

黄芩苷对人肺腺癌 LTP-A2 细胞的抑制作用及机制研究

韦小白¹ 董竞成²

(1 复旦大学附属华山医院静安分院, 上海, 200040; 2 复旦大学附属华山医院, 上海, 200040)

摘要 目的: 研究观察黄芩苷对人肺腺癌 LTP-A2 细胞株体外的抑制作用及相关机制。方法: 采用不同浓度的黄芩苷干预人肺腺癌 LTP-A2 细胞株, 用 CCK-8 方法检测不同时间点不同浓度的黄芩苷对肺癌细胞增殖的抑制程度, 接着用细胞划痕试验和 Transwell 小室侵袭试验观察黄芩苷对肺癌细胞体外迁移、侵袭能力的影响; 用 Western blot 进一步检测黄芩苷干预后肺癌细胞 MMP-2、MMP-9、TGF- β 的表达的变化。结果: 黄芩苷能明显抑制肺癌细胞增殖; 能不同程度降低肺癌细胞的迁移、侵袭、体外划痕愈合能力, 呈浓度依赖性; 黄芩苷能不同程度下调 MMP-2、MMP-9 表达, 其中以高浓度效果明显, 中浓度居中, 低浓度作用稍弱, 与空白对照组比较, 组间差异有统计学意义, $P < 0.05$; 对肺癌细胞 TGF- β 的表达没有显著影响, 与对照组比较, $P > 0.05$ 。结论: 黄芩苷能不同程度地降低肺癌增殖迁移侵袭的能力, 其机制可能是通过下调 MMP-2、MMP-9 的表达从而对肺癌细胞的增殖、迁移、侵袭发挥抑制作用。

关键词 黄芩苷; 增殖; 迁移; LTP-A2 细胞; MMP-2; MMP-9

Study on Inhibition Effect and Mechanism of Baicalin on LTP-A2 Cells in Lung Cancer Patients

Wei Xiaobai¹, Dong Jingcheng²

(1 Jingan Branch of Huashan Hospital affiliated to Fudan University, Shanghai 200040, China;

2 Huashan Hospital affiliated to Fudan University, Shanghai 200040, China)

Abstract Objective: To explore the inhibition effects and mechanism of baicalin on LTP-A2 cells in vitro of lung cancer patients. **Methods:** Human pneumonic adenocarcinoma cell line LTP-A2 was cultured with different dose of baicalin for different periods of time. Cell proliferation was assayed by using Cell Counting Kit-8, and further in vitro study including tumor cell migration and invasion, wound healing assays were performed. Besides, MMP-2, MMP-9, TGF- β , which were related to the migration and metastasis potential in lung cancer cell lines were detected by western blot. **Results:** Baicalin inhibited the proliferation of LTP-A2 cells in a time and concentration-dependent manner. In tumor cell migration and invasion test, wound healing assays etc. showed significantly decreased migration, invasion in baicalin-treated cell groups vs control tumor cells. Further study showed that MMPs decreased after baicalin-treated. The higher doses of baicalin, the lower level of MMP-2/MMP-9. However, baicalin did not have a significant effect on the TGF- β . **Conclusion:** Baicalin inhibits the proliferation and migration of lung cancer LTP-A2 cells, possibly by decreasing the expression of MMP-2, MMP-9 in part.

Key Words Baicalin; Proliferation; Metastasis; LTP-A2 cells; MMP-2; MMP-9

中图分类号: R285.5; R734.2 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2014.02.025

黄芩苷(Baicalin)是从唇形科植物黄芩中提取、分离出来的黄酮类化合物,是黄芩的主要有效成分之一,具有多种药理作用,如:抗菌、抗氧化、诱导干细胞分化等^[1-3]。近年来,随着对黄芩苷的深入研究,发现黄芩苷还能够抑制黏液表皮样癌肿瘤细胞增殖,促进肿瘤细胞凋亡,具有显著的抗肿瘤作用^[4]。目前,对黄芩苷抗肿瘤作用的实验研究主要集中在人前列腺癌、膀胱癌、肝细胞癌、乳腺癌、结肠癌和恶性黑色素瘤等恶性肿瘤^[5-6],但是关于黄芩苷作用于肺癌细胞株的研究较少,如仅有少量报道黄芩提取物能够诱导 SPC-A-1 细胞凋亡,其机制可能与黄芩提取物能上调 caspase

-3 表达和下调 survivin 基因表达有关^[7]。既然黄芩苷对肺癌细胞株 SPC-A-1 有作用,那么对肺癌细胞株 LTP-A2 又有着怎样的作用?除了诱导细胞凋亡,黄芩苷是否还可通过其他途径发挥作用,目前仍不是十分清楚。为了进一步明确黄芩苷的抗肿瘤作用,本研究观察其对 LTP-A2 细胞增殖、迁移、侵袭的影响,并进行相关分子机制的初步探讨,以期临床应用黄芩苷治疗肺癌提供科学的理论依据。

1 材料和方法

人肺癌细胞株 LTP-A2 购自中国科学院上海细胞生物研究所。药物黄芩苷购自南京青泽医药公司,

纯度:99.1%。小牛血清、RPMI1640 培养液购自 Gibco 公司;CCK8 试剂购自日本同仁化学研究所; β -actin 抗体为 Santa Cruz 公司产品;MMP-2、MMP-9、TGF- β 抗体为 Cell signaling technology 公司产品;HRP 标记羊抗兔二抗为北京康为世纪生物科技有限公司产品。实验共分为 4 组,分别为 50 $\mu\text{mol/L}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$ 、200 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩苷组,空白对照组加等量 0.5% 二甲基亚砜(DMSO)。

1.1 CCK-8 法 取对数生长期细胞按 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 接种于 96 孔板内,设 3 个复孔,加入不同浓度黄芩苷,总体积 100 μL ,培养 24、48、72、96 h 后,每孔加入 CCK-8 溶液 10 μL ,继续培养 2 h 后用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度(A),计算细胞增殖抑制率,绘制细胞增殖抑制曲线。增殖抑制率计算公式:增殖抑制率(%) = (A 对照组 - A 实验组)/A 对照组 $\times 100\%$ 。

1.2 Transwell 小室侵袭试验 采用 24 孔板 Transwell 小室进行,包被有胶原基质的 Matrigel 滤膜孔径为 8 μm 。分别将 50 $\mu\text{mol/L}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$ 、200 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩苷处理的肺腺癌 LTEP-A2 细胞株用 0.25% 胰蛋白酶消化后,以 10^5 个/孔接种于上层小室,下层小室加入 10% 胎牛血清(FBS)培养液,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 24 h,取出滤膜,用棉拭子轻轻擦掉滤膜上层的细胞,将滤膜用 PBS 淋洗,固定、染色(参照细胞迁移实验相关步骤),置于甲醇固定 10 min,高倍镜下随机选取 5 个视野,计数迁移至滤膜下层的细胞,实验重复 3 次。抑制率(%) = (实验组侵袭细胞的数量/对照组侵袭细胞的数量) $\times 100\%$ 。

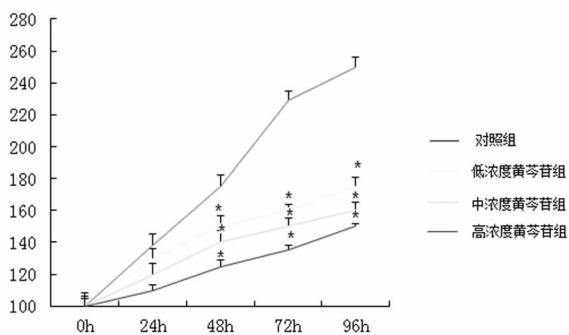
1.3 Transwell 小室细胞迁移试验 将 Fibronectin 200 倍稀释至终浓度 50 $\mu\text{g/mL}$,在 Transwell 小室内加入 100 μL ,小室外加入 400 μL ,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。准备受试细胞悬液:取对数生长期细胞,吸取细胞培养液,无钙磷的 PBS 液冲洗,胰蛋白酶消化细胞,用含 1% FBS 细胞培养液收集和重悬细胞,调整细胞密度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 。吸取 transwell 中 Fibronectin, PBS 冲洗一次。将 Transwell 小室放入 24 孔培养板中,在小室外加入 400 μL 含 10% FBS 完全培养液,37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 饱和湿度培养箱中孵育 6 h, PBS 漂洗 3 次,4% PAF 固定 30 min, PBS 漂洗 3 次,Coomassieblue 室温染色适当时间。倒置显微镜下 1×10 物镜计数贴附于小室多孔膜上的总细胞数(N_0),棉签擦去小室多孔膜上方细胞,计数残留在小室多孔膜下方的细胞数(N_1)。按以下公式计算细胞迁移率:细胞迁移率 = $N_1/N_0 \times 100\%$ 。每孔计数 5 个视野。

1.4 细胞划痕试验 将肺腺癌 LTEP-A2 细胞株传

代于玻片上,生长至 100% 汇合后,用无菌吸头在玻片上划痕。磷酸盐缓冲液(PBS)洗净被刮下的细胞,每孔加纤连蛋白后分别加入 50 $\mu\text{mol/L}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$ 、200 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩苷,对照组加等量 0.5% 二甲基亚砜(DMSO),孵育 96 h,取出玻片,低倍视野下观察细胞伤口愈合情况。随机选取 5 个视野,计数迁移细胞的数量,以此表示细胞的迁移活性。实验平行重复 3 次。计算:细胞迁移抑制率(%) = (实验组迁移细胞数/对照组迁移细胞数) $\times 100\%$ 。

1.5 MMP-2、MMP-9、TGF- β 蛋白表达的 Western-blot 检测 收集 50 $\mu\text{mol/L}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$ 、200 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩苷处理 96 h 的 LTEP-A2 细胞及对照组细胞,用 PBS 洗涤,加入 5 倍体积含蛋白酶抑制剂的细胞裂解液,冰浴 20 min,12 000 r/min 离心 15 min,弃去沉淀,上清液为细胞总蛋白。用 Bradford 法测定蛋白含量。100 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min,每孔加等量的蛋白样品进行 12% SDS-PAGE 凝胶电泳,然后电转移至 PVDF 膜上,5% 牛奶室温封闭 1 h。分别加入兔抗人 MMP-2、MMP-9、TGF- β 抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。以 TBS 漂洗 5 min $\times 3$ 次,加入羊抗兔 HRP 标记二抗,室温孵育 1 h 后 TBS 漂洗 5 min $\times 3$ 次,用化学发光法检测后分析结果。

1.6 统计学处理 实验数据用 SPSS 11.5 统计软件进行统计分析。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,两两比较采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。



黄芩苷对肺腺癌LTEP-A2细胞增殖抑制的影响

图1 黄芩苷对肺腺癌LTEP-A2细胞体外增殖的影响 (*提示 $P < 0.05$)

2 结果

2.1 黄芩苷对肺腺癌LTEP-A2细胞增殖抑制作用

CCK-8 方法检测黄芩苷对 LTEP-A2 细胞增殖的影响,结果发现不同浓度的黄芩苷对肺癌细胞有着不同程度的抑制作用,其中高浓度组(200 $\mu\text{mol/L}$)的抑制作用最明显,中浓度组(100 $\mu\text{mol/L}$)的抑制作用居中,低浓度组(50 $\mu\text{mol/L}$)次之。随着时间的推移,不同浓度的黄芩苷作用于肺癌细胞 24 h 后开始显示

出抑制作用,48 h 后作用显著,96 h 后达到高峰,与对照组比较,差异有统计学意义, $P < 0.05$ (如图 1)。

2.2 黄芩苷对肺腺癌 LTEP-A2 细胞迁移作用的影响 将不同浓度的黄芩苷预处理 96 h 后进行划痕实验、transwell 小室迁移实验。结果如图 2 所示:三种不同浓度的黄芩苷能不同程度降低 LTEP-A2 肺癌细胞的体外愈合能力,其中高浓度组(200 $\mu\text{mol/L}$)的抑制作用最明显,中浓度组(100 $\mu\text{mol/L}$)的抑制作用居中,低浓度组(50 $\mu\text{mol/L}$)次之,与对照组比较,差异有统计学意义, $P < 0.05$ (如图 2、图 3)。

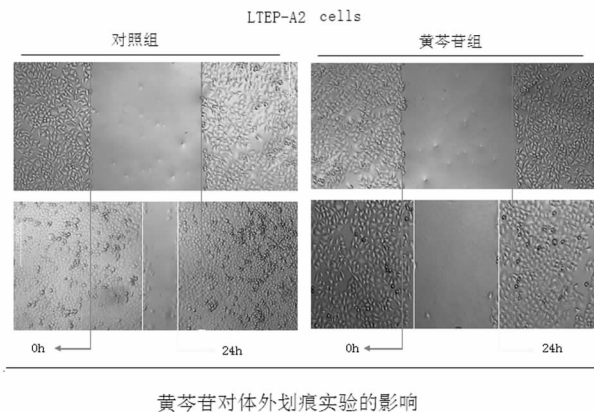


图 2 黄芩苷对肺腺癌 LTEP-A2 细胞体外划痕试验的影响

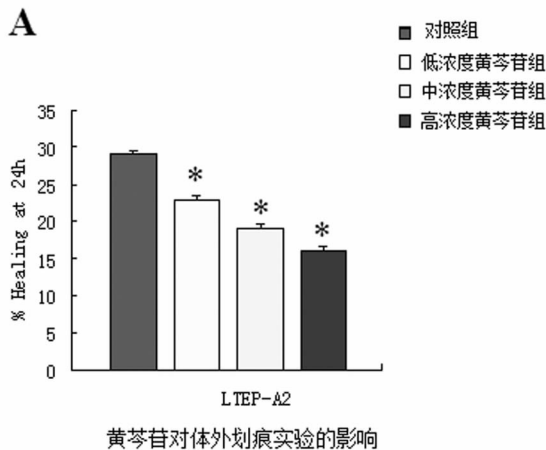


图 3 黄芩苷对肺腺癌 LTEP-A2 细胞体外划痕试验影响统计图 (* $P < 0.05$)

2.3 黄芩苷对肺腺癌 LTEP-A2 细胞侵袭作用的影响 将不同浓度的黄芩苷预处理 96 h 后进行 Transwell 小室侵袭实验。结果如图所示:三种不同浓度的黄芩苷能不同程度降低 LTEP-A2 肺癌细胞的侵袭能力,其中以其中高浓度组(200 $\mu\text{mol/L}$)的抑制作用最明显,中浓度组(100 $\mu\text{mol/L}$)的抑制作用居中,低浓度组(50 $\mu\text{mol/L}$)次之,与对照组比较,差异有统计学意义, $P < 0.05$ (如图 4)。

2.4 黄芩苷对肺腺癌 LTEP-A2 细胞 MMP-2、MMP

-9、TGF- β 蛋白表达的影响 将不同浓度的黄芩苷预处理 96 h 后进行 Western blot 检测。结果表明:三种不同浓度的黄芩苷能不同程度的下调 LTEP-A2 肺癌细胞 MMP-2、MMP-9 表达,其中以其中高浓度组(200 $\mu\text{mol/L}$)的抑制作用最明显,中浓度组(100 $\mu\text{mol/L}$)的抑制作用居中,低浓度组(50 $\mu\text{mol/L}$)稍弱,与对照组比较,差异有统计学意义, $P < 0.05$ 。而黄芩苷对肺腺癌 LTEP-A2 细胞 TGF- β 蛋白表达没有影响,与对照组比较, $P > 0.05$ (如图 5、图 6)。

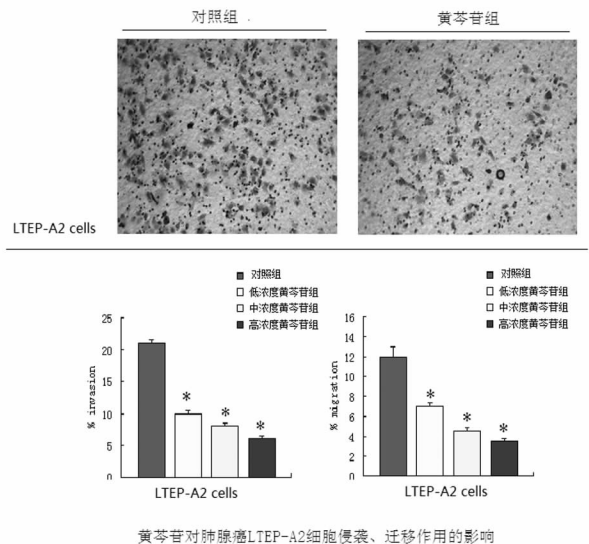
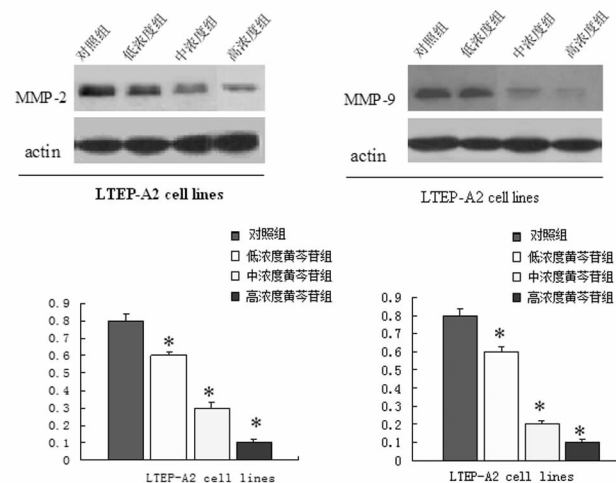


图 4 黄芩苷对肺腺癌 LTEP-A2 细胞迁移侵袭能力的影响

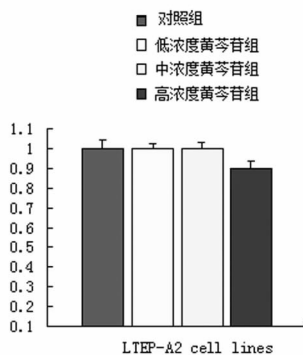
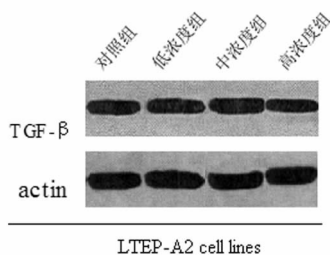
注:上方为细胞迁移和侵袭实验 Coomassie blue 染色,下方为数据统计图($n = 6$; * $P < 0.05$)。



黄芩苷对肺腺癌LTEP-A2细胞MMP-2、MMP-9蛋白表达的影响

图 5 黄芩苷对肺腺癌 LTEP-A2 细胞 MMP-2, MMP-9 的影响

注:上图是 Western blot 图片,下图是 Western blot 统计图 (* $P < 0.05$)。



黄芩苷对肺腺癌LTEP-A2细胞TGF-β蛋白表达的影响

图6 黄芩苷对肺腺癌LTEP-A2细胞TGF-β的影响

注:上图是Western blot图片,下图是Western blot统计图(* $P > 0.05$)。

3 讨论

肺腺癌是人类常见的恶性肿瘤之一,在我国,肺腺癌死亡居恶性肿瘤首位^[8]。由于肺腺癌细胞具有快速侵袭、迁移的特征,因此它是肺癌预后最差的病理类型之一^[9-10]。因此,如何有效抑制肺腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭,是改善预后、控制病情进展的关键。

黄芩性寒、味苦,归肺、心、肝、胆、大肠经,具有清热燥湿、泻火解毒等功效。主治壮热烦渴,肺热咳嗽,黄疸,目赤肿痛,胎动不安,痈肿疔疮等。关于黄芩可治肿瘤的功效,早在《神农本草经》就载黄芩具有“主诸热黄疸,肠癖泄痢,逐水,下血闭,恶疮疽蚀火疡”的功效。而黄芩苷为传统中药黄芩的主要有效成分之一,目前研究发现黄芩苷对多种肿瘤均有较好的作用。如王英俊等^[6]用不同浓度的黄芩苷处理结肠癌细胞株SW-1116后,发现50,100,200 μmol/L黄芩苷能够诱导结肠癌细胞株SW-1116凋亡,凋亡率与剂量呈正相关,并随药物浓度和作用时间而变化。细胞周期分布呈现G₁期比例逐渐增高,出现典型的凋亡峰。说明黄芩苷能诱导结肠癌细胞凋亡,并明显抑制癌细胞增殖,具有抗肿瘤作用。现有研究表明黄芩苷可以通过多种途径发挥抗肿瘤作用,如抑制肿瘤新生血管生成从而降低肿瘤细胞的增殖迁移^[11],如通过降低环氧合酶-2的表达抑制前列腺素E₂的产生,进而阻断前列腺素合成酶对肿瘤细胞的促进作用^[12]。而关于黄芩

苷对于肺癌细胞迁移、侵袭能力的作用及机制研究,目前缺乏相关报道。本研究结果显示,黄芩苷对LTEP-A2细胞增殖具有明显的抑制作用。同时,经过黄芩苷的干预后,肺癌细胞的侵袭、迁移能力与对照组比较都有不同程度的降低。且这种抑制作用具有时间和剂量依赖性,这和已有报道黄芩苷能抑制人肝癌细胞的侵袭能力^[13]一致。

基质金属蛋白酶(MMPs)对基底膜中细胞外基质的降解是肿瘤浸润和转移的重要步骤之一^[14-15]。MMPs家族是一类内源性蛋白水解酶,MMP-2和MMP-9是该家族的重要成员,这两种酶的主要功能为降解明胶和IV、V、VII、X型基底膜胶原,在细胞与基质间的黏附中起着重要的作用,MMP-2、MMP-9的表达与肿瘤侵袭关系密切。有研究显示,在肺癌细胞中,MMP-2、MMP-9高表达可促进该肿瘤的浸润、转移^[16]。

TGF-β在乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、非小细胞肺癌等多种肿瘤中均有表达,是预测相关肿瘤的易感性及肿瘤预后的重要细胞因子^[17-21]。有研究表明,TGF-β可促进前列腺癌的侵袭转移^[11]。既然MMPs和TGF-β在肺癌的转移复发中如此重要,而黄芩苷能显著抑制肺癌细胞的迁移、侵袭,那么用黄芩苷干预后这些细胞因子是否也发生改变?本实验研究发现,与对照组比较,黄芩苷组的MMP-2、MMP-9的表达下降,TGF-β表达不变。为了进一步验证黄芩苷与MMP-2、MMP-9与TGF-β的关系,我们分别用不同浓度的黄芩苷干预肺癌细胞,结果发现高浓度的黄芩苷组MMP-2、MMP-9表达最低,低浓度组较高浓度组表达高,中浓度组居中,而不同浓度的黄芩苷对TGF-β表达没有影响。

总之,本研究发现黄芩苷能不同程度地降低肺癌增殖迁移侵袭的能力,其机制可能是通过下调MMP-2、MMP-9的表达从而对肺癌细胞的增殖、迁移、侵袭发挥抑制作用。

参考文献

- [1] Zhang S, Jin Y, Zhu W, et al. Baicalin released from scutellaria baicalensis induces autotoxicity and promotes soilborn pathogens [J]. ChemEcol, 2010, 36: 329-338.
- [2] Li CT, Zhang WP, Fang SH, et al. Baicalin attenuates oxygen-glucose deprivation-induced injury by inhibiting oxidative stress-mediated 5-lipoxygenase activation in PC12 cells [J]. Acta Pharmacol Sin, 2010, 31: 137-144.
- [3] Liang XL, Liao ZG, Zhu JY, et al. The absorption characterization effects and mechanism of Radix Angelicaedauricae extracts on baicalin in Radix Scutellariae using in vivo and in vitro absorption models [J]. Ethnopharmacol, 2012, 139: 52-57.

- [4] Xu X F, Cai B L, Guan S M, et al. Baicalin induces human mucocoeidermoid carcinoma Mc3 cells apoptosis in vitro and in vivo[J]. Invest New Drugs, 2011, 29(4): 637 – 645.
- [5] Ikezoe T, Chen SS, Heber D, et al. Baicalin is a major component of PC SPES which inhibits the proliferation of human cancer cells via apoptosis and cell cycle arrest[J]. Prostate, 2001, 49(4): 285 – 292.
- [6] 王英俊, 付莉, 华海婴. 黄芩苷诱导结肠癌细胞株 SW1116 凋亡的研究[J]. TCM Res, 2007, 20(6): 22.
- [7] Wei PY, Pu HQ, Wei X, et al. Apoptosis – inducing effect of Scutellaria-bata extract human lung cancer SPC – A – 1 cells and the expression of apoptosis associated genes[J]. Zhongyaocai, 2007, 30(10): 1270.
- [8] Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics[J]. CA Cancer Clin, 2010, 60: 277 – 300.
- [9] Janssen – Heijnen ML, Coebergh JW. The changing epidemiology of lung cancer in Europe[J]. Lung Cancer, 2003, 41: 245 – 258.
- [10] Devesa SS, Bray F, Vizcaino AP, et al. International lung cancer trends by histologic type; male or female differences diminishing and adenocarcinoma rates rising[J]. Cancer, 2005, 117: 294 – 299.
- [11] Liu JJ, Huang TS, Cheng WF, et al. Baicalein and baicalin are potent inhibitors of angiogenesis: Inhibition of endothelial cell proliferation, migration and differentiation [J]. Int J Cancer, 2003, 106(4): 559 – 565.
- [12] Jui Chao, Su WC, Liu HF. Baicalein induces cancer cell death and proliferation retardation by the inhibition of CDC2 kinase and survivin associated with opposite role of p38 mitogen – activated protein kinase and AKT[J]. Mol Cancer Ther, 2007, 6(11): 3039 – 3048.
- [13] Chiu YW, Lin TH, Huang WS, et al. Baicalein inhibits the migration and invasive properties of human hepatoma cells[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2011, 255: 316 – 326.
- [14] Baek MJ. Prognostic Role of MMPs in colorectal cancer[J]. Korean Soc-Coloproctol, 2011, 27: 105 – 106.
- [15] Roomi MW, Monterrey JC, Kalinovsky T, et al. Inhibition of invasion and MMPs by a nutrient mixture in human cancer cell lines; a correlation study[J]. Exp Oncol, 2010, 32: 243 – 248.
- [16] Gao M, Zhang JH, Zhou FX, et al. Angelicasinensis suppresses human lung adenocarcinoma A549 cell metastasis by regulating MMPs/TIMPs and TGF – β 1[J]. Oncol Rep, 2012, 27: 585 – 593.
- [17] Yin J, Lu K, Lin J, et al. Genetic variants in TGF – beta pathway are associated with ovarian cancer risk[J]. PLoS One, 2011, 6: e25559.
- [18] Scollen S, Luccarini C, Baynes C, et al. TGF – beta signaling pathway and breast cancer susceptibility[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2001, 20: 1112 – 1119.
- [19] Fang F, Yu L, Zhong Y, et al. TGFBI 509 C/T polymorphism and colorectal cancer risk; a meta – analysis [J]. Med Oncol, 2010, 27: 1324 – 1328.
- [20] Bhayal AC, rabhakar B, Rao KP, et al. Role of transforming growth factor – beta1 – 509 C/T promoter polymorphism in gastric cancer in south Indian population[J]. Tumour Bio, 2011, 32: 1049 – 1053.
- [21] Lin M, Stewart DJ, Spitz MR, et al. Genetic variations in the transforming growth factor – beta pathway as predictors of survival in advanced non – small cell lung cancer [J]. Carcinogenesis, 2011, 32: 1050 – 1056.

(2013 – 10 – 10 收稿 责任编辑: 王明)

(上接第 212 页)

参考文献

- [1] Baumbach GL, Heistad DD. Remodeling of cerebral arterioles in chronic hypertension[J]. Hypertension, 1989, 13: 968 – 972.
- [2] Essalihi R, Dao HH, Yamaguchi N, et al. A new model of isolated systolic hypertension induced by chronic warfarin and vitamin K1 treatment[J]. Am J Hypertens, 2003, 16(2): 103 – 110.
- [3] 何杰, 陈明. 老年单纯收缩期高血压研究进展[J]. 心血管病学进展, 2011, 32(4): 558 – 561.
- [4] 马民. 老年男性高血压病与中医肾虚血瘀证相关性研究[J]. 中国老年学杂志, 2004, 24(6): 511 – 512.
- [5] 张蕴慧, 薛金贵, 李文彪. 中老年高血压病与肾虚血瘀证相关性研究[J]. 山东中医杂志, 1999, 18(6): 26 – 27.
- [6] Krieger JE, Dzau VJ. Molecular biology of hypertension[J]. 11y Pertension, 1991, 18(3): 13 – 17.
- [7] Safar ME. Pulse pressure, arterial stiffness and wave reflections (augmentation index) as cardiovascular risk factors in hypertension[J]. Ther Adv Cardiovasc Dis, 2008, 2(1): 13 – 24.
- [8] Wallace SM, Yasmin, Mceniery cm, et al. Isolated systolic hypertension is characterized by increased aortic stiffness and endothelial dysfunction[J]. Hypertension, 2007, 50: 228 – 233.
- [9] 徐强, 张秋月, 王保和. 高血压中医证候特点的现代文献研究[J]. 世界中医药, 2013, 8(2): 125 – 126.
- [10] 谷万里, 史载祥, 余云旭, 等. 原发性高血压的, 中医证型特征[J]. 中西医结合学报, 2010, 9(8): 842 – 847.
- [11] 李法琦, 陈运贞. 灯盏花素对自发性高血压大鼠心肌细胞凋亡和心室重构的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2002, 27(4): 400.
- [12] Hu WY, Fukuda N, Kanmatsuse K. Growth characteristics, angiotensin II – generation, and microarray – determined gene expression in vascular smooth muscle cells from young spontaneously hypertensive rats[J]. Hypertens, 2002, 20: 1323 – 1333.
- [13] 冉旭, 陈立, 吕波. 补肾益心汤对自发性高血压大鼠血管内皮功能损伤的干预作用[J]. 世界中医药, 2013, 8(8): 939 – 941.
- [14] 柳锋, 郑智, 钟强. 丹参酮 IIA 对自发性高血压大鼠左心室肥厚心肌细胞凋亡的影响[J]. 中华实用中西医杂志, 2004, 17(4): 1097.
- [15] Dzau VJ. The odorecooper lecture: tissue angiotensin and pathobiology of vascular disease; a unifying hypothesis[J]. Hypertension, 2001, 37(4): 1047 – 1052.
- [16] Trepls T, Zeiher AM, Fichtlscherer S. The endothelium and inflammation[J]. Endothelium, 2006, 13(6): 423 – 429.
- [17] 李承德, 康白, 毛淑梅, 等. 地龙降压蛋白对自发性高血压大鼠血管紧张素及内皮素含量的影响[J]. 中国医药导报, 2008, 5(21): 11 – 13.
- [18] 徐浩, 陈可冀. 中西医结合防治高血压病的进展、难点与对策[J]. 世界中医药, 2007, 2(1): 3 – 5.
- [19] Der Sarkissian S, Huentelman MJ, Stewart J, et al. ACE2: Anovel therapeutic target for cardiovascular diseases[J]. Prog Biophys Mol Biol, 2006, 91: 163 – 198.

(2013 – 06 – 19 收稿 责任编辑: 徐晖)