

[文章编号] 1007-3949(2009)17-11-0877-05

• 实验研究 •

黄连素通过 PI3K 抑制肺炎衣原体感染诱导的血管内皮细胞迁移

权伟, 张利军, 陈宁, 王蓓蓓, 张丽君

(天津医科大学基础医学院病理生理学教研室, 天津市 300070)

[关键词] 黄连素; 肺炎衣原体; 内皮细胞迁移; PI3K; 血管新生

[摘要] 目的 观察肺炎衣原体感染对人血管内皮细胞迁移的影响, 探讨黄连素对其干预作用及作用机制。方法 体外成功培养肺炎衣原体 AR-39 株后, 感染不同浓度黄连素 (0、100、150 及 200 mmol/L) 预处理的内皮细胞, 在感染后 24、48 及 72 h 创伤修复实验、Transwell 实验观察内皮细胞迁移的变化, 逆转录聚合酶链反应和酶联免疫吸附法检测内皮细胞中信号蛋白 PI3K mRNA 表达水平和酶活性。结果 与正常对照组比较, 肺炎衣原体感染组内皮细胞于 24、48 及 72 h 迁移量均明显增加 ($P < 0.01$), 且 PI3K mRNA 表达水平显著升高, 酶活性亦明显增强 ($P < 0.01$); 与肺炎衣原体感染组比较, PI3K 抑制剂 LY294002 组内皮细胞迁移量明显减少 ($P < 0.01$), PI3K mRNA 表达水平明显降低, 酶活性也明显减弱 ($P < 0.01$); 与肺炎衣原体感染组比较, 黄连素中剂量组和高剂量组内皮细胞迁移量均明显下降 ($P < 0.01$), PI3K mRNA 表达水平和酶活性均明显降低 ($P < 0.01$), 且 PI3K mRNA 表达水平和酶活性均与细胞迁移抑制程度呈正相关 (r 分别为 0.841 和 0.832, $P < 0.01$)。结论 肺炎衣原体感染可能是通过激活 PI3K 诱导内皮细胞迁移; 黄连素可拮抗肺炎衣原体感染诱导的内皮细胞迁移, 其机制可能与黄连素下调 PI3K 表达及抑制 PI3K 活化有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Inhibitory Effects of Berberine on Chlamydia Pneumoniae Induced-Vascular Endothelial Cell Migration via PI3K

QUAN Wei, ZHANG Li-Jun, CHEN Ning, WANG Bei-Bei, and ZHANG Li-Jun

(Department of Pathophysiology, Basic Medical College, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

[KEY WORDS] Berberine; Chlamydia pneumoniae; Migration of Endothelial Cells; PI3K; Angiogenesis

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effects of Chlamydia pneumoniae infection on migration of endothelial cells to investigate the interventive effect of Berberine on Chlamydia pneumoniae induced-endothelial cell migration and to explore its possible mechanism. **Methods** Endothelial cells pretreated with Berberine at different concentration (0, 100, 150 and 200 mmol/L) were infected by Chlamydia pneumoniae AR-39 in vitro. At 24, 48 and 72 h after Chlamydia pneumoniae infection, the wound healing assay and Transwell assay were performed to observe the effects of Berberine on migration of endothelial cells. The mRNA expression and enzymatic activity of PI3K were detected by RT-PCR and ELISA at the corresponding time point. **Results** Migration of endothelial cells, the mRNA expression and enzymatic activity of PI3K increased significantly at 24, 48 and 72 h after Chlamydia pneumoniae infection in comparison with the control group ($P < 0.01$). Migration of endothelial cells, the mRNA expression and enzymatic activity of PI3K decreased markedly after administration of the PI3K inhibitor of LY294002 compared with the Chlamydia pneumoniae infection group ($P < 0.01$). Migration of endothelial cells, the mRNA expression and enzymatic activity of PI3K decreased markedly after administration of the middle-dose and high-dose Berberine compared with the Chlamydia pneumoniae infection group ($P < 0.01$), and migration of endothelial cells was positively correlated with the mRNA expression (r_1) and enzymatic activity of PI3K (r_2) ($r_1 = 0.841$, $r_2 = 0.832$, $P < 0.01$). **Conclusions** Chlamydia pneumoniae may induce endothelial cell migration via the activation of PI3K. Berberine can antagonize Chlamydia pneumoniae induced-endothelial cell migration possibly through down-regulating the PI3K mRNA expression and inhibiting the activation of PI3K.

肺炎衣原体感染作为动脉粥样硬化 (As) 新的

危险因素, 近年备受关注。肺炎衣原体可感染血管内皮细胞、平滑肌细胞, 引起细胞增殖与迁移^[1]。血管内皮细胞大量迁移与增殖是 As 发病过程中血管新生的关键环节^[2], 而病理性血管新生可以促进 As 病变的进展, 甚至引起斑块内出血和斑块破裂, 导致并发症的发生。黄连素, 又名小檗碱, 是从中药

[收稿日期] 2009-09-09 [修回日期] 2009-11-05

[基金项目] 国家自然科学基金 (30971225) 资助

[作者简介] 权伟, 研究方向为动脉粥样硬化的发病机制, E-mail 为 doc_q@163.com。张利军, 讲师, 研究方向为心血管疾病分子生物学。通讯作者张丽君, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化的发病机制, E-mail 为 zhanglj@tjnu.edu.cn。

黄柏、黄连等植物药材中提取的生物碱,过去常用于清热解毒和治疗肠道感染,新近研究发现黄连素具有拮抗细胞迁移及延缓As形成的作用^[3]。而与细胞迁移密切相关的信号蛋白磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)可介导多种细胞迁移过程,在细胞迁移中发挥着重要作用^[4-5]。本研究旨在观察不同剂量黄连素对肺炎衣原体感染诱导的血管内皮细胞迁移的干预作用,探讨其可能作用机制,为As的防治探索新途径。

1 材料和方法

1.1 主要材料

人脐静脉内皮细胞株 ECV 304 细胞和 Hep-2 细胞(武汉大学中国典型培养物保藏中心, CTCC); 肺炎衣原体 AR-39 株(美国标准菌库, ATCC); Transwell 小室(Coming 公司, USA); RNA 提取试剂盒(Bimiga 公司, USA); RT-PCR 两步法试剂盒(北京天根公司); ELISA 试剂盒(ADL 公司, USA); PI3K 抑制剂 LY294002 (Promega 公司, USA); 黄连素(Sigma 公司, USA); 酶标仪(Wallac 公司, Finland); PCR 仪(Eppendorf 公司, Germany)。

1.2 肺炎衣原体的增殖培养与接种

利用 Hep-2 细胞增殖培养肺炎衣原体^[6], 将胞浆内生长有肺炎衣原体包涵体的 Hep-2 冻融 2 次, 加入无菌玻璃珠, 在漩涡震荡器上震荡使细胞碎裂并释放肺炎衣原体。4℃、2 000 r/min 离心 20 min, 取上清接种于单层内皮细胞上, 加入含 10% FCS 的 F12 DMEM, 25℃、3 700 r/min 离心 50 min, 37℃、5% CO₂ 条件下培养观察。

1.3 实验分组与处理

用 20% FCS 的 F12 DMEM 配置以下各组实验用液: 正常对照组; ④肺炎衣原体感染组; ④黄连素低剂量组(黄连素 100 mmol/L); 黄连素中剂量组(黄连素 150 mmol/L); 黄连素高剂量组(黄连素 200 mmol/L); LY294002 组(LY294002 30 mmol/L)。其中黄连素各剂量组与 LY294002 组内皮细胞于感染前分别用各组溶液孵育 2 h 进行预处理。

1.4 创伤修复实验

即二维细胞迁移实验。将内皮细胞接种到 12 孔板内, 培养达 90% 汇合后无血清同步化处理 12 h。除对照组外, 其它各组细胞接种肺炎衣原体并孵育 2 h, 用加样器吸头尖在各组孔内行直线划痕, 造成“伤口”, 用 DHank's 清洗后弃去脱落细胞, 于

37℃、5% CO₂ 条件下培养。在相差显微镜下观察不同时段细胞从划痕处向外爬出的距离, 其长短表示细胞迁移能力的强弱。随机选取 5 个视野进行拍摄, 应用 Image-ProPlus version 4.5.1 软件测量多数细胞从迁出位置到起始处的距离, 计算平均值, 作为细胞迁移距离。

1.5 Transwell 实验

即三维细胞迁移实验。将各组内皮细胞消化、离心, 并用 1% FCS 的 F12 DMEM 重悬, 调整细胞浓度为 5×10^8 /L。在 Transwell 小室下室按分组加入培养液, 上室加入细胞悬液 100 μ L 并孵育 6 h。室温甲醇固定, 结晶紫染色, 显微镜下每孔随机选取 5 个视野, 计算平均穿膜细胞数。

1.6 逆转录聚合酶链反应检测内皮细胞 PI3K mRNA 的表达

按照试剂盒说明, 提取实验各组内皮细胞总 RNA, 并逆转录生成 cDNA, 进行 PCR 扩增反应。PI3K p85 α 引物上游 5'-GCC TCC TAA ACC ACC AAA ACC-3', 下游 5'-TCC CGT CTG CTG TAT CTC GAA-3', 扩增产物长度 140 bp。内参 β -actin 引物上游 5'-CGT GAC ATT AAG GAG AAG CTG-3', 下游引物 5'-CTA GAA GCA TTT GCG GTG G AC-3', 扩增产物长度 500 bp。PCR 反应条件: 94℃预变性 3 min, 94℃变性 30 s \rightarrow 55℃退火 30 s \rightarrow 72℃延伸 1 min, 30 个循环后 72℃延伸 5 min, 反应体系 25 μ L。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳, 用凝胶自动成像及分析系统摄像并以 β -actin 校正做相对量分析。

1.7 酶联免疫吸附法检测内皮细胞 PI3K 酶活性

使用 RIPA 细胞裂解剂裂解各组细胞, 吹打 5~10 次以充分裂解, 14 000 r/min 离心 3 min, 取上清制备为 ELISA 检测样品。按照 ELISA 试剂盒说明书, 用生物素标记样品, 各孔中加入酶标记溶液, 37℃孵育 1 min。加入底物后避光反应 15 min, 加入终止液终止反应。于波长为 450 nm 的酶标仪上读取各孔 OD 值, 转化为 PI3K 浓度。

1.8 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用方差分析与 SNK- η 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。相关分析采用直线相关分析, 用 Pearson 相关系数表示。

2 结果

2.1 创伤修复实验中不同剂量黄连素对肺炎衣原体感染诱导内皮细胞迁移的影响

与正常对照组比较, 肺炎衣原体感染组内皮细

胞迁移量于 24、48 及 72 h 均明显增加 ($P < 0.01$); 与肺炎衣原体感染组比较, LY294002 组、黄连素中剂量组和高剂量组各时段细胞迁移量均明显下降

($P < 0.01$), 且黄连素高剂量组比中剂量组减少更为显著 ($P < 0.01$), 低剂量组下降不明显 ($P > 0.05$, 表 1 和图 1)。

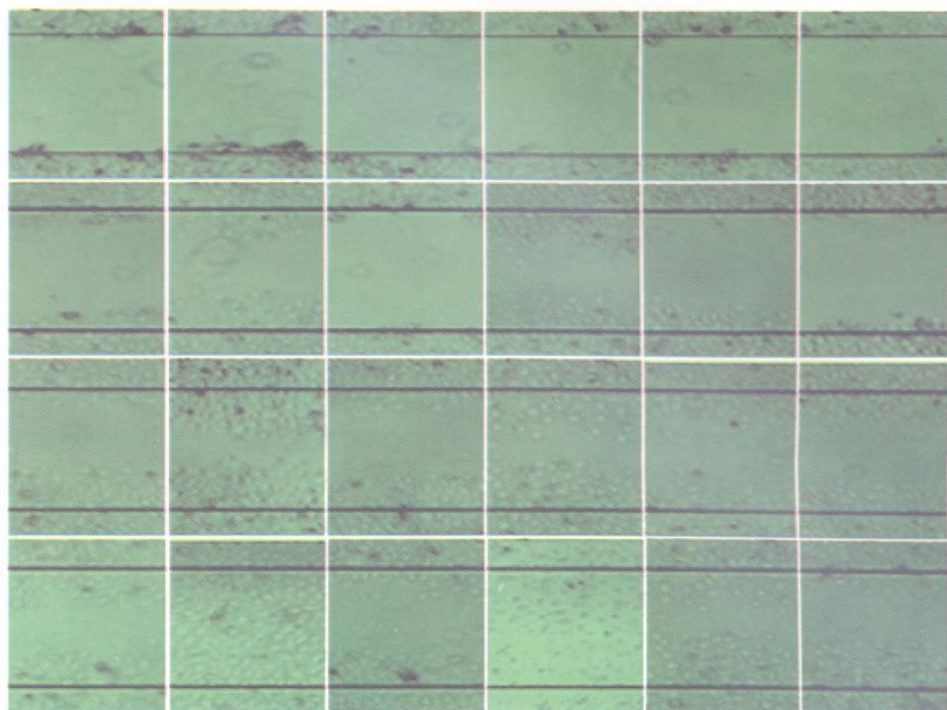


图 1 划痕后各组细胞状态 ($\times 100$) 从左至右分别为正常对照组、肺炎衣原体感染组、LY294002 组、黄连素低剂量组、黄连素中剂量组及黄连素高剂量组; 从上至下分别为 0 h、24 h、48 h 及 72 h。

表 1 创伤修复实验中不同剂量黄连素对肺炎衣原体感染诱导内皮细胞迁移的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$ μm)

分 组	24 h	48 h	72 h
正常对照组	248.89 \pm 23.33	414.82 \pm 29.45	523.70 \pm 27.31
肺炎衣原体感染组	401.85 \pm 32.38 ^a	578.15 \pm 29.45 ^a	689.63 \pm 4.49 ^a
LY294002 组	103.70 \pm 23.76 ^b	290.37 \pm 11.88 ^b	375.93 \pm 19.57 ^b
黄连素低剂量组	388.89 \pm 78.94	560.00 \pm 48.57	679.26 \pm 19.63
黄连素中剂量组	301.11 \pm 15.58 ^{bc}	414.81 \pm 32.38 ^{bd}	560.00 \pm 23.33 ^{bd}
黄连素高剂量组	137.41 \pm 16.19 ^{bde}	329.26 \pm 31.43 ^{bde}	464.07 \pm 19.57 ^{bde}

a 为 $P < 0.01$ 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.01$ 与肺炎衣原体感染组比较; c 为 $P < 0.05$, d 为 $P < 0.01$ 与黄连素低剂量组比较; e 为 $P < 0.01$ 与黄连素中剂量组比较。

2.2 Transwell 实验中不同剂量黄连素对肺炎衣原体感染诱导内皮细胞迁移的影响

与正常对照组相比, 肺炎衣原体感染组内皮细胞迁移量明显增加 ($P < 0.01$); 与肺炎衣原体感染组相比, LY294002 组和黄连素各剂量组内皮细胞迁移量均明显降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且随着黄连素浓度的增加, 细胞迁移量不断下降 ($P < 0.01$; 表 2 和图 2)。

2.3 不同剂量黄连素对肺炎衣原体感染的内皮细胞 PI3K mRNA 表达及其酶活性的影响

与正常对照组比较, 肺炎衣原体感染组 PI3K

mRNA 表达水平和酶活性显著升高 ($P < 0.01$); 与肺炎衣原体感染组比较, LY294002 组、黄连素中剂量组和高剂量组明显降低 ($P < 0.01$), 低剂量组有下降, 但无统计学差异 ($P > 0.05$), 且随黄连素浓度增加, PI3K mRNA 表达水平和酶活性逐渐下降 (表 3 和图 3)。黄连素对肺炎衣原体感染诱导内皮细胞迁移的抑制与 PI3K mRNA 表达水平和酶活性下降均密切相关 (r 分别为 0.841 和 0.832, $P < 0.01$)。

表 2 Transwell 实验中不同剂量黄连素对肺炎衣原体感染诱导内皮细胞迁移的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

分 组	迁移细胞数 (个/视野)
正常对照组	9.00 \pm 1.83
肺炎衣原体感染组	20.67 \pm 2.47 ^a
LY294002 组	4.33 \pm 0.95 ^c
黄连素低剂量组	16.60 \pm 1.59 ^b
黄连素中剂量组	11.53 \pm 1.50 ^{cd}
黄连素高剂量组	7.00 \pm 1.40 ^{cde}

a 为 $P < 0.01$ 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.05$, c 为 $P < 0.01$ 与肺炎衣原体感染组比较; d 为 $P < 0.01$ 与黄连素低剂量组比较; e 为 $P < 0.01$ 与黄连素中剂量组比较。

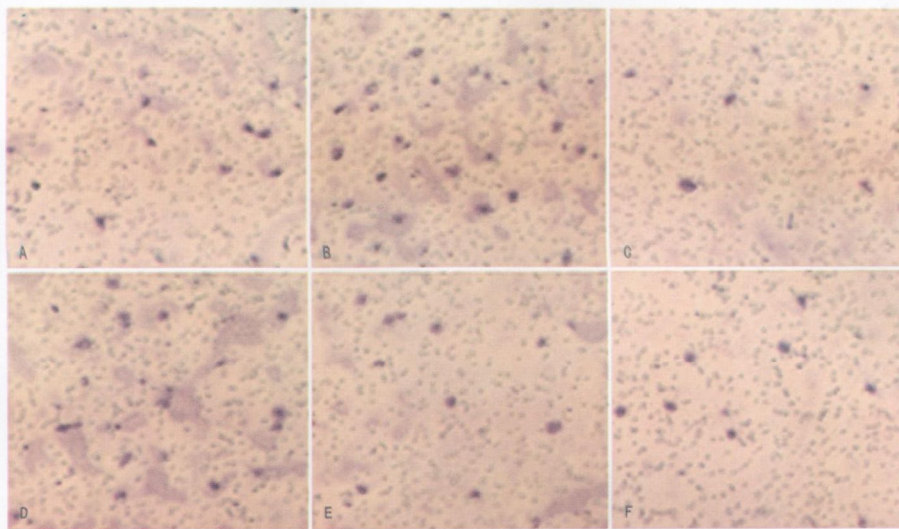


图 2 Transwell 实验中各组细胞迁移情况 ($\times 100$) A 为正常对照组, B 为肺炎衣原体感染组, C 为 LY294002 组, D 为黄连素低剂量组, E 为黄连素中剂量组, F 为黄连素高剂量组。

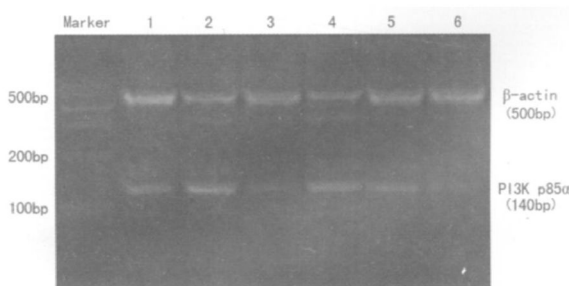


图 3 不同剂量黄连素对肺炎衣原体感染的内皮细胞 PI3K mRNA 表达的影响 1 为正常对照组, 2 为肺炎衣原体感染组, 3 为 LY294002 组, 4 为黄连素低剂量组, 5 为黄连素中剂量组, 6 为黄连素高剂量组。

表 3 不同剂量黄连素对肺炎衣原体感染的内皮细胞 PI3K mRNA 及其酶活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

分 组	PI3K mRNA	酶活性 ($\mu\text{g/L}$)
正常对照组	0.49 ± 0.17	0.51 ± 0.15
肺炎衣原体感染组	0.97 ± 0.06^a	0.82 ± 0.15^a
LY294002 组	0.22 ± 0.01^b	0.18 ± 0.02^b
黄连素低剂量组	0.78 ± 0.19	0.79 ± 0.22
黄连素中剂量组	0.55 ± 0.05^{bc}	0.45 ± 0.14^{bd}
黄连素高剂量组	0.24 ± 0.01^{bde}	0.22 ± 0.04^{bde}

a 为 $P < 0.01$, 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与肺炎衣原体感染组比较; c 为 $P < 0.05$ d 为 $P < 0.01$, 与黄连素低剂量组比较; e 为 $P < 0.01$, 与黄连素中剂量组比较。

3 讨论

肺炎衣原体是一种经呼吸道传播、可造成持续性感染并引起肺炎、支气管炎等呼吸道疾病的革兰氏阴性菌。近年研究表明,肺炎衣原体感染作为 As 发病新的危险因素,参与了 As 发病的整个过程^[7]。

目前研究多集中于肺炎衣原体感染损伤内皮细胞引起的免疫炎症反应及组织因子、细胞因子、炎症介质的产生和释放对 As 形成初期的作用^[8-9],而有关内皮细胞自身活动变化导致 As 发生发展的研究报道尚不多见。研究发现,抑制与促进血管新生的因素可分别减少和增加粥样硬化斑块发生率和斑块面积^[10-11],说明斑块内血管新生是 As 不断进展的关键因素。不仅如此,新生血管的密度与动脉狭窄程度呈正相关,其活跃时易导致斑块破裂、斑块内出血以及急性冠状动脉综合症的发生^[12]。内皮细胞迁移是血管新生过程中的关键步骤。本研究首先观察了肺炎衣原体感染后不同时段血管内皮细胞的迁移情况,发现肺炎衣原体感染可明显促进血管内皮细胞迁移,且随着感染时间的延长迁移量逐渐增加。这可能是肺炎衣原体感染启动了细胞迁移的相关信号转导通路,促使细胞质膜结构改变,刺激伪足生成、胞体收缩等细胞迁移环节依次进行^[13],从而诱导血管内皮细胞发生迁移。

本研究不仅观察到肺炎衣原体感染可促进血管内皮细胞迁移,还发现 PI3K p85 α mRNA 表达水平和酶活性也随着感染时间的延长而上调,提示肺炎衣原体感染内皮细胞后既能从转录水平促进 PI3K 表达,还能使 PI3K 酶活性增强。PI3K 是一种可催化产生第二信使 PIP3 的磷酸激酶,由调节亚基 p85 与催化亚基 p110 组成^[14],在细胞迁移过程中起重要作用。我们用 LY294002 特异性抑制 PI3K 后,肺炎衣原体感染各时段的细胞迁移量均显著减少,这与 Namkoong 等^[15]阻断 PI3K/Akt 信号通路可抑制人血管内皮细胞迁移形成新生血管的研究结果一

致, 这表明 PI3K 在促进内皮细胞迁移过程中发挥关键作用。PI3K 调节亚基 p85 α 对催化亚基 p110 α 的活性、定位具有关键性的调节作用, 并且 p110 α 对促进内皮细胞迁移、新生血管生成具有主要的调节功能^[14-16]。据此推测, 肺炎衣原体感染信号很可能通过 PI3K p85 α 构型的改变传递给 p110 α , 进一步激活下游蛋白, 促进肌动蛋白聚合与片状伪足的形成, 继而促使内皮细胞迁移。

新近研究显示黄连素可抑制细胞迁移^[3], 但其作用靶点、介导细胞迁移的信号转导途径尚不清楚。本研究中, 黄连素高剂量组、中剂量组内皮细胞迁移量较肺炎衣原体感染组同期均有明显减少, 尤其在黄连素高剂量组, 抑制效果更为显著; 黄连素抑制内皮细胞迁移的程度与 PI3K mRNA 表达和酶活性下调直接相关。提示黄连素对内皮细胞迁移的抑制作用与 PI3K 密切相关, 这与过去报道的黄连素通过抑制 PI3K 通路减弱大鼠血管平滑肌细胞迁移的研究结果^[17]一致。但低剂量黄连素抑制内皮细胞迁移的作用不明显, 提示黄连素对经由 PI3K 介导的肺炎衣原体感染致内皮细胞迁移的抑制作用与药物浓度密切相关。另外, 低剂量组黄连素中除 Transwell 72 h 实验组外, 余者较肺炎衣原体感染组均无统计学差异, 说明黄连素药效可能与作用时间有关, 该药可能对肺炎衣原体持续性感染诱发的细胞迁移有较强的抑制作用。

综上所述, 本研究证实了 PI3K 在肺炎衣原体感染诱发血管内皮细胞迁移过程中的关键作用, 发现黄连素可通过抑制 PI3K 的激活拮抗此过程中血管内皮细胞的过度迁移。由此推论, 黄连素可能通过抑制 PI3K 来发挥其减少病理性血管新生、增强粥样斑块稳定性的作用。随着研究的进一步深入, 黄连素有望成为预防肺炎衣原体感染致 AS 斑块破裂、斑块出血等并发症的重要药物。

[参考文献]

[1] Godzik KL, O'Brien ER, Wang SK, et al. In vitro susceptibility of hu-

- man vascular wall cells to infection with *Chlamydia pneumoniae* [J]. *J Clin Microbiol* 1995 33 (5): 2411-414
- [2] 金惠铭, 李先涛. 血管新生的调控 [J]. 中国微循环, 2001, 5 (2): 84-88
- [3] Lee S, Lim HJ, Park HY, et al. Berberine inhibits rat vascular smooth muscle cell proliferation and migration in vitro and improves neointima formation after balloon injury in vivo. Berberine improves neointima formation in a rat model [J]. *Atherosclerosis* 2006 186 (1): 29-37.
- [4] Heller R, Chang Q, Ehrlich G, et al. Overlapping and distinct roles for PI3K beta and gamma isoforms in S1P-induced migration of human and mouse endothelial cells [J]. *Cardiovasc Res* 2008 80 (1): 96-105
- [5] Vanlier M, Caglayan E, Zimmerman WH, et al. Systematic evaluation of antiapoptotic growth factor signaling in vascular smooth muscle cells: only phosphatidylinositol 3'-kinase is important [J]. *J Biol Chem*, 2005 280 (14): 14168-176
- [6] 洪莉, 杨坤, 张利军, 等. 肺炎衣原体在 Hep-2 细胞中增殖的观察 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2008 28 (12): 1121-125
- [7] Mussa FF, Chai H, Wang X, et al. *Chlamydia pneumoniae* and vascular disease: an update [J]. *J Vasc Surg*, 2006 43 (6): 1301-307.
- [8] 黄冰生, 董吁钢, 程颖, 等. 肺炎衣原体感染对高脂血症小鼠主动脉内皮细胞过氧化体增殖物激活型受体 α , P50 和 c-FOS 表达的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2006 14 (1): 32-36
- [9] Etelaie C, Collier ME, James NJ, et al. Induction of tissue factor expression and release as microparticles in ECV304 cell line by *Chlamydia pneumoniae* infection [J]. *Atherosclerosis* 2007 190 (2): 343-351.
- [10] Moulton KS, Heller E, Konerding MA, et al. Angiogenesis inhibitors endostatin or TNP-470 reduce intimal neovascularization and plaque growth in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Circulation*, 1999 99 (13): 1726-732
- [11] Celletti FL, Hilfiker PR, Ghafouri P, et al. Effect of human recombinant vascular endothelial growth factor 165 on progression of atherosclerotic plaque [J]. *J Am Coll Cardiol* 2001 37 (8): 2126-130
- [12] Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, et al. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma [J]. *N Engl J Med*, 2003 349 (24): 2316-320
- [13] Ridley AJ, Schwartz MA, Burridge K, et al. Cell migration: integrating signals from front to back [J]. *Science* 2003 302 (5651): 1704-709
- [14] Vanhaesebroeck B, Leekens SJ, Ahmadi K, et al. Synthesis and function of 3-phosphorylated inositol lipids [J]. *Annu Rev Bio Chem*, 2001 70 (1): 535-602
- [15] Nankoo S, Kim CK, Cho YL, et al. Forskolin increases angiogenesis through the coordinated cross-talk of PKA-dependent VEGF expression and Epac-mediated PI3K/Akt/eNOS signaling [J]. *Cell Signal* 2009 21 (6): 906-915
- [16] Graupera M, Guillemet GJ, Foukas LC, et al. Angiogenesis selectively requires the p110 α isoform of PI3K to control endothelial cell migration [J]. *Nature*, 2008 453 (7195): 662-666
- [17] Liang KW, Yin SC, Ting CT, et al. Berberine inhibits platelet-derived growth factor-induced growth and migration partly through an AMPK-dependent pathway in vascular smooth muscle cells [J]. *Eur J Pharmacol* 2008 590 (1-3): 343-354

(此文编辑 文玉珊)