

研究论文

## 血管紧张素 II 上调自发性高血压大鼠和 Wistar-Kyoto 大鼠血管平滑肌细胞外信号调节激酶的信号转导

朱建华, 刘 忠, 黄朝阳\*, 李 闪

浙江大学医学院附属第一医院, 杭州 310003

**摘要:** 本文研究血管紧张素 (angiotensin, Ang) 对自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rat, SHR)和 Wistar-Kyoto (WKY)大鼠血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated protein kinases, ERKs)信号途径的影响。体外培养 SHR 和 WKY 大鼠的 VSMCs, 先在培养基中加入终浓度为  $1 \times 10^{-5}$  mmol/L 的缬沙坦或  $1 \times 10^{-5}$  mmol/L 的 PD98059 或不加药物, 再给予  $1 \times 10^{-7}$  mmol/L 的 Ang 刺激 24 h 后收集细胞, 以无血清培养基培养的 VSMCs 作对照。用免疫沉淀法测定 ERK 活性; 用 Western-blot 方法检测总 ERK (total ERK, t-ERK)、磷酸化 ERK (phosphorylated-ERK, p-ERK)及丝裂素活化蛋白激酶磷酸酶-1 (mitogen-activated protein kinases phosphatase-1, MKP-1)水平; 用 RT-PCR 法半定量测定 MKP-1 mRNA 的含量。结果显示: (1) SHR 和 WKY 大鼠 Ang 刺激组 VSMCs 中 ERK 活性、p-ERK、MKP-1 及 MKP-1 mRNA 水平均明显高于对照组( $P < 0.05$ ); SHR 和 WKY 大鼠 Ang + 缬沙坦组和 Ang + PD98059 组的上述指标与对照组比较均无显著性差异。 (2) SHR 大鼠 VSMCs 中 ERK 活性、p-ERK、MKP-1 及 MKP-1 mRNA 均显著高于相同干预的 WKY 大鼠( $P < 0.01$ )。 (3) SHR 和 WKY 大鼠之间以及对照组、Ang 刺激组、Ang + 缬沙坦组和 Ang + PD98059 组间 VSMCs 中 t-ERK 水平均无显著性差异。以上结果表明, Ang 可能主要通过其 I 型(Ang type 1, AT<sub>1</sub>)受体激活 SHR 和 WKY 大鼠 VSMCs 中 ERK 途径, 增加 ERK 活性和 p-ERK 蛋白水平, 继而引起 MKP-1 及 MKP-1 mRNA 水平升高。

**关键词:** 血管紧张素; 丝裂素活化蛋白激酶; 细胞外信号调节激酶; 血管平滑肌细胞; 大鼠; 自发性高血压  
**中图分类号:** Q254; R544.1

## Effects of angiotensin on extracellular signal-regulated protein kinases signaling pathway in cultured vascular smooth muscle cells from Wistar-Kyoto rats and spontaneously hypertensive rats

ZHU Jian-Hua, LIU Zhong, HUANG Zhao-Yang\*, LI Shan

Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China

**Abstract:** The aim of this study was to investigate the effects of angiotensin (Ang) on extracellular signal-regulated protein kinase (ERK) signaling pathway in cultured vascular smooth muscle cells (VSMCs) from spontaneously hypertensive rats (SHR) and Wistar-Kyoto (WKY) rats. VSMCs from SHR and WKY rats were treated with  $1 \times 10^{-7}$  mmol/L Ang for 24 h in the absence or presence of 30 min of pre-treatment of valsartan ( $1 \times 10^{-5}$  mmol/L) or PD98059 ( $1 \times 10^{-5}$  mmol/L), selective inhibitor of ERKs-dependent pathways, when they were cultured in 20% calf serum medium. VSMCs of SHR and WKY cultured in serum-free medium were used as control groups. Among the different treatments, VSMCs from the SHR and WKY were divided into four groups: (1) control, (2) Ang, (3) Ang + valsartan, (4) Ang + PD98059. ERK activity in VSMCs was measured by immuno-precipitation. Proteins of total ERK (t-ERK), phosphorylated-ERK (p-ERK) and mitogen-activated protein kinases phosphatase-1 (MKP-1) in VSMCs were detected by

Received 2005-01-05 Accepted 2005-04-25

This work was supported by the Science and Technology Committee of Zhejiang Province (No. 021107057) and the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No. M303874).

\*Corresponding author. Tel: +86-571-88967874; E-mail: huangchaoyang007@163.com

Western blot. MKP-1 mRNA in VSMCs was measured by RT-PCR. In VSMCs from WKY or SHR rats, ERK activity, p-ERK, MKP-1 and MKP-1 mRNA in Ang group were higher than those in control group ( $P < 0.05$ ). In both SHRs and WKYs, there were no significant differences in ERK activity, p-ERK, MKP-1 and MKP-1 mRNA among the control group, Ang + valsartan group and Ang + PD98059 group. ERK activity, p-ERK, MKP-1 and MKP-1 mRNA in SHRs were significantly higher than those in WKYs with same treatments ( $P < 0.01$ ). There was no significant difference in t-ERK among different groups and no difference in t-ERK between SHRs and WKYs ( $P > 0.05$ ). Our results show that Ang activates VSMCs ERK signaling pathways via Ang type 1 ( $AT_1$ ) receptors. Ang increased ERK activity and p-ERK, but not t-ERK, accompanied by an increase in MKP-1 mRNA expression and protein. Among the different treatments, ERK activity and p-ERK were higher in SHR than in WKY. Valsartan and PD98059 blocked Ang-stimulated ERK activation. These results suggest that ERK signaling pathway plays an important role in the pathogenesis of hypertension. The effect of Ang on SHR and WKY VSMCs' ERK signaling pathway may be mediated by  $AT_1$  receptors, enhancing ERK activity and the amount of p-ERK, and then increasing MKP-1 mRNA and its expression.

**Key words:** angiotensin ; mitogen-activated protein kinases; extracellular signal-regulated protein kinase; vascular smooth muscle cells; rats; spontaneously hypertensive

高血压时的血管重构、弹性降低等病理改变与血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)增殖密切相关。丝裂素活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)信号途径在机体的细胞生长、分化和增殖过程中发挥重要的调控作用<sup>[1]</sup>。MAPK 由 p38-MAPK, C-jun N 末端激酶(C-jun N-terminal kinases, JNKs)和细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinases, ERKs)三类同功酶组成,在高血压的病理生理改变中又以 ERKs 的作用最为相关<sup>[2]</sup>。ERKs 主要有 ERK1 和 ERK2 两种同工酶,磷酸化 ERK (phosphorylated-ERK, p-ERK)是其活性形式。具有双效性的丝裂素活化蛋白激酶磷酸酶-1 (mitogen-activated protein kinases phosphatase-1, MKP-1)被 p-ERK 活化,活化的 MKP-1 又通过去磷酸化作用使 p-ERK 失活以保持 ERK 信号途径的平衡<sup>[3]</sup>。

血管紧张素 (angiotensin, Ang)具有刺激血管收缩、VSMCs 增殖和胶原合成等广泛的生物学效应,在高血压的发生和发展过程中起着重要的作用。在体实验表明,血管紧张素转换酶抑制剂和 Ang 受体阻滞剂可以通过降低 ERK 活性而抑制血管重塑<sup>[4]</sup>。离体实验也表明,Ang 对 VSMCs 增殖及 DNA 合成有促进作用,且其作用与 MAPK 信号途径激活有关<sup>[5]</sup>。但 Ang 在激活 VSMCs 内 ERK 信号途径时,是 ERK 蛋白总量增加还是仅有 p-ERK 增加, MKP-1 在 VSMCs 增殖中的作用及 Ang 对 MKP-1 的影响如何,以及 Ang 对不同种系大鼠 ERK 信号途径有何不同影响等问题尚不明确。

缬沙坦是一种 Ang 1 型(Ang type 1,  $AT_1$ )受体阻滞剂,PD98059 则可通过抑制 ERK 上游分子

MAPK/ERK 激酶(MAPK/ERK kinase, MEK)的活化以阻断 ERK 信号途径。本文拟通过观察 Wistar-Kyoto (WKY)大鼠和自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rat, SHR) VSMCs 在 Ang 刺激下 ERK 活性、总 ERK (total ERK, t-ERK)、p-ERK、MKP-1 及 MKP-1 mRNA 水平的变化,以及缬沙坦和 PD98059 对 Ang 刺激下的 ERK 信号途径的作用,了解 ERK 信号途径在高血压发生发展过程中的作用机制及 Ang 对此信号途径的影响。

## 1 材料和方法

**1.1 材料与试剂** 雄性 8 周龄的 SHR 和 WKY 大鼠各 4 只,重量在 180~200 g,购自中国科学院上海实验动物中心。兔抗鼠 t-ERK 多克隆抗体、小鼠抗大鼠 p-ERK 单克隆抗体、辣根酶标记山羊抗兔和山羊抗鼠 IgG 二抗以及强化的化学发光试剂(enhanced chemiluminescence, ECL)均购自 Santa Cruz 公司;兔抗鼠 MKP-1 单克隆抗体、苯甲磺酰氟(phenyl-methylsulfonyl fluoride, PMSF)、抑肽酶(aprotinin)、亮肽素(leupeptin)、Ang 和 5-溴脱氧尿嘧啶核苷(5-bromo-2'-deoxyuridine, BrdU)购自 Sigma 公司,DMEM 培养基购自 Gibco 公司,TRIzol 购自 Invitrogen 公司,M-MLV 逆转录酶和 PD98059 购自 Promega 公司,PVDF 膜和蛋白 A 的琼脂糖珠子购自 Amersham 公司,ERK1/2 活性测定试剂盒购自 Chemicon 公司,ERK 标准蛋白购自 New England Biolab 公司,引物由上海生物工程公司合成,胎牛血清购自杭州四季青公司,缬沙坦由诺华公司馈赠,其余试剂均购自上海生物工程公司。

**1.2 大鼠 VSMCs 的原代培养** 采用文献报道的

组织贴块法<sup>[6]</sup>, 在无菌条件下分离大鼠胸主动脉, 剪碎后加入含有 20% 胎牛血清的 DMEM 培养液, 在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵育箱中静置培养。待细胞生长融合至 75%~95% 培养皿时, 用 0.25% 胰蛋白酶消化传代增殖。用平滑肌  $\alpha$ -actin 免疫组化染色鉴定细胞, 胞浆有棕黄色颗粒者为阳性, 证明为 VSMCs, 3~5 代细胞用于本实验。在传代过程中, 细胞以  $5 \times 10^5$  个/ml 接种于 6 孔板培养板上。实验前 48 h 换成不含血清的 DMEM, 使细胞处于静止状态。在培养基中加入终浓度为  $1 \times 10^{-5}$  mmol/L 的缬沙坦或  $1 \times 10^{-5}$  mmol/L 的 PD98059 或不加药物预处理 30 min, 再予  $1 \times 10^{-7}$  mmol/L 的 Ang 刺激 24 h 后收集细胞, 以无血清培养基培养的 VSMCs 作对照, 每组实验重复 4 次。SHR 和 WKY 大鼠的 VSMCs 各分 4 组: (1) 对照组; (2) Ang 刺激组; (3) Ang + 缬沙坦组; (4) Ang II+PD98059 组。

### 1.3 样品的获取

**1.3.1 蛋白提取** 用冰冷的 PBS 洗 VSMCs 2 次, 倒净 PBS。加入 0.4 ml 裂解液冰上裂解 30 min, 其组成为: Tris-HCl 50 mmol/L, pH 8.0; NaCl 150 mmol/L; EDTA 0.5 mmol/L; DTT 1 mmol/L; NP-40 1%; 脱氧胆酸钠 0.5%; SDS 0.1%; PMSF 100 mg/L; 抑肽酶 1 mg/L; 亮肽素 2 mg/L; 钼酸钠 100  $\mu$ mol/L。用塑料刮勺刮下细胞, 吹打后将细胞悬液和碎片移入 1.5 ml Eppendorf 管中, 4℃, 12 000 g 离心 10 min, 取上清, 用 Folin 酚法进行蛋白定量后保存于 -70℃。

**1.3.2 总 RNA 的提取** 用 TRIzol 试剂一步法提取总 RNA, 溶解于 20  $\mu$ l DEPC 水中, 在 Smart Spec 3000 分光光度计上测定  $A_{260/280}$  比值为 1.8~2.0, 并分别测定浓度后保存于 -70℃。

**1.4 ERK1/2 活性测定** 免疫沉淀法纯化蛋白并用 ERK1/2 试剂盒测定 ERK 的活性。取 0.5 ml 蛋白样本, 加入抗 p-ERK 抗体 10  $\mu$ l, 在 4℃ 孵育 12 h。加入 20  $\mu$ l 50% (V/V) 蛋白 A 的琼脂糖珠子, 4℃ 孵育 2 h。2 000 g, 4℃ 离心 1 min, 弃去上清液, 加入 1 ml 裂解液重悬珠子, 4℃ 孵育 10 min 后离心; 重复 2 次, 其中第 3 次用适量的激酶活性测定缓冲液代替裂解液重悬。弃去上清液, 沉淀的蛋白进行激酶活性的测定, 在酶标仪 450 nm 处读取灰度 (optical density, OD) 值, 并根据 ERK 标准蛋白 OD 值绘制的标准曲线计算样本的 ERK 活性。

### 1.5 Western blot 法检测 t-ERK、p-ERK 和 MKP-

**1 蛋白表达** t-ERK 检测取 20  $\mu$ l 蛋白, p-ERK 和 MKP-1 检测取 40  $\mu$ l 蛋白, 加入上样缓冲液煮沸 3 min 变性后按文献报道的 Western blot 方法<sup>[7]</sup>, 完成十二磺基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 和蛋白转膜操作, 膜片分别与一抗 (兔抗鼠 t-ERK 多克隆抗体和小鼠抗大鼠 p-ERK 单克隆抗体, 稀释浓度为 1:1 000; 兔抗鼠 MKP-1 单克隆抗体, 稀释浓度为 1:5 000) 进行抗原抗体结合反应, 再与辣根酶标记二抗 (山羊抗兔或山羊抗鼠 IgG, 稀释浓度均为 1:10 000) 反应, 经适当洗涤, 膜片与 ECL 温浴 1 min, 保鲜膜包裹后, 经 X 光片曝光, 显影和定影, 显现特异的蛋白信号。用 GS-800 Calibrated Densitometer 激光光密度仪扫描, 结果用计算机 Meta Morph 程序分析。设内对照, 同一胶上被测蛋白与内对照所测 OD 值的比值, 即相对 OD 值代表蛋白的相对表达量。

### 1.6 RT-PCR 法检测 MKP-1 mRNA 的表达

#### 1.6.1 逆转录反应 (reverse transcription, RT)

两步法: RNA 样品 2  $\mu$ g、0.01 mmol/L Oligo(T)<sub>18</sub> 1  $\mu$ l、加 DEPC 水至 12  $\mu$ l 体积, 70℃ 水浴变性 5 min, 再加入 M-MLV 逆转录酶 200 U、5 $\times$  缓冲液 5  $\mu$ l、10 mmol/L dNTP 1.25  $\mu$ l、RNA 酶抑制剂 20 U、补 DEPC 水至 25  $\mu$ l 体积, 37℃ 水浴 1 h。

**1.6.2 PCR 反应体系** cDNA 3  $\mu$ l、Taq 酶 1.5 U、10 mmol/L dNTP 1  $\mu$ l、25 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 3  $\mu$ l、10 $\times$  缓冲液 4.7  $\mu$ l、MKP-1 的上游引物 5'-ATCTCC-CCCAACTTCAGCTT-3' 和下游引物 5'-TGATGGG-GCTTTGAAGGTAG-3' 各 4  $\mu$ l (浓度均为 0.01 mmol/L)、 $\beta$ -actin 的上游引物 5'-CACGGCATTGTAACCAACTG-3 和下游引物 5'-TCTCA-GCTGTGGTGGTGAAG-3' 各 4  $\mu$ l (浓度均为 0.01 mmol/L), 补 DEPC 水至 50  $\mu$ l 体积。PCR 反应条件为: 预变性 94℃ 5 min; 变性 94℃ 30 s、退火 55℃ 30 s、延伸 72℃ 1 min, 循环 26 次; 72℃ 延伸 7 min。

**1.6.3 琼脂糖电泳** PCR 产物于 2% 琼脂糖凝胶电泳, MKP-1 202 bp、 $\beta$ -actin 400 bp, 用凝胶图像分析系统进行灰度扫描, 以  $\beta$ -actin 为内参照作半定量分析, 比较不同年龄组的 SHR 和 WKY 大鼠 VSMCs 的 MKP-1/ $\beta$ -actin 灰度比值。

**1.7 统计处理** 实验数据以 mean $\pm$ SD 表示, 用 SPSS 10.0 统计软件包进行成组 *t* 检验和单因素方差分析 (ANOVA) 及 Student-Newman-Keuls 法作显著性分析。P<0.05 为具有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 各组 VSMCs 中 ERK 活性水平比较

SHR和WKY大鼠VSMCs Ang 刺激组ERK活性水平均高于对照组、Ang + 缬沙坦组和Ang +PD98059组( $P<0.01$ ); Ang + 缬沙坦组及Ang +PD98059组ERK活性与对照组比较无明显差异。各组SHR大鼠VSMCs中ERK活性水平均显著高于相同干预的WKY大鼠( $P<0.01$ ),SHR对照组VSMCs ERK活性比WKY对照组增加1.7倍( $P<0.01$ )(图1)。

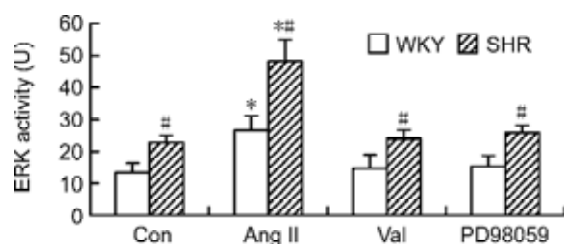


图 1. WKY 和 SHR 大鼠 VSMCs 中 ERK 活性的变化

Fig.1. Change of ERK activity in VSMCs from SHR and WKY rats. Con, control group; Ang , Ang group; Val, Ang + valsartan groups; PD98059, Ang + PD98059 group.  $n=4$ . \* $P<0.01$  vs Con, # $P<0.01$  vs WKY group with same treatment.

### 2.2 各组 VSMCs 中 t-ERK 水平比较

SHR和WKY大鼠4组VSMCs中t-ERK水平无明显差异,提示不同干预对大鼠VSMCs的t-ERK水平无明显影响;SHR和WKY大鼠间VSMCs中t-ERK水平也无差异(表1)。

表 1. 各组大鼠 VSMCs 中 t-ERK 表达

Table 1. t-ERK expression in VSMCs from rats in different groups ( $n=4$ )

Group	WKY	SHR
Control group	0.96±0.09	1.07±0.17
Ang group	1.06±0.19	1.05±0.12
Ang + valsartan group	0.99±0.23	1.04±0.20
Ang + PD98059 group	1.03±0.24	1.06±0.19

### 2.3 各组 VSMCs 中 p-ERK 水平比较

SHR和WKY大鼠VSMCs Ang 刺激组p-ERK水平均高于对照组、Ang + 缬沙坦组和Ang +PD98059组( $P<0.05$ ); Ang + 缬沙坦组及Ang +PD98059组, p-ERK水平与对照组比较无显著差异。另外, 各组SHR大鼠VSMCs中p-ERK水平均显著高于相同干预的WKY大鼠( $P<0.01$ )(图2)。

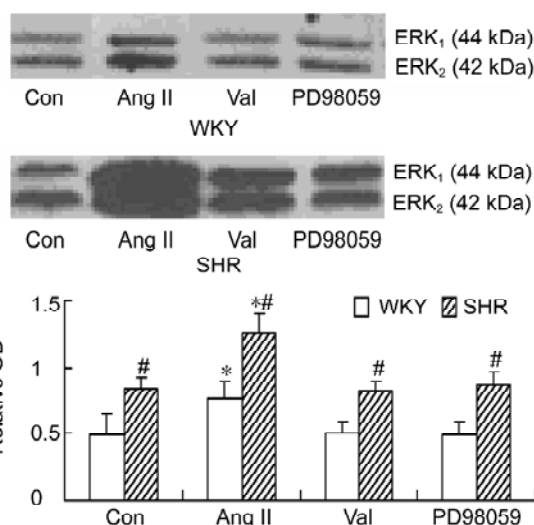


图 2. 各组大鼠 VSMCs 中 p-ERK 的活性

Fig.2. p-ERK activity in VSMCs from rats in different groups.  $n=4$ . \* $P<0.01$  vs Con, # $P<0.01$  vs WKY group with same treatment.

### 2.4 各组 VSMCs 中 MKP-1 水平比较

SHR和WKY大鼠VSMCs Ang 刺激组MKP-1水平均高于对照组、Ang + 缬沙坦组和Ang +PD98059组( $P<0.05$ ); Ang + 缬沙坦组及Ang +PD98059组MKP-1水平与对照组比较无显著差异。各组SHR大鼠VSMCs中MKP-1水平均显著高于相同干预的WKY大鼠( $P<0.01$ )(图3)。

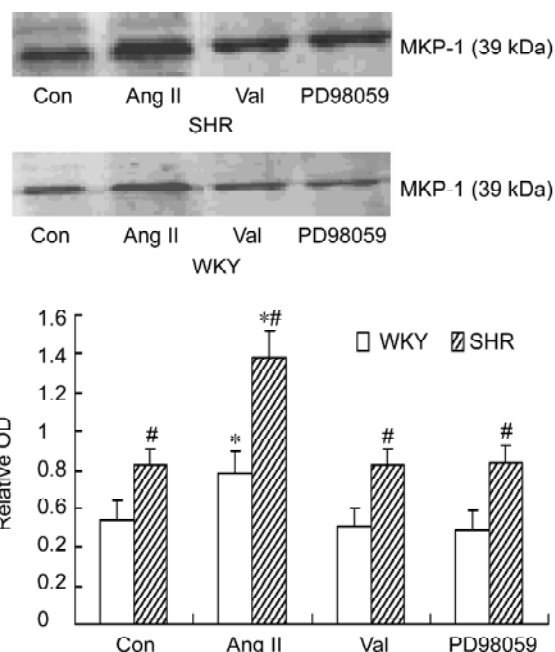


图 3. 各组大鼠 VSMCs 中 MKP-1

Fig.3. MKP-1 level in VSMCs from rats in different groups.  $n=4$ . \* $P<0.05$  vs Con, # $P<0.01$  vs WKY group with same treatment.

## 2.5 各组 VSMCs 中 MKP-1 mRNA 水平比较

SHR 和 WKY 大鼠 VSMCs Ang 刺激组 MKP-1 mRNA 水平均高于对照组、Ang + 缬沙坦组和 Ang + PD98059 组 ( $P < 0.05$ ); Ang + 缬沙坦组及 Ang + PD98059 组 MKP-1 mRNA 水平与对照组比较无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。另外, 各组 SHR 大鼠 VSMCs 中 MKP-1 mRNA 水平均显著高于相同干预的 WKY 大鼠 ( $P < 0.01$ ) (图 4)。

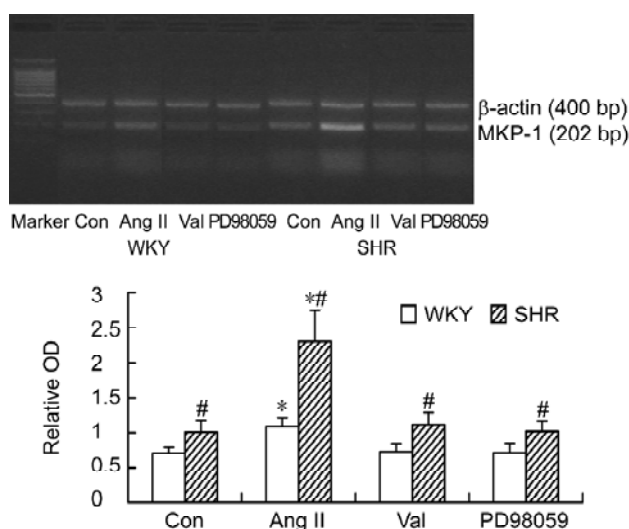


图 4. 各组大鼠 VSMCs 中 MKP-1 mRNA 含量

Fig.4. MKP-1 mRNA level in VSMCs from rats in different groups.  $n=4$ . \* $P < 0.05$  vs Con, # $P < 0.01$  vs WKY group with same treatment.

## 3 讨论

原发性高血压的生理病理过程主要包括 VSMCs 的增生和肥大, 以及细胞外基质合成增加和重排等, 越来越多的研究表明 MAPKs 的激活可能在 VSMCs 增殖过程中起重要作用<sup>[8]</sup>。ERK 信号途径则被认为是经典的 MAPK 信号途径, 与 VSMCs 增殖关系最为密切。

Ang 是肾素-血管紧张素系统的重要作用因子, 不仅是一种血管收缩剂, 还是一种促生长因子<sup>[6]</sup>。我们的研究表明, 经 Ang 刺激后, SHR 和 WKY 大鼠 VSMCs 中 ERK 活性、p-ERK 水平均增加, 但 t-ERK 水平却没有变化。这提示在 Ang 激活大鼠 VSMCs 的 ERK 信号途径过程中, ERK 的总量并未变化, 而是其活化形式增加了。各组 SHR 大鼠 VSMCs 中 ERK 活性和 p-ERK 水平均显著高于相同干预的 WKY 大鼠, 这可能是因为基础状态下 SHR 有较高

的 Ang, Ang 激活了 ERK 途径。缬沙坦和 PD98059 可以抑制 Ang 对 ERK 信号途径的激活, 提示 Ang 主要通过 AT<sub>1</sub> 受体激活 ERK 信号途径。

在基础情况下, 细胞缺乏 MKP-1, 激活的 MAPK 可以诱导 MKP-1 表达, MKP-1 又反馈调节 MAPK 的活性, 这对于维持心血管组织稳态平衡有重要作用<sup>[9]</sup>。本实验表明, 经 Ang 刺激后, WKY 和 SHR 大鼠 VSMCs 中 MKP-1 和 MKP-1 mRNA 水平均较对照组增加, 其机制可能是 Ang 使大鼠 VSMCs 中 ERK 活性增加, 从而反馈引起 MKP-1 的升高; 另外, p-ERK 还能增加 MKP-1 稳定性, 减少 MKP-1 降解<sup>[10]</sup>。缬沙坦和 PD98059 抑制了 ERK 活性程度后, 同时也抑制了 MKP-1 的水平。PD98059 主要通过抑制 ERK 上游分子 MEK 的激活使 ERK 活性降低, 不直接影响 Ang II 的作用, 这提示 Ang 主要不是直接调节 MKP-1 的水平。

上述研究显示: Ang 主要通过 AT<sub>1</sub> 受体激活 WKY 和 SHR 大鼠 VSMCs 中 ERK 途径, 增加 ERK 活性和 p-ERK 蛋白水平, 继而引起 MKP-1 及 MKP-1 mRNA 水平升高, 但对 ERK 蛋白总量没有影响; 缬沙坦和 PD98059 可以阻断 Ang 对 ERK 信号途径的影响。SHR 大鼠 VSMCs 中 ERK 活性、p-ERK、MKP-1 及 MKP-1 mRNA 均显著高于 WKY 大鼠, 提示 ERK 信号途径在高血压的病理过程中起重要的作用。

## 参考文献

- 1 Aroor AR, Shuklar SD. MAP kinase signaling in diverse effects of ethanol. *Life Sci* 2004; 74(19): 2339-2364.
- 2 Purcell NH, Darwis D, Bueno OF, Muller JM, Schule R, Molkenkin JD. Extracellular signal-regulated kinase 2 interacts with and is negatively regulated by the LIM-only protein FHL2 in cardiomyocytes. *Mol Cell Biol* 2004; 24(3): 1081-1095.
- 3 Communal C, Colucci WS, Remondino A, Sawyer DB, Port JD, Wichman SE, Bristow MR, Singh K. Reciprocal modulation of mitogen-activated protein kinases and mitogen-activated protein kinase phosphatase 1 and 2 in failing human myocardium. *J Card Fail* 2002; 8(2): 86-92.
- 4 El Mabrouk M, Touyz RM, Schiffrin EL. Differential ANG-induced growth activation pathways in mesenteric artery smooth muscle cells from SHR. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 281(1): 30-39.
- 5 Hong HJ, Chan P, Liu JC, Juan SH, Huang MT, Lin JG, Cheng TH. Angiotensin induces endothelin-1 gene expression via extracellular signal-regulated kinase pathway in rat aortic smooth muscle cells. *Cardiovasc Res* 2004; 61(1): 159-168.

- 6 Touyz RM, Wu XH, He G, Salomon S, Schiffrin EL. Increased angiotensin II-mediated Src signaling via epidermal growth factor receptor transactivation is associated with decreased C-terminal Src kinase activity in vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2002; 39(2 Pt 2): 479-485.
- 7 Yin F (尹峰), Zhu Y, Li P, Han QD, Zhang YY. Isoproterenol-induced activation of MAPK, NF $\kappa$ B and JAK/STAT pathway in mouse myocardium. *Acta Physiol Sin (生理学报)* 2003; 55(4): 449-453 (Chinese, English abstract).
- 8 Wang TH (王庭槐), Tan Z, Fu XD, Yang D, Hu FX, Li YY. Effect of ERK on 17 $\beta$ -estradiol-induced inhibition of VSMC proliferation in rats after vascular injury. *Acta Physiol Sin (生理学报)* 2003; 55(4): 411-416 (Chinese, English abstract).
- 9 Lin YW, Chuang SM, Yang JL. ERK 1/2 achieves sustained activation by stimulating MAPK phosphatase-1 degradation via the ubiquitin-proteasome pathway. *J Biol Chem* 2003; 278(24): 21534-21541.
- 10 Brondello JM, Pouyssegur J, McKenzie FR. Reduced MAP kinase phosphatase-1 degradation after p42/p44MAPK-dependent phosphorylation. *Science* 1999; 286(5449): 2514-2517.

\* \* \* \* \*

#### • 征订启事 •

### 《医学研究生学报》征订、征稿启事

《医学研究生学报》为国家科技部中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),大16开,96页,月刊,每期定价8元,全年96元。

该刊被《中国期刊网》、《中国学术期刊(光盘版)》、《中国科技资料目录(医学)》、《中国生物医学文献光盘数据库》、《中国科技期刊数据库》、《中国期刊全文数据库》、《中文科技资料目录—医药卫生》、《中国学术期刊综合评价数据库》等多种数据库全文收录。

该刊优先刊登各类基金资助课题论文、研究生毕业论文,尤其是对国家自然科学基金资助课题论文会以最快速度刊用。自2005年起增设“导师论坛”,欢迎医学院士、导师们赐稿。

欢迎订阅、欢迎交换、欢迎投稿。凡在当地邮局逾期未订者,可直接汇款到本刊编辑部订购。

邮发代号:28-280 邮编:210002

地址:南京市中山东路305号《医学研究生学报》编辑部

电话:(025)80860347 传真:(025)84805383

网址:<http://JLYB.chinajournal.net.cn>

E-mail: JLYB@chinajournal.net.cn