

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶在动脉粥样硬化中的作用

韩红星, 李湘青¹综述, 张晨 审校

(青岛大学医学院附属医院神经内科, 山东省青岛市 266003; 1. 淄博市中心医院神经内科, 山东省淄博市 255000)

[关键词] 病理学; 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶与动脉粥样硬化; 综述; 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶; 动脉粥样硬化

[摘要] 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶不仅存在于吞噬细胞中, 也广泛存在于非吞噬细胞中, 如血管内皮细胞、血管平滑肌细胞和血管外膜成纤维细胞。非吞噬细胞烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶催化产生活性氧, 参与动脉粥样硬化的发生和发展。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶 p22^{phox} 亚基的基因多态性与冠心病和缺血性脑血管病有着密切联系。

[中图分类号] R36

[文献标识码] A

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 是缺血性心脑血管疾病重要的病理生理基础, 其危险因素包括高胆固醇血症、吸烟、糖尿病、肥胖、高血压和家族史等, 但确切的病因和发病机制尚未完全明了。目前许多研究发现活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 与 As 的发生和发展密切相关, 而血管系统中的活性氧主要来自于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶系统。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶的活性及其遗传多态性与 As 的关系是目前研究的热点。本文对其近几年的研究作一综述。

1 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶的结构及特点

1.1 吞噬细胞烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶是由多个亚基组成的酶复合物, 存在于中胚层起源的多种细胞中^[1]。研究比较透彻的是存在于吞噬细胞 (包括中性粒细胞、淋巴细胞和巨噬细胞等) 中的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶, 因此该酶又称为吞噬细胞氧化酶 (phagocyte oxidase, phox)。该酶复合物由五个主要的亚基组成。当细胞处于静止期时, p40^{phox}、p47^{phox} 和 p67^{phox} 亚基以复合物形式位于胞液中; p22^{phox} 和 gp91^{phox} 位于细胞膜上, 二者相互结合形成一个杂二聚体即细胞色素 b₅₅₈。此时酶没有活性。当细胞受到刺激被激活后, p47^{phox} 发生磷酸化, 并带动整个胞液复合物向细胞膜迁移, 与膜上的细胞色素 b₅₅₈ 结合, 形成有活性的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶复合物。除了上述五种主要的亚基外, 该酶的激活过程尚需要低分子量的 G 蛋白 rac2 (有时为 rac1) 和 rap1A 的参与。活化的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶以烟酰胺腺嘌呤二核苷酸为电子供体, 催化氧的单电子还原反应, 生成超氧

阴离子 O₂⁻。由此产生的 O₂⁻ 在清除外来病原体的过程中发挥重要作用。

1.2 非吞噬细胞烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶

近年来研究者发现, 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶不仅存在于吞噬细胞中, 也广泛存在于非吞噬细胞中, 如血管内皮细胞 (endothelial cell, EC)、血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 和血管外膜成纤维细胞。许多研究者^[2] 运用免疫组织化学染色、逆转录-聚合酶链反应和 Western 印迹等方法, 在动物和人的血管壁中检测到几乎所有的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶亚基, 包括 p47^{phox}、p67^{phox}、p22^{phox} 和 gp91^{phox}。关于 p40^{phox} 是否存在于血管壁中未见有报道, 但非吞噬细胞中的 gp91^{phox} 在基因和结构方面都与吞噬细胞不同。Meier 等^[3] 在研究慢性粒细胞性肉芽肿疾病时发现了这一问题。慢性粒细胞性肉芽肿疾病是一种 X 连锁遗传病, 其特征是由于 gp91^{phox} 蛋白缺陷导致吞噬细胞烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶的活性消失或极度降低, 但这些病人的成纤维细胞存在正常的细胞色素 b₅₅₈, 并能产生 O₂⁻。gp91^{phox} 是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶的催化中心, 近几年的研究发现该亚基有许多同系物。这些同系物在结构上有共同之处: N-末端有六个跨膜片段, 上有结合血红蛋白的组氨酸残基; C-末端位于胞液中, 有 FAD 和 NADPH 的结合位点。存在于 VSMC 的 gp91^{phox} 同系物称为 Mox1^[4], 又称为 p65^{mox}。Mox1 与 gp91^{phox} 有 56% 的同源性, 且保留有 gp91^{phox} 主要的功能亚基, 如吡啶结合位点、黄素核苷酸结合位点和血红蛋白结合位点。Mox1 的亲水端与 gp91^{phox} 几乎完全相同。成纤维细胞中 Mox1 的过度表达会使 O₂⁻ 产生增加并引起细胞生长。另外, 在 VSMC 中反义 Mox1 的表达使 NADPH 源性的 O₂⁻ 产生减少和细胞生长减慢。Mox1 的发现表明, 血管内的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶属于一个生长因子反应的氧化酶家族。Ushio-Fukai 等^[5] 发现, 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 通过刺激内皮细胞增殖和迁移引起血管生成, 含有 gp91^{phox} 的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶所产生的活性氧在此过程中发挥重要作用。

[收稿日期] 2003-05-19

[修回日期] 2003-11-17

[作者简介] 韩红星, 男, 1977 年 6 月出生, 山东省禹城市人, 硕士, 研究方向为脑血管病。E-mail: harus77@163.com。李湘青, 女, 1968 年 10 月出生, 湖南省邵东县人, 硕士, 主治医师, 研究方向为脑血管病。张晨, 男, 1957 年 4 月出生, 山东省青岛市人, 硕士, 神经内科副主任医师, 教授, 研究方向为脑血管病。

1.3 吞噬细胞及非吞噬细胞烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶的不同特点

内皮细胞的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶生物活性不同于吞噬细胞^[5]:①内皮细胞源性氧化酶即使没有外来刺激也存在持续的低水平活性,而吞噬细胞氧化酶只有在被激活后才能产生 $O_2^{\cdot-}$;②内皮细胞源性氧化酶产生的活性氧是持续的、低水平的,而吞噬细胞烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶是爆发性的、高水平的;③内皮细胞氧化酶可以利用 NADPH 和 NADH 作为电子供体,利用 NADH 更多一些,而吞噬细胞主要以 NADPH 作为电子供体。

2 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶参与动脉粥样硬化的机制

非吞噬细胞烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶参与 As 的机制目前还未完全明确,众多的研究表明这一过程至少包括两个方面:一是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶在各种因素作用下活性增加产生过多的活性氧;二是活性氧通过各种细胞内或细胞间的信号传导途径引起氧化还原敏感基因的表达,参与血管壁细胞的各种病理生理过程,如使 VSMC 增殖,影响血管内皮的舒缩功能,激活一系列的炎症反应等,从而参与 As 的发生和发展。

2.1 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶的激活和活性氧的产生

2.1.1 激活烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶的各种因素

非吞噬细胞最重要的特性是其活性受血管内各种因素的影响,如血管内某些激素和细胞因子、血液动力学改变以及局部的代谢变化等。众所周知,血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 与高血压的发生密切相关,Ang II 也可通过激活烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶使活性氧的产生增加^[6]。Kalinina 等^[7]发现动脉粥样硬化斑块中的巨噬细胞和泡沫细胞均表达大量的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶,转化生长因子 β 和干扰素 γ 可使这种表达上调。De Keulenaer 等^[8]研究了肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 与 VSMC 中的 $O_2^{\cdot-}$ 产生之间的关系,发现在体外培养的大鼠主动脉平滑肌细胞中, TNF- α 以时间和剂量依赖的方式激活 NADH 氧化酶产生 $O_2^{\cdot-}$ 。用 TNF- α 处理细胞后,在几分钟内即可检测到 $O_2^{\cdot-}$ 产生增加,且增加的量与 TNF- α 浓度呈正相关,这种效应可持续 24 h 以上。TNF- α 这种快速和持续的效应是由于有活性的 NADH 氧化酶数量增加,而不是改变氧化酶与 NADH 的亲合力。因为用 TNF- α 长时间处理培养细胞后,可增加 p22^{phox} mRNA 的表达而不影响其稳定性。血流动力学的变化也可使血管壁中 $O_2^{\cdot-}$ 的产生增加。Wei 等^[9]发现,人脐静脉内皮细胞暴露于 5 或 20 dyne/cm² 的层流切力,可引起 $O_2^{\cdot-}$ 的产生一过性增加,而振动切力使烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶的活性持续升高可达 24 h。Guzik 等^[10]对 133 例冠心病患者的隐静脉中的 $O_2^{\cdot-}$ 进行了研究,发现伴有糖尿病和高胆固醇血症的患者其血管中 $O_2^{\cdot-}$ 的产生明显增加,并且这种 $O_2^{\cdot-}$ 可被非特异性的 NADPH 氧化酶抑制剂二亚苯基磺所抑制,提示过多的 $O_2^{\cdot-}$ 是由 NADPH 氧化酶产生的。

2.1.2 活性氧产生的特点及其抑制因素 Wamholtz 等^[11]

用 Watanabe 兔建立早期 As 模型来研究与 As 的关系。该兔由于低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 受体缺陷而易患高脂血症。在经过 8 周的高脂饮食后,实验组血管壁中烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶源性的 $O_2^{\cdot-}$ 比对照组增加两倍。将血管内皮剥除后,实验组和对照组 $O_2^{\cdot-}$ 的产生则没有差别,提示过多的 $O_2^{\cdot-}$ 是来自于血管内皮。该研究还间接证实了肾素-血管紧张素系统在 As 中的作用。实验组经过治疗后, $O_2^{\cdot-}$ 的产生和内皮功能趋于正常,并可减轻早期 As 的形成。Miller 等^[12]用 Watanabe 兔建立了慢性 As 模型,发现实验组动脉内 $O_2^{\cdot-}$ 水平比对照组增高约 3 倍。与以前研究不同的是,给予过氧化物歧化酶纠正了内皮细胞过多的 $O_2^{\cdot-}$ 后,内皮依赖的血管舒张功能并没有得到改善。这表明此时血管的中层和外膜也开始产生 $O_2^{\cdot-}$,这与 As 由血管内皮开始逐渐向中层和外膜发展的过程是一致的。

由于许多因素可以激活烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶,从理论上讲只要抑制这些因素便可减少活性氧的产生,但这一方面的研究不多。除了上面提到的二亚苯基磺、过氧化物歧化酶和 AT₁ 受体拮抗剂外,17 β -雌二醇也可抑制活性氧的产生^[13]。在培养的人隐静脉内皮细胞中,17 β -雌二醇可以降低 NADPH 氧化酶亚基 gp91^{phox} 的表达,在 mRNA 和蛋白水平这种降低作用均可达 60%。

2.2 活性氧的生物学作用

血管中活性氧的来源包括黄嘌呤氧化酶、线粒体氧化酶以及一氧化氮合酶,其中最主要的也是目前研究最多的是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶^[14]。活性氧的种类包括超氧阴离子 ($O_2^{\cdot-}$) 和过氧化氢 (H_2O_2) 等。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶催化氧的单电子还原反应生成 $O_2^{\cdot-}$, $O_2^{\cdot-}$ 在过氧化物歧化酶的作用下生成 H_2O_2 ,后者又可转化为其他的活性氧形式。活性氧在 As 中的作用机制非常复杂,既有直接作用,又有间接作用。

2.2.1 直接氧化作用 氧化型 LDL 对 As 发生和发展所起的关键作用被人们认识已久,而活性氧则是引起 LDL 氧化修饰的重要因子^[15,16]。一氧化氮 (nitric oxide, NO) 是血管内重要的活性因子,活性氧可快速的与 NO 发生反应,降低 NO 的生物活性并生成氧化性更强的过氧化亚硝酸盐。Guzik 等^[10]在研究冠心病患者隐静脉中的 $O_2^{\cdot-}$ 时发现,烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶活性增高可引起 NO 介导的内皮舒张功能下降,提示冠心病患者血管内皮功能受损与 $O_2^{\cdot-}$ 对 NO 的直接清除有关。

2.2.2 作为第二信使参与信号传递 活性氧最主要的作用还是作为第二信使进行信号传递。细胞内的氧化还原状态取决于活性氧及其氧化产物与抗氧化物,尤其是巯基/二硫化物之间的平衡。在许多类型细胞中,对氧化还原敏感的蛋白激酶和转录因子都参与了细胞信号转导,例如丝裂素活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)、转录因子复合体激活蛋白 1 (activator protein-1, AP-1) 和核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 等^[17]。AP 1 和 NF κ B 是目前研究得较为清楚的受氧化还原调节的两个转录因子。

Fei 等^[18]发现,在 VSMC 中,内皮素 1(endothelin-1, ET-1)通过激活 MAPK 参与 As 的发生和斑块破裂。MAPK 家族的许多成员参与控制细胞的生长和凋亡过程,其中包括 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun amino terminal kinase, JNK)和细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)。c-Jun 和 c-Fox 均为转录因子,在静止期 VSMC 中表达的水平很低。当 VSMC 被激活后可诱导 c-Jun 和 c-Fox 的表达,活化后形成 AP-1。ET-1 诱导 JNK 和 ERK 激活的过程是由内皮素受体 ET-1A 介导的,因为加入受体拮抗剂后可抑制 MAPK 的激活。ET-1 使 VSMC 中的活性氧产生增加并且在 JNK 和 ERK 的活化过程中发挥作用。为了证实这一观点,研究者用二亚苯基碘对细胞进行处理,发现二亚苯基碘可抑制 JNK 的激活,但 ERK 的活化未受明显影响。通过上面的介绍可以看出 ET-1 的作用过程为:ET-1 与 ET-1A 受体结合,随后激活 Gi 蛋白,后者通过激活 NADPH 氧化酶产生活性氧,活性氧又导致 JNK 的激活。JNK 使转录因子 c-Jun 的两个丝氨酸残基磷酸化,形成二聚体形式的 AP-1。AP-1 进而影响前炎症性基因的表达。活性氧作为重要的信号分子,通过激活 MAPK 引起浓度依赖的基因表达,参与 As 的形成。

NF- κ B 是活性氧调控氧化还原敏感基因表达的另一重要途径。当细胞内特别是由 Rac-1 调节的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶产生的活性氧增多时,Ras 或 Raf-1 被激活,Raf-1 直接使 NF- κ B-I κ B 复合物磷酸化,导致 I κ B 解离。活化的 NF- κ B 转入核内与 DNA 结合,调节靶基因的表达^[19]。

3 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶 p22^{phox} 亚基的基因多态性研究

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶由多个亚基组成,这些亚基有的存在基因多态性。由于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶在 As 的发生和发展中的重要作用,这些亚基的多态性与 As 本身以及动脉粥样硬化性疾病如冠心病和缺血性脑血管病(ischemic cerebrovascular disease, ICVD)的关系也倍受研究者重视。其中研究最多的是 p22^{phox} 的多态性。p22^{phox} 亚基的编码基因为 CYBA,位于染色体 16q24,长约 8.5 kb,由 6 个外显子和 5 个内含子组成。CYBA 基因有四种多态性,即 C242T、G508A、C549T 和 A640G^[20]。C242T 多态性导致 p22^{phox} 亚基第 72 位组氨酸被酪氨酸代替,该部位是两个潜在的血红蛋白结合位点之一。A640G 多态性位于 3' 端非翻译区。G508A 和 C549T 多态性位于内含子区域,对基因产物没有影响。

有研究者通过冠状动脉造影和颈动脉超声等方法,对 p22^{phox} 亚基 C242T 多态性和 As 之间的关系进行了探讨,但得出的结论并不一致。Cahilly 等^[21]对参与脂蛋白与冠状动脉粥样硬化研究(lipoprotein and coronary atherosclerosis study, LCAS)的 429 人进行了前瞻性研究。研究对象的年龄为 35~75 岁,至少一支冠状动脉有 30%~75% 的狭窄。所有研究对象在研究开始时和随访 2.5 年后分别进行定量冠状动脉造影并测定血脂和载脂蛋白水平。结果发现,携带 T 等位基因的个体其冠状动脉的平均最小内腔直径(minimum lumen

diameter, MLD)和损伤特异性 MLD 与不携带 T 等位基因的个体相比减小了 3~5 倍,说明 242T 等位基因促进了冠状动脉粥样硬化和管腔狭窄的进展。Hayaishi-Okano 等^[22]利用超声方法测量了 2 型糖尿病患者的颈动脉内膜—中层厚度(intima-media thickness, IMT),发现总胆固醇 + TT 基因型携带者其 IMT 显著低于 CC 基因型者,提示 T 等位基因是 IMT 增高的保护因素。

许多病例对照研究探讨了 p22^{phox} 亚基 C242T 多态性与冠心病和 ICVD 之间的关系,但由于研究设计和种族差异等因素的影响,结果差异很大,甚至截然相反。Inoue 等^[20]用限制片长多态性方法研究了 C242T 多态性与冠心病的关系,发现 T 等位基因频率(TT + TC)在对照组和病例组分别为 0.13 和 0.08,对照组显著高于病例组,同时发现 A640G 多态性在对照组和病例组没有区别。结论是 C242T 多态性是冠心病的重要遗传标志,对冠心病起保护作用。Saha 等^[23]的病例对照研究是由 126 名亚洲印度人和 151 名居住在新加坡的中国人组成,对照组则包括 154 名亚洲印度人和 167 名中国人。研究显示在对照组亚洲印度人 T 等位基因频率高于中国人(分别为 0.38 和 0.09, $P < 0.0001$),而在病例组和对照组间等位基因频率无差别,表明该多态性与冠心病无关。Cardemmann 等^[24]对 2 205 名白人男性冠心病患者的研究表明,A640G 的 G 等位基因频率在对照组明显高于病例组,AA 基因型更常见于冠心病组,在高危年轻个体中这种关系更为明显,表明 A640G 多态性与冠心病相关。未发现 C242T 多态性与冠心病之间存在相关性。

也有研究者报道 p22^{phox} 基因多态性是冠心病和 ICVD 的危险因素。Cahilly 等^[21]的研究提示 242T 等位基因与冠心病的进展有关,是冠心病的一个危险因素。Ito 等^[25]研究了 C242T 多态性与 ICVD 的关系。他们在东京 Keio 大学医院收集了 226 名 ICVD 患者和 301 名正常对照者,用限制片长多态性方法分析了 C242T 多态性的基因型。结果发现 T 等位基因频率(TT + TC)在病例组为 0.12,而在对照组为 0.07,病例组显著高于对照组。在病例组和对照组间 TT + 总胆固醇基因型相对于 CC 基因型的 OR 值是 1.81(95% 可信区间为 1.15~2.86),说明 C242T 多态性也是缺血性脑血管病的一个独立危险因素。上述研究之所以得出相反的结论,可能与研究对象的种族差异、研究设计的方法、样本量的大小以及对对照组的选择等因素有关。Cai 等^[26]对 689 名澳大利亚白人的研究发现,在总人群中 CYBA 242T 等位基因频率为 0.33,明显高于日本人群,提示 C242T 多态性与冠心病的相关性与种族有关,也表明不同种族间冠心病的发病机制不尽相同。

4 问题与展望

非吞噬细胞烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶所产生的活性氧参与 As 的机制是多方面的,涉及到活性氧作为第二信使在细胞内或/和细胞间进行信号传递,引起氧化—还原敏感基因的表达,导致细胞增殖、单核细胞或巨噬细胞的迁移及粘附、脂质过氧化反应和内皮细胞功能失调等一系列病理生理变化。但活性氧引起 As 的确切机制目前还未完全明

确,吞噬细胞与非吞噬细胞烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶在结构上的异同点还有待于进一步阐明,烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶各个亚基的基因多态性对酶的活性及活性氧产生的影响也需要进一步研究。随着分子生物学技术和遗传学研究方法的发展,在这一领域的研究将会越来越深入和完善,并为动脉粥样硬化性疾病如冠心病和 ICVD 的预防和治疗提供理论依据。

[参考文献]

- [1] Meyer JW, Schmitt ME. A central role for the endothelial NADPH oxidase in atherosclerosis. *FEBS Lett*, 2000, **472** (1): 1-4
- [2] Van Heerebeek L, Meischl C, Stoker W, Meijer CJ, Niessen HW, Roos D. NADPH oxidase(s): new source(s) of reactive oxygen species in the vascular system? *J Clin Pathol*, 2002, **55** (8): 561-568
- [3] Meier B, Jesaitis AJ, Enroldoffler A, Roessler J, Quinn MT. The chromosome b55g molecules involved in the fibroblast and polymorphonuclear leucocyte superoxide-generating NADPH oxidase systems are structurally and genetically distinct. *Biochem J*, 1993, **289** (Pt 2): 481-486
- [4] Suh YA, Amord RS, Lassague B, et al. Cell transformation by the superoxide generating oxidase Mox1. *Nature*, 1999, **401** (6748): 79-82
- [5] Ushio-Fukai M, Tang Y, Fukai T, Dikalov SI, Ma Y, Fujimoto M, et al. Novel role of gp91^{phox}-containing NAD(P)H oxidase in vascular endothelial growth factor-induced signaling and angiogenesis. *Circ Res*, 2002, **91**: 1 160-167
- [6] Berry C, Hamilton CA, Brosnan J, Magill FG, Berg GA, McMurray JJ, et al. Investigation into the sources of superoxide in human blood vessels. *Circulation*, 2000, **101**: 2 206-212
- [7] Kalinina N, Agrotis A, Tanarak E, Antropova Y, Kanellakis P, Ilyinskaya O, et al. Cytochrome b55g-dependent NAD(P)H oxidase-phox units in smooth muscle and macrophages of atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22** (12): 2 037-043
- [8] De Keulenaer GW, Alexander RW, Ushio-Fukai M, Ishizaka N, Griendling KK. Tumor necrosis factor α activates a p22^{phox}-based NADH oxidase in vascular smooth muscle. *Biochem J*, 1998, **329** (Pt 3): 653-657
- [9] Wei Z, Costa K, Al-Mehdi AB, Dodia C, Muzykantor V, Fisher AB. Stimulated ischemia in flow adapted endothelial cells leads to generation of reactive oxygen species and cell signalling. *Circ Res*, 1999, **85** (8): 682-689
- [10] Guzik TJ, West NE, Black E, McDonald D, Ratnatunga C, Pillai R. Vascular superoxide production by NADH/NADPH oxidase: association with endothelial dysfunction and clinical risk factors. *Circ Res*, 2000, **86** (9): e85-e90
- [11] Wamholtz A, Nickenig G, Schulz E, Macharzina R, Skatchkov M, Heitzer T. Increased NADH-oxidase-mediated superoxide production in the early stages of atherosclerosis: evidence for involvement of the renin-angiotensin system. *Circulation*, 1999, **99** (15): 2 027-033
- [12] Miller FJ Jr, Guterman DD, Rios CD, Heistad DD, Davidson BL. Superoxide production in vascular smooth muscle contributes to oxidative stress and impaired relaxation in atherosclerosis. *Circ Res*, 1998, **82** (12): 1 298-305
- [13] Wagner AH, Schroeter MR, Hecker M. 17[β]-Estradiol inhibition of NADPH oxidase expression in human endothelial cells. *FASEB J*, 2001, **15**: 2 121-130
- [14] Yokoyama M, Inoue N, Kawashima S. Role of the vascular NADH/NADPH oxidase system in atherosclerosis. *Ann N Y Acad Sci*, 2000, **902**: 241-247
- [15] 陈 媛, 周 玫, 刘尚喜, 郭志刚, 姜 宁. 脂质过氧化损伤在动脉粥样硬化发生发展中的作用. *中国科学基金*, 1995, **9** (4): 43-45
- [16] 庞战军, 陈 媛, 周 玫. 活性氧、一氧化氮与氧化型低密度脂蛋白. *中国动脉粥样硬化杂志*, 1996, **4** (4): 300-303
- [17] 盛 林, 刘亚军, 潘其兴. 活性氧的氧化还原机制在介入性损伤后血管平滑肌细胞增殖中的作用. *中国动脉粥样硬化杂志*, 2000, **8** (1): 83-87
- [18] Fei J, Viedt C, Soto U, Elsing C, Jahn L, Kreuzer J. Endothelin-1 and smooth muscle cells: induction of Jun amino terminal kinase through an oxygen radical sensitive mechanism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20** (5): 1 244-249
- [19] Sulciner DJ, Irani K, Yu ZX, Ferrans VJ, Goldschmidt-Clemons P, Finkel T. rac1 Regulates a cytokine-stimulated, redox-dependent pathway necessary for NF- κ B activation. *Mol Cell Biol*, 1996, **16**: 7 115-121
- [20] Inoue N, Kawashima S, Kanazawa K, Yamada S, Akita H, Yokoyama M. Polymorphism of the NADPH/NADH oxidase p22^{phox} gene in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 1998, **97** (2): 135-137
- [21] Cahilly C, Ballantyne CM, Lim DS, Gotto A, Marian AJ. A variant of p22^{phox}, involved in generation of reactive oxygen species in the vessel wall, is associated with progression of coronary atherosclerosis. *Circ Res*, 2000, **86** (4): 391-395
- [22] Hayaishi-Okano R, Yamasaki Y, Kajimoto Y, Sakamoto K, Ohtoshi K, Katahira N, et al. Association of NAD(P)H oxidase p22^{phox} gene variation with advanced carotid atherosclerosis in Japanese type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2003, **26** (2): 458-463
- [23] Saha N, Sanghera DK, Kamboh MI. The p22^{phox} polymorphism C242T is not associated with CHD risk in Asian, Indians and Chinese. *Eur J Clin Invest*, 1999, **29** (12): 999-1 002
- [24] Gardemann A, Mages P, Katz N, Tillmanns H, Haberbosch W. The p22^{phox} A640G gene polymorphism but not the C242T gene variation is associated with coronary heart disease in younger individuals. *Atherosclerosis*, 1999, **145** (2): 315-323
- [25] Ito D, Murata M, Watanabe K, Yoshida T, Saito I, Tanahashi N, et al. C242T polymorphism of NADPH oxidase p22^{phox} gene and ischemic cerebrovascular disease in the Japanese population. *Stroke*, 2000, **31** (4): 936-939
- [26] Cai H, Duarte N, Wilcken DE, Wang XL. NADH/NADPH oxidase p22^{phox} C242T polymorphism and coronary artery disease in the Australian population. *Eur J Clin Invest*, 1999, **29** (9): 744-748

(此文编辑 文玉珊)