

血管紧张素 II 和氧化型低密度脂蛋白对大鼠血管平滑肌细胞 Smurf2 和 I 型胶原表达的影响

刘怡菲, 刘先哲

(宜昌市第一人民医院麻醉科, 湖北省宜昌市 443002)

[关键词] Smurf2; 血管紧张素 II; 氧化型低密度脂蛋白; I 型胶原

[摘要] 目的 在体外培养的大鼠血管平滑肌细胞(VSMC)中探讨血管紧张素II(Ang II)和氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)对 Smad 泛素调节因子 2 (Smurf2)及I型胶原表达的影响。方法 应用 RT-PCR 检测 Smurf2 mRNA 的表达, Western blot 检测 Smurf2 蛋白的表达, ELISA 检测I型胶原的表达。结果 与对照组相比, Ang II呈浓度依赖性抑制 Smurf2 mRNA 和蛋白的表达($P < 0.05$),促进I型胶原的表达($P < 0.05$); ox-LDL呈浓度依赖性促进 Smurf2 mRNA 和蛋白的表达($P < 0.01$),抑制I型胶原的表达($P < 0.05$)。以 Ang II(10^{-5} mol/L)联合不同浓度 ox-LDL(20, 40 及 80 mg/L)作用大鼠 VSMC 后,与对照组相比,联合组 Smurf2 的表达升高($P < 0.05$),抑制I型胶原的表达($P < 0.05$)。结论 Ang II可能通过抑制 Smurf2 的表达来提高I型胶原的表达; ox-LDL 可能通过提高 Smurf2 的表达抑制I型胶原的表达; ox-LDL 呈浓度依赖性逆转 Ang II对 Smurf2 的抑制作用,同时抑制I型胶原的表达。

[中图分类号] R36

[文献标识码] A

Effects of Angiotensin II and Oxidized Low Density Lipoprotein on Smurf2 and Collagen I Expression in Cultured Rat Vascular Smooth Muscle Cells

LIU Yi -Fei, and LIU Xian -Zhe

(The First People's Hospital of Yichang City, Yichang, Hubei 443002, China)

[KEY WORDS] Smurf2; Oxidized Low Density Lipoprotein; Angiotensin II; Collagen I; Vascular Smooth Muscle Cell

[ABSTRACT] **Aim** To investigate angiotensin II (Ang II) and oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) regulating the expression of Smurf2 and collagen I in cultured rat vascular smooth muscle cells (VSMC). **Methods** The mRNA expression was tested by RT-PCR. The protein expression was examined by Western blot. The protein expression of collagen I was examined by ELISA. **Results** Compared with control group, Ang II decreased Smurf2 expression ($P < 0.05$) and enhanced collagen I expression ($P < 0.05$), ox-LDL enhanced Smurf2 expression ($P < 0.01$) and decreased collagen I expression ($P < 0.05$). Ox-LDL concentration-dependently induced Ang II-decreased Smurf2 expression ($P < 0.05$) and collagen I concentration. **Conclusion** Ang II decreased Smurf2 expression in cultured VSMC.

Ang II may inhibit Smurf2 expression to improve collagen I production. ox-LDL enhanced Smurf2 expression. ox-LDL may improve the expression of Smurf2 to suppress the production of collagen I. ox-LDL concentration-dependently induced Ang II-decreased Smurf2 expression, while decreased collagen I expression.

转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 作为一个作用很强的促细胞纤维化的细胞因子,通过与血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)上受体结合,活化 Smad 信号诱导 ECM 基因表达来增加动脉粥样斑块的稳定

性^[1]。高血压作为动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)发生的重要危险因素之一,与 As 的病理变化不同,两种疾病中 TGF- $\beta 1$ 的表达也恰好相反。在高血压中 TGF- $\beta 1$ 表达升高以纤维化病变为主,而在 As 中 TGF- $\beta 1$ 表达下降主要是粥样病变。高血压

[收稿日期] 2012-02-09

[基金项目] 三峡大学硕士学位论文培优基金资助(2011PY032)

[作者简介] 刘怡菲, 硕士, 临床医师, 主要从事心血管疾病的基础与临床研究。通讯作者刘先哲, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事心血管疾病的基础与临床研究, E-mail 为 yxlyxz@ctgu.edu.cn。

中,肾素-血管紧张素系统被激活,血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ,Ang Ⅱ)作为高血压中主要活性肽,产量增加,其不仅通过调节 TGF- β 1 活化使成熟 TGF- β 1 增多,同时可增强 TGF- β 1 胞内信号转导,使得 ECM 过表达,而导致纤维化病变的形成。Ang Ⅱ同时也参与了 As 的发生发展,那什么原因导致在 As 中 TGF- β 1 表达降低,使得 As 发生不同于高血压的粥样病变? 研究表明 As 同高血压血管病变最主要的区别在于 As 有氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)聚集,ox-LDL 是 As 形成最重要的致病基础,同时也是影响斑块稳定的重要因素。

在 TGF- β 1 信号通路中,Smad 泛素化调节因子 2 (Smad ubiquitin regulatory factor 2, Smurf2)是泛素连接酶 E3 HECT 家族成员。Smurf2 能干扰 TGF- β 细胞内经典的 Smad 信号转导途径的多个重要环节来抑制 TGF- β 信号^[2],从而减弱 TGF- β 对细胞的纤维化作用。因此,本研究选择 ox-LDL 与 Ang Ⅱ对 TGF- β 信号转导过程中泛素连接酶 Smurf2 及细胞外基质中 I 型胶原相关关系进行研究,在体外培养的 VSMC 中探讨不同浓度 ox-LDL 与 Ang Ⅱ对 TGF- β 作用机制的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

大鼠 VSMC A7R5 (中科院上海细胞库);低糖 DMEM 培养基、胎牛血清(美国 Gibco 公司);胰蛋白酶-EDTA(武汉博士德生物工程有限公司);Ang Ⅱ(上海肽仕生物技术有限公司);ox-LDL(上海浙沛生物科技有限公司);兔抗大鼠 Smurf2 抗体(美国 Santa Cruz 公司);辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG(北京中山公司);逆转录试剂盒(大连 TAKARA 公司);GoTaq GreenMaster Mix(美国 Promega 公司);Trizol(上海华舜);Smurf2 引物(上海生工生物工程技术服务有限公司);大鼠 I 型胶原 ELISA 试剂盒(上海蓝基生物科技有限公司)。

1.2 细胞培养

大鼠 VSMC 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液,37℃、5% CO₂ 条件下培养。取对数生长期细胞用于实验。随机分为对照组(不含干预因素的正常培养的细胞)、Ang Ⅱ(10⁻⁵、10⁻⁶及 10⁻⁷ mol/L)3 种浓度分别刺激 24 h;ox-LDL(20、40 及 80 mg/L)3 种浓度分别刺激 24 h,在使用不同浓度 ox-LDL(20、40 及 80 mg/L)的情况下,用 Ang Ⅱ(10⁻⁵ mol/L)共同刺激体外培养的大鼠 VSMC,每组均为 4 瓶细胞。

1.3 半定量 RT-PCR 检测 Smurf2 mRNA 的表达

根据 Trizol RNA 说明书提取细胞总 RNA。根据 GenBank 内的序列,采用 Primer5.0 设计引物,Smurf 2 引物正链:5'-GGG AAC GCC CAA CAA GAC-3',反链 5'-ATT GCG GAT CTC CCA CCC-3',扩增产物片段为 368 bp; β -actin 正链 5'-GCC ATG TAC GTA GCC ATC CA-3',反链 5'-GAA CCG CTC ATT GCC GAT AG-3',扩增产物片段为 375 bp;逆转录条件按说明书操作即可。PCR 扩增条件:94℃预变性 5 min,94℃变性 35 s,56℃复性 35 s,72℃延伸 45 s,扩增 30 次。72℃补充延伸 5 min。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,以 1000 bp DNA 梯度标记上样作为分子量标记;以 UVP 凝胶图像扫描系统测目的基因与 β -actin 吸光度比值,设正常对照组为 1,实验重复 3 次。

1.4 Western blot 检测 Smurf 2 蛋白的表达

用 4℃预冷的 PBS 洗细胞 3 次,加入 300 μ L 含有蛋白酶抑制剂的细胞裂解缓冲液,置于冰上 30 min,收刮细胞,4℃ 12000 r/min 离心 15 min,取上清,BCA 法测蛋白质浓度。各组取 50 μ g 待测蛋白质样本,与蛋白质分子量标准品共同进行 SDS-PAGE 电泳,聚丙烯酰胺的积层胶浓度为 5%,分离胶浓度为 8%,将蛋白质转移至 PVDF 膜上,置 5% 脱脂奶粉封闭缓冲液中 37℃ 60 min,TBS 漂洗后分别加入兔抗大鼠 Smurf2 抗体(1:500),4℃过夜用 TBS 漂洗,充分洗膜后与辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗(1:3000) 37℃ 60 min,然后用 TBS 漂洗,ECL 法显色,X 光胶片曝光显影。实验重复 3 次。

1.5 ELISA 测定细胞培养物上清中 I 型胶原的表达

提取细胞上清液,10000 r/min 离心 10 min 除颗粒和聚合物,将标本放于 -20℃或 -80℃保存,采用 ELISA 测定 I 型胶原浓度,按说明书操作。

1.6 统计学方法

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS13.0 统计软件处理数据,采用单因素方差分析进行多组间分析。

2 结果

2.1 Ang Ⅱ和 ox-LDL 对 VSMC Smurf 2 表达的影响

与对照组相比,Ang Ⅱ呈浓度依赖性抑制 Smurf2 mRNA 和蛋白的表达($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),ox-LDL 呈浓度依赖性促进 Smurf2 mRNA 和蛋白的表达($P < 0.01$)。以 Ang Ⅱ(10⁻⁵ mol/L)联合不同浓度 ox-LDL (20、40 及 80 mg/L)作用大鼠 VSMC 后,与对照组相比,联合组 Smurf2 mRNA 和蛋白的表达升高($P < 0.05$; 图 1-6)。

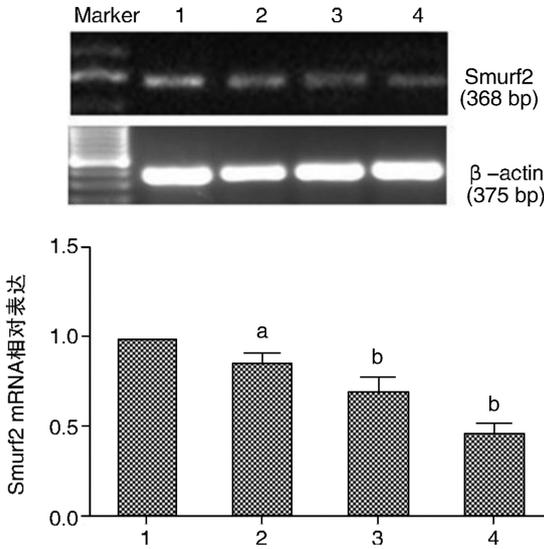


图 1. Ang II 对 VSMC Smurf2 mRNA 表达的影响 ($n=3$)
1 为对照组,2 为 Ang II 10^{-7} mol/L 组,3 为 Ang II 10^{-6} mol/L 组,4 为 Ang II 10^{-5} mol/L。a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组相比。
Figure 1. The effect of Ang II on Smurf2 mRNA expression

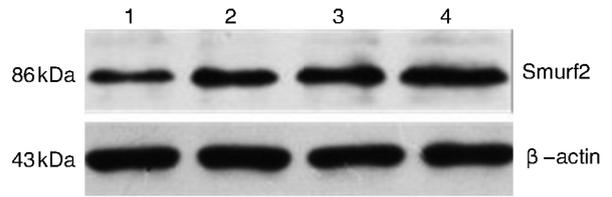


图 4. ox-LDL 对 VSMC Smurf2 蛋白表达的影响 ($n=3$)
1 为对照组,2 为 20 mg/L ox-LDL 组,3 为 40 mg/L ox-LDL 组,4 为 80 mg/L ox-LDL。
Figure 4. The effect of ox-LDL on VSMC Smurf2 protein expression

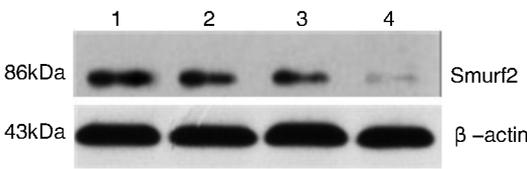


图 2. Ang II 对 VSMC Smurf2 蛋白表达的影响
1 为对照组,2 为 Ang II 10^{-7} mol/L 组,3 为 Ang II 10^{-6} mol/L 组,4 为 Ang II 10^{-5} mol/L。
Figure 2. The effect of Ang II on Smurf2 protein expression

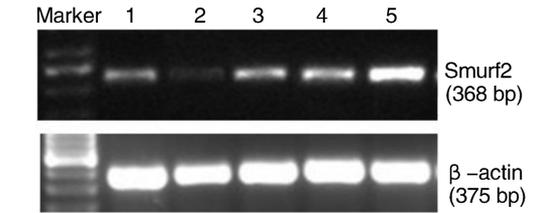


图 5. Ang II 和 ox-LDL 联合对 VSMC Smurf2 mRNA 表达的影响 ($n=3$)
1 为对照组,2 为 10^{-5} mol/L Ang II 组,3 为 10^{-5} mol/L Ang II + 20 mg/L ox-LDL 组,4 为 10^{-5} mol/L Ang II + 40 mg/L ox-LDL 组,5 为 10^{-5} mol/L Ang II + 80 mg/L ox-LDL 组。a 为 $P < 0.05$, 与对照组相比; b 为 $P < 0.05$, 与 10^{-5} mol/L Ang II 组相比。
Figure 5. The effect of Ang II combined with ox-LDL on Smurf2 mRNA expression

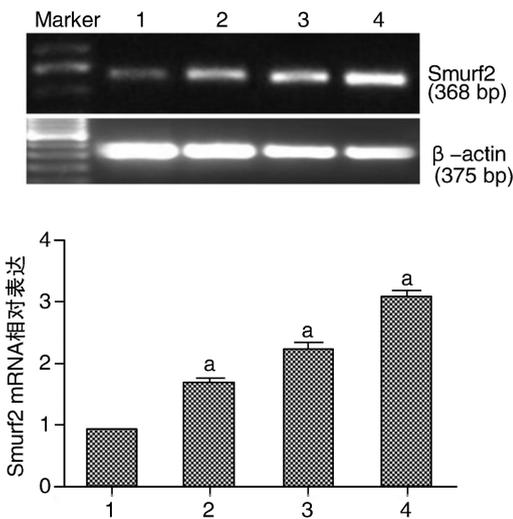


图 3. ox-LDL 对 VSMC Smurf2 mRNA 表达的影响 ($n=3$)
1 为对照组,2 为 20 mg/L ox-LDL 组,3 为 40 mg/L ox-LDL 组,4 为 80 mg/L ox-LDL。a 为 $P < 0.01$, 与对照组相比。
Figure 3. The effect of ox-LDL on VSMC Smurf2 mRNA expression

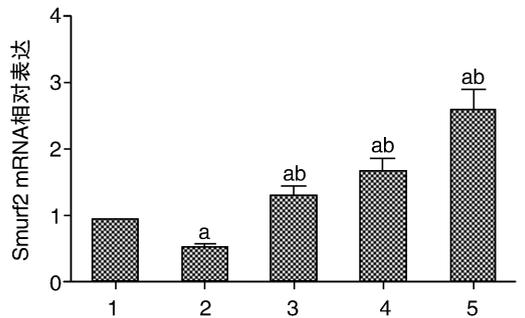


图 6. Ang II 和 ox-LDL 联合对 VSMC Smurf2 蛋白表达的影响 ($n=3$)
1 为对照组,2 为 10^{-5} mol/L Ang II 组,3 为 10^{-5} mol/L Ang II + 20 mg/L ox-LDL 组,4 为 10^{-5} mol/L Ang II + 40 mg/L ox-LDL 组,5 为 10^{-5} mol/L Ang II + 80 mg/L ox-LDL 组。
Figure 6. The effect of Ang II combined with ox-LDL on Smurf2 protein expression

2.2 Ang II 和 ox-LDL 对 VSMC I 型胶原表达的影响

与对照组相比,不同浓度 Ang II (10^{-7} 、 10^{-6} 及 10^{-5} mol/L) 作用下 I 型胶原表达量升高,分别是正常组的 1.1282、2.1417 和 2.6589 倍 ($P < 0.05$; 表 1),不同浓度 ox-LDL (20、40 及 80 mg/L 组) 作用下 I 型胶原分别下降了 3.96%、7.72% 和 31.21% ($P < 0.05$; 表 2)。以 Ang II (10^{-5} mol/L) 联合不同浓度 ox-LDL (20、40 及 80 mg/L) 作用大鼠 VSMC 24 h 后,与对照组相比,联合组 I 型胶原分别下降 2.78%、7.03% 和 12.73%; 与 10^{-5} mol/L Ang II 组相比,联合组 I 型胶原分别下降 61.522%、63.203% 和 65.459% ($P < 0.05$; 表 3)。

表 1. Ang II 对 VSMC I 型胶原浓度的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 1. The effect of Ang II on VSMC collagen I concentration

分 组	I 型胶原浓度 ($\mu\text{g/L}$)
对照组	88.404 \pm 0.998
10^{-7} mol/L Ang II 组	99.744 \pm 16.307 ^a
10^{-6} mol/L Ang II 组	189.332 \pm 43.397 ^a
10^{-5} mol/L Ang II 组	235.056 \pm 76.788 ^a

a 为 $P < 0.05$, 与对照组相比。

表 2. ox-LDL 对 VSMC I 型胶原浓度的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 2. The effect of ox-LDL on VSMC collagen I concentration

分 组	I 型胶原浓度 ($\mu\text{g/L}$)
对照组	92.03 \pm 1.44
20 mg/L ox-LDL 组	88.384 \pm 1.635 ^a
40 mg/L ox-LDL 组	84.929 \pm 1.317 ^a
80 mg/L ox-LDL 组	63.31 \pm 11.738 ^a

a 为 $P < 0.05$, 与对照组相比。

表 3. Ang II 联合 ox-LDL 对 VSMC I 型胶原浓度的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 3. The effect of Ang II combined with ox-LDL on VSMC collagen I concentration

分 组	I 型胶原浓度 ($\mu\text{g/L}$)
对照组	93.03 \pm 1.787
10^{-5} mol/L Ang II 组	235.056 \pm 76.788 ^a
10^{-5} mol/L Ang II + 20 mg/L ox-LDL 组	90.445 \pm 1.697 ^b
10^{-5} mol/L Ang II + 40 mg/L ox-LDL 组	86.494 \pm 0.886 ^{ab}
10^{-5} mol/L Ang II + 80 mg/L ox-LDL 组	81.191 \pm 3.378 ^{ab}

a 为 $P < 0.05$, 与对照组相比; b 为 $P < 0.05$, 与 10^{-5} mol/L Ang II 组相比。

3 讨 论

TGF- β 1 是公认的导致细胞外基质积聚的重要的生长因子,多组实验已证实高血压中 TGF- β 1 表达增高。张海涛等^[3]用 ELISA 检测原发性高血压组和正常健康人组血清中 TGF- β 1 水平发现, TGF- β 1 水平在原发性高血压组明显高于正常对照组。Derhesching 等^[4]发现高血压伴有或不伴有左心室肥厚和微量蛋白尿的患者,其血浆中活化状态的 TGF- β 1 水平较正常血压组显著增高。也有研究发现,在高血压伴胸主动脉缩窄的动物肥厚的左心室心肌中, TGF- β 1、胶原和纤维连接蛋白的 mRNA 表达水平增强。通过进一步研究发现 TGF- β 1 的升高与 Ang II 相关。Lee 等^[5]发现 Ang II 能够通过活化成熟的心肌细胞、成纤维细胞等的 Ang II 1 型受体 (AT1) 使细胞 TGF- β 1 的表达增加,后来的慢性心肌纤维化动物模型证实 Ang II 通过上调 TGF- β 1 的表达引起心肌纤维化^[6],另一方面 TGF- β 1 通过促进心肌成纤维细胞增殖并促使其转换为纤维母细胞,加速细胞外基质蛋白如胶原、纤维结合蛋白和蛋白聚糖的沉积,引起心肌细胞肥大来调节 Ang II 诱导的心室重构^[7]。

由此可见,高血压中 Ang II 促 TGF- β 1 的高表达在血管的纤维化及并发症中起关键作用。Ang II 作为重要的炎症介质同时参与了高血压与 As 的发生发展,在高血压的病理过程中 Ang II 显著增强 TGF- β 1 的转录及活化,导致纤维化病变。而在 As 的病理过程中 TGF- β 1 的转录及活化却相应地被抑制,从而形成粥样病变。是什么原因造成 As 中 TGF- β 1 被抑制? As 中最具特征性的是 ox-LDL 的局部聚集。ox-LDL 能诱导巨噬细胞和血管内皮细胞表达趋化性细胞因子、黏附分子、促炎因子及其它炎症反应中介物^[8]促使炎症反应。最近研究发现其可以通过干扰 TGF- β 1 转录促进 As 的发生。Chen 等^[9]研究发现 ox-LDL 可通过激活其受体植物血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 促进人冠状动脉内皮细胞 TGF- β 1 受体的表达,而使 TGF- β 1 合成减少。ox-LDL 可通过抑制 TGF- β 1 的活化蛋白之一纤溶蛋白酶原的活性抑制 TGF- β 1 的表达与活化。Sakamoto 等^[10]研究发现 ox-LDL 还可通过抑制凝血调节蛋白 1 的活性抑制 TGF- β 1 的活化。

Smurf2 属于 C2-WW-HECT 结构域的 E3 泛素连接酶家族^[11]。Smurf2 能干扰 TGF- β 1 信号转导,阻断 TGF- β 1 胞内信号转导途径的多个重要环节干

扰 TGF- β 1 胞内信号转导途径^[12]。因此本研究以 VSMC 为背景,观察了 TGF- β 1、ox-LDL 和 Ang II 对大鼠 VSMC 内 Smurf2 表达影响。I 型胶原在 TGF- β 1 的后续产物 ECM 中是斑块稳定重要指标^[13],所以本研究选取 I 型胶原做为 TGF- β 1 生物学效应指标,观察 ox-LDL 和 Ang II 影响 Smurf2 的同时对 I 型胶原的影响来探讨 ox-LDL 和 Ang II 影响 TGF- β 1 发挥生物学效应的机制。本研究发现,不同浓度 TGF- β 1 能抑制大鼠 VSMC Smurf2 的表达,同时促进 I 型胶原的表达。不同浓度 Ang II 能抑制大鼠 VSMC Smurf2 的表达,同时促进 I 型胶原的表达;不同浓度的 ox-LDL 促进大鼠 VSMC Smurf2 的表达,同时抑制 I 型胶原的表达。在 Ang II 存在的基础上,ox-LDL 呈浓度依赖性上调大鼠 VSMC Smurf2 的表达,同时下调 I 型胶原的产生。

TGF- β 1 作为 As 中的保护因子,随浓度的升高逐渐促进 I 型胶原的产生,与以往报道相符^[14],并随浓度依赖性抑制 Smurf2 表达。由此推断在平滑肌细胞中 TGF- β 1 提高其信号强度,增加 ECM 的产生,抑制 Smurf2 的表达可能是其作用机制的一种。Ang II 可能通过抑制 Smurf2 的表达促使 TGF- β 1 发挥生物学效应,导致 I 型胶原产生增加,这也可能是 Ang II 促进纤维化病变形成的途径之一。在 As 发生发展过程中,由于 ox-LDL 累积从而影响 TGF- β 1 信号转导而导致不同病变结局的形成。一方面 ox-LDL 不仅能直接促进 Smurf2 表达,而且还可通过拮抗 Ang II 对 Smurf2 的抑制作用促进 Smurf2 的表达,最终抑制 TGF- β 1 的生物学效应,使 TGF- β 1 下游产物 I 型胶原产生减少,增加了 ECM 的不稳定性。因此,尽管 Ang II 也参与了 As 的发生发展,但随着 ox-LDL 的增多,最终导致不同于纤维化病变的粥样病变。

尽管本研究发现 ox-LDL 和 Ang II 与 Smurf2 之间可能存在的关系,但这种相互关系的确定还待进一步研究论证。在 As 中 ox-LDL 和 Ang II 各扮演什么角色,它们对 TGF- β 1 信号传递过程中其他环节有无影响,具体发挥什么作用还需进一步发现与证实。

[参考文献]

[1] Grainger DJ. Transforming growth factor and atherosclerosis: So far, so good for the protective cytokine hypothesis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24 (3): 399-

404.

- [2] Wiesner S, Ogunjimi AA, Wang HR, et al. Autoinhibition of the HECT-type ubiquitin ligase Smurf2 through its C2 domain[J]. *Cell*, 2007, 130 (4): 651-662.
- [3] 张海涛,何浩明. 原发性高血压肾病患者血清 APN、TGF-1 β 1 检测的临床意义[J]. *放射免疫学杂志*, 2009, 22 (6): 632-633.
- [4] Derhesching U, Shehata M, Herkner H, et al. Increased levels of transforming growth factor-beta 1 in essential hypertension[J]. *Am J Hypertens*, 2002, 15 (3): 207-211.
- [5] Lee AA, Dillmann WH, McCulloch AD, et al. Angiotensin II stimulates the autocrine production of transforming growth factor-beta 1 in adult rat cardiac Fibroblasts[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1995, 27 (10): 2 347-357.
- [6] Sun Y, Zhang JQ, Zhang J, et al. Angiotensin II, transforming growth factor-beta1 and repair in the infarcted heart [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1998, 30 (8): 1 559-569.
- [7] Rosenkranz S. TGF-beta 1 and angiotensin networking in cardiac remodeling[J]. *Cardiovasc Res*, 2004, 63 (3): 423-432.
- [8] 程翔,廖玉华. 炎症与动脉粥样硬化[J]. *中华心血管病杂志*, 2004, 32 (5): 475-477.
- [9] Chen HJ, Li DY, Saldeen T, et al. Transforming growth factor- β 1 modulates oxidatively modified LDL-induced expression of adhesion molecules role of LOX-1 [J]. *Circ Res*, 2001, 89 (12): 1 155-160.
- [10] Sakamoto Y, Miyazaki A, Tamagawa H, et al. Specific interaction of oxidized low-density lipoprotein with thrombospondin-1 inhibits transforming growth factor- β from its activation[J]. *Atherosclerosis*, 2005, 183 (1): 85-93.
- [11] Chong PA, Lin H, Wrana JL, et al. Coupling of tandem Smad ubiquitination regulatory factor (Smurf) WW domains modulates target specificity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107 (43): 18 404-409.
- [12] Wiesner S, Ogunjimi AA, Wang HR, et al. Autoinhibition of the HECT-type ubiquitin ligase Smurf2 through its C2 domain[J]. *Cell*, 2007, 130 (4): 651-662.
- [13] 潘琳,周明学,徐浩,等. III型/I型胶原比值在动脉粥样硬化斑块稳定性评价中的意义[J]. *中国体视学与图像分析*, 2009, 14 (4): 386-391.
- [14] Mallat Z, Gojova A, Marchiol-Fournigault C, et al. Inhibition of transforming growth factor-beta signaling accelerates atherosclerosis and induces an unstable plaque phenotype in mice[J]. *Circ Res*, 2001, 89 (10): 930-934.

(此文编辑 文玉珊)