

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.07.006

粉防己碱对先天性膈疝大鼠模型胎仔肺 Rho/Rho 激酶表达的影响和意义*

周 昉,党红星,陈应富,白 科,方 芳,许 峰[△]

(重庆医科大学附属儿童医院重症医学科/儿童发育疾病研究教育部重点实验室/儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地/儿科学重庆市重点实验室 400014)

[摘要] **目的** 探讨中药粉防己碱(TET)产前干预对先天性膈疝(CDH)大鼠模型胎仔肺内 RhoA 蛋白和 Rho 激酶表达的影响和意义。**方法** 将孕 9.5 d 的 SD 雌鼠随机分为对照组、膈疝组和 TET 组,给予膈疝组和 TET 组除草醚灌胃建立 CDH 动物模型。孕 16.5 d 给予 TET 进行干预。孕 21.5 d 剖宫产取出胎肺,测肺质量/体质量比(Lw/Bw),苏木素-伊红(HE)染色光镜下观察肺发育及肺血管情况,免疫组化和 Western blot 法检测 Rho 蛋白 A 及 Rho 激酶 ROCK1 的表达情况。**结果** 膈疝组胎肺明显发育不良,TET 组胎肺发育接近对照组。膈疝组肺发育指标 Lw/Bw、肺泡面积比(PAA%)及肺血管重构指标管腔面积与血管总面积比值(LA%)明显低于对照组(2.11 ± 0.36 vs. 4.24 ± 0.31 ; 33.60 ± 3.12 vs. 58.81 ± 2.92 ; 38.58 ± 2.15 vs. 61.20 ± 3.23 , 均 $P<0.05$)。TET 干预后 Lw/Bw、PAA%、LA% 指标较膈疝组明显改善(3.61 ± 0.24 vs. 2.11 ± 0.36 ; 42.46 ± 3.68 vs. 33.60 ± 3.12 ; 56.07 ± 3.32 vs. 38.58 ± 2.15 , 均 $P<0.05$)。膈疝组肺小动脉管壁厚度占血管外径百分比(WT%)和肺小动脉中膜厚度百分比(MT%)均明显高于对照组(26.64 ± 2.41 vs. 13.50 ± 1.45 ; 25.98 ± 2.79 vs. 16.47 ± 2.07 , 均 $P<0.05$)。TET 组 WT%、MT% 显著低于膈疝组(16.02 ± 2.35 vs. 26.64 ± 2.41 和 17.96 ± 1.95 vs. 25.98 ± 2.79 , 均 $P<0.05$)。免疫组化及 Western blot 检测提示,RhoA、ROCK1 表达由低到高为对照组、TET 组、膈疝组($P=0.000$)。**结论** 先天性膈疝胎仔肺内存在肺发育不良和肺血管重构,Rho/Rho 激酶信号通路参与此过程,产前给予 TET 可能通过调节 Rho/Rho 激酶信号通路发挥肺保护作用。

[关键词] 疝,横膈;先天畸形;粉防己碱;Rho/Rho 激酶;大鼠

[中图法分类号] R725.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)07-0883-04

Effect and significance of tetrandrine on expression of Rho/Rho kinase in fetal lung of congenital diaphragmatic hernia rats*

ZHOU Fang,DANG Hongxing,CHEN Yingfu,BAI Ke,FANG Fang,XU Feng[△]

(Department of Pediatric Intensive Care Unit,Affiliated Children's Hospital of Chongqing Medical University/Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders/China International Science and Technology Cooperation Base of Child Development and Critical Disorders/Chongqing Key Laboratory of Pediatrics,Chongqing 400014,China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect and significance of the traditional Chinese medicine tetrandrine(TET) prenatal intervention on the expression of RhoA protein and Rho kinase ROCK1 in the fetal lung of congenital diaphragmatic hernia (CDH) rat model. **Methods** SD female rats with 9.5 d of gestation were randomly divided into the control group,CDH group and TET group. The CDH group and TET intervention group were administered with nitrofen by gavage for establishing CDH model. The TET intervention was given on 16.5 d of gestation. The fetal rat lungs were taken by cesarean section on 21.5 d of gestation and the lung weight/body ratio(Lw/Bw) was measured. The lung development and small pulmonary arterial morphologic changes in HE staining in all groups were observed with microscopy. The protein expression of RhoA and Rho kinase ROCK1 were respectively examined by immunohistochemistry and Western blot. **Results** In the CDH group,the lungs had obvious maldevelopment and the fetal lung development in the TET group was close to that in the control group. The lung development indicators of Lw/Bw, PAA%,and lung vascular remodeling indicators of lumen area and vascular total area ratio(LA%) in the CDH group were significantly lower than those in the control group(2.11 ± 0.36 vs. 4.24 ± 0.31 ; 33.60 ± 3.12 vs. 58.81 ± 2.92 ; 38.58 ± 2.15 vs. 61.20 ± 3.23 , $P<0.05$),the indicators of Lw/Bw, PAA% and LA% after TET intervention were significantly improved compared with the CDH group(3.61 ± 0.24 vs. 2.11 ± 0.36 ; 42.46 ± 3.68 vs. 33.60 ± 3.12 ; 56.07 ± 3.32 vs. 38.58 ± 2.15 , all $P<0.05$); the ratio of small pulmonary artery wall thickness to vascular external diameter(WT%) and the medium thickness percentage (MT%) in CDH group were significantly higher than those in the control group(26.64 ± 2.41 vs. 13.50 ± 1.45 and 25.98 ± 2.79 vs. 16.47 ± 2.07 , $P<0.05$),WT% and MT% in the TET group were obviously lower than those in the CDH group (16.02 ± 2.35 vs. 26.64 ± 2.41 and 17.96 ± 1.95 vs. 25.98 ± 2.79 , $P<0.05$). The immunohistochemistry and Western blot detection indicated that the expressions of RhoA and ROCK1 from low to high were the control group <TET group < CDH group. **Conclusion** Pulmonary hypoplasia and lung vascular remodeling exist in fetal rats with CDH and Rho/Rho kinase signaling pathway may be involved

* 基金项目:重庆市教委科学技术研究项目(KJ1400229)。 作者简介:周昉(1980—),主治医师,博士,主要从事小儿心脏及呼吸重症研究。 [△] 通信作者,E-mail:xufeng9899@163.com。

in the process. Prenatally giving TET may play the lung protective effect by regulating the Rho/Rho signal pathway.

[Key words] hernia, diaphragmatic; congenital abnormalities; tetrandrine; Rho/Rho kinase; rat

先天性膈疝 (congenital diaphragmatic hernia, CDH) 发病率为 1/2 000~1/3 000, 病死率为 20%~60%^[1]。其死亡的主要原因是肺发育不良 (pulmonary hypoplasia, PH) 和持续性肺动脉高压 (persistent pulmonary hypertension, PPH)^[2]。目前对这些主要致死病因的处理仍是临床治疗 CDH 的瓶颈。探索致畸因素及诱发机制, 寻找积极有效的方法产前改善肺发育不良和肺动脉高压将是 CDH 基础与临床研究的重点及防治的重要突破口之一。既往研究表明, Rho/Rho 激酶信号传导通路主要参与了肺动脉高压的发病和肺纤维化形成, 而粉防己碱 (tetrandrine, TET) 也具有肺保护作用。本研究拟测定除草醚诱导的 CDH 大鼠模型肺组织中 Rho 蛋白 A 和 Rho 激酶 ROCK1 的水平及产前给予 TET 干预后的变化, 探讨 TET 肺保护作用的可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物模型建立和实验动物分组 SD 大鼠由陆军军医大学大坪医院实验动物中心提供, 雌雄鼠按 2:1 分笼定时配种, 以配种 12 h 后见到雌鼠阴道孕栓为孕 0.5 d。孕 9.5 d 将受孕成功的 15 只孕鼠随机分为 3 组: 对照组、膈疝组和 TET 组, 每组 5 只。采用除草醚灌胃法^[3] (除草醚购自浙江化工二厂, 每只 125 mg + 2 mL 橄榄油灌胃) 建立膈疝组与 TET 组 CDH 模型, 对照组予每只 2 mL 橄榄油灌胃。孕 16.5 d, TET 组给予 TET 灌胃 (TET 购自上海克拉玛尔试剂公司, 批号 ZY160301, 30 mg · kg⁻¹ · d⁻¹, 每日 1 次, 3 d), 对照组和膈疝组给予 2 mL/kg 孕鼠体质量生理盐水灌胃。本研究符合重庆医科大学实验动物伦理学标准。

1.1.2 胎肺标本收集 妊娠 21.5 d, 所有孕鼠在戊巴比妥钠 (0.04 g/kg) 腹腔注射麻醉下剖宫产, 取出胎鼠称质量后断头处死。再经胸骨正中切口剖胸, 完整取出左右两侧肺组织分别称质量, 计算胎鼠肺质量/体质量比 (Lw/Bw), 在放大镜下观察膈疝形成情况。

1.2 方法

1.2.1 胎肺组织形态学检查和免疫组化染色 每组随机取出 22 份胎肺标本 (每份含双侧肺组织) 常规固定、石蜡包埋, 切片 (同一张切片要包括每份标本的左右肺组织) 后行苏木素-伊红 (HE) 染色。使用 Image Pro Plus5.0 图像分析软件对光镜下图像计算反映肺泡与肺泡腔面积的百分比, 即肺泡面积比 (PAA%) 作为肺发育的形态学指标; 同时测定肺小动脉管壁厚度占血管外径百分比 (WT%)、中膜厚度百分比 (MT%) 及管腔面积与血管总面积比值 (LA%) 作为胎鼠肺血管形态学指

标, 并进行统计学分析。免疫组化染色采用 SP 法, 以磷酸盐缓冲液 (PBS) 代替一抗作为空白对照, 抗体采用 anti-RhoA 兔抗鼠多克隆抗体及 ROCK1 兔抗鼠单克隆抗体 (均购自英国 Abcam 公司)。细胞质或细胞膜出现棕黄色染色为阳性, 观察 RhoA、ROCK1 在各组胎鼠肺组织中的表达情况。用 Nikon 图像采集仪在 400 倍视野下计算阳性染色颗粒积分光密度 (IOD) 值, IOD 值与目的抗体表达强弱呈正相关。

1.2.2 Western blot 法检测胎肺组织 RhoA 蛋白及 Rho 激酶表达情况 实验 3 组分别取 10 份肺组织标本提取蛋白质, Bradford 法定量, 电泳、转膜、封闭加入抗体 RhoA 或 ROCK1 一抗 (均购自英国 Abcam 公司)、孵育后加二抗、DAB 显色。将目的条带蛋白表达量转换为内参照 β -actin 校正的灰度值进行定量分析。

1.3 统计学处理 用 SPSS19.0 统计软件进行统计学分析, 膈疝组和 TET 组致畸率比较采用 χ^2 检验, 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组比较采用方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胎鼠膈疝形成情况 对照组获得胎仔 49 只, 无膈疝形成; 膈疝组获胎仔 55 只, 形成膈疝 36 只, 致畸率 65.45%; TET 组获胎仔 51 只, 形成膈疝 32 只, 致畸率 62.75%; 除草醚总致畸率为 64.15%; 膈疝组和 TET 组的致畸率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。膈疝形成大多位于左侧 (共 56 只, 占膈疝总数的 83.82%), 疝内容物主要为胃、小肠, 其次为肝脏, 左侧膈疝中巨大膈疝共 21 只, 占左侧膈疝 37.5%; 右侧膈疝胎仔共 11 只, 均无巨大膈疝形成; 双侧膈疝 1 只。

2.2 胎肺形态学观察及肺发育的形态学指标检测结果 HE 染色观察, 对照组肺组织发育良好, 肺泡结构明显, 腺泡大, 肺泡间质薄而均匀, 呼吸性支气管末端呈囊泡状, 肺小动脉血管壁薄腔大, 内皮细胞分布均匀, 中膜无增厚; 膈疝组胎肺发育差, 肺泡少且小, 间质厚, 肺泡、肺泡管及肺泡囊呈假腺体样改变, 有明显肺发育不良表现, 肺小动脉血管肌层肥厚, 管壁明显厚且管腔窄; TET 组肺发育接近对照组, 好于膈疝组, 光镜下示肺泡变大, 肺泡间质变薄, 肺小动脉管壁变薄, 管腔狭窄程度较膈疝组减轻 (图 1)。实验各组肺发育的形态学指标 Lw/Bw、PAA%、肺小动脉 WT%、MT% 和 LA% 计算结果表明, 膈疝胎鼠存在肺发育不良和肺血管重构, TET 能有效地改善肺组织发育, 与膈疝组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

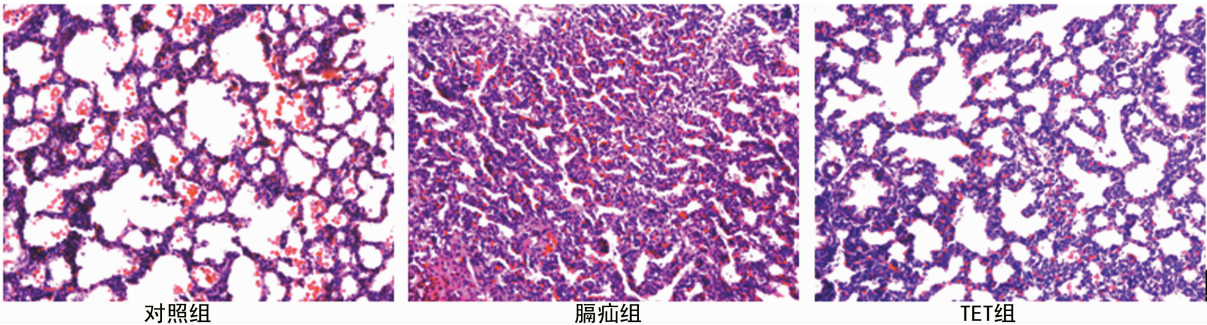


图 1 各组胎肺 HE 染色 (×200)

表 1 各组胎肺 Lw/Bw、PAA、WT、MT、LA 测定结果比较(̄±s)

组别	n	Lw/Bw	PAA%	WT%	MT%	LA%
对照组	22	4.24±0.31	58.81±2.92	13.50±1.45	16.47±2.07	61.20±3.23
膈疝组	22	2.11±0.36 ^a	33.60±3.12 ^a	26.64±2.41 ^a	25.98±2.79 ^a	38.58±2.15 ^a
TET 组	22	3.61±0.24 ^{ab}	42.46±3.68 ^{ab}	16.02±2.35 ^{ab}	17.96±1.95 ^{ab}	56.07±3.32 ^{ab}
F		253.17	339.697	238.399	108.428	355.571
P		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

^a:P<0.05,与对照组相比;^b:P<0.05,与膈疝组相比

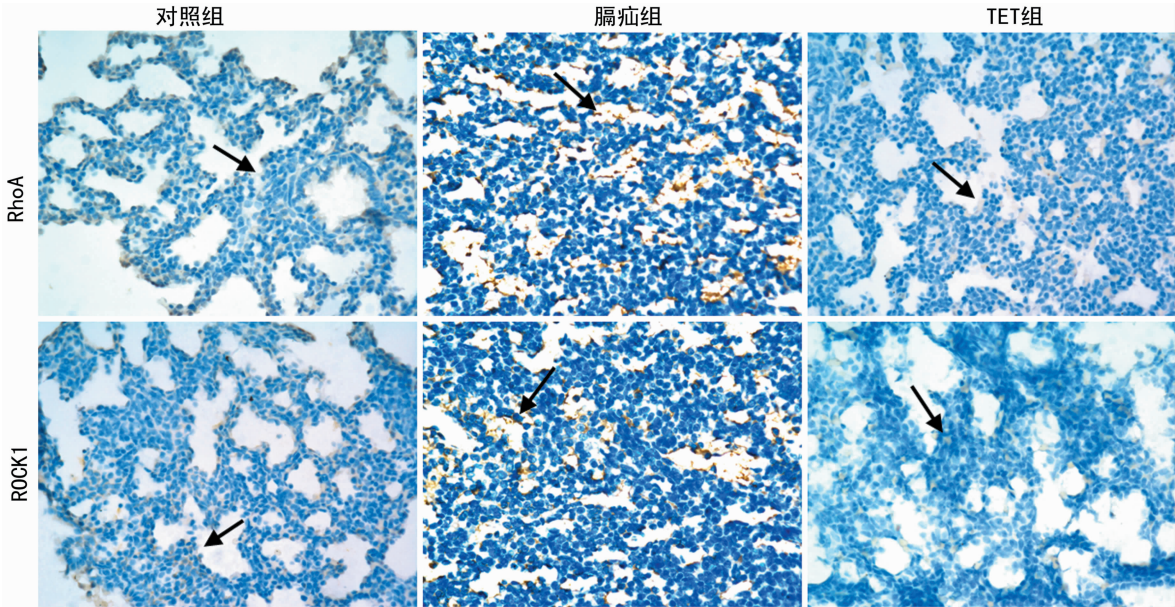
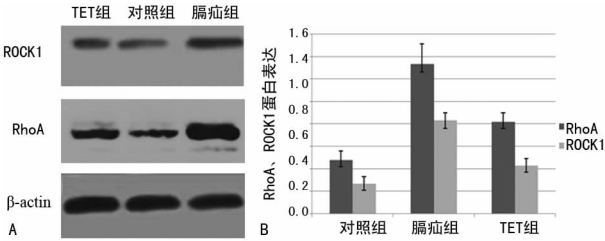


图 2 各组胎肺 RhoA 及 ROCK1 表达情况(免疫组化×400)

表 2 各组 RhoA、ROCK1 IOD 值和 RhoA 蛋白、ROCK1 蛋白表达比较(̄±s)

组别	n	IOD 值		n	蛋白表达	
		RhoA(IOD×10 ³)	ROCK1(IOD×10 ³)		RhoA 蛋白	ROCK1 蛋白
对照组	22	16.54±2.03	10.38±2.28	10	0.48±0.08	0.27±0.06
膈疝组	22	50.51±2.25 ^a	39.24±2.71 ^a	10	1.33±0.18 ^a	0.83±0.07 ^a
TET 组	22	28.44±1.92 ^{ab}	17.03±1.15 ^{ab}	10	0.82±0.08 ^{ab}	0.43±0.06 ^{ab}
F		1 536.98	1 084.604		123.138	216.680
P		0.000	0.000		0.000	0.000

^a:P<0.05,与对照组相比;^b:P<0.05,与膈疝组相比



A:Western blot;B:RhoA、ROCK1 蛋白表达情况

图 3 Western blot 检测 RhoA、ROCK1 蛋白水平的表达

2.3 胎肺组织免疫组化检测结果 膈疝组中,胎肺支气管上皮细胞、肺血管内皮细胞及肺间质内见大量棕黄色颗粒,RhoA 及 ROCK1 的表达明显强于对照组;TET 组 RhoA、ROCK1 的表达较膈疝组降低,阳性范围面积缩小,接近于对照组(图 2)。实验各组 RhoA 和 ROCK1 表达情况由低到高依次是对照组、TET 组、膈疝组($P=0.000$),3 组间两两比较差异均有统计学意义($P=0.000$),见表 2。

2.4 胎肺组织 RhoA 及 Rho 激酶 ROCK1 蛋白表达情况 膈

疝组胎肺组织 RhoA、ROCK1 蛋白表达量较对照组显著增加($P=0.000$),与膈疝组相比,TET 组 RhoA、ROCK1 蛋白表达量明显降低($P=0.000$),见表 2、图 3。

3 讨 论

自 1990 年 KLUTH 等^[4]报道以来,用除草醚灌胃诱导怀孕大鼠产生膈疝胎鼠已经成为一种相对成熟的经典的 CDH 建模方法,广泛用于国内外关于膈疝的研究。本研究成功复制 CDH 模型,致畸率 64.15%。CDH 患儿的根本死亡原因是肺发育不良和持续性肺动脉高压,这些病理过程在患儿出生前即已完成。本研究中,膈疝组光镜下可观察到,与正常胎肺相比,膈疝组胎肺相对质量轻,胎肺肺泡小而少,间质增厚,呼吸性支气管末端囊泡状结构少见;肺小动脉管壁明显增厚,管腔狭窄,这些形态学改变支持膈疝胎鼠存在肺发育不良和肺血管重构。目前治疗膈疝的方法多样,但无论是产前使用糖皮质激素、胎儿外科还是产后手术、使用肺表面活性物质、降肺动脉高压等治疗手段均不能实现病因治疗,也不能改善存活率。

Rho/Rho 激酶信号传导通路的关键信号分子包括 Rho 蛋

白、Rho 激酶和肌球蛋白磷酸酶,Rho 蛋白属于 Ras 蛋白超家族,RhoA 是最常见的 Rho 蛋白异构体之一。Rho 激酶属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族成员,是 RhoA 的下游靶效应分子。近年来,Rho/Rho 激酶信号传导通路被证实于肺动脉高压发病机制中发挥重要作用,该信号通路的选择性抑制剂能够显著抑制肺动脉高压动物肺血管收缩和肺血管重建的进展^[5]。TAKAYASU 等^[6]对除草醚诱导的 CDH 模型研究发现 CDH 胎仔肺血管中 RhoA 表达增高且具有促进血管平滑肌细胞增殖作用,认为 RhoA 介导的血管收缩参与了 CDH 中 PH 的发病机制。本实验发现,与对照组相比,膈疝组 RhoA 及 Rho 激酶 ROCK1 在肺泡上皮细胞和肺间质内呈阳性表达,在肺小动脉平滑肌细胞也能见到明显的棕黄色颗粒;同时 Western blot 检测结果也发现,RhoA 及 ROCK1 蛋白表达在膈疝组明显升高。已有研究发现,肺动脉平滑肌细胞(pulmonary arterial smooth muscle cells,PASMCs)内肌球蛋白轻链(myosin light chain,MLC)磷酸化是肺动脉高压的分子基础,PASMCs 的收缩取决于细胞质内 MLC 磷酸化程度,而 MLC 磷酸化受肌球蛋白轻链激酶(myosin light chainkin-ase,MLCK)和肌球蛋白磷酸酶(myosin phosphatase,MP)之间动态平衡的调节,这一过程受到 Rho/Rho 激酶信号通路的活化调控,促进 PASMCs 钙调敏感性收缩及细胞增殖、迁移,使血管中膜明显增厚,非肌性小动脉肌化,管腔狭窄,从而在肺血管重构中发挥重要作用^[7-8]。另还有研究发现,成肌纤维细胞增殖和细胞外基质沉积作用有赖于 RhoA 信号转导,Rho 激酶特异性抑制剂可抑制肺纤维化的发生,对肺有保护作用^[9]。结合前述免疫组化及 Western blot 的研究结果,联系本实验光镜下膈疝组与对照组相比胎仔肺发育及肺血管形态学的指标变化,提示在除草醚诱导的膈疝中存在 Rho/Rho 激酶信号通路的作用。据此推测该信号通路在除草醚诱导膈疝模型胎仔肺血管重构过程中起重要作用,并能影响膈疝胎鼠的肺发育,它可能通过直接影响平滑肌细胞收缩、调节细胞功能参与肺动脉高压和肺发育不良的形成。

本研究也对除草醚诱导的膈疝孕鼠产前给予 TET 灌胃干预。TET 是一种双苄基异喹啉类生物碱,为传统中药粉防己的主要成分^[10];作为一种新型的钙通道阻滞剂,TET 具有调节血管舒缩、抗纤维化、抗氧自由基、抗炎等生物学效应,其药理作用广泛^[11-12]。有动物实验发现,TET 可显著降低慢性低氧性肺动脉高压大鼠平均肺动脉压和肺血管阻力,并能抑制肺组织和肺动脉壁胶原水平的增加^[12-13]。细胞水平的研究发现,TET 具有抑制体外培养的 PASMCs 增殖的作用,这种作用可能有助于抑制伴有肺血管重构的肺动脉高压^[12]。产前干预研究还发现 TET 可改善 CDH 胎鼠肺组织发育^[3]。如前所述,Rho/Rho 激酶信号通路有参与肺动脉高压发病机制及参与肺纤维化的作用,而作为钙通道阻滞剂的 TET 恰好具有调节血管舒缩、抗纤维化的作用,且已被应用于矽肺、高血压、肺动脉高压、肿瘤放疗增敏等的临床治疗^[11-12]。本实验检测了 TET 产前干预的 CDH 胎鼠肺组织 RhoA 及 ROCK1 表达情况,与膈疝组相比,RhoA 及 Rho 激酶 ROCK1 的表达水平均有明显下降,提示 TET 的干预抑制了 RhoA 及 Rho 激酶的作用。同时在光镜下观察 TET 干预的 CDH 胎鼠肺组织,与膈疝组相比,胎鼠肺 Lw/Bw、PAA% 等肺发育指标及 WT%、MT% 和 LA% 等肺血管重构指标明显更优,差异有统计学意义($P<0.05$),提示与膈疝组相比,TET 组改善了 CDH 胎鼠

肺发育不良;同时,改善了肺小动脉管壁变厚管腔变窄的情况,表明 TET 在促进 CDH 胎鼠肺发育,改善肺血管重构方面有效。由此推测 TET 可通过调节 Rho/Rho 激酶信号通路对胎肺发挥保护作用。

参考文献

- [1] BROWNLEE E M, HOWATSON A G, DAVIS C F. The hidden mortality of congenital diaphragmatic hernia: a 20-year review[J]. J Pediatr Surg, 2009, 44(2): 317-320.
- [2] KEIJZER R, PURI P. Congenital diaphragmatic hernia [J]. Semin Pediatr Surg, 2010, 19(3): 180-185.
- [3] LIN H, WANG Y, XIONG Z, et al. Effect of antenatal tetrandrine administration on endothelin-1 and epidermal growth factor levels in the lungs of rats with experimental diaphragmatic hernia [J]. J Pediatr Surg, 2007, 42(10): 1644-1651.
- [4] KLUTH D, KANGAH R, REICH P, et al. Nitrofen-induced diaphragmatic hernias in rats: an animal model[J]. J Pediatr Surg, 1990, 25(8): 850-854.
- [5] BADEJO A M, DHALIWAL J S, CASEY D B, et al. Analysis of pulmonary vasodilator responses to the Rho-kinase inhibitor fasudil in the anesthetized rat [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2008, 295(5): L828-836.
- [6] TAKAYASU H, MASUMOTO K, HAGIWARA K, et al. Increased pulmonary RhoA expression in the nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia rat model [J]. J Pediatr Surg, 2015, 50(9): 1467-1471.
- [7] SOMLYO A P, SOMLYO A V. Ca^{2+} sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase [J]. Physiol Rev, 2003, 83(4): 1325-1358.
- [8] FUKUMOTO Y, TAWARA S, SHIMOKAWA H. Recent progress in the treatment of pulmonary arterial hypertension: expectation for rho-kinase inhibitors [J]. Tohoku J Exp Med, 2007, 211(4): 309-320.
- [9] WATTS KL, COTTRELL E, HOBAN P R, et al. RhoA signaling modulates cyclin D1 expression in human lung fibroblasts; implications for idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Respir Res, 2006, 7(1): 88(1-14).
- [10] SUN Y F, WINK M. Tetrandrine and fangchinoline bis-benzylisoquinoline alkaloids from *Stephania tetrandra* can reverse multidrug resistance by inhibiting P-glycoprotein activity in multidrug resistant human cancer cells [J]. Phytomedicine, 2014, 21(8/9): 1110-1119.
- [11] 王永刚, 刘文英, 林涵, 等. 汉防己甲素对先天性膈疝大鼠模型胎仔肺内表皮生长因子及其受体的影响和意义 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2006, 20(11): 1109-1113.
- [12] 蔡晓辉, 王帅, 陈保安. 汉防己甲素药理作用的研究进展 (英文) [J]. 中国天然药物, 2011, 9(6): 473-480.
- [13] RAO M R. Effects of tetrandrine on cardiac and vascular remodeling [J]. Acta Pharmacol Sin, 2002, 23(12): 1075-1085.