[文章编号] 1007-3949(2015)23-04-0347-05 ·实验研究·

硝苯地平和氢氯噻嗪对机械牵拉力诱导的小鼠血管平滑肌细胞 ERK1/2 磷酸化和 Ki67 表达的影响

汪 泓[1]，王晶晶[1]，郭映纯[1,2]，刘树迎[1]，平苏宁[1]，刘科峰[1]，周玉环[1]，裴 婷[1]，李朝红[1]
（中山大学中山医学院 1. 组织胚胎学教研室，2. 2011 级临床医学，广东省广州市 510080）

[关键词] 硝苯地平； 氢氯噻嗪； 机械牵拉力； ERK1/2； Ki67

[摘 要] **目的** 探讨钙离子阻滞剂硝苯地平和利尿剂氢氯噻嗪对机械牵拉力刺激诱导的血管平滑肌细胞（VSMC）ERK1/2 磷酸化和 Ki67 表达的影响。**方法** 体外培养静息状态下的 VSMC，在分别给予硝苯地平和氢氯噻嗪预处理后给予机械牵拉力刺激。用免疫印迹法检测细胞内 ERK1/2 磷酸化水平；对细胞进行免疫荧光染色，检测 Ki67 表达水平。**结果** 与阴性对照组相比，硝苯地平或氢氯噻嗪对静息培养的 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化和 Ki67 的表达无影响；单纯机械力牵拉刺激，可引起静息培养的 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化和 Ki67 的表达明显增加；硝苯地平可呈浓度依赖性抑制机械力牵拉引起的 ERK1/2 磷酸化和 Ki67 表达的增加；而氢氯噻嗪与硝苯地平作用相反，可进一步协同增加机械力牵拉引起的上述作用。**结论** 硝苯地平和氢氯噻嗪对机械牵拉力引起的 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化和 Ki67 表达增加的作用完全相反，前者可抑制机械牵拉力引起的 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化和 Ki67 的表达增加，后者相反，呈协同增加。

[中图分类号] Q4 [文献标识码] A

Effects of Nifedipine and Hydrochlorothiazide on ERK1/2 Phosphorylation and Ki67 Activation of Mouse Vascular Smooth Muscle Cells Induced by Mechanical Stretch Stress

WANG Hong[1], WANG Jing-Jing[1], GUO Ying-Chun[1,2], LIU Shu-Ying[1], PING Su-Ning[1], LIU Ke-Feng[1], ZHOU Yu-Huan[1], PEI Ting[1], and LI Chao-Hong[1]
(1. *Department of Histology and Embryology*, 2. 2011 *Grade Clinical Medicine*, *Zhongshan School of Medicine*, *Sun Yat-sen University*, *Guangzhou*, *Guangdong* 510080, *China*)

[**KEY WORDS**] Nifedipine; Hydrochlorothiazide; Mechanical Stretch Stress; ERK1/2; Ki67

[**ABSTRACT**] **Aim** To investigate the effects of calcium blocker nifedipine and diuretic hydrochlorothiazide on mechanical stretch stress mediated phosphorylation of ERK1/2 (p-ERK1/2) and expression of Ki67 in vascular smooth muscle cells (VSMC). **Methods** Cultured quiescent VSMC were pretreated with nifedipine and hydrochlorothiazide respectively and subjected to treatment with mechanical stretch stress. Level of p-ERK1/2 in the treated cells was detected by Western blot and meanwhile Ki67 expression was detected by immunofluorescent staining. **Results** Compared with the negative control group, nifedipine or hydrochlorothiazide had no effects on p-ERK1/2 and Ki67 expression in quiescent VSMC, while mechanical stretch stress stimulation significantly increased levels of p-ERK1/2 and Ki67 expression, which was inhibited by nifedipine in a concentration-dependent manner, and synergistically enhanced by hydrochlorothiazide. **Conclusions** Hydrochlorothiazide synergistically promotes increased p-ERK1/2 and Ki67 expression in VSMC induced by mechanical stretch stress, which can be inhibited by nifedipine in a concentration-dependent manner. These results provide novel mechanisms for traditional antihypertensive drugs.

[收稿日期] 2014-12-30 [修回日期] 2015-02-07
[基金项目] 国家自然科学基金资助(30871023、81070124)；广东省自然科学基金资助(S2012010009199)；高等学校博士学科点专项科研基金资助(20090171110049)

[作者简介] 汪泓，硕士研究生，研究方向为血管重构分子机制与防治，E-mail 为 whwhah@163.com。王晶晶，博士研究生，研究方向为血管重构分子机制与防治。通讯作者李朝红，教授，博士研究生导师，研究方向为心血管重构分子机制与防治，E-mail 为 lichaoh@mail.sysu.edu.cn。

高血压发病率高,治愈率低,主要是对其机制不十分清楚所致[1]。尽管血压升高可由遗传和环境因素单独或共同作用引起,然而,一旦血压升高,因血压升高产生的机械力将成为引起血管结构与功能变化(血管重塑)的主要因素[2]。机械力可非特异性激活血管细胞膜所有跨膜蛋白,继而启动细胞内多条信号通路,再激活血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)内丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)中ERK1/2,导致细胞增殖、迁移增加等[3]。资料显示,高血压患者能从降压治疗中获益,并降低心血管事件的发生率[4]。抗高血压药主要分为四大类:利尿剂、钙通道阻断剂、受体阻滞剂和血管紧张素转换酶抑制剂。目前普遍认为这些药物抗血压引起血管重构的机制主要是通过降低血压引起,是一种间接作用。那么,这些药物能否直接抑制因血压升高引起的生物机械力对管壁细胞的作用?目前无相关文献报道。对此问题的回答将有助于阐明抗高血压机制,为临床抗高血压药物的作用提供新的注解。Ki67是一种与细胞增殖相关的核抗原,是有效评估肿瘤细胞增殖活性的重要标志物[5]。本研究选用了临床治疗高血压常用治疗药物硝苯地平(钙通道阻断剂)和氢氯噻嗪(利尿剂),分别观察它们对体外机械牵拉力作用下引起的VSMC ERK1/2磷酸化和Ki67表达增加的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

硝苯地平、氢氯噻嗪、DMSO、DAPI(Sigma-aldrich公司);DMEM培养基(Life公司);胰蛋白酶(广州斯佳生物科技有限公司);胎牛血清(天津灏洋生物科技有限公司);鼠抗p-ERK(Cell Signaling Technology公司);鼠抗β-actin、Ki67(Santa Cruz Biotechnology公司);HRP标记的山羊抗鼠二抗、Cy3荧光标记的兔抗山羊IgG二抗(Jackson Immuno Research公司);0.2 μm硝酸纤维素膜(Pall公司);ECL试剂盒(GE Healthcare公司);细胞牵拉仪、牵拉板(Flexcell公司)。硝苯地平(用DMSO溶解,终浓度为10^{-3} mol/L)、氢氯噻嗪(用DMSO溶解,终浓度为0.2 mol/L)储存液,-20℃保存待用。

1.2 细胞培养

依照本实验室建立的常规方法进行[6]。VSMC取自于C57BL/6J小鼠。在体外离断主动脉,采用酶消化法分离培养而获得。细胞培养在含有10%胎牛血清的DMEM培养基中,处于37℃、5% CO_2 湿润的环境条件下。

1.3 细胞处理

细胞培养在含有10%胎牛血清的DMEM培养基中,取2 mL细胞悬液接种于牵拉板的6个硅树脂弹性膜上,每个孔大小为37 mm×15 mm,先前均用0.02%明胶包被。待细胞生长至汇合度为70%~80%,换无血清的DMEM培养基饥饿24 h。

1.4 硝苯地平、氢氯噻嗪在机械牵拉力的作用下对VSMC中ERK1/2磷酸化的影响

实验方法参照我们前期已经报道的文献,并稍作修改[7]。实验分为非牵拉对照组和牵拉组两大组,阴性对照、DMSO(1 mL/L)、硝苯地平(10^{-6} mol/L)、氢氯噻嗪(10^{-5} mol/L)为非牵拉对照组;牵拉组硝苯地平终浓度依次为0、10^{-8}、10^{-7}、10^{-6}、10^{-5}、10^{-4} mol/L,氢氯噻嗪终浓度依次为0、10^{-7}、10^{-6}、10^{-5}、10^{-4}、10^{-3} mol/L。将相应的药品分别加入静息培养的细胞中,作用1 h。牵拉组按照10%牵拉力(stretch stress, SS)作用10 min。收集处理后的细胞,Western blot检测细胞内ERK1/2磷酸化,检测ERK1/2磷酸化过程参照本实验室建立的常规方法[8]。一抗用磷酸化的ERK1/2抗体(1∶1000),经与二抗反应作用后用ECL化学显色试剂盒检测,β-actin抗体(1∶1000)用做内对照。用Image J、Excel及SPSS 13.0等软件对所存图像进行处理、分析。

1.5 硝苯地平、氢氯噻嗪在机械牵拉力的作用下对VSMC中Ki67表达的影响

参照本实验室建立的常规方法[7]。实验分为无机械力牵拉对照组和机械力牵拉组两大组,分别在两大组中加入DMSO(1 mL/L)、硝苯地平(10^{-6} mol/L)或氢氯噻嗪(10^{-5} mol/L)。将相应的药品分别加入静息培养的细胞中,作用1 h后给予机械力牵拉1 h,牵拉幅度为10%。此后再继续无血清培养16 h,弃去培养基,加入预冷的甲醇于-20℃冰箱中固定20 min,5% BSA封闭后加一抗于4℃冰箱过夜。置于暗室中,荧光二抗37℃孵育2 h,加DAPI接着孵育10 min,甘油封片后于荧光显微镜下观察。每次实验随机选取3个以上高倍视野,计数不少于100个VSMC细胞核,使用Image Pro Plus软件分析,计算阳性率。

1.6 统计学方法

每组实验重复3次以上,计量资料以$\bar{x} \pm s$表示,组间比较用单因素方差分析,两两比较用LSD法。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　硝苯地平抑制机械力牵拉诱导的 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化水平增加

与阴性对照组相比，机械力牵拉可明显引起 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化水平增加。硝苯地平单独作用对 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化水平无明显影响，但可呈浓度依懒性抑制机械力牵拉引起的 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化。与单纯机械力牵拉组相比，加入 10^{-6}、10^{-5}及 10^{-4} mol/L 硝苯地平抑制机械力牵拉引起的 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化差异有显著性(图 1)。

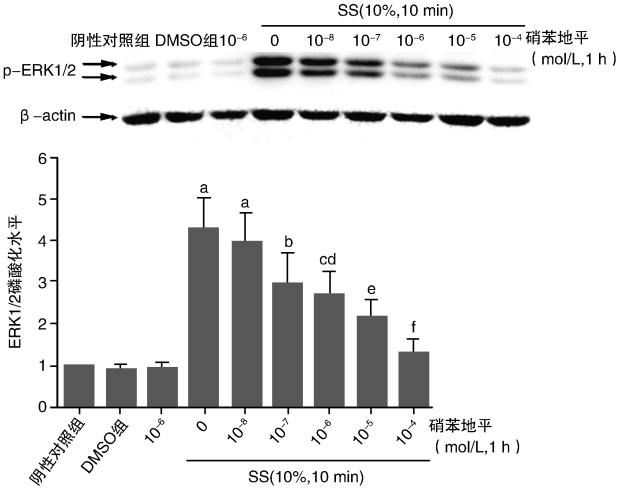

图 1. 硝苯地平在机械力牵拉作用下对 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化的影响　a 为 $P<0.05$，b 为 $P<0.01$，c 为 $P<0.001$，与 DMSO 组比较；d 为 $P<0.05$，e 为 $P<0.01$，f 为 $P<0.001$，与单独机械力牵拉组比较。

Figure 1. Effect of nifedipine on SS induced level of p-ERK1/2 in the VSMC

2.2　氢氯噻嗪促进机械力牵拉诱导的 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化水平增加

与阴性对照组相比，机械力牵拉可明显增加 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化水平。氢氯噻嗪单独作用对 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化水平无明显影响，但可呈浓度依懒性增加机械力牵拉引起的 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化。与单纯机械力牵拉组相比，加入 10^{-5}、10^{-4} 及 10^{-3} mol/L 氢氯噻嗪协同引起的 ERK1/2 磷酸化增加差异有显著性(图 2)。

2.3　硝苯地平、氢氯噻嗪在机械牵拉力作用下对 VSMC 中 Ki67 表达的影响

硝苯地平或氢氯噻嗪单独作用不影响 VSMC 中 Ki67 的表达。机械力牵拉显著增强 VSMC 中 Ki67 的表达，硝苯地平可抑制其作用，而氢氯噻嗪与之相反，协同增强其作用(图 3)。

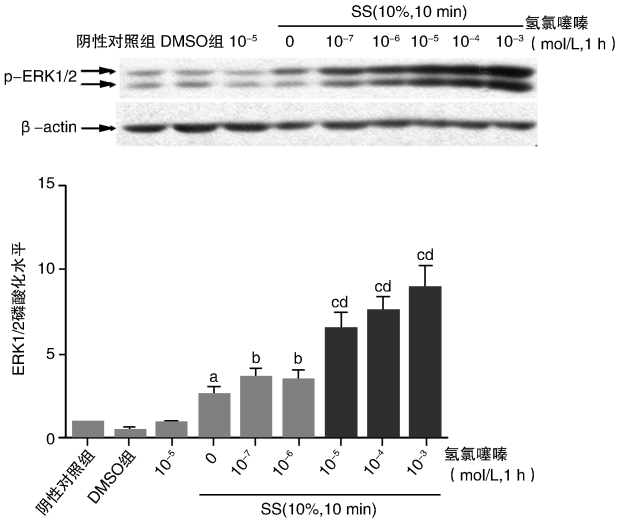

图 2. 氢氯噻嗪在机械力牵拉作用下对 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化的影响　a 为 $P<0.05$，b 为 $P<0.01$，c 为 $P<0.001$，与 DMSO 组比较；d 为 $P<0.001$，与单独机械力牵拉组比较。

Figure 2. Effect of hydrochlorothiazide on SS induced level of p-ERK1/2 in the VSMC

3　讨　论

本研究首次探讨在一线抗高血压药物的作用下，对机械力牵拉诱导的 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化和 Ki67 表达增加的影响。本研究发现，硝苯地平可抑制机械力牵拉引起的 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化和 Ki67 表达增加，而氢氯噻嗪作用相反，呈协同促进作用。提示硝苯地平可直接抑制高血压机械力引起血管重塑作用，而氢氯噻嗪则相反，可能对血压升高产生的机械力对血管的重塑具有协同促进作用。因此，本研究揭示了传统抗高血压药物新的作用机制。因为过去认为抗高血压药物引起血管重构机制主要是通过降压作用产生，本研究发现这些药物还可以影响血压升高产生的机械力对血管细胞的病理生理作用的阻断或促进作用。机械力对细胞可产生非特异性激活作用[9]，导致细胞内 MAPK 包括 ERK1/2、p38 和 JNK 增加。MAPK 信号传导途径调节多种细胞活动包括细胞增殖、分化、迁移、炎症和死亡[10]，其在心脏和血管疾病的发病机制中发挥了重要作用。MAPK 通路级联调控了压力负荷增加所导致的心肌肥大；在血管损伤后新生内膜形成的过程中，ERK1/2 扮演了重要的角色，与动脉粥样硬化关系密切[11-12]。

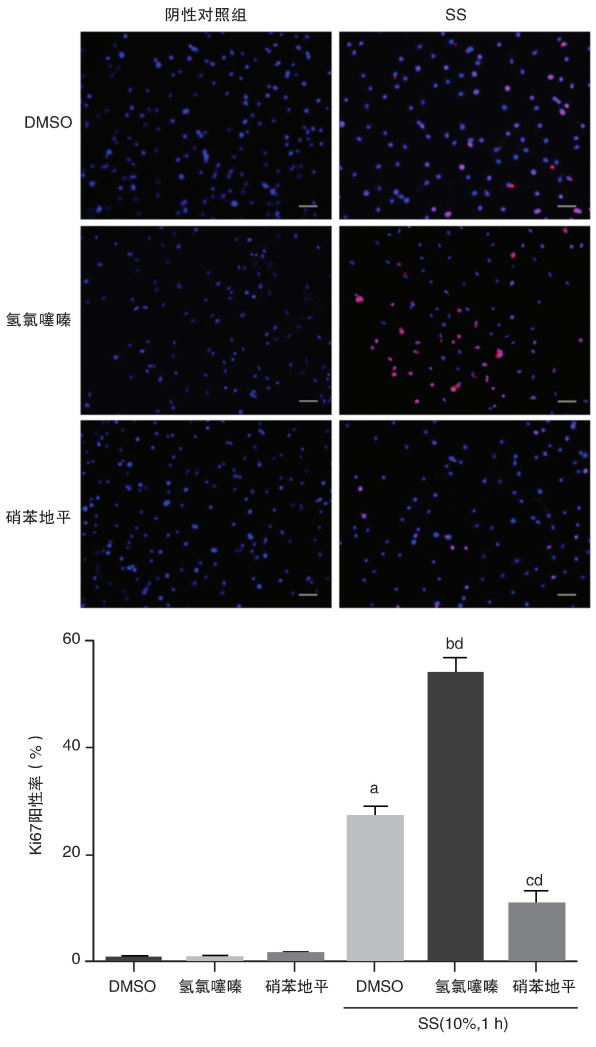

图 3. 硝苯地平、氢氯噻嗪在机械力牵拉作用下对 VSMC 中 Ki67 表达的影响 a 为 $P<0.001$，与非牵拉组中 DMSO 组比较；b 为 $P<0.001$，与非牵拉组中氢氯噻嗪组比较；c 为 $P<0.01$，与非牵拉组中硝苯地平组比较；d 为 $P<0.001$，与单独机械力牵拉组比较。

Figure 3. Effect of hydrochlorothiazide and nifedipine on SS induced Ki67 expression in the VSMC

3.1 硝苯地平抑制机械牵拉力引起的 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化和 Ki67 表达增加

硝苯地平可以经由 MEK-ERK 信号通路耦合 Pyk2 抑制内膜平滑肌细胞增殖，可以防止动脉粥样硬化斑块进展和 PTCA 术后再狭窄[13]。硝苯地平能够显著抑制 H_2O_2 诱导的心肌纤维化模型细胞 ERK1/2、JNK 磷酸化，不依赖 Ca^{2+} 浓度的变化发挥了抗氧化应激引起的纤维化作用[14]。然而，钙离子通道对于细胞内信号通路的传导至关重要。有研究表明，Ca^{2+} 内流为血管内皮生长因子诱导ERK1/2磷酸化的关键步骤[15]。尼索地平可能通过其钙离子拮抗作用有效地抑制 5-HT 诱导的肺动脉平滑肌细胞增殖，ERK1/2 和 JNK 的活化[16]。硝苯地平通过拮抗 L 型钙通道，降低了 ERK1/2 和 JNK 的磷酸化，显著抑制了牙髓细胞的分化[17]。目前，并没有实验证明，在机械牵拉力作用下，拮抗钙离子通道对血管平滑肌的影响。本研究结果显示，硝苯地平可以抑制机械牵拉力引起的 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化和 Ki67 的表达增加，并呈现浓度依赖性。提示在高血压状态下，硝苯地平除了降压作用外，还可直接抑制机械力信号导致血管结构和功能的改变，为临床使用硝苯地平治疗高血压等疾病的新机制提供重要资料。

3.2 氢氯噻嗪上调机械牵拉力引起的 VSMC 中 ERK1/2 磷酸化和 Ki67 的表达增加

多种证据表明，氢氯噻嗪已不再适合作为抗高血压的一线治疗药物[18-19]。传统上认为氢氯噻嗪的主要作用在肾脏，其机制为抑制远端小管前段和近端小管对 NaCl 的重吸收，从而增加远端小管和集合管的 Na^+-K^+ 交换，K^+ 分泌增多。在细胞层面作用的膜受体为 NaCl 转运体（NCC），而 NCC 同样具有调节 Ca^{2+} 稳态的作用。氢氯噻嗪可能通过膜钙离子通道（ECaC）促进了 Ca^{2+} 内流[20]。有研究表明，除了在肾脏外，氢氯噻嗪在肠道中亦通过 NCC 和 ECaC 参与了 Ca^{2+} 的重吸收[21]。而在人和大鼠的成骨细胞 NCC 也表达，虽未与成骨细胞的增殖直接相关，但直接刺激成骨细胞分化和骨矿物形成[22]。据此推断，在血管平滑肌细胞上，也可能存在相同的离子转运体。其在氢氯噻嗪的作用下对离子转运的影响可能被机械力的作用放大，从而促进了机械力上调 p-ERK 的作用。而氢氯噻嗪与硝苯地平对 Ca^{2+} 转运的不同调节，也可能是导致两种药物实验结果相反的原因之一。在近十年的国外文献中并没有氢氯噻嗪作用于 VSMC 增殖相关的报道。仅有国内研究发现，光镜下观察到氢氯噻嗪灌胃的未成年自发性高血压大鼠 VSMC 细胞核排列紊乱，胶原纤维增生明显，内膜不光整[23]，但并未获得体外细胞实验的证实。本研究首次发现氢氯噻嗪可协同促进机械力引起的 VSMC 中 ERK1/2 激活并促进细胞增殖作用，并呈浓度依赖性。提示氢氯噻嗪可能参与加速高血压状态下血管结构与功能的改变。本研究结果需要更多的在体实验加以验证。

包括中国在内，全球有超过 26% 的成年人患有高血压。合理应用经济有效的抗高血压药物是提高高血压治疗率、控制率的关键[24]。作为临床一线抗高血压药物，噻嗪类利尿剂其短期降压效果与利尿作用相关，而长期作用降压机制与血管外周阻力

相关,具体机制不明,可能与直接的血管扩张作用有关,涉及 VSMC 上钙离子通道或钾离子通道等。与其他类别降压药物相比,钙通道阻断剂可更大程度降低中风风险,在短期内减少个体内的血压变化,钙通道阻断剂和非袢利尿药可减少个体收缩压间差异[25],其中具体原因还有待实验深入研究。本研究使用机械牵拉力直接作用于 VSMC,探讨硝苯地平与氢氯噻嗪对其阻断作用,在为以上问题的解释提供了一个可能的方向与思路的同时,从一个全新角度去发现老药的新机制。不仅为临床使用此类抗高血压药物提供了理论依据,同时也给此类药物的药理作用增加新的论点支持。

[参考文献]

[1] Lim SS, Vos T, Flaxman AD, et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010[J]. Lancet, 2012, 380 (9859): 2 224-260.

[2] 李子卿, 李朝红. 代谢综合征与血管重塑研究现状[J]. 中国动脉硬化杂志, 2009, 17 (12): 1 035-037.

[3] Li C, Xu Q. Mechanical stress-initiated signal transduction in vascular smooth muscle cells in vitro and in vivo[J]. Cell Signal, 2007, 19 (5): 881-891.

[4] Thompson AM, Hu T, Eshelbrenner CL, et al. Antihypertensive treatment and secondary prevention of cardiovascular disease events among persons without hypertension: a meta-analysis[J]. JAMA, 2011, 305 (9): 913-922.

[5] Pathmanathan N, Balleine RL. Ki67 and proliferation in breast cancer[J]. J Clin Pathol, 2013, 66 (6): 512-516.

[6] Liu S, Li Y, Zhang Z, et al. alpha1-Adrenergic receptors mediate combined signals initiated by mechanical stretch stress and norepinephrine leading to accelerated mouse vein graft atherosclerosis[J]. J Vasc Surg, 2013, 57 (6): 1 645-656.

[7] Li Y, Liu S, Zhang Z, et al. RAGE mediates accelerated diabetic vein graft atherosclerosis induced by combined mechanical stress and AGEs via synergistic ERK activation[J]. PLoS One, 2012, 7 (4): e35016.

[8] 宁 粉, 汪照静, 张征宇, 等. 氧化型低密度脂蛋白协同机械牵张力促进巨噬细胞 ERK1/2 活化[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18 (12): 925-930.

[9] Hoffman BD, Grashoff C, Schwartz MA. Dynamic molecular processes mediate cellular mechanotransduction[J]. Nature, 2011, 475 (7356): 316-323.

[10] Kim EK, Choi EJ. Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases[J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1802 (4): 396-405.

[11] Muslin AJ. MAPK signalling in cardiovascular health and disease: molecular mechanisms and therapeutic targets[J]. Clin Sci (Lond), 2008, 115 (7): 203-218.

[12] Zhang Z, Zhang M, Li Y, et al. Simvastatin inhibits the additive activation of ERK1/2 and proliferation of rat vascular smooth muscle cells induced by combined mechanical stress and oxLDL through LOX-1 pathway[J]. Cell Signal, 2013, 25 (1): 332-340.

[13] Hirata A, Igarashi M, Yamaguchi H, et al. Nifedipine suppresses neointimal thickening by its inhibitory effect on vascular smooth muscle cell growth via a MEK-ERK pathway coupling with Pyk2[J]. Br J Pharmacol, 2000, 131 (8): 1 521-530.

[14] 贾岩岩, 陈少锐, 徐 剑, 等. 硝苯地平对过氧化氢引起的心肌纤维化的抑制作用及机制[J]. 广东医学, 2013, 34 (9): 1 313-317.

[15] Andrikopoulos P, Baba A, Matsuda T, et al. Ca^{2+} influx through reverse mode Na^{+}/Ca^{2+} exchange is critical for vascular endothelial growth factor-mediated extracellular signal-regulated kinase (ERK)1/2 activation and angiogenic functions of human endothelial cells[J]. J Biol Chem, 2011, 286 (44): 37 919-931.

[16] Chen X, Liu H, Pan Z, et al. The inhibitory effects of m-nisoldipine on the 5-hydroxytryptamine-induced proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells via Ca^{2+} antagonism and antioxidant mechanisms[J]. Eur J Pharmacol, 2012, 686 (1-3): 32-40.

[17] Woo SM, Hwang YC, Lim HS, et al. Effect of nifedipine on the differentiation of human dental pulp cells cultured with mineral trioxide aggregate[J]. J Endod, 2013, 39 (6): 801-805.

[18] Messerli FH, Makani H, Benjo A, et al. Antihypertensive efficacy of hydrochlorothiazide as evaluated by ambulatory blood pressure monitoring: a meta-analysis of randomized trials[J]. J Am Coll Cardiol, 2011, 57 (5): 590-600.

[19] Messerli FH, Bangalore S. Half a century of hydrochlorothiazide: facts, fads, fiction, and follies[J]. Am J Med, 2011, 124 (10): 896-899.

[20] Reilly RF, Ellison DH. Mammalian distal tubule: physiology, pathophysiology, and molecular anatomy[J]. Physiol Rev, 2000, 80 (1): 277-313.

[21] Bazzini C, Vezzoli V, Sironi C, et al. Thiazide-sensitive NaCl-cotransporter in the intestine: possible role of hydrochlorothiazide in the intestinal Ca^{2+} uptake[J]. J Biol Chem, 2005, 280 (20): 19 902-910.

[22] Dvorak MM, De Joussineau C, Carter DH, et al. Thiazide diuretics directly induce osteoblast differentiation and mineralized nodule formation by interacting with a sodium chloride co-transporter in bone[J]. J Am Soc Nephrol, 2007, 18 (9): 2 509-516.

[23] 王 伟, 洪小苏. 降压药物对未成年自发性高血压大鼠血管平滑肌细胞增生与凋亡及相关基因蛋白的影响[J]. 苏州大学学报(医学版), 2004, 24 (4): 493-496.

[24] 李瑞林, 孙会仙, 赵尚清. 抗高血压药的临床合理应用[J]. 中国药房, 2010, 21 (6): 545-548.

[25] Webb AJ, Fischer U, Mehta Z, et al. Effects of antihypertensive-drug class on interindividual variation in blood pressure and risk of stroke: a systematic review and meta-analysis[J]. Lancet, 2010, 375 (9718): 906-915.

(此文编辑 文玉珊)