维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2005)04-0501-04

虎杖对高脂血症动脉粥样硬化兔 NOS 系统的在体干预

秦 俭[1],陈运贞[1],周岐新[2],倪银星[3]

(1.重庆医科大学附属第一医院心内科,重庆 400016;2.重庆医科大学基础医学院药理教研室,重庆 400016;
3.第三军医大学大坪医院内分泌高血压科,重庆 400014)

【摘 要】目的:研究虎杖对高脂血症动脉粥样硬化兔 NOS 系统的在体干预。方法:36 只雌雄各半的日本大耳白兔,随机分为 6 组:对照组(NC 组)、高脂组(HC 组)和虎杖加三种不同剂量组,剂量由小到大依次为 SHZ 组、MHZ 组、LHZ 组及高脂加阳性对照 L-精氨酸组(Arg 组)。于喂养不同时间测定血浆 NO、ET 水平和 NOS 活性;在体内皮依赖性舒张功能(EDD)和内皮非依赖性舒张功能(NEDD);胸主动脉 AS 斑块面积;腹主动脉 NOS 活性及 eNOS mRNA、iNOS mRNA 表达。结果:HC 组于第 1 周 EDD 已经明显减退,而 NEDD 则自第 6 周才开始减退;血清 NO、NOS 和 ET 明显增高;各例 AS 斑块明显;腹主动脉壁中层细胞 NOS 活性和 iNOS mRNA 表达均明显增强,内皮细胞 NOS 组化染色及 eNOS mRNA 表达均明显减弱;除 NEDD 外,虎杖呈剂量依赖性改善紊乱的 NOS 系统功能并减轻 AS 病变,以 LHZ 组效应最明显。结论:虎杖可呈剂量依赖性改善 AS 紊乱的 NOS 系统功能,并可减轻 AS 病变。

【关键词】虎杖;动脉粥样硬化;一氧化氮合酶;兔
【中国图书分类法分类号】R541.4 【文献标识码】A 【收稿日期】2005-02-17

Interventional effect of polygonum cuspidatum sieb. et Zucc. on NOS in atherosclerosis rabbits in vivo

QIN Jian, et al

(*Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the interventional effect of polygonum cuspidatum sieb. et Zucc. on NOS system in vivo. *Methods*: Thirty-six Japanese rabbits were randomized into 6 groups: NC Group (fed normal control diet), HC group (fed atherogenic diet), SHZ group, MHZ group, LHZ group (fed atherogenic diet and three different doses of polygonum cuspidatum sieb. et Zucc. separately) and L-Arg group (fed atherogenic diet and L-arginine). At the different feeding time, the following contents were surveyed: 1. serum NO, NOS, plasma ET; 2. EDD and NEDD of external iliac artery in vivo; 3. the area of AS plaque in thoracic aorta; 4. NOS activity and the expression of iNOS mRNA and eNOS mRNA on the wall of the abdominal artery. *Results*: In group HC, EDD and NEDD of external iliac arteries were damaged at 1 week and 6 weeks, separately; the levels of serum NO, plasma ET and activity of NOS were elevated significantly; AS lesion was serious; the activity of NOS and expression of iNOS mRNA on the medial layer of the artery wall were much higher, the activity of NOS and expression of eNOS mRNA on endothelial cells were much lower. Except NEDD, polygonum cuspidatum sieb. et Zucc. could not only adjust the activities and expressions of disordered NOS systems on AS vessels, but also improve AS lesion in a dose-effect manner. Large dose of polygonum cuspidatum sieb. et Zucc. had the strongest effect. *Conclusion*: Polygonum cuspidatum sieb. et Zucc. can improve the function of the disordered NOS and lessen AS lesion on AS vessels in a dose-dependent manner.

【Key words】Polygonum cuspidatum sieb. et Zucc.; Atherosclerosis; NOS; Rabbits

血管内皮功能失调(ED)是动脉粥样硬化(AS)发病的关键[1]。功能健全的内皮细胞能分泌舒血管因子一氧化氮(NO),具有抗动脉粥样硬化作用。NO 是内皮细胞在一氧化氮合酶(NOS)催化下以 L-精氨酸为底物合成的。研究表明,内皮功能失调时内皮型 NOS(eNOS)活性降低、诱生型 NOS(iNOS)活性增高[2]。近年发现,AS 患者和存在相关易患因素的高危患者血浆中内源性 NOS 抑制剂-非

作者介绍:秦 俭(1966-),女,副主任医师,博士,
主要研究方向:冠心病动脉粥样硬化的发病机理及其防治。

基金项目:重庆市卫生局基金资助项目(00-3005)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

对称性二甲基精氨酸(asymmetric dimethylarginine, ADMA)水平明显增高[3]。中药虎杖具有降脂、抗血栓、抗脂质过氧化和改善微循环等作用[4,5],因而对AS有治疗意义。本实验旨在研究虎杖在体对血管内皮功能失调的改善及离体虎杖甙与ADMA对血管舒缩的作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

胆固醇(进口,广州分装);硝酸甘油(NTG)(西安康复药厂);NO、NOS试剂盒(南京生物建成公司);ET放免药盒(北京解放军总医院放射免疫试剂公司);eNOS、iNOS原位杂交试剂盒及相关试剂(武汉博士德公司);NADPH(Sigma公司产品,北京邦定泰克生物技术公司分装);NBT、苏丹Ⅳ(中国上海前进化学试剂厂)。彩色血管多普勒检测仪(HP8500GP)。

1.2 动物模型制备及实验分组

体重2.00~2.25kg、4月龄纯种日本大耳白兔36只,雌雄各18只,由第三军医大学实验动物中心提供。先适应性喂养动物1周,按完全随机设计分为6组,每组6只,雌雄各半。每日摄入饲料150g。共喂养14周。分组情况见表1。

表1 动物分组、饲料配方和药物处理

组别	饲料种类	药物处理
NC	普通全价兔颗粒饲料	无
HC	高脂高胆固醇兔颗粒饲料*	无
SHZ	同上	虎杖1克/(日·只)
MHZ	同上	虎杖3克/(日·只)
LHZ	同上	虎杖9克/(日·只)
Arg	同上	L-精氨酸4.22克/(日·只)

*高脂高胆固醇兔颗粒饲料:胆固醇1%,熟猪油5%,蛋黄粉2%,普通全价兔颗粒饲料92%。

虎杖为市售干虎杖根片,以碾磨机粉碎成粉后加入饲料;L-精氨酸直接加入饲料。

1.3 检测指标

于喂养8周和14周,经耳缘动脉抽取血液标本;于喂养14周空气栓塞处死动物,取出组织标本。测定血浆NO、NOS活性、ET、胸主动脉AS斑块面积、腹主动脉NOS组化染色及eNOS mRNA、iNOS mRNA表达(原位杂交)、血管内皮依赖性舒张功能EDD和血管内皮非依赖性舒张功能NEDD。其中,EDD和NEDD以高分辨超声诊断仪检测,参照本室[6]方法,以血流介导的髂外动脉内径扩张率表示EDD,以舌下含化硝基甘油0.25 mg前后髂外动脉内径的扩张率表示NEDD。

1.4 图像分析及统计

以北航CM-2000B生物医学图像分析系统进行图像分析。以SAS软件包进行方差分析,以$P<0.05$为差异显著,$P<0.01$为差异非常显著。

2 结 果

2.1 血浆NO水平

NC组NO于8周和14周时都保持较低水平;其余各组NO均显著增高;不同剂量HZ组NO呈剂量依赖性降低;Arg组NO较各组增高。见表2。

表2 不同喂养时间NO测值(μmol/L)($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	第8周	第14周
NC	9.49±1.23	9.15±1.67
HC	21.53±4.81①	28.74±3.21*
SHZ	21.93±3.55	24.15±3.25
MHZ	16.57±2.81③	24.81±2.81
LHZ	13.86±1.45③	16.28±0.92③
Arg	29.49±6.54②③④⑤	31.53±12.00③⑤

①:与NC组比较,$P<0.01$;②:与HC组比较,$P<0.05$;③:与SHZ组比较,$P<0.05$;④:与MHZ组比较,$P<0.05$;⑤:与LHZ组比较,$P<0.01$。

表3 不同喂养时间NOS测值(U/ml)($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	第8周	第14周
NC	9.49±2.16	12.18±4.34
HC	36.00±4.67①	44.76±9.58①
SHZ	32.96±2.08	38.09±7.43
MHZ	15.92±2.30③	19.99±5.68②③
LHZ	14.53±2.05③	16.74±3.86②③
Arg	35.77±4.48④⑤	39.83±6.88④⑤

①:与NC组比较,$P<0.01$;②:与HC组比较,$P<0.01$;③:与SHZ组比较,$P<0.01$;④:与MHZ组比较,$P<0.01$;⑤:与LHZ组比较,$P<0.01$。

表4 不同喂养时间ET测值(pg/L)($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	第8周	第14周
NC	74.15±13.54	82.44±7.03
HC	381.02±12.52①	496.01±19.14①
SHZ	348.06±17.64	410.69±15.39
MHZ	293.04±16.87②③	295.40±10.97②③
LHZ	185.36±12.19②③④	215.23±26.25②③④
Arg	147.33±19.23②③④⑤	154.40±9.93②③④⑤

①:与NC组比较,$P<0.01$;②:与HC组比较,$P<0.01$;③:与SHZ组比较,$P<0.01$;④:与MHZ组比较,$P<0.01$;⑤:与LHZ组比较,$P<0.01$。

2.2 血浆NOS活性

NC组NOS活性于喂养的不同时间均保持较低水平;HC组明显增高;各不同剂量HZ组其活性呈剂量依赖性降低,Arg组与HC组无显著性差异。

维普资讯 http://www.cqvip.com

见表 3。

2.3 血浆 ET 水平

NC 组于喂养不同时间血浆 ET 保持较低水平；其余各组 ET 均明显增高；不同剂量 HZ 组 ET 呈剂量依赖性降低；Arg 组 ET 降到了最低水平。见表 4。

2.4 髂外动脉 EDD

喂养不同时间，NC 组 EDD 无显著变化；HC 组于进食高脂后第 1 周、SHZ 组于第 2 周、MHZ 组于第 4 周、LHZ 组于第 8 周，EDD 明显减退，以后进一步减退。见表 5。

表 5 不同喂养时间髂外动脉 EDD(%) ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	0 周	1 周	2 周	4 周	6 周	8 周	10 周	14 周
NC	11.16±1.80	11.02±2.30	10.67±3.84	11.25±2.37	8.86±2.04	10.35±3.90	10.47±2.17	10.82±1.64
HC	12.65±2.00	8.66±3.36	8.43±2.90	6.44±3.46*	4.99±1.56*	2.92±1.81*	1.09±1.50*	0.88±0.99*
SHZ	10.82±3.59	10.09±4.40	8.11±3.63	7.48±2.44	6.81±1.91	4.99±1.88	2.89±1.66	2.09±1.34
MHZ	11.09±3.57	10.13±2.69	11.40±3.74	8.94±4.22	7.97±4.08	5.75±4.03	3.42±2.04	4.57±1.22◎※
LHZ	11.52±2.99	9.69±2.63	9.34±2.02	9.06±1.82	9.27±4.71②	7.63±2.26②	7.07±3.22②③④	6.52±2.05②③④
Arg	8.90±1.93	7.90±1.09①	7.36±1.18	8.57±3.38	8.67±2.38②	6.8±1.92②	8.09±2.62②③④	7.13±2.20②③④

①：与 NC 组比较，$P<0.05$；②：与 HC 组比较，$P<0.05$；③：与 SHZ 组比较，$P<0.05$；④：与 MHZ 组比较，$P<0.05$。

表 6 不同喂养时间髂外动脉 NEDD(%) ($x \pm s$, $n=6$)

组别	0 周	1 周	2 周	4 周	6 周	8 周	10 周	14 周
NC	9.67±2.03	11.04±3.65	10.75±3.62	10.69±3.37	8.99±1.58	9.35±3.50	11.91±2.52	10.70±2.02
HC	9.68±2.09	8.98±3.36	8.83±2.90	7.44±3.46	4.79±1.50	2.92±1.81※	1.09±1.00※	0.88±0.40※
SHZ	10.58±1.84	9.94±2.93	9.26±1.94	8.42±3.65	5.52±4.54	3.59±1.65	1.43±1.02	0.59±0.21
MHZ	10.67±3.91	8.98±4.98	8.71±4.51	8.60±3.49	5.72±4.51	3.60±2.49	1.02±0.53	0.59±0.47
LHZ	11.56±1.67	9.89±4.07	8.61±2.72	7.79±2.52	5.57±3.27	3.53±2.58	1.02±0.63	0.10±0.49
Arg	10.74±1.90	8.80±3.14	8.41±3.90	7.85±2.06	4.33±1.38	3.04±1.02	1.02±1.01	0.74±0.56

※：与 NC 组比较，$P<0.01$。

表 7 胸主动脉 AS 斑块面积百分比% ($x \pm s$, $n=6$)

组别	胸主动脉 AS 斑块面积百分比
NC	0
HC	56.71±28.71*
SHZ	51.78±29.29
MHZ	28.05±10.83②
LHZ	14.22±4.33②③④
Arg	12.87±4.31②③④

①：与 NC 组比较，$P<0.01$；②：与 HC 组比较，$P<0.05$；③：与 SHZ 组比较，$P<0.05$；④：与 MHZ 组比较，$P<0.05$。

2.5 髂外动脉 NEDD

除 NC 组外，其余各组自第 6 周起 NEDD 才开始减退，以后 NEDD 进一步减退。见表 6。

2.6 胸主动脉 AS 斑块染色

HC 组 AS 斑块明显，不同剂量 HZ 组斑块面积呈剂量依赖性减小，以 LHZ 组面积最小，达到了与 Arg 组相当的水平。见表 7。

2.7 腹主动脉 NOS 组织化学及 eNOS mRNA、iNOS mRNA 表达

HC 组腹主动脉壁 eNOS mRNA 表达和内皮细胞 NOS 活性明显降低，iNOS mRNA 表达和中层细胞 NOS 活性明显增高，不同剂量 HZ 组 eNOS mRNA 表达和内皮细胞 NOS 活性呈剂量依赖性增高，iNOS mRNA 表达和中层细胞 NOS 活性呈剂量依赖性降低。见表 8。

表 8 腹主动脉壁 NOS 组织化学及 eNOS mRNA、iNOS mRNA 表达平均光密度 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	内皮细胞 NOS 染色平均光密度	中层细胞 NOS 染色平均光密度	eNOS mRNA 染色平均光密度	iNOS mRNA 染色平均光密度
NC	0.15±0.02	0.00±0.00	0.15±0.01	0.00±0.00
HC	0.08±0.02①	0.15±0.01①	0.06±0.01①	0.17±0.01①
SHZ	0.09±0.01	0.14±0.01	0.06±0.01	0.16±0.02
MHZ	0.12±0.01②	0.11±0.03②	0.08±0.01	0.11±0.01②③
LHZ	0.14±0.03③	0.07±0.02③	0.13±0.02②③④	0.09±0.01②③
Arg	0.07±0.02⑤	0.14±0.01⑤	0.07±0.01⑤	0.17±0.01④⑤

①：与 NC 组比较，$P<0.01$；②：与 HC 组比较，$P<0.05$；③：与 SHZ 组比较，$P<0.01$；④：与 MHZ 组比较，$P<0.01$；⑤：与 LHZ 组比较，$P<0.01$。

维普资讯 http://www.cqvip.com

3 讨 论

3.1 高脂血症 AS 兔的血管内皮功能损害与活跃表达的 iNOS

本文用外周动脉超声法对兔血管内皮功能研究结果显示,HC 组高脂喂养 1 周后 EDD 已经开始减退,而 NEDD 在高脂喂养 8 周才明显减退,表明高脂后 EDD 障碍明显早于 NEDD。

高脂血症 AS 血管内皮功能失调还表现为内皮细胞分泌 NO 减少。本实验结果表明:HC 组血清 NO 水平和 NOS 活性都明显增高;腹主动脉壁中层 NOS 活性明显活化,而内皮细胞 NOS 活性明显减弱。这和 Aliev G 等[2]报道 Watanabe 遗传性高脂家兔 AS 病变的发展进程与 iNOS 的免疫反应性增加相关是相符的。本文还进一步发现 AS 组血管壁内皮细胞 eNOS mRNA 表达明显减弱,而中层 iNOS mRNA 表达明显增强,这可解释血清 NO 水平和 NOS 活性明显增高,与 Wilcox JN 等报道人 AS 血管内皮 eNOS 表达明显减弱,其他细胞 iNOS 表达明显增强以及 Depre C 等[8]报道人冠状动脉 AS 斑块上 iNOS 表达增多是一致的。动脉中层表达 iNOS 增多的细胞类型究竟是哪种? Esaki T 等曾做高脂兔、冠脉 AS 斑块[9]的研究,结果显示,iNOS 并不表达在平滑肌细胞和内皮细胞,而是表达在巨噬细胞来源的细胞和 T 淋巴细胞。iNOS 合成大量 NO,NO 和超氧化物、过氧化物反应,产生大量的过氧化亚硝酸盐。而后者可形成有细胞毒作用的过氧亚硝酸,引起羟自由基毒性及由氨基酸硝化所致的蛋白质裂解。因而可认为 iNOS 能促进 AS 的发生。

内皮内分泌功能的另一方面则是分泌 ET。AS 时 ET-1 明显增高[10],本实验结果亦如此。Iwasa S 等[11]证实人 AS 病损处免疫活性的 ET-1 显著增加,表明 ET-1 参与了 AS 的发生过程。

3.2 虎杖可调节高脂血症 AS 兔紊乱的 NOS 系统、保护血管内皮功能、降低 AS 病变程度

对不同剂量 HZ 组的血管内皮功能多方位检测,其结果均显示,HZ 呈剂量依赖性改善 EDD。MHZ 组于喂养 4 周时、LHZ 组于喂养 8 周时在体 EDD 才发生障碍,较 HC 组出现 EDD 障碍时间明显为晚,与离体动脉条结果一致[6],且 LHZ 组效应达到了与 Arg 相当的程度;血清 NO、血浆 ET-1 水平和 NOS 活性均呈剂量依赖性降低,LHZ 组<MHZ 组<SHZ 组,而 Arg 组血清 NO 有所增高、ET 明显降低,但 NOS 活性与 HC 组比较无明显变化;腹主动脉壁内皮细胞 NOS 活性和 eNOS mRNA 表达呈剂量依赖性升高,中层细胞 NOS 活性和 iNOS mRNA 表达呈剂量依赖性降低,而 Arg 组 NOS 活性和 NOS mRNA 表达与 HC 组差异不明显。病理结果显示,MHZ 组和 LHZ 组胸主动脉 AS 斑块面积已明显减小,LHZ 组 AS 病变程度减轻达到与 Arg 组相当的程度。

综上可见,虎杖能显著改善血管内皮依赖性舒张功能,降低胸主动脉 AS 斑块面积。其作用机理在于虎杖能提高 eNOS mRNA 的表达及其酶活性,降低 AS 时明显活跃的 iNOS mRNA 表达及其酶活性。

参 考 文 献

[1] Zeiher AM, Drexler H, Saurbier B, et al. Endothelium-mediated coronary blood flow modulation in humans. Effects of age, atherosclerosis, hypercholesteolemia, and hypertension[J]. J Clin Invest, 1993;92(2):652-662.

[2] Aliev G, Smith MA, Turmaine M, et al. Atherosclerotic lesions are associated with increased immunoreactivity for inducible nitric oxide synthase and endothelin-1 in thoracic aortic intimal cells of hyperlipidemic watanabe rabbits[J]. Exp Mol Pathol, 2001;71(1):40-54.

[3] Boger RH, Bode-Boger SM, Sydow K, et al. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, is elevated in monkeys with hyperhomocyst(e)-inemia or hypercholesterolemia[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000;20(6):1557-1564.

[4] 王跃忠,骆苏芳,张佩文,等.3,4',5-三羟基芪-3-β-单-D-葡萄糖苷减轻动脉内皮损伤性血栓形成的作用[J].中国药理学报,1995;16(2):159-162.

[5] 吴坤莹,黄巧冰,赵克森.TNF 单抗与虎杖甙对休克微循环的保护作用[J].中国病理生理杂志,1998;14(3):273.

[6] 秦 俭,陈运贞,黄晓玲,等.高胆固醇高脂喂养兔血管内皮功能的超声检测[J].重庆医科大学学报,2003;28(1):25-28.

[7] 李亚俊,宋剑南,周瑕菁,等.脂泰胶囊对实验性动脉粥样硬化家兔内皮素及一氧化氮合酶基因表达的影响[J].中国动脉硬化杂志,1999;7(1):4-8.

[8] Depre C, Havaux X, Renkin J, et al. Expression of inducible nitric oxide synthase in human coronary atherosclerotic plaque[J]. Cardiovasc Res, 1999;41(2):465-472.

(下转第 524 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

于经典的抑癌基因。不少国外学者[4,5]研究显示 p73 基因表达与多种人类肿瘤的发生、发展、生物学行为和预后密切相关。P73α 是 p73 基因的一种羧基末端切状异构体,有 636 个氨基酸,以全长形式表达,能诱导 p21 蛋白的生成,抑制正常和转化细胞的生长,促进凋亡[1];还能通过其他途径促进凋亡[7,8]。

本组结果显示乳腺癌组织中 p73α 阳性检出率显著高于乳腺纤维腺瘤组织与正常乳腺组织($P<0.05$);乳腺癌组织中 p73α 阳性表达与 p53 蛋白的表达具有正相关关系($P<0.05$),而与 p21 蛋白的表达无明显关系($P>0.05$);p73α 阳性表达的病例大多具有 3 个以上的淋巴结转移,且 p73α 的表达在Ⅰ+Ⅱ期和Ⅲ+Ⅳ期之间差异具有显著性意义($P<0.05$)。说明乳腺癌中存在 p73α 的表达上调,p73α 的表达上调与乳腺癌的发生、发展及临床行为较恶性相关,p73α 的阳性表达也许能作为乳腺癌临床 TNM 分期的一个指标。p21 基因编码一个富含精氨酸的 164 个氨基酸的蛋白质,通过与 CDK2 或 PCNA 结合,抑制细胞周期停滞 G1 期;p73α 能诱导 p21 蛋白的生成,抑制正常和转化细胞的生长,促进凋亡[1];本组结果未能显示出 p73α 与 p21 具有相关性($P>0.05$),可能与 p73α 能通过其他途径促进凋亡及其他基因也能诱导 p21 蛋白的产生有关。

野生型 p53 基因突变是乳腺癌发生的早期信号,并贯穿乳腺癌发展演变的整个过程。Tannapfel 等[5]认为 p73 基因的表达上调可能是对野生型 p53 基因功能丧失的一种补偿。Zwahlen 等[9]研究发现卵巢癌较卵巢良性肿瘤有 p73α 的高水平表达,且 p73α 的表达与 p53 蛋白的表达有相关性;因为 p73α 有促进凋亡的作用,而突变型 p53 蛋白与 p73α 结合能抑制 p73α 促进凋亡的能力,因此 p73α 以反馈的机制表达上调来代偿 p73 基因功能的丧失。在本组研究也发现 p73α 的阳性表达与 p53 蛋白阳性表达有正相关关系($P<0.05$),因此推测可能是由于野生型 p53 基因的突变或其他基因的异常导致 p73α 的表达上调,参与了乳腺癌的发生、发展过程。

参 考 文 献

[1] Kaghad M, Bonnet H, Yang A, et al. Monoallelically expressed gene related to p53 at 1p36, a region frequently deleted in neuroblastoma and other human cancers[J]. Cell, 1997; 90(4): 809-819.

[2] Zaika AI, Kovalev S, Marchenko ND, et al. Overexpressed of the wild type p73 gene in breast cancer tissues and cell lines [J]. Cancer Res, 1999; 59(13): 3257-3263.

[3] Tokuchi Y, Hashimoto T, Kobayashi Y, et al. The expression of p73 is increased in lung cancer, independent of p53 gene alteration[J]. Br J Cancer, 1999; 80(10): 1623-1629.

[4] Sun XF. P73 overexpression is a prognostic factor in patients with colorectal adenocarcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2002; 8(1): 165-170.

[5] Tannapfel A, Wasner M, Krause K, et al. Expression of p73 and its relation to histopathology and prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. J Natl Cancer Inst, 1999; 91(13): 1154-1158.

[6] Weber A, Bellmann U, Bootz F, et al. Expression of p53 and its homologues in primary and recurrent squamous cell carcinomas of the head and neck[J]. Int J Cancer, 2002; 99(1): 22-28.

[7] Agami R, Blandino G, Oren M, et al. Interaction of c-Abl and p73α and their collaboration to induce apoptosis[J]. Nature, 1999; 399(6738): 809-813.

[8] Irwin M, Marin MC, Phillips AC, et al. Role for the p53 homologue p73 in E_2F-1-induced apoptosis [J]. Nature, 2000; 407(6804): 645-648.

[9] Zwahlen D, Tschan MP, Grob TJ, et al. Differential expression of p73 splice variants and protein in benign and malignant ovarian tumours[J]. Int J Cancer, 2000; 88(1): 66-70.

(上接第 504 页)

[9] Esaki T, Hayashi T, Muto E, et al. Expression of inducible nitric oxide synthase and Fas/Fas ligand correlates with the incidence of apoptotic cell death in atheromatous plaques of human coronary arteries[J]. Nitric Oxide, 2000; 4(6): 561-571.

[10] Cardillo C, Kilcoyne CM, Cannon RO 3rd, et al. Increased activity of endogenous endothelin in patients with hypercholesterolemia[J]. J Am Coll Cardiol, 2000; 36(5): 1483-1488.

[11] Iwasa S, Fan J, Shimokama T, et al. Increased immunoreactivity of endothelin-1 and endothelin B receptor in human atherosclerotic lesions. A possible role in atherogenesis [J]. Atherosclerosis, 1999; 146(1): 93-100.