

## · 论著 ·

## 麝香保心丸促进血管新生作用的活性成分筛选

吕超,黄慧梅,畅婉琳,柳润辉(福建中医药大学药学院,福建福州350108)

**[摘要]** 目的 对麝香保心丸中单体入血促进血管新生活性成分进行筛选,以确定其中发挥促进血管新生作用的药效物质。方法 采用实时细胞分析仪(xCELLigence系统)检测麝香保心丸及其单体入血成分对内皮细胞增殖、迁移活性的影响,并建立细胞体外成管模型和大鼠主动脉环模型评价麝香保心丸及其入血单体成分的体外血管新生活性。结果 细胞增殖、迁移及体外成管实验结果显示,不同浓度的麝香保心丸( $10^{-4} \sim 10^{-2} \mu\text{g/ml}$ )、人参皂苷 Rg3( $1 \sim 10 \mu\text{mol/L}$ )和人参皂苷 Rh2( $1 \sim 10 \mu\text{mol/L}$ )能够明显促进人脐静脉内皮细胞(HUVECs)增殖、迁移及管腔结构形成( $P < 0.05$ )。此外,与对照组相比,高浓度麝香保心丸( $10^{-2} \mu\text{g/ml}$ )、Rg3( $10 \mu\text{mol/L}$ )和 Rh2( $10 \mu\text{mol/L}$ )具有诱导主动脉环内皮细胞出芽的活性( $P < 0.05$ )。结论 麝香保心丸及人参皂苷 Rg3、Rh2均在体外具有促进血管新生的活性。

**[关键词]** 麝香保心丸; 人参皂苷 Rg3; 人参皂苷 Rh2; 血管新生

**[中图分类号]** R972 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2014)05-0344-05

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2014.05.007

## Screening of active compounds of pro-angiogenic in Shexiang Baoxin pill

LV Chao, HUANG Huimei, CHANG Wanlin, LIU Runhui (School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fujian 350108, China)

**[Abstract]** **Objective** To screen and identify the main pro-angiogenic compounds of Shexiang Baoxin pill (SBP) presenting in the plasma. **Methods** The pro-angiogenic effects of SBP and its compounds absorbed into blood were measured by the cell proliferation and cell migration assays by xCELLigence. And the cell tube formation and rat aortic ring models were established to evaluate their pro-angiogenic effect. **Results** SBP( $10^{-4} \sim 10^{-2} \mu\text{g/ml}$ ), ginsenoside Rg3( $1 \sim 10 \mu\text{mol/L}$ ) and ginsenoside Rh2( $1 \sim 10 \mu\text{mol/L}$ ) significantly stimulated human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) proliferation, migration and tube-like structures formation at different concentrations ( $P < 0.05$ ). In addition, compared to the control group, only the high concentration group of SBP ( $10^{-2} \mu\text{g/ml}$ ), Rg3 ( $10 \mu\text{mol/L}$ ) and Rh2 ( $10 \mu\text{mol/L}$ ) could induce endothelial cell sprouting from the aortic ring ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** SBP, ginsenoside Rg3 and Rh2 exhibited significantly pro-angiogenic effect *in vitro*.

**[Key words]** Shexiang Baoxin pill (SBP); ginsenoside Rg3; ginsenoside Rh2; angiogenesis

血管新生过程主要涉及到基底膜降解、内皮细胞增殖、迁移及管腔结构形成等步骤,这些过程受到一些生长因子的严密控制,当调节失衡会导致机体处于病理状态,如缺血性疾病、肿瘤等<sup>[1]</sup>。目前,缺血性疾病是威胁人类健康的严重疾病之一,这类疾病的治疗与血管新生密不可分。

麝香保心丸(Shexiang Baoxin pill, SBP)是迄今为止发现的第一个具有促进血管新生作用的中成药,它能够治疗由心肌缺血导致的心绞痛、胸闷等心脏疾病<sup>[2]</sup>,主要由人参、麝香、肉桂、冰片、蟾酥、苏合香、牛黄七味中药配伍组成。现代药理学研究表明,麝香保心丸不仅能够保护血管内皮、抑制动脉粥样硬化、减少梗死面积,还能促进心肌缺血区域的血

管新生,建立侧枝循环,实现药物性心脏“自身搭桥”,全面改善心脏功能<sup>[3-6]</sup>。目前,已有研究证实麝香保心丸具有促血管新生作用<sup>[7]</sup>,但主要的有效活性成分尚不明确。本实验通过采用人脐静脉内皮细胞(HUVECs)体外培养体系对麝香保心丸及其20种单体入血进行血管新生活性成分的筛选,明确药效物质,并对其在体外促进血管新生作用进行研究。

## 1 材料

**1.1 动物** SD大鼠[上海斯莱克实验动物有限公司,许可证号:SCXK(沪)2012-0002],雄性,体重180~200g。动物饲养于第二军医大学药学院动物房,适应1周后开始实验。

**1.2 药物准备** 麝香保心丸由上海和黄药业有限公司提供。将麝香保心丸研磨成粉末,制成浸膏,精密称取1.5mg,用1.5ml含1%FBS的MCDB131

**[作者简介]** 吕超,硕士研究生。Tel: 18321786576, E-mail: lvchaoanhui@163.com.

**[通讯作者]** 柳润辉。Tel: (021) 81871245, E-mail: lyliurh@126.com.

基础培养基完全溶解 配制成 1 mg/ml 的母液,然后按比例稀释成  $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-2}$   $\mu\text{g/ml}$  的工作液(麝香保心丸含有挥发性成分,最好现用现配)。各单体化合物人参皂苷 Rg1、Rb1、Rb2、Rc、Re、Rd、Rg3、Rh2、肉桂醛、肉桂酸、去氧胆酸、胆酸、鹅去氧胆酸、熊去氧胆酸、猪去氧胆酸、麝香酮、蟾毒灵、华蟾酥毒基、日蟾毒它灵、酯蟾毒配和龙脑由中国药品生物制品检定所提供,纯度为 98% 以上。精密称取各单体化合物,用 DMSO 完全溶解,制成 10 mmol/L 的母液,用时用含 1% FBS 的 MCDB131 基础培养基稀释成 1、5、10  $\mu\text{mol/L}$  的工作液(其中麝香酮、肉桂醛、龙脑为挥发性成分,最好现用现配)。

**1.3 试剂** MCDB131 完全培养基、MCDB131 基础培养基(美国 AllCells 公司);M199 培养基、胎牛血清、0.25% 胰蛋白酶(美国 Gibico 公司);磷酸盐缓冲液(美国 Hyclone 公司);细胞周期检测试剂盒(碧云天生物技术有限公司);Matrigel 基质胶(美国 Sigma 公司)。

**1.4 仪器与设备** 实时细胞分析仪(Real-Time Cell Analyzer, RTCA, xCELLigence 检测系统,瑞士 Roche 公司)、细胞增殖培养板(E-16 Plates,瑞士 Roche 公司)、细胞迁移培养板(CIM-16 Plates,瑞士 Roche 公司);电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);倒置相差显微镜(日本 Olympus 公司);二氧化碳培养箱(日本 Sanyo 公司);台式高速离心机(德国 Eppendorf 公司)。

## 2 方法

**2.1 细胞培养** 原代人脐静脉内皮细胞(HUVEC, 美国 ALLCELLS 公司)采用 MCDB131 完全培养基培养(内含 10% FBS、5 U/ml 肝素和 30 ml 内皮细胞生长添加剂),于  $37^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养,待细胞达到 80% 融合度后以 1:4 的比例传代。

### 2.2 细胞增殖与细胞迁移实验

**2.2.1 xCELLigence 系统** 系统主要由分析检测器、装置工作站和放置细胞培养板的微电极平台三部分组成。其主要通过检测细胞的阻抗值并计算细胞指数(cell index, CI)来衡量细胞数的多少。CI 计算公式:

$$CI = \frac{(Z_i - Z_0)}{Z_0}$$

( $Z_i$  是实验过程中每次检测细胞时的电阻,  $Z_0$  是开始检测的基准电阻)。

**2.2.2 细胞增殖实验** 采用含有微阵列检测电极的细胞增殖培养板 E-16 Plates(16 孔板)培养细胞(图 1)。取对数生长期的细胞,每孔加入 100  $\mu\text{l}$  细胞悬液( $3 \times 10^4$  个/ml)接种到培养板,室温放置 30

min 将培养板置于微电极平台,开始动态检测,待细胞贴壁良好以后,将细胞培养液换成含 1% FBS 和不同浓度药物的 MCDB131 基础培养基,继续动态检测,以获得药效达到最佳的作用时间,根据 CI 值绘制曲线(分组:  $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-2}$   $\mu\text{g/ml}$  SBP 组; 1、5、10  $\mu\text{mol/L}$  各单体化合物组;对照组为含等量 DMSO 的不含药培养基)。

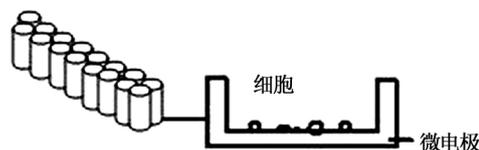


图 1 细胞增殖培养板 E-16 Plates

**2.2.3 细胞迁移实验** 采用细胞迁移培养板 CIM-16 Plates(16 孔板)培养细胞,每个培养板由上室板和下室板两部分组成,由上室板底部的 8  $\mu\text{m}$  孔径大小的半渗透薄膜隔开,膜下包被微阵列检测电极(图 2)。取对数生长期的细胞,用 MCDB131 基础培养基制成细胞悬液( $2 \times 10^5$  个/ml),加药孵育,室温 30 min(分组:  $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-2}$   $\mu\text{g/ml}$  SBP 组; 1、5、10  $\mu\text{mol/L}$  具有增殖作用单体化合物组;对照组为含等量 DMSO 的不含药培养基)。在下室板中加入相应培养液(含有 20 ng/ml VEGF 和 20% FBS 的 MCDB131 基础培养基,160  $\mu\text{l}$ /孔),将上室板和下室板安装在一起,在上室板中加入已经孵育好的细胞悬液(100  $\mu\text{l}$ /孔),将培养板置于微电极平台,开始动态检测,以获得药效达到最佳的作用时间,根据 CI 值绘制曲线。

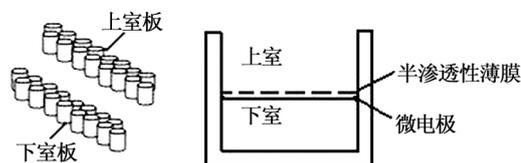


图 2 细胞迁移培养板 CIM-16 Plates

**2.3 体外成管实验** 在 96 孔中加入基质胶(matrigel) 50  $\mu\text{l}$ /孔,置于  $37^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中 30 min,待胶凝固后使用。取对数生长期的细胞,用含 1% FBS 的 MCDB131 基础培养基制成细胞悬液( $5 \times 10^5$  个/ml)加入预包被的 96 孔板中(100  $\mu\text{l}$ /孔),加药孵育 4 h 后,在 40 倍显微镜下随机选取 5 个视野拍照并计数(分组同 2.2.3)。

**2.4 主动脉环体外成管实验** 取 180 ~ 200 g SD 大

鼠 10% 水合氯醛麻醉 ,用 75% 乙醇将体表消毒 ,转移至超净台内 ,将大鼠胸部沿一侧剪开 ,小心剥离结缔组织 ,切取 3 cm 长的胸主动脉 ,迅速放入预冷的 PBS (含 100 U/ml 青霉素和 100 U/ml 链霉素) ,反复清洗 ,将血管内外表面的残余血细胞去除干净 ,用消毒后的锋利刀片切取 1 mm 宽度的动脉环 ,选取大小相似的置于预冷的 M199 培养基中备用。在 24 孔板中加入稀释好的 matrigel 胶(400  $\mu$ l/孔 ,用不含血清的 M199 培养基以 1 : 1 的比例稀释) ,每孔随机植入 1 个动脉环 ,使其尽量置于孔的中央并紧贴孔底 ,于 37 $^{\circ}$ C、5% CO $_2$  培养箱中放置 30 min ,待胶凝固 ,每孔加入 200  $\mu$ l 含药培养基(分组同 2.2.3) 。隔天换液一次 6 d 后在倒置显微镜下分别由 4 名不同观察者观察计数 ,根据内皮细胞出芽情况 ,评价动脉环血管新生<sup>[8]</sup>(以 0 ~ 5 分范围作为评价标准 0 分: 内皮细胞无芽生 5 分: 内皮细胞大量芽生) 。

2.5 统计学处理 实验数据以平均数  $\pm$  标准误( $\bar{x} \pm s$ ) 表示 ,采用 SPSS 18.0 统计分析软件进行分析 ,组间差异采用单因素方差分析 , $P < 0.05$  认为有统计学意义。

3 结果

3.1 细胞增殖实验

xCELLigence 检测 SBP 和各单体入血成分对 HUVECs 增殖的影响。结果如图 3 所示 ,CI 值呈时间依赖性增加 ;与对照组相比 ,SBP 与 HUVECs 共孵育 24 h ,在  $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-2}$   $\mu$ g/ml 浓度下 CI 值依次增加 ,说明 SBP 能够诱导 HUVECs 增殖 ,并且呈现时间和剂量依赖关系 ( $P < 0.05$ ) 。在 SBP 的各单体入血成分中 ,只有人参皂苷 Rg3 和 Rh2 具有较明显的促进细胞增殖的作用 ,二者在 1、5、10  $\mu$ mol/L 浓度下均表现出显著的药效 ( $P < 0.05$ ) 。因此 ,我们将对不同浓度的 SBP ( $10^{-4} \sim 10^{-2}$   $\mu$ g/ml) 、Rg3 (1 ~ 10  $\mu$ mol/L) 和 Rh2 (1 ~ 10  $\mu$ mol/L) 在体外促进血管新生活性作用进行研究。

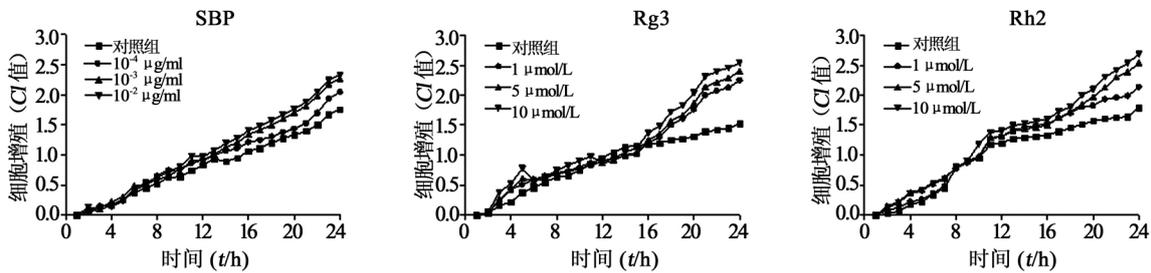


图 3 不同浓度 SBP、Rg3 及 Rh2 对 HUVECs 增殖的影响  $P < 0.05$  与对照组比较

3.2 细胞迁移实验 xCELLigence 检测 SBP、Rg3 和 Rh2 对 HUVECs 迁移的影响。结果如图 4 所示 ,CI 值呈时间依赖性增加 ,SBP ( $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-2}$   $\mu$ g/ml) 、Rg3 (1、5、10  $\mu$ mol/L) 和 Rh2 (1、5、10  $\mu$ mol/L)

加药组的 CI 值均比对照组明显增加 ,具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) 。提示 ,SBP、Rg3 和 Rh2 均能显著诱导 HUVECs 迁移。

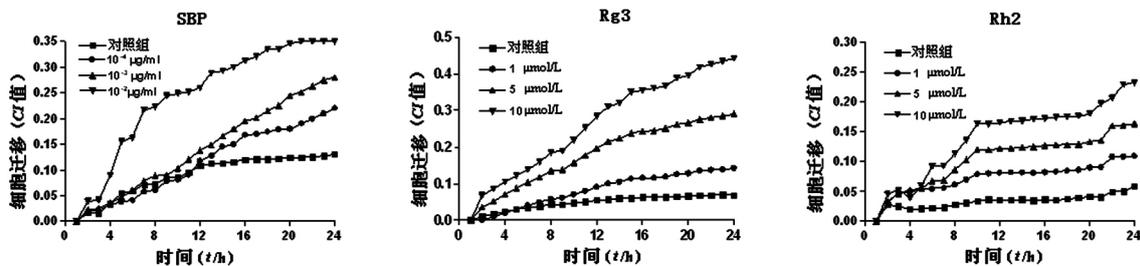


图 4 不同浓度 SBP、Rg3 及 Rh2 对 HUVECs 迁移的影响  $P < 0.05$  与对照组比较

3.3 体外成管实验 如图 5 所示 ,与对照组相比 ,加入 SBP、Rg3 和 Rh2 后 ,管腔形成数目明显增多 ,小管间距变小并逐渐交织成网状结构。对管状分支点计

数后发现 :对照组分支点数目为 18/视野 ,SBP 组在  $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-2}$   $\mu$ g/ml 浓度下分别为 34、41、48/视野 ,Rg3 组在 1、5、10  $\mu$ mol/L 浓度下分别为 26、32、

40/视野, Rh2 组在 1、5、10  $\mu\text{mol/L}$  浓度下分别为 35、36、42/视野, 与对照组相比均有显著性差异 ( $P <$

0.01)。结果显示, SBP、Rg3 和 Rh2 均能促进 HU-VECs 管腔结构形成, 并呈现一定的量效关系。

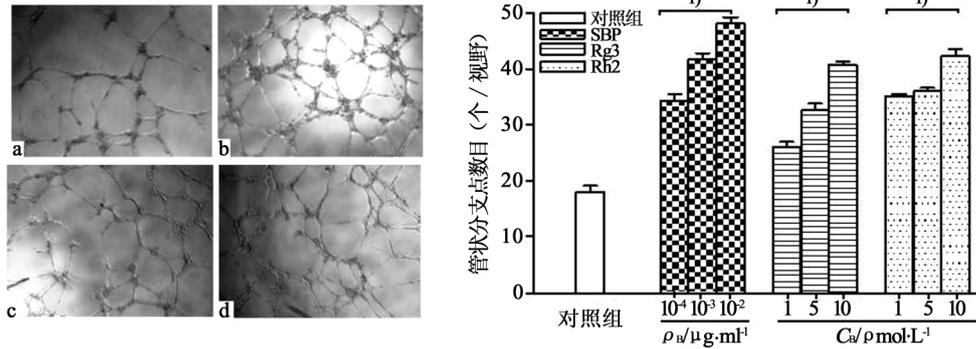


图5 不同浓度 SBP、Rg3 及 Rh2 对 HUVECs 管腔形成的影响

a. 对照组; b. SBP ( $10^{-2} \mu\text{g/ml}$ ); c. Rg3 ( $10 \mu\text{mol/L}$ ); d. Rh2 ( $10 \mu\text{mol/L}$ ); <sup>1)</sup>  $P < 0.01$ , 与对照组比较

3.4 主动脉环体外成管实验 如图6所示, 在实验6 d期间, 对照组动脉环仅有很少的内皮细胞芽生, 评分为0.9分; 与对照组相比, 加入 SBP ( $10^{-2} \mu\text{g/ml}$ )、Rg3 ( $10 \mu\text{mol/L}$ ) 和 Rh2 (5、10  $\mu\text{mol/L}$ ) 后, 内皮细胞出芽显著增多, 分别评为 3.6、3.5、2.1、3.2

分 ( $P < 0.001$ ), 而 SBP 和 Rg3 在其他浓度下对内皮细胞出芽并无明显影响 ( $P > 0.05$ )。结果显示, SBP、Rg3 和 Rh2 均能促进主动脉环体外血管新生, 并且在高浓度下效果比较显著。

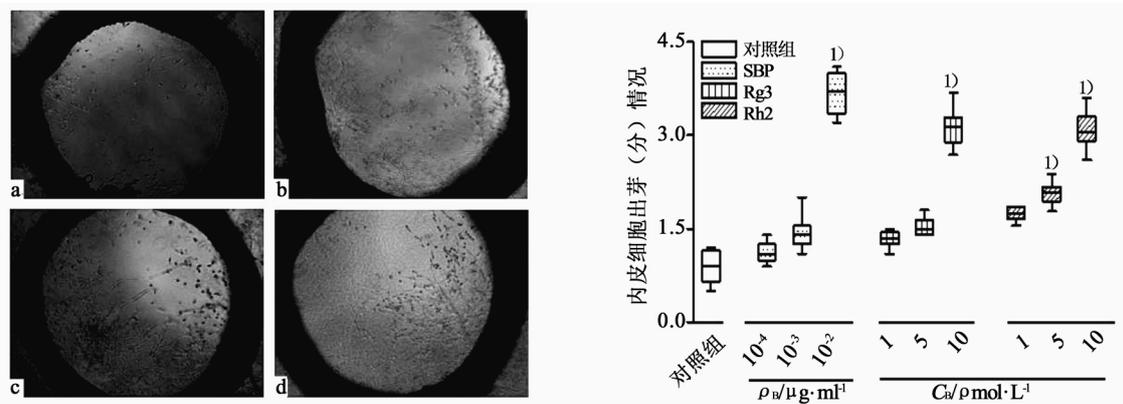


图6 不同浓度 SBP、Rg3 及 Rh2 对主动脉环血管新生的影响

a. 对照组; b. SBP ( $10^{-2} \mu\text{g/ml}$ ); c. Rg3 ( $10 \mu\text{mol/L}$ ); d. Rh2 ( $10 \mu\text{mol/L}$ ); <sup>1)</sup>  $P < 0.001$ , 与对照组比较

#### 4 讨论

麝香保心丸源自于《太平惠民和剂局方》, 具有芳香温通、益气强心的功效, 能够促进缺血心肌血管新生, 增加冠脉血流量, 从根本上治疗冠心病。临床研究显示, 长期服用 SBP 能够有效增加心肌灌注, 心肌缺血症状得到好转, 胸闷、心绞痛发作频率降低, 治疗后血管新生在本病治疗中也发挥重要作用<sup>[9]</sup>。已有动物实验结果证实, SBP 具有促进血管新生活性, 增加缺血心肌血管密度<sup>[4, 6]</sup>。本研究则通过利用人脐静脉内皮细胞和大鼠主动脉环体外培

养模型对 SBP 及其 20 种单体入血成分进行促血管新生活性研究, 结果得出, SBP 及单体化合物人参皂苷 Rg3、Rh2 具有显著的诱导内皮增殖活性。继而, 细胞迁移实验和管腔形成实验研究表明, SBP、Rg3、Rh2 在体外具有促进血管新生的活性, 并在大鼠主动脉环模型上得到证实。

自 2004 年以来, 实时细胞分析仪开始用于监测细胞的实时动态变化过程。系统的核心是把微电子细胞传感器芯片整合到表面适于细胞生长的细胞检测板的底部或细胞迁移板的微孔膜, 当电场加在上 (下转第 351 页)

- [9] 徐帆. 注射剂配伍稳定性研究方法学分析与评价[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 26(10): 1136-1137.
- [10] 于淑俊, 汤新强. 静脉给药体外配伍稳定性的研究进展[J]. 大连医科大学学报, 2010, 32(5): 596-599.
- [11] 陈富超, 方宝霞, 丁洁, 等. 高效液相色谱法同时测定静脉

镇痛液中盐酸吗啡和盐酸曲马多及柠檬酸芬太尼与氯诺昔康的含量[J]. 中国医药, 2011, 6(8): 960-961.

【收稿日期】 2013-01-19 【修回日期】 2013-04-10

【本文编辑】 陈静

(上接第347页)

面的时候可以测量到一个基线阻抗,细胞的有无以及贴壁程度的改变都会影响电极传感器表面电子和离子的通过。没有细胞时,检测孔底部排列的微电极阵列的阻抗分布近似均匀;加入细胞后,细胞会和电极表面接触黏附,影响电极和溶液间的离子环境,导致阻抗的升高,细胞越多阻抗增加越多。细胞在上述表面上的贴壁、生长以及贴壁紧密程度可引起各个电极阵列的电极结构的阻抗变化,黏附在电极表面的细胞越多,CI越大。当细胞生物状态发生变化时,系统可以实时并自动获取其模拟电信号,并可以转换成数字信号(CI)以进行进一步的分析<sup>[10,11]</sup>。

内皮细胞增殖在血管新生过程中发挥关键的调控作用,已有研究表明三七皂苷 Ft1 具有较好的促进细胞增殖的活性,甚至在 10  $\mu\text{mol/L}$  浓度下活性优于 20 ng/ml VEGF<sup>[12]</sup>。人参皂苷 Rg3 和 Rh2 的结构与 Ft1 十分相似,都属于达玛烷型四环三萜皂苷,本研究通过利用实时细胞分析仪监测人参皂苷 Rg3 和 Rh2 处理后的 HUVECs 的动态变化过程发现, Rg3、Rh2 在 1、5、10  $\mu\text{mol/L}$  浓度下能够诱导 CI 值依次增加,说明 Rg3、Rh2 可促进 HUVECs 增殖,并呈现浓度依赖性。而已有研究报道 Rg3 和 Rh2 均具有抗血管新生活性,抑制肿瘤生长<sup>[13-15]</sup>,推测可能由于细胞类型或研究体系的不同而导致与本实验的结果相悖。

Nicosia 于 1984 年首次报道主动脉环血管生成模型,此模型取材简单,便于观察,更接近于体内环境,是体内外血管新生研究体系的桥梁,弥补了血管新生模型的缺憾<sup>[16]</sup>。本实验结果表明,高浓度下的 SBP、Rg3 和 Rh2 能够明显促进主动脉环内皮细胞芽生,中、低剂量则无显著药效 ( $P > 0.05$ ),这进一步证实 SBP、Rg3 和 Rh2 的体外促进血管新生活性,为将来的机制研究提供了理论依据。

#### 【参考文献】

- [1] Cao Y. Angiogenesis: What can it offer for future medicine[J]. Exp Cell Res 2010, 316(8): 1304-1308.
- [2] 陈静. 麝香保心丸血管新生作用为世界瞩目——剑桥大学

加大对麝香保心丸研究力度[J]. 中国社区医师, 2010, (12): 16.

- [3] 杨雪英, 郑晓晖, 王彦方. 麝香保心丸对缺血性心脏病患者内皮功能及心功能的影响[J]. 中成药, 2007, 29(2): 171-173.
- [4] 储敏, 宋国秀. 麝香保心丸对狗及大鼠实验性心肌梗塞的保护作用[J]. 中成药, 1996, 18(5): 30-31.
- [5] 李天奇, 李勇, 范维琥. 麝香保心丸和辛伐他汀对兔股动脉粥样硬化斑块稳定性的影响[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2006, 8(5): 296-299.
- [6] 汪姗姗, 李勇. 麝香保心丸对实验性心肌梗塞大鼠心脏的促血管生成作用[J]. 中成药, 2002, 24(6): 446-449.
- [7] 李勇. 麝香保心丸促进治疗性血管新生的实验研究[J]. 中国社区医师, 2006, 22(9): 19-20.
- [8] O'Rourke M, Ward C, Worthington J, et al. Evaluation of the antiangiogenic potential of AQ4N[J]. Clin Cancer Res 2008, 14(5): 1502-1509.
- [9] 曾群英, 王礼春, 高修仁, 等. 急性冠脉综合征早期辅助应用麝香保心丸治疗的作用及安全性临床研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2003, 1(4): 221-223.
- [10] Atienza JM, Yu N, Kirstein SL, et al. Dynamic and label-free cell-based assays using the real-time cell electronic sensing system[J]. Assay Drug Dev Technol 2006, 4(5): 597-607.
- [11] Solly K, Wang X, Xu X, et al. Application of real-time cell electronic sensing (RT-CES) technology to cell-based assays[J]. Assay Drug Dev Technol 2004, 2(4): 363-372.
- [12] Shen K, Ji L, Gong C, et al. Notoginsenoside Ft1 promotes angiogenesis via HIF-1 $\alpha$  mediated VEGF secretion and the regulation of PI3K/AKT and Raf/MEK/ERK signaling pathways[J]. Biochem Pharmacol, 2012, 84(6): 784-792.
- [13] 耿怀成, 陈龙邦, 王靖华, 等. 人参皂苷 Rg3 抗肿瘤新生血管形成的实验研究[J]. 医学研究生学报, 2002, 15(6): 493-495.
- [14] 杨成明, 刘伟, 赵燕颖, 等. 人参单体皂苷 Rh2 抑制缺氧条件下人视网膜血管内皮细胞增殖及整合素  $\alpha_3\beta_3$  表达的研究[J]. 中国老年学杂志, 2008, 28(6): 557-559.
- [15] Kim YS, Jin SH, Lee YH, et al. Differential expression of protein kinase C subtypes during ginsenoside Rh2-induced apoptosis in SK-N-BE (2) and C6Bu-1 cells[J]. Arch Pharm Res 2000, 23(5): 518-524.
- [16] Nicosia RF, McCormick JF, Bielunas J. The formation of endothelial webs and channels in plasma clot culture[J]. Scan Elect Microsc, 1983, 793-799.

【收稿日期】 2014-04-03 【修回日期】 2014-06-27

【本文编辑】 顾文华