

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2010)18-09-0682-05

罗格列酮对血管紧张素 Ang^{II} 诱导血管平滑肌细胞增殖的影响

任利群, 李荣娟, 郭晓珍, 盛祖龙, 刘乃丰

(东南大学中大医院心脏科, 江苏省南京市 210009)

[关键词] 罗格列酮; 血管紧张素 Ang^{II} 2型受体; 血管平滑肌细胞

[摘要] 目的 探讨罗格列酮对血管紧张素 Ang^{II} 诱导血管平滑肌细胞增殖的影响及可能的机制。方法 原代培养大鼠血管平滑肌细胞, 取第4~8代细胞进行实验。用终浓度为 $1\text{ }\mu\text{mol/L}$ 血管紧张素 Ang^{II} 诱导6h, 随机分成对照组(含10% FBS的DMEM培养基)、 $1\text{ }\mu\text{mol/L}$ 血管紧张素 Ang^{II} 组、不同浓度罗格列酮(20、30、40及 $50\text{ }\mu\text{mol/L}$)干预组, 30 $\mu\text{mol/L}$ 罗格列酮干预不同时间组(6、12、18及24h)。分别采用MTT和流式细胞术观察血管平滑肌细胞增殖和增殖周期的变化; 逆转录聚合酶链反应和免疫印迹法测定不同干预条件下血管平滑肌细胞血管紧张素 Ang^{II} 2型受体mRNA和蛋白的表达水平。结果 血管紧张素 Ang^{II} 组吸光值明显高于对照组($P < 0.01$), 20、30、40及 $50\text{ }\mu\text{mol/L}$ 罗格列酮干预12h及30 $\mu\text{mol/L}$ 罗格列酮干预6、12、18及24h后, 吸光值明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 血管紧张素 Ang^{II} 组增殖指数和S期细胞分数明显高于对照组($P < 0.01$)。随着罗格列酮干预浓度的增加或干预时间的延长, 增殖指数、S期细胞分数及处于S期分数均明显下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与血管紧张素 Ang^{II} 组相比, 不同浓度(20、30及 $50\text{ }\mu\text{mol/L}$)罗格列酮干预12h及同一浓度(30 $\mu\text{mol/L}$)干预不同时间(6、12及24h)显著升高血管紧张素 Ang^{II} 2型受体mRNA和蛋白的表达($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 罗格列酮至少部分通过上调血管紧张素 Ang^{II} 2型受体表达, 阻止血管平滑肌细胞从 G_0/G_1 期向S期、 G_2/M 期转化, 从而抑制血管紧张素 Ang^{II} 诱导血管平滑肌细胞的增殖、迁移, 发挥血管保护作用。

[中图分类号] R96

[文献标识码] A

Effects of Rosiglitazone on Proliferation of Vascular Smooth Muscle Cells Induced by Angiotensin Ang^{II}

REN Li-Qun, LI Ying-Juan, GUO Xiao-Zhen, SHENG Zu-Long and LIU Nai-Feng

(Department of Cardiology, the Affiliated Zhongda Hospital of Southeast University, Nanjing, Jiangsu 210009, China)

[KEY WORDS] Rosiglitazone; Angiotensin Ang^{II} Type 2 Receptor; Vascular Smooth Muscle Cell

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of rosiglitazone on the proliferation of vascular smooth muscle cells induced by angiotensin Ang^{II} (Ang^{II}) and possible mechanism. **Methods** Vascular smooth muscle cells (VSMC) were isolated from aortic media of four-week-old male Sprague-Dawley rats by enzymatic digestion and cultured in monolayer. VSMC in passage 4~8 in log phase were used in following experiments. VSMC were treated by $1\text{ }\mu\text{mol/L}$ Ang^{II} for 6 h and randomly divided into the groups as follows: control group (10% FBS in DMEM), Ang^{II} group ($1\text{ }\mu\text{mol/L}$ Ang^{II}), groups respectively treated with different concentration of rosiglitazone (20, 30, 40 and $50\text{ }\mu\text{mol/L}$) for 12 h and groups respectively treated with 30 $\mu\text{mol/L}$ rosiglitazone for 6, 12, 18 and 24 h. The VSMC growth, change of proliferation cycle and mRNA and protein expression of Ang^{II} type 2 receptor (AT_2R) in all groups were detected by using MTT colorimetric assay, FCM, RT-PCR and Western blotting. **Results** The mean absorbance (A value) in the VSMC treated by Ang^{II} was significantly higher as compared with that of the control group ($P < 0.01$). The A values were markedly reduced in the VSMC treated by different concentration of rosiglitazone for 12 h or 30 $\mu\text{mol/L}$ rosiglitazone for 6, 12, 18 and 24 h ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The proliferation index (PI) and S-phase fraction (SPF) in the Ang^{II} group were significantly higher than those of the control group ($P < 0.01$). With the increase in rosiglitazone concentration and prolongation of treatment time, PI and SPF were greatly reduced ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the Ang^{II} group, expression of AT_2R mRNA and protein in the VSMC with the treatment of 20, 30 and $50\text{ }\mu\text{mol/L}$ rosiglitazone for 12 h or of 30 $\mu\text{mol/L}$ rosiglitazone for 6, 12 and 24 h were both markedly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), reaching a maximum in 50 $\mu\text{mol/L}$ rosiglitazone for 12 h or 30 $\mu\text{mol/L}$ rosiglitazone for 24 h. **Conclusions** Rosiglitazone inhibited VSMC proliferation induced by Ang^{II} at least partially through up-regulating expression of AT_2R both at mRNA and protein levels in a concentration-dependent and time-dependent manner in order to play vasculoprotective role.

[收稿日期] 2010-07-15 [修回日期] 2010-09-07

[基金项目] 国家自然科学基金(34840042)

[作者简介] 任利群, 博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化的发病机制及防治。Email为: rle6345@126.com。李荣娟, 硕士, 主治医师, 研究方向为心血管常见病的发病机制及防治。通讯作者刘乃丰, 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, Email为: liun@seu.edu.cn。

血管平滑肌细胞 (VSMC) 迁入血管内膜, 发生表型转变并大量增殖为泡沫细胞, 对动脉粥样硬化 (As)、PCI 术后再狭窄的形成起着关键性作用。罗格列酮属噻唑烷二酮类药物, 是新型的胰岛素增敏剂之一, 广泛用于 2 型糖尿病的治疗。目前已经证实其通过改善脂质代谢、抑制炎症介质和细胞因子释放, 抑制氧化应激反应等机制发挥心血管保护作用。然而, 罗格列酮对血管紧张素 Ang^{II} 诱导 VSMC 增殖周期的影响及可能的机制尚不十分清楚, 本研究采用 MTT、流式细胞术 (FCM)、逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 和免疫印迹法等检测技术观察不同干预条件下 VSMC 增殖的变化, 测定 Ang^{II} 2 型受体 (AT_2R) mRNA 和蛋白的表达水平, 以探讨过氧化物增殖物激活型受体 γ (PPAR γ) 激动剂罗格列酮抗增殖的作用及其可能的分子机制。

1 材料和方法

1.1 主要试剂和仪器

Ang^{II} 和 MTT (Sigma 公司), 盐酸罗格列酮原粉 (上海三维制药有限公司), 特异性鼠抗平滑肌 α -actin 单克隆抗体和 AT_2R 多克隆抗体 (Santan Cruz Biotechnology 公司), 胎牛血清 (杭州四季青生物工程公司), 高糖 DMEM 培养基 (Gibco 公司), Trizol 试剂盒 (Roche 公司), RT-PCR 试剂盒 (TaKaRa 公司), 细胞总蛋白抽提试剂 (上海申能博彩公司), HRP 标记的二抗 (Pierce Biotechnology 公司), PVDF 膜 (Pall Life Science 公司), ECL 发光剂 (GE 公司)。CO₂ 恒温细胞培养箱 (Series D 23752Q Heraeus), 倒置相差显微镜 (重庆光学仪器厂, 型号 XSZ2D2), 光学倒置显微镜 (Olympus 型号 CK2 日本), JEM 21200EX 型透射电镜 (日本), PCR 仪 (Eppendorf 型号 22331, Germany), DNA/RNA 测定仪 (Pharmacia Biotech 型号 Genequant Ang^{II}), 凝胶成像系统 (Pharmacia Biotech), DU 70 紫外分光光度计 (Beckman), 流式细胞仪 (FACS Cantq BD Biosciences 公司), 酶标仪 (Labsystems)。AT₂R 和 β -actin 引物由上海申能博彩生物工程有限公司合成, 内参照 β -actin 上游引物 5'-CGT TGA CAT CCG TAA AGA CC-3', 下游引物 5'-ATC GTA CTC CTG CTT GCT GA-3', 扩增片段 232 bp; AT₂R 上游引物 5'-GGA CCT GTG ATG TGC AAA GT-3', 下游引物 5'-CAC GGG TAA TTC TGT TCT TC-3', 扩增片段 418 bp。

1.2 实验分组

健康 1 月龄雄性 SD 大鼠, 清洁级, 动物生产合

格证书号 SCXK(沪) 200320003, 由上海斯莱克实验动物责任有限公司提供。细胞实验分组: 对照组 (含 10% FBS 的 DMEM 培养基)、1 $\mu\text{mol/L}$ Ang^{II} 组、20、30、40 及 50 $\mu\text{mol/L}$ 罗格列酮干预组、30 $\mu\text{mol/L}$ 罗格列酮干预 6、12、18 及 24 h 组。

1.3 大鼠血管平滑肌细胞的培养及鉴定

健康 SD 大鼠, 颈椎脱臼致死后迅速分离胸主动脉及动脉中膜, 采用酶消化培养法, 倒置相差显微镜、透射电镜下观察细胞形态及特异性鼠抗平滑肌细胞 α -actin 免疫细胞化学染色证实为 VSMC。选 4~8 代处于对数生长期的鼠 VSMC, 通过细胞计数调整细胞密度后按 4×10^3 cells/孔接种 96 孔板、10% FBS 的 DMEM 培养基、37℃、5% CO₂、饱和湿度条件下静置培养, 待细胞长到次融合状态换成无血清 DMEM 培养基培养 24 h, 再以终浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ Ang^{II} 诱导 6 h 后随机分组, 加入不同的干预因素。

1.4 MTT 和流式细胞术测定血管平滑肌细胞增殖及增殖周期

将上述干预好的 VSMC 吸出培养液, PBS 轻柔漂洗 1 次, 每孔加入 20 μL MTT 溶液 (5 g/mL), 37℃ 继续培养 4 h。小心弃去培养上清液, 每孔加入二甲基亚砜 150 μL , 振荡混匀 10 min, 选择波长 570 nm, 在酶联免疫测定仪上测定吸光值 (A 值), 记录结果。流式细胞术观察 VSMC 增殖周期的变化。取已干预好的 VSMC, 吸出培养液, PBS 轻轻漂洗 2 次, 70% 酒精固定过夜, 以 1000 g 离心 5 min, 收集固定的细胞, PBS 漂洗 2 次并悬浮细胞, 加入 25 μL RNase A, 37℃ 消化 1 h, 过 300 目细胞筛, 然后再加入 50 μL 碘化吡啶 (含 1% Triton), 混匀室温下静置 30 min 上机, 建立获取模式和数据, 得出 DNA 分布直方图。依照 DNA 含量将细胞周期分为 G₀/G₁、S 和 G₂M 期, 用 ModFit 软件进行统计拟合分析。各实验组均设 3 个复孔, 取其平均值。并计算细胞增殖指数 (PI)。

1.5 逆转录聚合酶链反应检测血管平滑肌细胞 AT₂R mRNA

用 Trizol 氯仿-异丙醇法提取干预好的 VSMC 总 RNA, 所有样品的 A_{260/280} 比值介于 1.6~2.0。取 1 μg RNA 样本, 在含有 AMV 逆转录酶反应体系内逆转录成 cDNA, 反应产物立即扩增或分装 -20℃ 冻存。然后进行 cDNA 的 PCR 扩增, PCR 反应体系为 50 μL , 反应条件: 94℃ 预变性 3 min, 94℃ 变性 3 min, 57℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 1 min, 进行 35 个循环扩增。取 PCR 扩增产物 5 μL , 在 2% 琼脂糖凝胶电泳板上电泳 30 min, 用 ImageMaster VDS 扫描分析仪

测定电泳条带的灰度值,根据公式计算目的 DNA 的相对量,目的 DNA 的相对量 = 目的 DNA 条带的灰度值 / β -actin 条带的灰度值。

1.6 免疫印迹法检测血管平滑肌细胞 AT₂R 蛋白

取各实验组干预好的 VSMC 匀浆、裂解蛋白提取上清液,测定蛋白浓度。获取 AT₂R 变性后的总蛋白,通过 SDS-PAGE 电泳分离,将蛋白转移至 PVDF 膜。5% 脱脂奶粉室温摇床上封闭 1 h,加入一抗 4℃ 过夜,用 TBS/T 洗膜 3 次,加入二抗室温孵育 1 h,再加入 ECL 显色液显色,使用 Image Master TotalLab 软件对显示的蛋白条带进行光密度分析,以内参 β -actin 作为对照,靶蛋白条带密度与内参条带密度的比值作为各组靶蛋白的相对表达量。

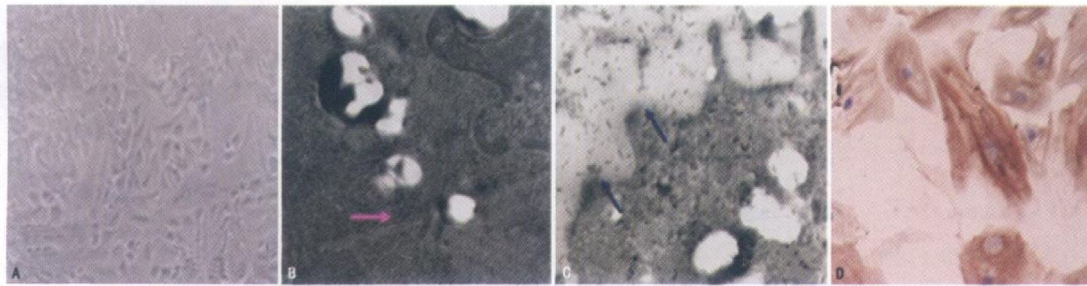


图 1 血管平滑肌细胞的鉴定

2.2 罗格列酮对血管紧张素 Ⅱ 诱导 VSMC 增殖及增殖周期的影响

与对照组相比, Ang Ⅱ 组吸光值、PI 和 S 期细胞分数 (SPF) 明显升高 ($P < 0.01$); 与 Ang Ⅱ 组相比, 30 $\mu\text{mol/L}$ 罗格列酮干预 6、12、18 及 24 h 以及 20、30、40 及 50 $\mu\text{mol/L}$ 罗格列酮干预 12 h 后吸光值、PI 和 SPF 明显降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 50 $\mu\text{mol/L}$ 罗格列酮干预 12 h 与 30 $\mu\text{mol/L}$ 干预 24 h 组吸光值、PI 和 SPF 达最小 (表 1 和 2)。

表 1 不同浓度罗格列酮干预 12 h 后 VSMC 增殖参数的变化 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

分 组	吸光值	PI	SPF
对照组	0.25 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.04	0.08 $\pm$ 0.02
Ang Ⅱ 组	0.51 $\pm$ 0.02 ^a	0.34 $\pm$ 0.03 ^a	0.20 $\pm$ 0.02 ^a
罗格列酮干预组			
20 $\mu\text{mol/L}$	0.48 $\pm$ 0.02 ^{bd}	0.32 $\pm$ 0.03 ^{bd}	0.18 $\pm$ 0.02 ^{bd}
30 $\mu\text{mol/L}$	0.43 $\pm$ 0.02 ^{cd}	0.30 $\pm$ 0.04 ^{cd}	0.16 $\pm$ 0.02 ^{cd}
40 $\mu\text{mol/L}$	0.39 $\pm$ 0.02 ^{cd}	0.28 $\pm$ 0.03 ^{cd}	0.13 $\pm$ 0.02 ^{cd}
50 $\mu\text{mol/L}$	0.32 $\pm$ 0.01 ^{cd}	0.25 $\pm$ 0.03 ^{cd}	0.10 $\pm$ 0.02 ^{cd}

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, c 为 $P < 0.01$, 与 Ang Ⅱ 组比较; d 为 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$, 罗格列酮各浓度组比较。

1.7 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析和 LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠血管平滑肌细胞的鉴定

倒置相差显微镜下可见 VSMC 呈梭形或长梭形,高低起伏呈现“峰谷样”特征 (图 1A)。透射电镜下可观察到平滑肌细胞所特有的胞质内呈条索状的肌丝 (图 1B) 和密斑 (图 1C)。免疫细胞化学染色显示胞质呈棕黄色至黄褐色,肌丝结构清晰可辨,沿细胞纵轴分布,细胞核不着色 (图 1D)。

表 2 罗格列酮干预不同时间后 VSMC 增殖参数的变化 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

分 组	吸光值	PI	SPF
对照组	0.23 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.04	0.09 $\pm$ 0.02
Ang Ⅱ 组			
6 h	0.52 $\pm$ 0.02 ^a	0.38 $\pm$ 0.02 ^a	0.22 $\pm$ 0.01 ^a
12 h	0.56 $\pm$ 0.02 ^{ac}	0.40 $\pm$ 0.02 ^a	0.25 $\pm$ 0.02 ^{ac}
18 h	0.58 $\pm$ 0.02 ^a	0.43 $\pm$ 0.03 ^{ac}	0.27 $\pm$ 0.03 ^{ac}
24 h	0.62 $\pm$ 0.03 ^{ac}	0.45 $\pm$ 0.02 ^a	0.30 $\pm$ 0.02 ^{ac}
罗格列酮干预组			
6 h	0.47 $\pm$ 0.02 ^b	0.34 $\pm$ 0.02 ^b	0.16 $\pm$ 0.02 ^b
12 h	0.44 $\pm$ 0.02 ^{bc}	0.32 $\pm$ 0.03 ^b	0.14 $\pm$ 0.02 ^{bc}
18 h	0.40 $\pm$ 0.02 ^{bc}	0.29 $\pm$ 0.03 ^{bc}	0.13 $\pm$ 0.02 ^b
24 h	0.36 $\pm$ 0.03 ^{bc}	0.26 $\pm$ 0.03 ^{bc}	0.11 $\pm$ 0.02 ^{bc}

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 Ang Ⅱ 组比较; d 为 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$, Ang Ⅱ 组和罗格列酮干预组各时间点间比较。

2.3 罗格列酮对血管紧张素 Ⅱ 诱导大鼠 VSMC AT₂R mRNA 和蛋白表达的影响

与对照组相比, Ang Ⅱ 组 AT₂R mRNA 和蛋白的表达下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 而罗格列酮不同

浓度干预组 AT₂R mRNA 和蛋白表达高于 AngⅡ组 ($P < 0.01$), 呈明显的浓度依赖关系; 30 μmol/L 罗格列酮干预 6、12 及 24 h 后, AT₂R mRNA 和蛋白表

达呈时间依赖性升高 ($P < 0.01$; 图 2 和 3 及表 3 和 4)。

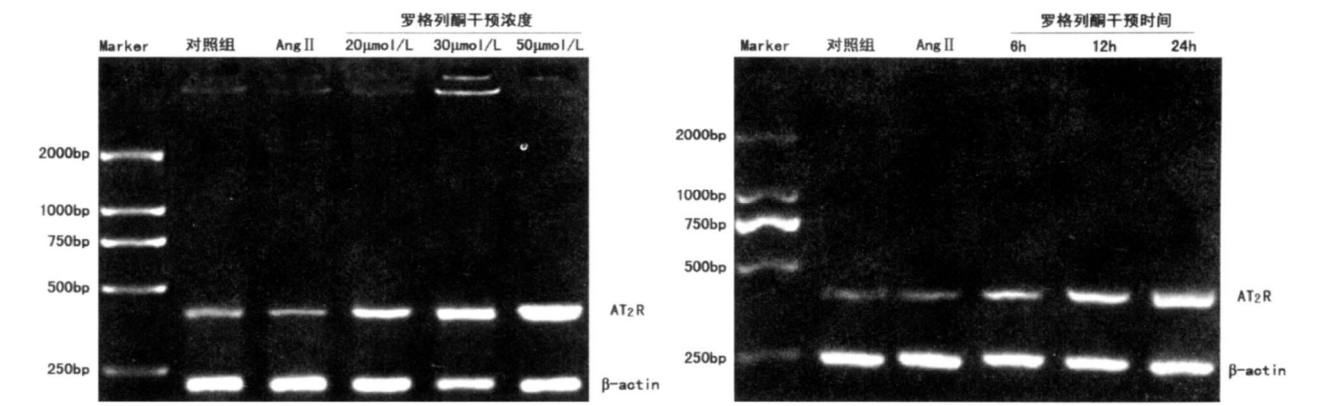


图 2 PCR 检测 AT₂R mRNA 左图为不同浓度罗格列酮干预 12 h 右图为 30 μmol/L 罗格列酮干预不同时间。

表 3 不同浓度罗格列酮干预 12 h AT₂R mRNA 和蛋白的表达 ($\bar{x} \pm s$)

分 组	AT ₂ R mRNA	AT ₂ R 蛋白
对照组	0.19 ± 0.03	0.35 ± 0.05
Ang Ⅱ组	0.15 ± 0.03 ^a	0.23 ± 0.03 ^b
罗格列酮干预组		
20 μmol/L	0.25 ± 0.04 ^c	0.42 ± 0.04 ^c
30 μmol/L	0.28 ± 0.03 ^c	0.50 ± 0.05 ^c
50 μmol/L	0.31 ± 0.04 ^c	0.98 ± 0.10 ^c

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; c 为 $P < 0.01$, 与 AngⅡ组比较。

表 4 30 μmol/L 罗格列酮干预不同时间 AT₂R mRNA 和蛋白的表达 ($\bar{x} \pm s$)

	AT ₂ R mRNA	AT ₂ R 蛋白
对照组	0.20 ± 0.02	0.32 ± 0.04
Ang Ⅱ干预 6 h 组	0.15 ± 0.03 ^a	0.26 ± 0.02 ^a
罗格列酮干预组		
6 h	0.23 ± 0.03 ^b	0.58 ± 0.05 ^b
12 h	0.28 ± 0.03 ^b	0.65 ± 0.06 ^b
24 h	0.40 ± 0.06 ^b	0.92 ± 0.08 ^b

a 为 $P < 0.05$ 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 AngⅡ组比较。

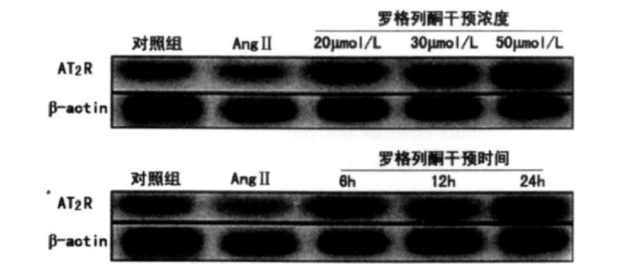


图 3 免疫印迹法检测 AT₂R 上图为不同浓度罗格列酮干预 12 h 下图为 30 μmol/L 罗格列酮干预不同时间。

3 讨论

VSMC 由中膜迁移到内膜下间隙并异常增殖是 As 高血压和血管再狭窄等增生性疾病共同的病理基础之一。在众多刺激 VSMC 增殖的活性物质中, AngⅡ起重要作用。AngⅡ的生物学作用主要是由 AngⅡ1 型受体 (AT₁R) 介导, 作为 AT₁R 的对抗受体 AT₂R, 在病理情况下表达上调, 参与细胞分化、组

织再生和细胞凋亡等过程, 有研究报道 ARB 通过 AT₂R 活化而发挥抗炎、抗 VSMC 增殖和舒张血管的保护作用^[1-3]。研究证实 AT₂R 在 As 斑块内的平滑肌细胞和巨噬细胞中高表达^[4], 发挥抑制病变发展的作用^[5], 是 As 形成的一个调节因子。人类基因研究发现 AT₂R 相关基因缺陷的家族有早发冠心病的倾向^[6]。

近期令医学界期待的 RECORD^[7] 和 BARI 2D^[8] 研究结果证实 PPAR γ 配体激动剂罗格列酮使 HbA1c 低密度脂蛋白胆固醇及血压联合达标率显著升高, 对心血管多重危险因素的有益影响得到了再次验证, 同时心血管发病率和死亡率与对照组相比无统计学差异, 反而有心血管死亡、严重心脏不良事件和脑卒中减少的心脑血管获益趋势, 这将吸引更多的注意力聚焦于 TZD 心血管保护的研究。PPAR γ 配体激动剂通过不同的分子机制发挥血管保护作用。已有研究表明 PPAR γ 配体激动剂可以直接抑制 PDGF、FGF、AngⅡ等因子刺激 VSMC 迁移

和增殖^[9, 10]。细胞外信号调节激酶 (ERK) 和丝裂素活化蛋白激酶 (MAPK) 是 Ang^② 和 PDGF 诱导的血管内皮细胞、平滑肌细胞增殖和迁移的重要信号转导途径。ERK 和 MAPK 使胞质肌球蛋白的轻链激酶 (MLCK) 磷酸化, 从而在基因水平提高基质金属蛋白酶 (MMP) 的表达。MMP 是一种胶原蛋白酶, 分解基质内的胶原结构有利于 VSMC 的迁移。PPAR γ 配体激动剂可通过阻断 ERK 和 MAPK 信号转导途径或激活细胞中 PI3K/Akt 信号, 发挥抗 VSMC 增殖与迁移的作用。此外, 罗格列酮还可通过促进 APC-Axin-GSK3 β 复合物的形成, 降低胞内 β -catenin 水平, 呈浓度和时间依赖地抑制 VSMC 分化增殖, 从而减少泡沫细胞的形成^[11]。本研究中, Ang^② 诱导 VSMC 增殖周期从 G₀/G₁ 期向 S 期、G₂ M 期转化, 刺激 VSMC 增殖, 同时降低 VSMC AT₂R 基因和蛋白表达。然而, 罗格列酮能够在阻止 VSMC 向 S 期、G₂ M 期转化, 显著抑制 VSMC 增殖的同时, 升高 AT₂R 的表达, 因此推测罗格列酮抗增殖的作用至少部分由 AT₂R 的高表达介导, 至于罗格列酮上调 AT₂R 表达的分子机制尚不清楚, 有待进一步研究。

综上所述, PPAR γ 配体激动剂罗格列酮至少部分通过上调 AT₂R 表达, 阻止 VSMC 从 G₀/G₁ 期向 S 期、G₂ M 期转化, 从而抑制 Ang^② 诱导 VSMC 增殖、迁移, 发挥血管保护作用。

[参考文献]

- [1] Cosentino F, Savoia C, De Paolis P, et al. Angiotensin ^② type 2 receptors contribute to vascular responses in spontaneously hypertensive rats treated with angiotensin ^① type 1 receptor antagonists [J]. *Am J Hypertens* 2005 **18** (4): 493-499
- [2] Zhou J, Pavel J, Macova M, et al. AT₁ receptor blockade regulates the local angiotensin ^② system in cerebral microvessels from spontaneously hypertensive rats [J]. *Stroke* 2006 **37** (5): 1271-276
- [3] Seltzer A, Bregonzio C, Amando I, et al. Oral administration of an AT₁ receptor antagonist prevents the central effects of angiotensin ^② in spontaneously hypertensive rats [J]. *Brain Res* 2004 **1028** (1): 9-18
- [4] Zulli A, Burrell LM, Widdop RE, et al. Immunolocalization of ACE2 and AT₂ receptors in rabbit atherosclerotic plaques [J]. *J Histochem Cytochem* 2006 **54** (2): 147-150
- [5] Sales VL, Sukhova GK, Lopez-Illasaca MA, et al. Angiotensin type 2 receptor is expressed in murine atherosclerotic lesions and modulates lesion evolution [J]. *Circulation* 2005 **112** (21): 3328-336
- [6] Alkhalil K, Lawrence RA, Maqbool A, et al. The clinical significance of a common functional X-linked angiotensin ^② type 2-receptor gene polymorphism (-1332 G/A) in a cohort of 509 families with premature coronary artery disease [J]. *Eur Heart J* 2005 **26** (6): 584-589
- [7] Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes Study Group. Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes [J]. *N Engl J Med* 2008 **258** (24): 2545-559
- [8] BARI 2D Study Group. A randomized trial of therapies for type 2 diabetes and coronary artery disease [J]. *N Engl J Med* 2009 **360** (24): 2503-515
- [9] Benkiran K, Amiri F, Diep QN, et al. PPAR- γ inhibits ANG ^②-induced cell growth via SHIP2 and 4E-BP1 [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006 **290** (1): H390-H397
- [10] Kadowaki T, Hara K, Kubota N, et al. The role of PPAR γ in high fat diet-induced obesity and insulin resistance [J]. *J Diabetes Complications* 2002 **16** (1): 41-45
- [11] 王静, 江淼, 王育林, 等. 过氧化体增殖物激活型受体 γ 激动剂罗格列酮对 β -catenin 信号途径的调控研究 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, **15** (7): 563

(此文编辑 文玉珊)