

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2006)14-06-0466-05

组织因子、Egr-1 及 Sp1 在大鼠狭窄颈动脉内皮细胞的表达

李黔宁, 杨益民, 刘 勇, 龚自力, 成戎川, 吕 敏, 郑 健, 帅 杰

(中国人民解放军第三军医大学新桥医院神经内科, 重庆市 400037)

[关键词] 病理学与病理生理学; 组织因子; 颈总动脉狭窄模型; 血管内皮细胞; 切应力; Egr-1; Sp1

[摘要] 目的 研究在体动物颈动脉狭窄处内皮细胞组织因子基因的切应力性表达规律及其机制。方法 实验分为对照组和颈动脉狭窄组, 套扎法建立左颈总动脉狭窄模型, 狭窄组又分为 0.5 h、1 h、3 h、6 h、12 h、1 d、3 d 和 7 d 8 个时间点, 术后不同时间点用原位杂交和免疫组织化学法, 检测组织因子、Egr-1 和 Sp1 的 mRNA 和蛋白表达, 用图像分析系统测定内膜平均灰度, 进行统计学分析。结果 对照组内皮细胞组织因子、Egr-1 及 Sp1 的 mRNA 转录和蛋白合成弱; 狭窄 30 min 后, 与对照组比较内皮细胞胞质组织因子基因 mRNA 转录和蛋白合成升高 ($P < 0.05$), 内皮细胞胞核和胞质 Egr-1 和 Sp1 基因 mRNA 转录和蛋白合成均增加 ($P < 0.05$), 但以 Egr-1 增加更显著 ($P < 0.05$), 其变化趋势与组织因子基因 mRNA 转录及蛋白合成的变化趋势相同。组织因子基因 mRNA 转录和蛋白合成于 6 h 达到峰值, Egr-1 基因 mRNA 转录和蛋白合成于 3 h 达到峰值, Sp1 基因 mRNA 转录和蛋白合成于 1 h 达到峰值, 与对照组比较差异有显著性 ($P < 0.05$)。结论 颈动脉狭窄时, 切应力能够诱导动脉狭窄处内皮细胞组织因子基因表达, 其表达与内皮细胞转录因子 Egr-1 和 Sp1 介导有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Expression of Tissue Factor and Stimulatory Protein and Early Growth Response-1 in Endothelial Cell of Arteria Carotis Stenosis in Rats

LI Qian-Ning, YANG Yi-Min, LIU Yong, GONG Zi-Li, CHENG Rong-Chuan, LV Min, ZHENG Jian, and SHUAI Jie

(The Department of Neurology, Xinqiao Hospital, The Third Military Medical University of PLA, Chongqing 400037, China)

[KEY WORDS] Tissue Factor; Vascular Endothelial Cell; Shear Stress; Stimulatory Protein; Early Growth Response-1; Arteria Carotis Stenosis; Rats

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the expression of tissue factor (TF) and its mechanism in endothelial cell induced by fluid shear stress in vivo. **Methods** Fifty-four male SD rats (weight 300 ± 16 g) were randomly divided into nine groups ($n = 6$, respectively). The time course of mRNA and protein expression of TF, nuclear factor stimulatory protein (Sp1) and early growth response-1 (Egr-1) were examined on the model of loop ligation method of stenosis the left arteries carotis communis intima in the rat with the combination of in situ hybridization and immunohistochemistry methods, performed computer image analysis were used. **Results** The mRNA and protein of TF and Egr-1 and Sp1 were faintly expressed in intima of control group, after exposed to stenosis, the staining intensity was increased 30 minutes after wall shear stress. The mRNA and protein expression of TF markedly increased compared with control group ($P < 0.05$). The mRNA and protein expression of Egr-1 and Sp1 increased ($P < 0.05$). The change of Egr-1 was more significant than that of Sp1 ($P < 0.05$). The change trend of Egr-1 and Sp1 expression were similar to that of TF. The mRNA and protein of TF peaked at 6 hour, the mRNA and protein of Egr-1 peaked at 3 hour, the mRNA and protein of Sp1 peaked at 1 hour, with significant differences from control group ($P < 0.05$). **Conclusion** In carotid artery stenosis, the shear stress can up-regulate TF expression in the endothelium, and its mechanism is related to the activation of Sp1 and Egr-1.

组织因子(tissue factor, TF)又称凝血因子 Ⅲ^④, 当血管壁的完整性遭到破坏时, 内皮细胞可以大量表达 TF, 与凝血因子 F_Ⅶ /F_{Ⅶa} 结合形成复合物, 启动凝血级联反应(coagulation cascade), 导致

血管表面微血栓形成。血管相对狭窄部位的管壁切应力(wall shear stress, WSS)变化较大, 是血栓形成的关键因素^[1-3]。近年来对切应力诱导内皮细胞 TF 表达调控的研究表明, TF 基因 5' 上游序列的切应力反应元件(shear stress responsive element, SSRE)在其基因的诱导表达中起重要作用, 体外研究表明 Egr-1/Sp1 位点是主要表达调控位点^[4-7]。本研究建立大鼠颈总动脉切应力狭窄模型, 利用免疫组织化学和原位杂交法结合图像分析, 对切应力变化诱导内皮细胞 TF 基因表达的相关性及其变化规律进行

[收稿日期] 2005-09-14 [修回日期] 2006-04-20

[基金项目] 国家自然科学基金(39970269)资助。

[作者简介] 李黔宁, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事脑血管疾病和内皮细胞基因的切应力调控机制研究, 联系电话为 023-68774613, E-mail 为 llqqn@hotmail.com。杨益民, 硕士研究生, 主治医师, 主要从事脑血管形成的基础和临床研究, E-mail 为 yiminy@126.com。刘勇, 博士研究生, 讲师, 主要从事周围神经肌肉疾病方面的研究, E-mail 为 lzsh2002@sohu.com。

初步在体研究。

1 材料与方法

1.1 动物与分组

SD 雄性大鼠 54 只, 300 ± 16 g, 由第三军医大学实验动物中心提供。随机数字法分为对照组($n = 6$)和狭窄组($n = 48$), 狭窄组又分为 0.5 h、1 h、3 h、6 h、12 h、1 d、3 d 和 7 d 共 8 个时间点, 每个时间点各 6 只大鼠。

1.2 切应力狭窄模型制作及标本采集

以 3% 戊巴比妥钠 45 mg/kg 体重腹腔注射麻醉, 至睫毛反射消失, 仰卧固定。无菌条件下, 颈部备皮消毒后, 行颈部正中切口长约 2 cm, 逐层分离, 在气管旁颈动脉鞘内游离出左侧颈总动脉中段长约 1 cm, 套入一纵形剖开的内径 0.5 mm、长 3 mm 的硅胶管(移液器吸头加热拉成), 外用 4 号丝线双重扎紧, 复位后缝皮。用 TS420 型多普勒血流仪, 1.5 prb 探头, 分别在 8 个时间点检测狭窄下游 5 mm 内的平均血流量, 检测时尽量清除颈总动脉外膜的疏松结缔组织, 保持探头与血流方向垂直, 每例检测约 10 min 左右, 待显示平稳时记录数字, 获取动脉平均血流量(Q)。随后在 Digitex 数字减影血管成像系统下, 仰卧固定, 开胸后, 用自制导管(直径约 0.8 mm, 移液器吸头加热拉成)刺入左心室, 快速注射 0.5~1 mL 碘佛醇, 进行正位数字减影血管造影(DSA), 获取血管内径及狭窄程度。对照组只分离左颈总动脉, 不套扎, 进行每分钟平均血流量和血管内径的测量。采用固定液(4% 多聚甲醛, 1% DEPC, 0.1 mol/L PBS, pH7.4)直接灌注, 取下狭窄段固定, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 浸蜡, 常规石蜡包埋, 切片厚度 5 μ m。

1.3 切应力计算

把测得在体血管内径(D)和每分钟平均血流量(Q)代入 Poiseuille 流体公式计量动脉平均壁切应力: $T_w = 32\eta Q/\pi D^3$ (血液粘稠度 $\eta = 0.035$ Pa)^[8]。

1.4 原位杂交法

石蜡切片常规脱蜡至水并水化后, 参照试剂盒说明, 3% 柠檬酸新鲜稀释的胃蛋白酶 37℃消化 30 min, 预杂交液恒温箱 40℃5 h, TF、Egr-1 和 Sp1 寡核苷酸探针(MK3023、MK1748、MK1346, 武汉博士德生物工程公司提供), 杂交液恒温箱内 42℃杂交过夜, 封闭液 37℃孵育 30 min, 生物素化鼠抗地高辛 37℃孵育 60 min, 滴加 SABC 复合物 37℃孵育 20 min, 生物素化过氧化物酶 37℃孵育 30 min, DAB 显色

(试剂盒 AR1022, 武汉博士德生物工程公司提供)。按试剂盒提供的已知阳性片作为阳性对照, 以 PBS 代替杂交液作为阴性对照。TF mRNA 阳性结果为细胞质出现棕黄色颗粒, Egr-1 和 Sp1 的 mRNA 阳性结果为细胞核和胞质出现棕黄色颗粒。

1.5 免疫组织化学染色

石蜡切片脱蜡至水并水化, 参照试剂盒说明, 3% 过氧化氢室温下孵育 15 min, 浸入 0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液(pH6.0), 微波炉中火加热至沸腾, 反复 2 次, 每次间隔 5 min, 10% 羊血清 37℃孵育 15 min, 分别加入一抗兔抗 TF 多克隆抗体(BA1714 武汉博士德生物工程公司提供, 稀释度 1:100)和兔抗 Egr-1、Sp1 多克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司提供, 稀释度 1:200), 4℃过夜, 生物素标记的山羊抗兔 IgG 抗体(二抗)室温孵育 20 min, 链霉菌抗生物蛋白—过氧化物酶溶液室温孵育 20 min, DAB 显色(试剂盒 AR1022, 武汉博士德生物工程公司提供)。已知阳性片作为阳性对照, 以 PBS 代替杂交液作为阴性对照。TF 阳性结果为细胞胞质着色, 呈棕黄色。Egr-1 和 Sp1 阳性结果主要为细胞胞核和胞质着色, 呈棕黄色。

1.6 计算机图像分析

在 Leica MPS-30 荧光倒置显微镜 10×63 高倍视野下运用 Leica QWIN 彩色病理图像分析系统(新桥医院中心实验室提供)对切片进行图像分析, 所有切片的放大倍数、光源强度均相同, 测定内膜的平均灰度值。

1.7 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, SPSS10.0 统计软件处理, 组间均数比较用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 确定有显著性, 各观察指标间相关性用 Pearson 线性相关分析。

2 结果

2.1 各组切应力变化

静息状态下大鼠左颈动脉正常血管内径为 1.04 ± 0.03 mm, 平均血流量(Q)为 12.23 ± 0.38 mL/min, 壁切应力(WSS)为 3.99 ± 0.33 dynes/cm²; 狭窄血管内径为 0.41 ± 0.01 mm, 0.5 h Q 为 3.10 ± 0.24 mL/min, WSS 为 16.04 ± 1.22 dynes/cm²。可见, 狭窄 85% 后, Q 减少了 65%, 局部 WSS 增加了 3.7 倍($P < 0.05$)。以后各时间点测得狭窄段 Q 波动在 2.95 ± 0.38 mL/min~ 3.35 ± 0.54 mL/min, 各组间 WSS 差异无显著性(表 1)。

表 1. 大鼠左颈总动脉狭窄段各时间点平均血流量和切应力变化 ($\bar{x} \pm s$)

指 标	对照组	0.5 h 组	1 h 组	3 h 组	6 h 组	12 h 组	1 d 组	3 d 组	7 d 组
Q(ml/min)	12.23 ± 0.38	3.10 ± 0.24 ^a	3.12 ± 0.56 ^a	3.17 ± 0.63 ^a	3.02 ± 0.74 ^a	3.35 ± 0.54 ^a	3.25 ± 0.52 ^a	2.95 ± 0.38 ^a	3.20 ± 0.40 ^a
WSS(dynes/cm ²)	3.99 ± 0.33	16.04 ± 1.22 ^a	15.37 ± 2.78 ^a	15.25 ± 3.01 ^a	14.52 ± 3.54 ^a	16.13 ± 2.60 ^a	16.65 ± 2.52 ^a	14.20 ± 1.85 ^a	15.41 ± 1.93 ^a

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.2 切应力对组织因子 mRNA 转录和蛋白表达的影响

对照组颈总动脉内膜内皮细胞的 TF mRNA 和蛋白几乎无表达, 狭窄 0.5 h 后, 检测到血管内膜内皮细胞表达 TF mRNA 和蛋白增强($P < 0.05$), 主

要存在于胞质, 随狭窄时间的延长, 阳性细胞数目及着色程度逐渐增加, 狭窄后 6 h 达到峰值($P < 0.05$, 图 1), 以后逐渐下降, 但各时间点与正常组相比均显著升高($P < 0.05$), 狭窄后 7 d, 相对平均灰度值接近对照组(表 2)。

表 2. 各组内皮细胞组织因子 mRNA 转录和蛋白表达的变化 ($\bar{x} \pm s$)

指 标	对照组	0.5 h 组	1 h 组	3 h 组	6 h 组	12 h 组	1 d 组	3 d 组	7 d 组
mRNA	7.01 ± 2.48	18.31 ± 2.20 ^a	29.06 ± 2.72 ^a	35.95 ± 1.88 ^a	38.29 ± 1.64 ^{ab}	32.93 ± 2.01 ^a	28.49 ± 2.22 ^a	21.96 ± 2.96 ^a	8.82 ± 2.53
蛋白	9.09 ± 1.09	23.94 ± 2.34 ^a	32.67 ± 2.84 ^a	43.14 ± 3.56 ^a	48.72 ± 2.23 ^{ab}	45.56 ± 1.89 ^a	39.34 ± 2.68 ^a	28.82 ± 1.56 ^a	14.05 ± 3.34

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较, b 为 $P < 0.01$, 与 3 h 组和 12 h 组比较。

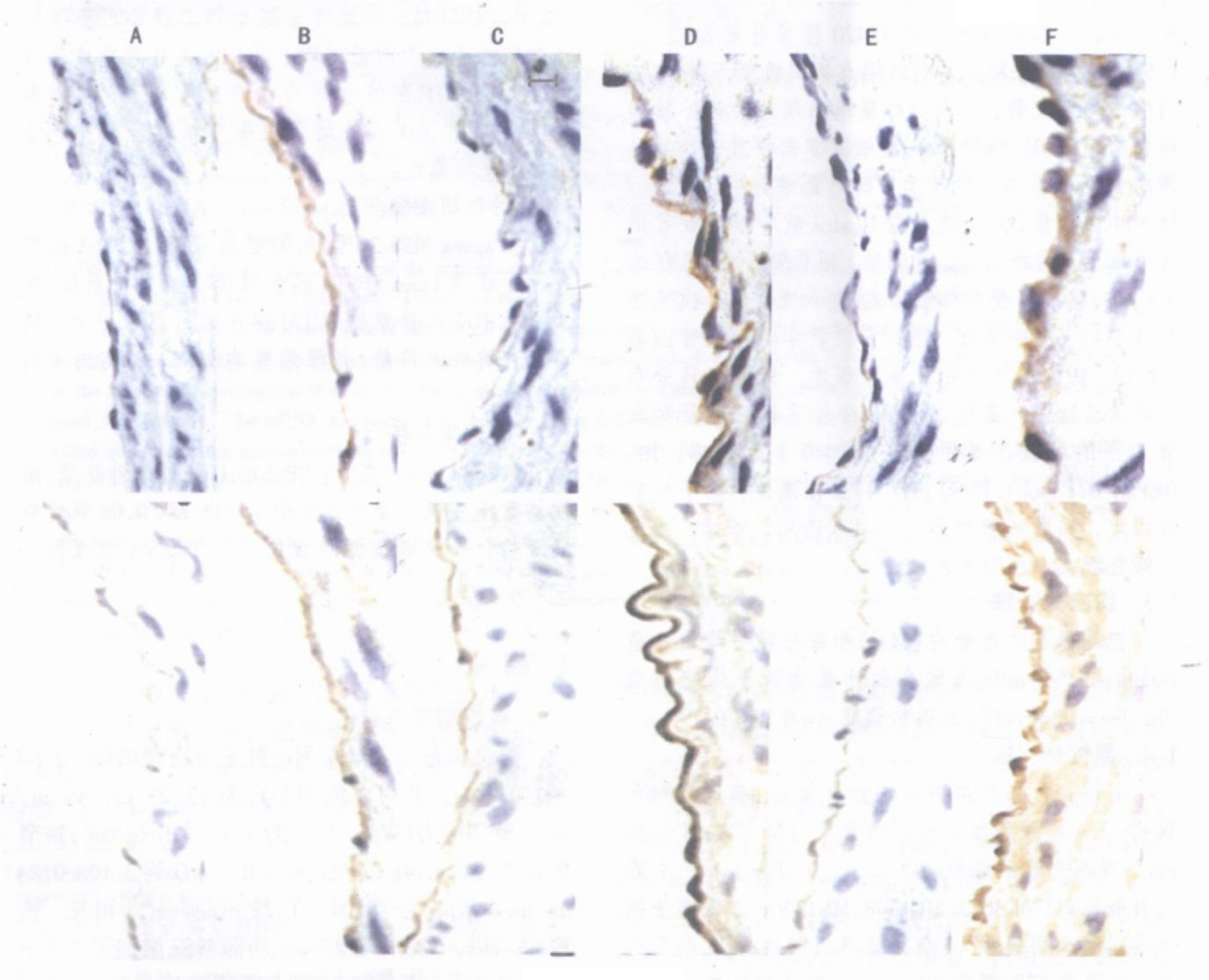


图 1. 大鼠颈总动脉内膜组织因子、Egr-1 和 Sp1 mRNA 和蛋白的表达 上为原位杂交图片(DAB × 630), 下为免疫组织化学图片(SABC × 630)。A 为对照组 TF, B 为狭窄 6 h 组 TF, C 为对照组 Egr-1, D 为狭窄 3 h 组 Egr-1, E 为对照组 Sp1, F 为狭窄 1 h 组 Sp1。

2.3 切应力对 Egr-1 mRNA 转录和蛋白表达的影响

对照组内皮细胞 Egr-1 mRNA 和蛋白在胞质内呈弱阳性表达, 狭窄 0.5 h 后, 检测到血管内膜内皮细胞核和胞质表达的 Egr-1 mRNA 和蛋白增强(P

< 0.05), 狭窄后 6 h 达到峰值($P < 0.05$, 图 1), 以后逐渐下降, 狭窄后 1 d 相对平均灰度值即接近对照组(表 3)。

表 3. 各组内皮细胞 Egr-1 mRNA 转录和蛋白表达的变化 ($\bar{x} \pm s$)

指 标	对照组	0.5 h 组	1 h 组	3 h 组	6 h 组	12 h 组	1 d 组
mRNA	18.08 \pm 2.08	28.90 \pm 1.56 ^a	30.55 \pm 1.72 ^a	36.93 \pm 1.74 ^{ab}	32.76 \pm 2.40 ^a	27.28 \pm 2.57 ^a	17.66 \pm 2.52
蛋白	9.48 \pm 1.53	32.06 \pm 2.81 ^a	45.76 \pm 1.61 ^a	55.69 \pm 1.67 ^{ab}	38.41 \pm 1.92 ^a	17.38 \pm 2.70 ^a	10.70 \pm 1.68

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较, b 为 $P < 0.05$, 与 1 h 组和 3 h 组比较。

2.4 切应力对 Sp1 mRNA 转录和蛋白表达的影响

对照组颈总动脉内膜内皮细胞的 Sp1 mRNA 和蛋白在胞质内呈弱阳性表达, 狭窄 0.5 h 后, 检测到血管内膜内皮细胞核表达的 Sp1 mRNA 和蛋白增

强($P < 0.05$), 狭窄后 1 h 达到峰值($P < 0.05$, 图 1), 以后逐渐下降, 狭窄后 1 d 相对平均灰度值即接近对照组(表 4)。

表 4. 各组内皮细胞 Sp1 mRNA 转录和蛋白表达的变化 ($\bar{x} \pm s$)

指 标	对照组	0.5 h 组	1 h 组	3 h 组	6 h 组	12 h 组	1 d 组
mRNA	14.51 \pm 1.67	22.68 \pm 2.68 ^a	28.87 \pm 1.90 ^{ab}	26.20 \pm 1.41 ^a	25.20 \pm 1.24 ^a	24.16 \pm 1.54 ^a	14.93 \pm 1.63
蛋白	16.18 \pm 1.95	23.50 \pm 2.43 ^a	32.80 \pm 2.22 ^{ab}	27.56 \pm 3.37 ^a	21.76 \pm 2.86 ^a	19.23 \pm 2.25 ^a	17.38 \pm 2.04

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较, b 为 $P < 0.05$, 与 0.5 h 组和 1 h 组比较。

2.5 组织因子基因与 Egr-1 和 Sp1 基因 mRNA 和蛋白表达的相关关系

颈动脉内膜 TF、Egr-1 和 Sp1 的 mRNA 和蛋白在狭窄后 0.5 h 转录和表达就开始增强。TF mRNA 转录和蛋白表达在早期随着 Egr-1 和 Sp1 mRNA 转录和蛋白表达而增强, 6 h 达到峰值, 表达变化基本同步, TF mRNA 转录和 Egr-1 及 Sp1 mRNA 转录早期呈明显正相关($r_1 = 0.78$, $r_2 = 0.45$, $P < 0.05$), 此后依然维持在一个相对较高的水平, 直到 7 d 后接近正常水平。Sp1 mRNA 转录和蛋白表达在 1 h 就达到峰值, 随后缓慢下降, 1 d 后接近正常水平。Egr-1 mRNA 转录和蛋白表达 3 h 达到峰值, 随后快速下降, 1 d 后接近正常水平。

3 讨论

大鼠左颈总动脉发出颈内动脉的近心段长直均匀无分支, 可以应用 Poiseuille 流体公式计量动脉平均壁切应力^[8]。运用 DSA 和多普勒血流仪可以比较精确的测量在体血管内径和每分钟平均血流量(Q), 计算出准确狭窄程度和切应力, 是一种比较理想的在体测量切应力改变对内皮细胞形态和功能影响的方法。本实验建立的模型造成 85% 狭窄, 属

于重度狭窄, 局部切应力比狭窄前增加了 3.7 倍。局部的切应力过高, 导致与血流接触的内膜损伤, 诱发损伤内皮细胞异常表达 TF 形成血栓和斑块^[3, 9, 10]。

体外研究表明, 内皮细胞组织因子(TF) mRNA 和蛋白在基础状态下几乎检测不到, 给予切应力后表达上调, 促凝活性增加, 说明 TF 基因上调的诱发与内皮细胞的切应力变化有关^[7], Lin 等^[11]采用序列切除法证明切应力诱导 TF 基因表达启动子中 Sp1 位点(GGG GCG GGC)是切应力正向调节 TF 基因的 SSRE, Houston 等^[12]研究发现切应力诱导 TF 基因表达上调主要是由 Egr-1 介导的, Egr-1 位点(GCG GGG GCG)是切应力正向调节 TF 基因的 SSRE, 并且证实在大鼠颈总动脉狭窄处内膜 Egr-1 和 TF 蛋白表达增强。

本实验在大鼠颈总动脉狭窄段的高切应力区观察到内膜的 TF、Egr-1 和 Sp1 mRNA 转录和蛋白表达均明显增强, 说明了只要血管局部血流紊乱, 切应力发生了改变, 就可以诱导 TF 基因表达。随着即早基因家族基因(immediate early genes, IEGs) Egr-1 和 Sp1 mRNA 转录、蛋白表达的增强, TF 的 mRNA 转录和蛋白表达也上调, 切应力调控内皮细胞 TF 表达是由 Egr-1 和 Sp1 介导的。现在认为其调控机

制是^[7, 11, 12]: Egr-1 和 Sp1 通过与靶基因 TF 的 Egr-1/Sp1 结合位点(exon binding site, EBS)实现转录调控, TF 基因的启动子区+ 14~ - 111 间有 3 个 Egr-1/Sp1 位点, 每个 Egr-1/Sp1 位点由 12 个核苷酸组成, Egr-1 基因启动子上游含有 3 个 Egr-1 结合位点 P4、P7 和 P8 元件, 识别其中 9 个核苷酸; Sp1 结合位点在 P7 和 P8 且与 EBS 重叠 6 个核苷酸, Egr-1 和 Sp1 可竞争结合 EBS。在 P4, Egr-1 和 Sp1 协同活化 Egr-1 的转录; 而在 P7 和 P8, Egr-1 与 Sp1 竞争结合, 调节 Egr-1 的转录。Egr-1 对 TF 基因启动子区 Egr-1/Sp1 位点的亲和力比转录因子 Sp1 作用强, 有利于与 Egr-1/Sp1 位点结合, 竞争性取代 Sp1, 即位于 TF 基因启动子区的 SP1 可为 Egr-1 以剂量依赖的方式置换。正常生理状态时, 转录因子 Sp1 与 TF 基因启动子区 3 个 Egr-1/Sp1 位点的 12 bp 核心序列结合, 当切应力发生改变时, 首先诱导转录因子 Egr-1 升高, 由于 Egr-1 对 TF 基因启动子区 Egr-1/Sp1 位点的 12 bp 核心序列的竞争能力较 Sp1 强, 因此 Egr-1 产生后就能迅速进入核内靶位点替换 Sp1, 与 TF 基因启动子区的 12 bp 核心序列结合, 使 TF 基因表达激活。这可以说明本实验观察到的 TF mRNA 转录和蛋白表达早期与 Egr-1 和 Sp1 的 mRNA 转录和蛋白表达趋势是一致的, TF mRNA 转录和蛋白表达的峰值出现在 Egr-1 的 mRNA 转录和蛋白表达峰值之后, 说明了切应力作用于 TF 基因上调早期主要是由 Egr-1 启动的, Sp1 的 mRNA 转录和蛋白表达峰值早期出现后一直维持在一个相对较高的水平, 可能是磷酸化的 Sp1 参与了启动。

我们观察到, Egr-1 和 Sp1 在峰值前的 mRNA 转录和蛋白表达与 TF mRNA 转录和蛋白表达呈明显正相关, 说明切应力作用于 TF 基因上调早期主要是由 Egr-1 和 Sp1 介导的。Egr-1 和 Sp1 的 mRNA 转录和蛋白表达在 1 d 后即回复到正常水平, 这可能与基因调节的负反馈有关, 而 TF 的 mRNA 转录和蛋白表达在 7 d 后才渐趋正常水平, 可能与其它转录因子调控有关。多种因素使内皮细胞 TF 基因表

达上调, 在 TF 基因- 278 bp~ - 112 bp 存在激活蛋白 1 和核因子 κ B(NF- κ B) 结合位点, 核因子 κ B 和激活蛋白 1 也可以参与其上调^[13], 在多种炎性因子如白细胞介素 1、脂多糖、肿瘤坏死因子 α 、干扰素和内毒素粘附分子等作用下, 血管内皮细胞 TF 基因表达可以迅速增加^[14], 目前对于切应力转导的分子机制还不完全清楚, 切应力作用于血管内皮细胞上调 TF 基因的表达机制尚须进一步研究。

[参考文献]

- [1] Hademenos GJ, Massoud TF. Biophysical mechanisms of stroke[J]. *Stroke*, 1997, **28** (10): 2 067-077
- [2] Mazzolai L, Silacci P, Bouzourene K, Daniel F, Brunner H, Hayoz D. Tissue factor activity is upregulated in human endothelial cells exposed to oscillatory shear stress[J]. *Thromb-Haemost*, 2002, **87** (6): 1 062-068
- [3] Mackman N. Role of tissue factor in hemostasis, thrombosis, and vascular development[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24** (6): 1 015-022
- [4] Grabowski EF, Reininger AJ, Petteruti PG, Tsukurov O, Orkin RW. Shear stress decreases endothelial cell tissue factor activity by augmenting secretion of tissue factor pathway inhibitor[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, **21** (1): 157-162
- [5] Nagel T, Resnick N, Dewey CF, Gimbrone MA. Vascular endothelial cells respond to spatial gradients in fluid shear stress by enhanced activation of transcription factors[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, **19** (8): 1 825-834
- [6] Schatz F, Krikun G, Caze R, Rahman M, Lockwood CJ. Progestin-regulated expression of tissue factor in decidual cells: implications in endometrial hemostasis, menstruation and angiogenesis[J]. *Steroids*, 2003, **68** (10-13): 849-860
- [7] 李黔宁, 应大君, 戴光明, 郑健. 切应力对内皮细胞组织因子表达上调的影响及其作用机制[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (1): 1-4
- [8] Walpole PL, Gotlieb AI, Langille BL. Monocyte adhesion and changes in endothelial cell number, morphology, and F-actin distribution elicited by low shear stress in vivo[J]. *Am J Pathol*, 1993, **142** (5): 1 392-400
- [9] Ding Z, Wang K, Li J, Cong X. Flow field and oscillatory shear stress in a tuning-fork-shaped model of the average human carotid bifurcation[J]. *J Biomech*, 2001, **34** (12): 1 555-562
- [10] Moore JE, Xu C, Glagov S, Zarins CK, Ku DN. Fluid wall shear stress measurements in a model of the human abdominal aorta: oscillatory behavior and relationship to atherosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 1994, **110** (2): 225-240
- [11] Lin MC, Almus JF, Chen HH, Parry GC, Mackman N, Shyy JY, et al. Shear stress induction of the tissue factor gene[J]. *J Clin Invest*, 1997, **99** (4): 737-744
- [12] Houston P, Dickson MC, Ludbrook V. Fluid shear stress induction of the tissue factor promoter in vivo is mediated by Egr-1[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, **19** (2): 281-289
- [13] Mackman N. Regulation of the tissue factor gene[J]. *Thromb-Haemost*, 1997, **78** (1): 747-754
- [14] Shebuski RJ, Kilgore KS. Role of inflammatory mediators in thrombogenesis[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002, **300** (2): 729-735

(此文编辑 朱雯霞)