

[文章编号] 1007-3949(2008)16-01-0017-04

• 实验研究 •

肾上腺髓质素及其受体系统抑制溶血磷脂酸诱导的大鼠主动脉平滑肌细胞增殖

薛林¹, 潘春水¹, 赵晶², 赵春玉², 唐朝枢², 齐永芬^{1,2}

(北京大学 1. 第一医院心内科, 北京市 100034; 2. 分子心血管学教育部重点实验室, 北京市 100083)

[关键词] 病理学与病理生理学; 肾上腺髓质素; 受体; 溶血磷脂酸; 平滑肌细胞; 大鼠; mRNA

[摘要] 目的 观察溶血磷脂酸对肾上腺髓质素及其受体系统生成的影响和肾上腺髓质素在溶血磷脂酸促进血管平滑肌细胞增殖中的作用。方法 贴块法培养大鼠胸主动脉血管平滑肌细胞, ³H-TdR 掺入测定血管平滑肌细胞 DNA 合成, ³²P-ATP 标记的同位素法测定丝裂原活化蛋白激酶活性, 放射免疫法测定血管平滑肌细胞中肾上腺髓质素的含量。结果 溶血磷脂酸促进大鼠血管平滑肌细胞肾上腺髓质素生成, 上调血管平滑肌细胞肾上腺髓质素及其受体 CRLR、RAMP2 和 RAMP3 mRNA 表达; 肾上腺髓质素可抑制溶血磷脂酸刺激大鼠血管平滑肌细胞 ³H-TdR 掺入, 抑制溶血磷脂酸诱导的丝裂原活化蛋白激酶激活。结论 溶血磷脂酸上调血管平滑肌细胞肾上腺髓质素及其受体系统, 肾上腺髓质素及其受体抑制血管平滑肌细胞增殖的作用与其抑制丝裂原活化蛋白激酶激活有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Adrenomedullin with Its Receptor Inhibit the Proliferation of Vascular Smooth Muscle Cells in Rats Induced by Lysophosphatidic Acid

XUE Lin¹, PAN Chun-Shui¹, ZHAO Jing¹, ZHAO Chun-Yu², TANG Chao-Shu², and QI Yong-Fen^{1,2}

(1. Department of Cardiology, First Hospital of Beijing University, Beijing 100034; 2. Key Laboratory of Molecular Cardiovascular Science, Beijing 100083, China)

[KEY WORDS] Adrenomedullin; Receptor; Lysophosphatidic Acid; Vascular Smooth Muscle Cells; Rats; mRNA

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effects of lysophosphatidic acid (LPA) on system generation of adrenomedullin (ADM) with its receptors: calcitonin receptor like receptor (CRLR) and receptor activity modifying protein (RAMP), and the effects of ADM on proliferation of the vascular smooth muscle cells (VSMC) induced by LPA. **Methods** VSMC of rat aortic were cultured by explant method. DNA synthesis of VSMC were measured by ³H-TdR incorporation. The ADM concentration in VSMC were determined by radioimmunoassay. **Results** LPA stimulated the production of ADM on vascular smooth muscle cells in rats. LPA up-regulated the expression of mRNA of ADM and its receptors CRLR, RAMP2 and RAMP3 in VSMC. ADM can inhibit ³H-TdR incorporation of rat VSMC stimulated by LPA. ADM inhibited activation of mitogen-activated protein kinase (MAPK) in VSMC induced by LPA. **Conclusions** ADM and its receptors inhibit VSMC proliferation which involves in its inhibition on MAPK activity.

溶血磷脂酸 (lysophosphatidic acid, LPA) 是脂质代谢的中间产物, 可促进血小板粘附聚集, 促进内皮细胞和血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 增殖^[1,2]。动脉粥样硬化和心肌梗死时血浆 LPA 含量均显著升高^[3,4]。肾上腺髓质素 (adrenomedullin, ADM) 具有扩张血管和抑制细胞增殖等广泛的生物学效应。ADM 可明显抑制血管紧张素 (angiotensin, Ang) 和尾加压素 (urotensin)

等诱导的细胞增殖^[5,6]。心血管组织富含 ADM 及其受体, 以降钙素受体样受体^[7] (calcitonin receptor-like receptor, CRLR) 居多, 但其结合配体的选择性受到受体活性修饰蛋白 (receptor activity modifying protein, RAMP) 调控, RAMP 有三个亚型: RAMP1、RAMP2 和 RAMP3。当 RAMP2 或 RAMP3 与 CRLR 结合时, 表现为 ADM 受体表型。本室前期的工作表明, LPA 可呈浓度依赖性刺激大鼠心肌细胞 ADM 的生成^[8]。而 ADM 可抑制 LPA 诱导的家兔 VSMC 增殖^[9]。但 LPA 抑制 VSMC 增殖的机制及 LPA 对 ADM 及其受体系统生成的作用目前尚不清楚。本研究在离体培养的大鼠 VSMC 上观察 LPA 对 ADM 及其受体系统生成的影响及 ADM 抑制 LPA 促进 VSMC 增殖的机制。

[收稿日期] 2007-09-26 [修回日期] 2008-01-06

[基金项目] 国家自然科学基金 (30470693, 30770869)、教育部重点基金 (105001) 和教育部新世纪优秀人才基金 (NCET-05-0016)

[作者简介] 薛林, 助理研究员, 从事心血管生物化学方面的研究, E-mail 为 xuelin1370125@163.com。通讯作者齐永芬, 副教授, 硕士研究生导师, 从事血管钙化活性肽机制的基础研究, E-mail 为 yongfenqi@163.com。唐朝枢, 教授, 博士研究生导师, 从事心脑血管发病和防治的临床与基础研究。

1 材料与方法

1.1 材料

雄性 SD 大鼠由北京大学医学部实验动物中心提供, LPA、髓磷脂碱性蛋白、HEPES 和 ATP- Na_2 购自 Sigma 公司, 大鼠 ADM(1-50)、ADM 放射性免疫测定药盒、降钙素基因相关肽₈₋₃₇ (calcitonin gene related peptide, CGRP₈₋₃₇, ADM 受体阻断剂之一) 和 ADM₂₂₋₅₂ 均购于美国 Phoenix Pharmaceutical INC 公司, ^3H -TdR 和 γ - ^{32}P -ATP 购自 Amersham Pharmacia Biotech 公司 (Little Chalfont, UK)。Trizol 购自美国 GIBCO BRL, dNTP 购自美国 Clontech co, MMLV 逆转录酶、Taq 酶、RNasin 和 Oligo(dT) 15 引物为美国 Promega co 的产品。所有 PCR 引物均由北京赛百盛公司合成。余为市售分析纯试剂。

1.2 血管平滑肌细胞的培养

取 SD 大鼠胸主动脉, 以贴块法在 37°C 通有 95% O_2 与 5% CO_2 的混合气中用含 20% 小牛血清的 DMEM 培养基培养。实验用第四代细胞, 按 5×10^5 个/孔接种于 24 孔培养板培养 48 h, 用无血清 DMEM 液再孵育 24 h, 按下列不同药物进行实验。实验分为 对照组: 不加特殊试剂; ④LPA 组: 加 LPA 10 μL (终浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$); ④ADM 组: 加 ADM 10 μL (终浓度为 10^{-7} mol/L); ADM+LPA 组: 给与 ADM 和 LPA 各 10 μL (ADM 与 LPA 终浓度同前); ADM₂₂₋₅₂+ADM+LPA 组: 在 ADM 10^{-7} mol/L 加 5 $\mu\text{mol/L}$ LPA 的基础上加入 ADM₂₂₋₅₂ 10 μL (终浓度为 10^{-6} mol/L); CGRP₈₋₃₇+ADM+LPA 组: 在 ADM 10^{-7} mol/L 加 5 $\mu\text{mol/L}$ LPA 的基础上加入 CGRP₈₋₃₇ 10 μL (终浓度为 10^{-6} mol/L)。

1.3 ^3H -TdR 掺入测定^[10]

离体培养的第四代大鼠主动脉 VSMC 按上述分组加入不同药物。先加入阻断剂 ADM₂₂₋₅₂ 或 CGRP₈₋₃₇ 20 min 后加入 LPA 或 ADM。实验各组孵育 6 h 后, 再分别加入 ^3H -TdR (37 MBq/L) 继续孵育 8 h, 冷 PBS 液终止反应, 收集的细胞经甲酸消化, 考马斯亮蓝法蛋白定量, 取消液加入闪烁液, β 液闪仪 (Beckman LS 6000) 上测定 ^3H -TdR 放射性活性。

1.4 丝裂原活化蛋白激酶活性测定

参照本室以前报告的方法^[11], 按前述分组加入不同药物后孵育 15 min, 用冷 PBS 液 [HEPES 50 mmol/L, NaCl 150 mmol/L, $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 10 mmol/L, Na_3VO_4 2 mmol/L, NaF 100 mmol/L, 苯甲基磺酰氟 1.0 mmol/L, 二硫苏糖醇 2.0 mmol/L, 肽酶抑制剂 100 ku/L, 亮抑肽酶 20 $\mu\text{mol/L}$ 和 Triton X-100 1% (体积比), pH

7.4] 洗涤细胞, 加入细胞溶解液并超声破碎细胞, 离心 (15 000 r/min \times 10 min, 4°C) 取上清液, 蛋白定量后, 调节上清液中蛋白浓度至 200 mg/L, 取 0.5 mL 与 5 μg 特异性丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK) 抗体在 4°C 时共同振荡孵育 4 h, 收集免疫复合物, 在相同条件下与预先吸附有抗鼠 IgG 的琼脂糖孵育 30 min, 然后用上述提取液 (4°C) 冲洗 6 次, 取含 100 μg 蛋白的免疫复合物与含髓磷脂碱性蛋白 (1 g/L) 的激酶缓冲液 [HEPES 20 mmol/L, MgCl_2 2.0 mmol/L, MnCl_2 2.0 mmol/L, DTT 2.0 mmol/L, Na_3VO_4 0.5 mmol/L, 蛋白激酶抑制剂 2.0 mmol/L, ATP- Na_2 50 $\mu\text{mol/L}$, 以及 0.1 g/L BSA 和 γ - ^{32}P -ATP (0.5 μCi /管), pH 7.2] 共孵育 15 min (30°C) 后, 置冰浴终止反应。取反应液点于 P81 磷酸纤维素滤纸 (Whatman), 0.5% 磷酸缓冲液洗净, 烤干, 加入闪烁液, β 液闪仪测定髓磷脂碱性蛋白中 ^{32}P 的掺入量, 以样品管和空白管 (不加入组织蛋白) 中 ^{32}P 掺入量的差值计算 MAPK 活性 [nmol/(g·min)]。

1.5 血管平滑肌细胞培养基中肾上腺髓质素的放射免疫测定^[19]

收集对照组及 LPA (5 $\mu\text{mol/L}$) 刺激 24 h 的细胞培养上清, 加入 1 mmol/L 醋酸, 沸水浴 10 min, 过 Sep-Pak C18 柱, 乙氰和三氟乙酸洗脱后用 100 μL RIA 缓冲液复溶。按 ADM 放射免疫药盒说明书操作测定培养基中 ADM 的放射免疫活性。其 IC_{50} 为 13~47 pg/管, 与大鼠 ADM 交叉反应性为 100%, 与大鼠 ADM 的 N 端 20 肽 (PAMP)、Amylin 和内皮素的交叉反应性均为 0。

1.6 肾上腺髓质素及其受体 mRNA 含量测定^[12]

收集对照组及 LPA (5 $\mu\text{mol/L}$) 刺激 8 h 的大鼠 VSMC。用 Trizol 一步法提取 VSMC 总 RNA。M-MuLV 逆转录酶及 Oligo(dT) 15 引物逆转录成单链 cDNA。ADM 上游引物 5'-CTC GAC ACT TCC TCG CAG TT-3', 下游引物 5'-GCT GGA GCT GAG TGT GTC TG-3', 扩增产物长度 446 bp; CRLR 上游引物 5'-CAA CTG CTG GAT CAG CTC AG-3', 下游引物 5'-CAT CGC TGA TTG TTG ACA CG-3', 扩增产物长度 446 bp; RAMP2 上游引物 5'-TGA GGA CAG CCT TCT GTC A-3', 下游引物 5'-CAT CGC CGT CTT TAC TCC TC-3', 扩增产物长度 371 bp; RAMP3 上游引物 5'-CCT CTC CCT CTG TTG CTG CT-3', 下游引物 5'-CAC AGA AGC CGG TCA GTG T-3', 扩增产物长度 416; 内参 β -actin 上游引物 5'-ATC TGG ACC ACA CCT TC-3', 下游引物 5'-AGC CAG GTC CAG ACG

CA-3', 扩增产物长度 291 bp。ADM mRNA 含量测定的 PCR 反应体系为 25 μ L (cDNA 1 μ L, 5 pmol/L ADM-S 及 ADM-A 引物 1 μ L, 2.5 mmol/L dNTP 1 μ L, 含 15 mmol/L $MgCl_2$ 的 $10\times$ PCR 缓冲液 2.5 μ L, Taq DNA 聚合酶 1.25 u), 反应条件为 95 $^{\circ}C$ 预变性 5 min, 94 $^{\circ}C$ 变性 30 s \rightarrow 61 $^{\circ}C$ 退火 30 s (CRLR、RAMP2 和 β -actin 为 55 $^{\circ}C$, RAMP3 为 57 $^{\circ}C$) \rightarrow 72 $^{\circ}C$ 延伸 40 s, 热循环 30 次 (CRLR 和 RAMP2 为 32 次, RAMP3 为 33 次, β -actin 为 22 次), 72 $^{\circ}C$ 再延伸 5 min。PCR 产物以 1.5% 琼脂糖电泳分离和溴乙锭染色后, 用凝胶成像及定量扫描仪测得 446 bp。取 2 μ L PCR 产物, 以 β -actin 引物作 PCR, 28 个热循环后, PCR 产物经琼脂糖电泳, 凝胶成像及定量扫描仪定量。重复 3 次独立试验。

1.7 统计学处理

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。部分结果以细胞蛋白量标化 (考马斯亮蓝法蛋白定量)。两组均数间的比较采用 Student's *t* 检验, 多组资料采用 One-way ANOVA 及组间 Student-Newman-Keuls 检验。三次独立实验, 每次作平行管。

2 结果

2.1 溶血磷脂酸促进大鼠血管平滑肌细胞肾上腺髓质素生成

溶血磷脂酸 (5 μ mol/L) 增加 VSMC ADM 的分泌, 孵育 24 h 后, 细胞上清中 ADM 含量与对照组相比增加 52% (13.74 \pm 1.65 比 9.03 \pm 0.59, $P < 0.01$)。

2.2 溶血磷脂酸促进血管平滑肌细胞肾上腺髓质素及其受体 mRNA 表达

溶血磷脂酸 (5 μ mol/L) 刺激 VSMC 8 h 后, 半定量 RT-PCR 检测结果发现, LPA 可上调 ADM、CRLR、RAMP2 和 RAMP3 mRNA 水平, 较对照组分别增高 78%、63%、70% 和 92% ($P < 0.01$, 图 1 和表 1)。

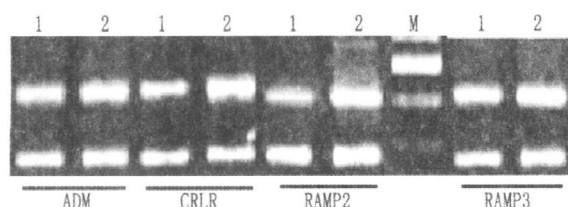


图 1. 逆转录聚合酶链反应检测大鼠血管平滑肌细胞肾上腺髓质素、CRLR、RAMP2 和 RAMP3 mRNA 的表达 M 为相对分子质量, 1 为对照组, 2 为 5 μ mol/L 溶血磷脂酸作用组。

表 1. 肾上腺髓质素及其受体 mRNA 的相对含量

物质	对照组	5 μ mol/L LPA 组
ADM	1.07 \pm 0.24	2.25 \pm 0.50 ^a
CRLR	1.15 \pm 0.21	1.87 \pm 0.32 ^a
RAMP2	1.49 \pm 0.30	2.54 \pm 0.41 ^a
RAMP3	1.08 \pm 0.20	2.07 \pm 0.26 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

2.3 肾上腺髓质素可抑制溶血磷脂酸刺激大鼠血管平滑肌细胞³H-TdR 掺入

溶血磷脂酸 (5 μ mol/L) 刺激血管平滑肌细胞³H-TdR 掺入较对照组升高 56.4% ($P < 0.01$), ADM (10^{-7} mol/L) 单独作用与对照组相比平滑肌细胞³H-TdR 的掺入量无明显变化 ($P > 0.05$), 而 ADM (10^{-7} mol/L) 可明显降低 LPA 诱导的³H-TdR 掺入量, 较单纯 LPA (5 μ mol/L) 刺激组降低 26.7% ($P < 0.01$)。使用 ADM 受体阻断剂 ADM₂₂₋₅₂ 和 CGRP₈₋₃₇ 分别可使平滑肌细胞³H-TdR 掺入量较 LPA 组降低 19% 和 15% ($P < 0.01$), 与 ADM + LPA 组相比则增加 10% 和 16% ($P < 0.01$, 表 2)。

2.4 肾上腺髓质素抑制溶血磷脂酸诱导的丝裂原活化蛋白激酶激活

溶血磷脂酸 (5 μ mol/L) 刺激 VSMC 增殖, 其 MAPK 活性较对照组升高 2.56 倍, ADM (10^{-7} mol/L) 单独作用与对照组相比平滑肌细胞 MAPK 活性无明显变化 ($P > 0.05$), 而 ADM (10^{-7} mol/L) 可降低 LPA 诱导的 MAPK 活性增加, 较单纯 LPA (5 μ mol/L) 刺激组降低 44.6% ($P < 0.01$)。使用 ADM 受体阻断剂 ADM₂₂₋₅₂ 和 CGRP₈₋₃₇ 分别可使平滑肌细胞 MAPK 活性较 LPA 组降低 21% 和 29% ($P < 0.01$), 与 ADM + LPA 组相比则增加 42% ($P < 0.01$) 和 28% ($P < 0.05$, 表 2)。

表 2. 肾上腺髓质素对溶血磷脂酸诱导的血管平滑肌细胞³H-TdR 掺入和丝裂原活化蛋白激酶活性的影响

分 组	³ H-TdR 掺入量 ($\times 10^5$ cpm/g)	MAPK 活性 [nmol/(g \cdot min)]
对照组	33.7 \pm 3.4	266.0 \pm 15.06
LPA 组	70.6 \pm 3.1 ^a	947.0 \pm 50.06 ^a
ADM 组	37.6 \pm 3.6 ^b	289.0 \pm 35.06 ^b
ADM + LPA 组	46.6 \pm 2.9 ^b	525.0 \pm 31.06 ^b
ADM ₂₂₋₅₂ + ADM + LPA 组	54.8 \pm 3.5 ^{bd}	748.0 \pm 42.06 ^{bd}
CGRP ₈₋₃₇ + ADM + LPA 组	57.6 \pm 3.3 ^{bd}	672.0 \pm 45.06 ^{bc}

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 LPA 组比较; c 为 $P < 0.05$, d 为 $P < 0.01$, 与 ADM + LPA 组比较。

3 讨论

溶血磷脂酸(LPA)可诱导血小板聚集,收缩血管平滑肌,并作为强丝裂素原刺激细胞增殖^[13]。LPA还可诱导多种心血管活性物质的生成,或调节它们的表达及活性,共同调节心血管功能^[14]。Chua等^[3]发现在大鼠胸主动脉内皮细胞LPA可明显诱导Prepro内皮素1 mRNA的表达。在大鼠VSMC, LPA诱导内皮素的生成及基因表达增加,生成的内皮素亦参与LPA的促VSMC作用^[15]。ADM及其受体广泛存在于心血管组织。目前发现与ADM特异结合的受体除了L-1和RDC-1受体外,还有最近发现具有7个跨膜结构的G蛋白偶联受体CRLR,它可以ADM为配体,活化腺苷酸环化酶。CRLR的表型取决于膜上特殊的RAMP。迄今发现RAMP有RAMP1、RAMP2和RAMP3三种异构体,不同的RAMP与CRLR结合使CRLR表现为不同的受体表型。RAMP2或RAMP3与CRLR结合时则表现为ADM1和ADM2受体亚型,介导ADM的生物学效应。CGRP₈₋₃₇是CGRP 1型受体的阻断剂,ADM₂₂₋₅₂是ADM N-末端切除后的形式,二者均可特异地与ADM竞争结合ADM的受体^[16,17]。目前已知ADM可与CGRP1受体和ADM的特异受体结合,通过内皮依赖性舒张因子、cGMP、cAMP和Ca²⁺等途径发挥舒张血管、降低血压、抑制VSMC增殖等生物学效应^[18]。

本研究发现LPA显著增强大鼠VSMC合成和分泌ADM,并上调VSMC的ADM及其受体系统mRNA表达。本实验还观察到LPA显著增加VSMC³H-TdR掺入。ADM孵育可显著抑制LPA诱导的VSMC³H-TdR掺入,这与我们以前在家兔VSMC上观察到的结果相似^[11]。本实验发现LPA活化VSMC的MAPK,增加其活性,而该效应可被ADM抑制。VSMC预先与ADM₂₂₋₅₂和CGRP₈₋₃₇孵育则可使ADM抑制LPA诱导VSMC生成MAPK活性降低。ADM对多种生长因子诱导的细胞增殖均有抑制作用,其发挥生物学效应的信号机制目前尚未完全清楚。已知ADM发挥其生物学效应主要通过与其受体结合后升高细胞内cAMP通路实现。MAPK是含酪氨酸和丝氨酸/苏氨酸残基的蛋白激酶,被认为是细胞外信号引起细胞增殖、分化等核反应的共同途径或汇聚点。本实验观察到LPA可上调VSMC的ADM及其受体系统的基因表达,且ADM₂₂₋₅₂和CGRP₈₋₃₇可阻断ADM抑制LPA诱导的MAPK活性。由此推测,ADM抑制LPA促VSMC增殖的作用至少部分通过与其受体结合后抑制MAPK介导。

在动脉粥样硬化等心血管疾病过程中血浆和/或局部组织LPA升高。从本实验可知LPA可诱导大鼠VSMC增殖,这可能参与血管重塑的发病过程。同时LPA亦可诱导内源性保护物质ADM的生成及其受体系统基因表达,而生成的ADM可拮抗LPA的血管效应,提示LPA的效应受组织旁/自分泌的ADM调节,LPA与ADM之间的相互作用在疾病过程中可能具有重要意义。这为阐明LPA的血管效应和了解ADM的血管保护机制提供了新的认识。LPA与ADM相互作用关系的生理意义,尤其是心血管疾病时的病理生理意义值得进一步研究。

[参考文献]

- [1] Karlner JS. Lysophospholipids and the cardiovascular system [J]. *J Biochim Biophys Acta*, 2002, **1582** (1-3): 216-221.
- [2] Siess W. Athero- and thrombogenic actions of lysophosphatidic acid and sphingosine 1-phosphate [J]. *J Biochem Biophys Acta*, 2002, **1582** (1-3): 204-215.
- [3] Chua CC, Handy RC, Chua BH. Upregulation of endothelin-1 production by lysophosphatidic acid in rat aortic endothelial cells [J]. *J Biochem Biophys Acta*, 1998, **1405** (1-3): 29-34.
- [4] Gardell SE, Dubin AE, Chun J. Emerging medicinal roles for lysophospholipid signaling [J]. *Trends Mol Med*, 2006, **12** (2): 65-75.
- [5] 齐永芬, 夏春芳, 陈亚红, 等. 肾上腺髓质素对尾加压素③刺激的血管平滑肌细胞增殖的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2002, **18** (3): 230-232.
- [6] 马健, 杨晔, 李载权, 等. 肾上腺髓质素对血管紧张素③的促血管平滑肌细胞增殖作用的影响[J]. *基础医学与临床*, 2000, **20** (6): 45-47.
- [7] Gibbons C, Dackor R, Dunworth W, et al. Receptor activity-modifying proteins: Ramping up adrenomedullin signaling [J]. *Mol Endocrinol*, 2007, **21** (4): 783-796.
- [8] 符民桂, 李淑莲, 王建丽, 等. 溶血磷脂酸对大鼠心肌细胞合成及释放肾上腺髓质素的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 1999, **15** (3): 200-202.
- [9] 王晓红, 苏加林, 李夏, 等. 肾上腺髓质素抑制溶血磷脂酸的促平滑肌细胞增殖作用[J]. *中国病理生理杂志*, 1999, **15** (3): 343-345.
- [10] Hayashi K, Takahashi M, Nishida W, et al. Phenotypic modulation of vascular smooth muscle cells induced by unsaturated lysophosphatidic acids [J]. *Circ Res*, 2001, **89** (3): 251-258.
- [11] 李田昌, 佟利家, 庞永政, 等. 丝裂素活化蛋白激酶参与内皮素刺激的兔主动脉平滑肌细胞增生[J]. *生理学报*, 1996, **48**: 337.
- [12] Jie E, Vinge LE, Andersen Gf, et al. RAMP2 and RAMP3 mRNA levels are increased in failing rat cardiomyocytes and associated with increased responsiveness to adrenomedullin [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2005, **38** (1): 145-151.
- [13] Sengupta S, Wang Z, Tipps R, et al. Biology of LPA in health and disease [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2004, **15** (5): 503-512.
- [14] Sengupta S, Wang Z, Tipps R, et al. Biology of LPA in health and disease [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2004, **15** (5): 503-512.
- [15] 任永生, 潘春水, 伍期专, 等. 内皮素参与溶血磷脂酸促血管平滑肌细胞的增殖[J]. *北京大学学报*, 2003, **35** (5): 508-511.
- [16] Tsuruda T, Burnett JC. Adrenomedullin: an autocrine/paracrine factor for cardiorenal protection [J]. *Circ Res*, 2002, **90**: 625-627.
- [17] Hay DL, Poyner DR, Sexton PM. GPCR modulation by RAMPs [J]. *Pharmacol Ther*, 2006, **109** (1-2): 173-197.
- [18] Pan CS, Qi YF, Wang SH, et al. Alterations of adrenomedullin and its receptor system components in calcified vascular smooth muscle cells [J]. *Regul peptides*, 2004, **120**: 77-83.

(此文编辑 许雪梅)