

[文章编号] 1007-3949(2010)18-05-0375-05

· 实验研究 ·

## 血小板源生长因子 BB通过 JNK 调控大鼠主动脉平滑肌细胞 $\beta$ -catenin核内外分布

刘勇<sup>1,2</sup>, 何延政<sup>2</sup>, 李雯<sup>1</sup>, 李梓伦<sup>1</sup>, 王冕<sup>1</sup>, 王深明<sup>1</sup>

(1 中山大学附属第一医院血管外科, 广东省广州市 510080 2 泸州医学院附属医院血管外科, 四川省泸州市 646000)

[关键词] 平滑肌细胞; 血小板源生长因子 BB; JNK;  $\beta$ -catenin

**[摘要]** 目的 探讨阻断 JNK 后对血小板源生长因子 BB 引起的细胞增殖的影响以及 JNK 对血小板源生长因子 BB (50  $\mu$ g/L) 刺激导致的  $\beta$ -catenin 核内外分布的影响。方法 应用 CCK8 法测定不同浓度 JNK 抑制剂 SP600125 (10、20 和 40  $\mu$ g/L) 对血小板源生长因子 BB 诱导的大鼠主动脉平滑肌细胞增殖的影响。应用 Western Blotting 法检测血小板源生长因子 BB 刺激后不同时间点 p-JNK、JNK 及胞浆和胞核  $\beta$ -catenin 的表达变化, 以及在不同浓度 SP600125 (10、20 和 40  $\mu$ g/L) 后对 p-JNK 以及胞核  $\beta$ -catenin 表达的影响。免疫荧光法检测血小板源生长因子 BB 刺激后和给予 JNK 抑制剂后  $\beta$ -catenin 的核内外分布变化。结果 血小板源生长因子 BB (50  $\mu$ g/L) 显著促进大鼠主动脉平滑肌细胞的增殖 (0.876  $\pm$  0.041 比 0.370  $\pm$  0.082,  $P < 0.01$ ), 在给予不同浓度 (10、20 和 40  $\mu$ g/L) JNK 抑制剂 SP600125 后平滑肌细胞增殖成浓度依赖性下降 (0.635  $\pm$  0.063, 0.470  $\pm$  0.044 和 0.381  $\pm$  0.054 比 0.876  $\pm$  0.041,  $P < 0.01$ )。血小板源生长因子 BB 刺激 15 min 后 p-JNK 及 60 min 后细胞核内  $\beta$ -catenin 的表达达峰值, 在给予不同浓度 SP600125 后 p-JNK 和细胞核内  $\beta$ -catenin 的表达成浓度依赖性下降。免疫荧光检测提示血小板源生长因子 BB 刺激 60 min 后  $\beta$ -catenin 核内聚集明显, 而在给予 SP600125 (40  $\mu$ g/L) 后  $\beta$ -catenin 核内聚集受到了抑制。结论 JNK 磷酸化在血小板源生长因子 BB 刺激引起的  $\beta$ -catenin 核内聚集中起关键调节作用。

[中图分类号] Q4

[文献标识码] A

### JNK Phosphorylation Is Required for Platelet Derived Growth Factor-BB -Induced $\beta$ -catenin Nuclear Accumulation in Rat Aortic Smooth Muscle Cell

LU Yong<sup>1,2</sup>, HE Yan-Zheng<sup>2</sup>, LI Wen<sup>1</sup>, LI Zhi-Lun<sup>1</sup>, WANG Mian<sup>1</sup>, and WANG Shen-Ming<sup>1</sup>

(1 The First Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou, Guangdong 510080 2 Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000 China)

[KEY WORDS] Smooth Muscle Cell; Platelet Derived Growth Factor-BB; JNK;  $\beta$ -catenin

**[ABSTRACT]** **Aim** To investigate the effect of JNK in the proliferation and  $\beta$ -catenin nuclear accumulation stimulated by platelet derived growth factor-BB (PDGF-BB). **Methods** The inhibitory effect of JNK inhibitor-SP600125 (10, 20, 40  $\mu$ g/L) in the PDGF-BB stimulating vascular smooth muscle cell proliferation was detected by CCK8 assay.

Expression of JNK, p-JNK, nuclear and cytosolic  $\beta$ -catenin stimulated by PDGF-BB at different time point was examined.

The effect of SP600125 on the nuclear accumulation of  $\beta$ -catenin was detected by Western Blotting and immunofluorescence.

**Results** CCK8 OD value was greatly enhanced after stimulated by PDGF-BB (50  $\mu$ g/L) (0.876  $\pm$  0.041 vs 0.370  $\pm$  0.082,  $P < 0.01$ ), it was significantly inhibited by JNK inhibitor-SP600125 (10, 20, 40  $\mu$ g/L) (0.635  $\pm$  0.063, 0.470  $\pm$  0.044, 0.381  $\pm$  0.054 vs 0.876  $\pm$  0.041,  $P < 0.01$ ) in a concentration-dependent manner. After stimulated by PDGF-BB, expression of p-JNK and nuclear  $\beta$ -catenin increased over time, and p-JNK at 15 minute and nuclear  $\beta$ -catenin at 60 minute reached its peak. The expression of p-JNK at 15 minute and nuclear  $\beta$ -catenin at 60 minute was inhibited by using SP600125 (10, 20, 40  $\mu$ g/L) in a concentration-dependent manner. The immunofluorescence test also showed that nuclear accumulation of  $\beta$ -catenin in vascular smooth muscle cell was significantly inhibited by SP600125.

**Conclusion**

The phosphorylation of JNK was a key step in the nuclear accumulation of  $\beta$ -catenin induced by PDGF-BB.

血管平滑肌细胞增殖在动脉粥样硬化和血管再狭窄中起关键作用, 而血小板源生长因子 (platelet

derived growth factor; PDGF) 是已知重要的血管平滑肌细胞促有丝分裂因子<sup>[1,2]</sup>。 $\beta$ -catenin 是一种细胞骨架蛋白, 由位于染色体 3p21-22 的 *ctnbl* 基因编码。当受到细胞因子激活后,  $\beta$ -catenin 进入细胞核内, 激活转录因子引起细胞增殖, 已有报道在血管平滑肌细胞增殖中起重要作用<sup>[3]</sup>。 $\beta$ -catenin 入核受经典的 wnt 激活, 也受 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun

[收稿日期] 2010-03-26 [修回日期] 2010-05-10

**[作者简介]** 刘勇, 博士研究生, 主治医师, 现从事动脉粥样硬化发病机制的研究。E-mail 为 lvong74@163.com。通讯作者王深明, 博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为周围血管疾病的基础与临床, E-mail 为 Shermingwang@vip.sohu.com。

N-terminal kinase, JNK)、AKT 和 E-cadherin 等分子的调控。既往已有研究证实 PDGF-BB 能诱导  $\beta$ -catenin 入核,但具体调控机制并不清楚<sup>[4]</sup>。因此本研究观察了 JNK 在 PDGF-BB 诱导  $\beta$ -catenin 核内外分布和细胞增殖中的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

SD 雄性大鼠 (120~140 g) 由中山大学中山医学院动物中心提供。大鼠 PDGF-BB 购自 R&D 公司,胎牛血清购自 Gibco 公司,细胞计数试剂盒 8 (cell counting kit-8, CCK8) 检测试剂盒购自上海同仁化学研究所, JNK 抑制剂 SP600125 和 BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自碧云天生物技术研究,胞浆蛋白-核蛋白抽提试剂盒购自 Viagene 公司,小鼠抗大鼠 SAPK /JNK、phospho-SAPK /JNK (Thr183/Tyr185)、GAPDH 抗体和兔抗大鼠  $\beta$ -catenin 抗体购自 CST 公司 (Cell Signaling Technology Inc),小鼠抗大鼠  $\alpha$ -actin 抗体购自武汉博士德公司,羊抗兔 IgG (H&L)-罗丹明二抗和 DAPI 染色试剂盒购自凯基生物科技公司。

### 1.2 大鼠主动脉平滑肌细胞的分离培养与鉴定

取 SD 大鼠胸主动脉,在无菌条件下,剪开胸主动脉,剥去内外膜,取中膜按组织块培养法接种于细胞培养瓶,用含 10% 胎牛血清、100 u/L 青霉素和链霉素的 DMEM 培养基,在 37°C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。经形态学和免疫组织化学证实为平滑肌细胞。试验用第 3~8 代细胞。

### 1.3 平滑肌细胞增殖的检测

将平滑肌细胞按  $1 \times 10^4$  个/孔加入 96 孔板中,次日贴壁后,换用无血清培养基培养 24 h,按终浓度为 10、20 和 40  $\mu$ g/L 加入 SP600125 处理 24 h 后,除对照组外再每孔加入 PDGF-BB (50  $\mu$ g/L),20 h 后每孔加入 20  $\mu$ L WST-8 继续培养 4 h 后,在酶联免疫检测仪上 (450 nm) 测各孔的 OD 值。每组设 3 个复孔。

### 1.4 总蛋白及胞浆核蛋白的抽提

取 6 孔板培养的主动脉平滑肌细胞置于冰盒上低温操作,弃皿中上清培养液,加 1 mL 预冷  $1 \times$  PBS 漂洗细胞 3 次。加入蛋白裂解液抽提总蛋白。取 25 cm<sup>2</sup> 规格培养皿培养的主动脉平滑肌细胞置于冰盒上低温操作,弃皿中上清培养液,加 3 mL 预冷  $1 \times$  PBS 漂洗细胞 3 次。胞浆核蛋白的提取按 Viagene 公司胞浆蛋白-核蛋白抽提试剂盒步骤进行。

BCA 蛋白浓度测定试剂盒检测蛋白的浓度。

### 1.5 Western Blotting

将抽提的蛋白按每孔 20  $\mu$ L 在 10% SDS-PAGE 电泳进行蛋白分离,然后电转到 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉-TBST 室温封闭 1 h, PVDF 膜分别与小鼠抗大鼠 SAPK /JNK、phospho-SAPK /JNK (Thr183/Tyr185) (1: 1000)、GAPDH 抗体 (1: 5000)、兔抗大鼠  $\beta$ -catenin 抗体 (1: 1000) 4°C 孵育过夜。PVDF 膜用 10 mL TBST 液洗 10 min,共 3 次。再与 HRP 标记的羊抗兔 IgG、抗小鼠 IgG (1: 5000) 在 37°C 孵育 1 h。特异性蛋白条带应用化学发光法进行检测,胶片曝光洗片。Quantity one 软件分析各蛋白条带的灰度值。以 GAPDH 蛋白表达为内参,以目的蛋白与 GAPDH 条带灰度值的比值表示目的蛋白的相对含量,进行结果分析。

### 1.6 免疫荧光

取出 24 孔板内的细胞爬片, PBS 洗 5 min,共 3 次。4% 多聚甲醛固定 20 min, PBS 洗 3 次后,含 0.2% Triton X-100 室温通透 20 min, PBS 洗三次。5% 山羊血清封闭 30 min。兔抗大鼠  $\beta$ -catenin 抗体 (1: 100) 4°C 孵育过夜。PBS 洗 3 次。羊抗兔 IgG (H&L)-罗丹明二抗 (1: 100) 室温下避光孵育 2 h 后, PBS 洗 3 次, DAPI 复染, PBS 洗 3 次,抗荧衰减封片剂封片。荧光显微镜下观察,并照相。

### 1.7 统计学处理

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较用  $q$  检验。以 SPSS13.0 统计软件包行统计学处理。

## 2 结果

### 2.1 血管平滑肌细胞的培养和鉴定

培养瓶中的组织块在倒置显微镜下观察,血管平滑肌细胞第 5~7 天逐渐从组织块长出,早期新长出细胞呈小多角、团状,逐渐生长转变成梭形;当细胞进一步生长出现较密汇合时,细胞则呈簇状生长。细胞进一步汇合,则并行排列呈束生长。当细胞完全汇合时,细胞表现出典型的血管平滑肌细胞生长特点,即“波峰波谷”状生长。免疫组织化学法结果显示胞浆内  $\alpha$ -SMC-actin 相关抗原表达阳性 (图 1)。

### 2.2 JNK 抑制剂 SP600125 抑制血小板源生长因子 BB 诱导的大鼠主动脉平滑肌细胞增殖

50  $\mu$ g/L PDGF-BB 刺激平滑肌细胞 24 h 后, CCK8 值增至对照组的 237% ( $P < 0.01$ )。在给予

不同浓度 (10、20和 40 μg/L) JNK 抑制剂 SP600125 处理 24 h后,再给予 50 μg/L PDGF-BB 刺激 24 h,

CCK8值成浓度依赖性下降 ( $P < 0.01$ ),且不同浓度 SP600125组之间 CCK8值差异有显著性(表 1)。

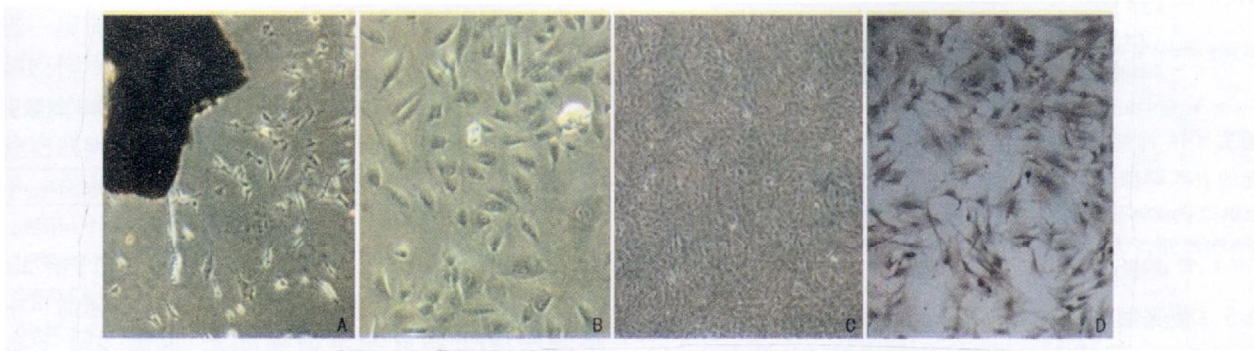


图 1 大鼠主动脉平滑肌细胞的培养和鉴定 A 为培养第 5~7 天从组织块逐渐长出血管平滑肌细胞,细胞呈小多角、团状 ( $\times 100$ ); B 为细胞逐渐生长成梭形,较密汇合时呈簇状生长 ( $\times 200$ ); C 为细胞完全汇合时,细胞表现出典型“波峰波谷”状生长 ( $\times 100$ ); D 为免疫组织化学法显示胞浆内  $\alpha$ -SMC-actin 相关抗原表达阳性 ( $\times 200$ )。

表 1 JNK 抑制剂 SP600125 对血小板源生长因子 BB (50 μg/L) 诱导的大鼠主动脉平滑肌细胞增殖的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

分 组	CCK8 值
空白对照组	0.370 ± 0.082
PDGF-BB 组	0.876 ± 0.041 <sup>a</sup>
10 μg/L SP600125 组	0.635 ± 0.063 <sup>b</sup>
20 μg/L SP600125 组	0.470 ± 0.044 <sup>b,c</sup>
40 μg/L SP600125 组	0.381 ± 0.054 <sup>b,d</sup>

a 为  $P < 0.01$ ,与空白对照组比较; b 为  $P < 0.01$ ,与 PDGF-BB 组比较; c 为  $P < 0.01$ ,与 10 μg/L SP600125 组比较; d 为  $P < 0.05$ ,与 20 μg/L SP600125 组比较。

### 2.3 血小板源生长因子 BB 诱导主动脉平滑肌细胞 JNK 磷酸化和 $\beta$ -catenin 核内聚集的时间特性

平滑肌细胞无血清培养 24 h 后,给予 50 μg/L PDGF-BB 刺激不同时间 (5 min, 15 min, 30 min, 60 min 和 120 min) 后, p-JNK 表达逐渐增高, 15 min 时达最高峰, 然后逐渐下降。在 50 μg/L PDGF-BB 刺激 15 min, 30 min, 60 min, 120 min 和 240 min 后, 细胞核内  $\beta$ -catenin 逐渐升高, 在 60 min 时达到最高峰, 然后逐渐下降; 而胞浆  $\beta$ -catenin 呈逐渐下降的趋势(表 2 和图 2)。

### 2.4 抑制 JNK 磷酸化对主动脉平滑细胞 $\beta$ -catenin 核内外分布的影响

p-JNK 在 PDGF-BB 刺激 15 min 后明显升高, 在给予浓度梯度 SP600125 (10、20 和 40 μg/L) 处理后, p-JNK 表达逐渐下降, 并与 SP600125 成浓度依赖关系; 细胞核内  $\beta$ -catenin 在 PDGF-BB 刺激 60 min 后明显升高, 在给予浓度梯度 SP600125 (10、20

和 40 μg/L) 处理后, 细胞核内  $\beta$ -catenin 表达逐渐降低, 并与 SP600125 成浓度依赖关系(表 3 和图 3)。

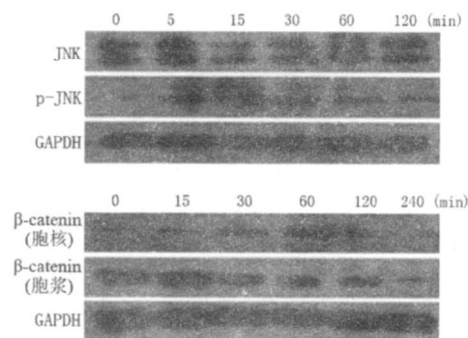


图 2 血小板源生长因子 BB 作用不同时间对大鼠主动脉平滑肌细胞 JNK 磷酸化和  $\beta$ -catenin 核内外分布的影响

表 2 血小板源生长因子 BB 对大鼠主动脉平滑肌细胞 JNK 磷酸化和  $\beta$ -catenin 核内外分布影响的时间特性 ( $n = 3$ )

作用时间	p-JNK	核 $\beta$ -catenin
0 min	27.03% ± 4.03%	7.73% ± 2.19%
5 min	96.09% ± 5.64% <sup>a</sup>	/
15 min	173.03% ± 11.34% <sup>b</sup>	15.90% ± 1.64%
30 min	94.67% ± 8.31% <sup>c</sup>	36.13% ± 6.76% <sup>c</sup>
60 min	59.90% ± 5.03% <sup>d</sup>	68.37% ± 11.09% <sup>d</sup>
120 min	25.40% ± 7.58% <sup>e</sup>	19.82% ± 4.90% <sup>e</sup>
240 min	/	9.04% ± 2.42% <sup>f</sup>

a 为  $P < 0.01$ ,与 PDGF-BB 刺激 0 min 比较; b 为  $P < 0.01$ ,与 PDGF-BB 刺激 5 min 比较; c 为  $P < 0.01$ ,与 PDGF-BB 刺激 15 min 比较; d 为  $P < 0.01$ ,与 PDGF-BB 刺激 30 min 比较; e 为  $P < 0.01$ ,与 PDGF-BB 刺激 60 min 比较; f 为  $P < 0.05$ ,与 PDGF-BB 刺激 120 min 比较。



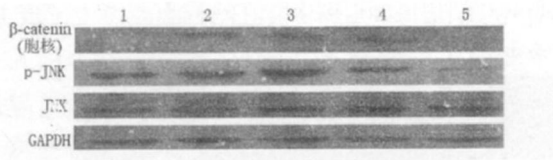


图 3 JNK 抑制剂 SP600125 对血小板源生长因子 BB 刺激引起的 JNK 磷酸化和  $\beta$ -catenin 核内聚集的影响 1 为空白对照组, 2 为 PDGF-BB 组, 3 为 10  $\mu$ g/L SP600125 组, 4 为 20  $\mu$ g/L SP600125 组, 5 为 40  $\mu$ g/L SP600125 组。

### 2.5 荧光显微镜检测 $\beta$ -catenin 核内外分布

为进一步证实 JNK 抑制对 PDGF-BB 刺激引起的平滑肌细胞  $\beta$ -catenin 在核内聚集的影响, 分别对对照细胞、PDGF-BB (50  $\mu$ g/L) 刺激 1 h 和 40  $\mu$ g/L SP600125 处理细胞再给予 PDGF-BB (50  $\mu$ g/L) 刺激 1 h 三组细胞进行免疫荧光检测, 结果发现在

PDGF-BB (50  $\mu$ g/L) 刺激 1 h 后  $\beta$ -catenin 在细胞核内聚集明显, 而给与 40  $\mu$ g/L SP600125 预处理后, PDGF-BB 刺激引起的  $\beta$ -catenin 细胞核内聚集明显受到了抑制 (图 4)。

表 3 JNK 抑制剂 SP600125 对血小板源生长因子 BB 刺激引起的 JNK 磷酸化和  $\beta$ -catenin 核内聚集的影响 (n = 3)

分 组	p-JNK	核 $\beta$ -catenin
空白对照组	32.28% $\pm$ 6.44%	5.23% $\pm$ 1.25%
PDGF-BB 组	99.82% $\pm$ 6.50% <sup>a</sup>	59.93% $\pm$ 6.55% <sup>a</sup>
10 $\mu$ g/L SP600125 组	77.72% $\pm$ 9.79% <sup>b</sup>	38.29% $\pm$ 3.59% <sup>b</sup>
20 $\mu$ g/L SP600125 组	55.13% $\pm$ 6.57% <sup>bd</sup>	29.66% $\pm$ 4.28% <sup>bc</sup>
40 $\mu$ g/L SP600125 组	27.17% $\pm$ 3.1% <sup>be</sup>	5.39% $\pm$ 1.84% <sup>be</sup>

a 为  $P < 0.01$  与空白对照组比较; b 为  $P < 0.01$  与 PDGF-BB 组比较; c 为  $P < 0.05$  d 为  $P < 0.01$  与 10  $\mu$ g/L SP600125 组比较; e 为  $P < 0.01$  与 20  $\mu$ g/L SP600125 组比较。

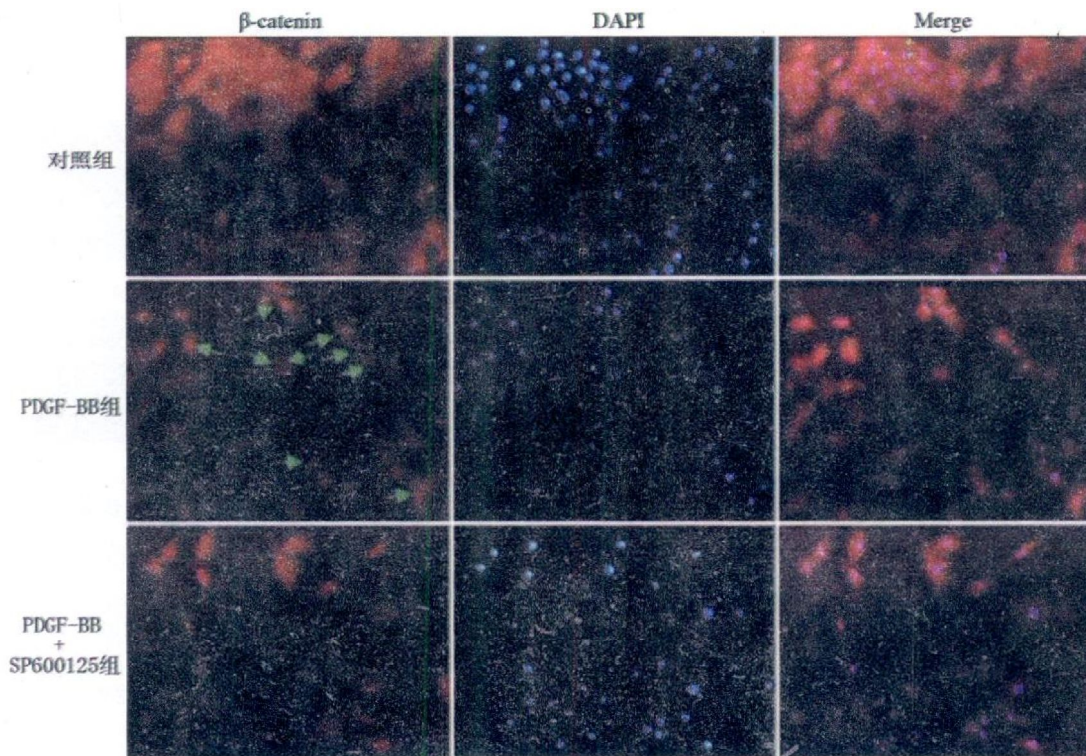


图 4 免疫荧光检测 JNK 抑制剂 SP600125 对血小板源生长因子 BB 刺激引起的  $\beta$ -catenin 核内聚集的影响

### 3 讨论

既往已有报道 PDGF 激活 JNK 信号在平滑肌细胞增殖中起重要作用<sup>[5,6]</sup>。在肿瘤及正常细胞中,  $\beta$ -catenin 受到激动后, 与 TCF/Lef 结合, 进入细胞核内, 诱导细胞增殖<sup>[7]</sup>。体内及体外实验均证实 PDGF 是血管平滑肌细胞增殖的强刺激因子。在颈动脉损伤模型中阻断 PDGFR、JNK 和  $\beta$ -catenin 均能减轻再狭窄<sup>[8,9]</sup>。Wu 等<sup>[10]</sup>的研究显示 Rac1 和

JNK 活化能促进  $\beta$ -catenin 进入细胞核并调控细胞增殖和胚胎肢体的长出。这些资料均表明 JNK 的活化可能在 PDGF-BB 刺激引起的  $\beta$ -catenin 入核中起关键调控作用。

本实验结果发现, 在给予 PDGF-BB 刺激后 JNK 磷酸化逐渐升高, 到 15 min 时达峰值, 而后下降; 而细胞核内  $\beta$ -catenin 则是到 1 h 后达峰值。提示 JNK 在  $\beta$ -catenin 之前到达峰值。既往研究表明抑制

JNK 后平滑肌细胞 Cyclin D1 表达下降, 继而抑制其增殖。而  $\beta$ -catenin 入核后可发挥其转录因子的作用激活下游细胞基因 Cyclin D1 和 c-myc 的表达<sup>[3]</sup>。进一步提示 JNK 可能对  $\beta$ -catenin 核内外分布存在调控作用。

JNK 为 PDGFR 下游的信号<sup>[5, 11]</sup>, 体内及体外实验均证实 PDGF 是血管平滑肌细胞增殖的强刺激因子。在颈动脉损伤模型中阻断 PDGFR、JNK 和  $\beta$ -catenin 均能减轻再狭窄<sup>[12, 13]</sup>。提示 JNK 和  $\beta$ -catenin 在 PDGF-BB 诱导的血管平滑肌细胞增殖和迁移中可能起重要调节作用。为确证  $\beta$ -catenin 入核是否受 JNK 调控, 本实验应用特异性 JNK 抑制剂 SP600125 预处理后, 再予 PDGF-BB 刺激, 发现 PDGF-BB 刺激 15 min 后 p-JNK 明显受到抑制, 并成 SP600125 浓度依赖性下降; 而同样 PDGF-BB 刺激 60 min 后, 细胞核内  $\beta$ -catenin 表达亦明显受抑制并成 SP600125 浓度依赖性下降。为进一步确证这种抑制作用, 免疫荧光检测发现, PDGF-BB 刺激 60 min 后  $\beta$ -catenin 在细胞核内明显聚集, 而给予 SP600125 处理后, 这种聚集被明显抑制。提示 JNK 的活化在 PDGF-BB 诱导的血管平滑肌细胞  $\beta$ -catenin 核内聚集中起重要调控作用, 这种调控可能与 JNK 调控  $\beta$ -catenin 残基 Ser191 和 Ser605 磷酸化以及 DKK1 的表达有关<sup>[10, 14]</sup>。本实验结果还发现在抑制 JNK 后, 血管平滑肌细胞增殖也受到明显抑制, 与既往报道相符。综上所述, PDGF-BB 能促进血管平滑肌细胞 JNK 激活和  $\beta$ -catenin 核内聚集, 但  $\beta$ -catenin 的核内聚集受 JNK 的调控, 进而影响血管平滑肌细胞增殖。进一步深入研究其调控机制, 可探索血管再狭窄和动脉粥样硬化可能的分子治疗靶点。

#### [参考文献]

- [1] Sachinidis A, Locher R, Vetter W, et al. Different effects of platelet-derived growth factor isoforms on rat vascular smooth muscle cells [J]. *J Biol Chem*, 1990 **265** (10): 238-243
- [2] 顾杰波, 范春雷, 沃兴德. 血小板源生长因子及其受体与动脉粥样硬化 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008 **16** (6): 499-502
- [3] Helen Quasnicka Slater Sadie C, Cressida A. Regulation of smooth muscle cell proliferation by  $\beta$ -catenin/T-cell factor signaling involves modulation of cyclin D1 and p21 expression [J]. *Circ Res* 2006 **99** (1): 329-337
- [4] Thierry Couffinhal Pascale Dufoureg Cécile Dupla  $\beta$ -catenin nuclear activation common pathway between Wnt and growth factor signaling in vascular smooth muscle cell proliferation [J]. *Circ Res* 2006 **99** (1): 287-289
- [5] Yun-wei Zhan, Shokei Kin, Yasukatsu Izumi, et al. Role of JNK, p38, and ERK in platelet-derived growth factor-induced vascular proliferation, migration, and gene expression [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003 **23** (7): 795-801
- [6] 蒋健, 舒强, 凌光烈. 血小板源性生长因子影响血管弹性蛋白酶表达 [J]. *2004* **12** (4): 405-409
- [7] 赖天霞, 周兰. Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号途径及其与肿瘤关系的研究进展 [J]. *中国医学理论与实践*, 2006 **16** (1): 25-27
- [8] Leppanen O, Janjic N, Carlsson MA, et al. Intimal hyperplasia recurs after removal of PDGF-AB and -BB inhibition in the rat carotid artery injury model [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000 **20** (10): E89-95
- [9] Uglov Elizabeth B, Sadie Slater, Sala-Newby Graciela B, et al. Disruption of cadherin-mediated cell-cell contacts modulates smooth muscle cell proliferation [J]. *Circ Res* 2003 **92** (1): 314-321
- [10] Wu XM, Tu XL, Joeng KS, et al. Rac1 activation controls nuclear localization of  $\beta$ -catenin during canonical Wnt signaling [J]. *Cell* 2008 **133** (3): 340-353
- [11] Claesson WL. Platelet-derived growth factor receptor signals [J]. *J Biol Chem*, 1994 **269** (32): 023-026
- [12] Clifford RL, Deacon K, Knox AJ. Novel regulation of vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) by transforming growth factor ( $\beta$ )1 requirement for Smad3 ( $\beta$ )-CATENIN, and GSK3 ( $\beta$ ) [J]. *J Biol Chem*, 2008 **283** (51): 35337-353
- [13] Bemstein LR, Antoniadis H, Zetter BR. Migration of cultured vascular cells in response to plasma and platelet-derived factors [J]. *J Cell Sci* 1982 **56** (1): 71-82
- [14] Habas R, Dawid B, He X. Coactivation of Rac and Rho by Wnt/Frizzled signaling is required for vertebrate gastrulation [J]. *Genes Dev* 2003 **17** (3): 295-309

(此文编辑 许雪梅)