

24-乙酰泽泻醇 A 对 ox-LDL 诱导大鼠 VSMC 表型转化的影响及其与 ERK1/2 通路的关系

周晓茂¹, 魏伟², 陈彤¹, 邓阳阳¹, 薛偕华²

(1. 福建中医药大学康复医学院, 福建省福州市 350003; 2. 福建中医药大学附属康复医院, 福建省福州市 350003)

[关键词] 24-乙酰泽泻醇 A; VSMC; 表型转化; SM22 α ; MMP-9; ERK1/2

[摘要] **目的** 观察 24-乙酰泽泻醇 A(alisol A 24-acetate)对氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导大鼠血管平滑肌细胞(VSMC)表型转化及其表型转化过程中合成基质金属蛋白酶9(MMP-9)能力的影响,并探讨与 ERK1/2 的相关性。**方法** 以酶消化法体外培养大鼠 VSMC,ox-LDL(50 mg/L)进行诱导,24-乙酰泽泻醇 A(10 mg/L)进行干预,免疫细胞化学染色观察 VSMC 收缩表型标记蛋白 SM22 α 的变化;RT-PCR 检测 VSMC MMP-9 mRNA 的表达及 Western blot 检测 VSMC MMP-9 和 ERK、p-ERK 蛋白表达的变化。**结果** 在 ox-LDL 诱导下,VSMC 收缩表型标志蛋白 SM22 α 的表达降低,细胞向合成型转化,促进 MMP-9 的合成,伴随着 ERK1/2 磷酸化水平升高($P < 0.05$);在 24-乙酰泽泻醇 A 的干预下,VSMC 收缩表型标志蛋白 SM22 α 的表达增加,细胞向收缩表型转化,伴随着 MMP-9 及 p-ERK 的表达下降($P < 0.05$)。**结论** 24-乙酰泽泻醇 A 能有效抑制 VSMC 表型转化和 MMP-9 的表达,其机制可能与抑制 ERK1/2 信号通路有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Effect of Alisol A 24-acetate on Phenotypic Modulation and the Correlation with ERK Pathway in ox-LDL-induced Rats Aorta Smooth Muscle Cells

ZHOU Xiao-Mao, WEI Wei, CHEN Tong, DENG Yang-Yang, and XUE Xie-Hua

(Rehabilitation Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350003, China)

[KEY WORDS] Alisol A 24-acetate; VSMC; Phenotypic Modulation; SM22 α ; MMP-9; ERK1/2

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of alisol A 24-acetate on the phenotypic modulation of vascular smooth muscle cells(VSMC) as well as the expression of matrix metalloproteinase-9(MMP-9) in ox-LDL-induced rats vascular smooth muscle cells(VSMC), and their correlation with ERK1/2 pathway. **Methods** VSMC isolated from the thoracic aorta of rats were induced by ox-LDL(50 mg/L) and intervened by alisol A 24-acetate(10 mg/L). Immunocytochemistry was performed to detect the expression of SM22 α protein. RT-PCR was performed to detect MMP-9 mRNA expression and Western blot was applied to detect the expressions of MMP-9, p-ERK and t-ERK. **Results** The contractive phenotypic specificity protein SM22 α in the VSMC induced by ox-LDL was inhibited, VSMCs changed the phenotype from constriction to synthesis, the expression of phosphorylated ERK(p-ERK) and MMP-9 in ox-LDL group were elevated compared with the control group($P < 0.05$). Alisol A 24-acetate partially inversed the effects of ox-LDL on VSMC($P < 0.05$). **Conclusion** Alisol A 24-acetate inhibited the phenotype transformation of VSMC induced by ox-LDL, and the mechanism maybe has correlation with ERK1/2 pathway.

血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)表型转化是动脉粥样硬化、高血压、血管重构和血管再狭窄等心脑血管病的关键性起始步骤,

主要表现为 VSMC 从收缩型转变为合成型,并获得合成和分泌大量细胞外基质的能力^[1-2]以及迁移增殖的能力。因此,研究 VSMC 表型调节的机制,对上

[收稿日期] 2014-10-29

[修回日期] 2015-01-10

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81473744),福建省卫生厅中医药科研项目(WZSY201304),福建省卫生系统中青年骨干人才培养项目(2013-ZQN-20-28)

[作者简介] 周晓茂,硕士研究生,研究方向为脑血管病的基础和康复研究,E-mail 为 1428359694@qq.com。通讯作者薛偕华,博士,副主任医师,研究方向为脑血管病的基础和临床研究,E-mail 为 465356738@qq.com。

述疾病的防治具有重要意义。泽泻为利水渗湿之要药,24-乙酰泽泻醇 A 为泽泻中主要含有的萜类有效成分。实验研究表明,泽泻中三萜类化合物是其利尿、降血脂、抗动脉粥样硬化的主要物质基础^[3-4]。但是,24-乙酰泽泻醇 A 抗动脉粥样硬化是否与 VSMC 表型转化有关及其机制尚未得以阐明。本实验以 24-乙酰泽泻醇 A 干预氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导的 VSMC,观察 VSMC 收缩表型标记蛋白 SM22 α 的表达变化以及表型转化过程中 MMP-9 的合成情况,并探讨相关的机制。

1 材料与方法

1.1 主要材料

DMEM/F-12 培养基(Hyclone 公司);胎牛血清(Hyclone 公司);清洁级 SD 雄性大鼠 4 只,购自福建医科大学实验动物中心(许可证号:SCXK(闽)2012-0001);氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL 1.32 mg/L)(北京协生生物科技公司);RT-PCR 试剂盒、Trizol(Promega 公司);MMP-9 PCR 引物(上海生工生物工程有限公司);ECL 试剂(北京碧云天有限公司);山羊抗兔二抗(碧云天生物技术研究);兔抗大鼠 MMP-9、SM22 α (Abcam 公司),ERK、p-ERK、 β -actin 一抗(CST 公司);U0126(ERK1/2 特异性抑制剂,Sigma 公司);DAB 显色试剂盒(福州迈新生物技术公司);Western blot 电泳设备(Bio-RAD 公司);细胞培养箱(Therom 公司),Leica DMIL LED 倒置显微镜。

1.2 大鼠 VSMC 分离及培养

雄性 SD 大鼠以颈椎脱臼法处死,无菌条件下分离出胸主动脉,刮去内、外膜,将组织剪成 1 mm \times 1 mm 大小的组织块,加入 II 型胶原酶,37 $^{\circ}$ C 消化约 14 h 后,加入含 20% 胎牛血清的 DMEM 培养液,置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 孵箱中培养,生长融合,传代,用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养,每隔 2~3 天换液 1 次,胰酶消化传代。用细胞免疫荧光 α -SMA 特异性染色对细胞进行鉴定。5~12 代细胞用于实验研究。

1.3 细胞干预分组

取上述对数生长期细胞,接种于 6 孔培养板培养 24 h 后,换不含血清的 DMEM 培养 24 h,使细胞生长同步于 G₀ 期。根据不同处理将细胞分为 3 组:(1)空白对照组:不加任何干预剂,24 h 后收集细胞;(2)ox-LDL 组:加 ox-LDL 50 mg/L,24 h 后收集细胞;(3)24-乙酰泽泻醇 A(A 组):24-乙酰泽泻醇 A 10 mg/L(24-乙酰泽泻醇 A 1 mg 溶于 50 μ L DMSO 中,配制成 20 g/L 母液,取母液加入无血清培养基稀释,使其在作

用于血管平滑肌细胞时,DMSO 在整个培养体系中浓度为 0.5%,小于 1%,故 DMSO 对血管平滑肌细胞的影响可忽略不计)预孵育 1 h,然后加 ox-LDL 50 mg/L 刺激,24 h 后收集细胞。每组实验重复 3 次。

1.4 免疫细胞化学法观察 SM22 α 的表达

取对数生长期细胞,接种于 12 孔培养板(内含无菌盖玻片)培养 24 h 后,换不含血清的 DMEM 培养 24 h,使细胞生长同步于 G₀ 期。根据不同处理将细胞分为 4 组:(1)空白对照组、(2)ox-LDL 组、(3)24-乙酰泽泻醇 A 组、(4)阴性对照组。1-3 组干预同上,阴性对照组干预同空白对照组,培养 VSMC 24 h 后,SP 法对 VSMC 进行 SM22 α 免疫细胞化学染色,严格按照试剂盒说明书操作方法进行:4% 多聚甲醛固定-PBS 漂洗-山羊血清封闭-SM22 α 单抗(1:900)-PBS 漂洗-生物素标记的羊抗小鼠/兔 IgG 聚合物-链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶,显色显微镜下观察,以胞质出现浅黄色至深棕黄色染色,且排除背景非特异性染色为阳性表达,适时终止反应,封片。阴性对照以磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗。实验均重复 3 次,每例玻片 400 倍显微镜下随机取 5 个视野拍照,用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件进行分析。

1.5 RT-PCR 检测 MMP-9 mRNA 的表达

用 Trizol 试剂(Gibco 公司)提取总 RNA,取 1 μ g 各组细胞总 RNA 逆转录合成 cDNA,再各取 2 μ L 逆转录产物分别进行 PCR。MMP-9 的引物序列为:上游 5'-CAA GGA CGG TCG GTA TTG GAA G-3',下游 5'-AAA CGA GTA ACG CTC TGG GGA T-3',扩增片段长度为 348 bp。内参照 GAPDH 引物序列为:上游 5'-ACG GCA AGT TCA ACG GCA CAG-3',下游 5'-GAA GAC GCC AGT AGA CTC CAC GAC-3',扩增片段长度为 149 bp。扩增条件:95 $^{\circ}$ C 变性 30 s;58 $^{\circ}$ C 退火 30 s;72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s;30 个循环,然后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。取 3 μ L 产物在 1.5% 琼脂糖凝胶中,100 V 电泳 18 min,紫外灯下拍照,对电泳带进行吸光度扫描,以目的基因与 GAPDH 灰度值之比表示相应基因 mRNA 的相对表达量。

1.6 Western blot 检测 MMP-9、p-ERK 和 ERK 蛋白的表达

细胞按上述处理 24 h 后,提取总蛋白:细胞经胰酶消化后吹打离心,转入 1.5 mL EP 管以 RIPA 裂解液冰上裂解 30 min,超声破碎 3 次,12 kr/min 离心 15 min 后,取上清分装于 -80 $^{\circ}$ C 保存。BCA 法测蛋白浓度,与 6 \times loading buffer 按 5:1 体积比混匀,煮沸变性 10 min,取 50 μ g 总蛋白以 10% 聚丙

烯酰胺凝胶电泳,电转蛋白质至 PVDF 膜,室温下 5% BSA 封闭 2 h 后,分别加入兔抗 MMP-9(1:1 000 稀释)、t-ERK(1:1 000 稀释)、p-ERK(1:2 000 稀释)、鼠抗 β -actin(1:1 000 稀释)一抗,4℃ 孵育过夜。TBST 洗膜 3 次后加入相应的 HRP 标记二抗(1:5 000)室温孵育 1~2 h,TBST 洗膜 3 次,ECL 试剂反应于凝胶成像系统上显影。用 Image-Lab 图像分析软件分析条带灰度值。以目的蛋白与 β -actin 条带灰度值之比表示相应蛋白表达水平;p-ERK 与 ERK 条带灰度值之比表示 ERK 磷酸化水平。

1.7 统计学方法

实验均重复 3 次。采用 SPSS 18.0 软件分析数据,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组均数比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠 VSMC 培养与鉴定

倒置相差显微镜下单个平滑肌细胞呈梭形或不规则三角形,有多个细胞突起,胞质丰富,密度高,核圆形居中。生长融合后呈典型“峰谷征”; α -SMA 免疫荧光染色阳性,胞浆内肌丝沿长轴分布,鉴定为平滑肌细胞(图 1)。

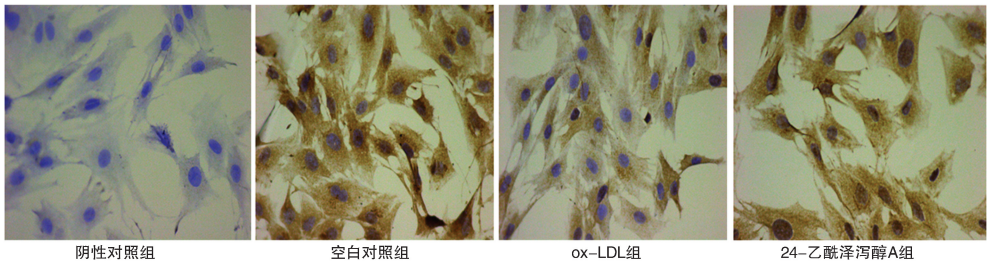


图 2. VSMC SM22 α 蛋白表达 a 为 $P < 0.01$,与空白对照组比较;b 为 $P < 0.01$,与 ox-LDL 组比较。

Figure 2. The expression of SM22 α protein in VSMC

2.3 24-乙酰泽泻醇 A 对 VSMC MMP-9 表达的影响

MMP-9 mRNA 和蛋白在空白对照组均有一定的基础表达;ox-LDL 诱导 24 h 后,MMP-9 mRNA 和蛋白表达均出现明显的上升,与空白对照组相比差异有统计学意义($P < 0.01$);使用 24-乙酰泽泻醇 A 干预后,与 ox-LDL 组比较,MMP-9 mRNA 和蛋白表达明显降低($P < 0.01$;图 3)。

2.4 24-乙酰泽泻醇 A 对 VSMC ERK 磷酸化水平的影响

与空白对照组相比,ox-LDL 诱导下 VSMC 的 p-ERK 水平显著升高($P < 0.01$)。予 24-乙酰泽泻醇

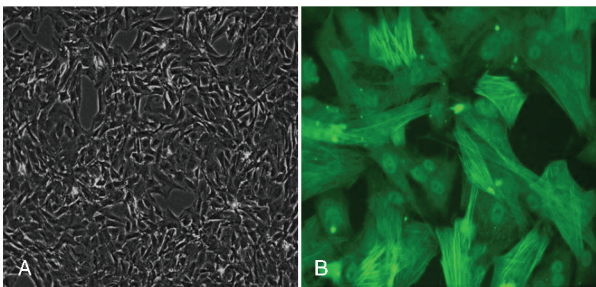
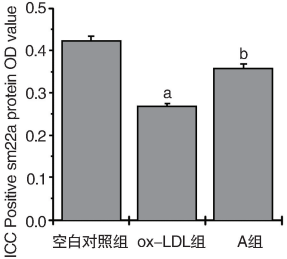


图 1. 原代大鼠 VSMC 细胞形态学与免疫荧光鉴定 A 为普通光镜下细胞融合后呈“峰谷征”(×100);B 为经细胞免疫荧光染色鉴定, α -SMA 表达阳性(×400)。

Figure 1. Identification of primary cultured rat VSMC

2.2 24-乙酰泽泻醇 A 对 VSMC SM22 α 表达的影响

阴性对照组中可见蓝染的细胞核,胞质未见浅黄色至深棕黄色染色;而其他各组细胞胞质均可见浅黄色至深棕黄色染色的 SM22 α 蛋白阳性表达。ox-LDL 诱导组平均光密度值较空白对照组小,说明 SM22 α 蛋白表达水平较空白对照组下降($P < 0.01$);24-乙酰泽泻醇 A 干预 ox-LDL 诱导的 VSMC 后平均光密度值又有所上升,表明 24-乙酰泽泻醇 A 干预 ox-LDL 诱导的 VSMC 后 SM22 α 蛋白表达水平又升高($P < 0.01$;图 2)。



A 预孵育 1 h 后,ox-LDL 诱导的 p-ERK 过表达可部分抑制($P < 0.01$;图 4)。

3 讨论

VSMC 是血管壁中膜的主要构成成分,血管内膜中仅存在少量 VSMC,正常的 VSMC 呈非增殖性的收缩表型,通过其收缩和舒张,改变血管内径,维持血管壁张力,控制血压;在多种病理因素的作用下如炎症细胞和氧化型脂质如 ox-LDL,VSMC 由收缩型转化为合成型^[1],合成型 VSMC 可合成和分泌大量细胞因子、细胞外基质(ECM)和基质金属

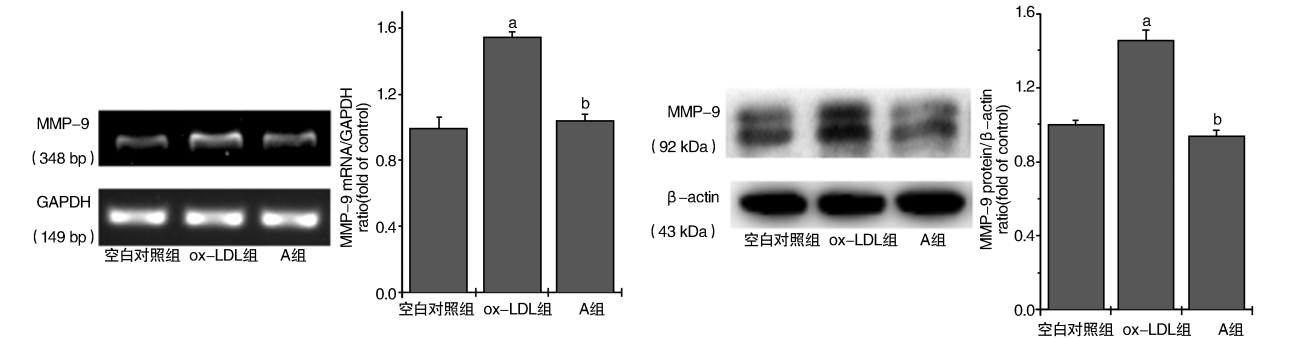


图 3. VSMC MMP-9 mRNA 及蛋白表达 A 为 VSMC MMP-9 mRNA 相对含量表达;B 为 VSMC MMP-9 蛋白相对含量表达。a 为 $P < 0.01$,与空白对照组比较,b 为 $P < 0.01$,与 ox-LDL 组比较。

Figure 3. The mRNA and protein expressions of MMP-9 in VSMC

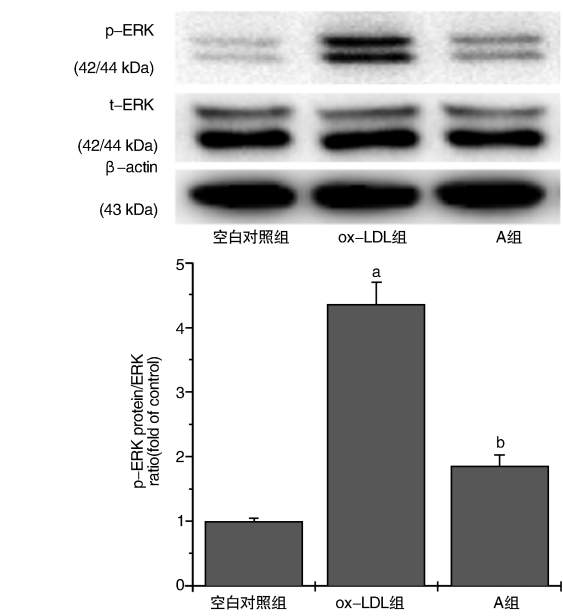


图 4. VSMC 中 p-ERK 的表达水平 a 为 $P < 0.01$,与空白对照组比较;b 为 $P < 0.01$,与 ox-LDL 组比较。

Figure 4. The phosphorylation level of ERK in VSMC

蛋白酶(MMP)^[5],这在动脉硬化、高血压、血管损伤修复和 PCI 术后再狭窄的病理生理过程中起重要作用。VSMC 的表型转化是细胞增殖和迁移的关键性步骤^[6]。24-乙酰泽泻醇 A 是从泽泻脂溶性部分分离的三萜类化合物中是作用最强的降血脂有效成分^[7]。秦建国等研究发现泽泻萜类化合物对 apoE-基因敲除高脂饲料喂养所致动脉粥样硬化小鼠具有降低血清总胆固醇、低密度脂蛋白的作用^[8]。因此 24-乙酰泽泻醇 A 在降脂、抗动脉粥样硬化方面具有一定的物质基础,但是其是否能作用于 VSMC 表型转化来实现尚未见研究报道。本实验体外培养 VSMC,利用 ox-LDL 诱导 VSMC 表型转化,由收缩型转化为合成表型^[9],模拟在体动脉粥样硬化

VSMC 表型转化的过程,采用 24-乙酰泽泻醇 A 进行干预,阐明 24-乙酰泽泻醇 A 抑制 VSMC 表型转化以及抑制 VSMC 表型转化后减少 MMP-9 表达水平及可能相关的信号通路。

SM22 α 是近年发现的一种 VSMC 分化型标志蛋白,在分化型 VSMC 中大量表达,该蛋白通过与细胞骨架的肌动蛋白相结合,参与细胞骨架结构和收缩调节。研究发现,在动脉粥样硬化发生过程中 SM22 α 可通过调节 VSMC 表型和增殖活性而影响动脉硬化的发生与发展^[10]。Wamhof 等^[11]进一步发现鼠动脉粥样硬化损伤部位的 VSMC 中 SM22 α 基因表达下调。可见,SM22 α 在 VSMC 表型转化和血管重塑性疾病发生发展中的作用日益成为人们关注的焦点。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)是一个蛋白酶家族,由巨噬细胞、VSMC 等细胞产生,可广泛降解 ECM,影响 VSMC 的迁移、增殖等能力。其中 MMP-9 是 MMP 家族的重要成员,在 VSMC 迁移至血管内膜、新生内膜的形成、血管的重构及不稳定性斑块破裂中发挥重要的促进作用^[12]。有研究表明^[13] SM22 α 能调节 MMP-9 的表达。沉默 SM22 α 基因表达可增强 MMP-9 的合成;SM22 α 缺陷小鼠子宫的 MMP-9 的表达活性显著高于野生型小鼠。由此可见 SM22 α 与 MMP-9 在 VSMC 表型转化中有着重要的关系。本实验通过免疫细胞化学法检测了收缩表型标志蛋白 SM22 α 的表达,发现 ox-LDL 使收缩表型蛋白 SM22 α 表达明显下降,表明 ox-LDL 刺激 VSMC 由收缩型转化为合成型细胞,通过 RT-PCR 和 Western blot 检测发现 ox-LDL 诱导 VSMC 可以大量表达 MMP-9,提示 ox-LDL 诱导 VSMC 由收缩型转化为合成型 VSMC,该合成型 VSMC 具有分泌大量的 MMP-9 的功能,这与国外文献结果相符^[13-15];24-乙酰泽泻醇 A 干预 ox-

LDL 诱导 VSMC,收缩表型标记蛋白 SM22 α 表达明显增加,而 MMP-9 表达受到明显的抑制,提示 24-乙酰泽泻醇 A 能够有效抑制 ox-LDL 诱导 VSMC 的表型转化,使其具有分泌功能的合成型细胞向收缩表型转化,相应地导致分泌 MMP-9 的功能得以抑制。在空白组体外培养的 VSMC 中有一定基础的 MMP-9 表达,24-乙酰泽泻醇 A 干预后细胞中 MMP-9 表达水平恢复至空白对照组水平,可能与体外培养 VSMC 的传代培养代数影响其表型和增殖活性有关^[16]。

多项研究证实,细胞外信号调节蛋白激酶(extracellular regulated kinases, ERK1/2)作为丝裂原活化蛋白激酶家系(mitogen activated protein kinases, MAPK)的家族成员之一,在动脉粥样硬化进程中 VSMC 表型转化、迁移和增殖中发挥着重要的作用^[17-18]。有研究认为 SM22 α 可通过 ERK 信号通路抑制 MMP-9 的表达,其机制是通过 ERK1/2 信号通路抑制 c-FOS 与 AP-1 位点的结合活性而抑制 MMP9 基因表达^[13,19]。本实验发现,ox-LDL 诱导 VSMC 的 p-ERK1/2 表达较空白对照组明显升高,24-乙酰泽泻醇 A 干预后,p-ERK1/2 表达受到抑制,提示 24-乙酰泽泻醇 A 可能通过抑制 ERK1/2 的磷酸化,降低 ERK1/2 信号通路的活性,对 VSMC 的表型转化及其分泌 MMP-9 功能产生影响。

因此,我们推测 24-乙酰泽泻醇 A 可以抑制 ox-LDL 诱导的 VSMC 的表型转化及 MMP-9 表达,其机制可能通过调节 ERK1/2 信号活性来实现的。

[参考文献]

[1] Pidkovka NA, Cherepanova OA, Yoshida T, et al. Oxidized phospholipids induce phenotypic switching of vascular smooth muscle cells in vivo and in vitro[J]. Circ Res, 2007, 101(8): 792-801.

[2] Faries PL, Rohan DI, Wyers MC, et al. Vascular smooth muscle cells derived from atherosclerotic human arteries exhibit greater adhesion, migration, and proliferation than venous cells[J]. J Surg Res, 2002, 104(1): 22-28.

[3] 吴水生. 泽泻的药学与临床研究[M]. 北京:中国中医药出版社, 2009: 161.

[4] 吴水生, 郭改革, 施红, 等. 泽泻提取物 Alisol Monoacetate A 和 B 对 HepG2 细胞胆固醇代谢的影响[J]. 中华中医药杂志, 2007, 22(7): 475.

[5] Faries PL, Rohan DI, Wyers MC, et al. Vascular smooth muscle cells derived from atherosclerotic human arteries exhibit greater ad-

hesion, migration, and proliferation than venous cells[J]. J Surg Res, 2002, 104(1): 22-28.

[6] 周叶萍, 舒茂琴. Geminin 在血管平滑肌细胞分化表型转化中的介导作用[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(17): 1816-819.

[7] 黄珍, 刘咏松. 泽泻汤降血脂药理作用及物质基础研究进展[J]. 山西中医学院学报, 2008, 9(5): 55-56.

[8] 秦建国, 王亚红, 梁晋普. 泽泻萜类化合物对 ApoE 基因敲除动脉粥样硬化小鼠肝脏基底膜 HSPG 的调节作用[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(4): 696-698.

[9] Guizhong Zhang, 1Wenqian Zhang, Yunwei Lou, et al. TIPE2 deficiency accelerates neointima formation by downregulating smooth muscle cell differentiation[J]. Cell Cycle, 2013, 12(3): 501-510.

[10] Feil S, Hofmann F, Feil R. SM22a modulates Vascular smooth muscle cell phenotype during atherogenesis[J]. Circ Res, 2004, 94(7): 863-865.

[11] Wamhof BR, Hofnagle MH, Bums A, et al. A G/C element mediates repression of the SM22a promoter within phenotypically modulated smooth muscle cells in experimental atherosclerosis[J]. Circ Res, 2004, 95(10): 981-988.

[12] 李科, 刘俊明. 基质金属蛋白酶-2、-9 与冠心病关系的研究进展[J]. 中国介入心脏病学杂志, 2011, 19(2): 108-111.

[13] Nair RR, Solway J, Boyd DD. Expression cloning identifies transgelin(SM22) as a novel repressor of 92-kDa type IV collagenase(MMP-9) expression[J]. J Biol Chem, 2006, 281(36): 26 424-436.

[14] 马振峰, 崔乃鹏, 史建红, 等. 乳腺癌组织中平滑肌 22 α 的表达与淋巴结转移的关系[J]. 中华医学杂志, 2010, 90(36): 2 545-548.

[15] 史建红, 崔乃鹏, 石少慧, 等. 平滑肌 22a 在胃癌组织中的表达[J]. 肿瘤防治研究, 2013, 40(10): 969-971.

[16] Soyoung Chang, Seungjeong Song, Jungsul Lee, et al. Phenotypic modulation of primary vascular smooth muscle cells by short-term culture on micropatterned substrate[J]. PLOS One, 2014, 9(2): e88 089.

[17] 陈宗建, 张延斌. 缬沙坦对血管平滑肌细胞增殖、迁移及 p-ERK1/2、p-P38 表达的影响[J]. 重庆医学, 2014, 43(7): 830-833.

[18] 刘媛, 黄茂, 李涛, 等. sunitinib 对人气道平滑肌细胞增殖、迁移和 ERK 磷酸化的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2011, 31(6): 803-808.

[19] Dong LH, wen JK, Liu G, et al. Blockade of the Ras-extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway is involved in smooth muscle 22 alpha-mediated suppression of vascular smooth muscle cell proliferation and neointima hyperplasia[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(4): 683-691.

(此文编辑 李小玲)