

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

陈宗建, 张延斌

(江苏省昆山市第二人民医院, 江苏昆山 215300)

摘要:目的 观察缬沙坦(Val)对血管紧张素 II (Ang II)刺激下大鼠胸主动脉血管平滑肌细胞(VSMCs)的增殖与迁移及对 p-ERK1/2、p-P38 表达的影响。方法 组织贴块法培养 VSMCs, 取 3~5 代细胞进行实验。采用 MTT 法检测 Val 对 Ang II 诱导下细胞增殖的影响, 采用划痕试验法进行细胞迁移实验, 采用蛋白质印迹法检测 VSMCs 中 ERK1/2、p-ERK1/2、P38、p-P38 的表达。结果 (1)Ang II 能明显促进 VSMCs 的增殖, Ang II 促进 VSMCs 增殖的作用能被 Val 和 PD98059 所抑制, 并且 Val 呈浓度依赖性抑制 VSMCs 增殖。SB23015 能明显促进 VSMCs 增殖。(2)细胞经 Ang II 作用后, 迁移活性明显增加, Val 及 PD98059 抑制 Ang II 诱导的大鼠 VSMCs 迁移, 但 SB23015 作用与之相反。(3)Val 和 PD98059 能抑制 Ang II 的促 VSMCs 胞内 p-ERK1/2 表达的作用, 而 SB23015 则能增强这种作用。Val 和 SB23015 能抑制 Ang II 的促 VSMCs 胞内 p-P38 表达的作用, 而 PD98059 则对此无显著影响。(4)Val 单独作用于 VSMCs 时, 对细胞的增殖、迁移及 p-ERK1/2、p-P38 的表达均无明显影响。结论 (1)Val 呈浓度依赖性抑制 Ang II 诱导 VSMCs 的增殖和迁移。(2)Val 抑制 Ang II 诱导 VSMCs 的增殖和迁移与其抑制 Ang II 诱导的 p-ERK1/2 的表达相关。(3)p-P38 对 Ang II 诱导的 p-ERK1/2 的激活起负调节作用。

关键词:肌, 平滑, 血管; 血管紧张素 II; 冠心病; P38 丝裂原活化蛋白激酶

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.07.022

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)07-0830-04

The effects of valsartan on the proliferation, migration, p-ERK1/2 and p-P38 MAPK expression of vascular smooth muscle cells

Chen Zongjian, Zhang Yanbin

(The Second People's Hospital of Kunshan City, Kunshan, Jiangsu 215300, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of valsartan on the proliferation and migration of rat aortic smooth muscle cells and the expression of p-ERK1/2, p-P38 promoted by angiotensin II (Ang II). Methods VSMCs from the rat thoracic aorta were cultured by attachment-block culture. VSMCs from 3-5 passages were used. The proliferation of VSMCs was tested by MTT method. Pipettip wounding injury was used to access the migration of VSMCs. The expression of ERK1/2, p-ERK1/2, P38 and p-P38 of VSMCs was detected by Western Blot. Results (1) Ang II could significantly promote the proliferation of VSMCs. The proliferation of VSMCs promoted by Ang II could be inhibited by Valsartan and PD98059. Valsartan inhibited the proliferation of VSMCs in a concentration-dependence. SB23015 could significantly promote the proliferation of VSMCs. (2) The migration activity of VSMCs in the Ang II was increased significantly. Valsartan and PD98059 inhibited Ang II-induced migration of rat VSMCs and SB23015 was on the contrary. (3) Valsartan and PD98059 could inhibit Ang II-induced VSMCs intracellular p-ERK1/2 protein expression, and this role was enhanced by SB23015. Valsartan and SB23015 could inhibit Ang II-induced VSMCs intracellular p-P38 protein expression, and PD98059 had no significant effect. (4) VSMCs had no significant effect on cell proliferation, migration and p-ERK1/2, p-P38 protein expression under valsartan alone. Conclusion (1) Valsartan could inhibit Ang II-induced proliferation and migration of VSMCs in a concentration-dependence. (2) The effects that valsartan inhibits the proliferation and migration of Ang II-induced VSMCs might be related to its inhibiting Ang II-induced p-ERK1/2 protein expression. (3) p-P38 might play a negative regulatory role on the Ang II-induced p-ERK1/2 activation.

Key words: muscle, smooth, vascular; angiotensin II; coronary diseases; P38 mitogen-activated protein kinases

冠心病是威胁人类身体健康的一类重大疾病。经皮冠状动脉介入治疗(PCI)是目前冠心病介入治疗的重要方法, 主要包括经皮腔内冠状动脉成形术和支架植入术^[1]。但是, PCI术后的近期效果理想, 而远期效果并不理想, 术后再狭窄是人类面临的又一难题。血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMCs)的异常增殖和迁移是动脉粥样硬化和血管成形术后再狭窄的主要病理基础^[2]。研究发现, 血管紧张素 II (Ang II)与支架术后再狭窄的发展过程密切相关, AT1受体的激活可促进 VSMCs 的增殖与迁移, 故 ARB(常用高血压一线治疗药)可能会降低支架植入后的再狭窄率。目前, Ang II 通

过 p-ERK1/2 促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)的激活促进 VSMCs 增殖与迁移的机制已被证实^[3], 但缬沙坦(Val)对 Ang II 诱导 VSMCs 增殖与迁移的影响以及与 p-ERK1/2、p-P38 MAPK 表达关系的研究并不多。

本研究观察了 Val 对 Ang II 刺激下离体大鼠胸主动脉 VSMCs 的增殖与迁移及 p-ERK1/2、p-P38 MAPK 表达的影响, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂 Sprague-Dawley 大鼠, 雄性, 体质量 150~200 g, 由徐州医学院实验动物中心提供; Val(常州四药

有限公司惠赠), Ang II (Sigma, 美国), PD98059 (ERK1/2 上游激酶的特异性抑制剂)(Sigma, 美国), SB23015 (P38 上游激酶的特异性抑制剂)(Sigma, 美国), 胎牛血清 (FBS)(杭州四季青生物材料有限公司), DMEM 培养基 (Gibco, 美国); 噻唑蓝 (MTT)(Sigma, 美国), 兔抗鼠 ERK1/2、p-ERK1/2-抗(北京中杉金桥生物技术有限公司, 美国原装进口分装), 兔抗鼠 P38、p-P38-抗(北京中杉金桥生物技术有限公司, 美国原装进口分装)。

1.2 VSMCs 的培养与鉴定 取雄性 Sprague-Dawley 大鼠 1 只, 10% 水合氯醛 2 mL 腹腔注射麻醉, 75% 乙醇浸泡消毒 5 min。移入超净工作台, 解剖分离出大鼠心肺组织与胸主动脉, 剪下胸主动脉放于培养皿, 用磷酸盐缓冲液 (PBS) 冲洗数次。眼科剪纵行剖开血管, 眼科弯镊自上而下轻刮内膜 2~3 遍去除单层的内皮细胞, 镊子剥离外膜。更换培养皿, 加入少量 20% FBS 的 DMEM 培养液, 眼科剪反复剪碎血管中膜组织成 11 mm² × 1 mm² 大小(剪切 10 min 左右)。用弯头吸管将血管组织小块移入一次性塑料培养瓶内, 均匀种植于培养瓶底, 盖好瓶盖, 平躺放入培养箱内。3~4 h 后加入 3~5 mL 含 20% FBS 的 DMEM 培养基, 使植块刚好浸入培养液中。培养箱内静置培养 3 d 后, 换新鲜培养液, 以后根据具体情况更换培养基, 初期尽量少动, 以免影响细胞贴壁和生长。待植块周围生长晕的细胞融合成片时, 即可传代。相差显微镜观察细胞生长形态, 采用第 2 代细胞行 α -actin 单克隆抗体进行免疫细胞化学染色鉴定, 取第 3~5 代 VSMCs。

1.3 实验分组 对照组: 1% FBS 的 DMEM; Ang II 组: Ang II (10⁻⁶ mol/L); Val₁ + Ang II 组: Val (10⁻³ mol/L) + Ang II (10⁻⁶ mol/L); Val₂ + Ang II 组: Val (10⁻⁴ mol/L) + Ang II (10⁻⁶ mol/L); Val₃ + Ang II 组: Val (10⁻⁵ mol/L) + Ang II (10⁻⁶ mol/L); PD + Ang II 组: PD98059 (10⁻⁵ mol/L) + Ang II (10⁻⁶ mol/L); SB + Ang II 组: SB23015 (10⁻⁵ mol/L) + Ang II (10⁻⁶ mol/L); Val 组: Val (10⁻³ mol/L)。

1.4 MTT 法检测细胞增殖 取 3~5 代对数生长期的细胞, 消化、离心, 10% FBS 的 DMEM 培养液稀释细胞成 5 × 10⁴ / mL 的密度, 接种于 96 孔板, 200 μ L/孔, 培养 24 h。换用 0.5% FBS 的 DMEM 培养液, 200 μ L/孔, 培养 24 h, 使细胞同步于静止生长期 (G₀/G₁ 期)。换用 1% FBS 的 DMEM 培养液, 200 μ L/孔, 并进行药物干预, Val₁ + Ang II 组、Val₂ + Ang II 组、Val₃ + Ang II 组、Val 组提前加入 Val 干预 30 min, PD + Ang II 组、SB + Ang II 组提前分别加入 PD98059, SB23015 干预 30 min, 继续培养 24 h。MTT 分析检测: 细胞培养 20 h 时每孔加入 MTT (5 mg/mL) 20 μ L, 继续培养 4 h, 吸净培养液, 每孔加入二甲基亚砜 150 μ L, 微量振荡器振荡约 10 min, 酶标仪检测吸光度 OD 值。

1.5 细胞划痕试验测定 VSMCs 迁移距离 选择第 3~5 代生长良好的 VSMCs, 胰蛋白酶制备细胞悬液, 调整细胞密度为 1.0 × 10⁵ / mL, 均匀接种于 6 孔板中。在铺板前, 在板的背面用记号笔划 5~6 道平行的横线。待细胞贴壁生长至 70%~80% 汇合时, 吸弃原含 10% 血清的培养液, 换用含 0.5% 血清的 DMEM 培养液继续培养 24 h, 使 VSMCs 同步化, 处于 G₀/G₁ 期。用无菌的 200 μ L 枪头划痕移液管尖 (约 0.7 mm) 在各培养板细胞生长单层相同位置划垂直或平行直线, 与以上的横线要垂直, 造成几条“伤口”。PBS 洗 2 次, 去除被移液管尖

破坏而脱落的细胞, 加 1% FBS 的 DMEM 培养液。根据实验分组先分别加入 Val (10⁻³ mol/L)、Val (10⁻⁴ mol/L)、Val (10⁻⁵ mol/L)、PD98059 (10⁻⁵ mol/L)、SB23015 (10⁻⁵ mol/L) 与细胞孵育 1 h, 然后再加入 Ang II 继续作用。倒置显微镜下观察细胞迁移。于 24 h 时观察各组细胞迁移情况, 超过划线的细胞最远距离, 即实际迁移距离。照相, 测距离 3 次, 计算均值。

1.6 Val、PD98059、SB23015、Ang II 对 VSMCs ERK1/2、p-ERK1/2、P38、p-P38 蛋白表达的影响 选择第 3~5 代生长良好的 VSMCs, 待细胞贴壁生长至 60%~70% 汇合时, 换用含 0.5% 胎牛血清的 DMEM 培养液继续培养 24 h, 使 VSMCs 同步化, 处于 G₀/G₁ 期。换用 1% FBS 的 DMEM 培养液 5 mL/瓶, 各实验组加入相应药物干预, 对照组不处理, 放入培养箱中继续培养, 在 30 min 结束培养。每瓶加入裂解液与酶抑制剂的混合液 300 μ L, 细胞刮刀刮下瓶底的细胞, 迅速移入 1.5 mL EP 管中。离心 12 000 r/min, 4 $^{\circ}$ C, 20 min。吸取上清液, 于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中短期保存。按 BCA 蛋白测定试剂盒说明书检测蛋白浓度。按常规方法进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 2.5 mA/cm², 50 min 转膜 (NC 膜), 取出 NC 膜, 加入 5% 脱脂奶粉封闭液中置摇床轻轻摇动封闭 3 h, 置于 ERK1/2、p-ERK1/2、P38、p-P38 一抗工作液 (1:1 000), 室温下振摇 2 h, 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜, 洗涤缓冲液清洗 5 min × 3 遍, 加入山羊抗兔二抗工作液 (1:1 000), 室温下振摇 2 h, 用洗涤缓冲液清洗 5 min × 3 遍, 双蒸馏水洗 5 min。10 mL AP 底物缓冲液中先后加入 66 L 氯化硝基四氮唑蓝和 33 L -溴-4-氯-3-吡啶基-磷酸盐 (现配现用), 将清洗好的 NC 膜放入 AP 显色液中, 摇床上边摇边观察显色情况, 可见棕黑色的条带。取出 NC 膜, 避光晾干, 将条带扫描入电脑, 采用 Image J 软件分析灰度值。

1.7 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 进一步组间两两比较采用 SNK-*q* 检验, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 VSMCs 的鉴定 VSMCs 鉴定: 细胞质内呈棕黄色丝状条纹者为阳性。随机挑取 5 个以上高倍视野, 计数 100 个细胞中阳性细胞占 95% 以上方可用于实验。

2.2 Val、PD98059 和 SB23015 对 Ang II 促进 VSMCs 增殖的影响 与对照组相比, Ang II 能明显促进 VSMCs 的增殖 ($P < 0.01$); Val 在浓度为 10⁻⁵~10⁻³ mol/L 时, 呈浓度依赖性抑制 VSMCs 对 Ang II 的增殖 ($P < 0.01$)。PD98059 能抑制 Ang II 的促 VSMCs 增殖作用 ($P < 0.01$); 而 SB23015 能明显促进 Ang II 的促 VSMCs 增殖作用 ($P < 0.01$)。同时, 与对照组相比, Val 单独作用于 VSMCs 时, 对细胞增殖的影响, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。表见 1。

表 1 Val、PD98059 和 SE23015 干预后的 MTT 结果 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	24 h OD 值
对照组	0.379 ± 0.033 ^a
Ang II 组	0.598 ± 0.051

续表 1 Val、PD98059 和 SE23015 干预后的 MTT 结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	24 h OD 值
Val ₁ + Ang II 组	0.422 ± 0.043 ^a
Val ₂ + Ang II 组	0.494 ± 0.049 ^{ab}
Val ₃ + Ang II 组	0.540 ± 0.029 ^{bc}
PD + Ang II 组	0.514 ± 0.045 ^a
SB + Ang II 组	0.649 ± 0.026 ^c
Val 组	0.377 ± 0.027 ^a

^a: $P < 0.01$, 与 Ang II 组比较; ^b: $P < 0.01$, 与 Val₁ + Ang II 组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 Ang II 组比较。

2.3 Val 和 PD98059 对 Ang II 促进 VSMCs 迁移的影响
VSMCs 经 Ang II 作用后, 迁移活性明显增加, Ang II 作用于细胞 24 h, VSMCs 迁移活性是对照组的 1.29 倍 ($P < 0.01$); Val 及 PD98059 抑制 Ang II 诱导大鼠 VSMCs 的迁移 ($P < 0.05$), 但 SB23015 作用与之相反 ($P < 0.05$)。同时, 与对照组相比, Val 单独作用于 VSMCs 时, 对细胞迁移的影响, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 Val、PD98059 和 SE23015 干预后的 VSMCs 迁移距离($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	24 h 细胞迁移距离(μm)
对照组	168.0 ± 8.5 ^a
Ang II 组	217.7 ± 12.5
Val ₁ + Ang II 组	173.0 ± 11.5 ^a
Val ₂ + Ang II 组	185.7 ± 9.5 ^a
Val ₃ + Ang II 组	195.3 ± 11.4 ^{bc}
PD + Ang II 组	189.0 ± 10.4 ^b
SB + Ang II 组	241.7 ± 13.4 ^b
Val 组	162.0 ± 12.0 ^a

^a: $P < 0.01$, 与 Ang II 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 Ang II 组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 Val₁ + Ang II 组比较。

2.4 Val、PD98059、SB23015 对 Ang II 促进 VSMCs 胞内 p-ERK1/2、p-P38 表达的影响
与对照组相比, Ang II 能促进 VSMCs 胞内 p-ERK1/2、p-P38 的表达, Val 能抑制 Ang II 的促 VSMCs 胞内 p-ERK1/2、p-P38 表达的作用 ($P < 0.01$); PD98059 能抑制 Ang II 的促 VSMCs 胞内 p-ERK1/2 表达的作用 ($P < 0.01$); 但对 Ang II 促进 VSMCs 胞内 p-P38 的表达的影响, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); SB23015 能促进 Ang II 的促 VSMCs 胞内 p-ERK1/2 表达的作用 ($P < 0.05$)。同时, 与对照组相比, Val 单独作用于 VSMCs 时, 对胞内 p-ERK1/2、p-P38 表达的影响, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3、图 1。

表 3 Val、PD98059 和 SE23015 干预后的 p-ERK1/2、p-P38 的表达($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	灰度值	
	p-ERK1/2	p-P38
对照组	1.00 ± 0.00 ^a	1.00 ± 0.00 ^a

续表 3 Val、PD98059 和 SE23015 干预后的 p-ERK1/2、p-P38 的表达($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	灰度值	
	p-ERK1/2	p-P38
Ang II 组	2.11 ± 0.09	2.84 ± 0.13
Val ₁ + Ang II 组	1.32 ± 0.07 ^a	1.46 ± 0.13 ^a
Val ₂ + Ang II 组	1.38 ± 0.06 ^a	1.63 ± 0.11 ^a
Val ₃ + Ang II 组	1.45 ± 0.06 ^{ab}	1.80 ± 0.07 ^{ad}
PD + Ang II 组	1.40 ± 0.07 ^a	2.81 ± 0.12
SB + Ang II 组	2.27 ± 0.12 ^c	1.96 ± 0.11 ^a
Val 组	1.02 ± 0.08 ^a	1.06 ± 0.11 ^a

^a: $P < 0.01$, 与 Ang II 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 Val₁ + Ang II 组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 Ang II 组比较; ^d: $P < 0.01$, 与 Val₁ + Ang II 组比较。

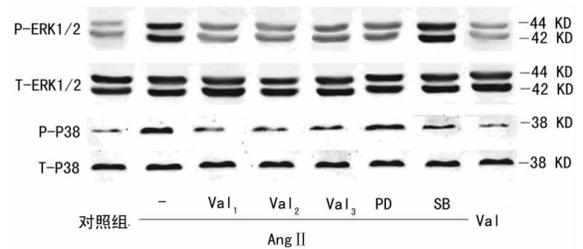


图 1 不同干预组作用后 ERK1/2、P38 蛋白印迹条带

3 讨论

Ang II 是肾素-血管紧张素-醛固酮系统的重要产物, AT1R、AT2R 是 Ang II 的 2 个特异性受体, 在细胞生长和增殖方面显示出相反的效果^[4-9]。研究发现, AT1R 的激活增加了再狭窄过程中的各种损伤反应^[10-13]。Ang II 拮抗剂 Val 在预防支架后再狭窄方面是可行的。2007 年, Iwata 等^[6]进行了 Val 与氯沙坦预防支架后再狭窄的比较研究, 发现支架后再治疗 6 个月, 生理剂量的 Val 可明显降低支架血管的再血管化率, 且 Val 组冠状动脉造影显示的靶血管管腔缩小的程度明显低于氯沙坦组。2005 年, Peters 等^[7]进行的临床试验, 发现支架后再治疗 6 个月, Val 组的再狭窄率低于血管紧张素转换酶抑制剂组 ($P < 0.05$)。

本实验应用 MTT 分析法评估了 VSMCs 的增殖状况, 在 Ang II (10^{-6} mol/L) 的刺激下, Val ($10^{-5} \sim 10^{-3}$ mol/L) 呈浓度依赖性抑制 VSMCs 的增殖, 与 Ang II 组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。而 Val 单独作用于 VSMCs 时, 与对照组相比, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 表明 Val 能明显拮抗 Ang II 的促增殖作用。另外, 作者发现 Ang II (10^{-6} mol/L) 能明显刺激 VSMCs 的迁移, 这一作用被 Val ($10^{-5} \sim 10^{-3}$ mol/L) 呈剂量依赖性地抑制, 且差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。而 Val 单独作用时, 对 VSMCs 的迁移无明显影响, 表明 Val 能明显拮抗 Ang II 的促迁移作用。

Ang II 激活 AT1R 后促进 VSMCs 的增殖、迁移与细胞外信号通路 ERK1/2MAPK 的表达上调有关^[8]。目前关于 Val 对 Ang II 诱导 VSMCs 的增殖与迁移的影响以及与 p-ERK1/2、p-P38MAPK 表达关系的研究并不多。在本实验应用 MTT 分析法和划痕试验评估了 ERK1/2 的特异性抑制剂 PD98059 (10^{-5} mol/L)、P38 特异性抑制剂 SB23015 (10^{-5} mol/L) 对 Ang

II 诱导 VSMCs 的增殖与迁移的影响。实验结果显示, PD98059 能显著抑制 Ang II 诱导的 VSMCs 的增殖与迁移, 而 SB23015 能显著促进 Ang II 诱导的 VSMCs 的增殖与迁移, 提示 Ang II 诱导的细胞增殖、迁移与磷酸化 ERK1/2 MAPK 表达上调有关, 且磷酸化 P38 在此过程中起负性调节作用。实验还应用蛋白质印迹法评估了 Val、PD98059 及 SB23015 对 Ang II 诱导的 VSMCs 内磷酸化 ERK1/2、P38 MAPK 表达上调的影响。作者选择 30 min 作为观察时间, Val($10^{-5} \sim 10^{-3}$ mol/L) 和 SB23015(10^{-5} mol/L) 明显抑制了 Ang II 诱导的磷酸化 P38 MAPK 的表达, PD98059(10^{-5} mol/L) 则对此过程无明显影响, 说明磷酸化 ERK1/2 MAPK 则对 Ang II 诱导的磷酸化 P38 MAPK 的表达无调节作用。这与 Kintscher 等^[9] 研究结果相一致。

综上所述, Val 预防支架术后狭窄的机制可能与其抑制 Ang II 诱导的 VSMCs 的增殖与迁移及 ERK1/2 MAPK 表达有关, 而磷酸化 P38 MAPK 则对 Ang II 诱导的磷酸化 ERK1/2 MAPK 的表达起负性调节作用。这为今后临床应用 Val 预防支架植入术后再狭窄提供了依据。

参考文献:

- [1] 李拥军, 常亮. 2012 年中国经皮冠状动脉介入治疗指南解读[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2012, 4(4): 294-296.
- [2] Segev A, Nili N, Qiang B, et al. Inhibition of intimal hyperplasia after stenting by over-expression of p15; a member of the INK4 family of cyclin-dependent kinase inhibitors[J]. J Mol Cell Cardiol, 2011, 50(3): 417-425.
- [3] Orlandi A, Bennett M. Progenitor cell-derived smooth muscle cells in vascular disease[J]. Biochem Pharmacol, 2010, 79(12): 1706-1713.
- [4] 首云锋, 陈明. 血管紧张素受体 AT2 及 AT4 研究进展[J]. 心血管病学进展, 2010, 1(1): 58-61.
- [5] Mitra AK, Agrawal DK. In stent restenosis; bane of the stent era[J]. J Clin Pathol, 2006, 59(3): 232-239.

- [6] Iwata A, Miura S, Imaizumi S, et al. Do valsartan and losartan have the same effects in the treatment of coronary artery disease? [J]. Circ J, 2007, 71(1): 32-38.
- [7] Peters S, Trümmel M, Meyners W, et al. Valsartan versus ACE inhibition after bare metal stent implantation—results of the VALVACE trial[J]. Int J Cardiol, 2005, 98(2): 331-335.
- [8] Sharma V, Sharma A, Kansal L, et al. The effect of oral administration of Allium sativum extracts on lead nitrate induced toxicity in male mice [J]. Food Chem Toxicol, 2010, 48(3): 928-936.
- [9] Kintscher U, Bruemmer D, Blaschke F, et al. p38 MAP kinase negatively regulates angiotensin II-mediated effects on cell cycle molecules in human coronary smooth muscle cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 305(3): 552-556.
- [10] AbdAlla S, Lothar H, el Missiry A. Angiotensin II AT2 receptor oligomers mediate G-protein dysfunction in an animal model of Alzheimer disease [J]. J Biol Chem, 2009, 284(10): 6554-6565.
- [11] Lee JC, Kumar S, Griswold DE. Inhibition of p38 MAP kinase as a therapeutic strategy[J]. Immunopharmacology, 2000, 47(2/3): 185-201.
- [12] Kumar S, Boehm J, Lee JC. p38 MAP kinases: key signalling molecules as therapeutic targets for inflammatory diseases[J]. Nat Rev Drug Discov, 2003, 2(9): 717-726.
- [13] Blaschke F, Leppanen O, Takata Y. Liver X receptor agonists suppress vascular smooth muscle cell proliferation and inhibit neointima formation in balloon-injured rat carotid arteries[J]. Circ Res, 2004, 95(12): e110-123.

(收稿日期: 2013-10-18 修回日期: 2013-12-20)

(上接第 829 页)

泛淋巴结转移及肝肺转移。可见, 原位移植为人类恶性肿瘤的研究, 尤其是与侵袭、转移相关的研究提供了更为适宜的动物模型。

参考文献:

- [1] Povlsen CO, Rygaard J. Heterotransplantation of human epidermoid carcinomas to the mouse mutant nude[J]. Acta Pathol Microbiol Scand A, 1972, 8(6): 713-717.
- [2] 张东兴, 颜登国, 赵丙波. 人大肠癌裸鼠皮下移植瘤模型的建立[J]. 贵阳医学院学报, 2010, 35(3): 247-250, 254.
- [3] 饶子亮, 黄威, 郑佳琳, 等. 两种人乳腺癌裸鼠移植瘤模型的建立[J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(5): 5-8.
- [4] 王晓东, 孙大强, 李志, 等. 个体化裸鼠荷人肺癌肿瘤模型的建立[J]. 天津医药, 2012, 40(5): 499-501.
- [5] 周杰, 漆松涛, 潘军, 等. 人颅咽管瘤裸鼠皮下移植瘤模型

的初步建立[J]. 重庆医学, 2012, 41(5): 455-457.

- [6] Furukawa T, Fu X, Kubota T, et al. Nude mouse metastatic models of human stomach Cancer constructed using orthotopic implantation of histologically intact tissue[J]. Cancer Res, 1993, 53(5): 1204-1208.
- [7] 杨宏宇, 李金荣, 胡传真. 人舌鳞癌裸鼠原位移植模型及其主要生物学特性的研究[J]. 中华口腔医学杂志, 1998, 33(2): 73.
- [8] 王辉, 吴洁, 花宝金, 等. 人胃癌免疫缺陷小鼠移植瘤转移模型研究进展[J]. 北京中医药, 2012, 31(3): 237-240.
- [9] 高进, 李敏民. 中国人类恶性肿瘤在免疫缺陷动物体内的模型建立及现存问题[J]. 中华肿瘤杂志, 1999, 21(1): 69-72.

(收稿日期: 2013-10-22 修回日期: 2013-11-27)