

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.00968

# 同型半胱氨酸在大鼠血管平滑肌细胞上通过激活 ERK1/2 信号通路促进血管紧张素 II 受体 1 表达

姜 衡<sup>1△</sup>, 于曼丽<sup>2△</sup>, 魏 勇<sup>1</sup>, 欧阳平<sup>1</sup>, 梁 春<sup>3</sup>, 吴宗贵<sup>3\*</sup>

1. 上海交通大学附属第一人民医院松江分院心内科, 上海 201600
2. 第二军医大学长海医院心内科, 上海 200433
3. 第二军医大学长征医院心内科, 上海 200003

**[摘要]** **目的** 观察同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)对大鼠血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)血管紧张素 II 受体 1(angiotensin II receptor type 1, AT1R)蛋白表达的影响。**方法** 从大鼠胸主动脉分离、培养 VSMCs, 并用平滑肌特异性肌纤蛋白( $\alpha$ -SMA)进行免疫荧光鉴定; 用 10、100 和 300  $\mu\text{mol/L}$  3 个不同浓度的 Hcy 孵育 VSMCs, 或在加入 Hcy 的同时加入 5  $\mu\text{mol/L}$  的 ERK1/2 通路阻断剂 U0126, 48 h 后用免疫印迹法检测磷酸化的 ERK1/2 及 AT1R 的蛋白表达。**结果** 经鉴定, 成功分离、培养 VSMCs。10、100 和 300  $\mu\text{mol/L}$  3 个不同浓度的 Hcy 均可上调 VSMC 的 AT1R 蛋白表达量(与溶剂对照组比较,  $P < 0.05$ )。但 3 个浓度的 Hcy 组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。10  $\mu\text{mol/L}$  的 Hcy 可增加 VSMC 的 ERK1/2 磷酸化( $P < 0.05$ ), 激活 ERK1/2 信号通路。ERK1/2 通路抑制剂 U0126 可完全阻断 Hcy 导致的 ERK1/2 磷酸化, 并取消 Hcy 导致的 AT1R 上调。**结论** Hcy 可通过激活 ERK1/2 信号通路促进大鼠 VSMC AT1R 的表达, 这一结果可能有助于揭示高 Hcy 血症与高血压的内在联系。

**[关键词]** 高血压; 同型半胱氨酸; 血管平滑肌细胞; ERK1/2; 血管紧张素 II 受体 1

**[中图分类号]** R 544.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2014)09-0968-06

## Homocysteine upregulates angiotensin II receptor type 1 (AT1R) expression via activating ERK1/2 signaling pathway in rat vascular smooth muscle cells

JIANG Heng<sup>1△</sup>, YU Man-li<sup>2△</sup>, WEI Yong<sup>1</sup>, OUYANG Ping<sup>1</sup>, LIANG Chun<sup>3</sup>, WU Zong-gui<sup>3\*</sup>

1. Department of Cardiology, The First People's Hospital of Shanghai (Songjiang Branch), Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201600, China
2. Department of Cardiology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
3. Department of Cardiology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

**[Abstract]** **Objective** To study the influence of homocysteine on the protein expression of angiotensin II receptor type 1 (AT1R) in rat vascular smooth muscle cells (VSMCs). **Methods** Primary rat VSMCs were isolated and cultured *in vitro* and identified by detecting  $\alpha$ -SMA expression with immunofluorescence technique. VSMCs were exposed to three different concentrations of homocysteine (10, 100 and 300  $\mu\text{mol/L}$ ) alone or in combination with U0126 (5  $\mu\text{mol/L}$ , a potent inhibitor of ERK1/2) for 48 h, and then immunoblotting method was used to detect AT1R protein expression and phosphorylation of ERK1/2. **Results** Primary rat VSMCs (positive for  $\alpha$ -smooth muscle actin [ $\alpha$ -SMA] staining) were isolated and cultured successfully. All the three different concentrations of homocysteine (10, 100 and 300  $\mu\text{mol/L}$ ) induced significant AT1R protein expression ( $P < 0.05$  vs solvent control group) in VSMCs, but there was no significant difference between the three groups. Moreover, homocysteine at 10  $\mu\text{mol/L}$  significantly activated phosphorylation of ERK1/2 in VSMCs ( $P < 0.05$  vs blank control). Supplement of U0126 not only blocked the phosphorylation of ERK1/2 induced by homocysteine, but also abolished homocysteine-induced upregulation of AT1R. **Conclusion** Our results in this study indicate that homocysteine can upregulate

**[收稿日期]** 2014-04-01 **[接受日期]** 2014-05-29

**[基金项目]** 上海市松江区科委科学技术攻关项目(12SJGGYY02). Supported by Science and Technology Research Project of Shanghai Songjiang District (12SJGGYY02).

**[作者简介]** 姜 衡, 副主任医师. E-mail: jianghengyangzhou@126.com; 于曼丽, 主治医师. E-mail: yumanli2006@163.com

△共同第一作者(Co-first authors).

\* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81885291, E-mail: zgwu@medmail.com.cn

AT1R protein expression via activating ERK1/2 signaling pathway in rat VSMCs, which may help to illustrate the relation between Hcy and hypertension.

[Key words] hypertension; homocysteine; vascular smooth muscle cells; ERK1/2 signaling; angiotensin II receptor type 1  
[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(9): 968-973]

血管紧张素 II (Ang II) 是高血压发病过程的核心效应分子, 对心血管系统有着广泛的生物学作用, 可导致血管收缩、血压上升等, 同时还能诱导内皮损伤和血管重构<sup>[1]</sup>。血管紧张素 II 受体 1 (AT1R) 主要分布于血管平滑肌细胞、内皮细胞等心血管系统细胞, 介导了大部分 Ang II 对心血管细胞、组织的有害作用<sup>[1-2]</sup>。同型半胱氨酸 (homocysteine, Hcy) 是体内蛋氨酸代谢途径中的一个中间产物。1995 年的一项大规模前瞻性临床试验研究表明, Hcy 代谢异常导致的高 Hcy 血症是动脉粥样硬化和冠心病的独立危险因素<sup>[3]</sup>。高 Hcy 参与了冠心病及卒中的发生发展<sup>[4-6]</sup>。1997 年, Sutton-Tyrrell 等<sup>[7]</sup> 发现高 Hcy 是高血压患者预后的独立危险因素, 该结论得到随后的多项临床实验结果<sup>[8-12]</sup> 的支持。Lu 等<sup>[13]</sup> 亦在中国人群中证实了高 Hcy 是高血压患者预后的独立危险因素。

针对高 Hcy 与高血压的内在关系, 近年来国际上已有部分研究。Rodrigo 等<sup>[14]</sup> 的研究结果提示, 高 Hcy 可提高内皮细胞内的氧化应激、炎症因子, 损伤内皮。而 Tsai 等<sup>[15-16]</sup> 的研究则显示 Hcy 可促进血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 的增殖。此外, Hcy 可增强 VSMC 内的钙离子释放, 从而改变血管的收缩舒张活性<sup>[17]</sup>; 改变 VSMC 内 DNA 的甲基化水平<sup>[18]</sup>; 通过 MAPK 通路刺激 VSMC 增殖<sup>[19]</sup> 等。但是, 作为高血压发病环节中最重要因素之一, Ang II-AT1R 这一核心环节在 Hcy 与高血压的关系的研究中极少被关注。本研究通过观察 Hcy 在 VSMC 上对 AT1R 表达的影响, 探讨 Hcy 导致 VSMC 功能异常的分子机制, 从而为深入了解高 Hcy 血症与高血压的内在关系提供新的理论依据。

## 1 材料和方法

1.1 试剂及动物 细胞培养级 Hcy (美国 Sigma 公司);  $\alpha$  平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA) 抗体、AT1R 抗体 (美国 Santa Cruz 公司); 磷酸化 ERK1/2 抗体、总 ERK1/2 抗体 (美国 CST 公

司); Alexa 488 荧光标记二抗、高糖 DMEM 细胞培养基、胎牛血清 (美国 Invitrogen 公司); ERK1/2 化学抑制剂 U0126、Bradford 蛋白浓度测定试剂盒 (江苏海门碧云天生物技术公司); RIPA 细胞裂解液、蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂及免疫印迹 ECL 超敏发光液 (美国 Pierce 公司); PVDF 膜 (美国 Millipore 公司); 四甲基乙二胺 (TEMED)、二巯基乙醇 (美国 AMRESCO 公司), 其他试剂均为国产分析纯。2~3 周龄雄性 SD 大鼠 [上海中科院动物中心提供, 许可证号: SCXK (沪) 2003-0004, SPF 级], 体质量 50~80 g。

1.2 原代大鼠 VSMC 的分离、培养及鉴定 主要采用贴块法培养。用 10% 的水合氯醛麻醉幼年大鼠, 打开胸腔, 呈俯卧位, 剪开右心房, 放血后从胸腔上方开始分离出胸主动脉, 长约 2~3 cm。在超净工作台里, 用已消毒的眼科剪纵向剪开, 摊平后再剪成长约 3 mm 的小段, 并将内皮侧覆盖在培养皿底部。晾干 15 min 后, 加入含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养液。静置于含 5% 二氧化碳的细胞培养箱内培养。5~7 d 后, 可见贴块周围有 VSMCs 爬出。去除贴块, 胰酶消化后, 按细胞密度  $1 \times 10^5$  个/mL 传代培养。

大鼠 VSMC 的鉴定采用  $\alpha$ -SMA 细胞免疫荧光染色, 阳性者即为 VSMC。传代时, 将 VSMC 以较稀的密度 (约  $3 \times 10^4$  个/mL) 铺在含有无菌盖玻片的 6 孔板内, 加入 DMEM 培养基。待其生长 36 h 后, 取出盖玻片, 用 4% 多聚甲醛固定细胞, 然后用 0.1% 的 Triton X-100 透化细胞, 5% 牛血清白蛋白封闭 1 h 后, 用 anti- $\alpha$ -SMA 在室温孵育 2 h, PBS 洗涤 3 次, 加入 Alexa-488 标记的二抗, PBS 洗涤 3 次, 中性树脂封片, 随后在荧光显微镜下观察、拍片。

1.3 Hcy 和 U0126 给药处理 将 Hcy 溶于 PBS (pH 值 7.4) 制备成母液, 置于  $-20^\circ\text{C}$  保存。待大鼠平滑肌细胞生长到 40%~50% 融合度时, 加入 Hcy, 使其终浓度分别为 10、100 和 300  $\mu\text{mol/L}$ 。在使用信号通路化学抑制剂实验中, 则在加入 Hcy 的同时加入 U0126, 终浓度为 5  $\mu\text{mol/L}$ 。给药后继续培养 48 h。

**1.4 蛋白质印迹法检测 AT1R 蛋白表达** 给药后细胞在培养箱中培养 48 h 后,去除培养液,用冰 PBS 冲洗 3 次。随后加入含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的裂解液,孵育 2 min,裂解细胞,收集裂解液。在 4℃ 下以 14 000×g 离心 10 min,取上清,用 Bradford 法测定蛋白浓度。在细胞蛋白样品中加入同体积的免疫印迹上样缓冲液,煮沸 15 min。自然冷却后,以 14 000×g 离心 10 min。取含有蛋白总量约 30 μg 的样品,用 10%浓度的聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质。然后采用湿转法转膜,PVDF 膜,恒压 100 V,持续 1 h。使用 10%脱脂牛奶封闭 2 h 后,分别用兔源的 AT1R 多克隆抗体及鼠源的 α-Tubulin 单克隆抗体孵育。PBS 洗脱 3 次后,再用辣根过氧化物酶偶联的羊抗兔、羊抗鼠的二抗分别孵育。最后用超敏 ECL 显色液显影。采用 Image J 软件进行条带光密度分析,以 AT1R 与 α-Tubulin 的比值作为 AT1R 蛋白表达量的相对值。

**1.5 蛋白质印迹法检测磷酸化 ERK1/2** 基本过程同 1.4 项,先对磷酸化 ERK1/2 进行抗体孵育及显影,再用免疫印迹抗体洗脱液在摇床上洗脱掉一抗及二抗后,重新对总 ERK1/2 进行抗体孵育及显影。以磷酸化 ERK1/2 与总 ERK1/2 的比值作为 ERK1/2 信号通路激活的相对值。

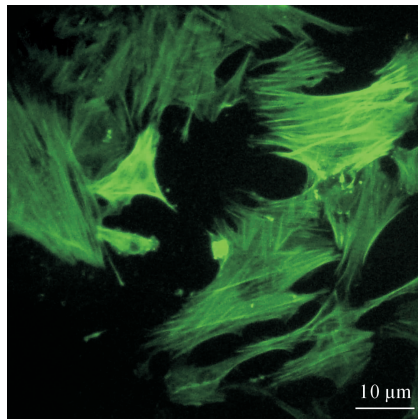
**1.6 统计学处理** 采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较用单因素方差分析。检验水准( $\alpha$ )为 0.05。

## 2 结果

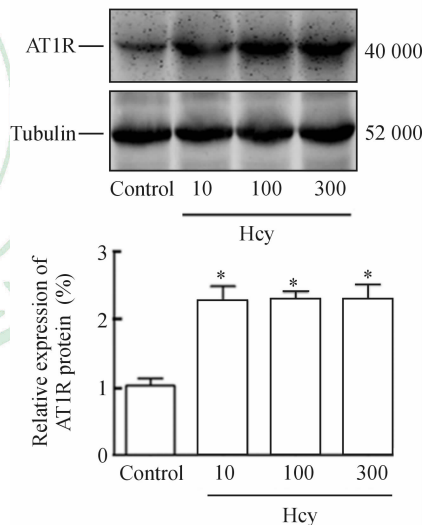
**2.1 原代大鼠 VSMC 的培养及鉴定** 在倒置显微镜下观察,约第 4~5 天时见 VSMC 开始从组织块边缘长出。VSMC 细胞呈长梭形或椭圆形,平铺状生长。当细胞传代后,生长速度较为迅速,长满瓶底后,相邻细胞可融合成片,或多层重叠生长,有谷、峰状交替。如图 1 所示,对细胞爬片行 α-SMA 免疫荧光染色,显示 95%以上为阳性细胞,在荧光显微镜下可见明显的肌丝状结构。

**2.2 Hcy 促进大鼠 VSMC AT1R 蛋白表达** 结果(图 2)显示,和溶剂对照组相比,3 个不同浓度的 Hcy 处理 VSMC 后均可提高 AT1R 的蛋白表达量,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。3 个不同浓度的 Hcy 对 AT1R 的蛋白表达上调幅度之间差异无统计

学意义( $P > 0.05$ )。因此,在以下的分子机制实验中,我们均采用 10 μmol/L 作为 Hcy 处理 VSMC 的浓度。



**图 1 α-SMA 免疫荧光染色鉴定原代大鼠 VSMC**  
**Fig 1 Identification of rat primary vascular smooth muscle cells (VSMC) by α-SMA immunofluorescence**  
 α-SMA; α-smooth muscle actin



**图 2 3 种不同浓度的 Hcy 在大鼠 VSMC 上对 AT1R 蛋白表达的影响**

**Fig 2 Effects of three concentrations of Hcy (10, 100 and 300 μmol/L) on AT1R protein expression in rat vascular smooth muscle cells(VSMC)**

Hcy; Homocysteine; AT1R; Angiotensin II receptor type 1. \*  $P < 0.05$  vs control.  $n = 6, \bar{x} \pm s$

**2.3 Hcy 激活大鼠 VSMC ERK1/2 信号通路** 结果(图 3)显示,用 10 μmol/L 的 Hcy 处理 VSMC,可升高 p-ERK1/2 与 t-ERK1/2 的比值,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),提示 Hcy 在大鼠 VSMC 上可激活 ERK1/2 信号通路。

2.4 阻断 ERK1/2 通路的激活可取消 Hcy 对 AT1R 的上调作用 结果(图 4)显示,和空白对照组相比,实验组 + 不干预治疗组(Hcy 单独给药组)的 ERK1/2 磷酸化程度增强。当用 5  $\mu\text{mol/L}$  的 ERK1/2 信号通路抑制剂 U0126 加入处理后,可以看到实验组 + 干预治疗组(Hcy + U0126 组)的 ERK1/2 激活作用被取消。而且,此时实验组 + 干预治疗组中,Hcy 对 AT1R 的上调作用也被 U0126 所取消。这些结果提示 ERK1/2 信号通路的激活为 Hcy 对 AT1R 的上调作用所必需。

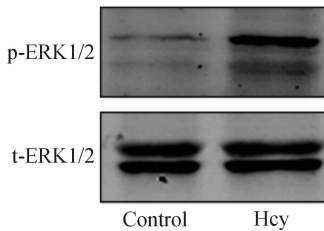


图 3 Hcy (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 在大鼠 VSMC 上激活 ERK1/2 信号通路

Fig 3 Homocysteine (Hcy, 10  $\mu\text{mol/L}$ ) activated ERK1/2 signaling pathway in rat vascular smooth muscle cells (VSMC)

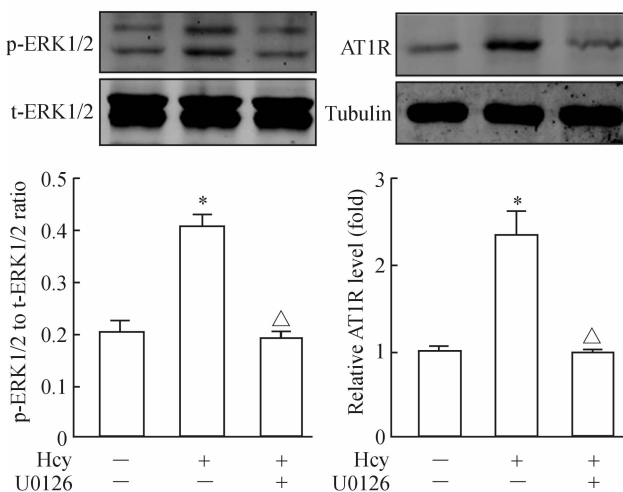


图 4 阻断 ERK1/2 通路的激活可取消 Hcy 对 AT1R 的上调作用

Fig 4 U0126 blocked Hcy-induced activation of ERK1/2 signaling pathway and upregulation of AT1R in rat vascular smooth muscle cells

Hcy: Homocysteine; AT1R: Angiotensin II type 1. \*  $P < 0.05$  vs blank control.  $\Delta P < 0.05$  vs Hcy alone.  $n = 6$ ,  $\bar{x} \pm s$

### 3 讨论

过度激活的肾素-血管紧张素-醛固酮系统是产

生高血压的关键原因之一<sup>[20]</sup>。在正常生理状态下, Ang II 通过激动 AT1R 发挥收缩血管、升高血压的作用。但是,在高血压患者体内,无论是血液中<sup>[20]</sup>还是局部组织中<sup>[21]</sup>,都存在着过度升高的 Ang II。过高的 Ang II 长期刺激 AT1R,导致血压过度升高及诸多有害作用,包括血管内皮舒张功能损伤、血管中层 VSMC 异常增殖重构、心肌细胞肥大/失代偿等<sup>[20]</sup>。基于这些病理生理过程开发而来的 Ang II 转化酶抑制剂和 AT1R 拮抗剂也成为目前临床治疗高血压的最重要药物之一。在本研究中,我们发现了 Hcy 可以上调体外培养的 VSMC 上的 AT1R 蛋白表达量;而不同浓度 Hcy 组没有组间差异。根据我们的实验结果,我们推测可能 Hcy 在非常低剂量下就通过激活 ERK1/2 明显上调 AT1R,此时 Hcy 已达到最大药理效应,即所谓的平台期,即使加入更多的 Hcy 也不能进一步增加 AT1R 的表达。这一在细胞层面上的结果对于高血压有一定的提示作用。部分高血压患者同时合并有高 Hcy 血症。那么,此时患者血中的高 Hcy 对于 AT1R 的上调作用可能会进一步增强 Ang II 对 VSMC 的损害作用。这一恶性循环的产生,对于 VSMC 的功能无疑是有危害的。这一推论仍需在整个动物乃至临床研究中进一步验证。

ERK1/2 信号通路是最早发现的丝裂原活化的蛋白激酶(MAPK)信号转导途径,主要参与各种生长因子、细胞因子、丝裂原以及激素受体活化后的信号转导。在微血管内皮细胞上,Moshal 等<sup>[22]</sup>发现 Hcy 可激活 ERK1/2 来增加基质金属蛋白酶-9 的表达。此外,Luo 等<sup>[23]</sup>在小鼠上发现 Hcy 可通过激活 ERK1/2 来促进 VSMC 的增殖和迁移。在该过程中,伴有明显的氧化应激水平(超氧阴离子及丙二醛)的增加<sup>[23]</sup>。罗格列酮则通过抑制 ERK1/2 信号通路的激活来减弱 NF- $\kappa$ B 及肿瘤坏死因子 TNF- $\alpha$  导致的细胞损伤<sup>[24]</sup>。而在 PC12 神经元细胞株上,Hcy 也可以通过激活 ERK1/2 导致明显的神经毒性<sup>[25]</sup>。在本研究中,我们发现了 Hcy 在 VSMC 上确实可以激活 ERK1/2 信号通路的磷酸化,这一结果与文献报道<sup>[22-23]</sup>一致。而当我们用 U0126 阻断了 ERK1/2 的激活后,Hcy 上调 AT1R 的作用亦被取消。这一结果说明,Hcy 是通过激活 ERK1/2 信号通路来促进 AT1R 的蛋白表达的。

AT1R 不仅参与高血压的发病过程,还在动脉粥样硬化、血管硬化、心肌细胞功能损伤等诸多心血管疾病中扮演重要角色。本研究发现,在 VSMC 上 Hcy 可上调 AT1R 的表达。那么,在心血管其他细胞如心肌细胞、肾小球细胞足细胞等这些重要细胞上,Hcy 是否也具有类似的上调 AT1R 的作用呢? Hcy 导致的 AT1R 的上调对于高血压的转归究竟有多大作用? 这些值得关注的问题都有待在离体细胞及整体动物实验上进一步证明。

综上所述,本文在体外培养的大鼠 VSMC 上,首次发现了 Hcy 可通过激活 ERK1/2 信号通路上调 AT1R 的蛋白表达。这一结果有助于揭示高 Hcy 血症与高血压的内在联系,并为伴有高 Hcy 血症的心血管疾病提供新的治疗理论依据。

#### 4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] Zuo Y M, Wang Y, Liu J P. Recent advances and findings of angiotensin type 2 receptor; a review[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2010, 123: 3462-3466.
- [2] Horiuchi M, Iwanami J, Mogi M. Regulation of angiotensin II receptors beyond the classical pathway[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2012, 123: 193-203.
- [3] Nygård O, Vollset S E, Refsum H, Stensvold I, Tverdal A, Nordrehaug J E, et al. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The hordaland homocysteine study[J]. *JAMA*, 1995, 274: 1526-1533.
- [4] Schaffer A, Verdoia M, Cassetti E, Marino P, Suryapranata H, De Luca G, et al. Relationship between homocysteine and coronary artery disease. Results from a large prospective cohort study[J]. *Thromb Res*, 2014, 14, 291-296.
- [5] Naess H, Nyland H, Idicula T, Waje-Andreassen U. C-reactive protein and homocysteine predict long-term mortality in young ischemic stroke patients[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2013, 22: e435-e440.
- [6] Wang C Y, Chen Z W, Zhang T, Liu J, Chen S H, Liu S Y, et al. Elevated plasma homocysteine level is associated with ischemic stroke in Chinese hypertensive patients [J]. *Eur J Intern Med*, 2014, 25: 538-544.
- [7] Sutton-Tyrrell K, Bostom A, Selhub J, Zeigler-Johnson C. High homocysteine levels are independently related to isolated systolic hypertension in older adults[J]. *Circulation*, 1997, 96: 1745-1749.
- [8] Narayan S K, Firbank M J, Saxby B K, Stansby G, Hansrani M, O'Brien J T, et al. Elevated plasma homocysteine is associated with increased brain atrophy rates in older subjects with mild hypertension[J]. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2011, 31: 341-348.
- [9] Vyssoulis G, Karpanou E, Kyvelou S M, Adamopoulos D, Gialernios T, Gymnopolou E, et al. Associations between plasma homocysteine levels, aortic stiffness and wave reflection in patients with arterial hypertension, isolated office hypertension and normotensive controls [J]. *J Hum Hypertens*, 2010, 24: 183-189.
- [10] Bogdanski P, Miller-Kasprzak E, Pupek-Musialik D, Jablecka A, Lacinski M, Jagodzinski P P, et al. Plasma total homocysteine is a determinant of carotid intima-media thickness and circulating endothelial progenitor cells in patients with newly diagnosed hypertension[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2012, 50: 1107-1113.
- [11] Ruhui L, Jinfa J, Jiahong X, Wenlin M. Influence of hyperhomocysteinemia on left ventricular diastolic function in Chinese patients with hypertension [J]. *Herz*, 2014 May 28. [Epub ahead of print]
- [12] Baszczuk A, Musialik K, Kopczyński J, Thielemann A, Kopczyński Z, Kęsy L, et al. Hyperhomocysteinemia, lipid and lipoprotein disturbances in patients with primary hypertension[J]. *Adv Med Sci*, 2014, 59: 68-73.
- [13] Lu H, Lu Z H, Li P G, Wang Y Y, Yan Z Y. Elevated homocysteine and hypertension in Xinjiang Province, China[J]. *Ethn Dis*, 2010, 20: 7-10.
- [14] Rodrigo R, Passalacqua W, Araya J, Orellana M, Rivera G. Implications of oxidative stress and homocysteine in the pathophysiology of essential hypertension[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2003, 42: 453-461.
- [15] Tsai J C, Wang H, Perrella M A, Yoshizumi M, Sibinga N E, Tan L C, et al. Induction of cyclin A gene expression by homocysteine in vascular smooth muscle cells [J]. *J Clin Invest*, 1996, 97: 146-153.
- [16] Tsai J C, Perrella M A, Yoshizumi M, Hsieh C M, Haber E, Schlegel R, et al. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine; a link to atherosclerosis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 6369-6373.
- [17] Mujumdar V S, Hayden M R, Tyagi S C. Homocyst(e)

- ine induces calcium second messenger in vascular smooth muscle cells[J]. *J Cell Physiol*, 2000, 183: 28-36.
- [18] Zhang D, Chen Y, Xie X, Liu J, Wang Q, Kong W, et al. Homocysteine activates vascular smooth muscle cells by DNA demethylation of platelet-derived growth factor in endothelial cells[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2012, 53: 487-496.
- [19] Zou T, Yang W, Hou Z, Yang J. Homocysteine enhances cell proliferation in vascular smooth muscle cells: role of p38 MAPK and p47phox[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2010, 42: 908-915.
- [20] Matsusaka T, Ichikawa I. Biological functions of angiotensin and its receptors[J]. *Annu Rev Physiol*, 1997, 59: 395-412.
- [21] Bader M. Tissue renin-angiotensin-aldosterone systems: targets for pharmacological therapy [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2010, 50: 439-465.
- [22] Moshal K S, Sen U, Tyagi N, Henderson B, Steed M, Ovechkin A V, et al. Regulation of homocysteine-induced MMP-9 by ERK1/2 pathway[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006, 290: C883- C891.
- [23] Luo X, Xiao Y, Song F, Yang Y, Xia M, Ling W. Increased plasma S-adenosyl-homocysteine levels induce the proliferation and migration of VSMCs through an oxidative stress-ERK1/2 pathway in apoE (-/-) mice [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 95: 241-250.
- [24] Bai Y P, Liu Y H, Chen J, Song T, You Y, Tang Z Y, et al. Rosiglitazone attenuates NF-kappaB-dependent ICAM-1 and TNF-alpha production caused by homocysteine via inhibiting ERK1/2/p38MAPK activation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 360: 20-26.
- [25] Tang X Q, Shen X T, Huang Y E, Chen R Q, Ren Y K, Fang H R, et al. Inhibition of endogenous hydrogen sulfide generation is associated with homocysteine-induced neurotoxicity: role of ERK1/2 activation[J]. *J Mol Neurosci*, 2011, 45: 60-77.

[本文编辑] 张建芬, 孙 岩

• 书 讯 •

## 《防化医学》已出版

《防化医学》由张黎明, 赵 杰主编, 第二军医大学出版社出版, ISBN: 978-7-5481-0435-3, 定价: 39.80 元。

该书共分 14 章, 约 43 万字, 全面系统地介绍了化学武器损伤的医学防护知识, 重点内容包括化学武器和化学战剂的特点、分类, 各类化学战剂的理化性质、中毒机制和诊治措施, 化学侦察的消毒和防护, 以及化学战条件下的防化卫勤保障的特点。简要介绍了生物化学战剂的概念, 几种重要生物毒素中毒的防护, 以及海洋生物毒素和海洋生物伤的防治。结合军队平时的非战争军事行动, 还介绍了突发化学事件医学应急处置方面的知识。

该书可作为军队医学院校教材和部队医务人员继续教育用书, 也可供相关人员参考阅读。

该书由第二军医大学出版社发行科发行, 全国各大书店均有销售。

通信地址: 上海市翔殷路 800 号, 邮编: 200433

邮购电话: 021-65344595, 65493093

<http://www.smmup.cn>