

[文章编号] 1007-3949(2011)19-12-0995-06

• 实验研究 •

番茄红素上调细胞周期素依赖性激酶 4 和细胞周期素 D1 的表达促进人外周血内皮祖细胞周期进展

蒋恒波¹, 杨红霞¹, 莫 龙²

(1. 湖南永州职业技术学院附属医院内科, 湖南省永州市 425006; 2. 中南大学湘雅医院心内科, 湖南省长沙市 410078)

[关键词] 番茄红素; 内皮祖细胞; 细胞周期; 细胞周期素依赖性激酶 4; 细胞周期素 D1

[摘 要] 目的 探讨番茄红素对人外周血内皮祖细胞活性、周期调控的作用及其分子机制。方法 体外原代培养人外周血内皮祖细胞, 采用噻唑蓝法、流式细胞仪、逆转录聚合酶链反应、实时聚合酶链反应和 Western blot 方法检测番茄红素对内皮祖细胞活性、细胞周期分布的影响及细胞周期相关蛋白细胞周期素依赖性激酶 4 和细胞周期素 D1 的表达情况。结果 噻唑蓝比色实验显示, 不同浓度(0.01、0.1、1 $\mu\text{mol/L}$) 番茄红素能显著增加内皮祖细胞的生长能力, 且呈一定的量效与时效关系; 流式细胞仪分析显示, 番茄红素呈浓度依赖性使内皮祖细胞的 G_0/G_1 期细胞比例减少, S 期细胞比例增多; 逆转录聚合酶链反应、实时聚合酶链反应和 Western blot 分析表明, 番茄红素呈浓度依赖性使内皮祖细胞中细胞周期素依赖性激酶 4 和细胞周期素 D1 表达上调。结论 番茄红素对内皮祖细胞的促进生长作用, 可能与上调细胞周期素依赖性激酶 4、细胞周期素 D1 的表达, 使 G_0/G_1 期细胞比例减少有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effects of Lycopene on Cell Cycle and Expression of Cyclin-dependent Kinase 4 and Cyclin D1 in Endothelial Progenitor Cells of Human Peripheral Blood

JIANG Heng-Bo¹, YANG Hong-Xia¹, and MO Long²

(1. Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Yongzhou Vocational Technical College, Yongzhou, Hunan 425006, China; 2. Department of Cardiology, Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha, Hunan 410078, China)

[KEY WORDS] Lycopene; Endothelial Progenitor Cells; Cell Cycle; Cyclin-dependent Kinase 4; Cyclin D1

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of lycopene in endothelial progenitor cells of human peripheral blood and its underlying molecular mechanism. **Methods** The promotion survival effect of lycopene in different concentrations on endothelial progenitor cells was measured by thiazolyl blue (MTT) assay. Cell cycle was analyzed by flow cytometry. The expression levels of cyclin-dependent kinase 4 (CDK4) and cyclin D1 were detected by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and real-time polymerase chain reaction (real-time PCR) and Western blot. **Results** The MTT assay showed that lycopene promoted survival effect on endothelial progenitor cells in a time and dose-dependent manner. Flow cytometry analysis revealed that G_1 phase of endothelial progenitor cells was decreased after exposed to different concentrations of lycopene. The expression levels of CDK4 and cyclin D1 were increased significantly after treated with lycopene in a dose-dependent manner using RT-PCR, real-time PCR and Western blot. **Conclusion** The promotion survival effect of lycopene in endothelial progenitor cells is related to G_1 phrase reducing through increased expression levels of CDK4 and cyclin D1.

内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPC)是一类能增殖并特异性分化为血管内皮细胞, 但尚未表达成熟血管内皮细胞表型的前体细胞^[1,2]。EPC 在参与人胚胎血管形成、出生后血管新生以及

血管内膜损伤后修复中发挥重要作用^[3]。有研究显示, EPC 可通过修复内皮损伤, 保护内膜完整性, 从而抑制局部粥样斑块和血栓形成^[4]。临床研究表明, 心血管危险因素可明显抑制血液循环 EPC 数

[收稿日期] 2011-09-01

[作者简介] 蒋恒波, 主治医师, 讲师, 研究方向为心血管临床与基础, 联系电话为 13574696288, E-mail 为 jianghengbo@163.com。杨红霞, 硕士研究生, 主治医师, 讲师, 研究方向为心血管临床与基础。通讯作者莫龙, 博士研究生, 副教授, 研究方向为心血管临床与基础, 联系电话为 13755027250

量和功能;而改善体内循环 EPC 数量和质量,对心血管疾病的治 疗有重要意义^[5]。番茄红素是一种重要的类胡萝卜素,分子式为 C₄₀H₅₆,广泛存在于番茄、番木瓜、西瓜、红色葡萄柚等果实中以及萝卜、胡萝卜的根部等处,其中尤以番茄中含量最高^[6]。在血浆中番茄红素主要通过低密度脂蛋白转运,可直接清除活性氧,对抗继发的脂质过氧化,是天然的抗氧化剂^[7-9]。流行病学研究显示,高番茄红素摄入可降低心脑血管疾病的发生率;血浆中低番茄红素的人群有较高脑卒中和急性心肌梗死的危险性;血浆中番茄红素的量与大动脉粥样硬化呈负相关^[10,11]。番茄红素有益于动脉粥样硬化、冠心病等心血管疾病的防治^[12],但其防治的具体机制尚不清楚。因此,通过研究番茄红素是否具有改善 EPC 的量,为阐明番茄红素抗动脉粥样硬化等心血管疾病的形成提供理论基础。本研究以人 EPC 作为研究对象,观察番茄红素对 EPC 生长活性的作用,探讨番茄红素对 EPC 周期调控的影响及其相关分子机制。

1 材料和方法

1.1 细胞系及细胞培养

人外周血 EPC 购于瑞典三生细胞生物科技有限公司。将 EPC 接种于包被有人纤维连接蛋白的 24 孔培养板中,加入含 20% 胎牛血清、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 10 μg/L、胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor, IGF) 12 μg/L、表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 10 μg/L、碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 2 μg/L 的 M199 培养基,37℃、5% CO₂、饱和湿度的二氧化碳培养箱培养。

1.2 药品与试剂

番茄红素为 Sigma 公司产品,番茄红素纯品与四氢呋喃 (tetrahydrofuran, THF) 以 1:2 的比例充分溶解,制备成母液 (10 mmol/L) 储存于 -80℃ 冰箱中,使用时在暗光下稀释至所需浓度。M199 培养基为 Hyclone 公司产品;噻唑蓝 (thiazolyl blue, MTT) 为 Amresco 公司产品;Trizol 为 Invitrogen 公司产品;RT 逆转录试剂盒为 Promega 公司产品;细胞周期素依赖性激酶 4 (cyclin-dependent kinase 4, CDK4)、细胞周期素 D1 (Cyclin D1) 抗体为 Santa Cruz 公司产品,β-actin 抗体为 Sigma 公司产品。

1.3 引物

应用 Primer 5.0 软件设计 CDK4、Cyclin D1 和

β-actin 引物序列,由 Invitrogen 公司合成 (表 1)。

表 1. RT-PCR 引物

Table 1. Primers for RT-PCR and real-time PCR		
引物名称	序列	扩增长度
CDK4	上游 5'-TGATGCGCCAGTTTCTAAGAGG-3'	308 bp
	下游 5'-GGTCGGCTTCAGAGTTTCCACA-3'	
Cyclin D1	上游 5'-TGGTGAACAAGCTCAAGTGGA-3'	256 bp
	下游 5'-ACTCTGGAGAGGAAGCGTGTG-3'	
β-actin	上游 5'-GCACCTGACTGACTACCTC-3'	553 bp
	下游 5'-CATACTCCTGCTTGCTGAT-3'	

1.4 噻唑蓝比色实验

取每孔 1 × 10⁴ 个 EPC 细胞接种于包被有人纤维连接蛋白的 96 孔培养板中,培养 12 h 后,换成无血清的 M199 培养基,加入不同浓度的番茄红素,设立空白对照和 THF 溶媒对照,继续分别培养 12、24、48 h 后,每孔加入 20 μL 5 g/L 的 MTT 溶液,置于 37℃ 恒温细胞培养箱孵育 4 h 后,弃去上清液,每孔加入 200 μL 的二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO),置于平板上摇匀;置酶联免疫仪上测定 A570 nm 吸光度值。

1.5 流式细胞仪检测

不同浓度番茄红素处理 EPC 细胞 24 h 后,收集细胞浓度为 1 × 10¹⁰ 个/L 细胞,加入 500 μL 的 70% 酒精固定,避光孵育 15 min,加 500 μL 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered solution, PBS) 于管中,混匀,2 000 r/min 离心 5 min;弃上清液,将细胞重悬于冰冷 PBS 中;使用碘化丙啶染液染色,上机检测各细胞周期中细胞比例情况。

1.6 逆转录聚合酶链反应检测

按 Invitrogen 公司提供的说明书,提取不同浓度番茄红素处理 EPC 细胞 24 h 后的总 RNA,焦碳酸二乙酯 (diethyl pyrocarbonate, DEPC) 水溶解,取少量 RNA 进行紫外分光光度仪定量分析, -80℃ 保存备用。参照 AMV 逆转录试剂盒说明进行逆转录反应,取 2 μg 总 RNA 在 20 μL 体系中逆转录合成 cDNA。以 CDK4 和 Cyclin D1 引物进行聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增,总循环为 35 个,反应条件为 94℃ 变性 5 min, 94℃ 变性 40 s, 56℃ 退火 35 s, 72℃ 延伸 1 min。β-actin 作为内对照,PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶作 TAE 电泳分离,紫外光凝胶成像系统下观察照相并进行半定量分析。

1.7 实时聚合酶链反应检测

取逆转录产物 cDNA 2 μL, IQTM SYBR Green Supermix 25 μL, 10 μmol/L CDK4 或 Cyclin D1 基因引物各 0.5 μL, 去 RNA 酶水 22.5 μL, 进行 PCR

扩增, 总共 30 个循环, 反应条件为 94℃ 变性 5 min, 94℃ 变性 40 s, 56℃ 退火 35 s, 72℃ 延伸 1 min 循环。每个反应 3 个复孔, 以 β -actin 作为内参。

1.8 Western blot 分析

不同浓度番茄红素处理 EPC 细胞 24 h 后, 消化、离心收集 1×10^{10} 个/L 细胞, 冰冷 PBS 溶液洗涤 2 次, 加入 500 μ L 细胞裂解液, 置于冰上裂解 30 min, 4℃ 12 000 g 离心力离心 20 min, 吸取上清液, 用二喹甲甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 法测定蛋白浓度。每个样本取 20 μ g 蛋白, 沸水煮 5 min 变性; 用分离胶为 10% 的丙烯酰胺凝胶电泳分离后, PVDF 膜转膜; 膜用含 5% 脱脂牛奶封闭 60 min, 加入 1:500 稀释的 Cyclin D1 或 1:2 000 稀释的 CDK4 一抗, 4℃ 轻轻震荡过夜, 经 TBST 洗膜 5 min, 重复洗 3 次, 辣根过氧化物酶标记的二抗 (1:3 000) 室温孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min, ECL 发光剂曝光, 显影。CDK4 和 Cyclin D1 蛋白相对表达量由影像软件 Smart View 分析。

1.9 统计学分析

应用统计学软件 SPSS 12.0 进行统计分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 符合正态分布者均数间的比较采用单因素方差分析, 非正态分布者采用 χ^2 检验,

$P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结 果

2.1 番茄红素对内皮祖细胞生长活性的影响

噻唑蓝法测定结果显示, 番茄红素能显著增加 EPC 的生长活性能力, 且呈一定的量效与时效关系, 当吸光值在 0.01 μ mol/L 浓度时, 处理组开始较 THF 溶媒组明显增加 ($P < 0.05$), 在浓度达 0.1 μ mol/L 时最为显著 ($P < 0.01$); EPC 的生长活性能力在番茄红素刺激后 12 h 后, 开始明显增加, 至 24 h 达到高峰, 48 h 后有下降趋势, 但仍然明显高于对照组 ($P < 0.05$; 表 2)。上述结果表明, 番茄红素促进 EPC 生长活性的最佳浓度为 0.1 μ mol/L, 最佳时间为 24 h。

2.2 番茄红素对内皮祖细胞周期的影响

0.01、0.1、1.0 μ mol/L 番茄红素作用 EPC 24 h 后, G_0/G_1 期百分率分别为 23.4%、17.2%、19.5%, 与 THF 溶媒组的 31.3% 相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$; 图 1、表 3), 说明番茄红素呈浓度依赖性使 EPC 的 G_0/G_1 期细胞比例减少, S 期细胞比例增多, 从而促进细胞活性。

表 2. 番茄红素对 EPC 生长活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2. Effect of lycopene on endothelial progenitor cells

分 组	12 h	24 h	48 h
对照组	0.154 \pm 0.019	0.181 \pm 0.021	0.187 \pm 0.032
THF 溶媒组	0.159 \pm 0.023	0.183 \pm 0.014	0.185 \pm 0.012
0.01 μ mol/L 番茄红素组	0.170 \pm 0.019	0.269 \pm 0.047 ^a	0.273 \pm 0.029 ^a
0.1 μ mol/L 番茄红素组	0.276 \pm 0.053 ^a	0.358 \pm 0.038 ^{ab}	0.321 \pm 0.021 ^a
1.0 μ mol/L 番茄红素组	0.273 \pm 0.049 ^a	0.304 \pm 0.033 ^a	0.276 \pm 0.014 ^a

a 为 $P < 0.05$, 与 THF 溶媒组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 24 h 1.0 μ mol/L 番茄红素组比较。

表 3. 番茄红素对 EPC 细胞周期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3. Effect of lycopene induced cell cycle arrest in endothelial progenitor cells

分 组	G_0/G_1	S	G_2
对照组	32.7% \pm 0.2%	66.2% \pm 0.1%	1.7% \pm 0.5%
THF 溶媒组	31.3% \pm 0.5%	67.3% \pm 0.7%	1.5% \pm 0.2%
0.01 μ mol/L 番茄红素组	23.4% \pm 0.4% ^a	76.3% \pm 0.7% ^a	2.3% \pm 0.5%
0.1 μ mol/L 番茄红素组	17.2% \pm 0.3% ^a	82.6% \pm 0.9% ^a	1.4% \pm 0.7%
1.0 μ mol/L 番茄红素组	19.5% \pm 0.9% ^a	79.3% \pm 0.6% ^a	2.0% \pm 0.4%

a 为 $P < 0.05$, 与 THF 溶媒组比较。

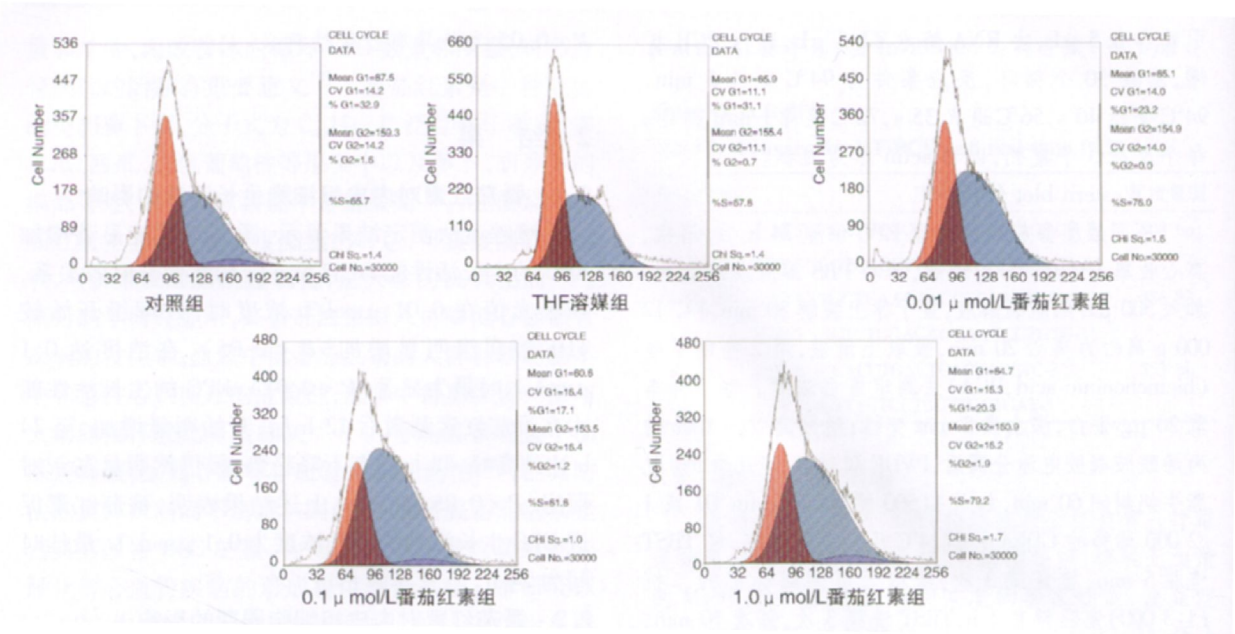


图1. 番茄红素对 EPC 细胞周期的影响

Figure 1. Effect of lycopene induced cell cycle arrest in endothelial progenitor cells

2.3 番茄红素对内皮祖细胞中细胞周期素依赖性激酶 4 和细胞周期素 D1 mRNA 表达的影响

THF 溶媒组中 CDK4 和 Cyclin D1 的 mRNA 表达水平较弱,0.01、0.1、1.0 μmol/L 番茄红素处理

EPC 24 h 后,CDK4 和 Cyclin D1 的 mRNA 表达水平随着浓度的增加而逐渐增强;当浓度至 0.1 μmol/L 时,CDK4 和 Cyclin D1 的 mRNA 表达量最明显,差异有显著性意义($P < 0.05$;图 2-5)。

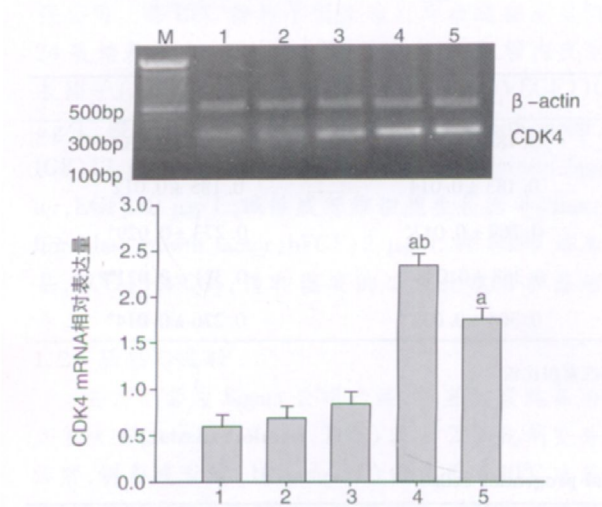


图2. RT-PCR 检测番茄红素对 EPC 中 CDK4 基因 mRNA 表达的影响 M 为 DNA 分子量标准,1 为对照组,2 为 THF 溶媒组,3 为 0.01 μmol/L 番茄红素组,4 为 0.1 μmol/L 番茄红素组,5 为 1.0 μmol/L 番茄红素组。a 为 $P < 0.05$,与 THF 溶媒组比较;b 为 $P < 0.05$,与 1.0 μmol/L 番茄红素组比较。

Figure 2. Effect of lycopene on mRNA expression of CDK4 in endothelial progenitor cells by RT-PCR

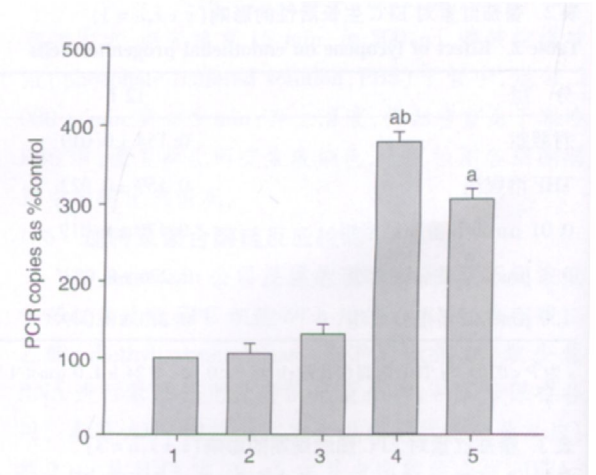


图3. real-time PCR 检测番茄红素对 EPC 中 CDK4 基因 mRNA 表达的影响 1 为对照组,2 为 THF 溶媒组,3 为 0.01 μmol/L 番茄红素组,4 为 0.1 μmol/L 番茄红素组,5 为 1.0 μmol/L 番茄红素组。a 为 $P < 0.05$,与 THF 溶媒组比较;b 为 $P < 0.05$,与 1.0 μmol/L 番茄红素组比较。

Figure 3. Effect of lycopene on mRNA expression of CDK4 in endothelial progenitor cells by real-time PCR

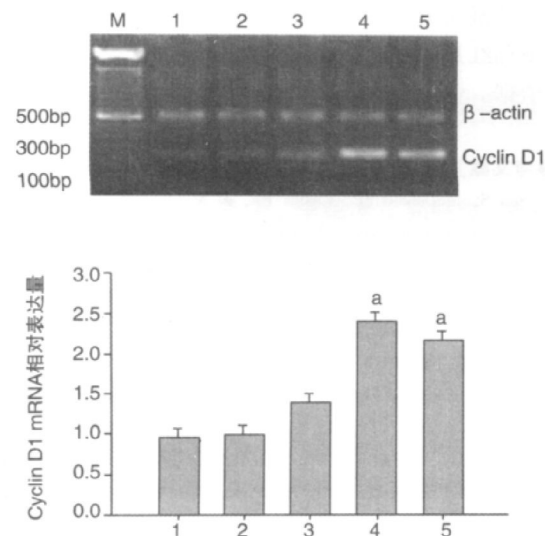


图 4. RT-PCR 检测番茄红素对 EPC 中 Cyclin D1 基因 mRNA 表达的影响 M 为 DNA 分子量标准,1 为对照组,2 为 THF 溶媒组,3 为 0.01 $\mu\text{mol/L}$ 番茄红素组,4 为 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 番茄红素组,5 为 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 番茄红素组。a 为 $P < 0.05$,与 THF 溶媒组比较。

Figure 4. Effect of lycopene on mRNA expression of Cyclin D1 in endothelial progenitor cells by RT-PCR

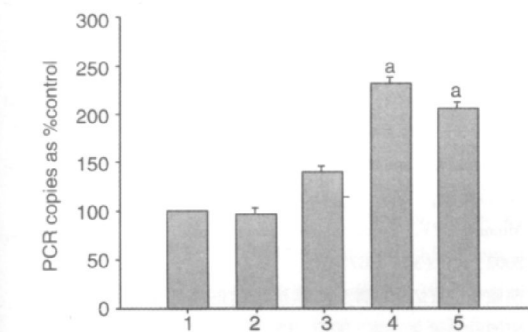


图 5. real-time PCR 检测番茄红素对 EPC 中 Cyclin D1 基因 mRNA 表达的影响 1 为对照组,2 为 THF 溶媒组,3 为 0.01 $\mu\text{mol/L}$ 番茄红素组,4 为 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 番茄红素组,5 为 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 番茄红素组。a 为 $P < 0.05$,与 THF 溶媒组比较。

Figure 5. Effect of lycopene on mRNA expression of Cyclin D1 in endothelial progenitor cells by real-time PCR

2.4 番茄红素对内皮祖细胞中细胞周期素依赖性激酶 4 和细胞周期素 D1 蛋白表达的影响

与 THF 溶媒组相比较,Cyclin D1 和 CDK4 蛋白在各浓度番茄红素处理组中逐渐上升,其中番茄红素浓度为 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 时,Cyclin D1 和 CDK4 的表达与 THF 溶媒组比较最明显,差异具有统计学意义($P < 0.05$;图 6)。

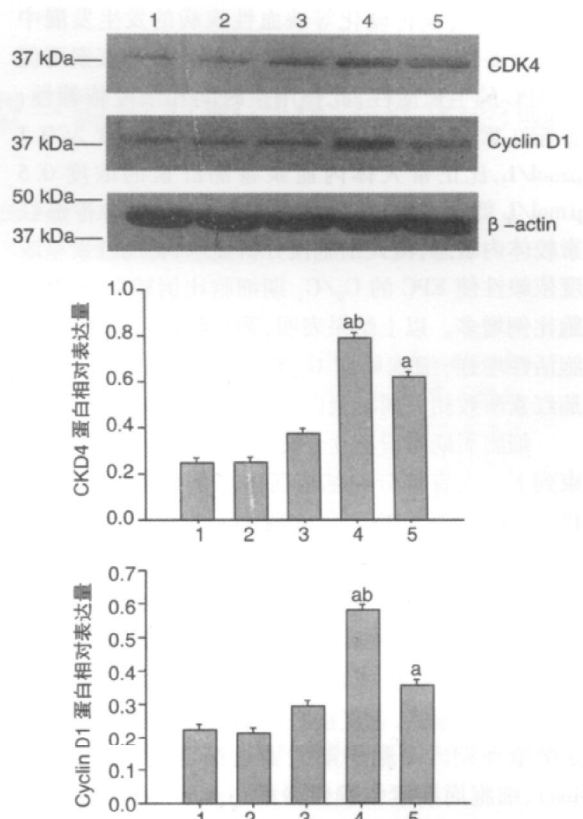


图 6. 番茄红素对 EPC 中 CDK4 和 Cyclin D1 蛋白表达的影响

1 为对照组,2 为 THF 溶媒组,3 为 0.01 $\mu\text{mol/L}$ 番茄红素组,4 为 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 番茄红素组,5 为 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 番茄红素组。a 为 $P < 0.05$,与 THF 溶媒组比较;b 为 $P < 0.05$,与 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 番茄红素组比较。

Figure 6. Effect of lycopene on protein expression of CDK4 and Cyclin D1 in endothelial progenitor cells

3 讨论

番茄红素是一种具有多种生理活性的脂溶性化合物,大量流行病学研究证实,番茄红素具有预防心血管疾病、延缓动脉粥样硬化、抗氧化性、清除自由基、调控肿瘤增殖、抗衰老等生理功能^[13]。近来研究显示,番茄红素能显著降低血浆总胆固醇、低密度脂蛋白的含量,改善脂质代谢,减少低密度脂蛋白胆固醇对内膜的直接损伤,提高内皮细胞的活性,同时,也可通过减少动脉组织内甘油三酯的沉积,保护血管内皮功能,而延缓动脉粥样硬化^[14,15]。在一般饮食情况下,人体内血浆中番茄红素的浓度为 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 。在心血管系统中,EPC 的数量和功能是参与血管损伤修复、维持血管功能完整的重要因素。有研究表明,EPC 的增殖能力减慢和血管形成能力

受损,在动脉粥样硬化等缺血性疾病的发生发展中起着重要作用^[16]。本研究结果显示,番茄红素可促进 EPC 的生长活性,此作用呈时间和浓度依赖性;番茄红素促进 EPC 生长活性的最佳浓度为 0.1 $\mu\text{mol/L}$,比正常人体内血浆番茄红素的浓度 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 低,可能是因为体外培养的 EPC 对番茄红素较体内敏感;流式细胞仪分析显示,番茄红素呈浓度依赖性使 EPC 的 G_0/G_1 期细胞比例减少,S 期细胞比例增多。以上结果表明,番茄红素可使 EPC 细胞活性增强,细胞周期 G_0/G_1 期缩短,这可能与番茄红素所致相关周期蛋白分子表达改变有关。

细胞周期是指连续分裂细胞从一次有丝分裂结束到下一次有丝分裂结束所经历的时间和顺序变化,分为 G_1 期(DNA 合成前期)、S 期(DNA 复制期)、 G_2 期(DNA 合成后期)和 M 期(有丝分裂期)4 个连续时期。细胞周期在 3 个主要调控点(G_1/S 、 G_2/M 和有丝分裂中后期)的调节下,激活或失活各种调控因子,依次完成细胞分裂的过程;其中以 G_1/S 点最为重要,它直接决定细胞是否能够进入细胞增殖周期。细胞周期主要由细胞周期素(Cyclins)、细胞周期素依赖性激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)和细胞周期素依赖性激酶抑制物(CDK inhibitor, CDKI)三类分子进行精密的调节,其中 CDK 处于调控中心,Cyclins 起正调控作用,CDKI 发挥负调控作用^[17]。Cyclin D1 和 CDK4 是调控细胞 G_1 期的关键因子,Cyclin D1-CDK4-pRb 信号通路在 G_1/S 期中起着“闸门”的作用;在正常情况下, G_1 期 Cyclin D1 与 CDK4/CDK6 结合,形成 Cyclin D1/CDK4/CDK6 复合物,使视网膜母细胞瘤蛋白(Rb)发生磷酸化,与转录因子 E2F 分离,从而释放出 E2F,使 E2F 发挥转录活性,促进下游基因的转录,使细胞进入 S 期^[18]。当 Cyclin D1 和 CDK4 被激活并持续高表达时,可使细胞周期 G_0/G_1 期缩短,提前进入 S 期,促使细胞生长活性^[19]。本研究 RT-PCR 和 Western blot 检测结果表明,0.01、0.1、1.0 $\mu\text{mol/L}$ 番茄红素处理 EPC 24 h 后,EPC 中 Cyclin D1、CDK4 的表达量随着番茄红素浓度增加而增加,使 G_0/G_1 期细胞比例减少,S 期细胞比例增多,促进细胞生长活性。

综上所述,番茄红素可促进 EPC 细胞生长活性,其分子机制可能与番茄红素激活 EPC 中 Cyclin D1 和 CDK4 的表达,使 G_1 期细胞比例减少,S 期细胞比例增多有关;但调节 EPC 细胞周期进展是多环节、多通路相互联系的复杂调控过程,番茄红素作用 EPC 的确切分子机制仍有待进一步研究,这将为利

用番茄红素防治动脉粥样硬化等心血管疾病提供理论依据。

[参考文献]

- [1] Sen S, McDonald SP, Coates PT, et al. Endothelial progenitor cells: novel biomarker and promising cell therapy for cardiovascular disease [J]. Clin Sci (Lond), 2011, 120 (7): 263-283.
- [2] 周晓峰, 王 佐. 内皮祖细胞在动脉粥样硬化进程中的作用 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, 15 (12): 940-942.
- [3] Napoli C, Hayashi T, Cacciatore F, et al. Endothelial progenitor cells as therapeutic agents in the microcirculation: an update [J]. Atherosclerosis, 2011, 215 (1): 9-22.
- [4] Matsuura K, Hagiwara N. The pleiotropic effects of ARB in vascular endothelial progenitor cells [J]. Curr Vasc Pharmacol, 2011, 9 (2): 153-157.
- [5] Foresta C, De Toni L, Ferlin A, et al. Clinical implication of endothelial progenitor cells [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2010, 10 (1): 89-105.
- [6] Waliszewski KN, Blasco G. Nutraceutical properties of lycopene [J]. Salud Publica Mex, 2010, 52 (3): 254-265.
- [7] Erdman JW Jr, Ford NA, Lindshield BL. Are the health attributes of lycopene related to its antioxidant function? [J]. Arch Biochem Biophys, 2009, 483 (2): 229-235.
- [8] Riccioni G, Mancini B, Di Ilio E, et al. Protective effect of lycopene in cardiovascular disease [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2008, 12 (3): 183-190.
- [9] Rao AV. Lycopene, tomatoes, and the prevention of coronary heart disease [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2002, 227 (10): 908-913.
- [10] Riccioni G. Carotenoids and cardiovascular disease [J]. Curr Atheroscler Rep, 2009, 11 (6): 434-439.
- [11] Minorsky PV. Lycopene and human health [J]. Plant Physiol, 2002, 130 (3): 1 077-078.
- [12] 胡敏子, 黄忆明. 番茄红素抗动脉粥样硬化的研究进展 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, 15 (6): 479-480.
- [13] Rao AV, Ray MR, Rao LG. Lycopene [J]. Adv Food Nutr Res, 2006, 51 (3): 99-164.
- [14] 邓祖跃. 番茄红素对实验性高甘油三酯血症大鼠血脂、血凝及纤溶的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2006, 14 (7): 590-592.
- [15] Mordente A, Guantario B, Meucci E, et al. Lycopene and cardiovascular diseases: an update [J]. Curr Med Chem, 2011, 18 (8): 1 146-163.
- [16] Hamed S, Roguin A. Endothelial progenitor cells and atherosclerosis [J]. Harefuah, 2006, 145 (5): 358-361.
- [17] de Carcer G, de Castro IP, Malumbres M. Targeting cell cycle kinases for cancer therapy [J]. Curr Med Chem, 2007, 14 (9): 969-985.
- [18] Blain SW. Switching cyclin D-Cdk4 kinase activity on and off [J]. Cell Cycle, 2008, 7 (7): 892-898.
- [19] Butt AJ, Caldon CE, McNeil CM. Cell cycle machinery: links with genesis and treatment of breast cancer [J]. Adv Exp Med Biol, 2008, 630 (1): 189-205.

(此文编辑 曾学清)