生理学报 Acta Physiologica Sinica, April 25, 2005, 57 (2): 205-210 http://www.actaps.com.cn

研究论文

晚期糖化终产物诱导内皮细胞通透性增高

郭晓华1, 黄巧冰1,*, 陈 波1, 王述昀1, 侯凡凡2, 富 宁3

南方医科大学¹病理生理学教研室;²南方医院肾内科;³免疫学教研室,广州 510515

摘要:本文探讨了晚期糖化终产物(advanced glycation end products, AGEs)修饰蛋白对内皮细胞通透性及细胞骨架肌动蛋白的形态学影响,以及特异的 AGEs 受体(receptors for AGEs, RAGE)、氧化应激和 p38 MAPK 通路在此病理过程中的作用。用不同浓度的 AGEs 修饰人血清白蛋白(AGE-HSA)与人脐静脉内皮细胞株 ECV304 在体外共同培养不同时间,并设立对照组进行比较,采用 TRITC 荧光标记白蛋白漏出法测定单层内皮细胞的通透系数 Pa值,荧光染色法示细胞骨架的形态学改变。与对照组相比,AGE-HSA 以时间和剂量依赖的方式引起单层内皮细胞通透性的升高及细胞骨架肌动蛋白 F-actin 形态的改变;可溶性 RAGE 的抗体(anti-RAGE IgG)、NADPH 氧化酶抑制剂(apocynin)及 p38 抑制剂 SB203580 均可减轻 AGEs 对内 皮细胞屏障功能和形态的影响。结果提示,AGEs 修饰蛋白对单层内皮细胞通透性及骨架重排的作用可能通过与内皮细胞

关键词:晚期糖化终产物;内皮细胞通透性;细胞骨架;晚期糖化终产物受体;NADPH氧化酶;p38 MAPK通路 中图分类号:Q245;R329.2⁺4;R331.3⁺5

Mechanism of advanced glycation end products-induced hyperpermeability in endothelial cells

GUO Xiao-Hua¹, HUANG Qiao-Bing^{1,*}, CHEN Bo¹, WANG Shu-Yun¹, HOU Fan-Fan², FU Ning³ ¹Department of Pathophysiology; ²Department of Nephrology, Nanfang Hospital; ³Department of Immunology, The Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: The purpose of the present study was to investigate the effects of advanced glycation end products (AGEs) modified protein on the permeability of endothelium monolayers and morphological changes of actin cytoskeleton. The roles of receptor for AGEs (RAGE), oxidant stress and the activation of p38 MAPK pathway in this pathological procedure were elucidated. Human umbilical vein endothelial cells (HUVECs)-derived cell line (ECV304) were incubated with AGEs modified human serum albumin (AGE-HSA) in concentrations of 12.5, 25, 50, and 100 µg/ml respectively, for 2, 4, 8, 12 and 24 h. As control, HSA of the same concentration was administered to cells. Then TRITC-albumin was added to evaluate *Pa* value that reflects the permeability of endothelial monolayer. Furthermore, to visualize the morphological changes of actin cytoskeleton, the treated cells were incubated with rhodamine-phalloidin to stain F-actin. The results showed that the trans-endothelial membrane flux of albumin was significantly increased in a concentrationand time-dependent manner upon the stimulation of AGE-HSA, accompanying with actin reorganization. The blockage of AGE and RAGE binding with anti-RAGE IgG and the pharmacological inhibition of NADPH oxidase or p38 MAP kinase greatly attenuated the AGE-induced hyperpermeability response, respectively. These results indicate that RAGE, NADPH oxidase and p38 MAPK are possibly involved in the mediation of AGEs-induced barrier dysfunction and actin cytoskeleton reorganization in endothelial cells.

Key words: advanced glycation end products; endothelial cells monolayers permeability; actin cytoskeleton; receptor, advanced glycation end products; NADPH oxidase; p38 MAPK

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30028008), National Basic Research Priorities programme of China (No. G2000057004), and Team Cooperation Project of Guangdong Province (No. 10717).

*Corresponding author. Tel: +86-20-61648465; E-mail: bing@fimmu.com

Received 2004-05-26 Accepted 2004-11-10

作为一层选择性的半透膜,血管内皮细胞对血 管内外的物质交换起重要的屏障作用。内皮细胞形 态改变,缝隙增宽或开放数目增多,都会使血管通 透性增加,屏障功能受损,致使过多的液体和大分 子物质从血管内跨过内皮细胞进入组织,进而引发 水肿和组织功能失常。而血管通透性升高是糖尿病 血管并发症[1]、动脉粥样硬化等血管性疾病的早期 标志,并影响疾病的发生发展过程。目前的研究^[2], 显示晚期糖化终产物(advanced glycation end products, AGEs)在血管通透性升高中起了重要作用。内皮细 胞细胞骨架(cytoskeleton),特别是肌动蛋白(actin) 的重组和再分布是导致内皮细胞收缩、血管通透性 升高的主要病理基础^[3]。AGEs是否通过引起肌动蛋 白的改变使通透性增高?如果是,又通过何种途径 实现?尚无定论。我们采用 TRITC 荧光标记白蛋白 漏出法测定单层内皮细胞的通透系数 Pa 值,用免 疫荧光染色的方法观察了肌动蛋白形态学的改变, 并对AGEs受体和细胞内的氧化应激及p38 MAPK通 路在这一过程中的作用,进行了初步的研究和探讨。

1 材料与方法

1.1 材料 ECV-304细胞株(人脐静脉内皮细胞株), 购于中国科学院上海细胞生物学研究所; DMEM 及 无酚红 DMEM 培养基、胰酶购自美国 Gibco 公司; 新生小牛血清(NBS)购自杭州四季青生物制品研究 所;人血清白蛋白(HSA)、NADPH 氧化酶抑制剂 (apocynin)购自美国 Sigma 公司; SB203580 购自美国 Biomol 公司;双层通透的培养皿(transwell)购自美国 Corning Corstart 公司; TCL 检测试剂盒购自美国 Endos 公司; 罗丹明 - 鬼笔环肽(rhodamine-phalloidin) 购自美国 Molecular Probes 公司。

1.2 方法

1.2.1 体外制备 AGEs 修饰的人血清白蛋白 糖 孵育法制备 AGEs 修饰的人血清白蛋白(AGE-HSA)。 荧光分光光度法鉴定, AGE-HSA 中 AGEs 含量为 74.80 U/mg 蛋白质。对照样本 AGEs 含量不超过 0.9 U/mg 蛋白质。制备的所有样本均经 TCL 试剂盒 检测, 内毒素含量低于 0.5 EU/ml。

1.2.2 血管内皮细胞单层通透性的测定 内皮 细胞 ECV304 按 1 × 10⁵ 个/cm² 接种于铺有 1% 明胶 的双层通透的培养皿(transwell)顶层小室微孔膜上 (直径 6.5 mm, 孔径为 0.4 mm),待细胞长至融合 后,改用无酚红无血清 DMEM 继续培养 24 h,使 细胞获得同步生长并处于静止期。分别以12.5、 25、50、100 μg/ml的AGE-HSA作用8h。另以50 μg/ml AGE-HSA分别作用2、4、8、12、24h。 以不加任何刺激物的DMEM培养为正常空白对照, 分别以相应浓度及作用时间的HSA作平行阴性对照。

Anti-RAGE IgG (50、100 µg/ml)与内皮细胞共 同孵育1h, NADPH氧化酶抑制剂 apocynin (100、 500 µmol/L)和 p38 MAPK 抑制剂 SB203580 (10、25 µmol/L)分别与内皮细胞共同孵育30 min,用DMEM 洗三遍,再加入50µg/ml的AGE-HSA作用8h。以 不加任何刺激物为正常空白对照,不加抑制剂的 为阳性对照。孵育结束后,加100 μl (1 mg/ml)的 TRITC-albumin 到双层小室的顶室, 37℃, 5% CO, 孵育45 min,在每个双层小室的顶室和底室分别取 样品 100 µl, 置于黑色 96 孔板中, 用多孔板高效 阅读器(HTS 7000, 日本)检测样品的荧光强度,激 发光波长485 nm,发射光波长595 nm。同时测量 底室液体量。内皮细胞单层对白蛋白通透性大小用 通透系数 Pa 表示, 按以下公式计算: Pa =[A]/t×1/ A×v/[L]。式中[A]为顶室蛋白浓度(以荧光强度表 示), t为时间,以秒计算, A是滤膜面积,以 cm² 计算, v为底室液体量, [L]为底室蛋白浓度。实验 结果以Pa变化百分比表示,Pa%=(实验样品Pa值/ 对照样品 Pa 值)×100。

1.2.3 细胞骨架肌动蛋白荧光染色 ECV304 按 1×10⁵ 个/ml 接种于微孔小皿里,培养 2~3 d 待细胞 完全融合后更换无血清培养基,继续培养 24 h。根 据实验设计加入刺激因素处理后,用PBS 漂洗 2 min × 3 次, 3.7% 多聚甲醛 4 ℃孵育 10 min,冷 PBS 漂 洗 2 min × 3 次,再用 0.5% Triton-100 于 4 ℃孵育 15 min,冷 PBS 漂洗 2 min × 3 次,最后用 2 U/ml 的罗丹明-鬼笔环肽(rhodamine-phalloidin)室温避光孵 育 1 h, PBS 漂洗 2 min × 3 次。染色结束后用荧光 倒置相差显微镜进行荧光镜检(放大 1 000,油镜), Kodak 400 胶卷照相。

1.2.4 数据统计处理 所有实验均重复 3 次以上, 数据以 mean±SD 表示, 统计由 SPSS 软件完成, 采用 One -Way ANOVA-SNK 法比较总体和组间差异。 *P*<0.05 被认为有统计学意义。

2 结果

2.1 AGE-HSA 对内皮细胞通透性和骨架影响的剂量和时间效应

剂量效应组中显示,12.5、25、50、100 μg/ml 的 AGE-HSA 与内皮细胞共同培养 8 h,单层细胞通 透性随 AGE 修饰蛋白浓度的增加而增加,且从25 μg/ ml 起均与对照组有显著性差异(*P*<0.05)(图 1)。时间 效应组中,50 μg/ml AGE-HSA 与内皮细胞共同培 养,通透性随时间延长而增高,且从2 h 起均与对 照组有显著性差异(*P*<0.05)(图 2)。未经修饰的 HSA 对内皮细胞通透性无影响,各组与对照及组间的作 用差异均无统计学意义(*P*>0.05)。



图 1. 不同浓度 AGE-HSA (8 h) 刺激对单层内皮细胞通透性的影响

Fig. 1. Dose-dependent effect of AGE-HSA on permeability in ECV304 monolayer. * P < 0.05 vs control.



图 2. AGE-HSA (50 µg/ml)引起细胞通透性改变的时间效应 Fig. 2. Time-dependent effect of AGE-HSA (50 µg/ml) on permeability in ECV304 monolayer. **P*< 0.05 *vs* control.

正常内皮细胞 F-actin 主要分布在细胞周边,线 条完整连续,显示出内皮细胞典型的鹅卵石样轮 廓。细胞间连接紧密,未见明显缝隙形成。随着 AGE-HSA作用浓度的增加,外周致密带边缘变得毛 糙不规则,逐渐出现锯齿样断裂,趋于变细崩解消 散,100 μg/ml时细胞边界已不可辨; F-actin 在胞 浆内弥散分布,最终形成由非极性单行排列的肌动 蛋白丝组成的应力纤维 (图 6*A*)。在时间效应组, 50 μg/ml AGE-HSA 作用 8 h, F-actin 外周致密带粗 糙断裂, 12 h 时荧光染色减弱,内皮细胞外周轮 廓已模糊难辨,至 24 h 时即呈崩解状,束状应力 纤维明显(图 6*B*)。各组的HSA 阴性对照组,均无 明显上述改变。

2.2 Anti-RAGE IgG, apocynin 对 AGE-HSA 作 用的影响

分别用可溶性 RAGE 抗体(anti-RAGE IgG) 50 μg/ml, NADPH 氧化酶抑制剂(apocynin) 100 μmol/L 预处理细胞,均可有效降低 AGE-HSA 所致内皮细 胞通透性的升高。使 *Pa* 值由(134.1 ± 7.7)分别降至 (113.3 ± 5.04)和(112.1.1 ± 2.85)。且随浓度增高, 二者抑制作用均增强, *Pa* 值更分别降至(105.7 ± 3.06)和(107.3 ± 2.84),显示出剂量依赖效应(图 3、 4),组间差异有统计学意义(*P*<0.05)。在对细胞骨 架的影响上,二者均可使应力纤维明显减少,细胞



图 3. Anti-RAGE IgG (50、100 μ g/ml)对 AGE-HSA 作用的影响 Fig. 3. Influence of anti-RAGE IgG on hyperpermeability response induced by AGE-HSA (50 μ g/ml) in 8 h. **P*<0.05 *vs* control, **P*<0.05 *vs* 0 μ g/ml anti-RAGE IgG.



图 4. Apocynin(100、500 μ mol/L)对 AGE-HSA 作用的影响 Fig. 4. Influence of apocynin on hyperpermeability response induced by AGE-HSA (50 μ g/ml) in 8 h. **P*<0.05 *vs* control, **P* < 0.05 *vs* 0 μ mol/L apocynin.

周边骨架轮廓清晰(图 6C)。抑制剂本身对内皮细胞的形态和功能均无影响。

2.3 p38 MAPK 通路在 AGE-HSA 所致通透性升高 中的作用

预先加入p38 MAPK抑制剂SB203580 (10 μmol/ L),也可有效降低 AGE-HSA 所致内皮细胞通透性 的升高。使 Pa 值由(134.1 ± 7.7)降为(120.3 ± 9.8), 组间差异有统计学意义(P<0.05)(图 5),并且使应力 纤维产生减少(图 6C)。且 SB浓度增至 25 μmol/L 时 阻抑效果与 10 μmol/L 时相似,抑制剂本身对内皮 细胞的形态和功能均无影响。



图 5. p38 MAPK 通路在 AGE-HSA 所致细胞通透性升高中的作用

Fig. 5. Role of p38 MAPK pathway on hyperpermeability response induced by AGE- HSA (50 μ g/ml) in 8 h. **P*<0.05 *vs* control, **P*<0.05 *vs* 0 μ mol/L SB203580.



图 6. 内皮细胞骨架肌动蛋白 (F-actin) 的形态学改变

Fig. 6. Morphological changes of F-actin cytoskeleton in endothelial cells. *A*: Changes of F-actin distribution induced by different concentrations of AGE-HSA in 8 h. *B*: AGE- HSA (50 μ g/ml) induced time-dependent reorganization of F-actin. *C*: Relative inhibitors attenuated AGE-HSA-induced F-actin reorganization. *a*, AGE-HSA (50 μ g/ml, 8 h); *b*, anti-RAGE IgG (100 μ g/ml, 1 h) + AGE-HSA (50 μ g/ml, 8 h); *c*, apocynin (500 μ mol/L, 30 min) + AGE-HSA (50 μ g/ml, 8 h); *d*, SB203580 (10 μ mol/L, 30 min) + AGE-HSA (50 μ g/ml, 8 h); *d*, SB203580 (10 μ mol/L, 30 min) + AGE-HSA (50 μ g/ml, 8 h); *d*, SB203580 (10 μ mol/L, 30 min) + AGE-HSA (50 μ g/ml, 8 h); *d*, SB203580 (10 μ mol/L, 30 min) + AGE-HSA (50 μ g/ml, 8 h); *d*, SB203580 (10 μ mol/L, 30 min) + AGE-HSA (50 μ g/ml, 8 h); *d*, SB203580 (10 μ mol/L, 30 min) + AGE-HSA (50 μ g/ml, 8 h); *d*, SB203580 (10 μ mol/L, 30 min) + AGE-HSA (50 μ g/ml, 8 h); *d*, SB203580 (10 μ mol/L, 30 min) + AGE-HSA (50 μ g/ml, 8 h); *d*, SB203580 (10 μ mol/L, 30 min) + AGE-HSA (50 μ g/ml, 8 h); *d*, SB203580 (10 μ mol/L, 30 min) + AGE-HSA (50 μ g/ml, 8 h); *d*, SB203580 (10 μ mol/L, 30 min) + AGE-HSA (50 μ g/ml, 8 h). Scale bar, 150 μ m.

3 讨论

晚期糖化终产物(advanced glycation end products, AGEs)是一组在体内蛋白质的氨基与糖的醛基之间发 生的非酶性糖化反应的终产物的总称,可影响机体 内多种蛋白质的结构和生化特性,改变细胞代谢^[4]。 有研究表明,用含有AGEs的糖尿病小鼠红细胞作用 于正常小鼠可诱导出血管通透性的增高^[5]。通透性的 增高主要通过跨细胞途径,即内皮细胞间连接松 散,细胞收缩使液体和大分子物质大量流出。荧光 标记白蛋白漏出法正是利用此原理对内皮细胞通透性 改变进行定量观察和分析。内皮细胞形态变化和收 缩性的改变主要受骨架蛋白如肌动蛋白(F-actin)和肌 球蛋白的影响。当内皮细胞受到各种刺激时,Factin 骨架发生重组和再分布,细胞中央出现大量平 行束状应力纤维。中心张力增加使收缩力超过黏附 力,细胞收缩。细胞间隙增大,形成细胞旁通路, 导致通透性升高¹⁶。免疫荧光染色法显示细胞骨架的 形态学改变,对细胞旁路的形成提供了直观的证 据,从定性的角度揭示了细胞通透性的增高。本实 验表明,AGE-HSA以剂量和时间依赖的方式引起内 皮细胞单层通透性的升高并伴有细胞骨架肌动蛋白形 态学的改变,且通透性的升高与肌动蛋白应力纤维 的形成及外周致密带的消散成正相关,而HSA对内 皮细胞无上述作用,证实AGEs可通过改变内皮细胞 肌动蛋白的重组和再分布介导血管通透性的增高。

对于AGEs作用于细胞的具体信号转导机制目前 尚无定论,但都倾向于认同AGEs受体(RAGE)和其 介导的氧化应激在其中发挥了信号起始、传递的重 要作用^[7-9]。RAGE 是细胞表面分子免疫球蛋白超家 族的一个成员, 广泛表达于内皮细胞、血管平滑肌 细胞、巨噬细胞等多种细胞表面,也是最重要的 AGEs 受体^[10]。有证据显示,在糖尿病血管中 AGEs 沉积多的地方, RAGE的表达也增多^[11]。可见, AGEs 与RAGE的结合形成了一个正反馈回路,放大了随 后由受体介导的细胞活化。可溶性 RAGE 的抗体可 特异性阻滞 RAGE。我们的实验显示, anti-RAGE IgG 可阻断 AGEs 的作用,同样证明了 AGEs 的受体 依赖性, AGEs和RAGE结合后,可诱导内皮细胞 发生氧化应激,产生大量氧自由基。有研究显示, AGE可诱导表达野生型NADPH氧化酶的巨噬细胞产 生大量组织因子, 而 NADPH 氧化酶中心亚基 gp91phox 缺失的巨噬细胞与 AGEs 共同作用,没有 组织因子的生成增加,提示 NADPH 氧化酶的活化

在RAGE介导的氧化应激中起了重要作用^[8]。本实 验用 NADPH 氧化酶抑制剂可剂量依赖地阻断 AGEs 作用,证实氧化应激参与了这一病理过程。氧化还原失 衡状态又可引发对氧自由基敏感的丝裂原激活的蛋白 激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)通路^[12,13]、 转录因子NF-κB^[11]和蛋白激酶C(PKC)^[14]的活化。 MAPK 是一类丝/苏氨酸蛋白激酶,可被生长因子、 细胞因子及细胞应激等广泛激活,其中p38是控制炎 症反应最主要的 MAPK 家族成员之一,对氧化应激 非常敏感^[15],有研究显示:在AGE修饰蛋白作用 于内皮细胞10 min 时, p38 激酶磷酸化活性就明显 升高, 30 min 即达高峰, 且其磷酸化作用随 AGEs 浓度的增高而加强^[16]。我们的研究显示, p38 的特 异性抑制剂 SB203580 可减轻 AGEs 对内皮细胞屏障 功能和形态的影响。有报道,活化的p38作用于底 物MAPKAP-K2/K3,后者使热休克蛋白-27(HSP-27) 磷酸化。HSP-27是肌动蛋白结合蛋白,可抑制Factin 的聚合,磷酸化的 HSP-27 失去了抑制作用, 致使 F-actin 聚合形成应力纤维,细胞收缩,内皮 细胞屏障功能降低,血管通透性增加^[12],这与本实 验结果相一致。

综上所述,本实验证明AGEs可通过与内皮细胞RAGE结合引发氧化应激,激活p38MAPK通路引起细胞内信号转导,影响肌动蛋白的组构,导致内皮细胞通透性增高,此作用可能参与了AGEs所致血管性病变的发生、发展过程。

参考文献

- Leto G, Pricci F, Amadio L, Iacobini C, Cordone S, Horta OD, Romeo G, Barsotti P, Rotella CM, Mario UD, Pugliese G. Increased retinal endothelial cell monolayer permeability induced by the diabetic milieu: role of advanced non-enzymatic glycation and polyol pathway activation. Diabetes Metab Res 2001; 17: 448-458.
- 2 Bonnardel-Phu E, Wautier JL, Schmidt AM, Avila C, and Vicaut E. Acute modulation of albumin microvascular leakage by advanced glycation end products in microcirculation of diabetic rats *in vivo*. Diabetes 1999; 48: 2052-2058.
- 3 Dudek SM, Garcia JN. Cytoskeletal regulation of pulmonary vascular permeability. J Appl Physiol 2001; 91: 1487-1500.
- 4 Ouyang P, Peng LS, Yang H, Peng WL, Wu WY, Xu AL. Recombinant human interleukin-10 inhibits proliferation of vascular smooth muscle cells stimulated by advanced glycation end products and neointima hyperplasia after carotid injury in the rat. Acta Physiol Sin (生理学报) 2003; 55(2): 128-134.

- 5 Wautier JL, Zoukourian C, Chappey O, Wautier MP, Guillausseau PJ, Cao R, Hori O, Stern D, Schmidt AM. Receptor-mediated endothelial cell dysfunction in diabetic vasculopathy: soluble receptor for advanced glycation end products blocks hyperpermeability in diabetic rats. J Clin Invest 1996; 97(1): 238-243.
- 6 Bogatcheva NV, Garcia JG, Verin AD. Molecular mechanisms of therombin-induced endothelial cell permeability. Biochemistry (Moscow) 2002; 67: 75-84.
- 7 Loske C, Neumann A, Cunningham AM, Nichol K, Schinzel R, Riederer P, Munch G. Cytotoxicity of advanced glycation end products is mediated by oxidative stress. J Meural Transm 1998; 105: 1005-1015.
- 8 Wautier MP, Chappey O, Corda S, Stern DM, Schmidt AM, Wautier JL. Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE. AM J Physiol Endocrinol Metab 2001; 280: E685-E694.
- 9 Zhang L, Zalewski A, Liu Y, Mazurek T, Cowan S, Martin JL, Hofmann SM, Vlassara H, Shi Y. Diabetes-induced oxidative stress and low-grade inflammation in porcine coronary arteries. Circulation 2003; 108(4): 472-478.
- 10 Li JF, Schmidt AM. Characterization and functional analysis of the promoter of RAGE, the receptor for advanced glycation end products. J Biol Chem 1997; 272: 16498-16506.
- 11 Huttunen HJ, Fages C, Rauvala H. Receptor for advanced glycation end products (RAGE)-mediated neurite outgrowth

and activation of NF-kappaB require the cytoplasmic domain of the receptor but different downstream signaling pathways. J Biol Chem 1999; 274(28): 19919-19924.

- 12 Kayyali US, Pennella CM, Trujillo C, Villa O, Gaestel M, Hassoun PM. Cytoskeletal changes in hypoxic pulmonary endothelial cells are dependent on MAPK-activated protein kinase MK2. J Biol Chem 2002; 277 (45): 42596-42602.
- 13 Lander HM, Tauras JM, Ogiste JS, Hori O, Moss RA, Schmidt AM. Activation of the receptor for advanced glycation end products triggers a p21 (ras)-dependent mitogen-activated protein kinase pathway regulated by oxidant stress. J Biol Chem 1997; 272 (28): 17810-17814.
- 14 Mamputu JC, Renier G. Signaling pathways involved in retinal endothelial cell proliferation induced by advanced glycation end products: inhibitory effect of gliclazide. Diabetes Obes Metab 2004; 6 (2): 95-103.
- 15 Josse C, Boelaert JR, Best-Belpomme M, Piette J. Importance of post-transcriptional regulation of chemokine genes by oxidative stress. Biochem J 2001; 360: 321-333.
- 16 Guo ZJ (郭志坚), Hou FF, Zhang X, Liu ZQ, Wang L. Advanced glycation end products inhibit production of nitric oxide by human endothelial cells trough activation of the p38 signal pathway. Natl Med J China (中华医学杂志) 2002; 82 (19): 1328-1331 (Chinese, English abstract).