件分析结果。

1.6 流式细胞仪检测细胞凋亡

血管(SMC)悬液接种在 50 mL 培养瓶中,细胞量 1.5×10^6 个,CO₂ 培养箱静止培养 24 h,换无血清 DMEM 培养基使细胞同步于 G0/G1 期 24 h,加入不同剂量的药物。继续培养 24 h,胰蛋白酶消化,收集各组细胞,1 000 r/min 离心 7 min,弃上清,PBS 洗 2 遍,Binding buffer 悬浮,加入 1 μ L annexin V-FITC 和 5 μ L 碘化丙啶,混匀,4℃避光保存 10 min,上机检测。使用 WinMDI 2.8 流式分析软件分析结果。

1.7 末端标记法检测凋亡细胞

培养的血管 SMC 经药物处理后,用 4% 多聚甲醛溶液(0.01 mol/L PBS 配制)室温固定 30 min, PBS 漂洗;3% H₂O₂ 室温处理 10 min,蒸馏水洗涤;取 TdT 和 DIG-dUTP 各 1 μ L,加入 18 μ L 标记缓冲液中,混匀。甩去爬片上多余液体后加标记液 20 μ L,37℃标记 2 h。依次加封闭液、稀释生物素化抗地高辛抗体和 SABC,分别冲洗后,DAB 显色,苏木素轻度复染,脱水,透明,封片。显微镜观察照相。细胞核中有棕黄色颗粒者为阳性细胞,即凋亡的细胞。细胞凋亡率 = 阳性细胞数 \div 总细胞数 \times 100%。

1.8 细胞活力实验

细胞活力试验采用台盼蓝染色和细胞计数法,结果发现本研究所用浓度的花刺参粘多糖对血管 SMC 生长无任何毒性,细胞存活率达 96% 以上。

1.9 统计学分析

采用 SPSS11.0 统计软件。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血管平滑肌细胞鉴定

相差显微镜下细胞呈长梭形,成束的细胞平行

排列,细胞汇合时呈“峰”、“谷”状生长。 α 平滑肌肌动蛋白免疫荧光法鉴定阳性血管 SMC 大于 95%,纯度符合实验要求(图 1)。

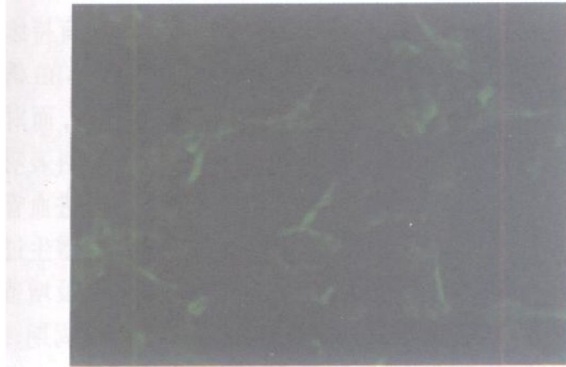


图 1. α 平滑肌肌动蛋白免疫荧光鉴定血管平滑肌细胞 ($\times 100$)

2.2 细胞增殖率

与空白对照组相比,加入 PDGF-BB 24 h 后,OD 值明显增加,血管 SMC 表现为增殖状态。花刺参粘多糖大、中、小三个浓度均可明显抑制 PDGF-BB 诱导的血管 SMC 增殖 ($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$),且其抑制作用具有浓度依赖性,花刺参粘多糖三个浓度组之间差异亦具有显著性 ($P < 0.01$; 表 1)。

2.3 细胞增殖周期

血小板源生长因子 (PDGF) BB 组 G0/G1 期细胞比例明显少于空白对照组, S+ G2/M 期细胞比例显

著增大,细胞呈现增殖状态 ($P < 0.01$)。花刺参粘多糖则明显逆转细胞周期增殖状态,增加 G0/G1 期细胞比例 ($P < 0.01$),减少 S+ G2/M 期细胞比例 ($P < 0.01$),且呈浓度依赖性 ($P < 0.05$; 表 2 和图 2)。

表 1. 花刺参粘多糖对血小板源生长因子 BB 诱导的细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

分 组	OD 值
空白对照组	0.288 \pm 0.021
PDGF-BB 组	0.406 \pm 0.003 ^a
花刺参粘多糖 20 g/L	0.187 \pm 0.017 ^c
10 g/L	0.283 \pm 0.027 ^c
5 g/L	0.352 \pm 0.019 ^b

a 为 $P < 0.01$, 与空白对照组比较; b 为 $P < 0.05$, c 为 $P < 0.01$, 与 PDGF-BB 组比较。

表 2. 花刺参粘多糖对血小板源生长因子 BB 诱导的细胞周期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

分 组	G0/G1 期	S+ G2/M 期
空白对照组	89.8% \pm 1.6%	7.0% \pm 1.6%
PDGF-BB 组	73.0% \pm 2.6% ^a	27.0% \pm 2.6% ^a
花刺参粘多糖 20 g/L	85.8% \pm 1.4% ^b	14.2% \pm 1.4% ^b
10 g/L	82.5% \pm 0.7% ^b	17.5% \pm 0.7% ^b
5 g/L	79.3% \pm 1.1% ^b	20.7% \pm 1.1% ^b

a 为 $P < 0.01$, 与空白对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 PDGF-BB 组比较。

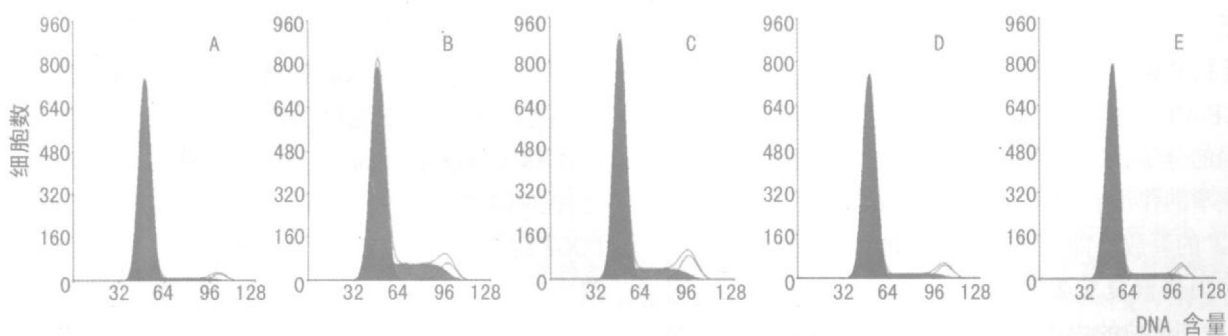


图 2. 花刺参粘多糖对血小板源生长因子 BB 诱导的细胞周期的影响 A 为空白对照组, B 为 PDGF-BB 组, C、D 和 E 分别为花刺参粘多糖 5、10、20 g/L 组。

2.4 细胞凋亡

血小板源生长因子 (PDGF) BB 组早期细胞凋亡率 (annexin Ⅰ单阳性) 较空白对照组减少,但差异无统计学意义。与 PDGF-BB 组相比,花刺参粘多糖大、中、小剂量组早期细胞凋亡率增高,且呈浓度依赖性 ($P < 0.01$)。花刺参粘多糖大、中、小剂量组晚期细胞凋亡率 (PI 单阳性) 明显增大,只是由于组内

变异太大和例数太少以致统计学差异不明显 (表 3)。

2.5 凋亡细胞比例

血小板源生长因子 (PDGF) BB 组凋亡细胞比例较对照组明显减少 ($P < 0.01$)。与 PDGF-BB 组相比,花刺参粘多糖各剂量组凋亡细胞比例显著增高 ($P < 0.01$),但无浓度依赖性 (表 4)。

表 3. 花刺参粘多糖对细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

分组	annexin (b)单阳性	PI 单阳性
空白对照组	11.0% \pm 2.9%	0.02% \pm 0.01%
PDGF-BB 组	8.6% \pm 2.3%	0.02% \pm 0.02%
花刺参粘多糖 20 g/L	22.6% \pm 2.3% ^a	0.36% \pm 0.58%
10 g/L	17.1% \pm 1.0% ^a	0.54% \pm 0.41%
5 g/L	11.4% \pm 0.9%	0.45% \pm 0.39%

a 为 $P < 0.01$, 与 PDGF-BB 组比较。

表 4. 花刺参粘多糖对细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

分 组	凋亡细胞比例
空白对照组	5.8% \pm 0.5%
PDGF-BB 组	2.7% \pm 0.4% ^a
花刺参粘多糖 20 g/L	13.1% \pm 2.1% ^b
10 g/L	12.1% \pm 1.5% ^b
5 g/L	10.1% \pm 0.9% ^b

a 为 $P < 0.01$, 与空白对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 PDGF-BB 组比较。

3 讨论

已有大量事实证实生长因子是促进 As 和血管成形术后再狭窄等血管病变的重要信号分子。在这些生长因子中, PDGF 最引人关注, 其许多特性是诱导动脉损伤病理过程中所必需的。PDGF 是一种源于血小板的有丝分裂原, 存在于血小板 α 颗粒中, 当血小板暴露于凝血酶、异质表面和其他已知的小血小板兴奋剂时, PDGF 就释放出来。PDGF 家族成员目前至少有四个, 即 PDGF-A、B、C、D。传统的分子因 A 链和 B 链的构成不同而分为 PDGF-AA、PDGF-BB、PDGF-AB 三种异构体。PDGF-BB 是该家族中作用最强的分子, PDGF 受体激酶抑制剂在体内具有抑制再狭窄的作用。由于炎症和损伤处总有血小板, 而 PDGF 的释放是即刻事件, 因此 PDGF 释放是许多炎症和损伤修复始发事件的主要强力启动者^[6]。另外, 损伤部位的内皮细胞、表型转化后的合成型平滑肌细胞、移行于内皮下的单核巨噬细胞等均以自分泌、旁分泌方式释放大量的 PDGF。PDGF 促使单核巨噬细胞、平滑肌细胞向内膜下迁移、增生, 同时产生多种细胞因子和生长因子, 再通过自分泌和旁分泌的作用, 形成复杂的作用网络, 导致局部细胞脂质代谢异常, 泡沫细胞形成和细胞基质过量产生, 形成动脉粥样硬化特征性斑块和再狭窄。

血管平滑肌细胞(SMC)在 As、再狭窄、高血压等血管增殖紊乱性疾病中起着决定性作用。PDGF 对体外的血管 SMC 主要有以下几方面的作用: 促进

血管 SMC 的生长、增殖和趋化迁移, 促使细胞从非分裂状态的静止期(G0)期进入活化状态(G1)期, 刺激进入细胞周期所需要的某些基因的转录。研究表明, PDGF-BB 诱导培养的人 SMC 的增殖依赖于 SMC bFGF 的释放和 bFGFR 的激活, 这个过程伴有持续的晚期 ERK 激活。bFGF 中和抗体抑制 PDGF-BB 诱导 bFGFR-1 磷酸化, DNA 合成和细胞增殖, 而对 PDGF-BB 诱导的 SMC 迁移无影响^[7]。有资料表明它能下调原癌基因 p53、p21 的表达, 从而促进血管 SMC 增殖^[8]。血管 SMC 增殖在再狭窄内膜增生过程中起着中心作用, 它受到一系列细胞因子及增殖相关基因的调控, 是一个复杂的过程, 但细胞周期转变是各种刺激因子及相关基因促进增殖的最后共同通道。对细胞周期相关基因的调控, 阻断血管 SMC 的增殖可能是再狭窄防治的一个有效途径。④ PDGF 的另外一个效应是抑制细胞程序性死亡(即细胞凋亡), 这与过量 Bcl-2 表达和 PI-3 激酶途径等有关^[11]。近年发现 PTCA 术后早期血管 SMC 相对凋亡不足, 增殖与凋亡平衡失调在再狭窄的发生过程中起重要作用。因此调节血管 SMC 增殖与凋亡之间的平衡将有助于预防和治疗再狭窄, 所以对血管 SMC 凋亡的检测具有重大意义。令人惊奇的是, 处于生长停滞期的培养细胞, 加入 PDGF 后促进细胞凋亡^[9]。Igase 等^[10]近来也证明当培养的血管 SMC 达到 100% 的汇合时, PDGF-BB 诱导细胞凋亡。表明 PDGF 作用有明显的正反两面性, 其具体作用取决于细胞所处的状态和细胞类型。

本实验通过 MTT 和流式细胞测定证实, 加入 PDGF 24 h 后刺激了血管 SMC 的增殖, 促使 G0/G1 细胞数减少, S 期细胞数目增多。同时, 通过流式细胞术和 TUNEL 技术证实 PDGF 抑制了细胞凋亡, 且这种抑制主要发生在凋亡早期(在流式实验中, PDGF 组早期凋亡率的均值较对照组小, 可能由于例数太少以致统计学差异不明显, 考虑在本实验中与血管 SMC 的过度汇合有关)。我们在成功创建血管 SMC 的体外 PDGF 刺激增殖, 抗凋亡模型的基础上, 利用 MTT、流式细胞术首次观察了花刺参粘多糖对 PDGF-BB 诱导的血管 SMC 增殖, 从细胞水平验证了花刺参粘多糖对血管 SMC 的增殖具有明显的抑制作用, 其抑制作用具有浓度依赖性, 此作用是通过抑制 G/S 期的细胞周期进程来实现的。它增加了 G0/G1 期细胞比例, 减少 S 期细胞比例, 而对 G2/M 期没有影响。这对延缓 As 斑块和再狭窄新生内膜的形成, 减轻局部的炎症反应有一定作用, 说明花刺参粘多糖具有临床开发前景。但他们具体作用于 G0/G1

和 G1/S 中的哪一调定点及细胞周期相关的蛋白调节机制有待于进一步的研究。

本实验还观察到花刺参粘多糖诱导了细胞早期凋亡,不改变细胞的晚期存活。体内实验已证实复方花刺参粘多糖具有降低 PDGF 局部表达的作用^[3],且复方花刺参粘多糖明显增高 Bax 表达,促使细胞趋于凋亡,提示花刺参粘多糖的体外促血管 SMC 凋亡可能源于它们调节 Bcl-2/Bax 比例作用。

总之,本研究发现花刺参粘多糖体外抑制 PDGF-BB 诱导的血管 SMC 增殖,促进血管 SMC 早期凋亡,为研究花刺参粘多糖的抗 A_s 和再狭窄机制,临床开发新药物提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] Bai HZ, Pollman MJ, Yoji Inishi, Gibbons GH. Regulation of vascular smooth muscle cell apoptosis modulation of Bad by a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway [J]. *Circ Res*, 1999, **85**: 229-237.
- [2] 孙怀玉,胡志力,卢霞,孙敏跃,王秀丽,朱晨,等. 花刺参中酸性粘多糖的提取及纯化研究[J]. *山东中医药大学学报*, 1999, **23** (2): 145-146.

- [3] 朱宗涛,蔡生业,姚成芳,王丽,王华亭,张维东. 复方花刺参粘多糖对髂动脉内皮剥脱家兔内膜增生的影响及机制[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (1): 43-46.
- [4] 王华亭,蔡生业,姚成芳,王丽,朱宗涛,张维东. 复方花刺参粘多糖对家兔血管成形术后内皮功能及超微结构的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (5): 497-501.
- [5] 王利民,蔡生业,姚成芳,王丽,周宪宾,王华亭,王恒孝. 花刺参粘多糖对大鼠血管平滑肌细胞粘附分子表达的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006, **14** (7): 565-568.
- [6] Deuel TF. Polypeptide growth factors: Roles in normal and abnormal cell growth [J]. *Annu Rev Cell Biol*, 1987, **3**: 443-492.
- [7] Esther Millette, Rauch BH, Olivier Defawe, Kenagy RD, Guenter Daum, Clowes AW. Platelet-derived growth factor-BB-induced human smooth muscle cell proliferation depends on basic FGF release and FGFR-1 activation [J]. *Circ Res*, 2005, **96**: 172-179.
- [8] Kavurma MM, Khachigian LM. ERK, JNK, and p38 MAP kinases differentially regulate proliferation and migration of phenotypically distinct smooth muscle cell subtypes [J]. *J Cell Biochem*, 2003, **89** (2): 289-300.
- [9] Kim HRC, Upadhyay S, Li G, Palmer KC, Deuel TF. Platelet-derived growth factor induces apoptosis in growth-arrested murine fibroblasts [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**: 9 500-504.
- [10] Igase M, Okura T, Nakamura M, Takata Y, Kitami Y, Hiwada K. Role of GADD153 (growth arrest- and DNA damage-inducible gene 153) in vascular smooth muscle cell apoptosis [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2001, **100** (3): 275-281.

(此文编辑 文玉珊)