

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2006)14-07-0560-05

川芎嗪对血管壁细胞血管细胞粘附分子 1 和单核细胞趋化蛋白 1 表达的作用及可能机制

阮秋蓉, 瞿智玲, 朱 敏, 路 军, 任新瑜, 周 英

(华中科技大学同济医学院基础医学院病理系, 湖北省武汉市 430030)

[关键词] 病理学; 川芎嗪; 动脉粥样硬化; 血管细胞粘附分子 1; 单核细胞趋化蛋白 1; 血管紧张素 Ⅱ; 核因子 KB

[摘要] 目的 观察川芎嗪对血管内皮细胞和平滑肌细胞表达血管细胞粘附分子 1、单核细胞趋化蛋白 1 和核因子 KB 的影响, 探讨川芎嗪抗动脉粥样硬化分子机制。方法 体外培养人脐静脉内皮细胞和大鼠胸主动脉平滑肌细胞。用氧化型低密度脂蛋白、氧化型极低密度脂蛋白、血管紧张素 Ⅱ和(或)川芎嗪作用于细胞后, 采用免疫细胞化学和原位分子杂交检测各组细胞血管细胞粘附分子 1、单核细胞趋化蛋白 1 和核因子 KB 的表达情况。用单核细胞粘附试验检测川芎嗪对单核细胞粘附于内皮细胞的影响。结果 氧化型低密度脂蛋白、氧化型极低密度脂蛋白或血管紧张素 Ⅱ诱导内皮细胞血管细胞粘附分子 1 蛋白相对表达量分别为 0.552 ± 0.008 、 0.460 ± 0.006 和 0.486 ± 0.025 , 明显高于对照组的 0.365 ± 0.019 ($P < 0.01$); 诱导平滑肌细胞血管细胞粘附分子 1 蛋白相对表达量分别为 0.564 ± 0.007 、 0.513 ± 0.021 和 0.524 ± 0.008 , 明显高于对照组 (0.416 ± 0.013 , $P < 0.01$)。氧化型低密度脂蛋白、氧化型极低密度脂蛋白或血管紧张素 Ⅱ诱导内皮细胞单核细胞趋化蛋白 1 蛋白相对表达量分别为 0.962 ± 0.051 、 0.878 ± 0.014 和 0.824 ± 0.006 , 明显高于对照组的 0.303 ± 0.008 ($P < 0.01$); 诱导平滑肌细胞单核细胞趋化蛋白 1 蛋白相对表达量分别为 0.877 ± 0.011 、 0.845 ± 0.023 和 0.881 ± 0.009 , 明显高于对照组的 0.362 ± 0.018 ($P < 0.01$)。氧化型低密度脂蛋白、氧化型极低密度脂蛋白或血管紧张素 Ⅱ诱导组血管细胞粘附分子 1 和单核细胞趋化蛋白 1 的 mRNA 表达明显高于对照组 ($P < 0.01$)。同时加入川芎嗪后血管细胞粘附分子 1 和单核细胞趋化蛋白 1 蛋白和 mRNA 表达明显低于相应诱导组 ($P < 0.01$)。氧化型低密度脂蛋白、氧化型极低密度脂蛋白或血管紧张素 Ⅱ诱导核因子 KB 在核内表达, 同时加入川芎嗪后核因子 KB 表达于胞浆, 核内阴性。与氧化型低密度脂蛋白或氧化型极低密度脂蛋白诱导组 (2.047 ± 0.011 和 1.936 ± 0.014) 比较, 加入川芎嗪后, 粘附于内皮细胞的单核细胞明显减少 (1.282 ± 0.020 和 1.265 ± 0.016 , $P < 0.01$)。结论 川芎嗪通过抑制或阻断动脉粥样硬化危险因素氧化型低密度脂蛋白、氧化型极低密度脂蛋白和血管紧张素 Ⅱ诱导的核因子 KB 活化及核内移位, 抑制血管壁细胞血管细胞粘附分子 1 和单核细胞趋化蛋白 1 表达, 抑制单核细胞粘附于内皮, 而发挥其抗动脉粥样硬化作用。

[中图分类号] R36

[文献标识码] A

Effect and Possible Mechanism of Ligustrazine on Expression of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 and Monocyte Chemotactic Protein-1 in Cells of Wall Vascular

RUAN Qiu-Rong, QU Zhi-Ling, ZHU Min, LU Jun, REN Xin-Yu, and ZHOU Ying

(Department of Pathology, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

[KEY WORDS] Ligustrazine; Atherosclerosis; Vascular Cell Adhesion Molecule-1; Monocyte Chemotactic Protein-1, Angiotensin Ⅱ; Nuclear factor-KB

[ABSTRACT] **Aim** To observe the influence of ligustrazine on vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) and nuclear factor-KB (NF-KB), expression by vascular endothelial cells and smooth muscle cells and to investigate the molecular mechanism of ligustrazine against atherosclerosis. **Methods** Human umbilical vein endothelial cells (hUVEC) and rat thorax aortic smooth muscle cells (SMC) were cultured and stimulated by ox-LDL, ox-VLDL, angiotensin Ⅱ and/or ligustrazine. Then, VCAM-1, MCP-1 and NF-KB expression by cultured cells were examined with immunocytochemistry staining or in situ hybridization. Adhesion test of monocytes was used to evaluate the influence of ligustrazine on monocytes adhesion to endothelium. **Results** Comparing with contrast group (hUVEC: 0.365 ± 0.019 , SMC: 0.416 ± 0.013), ox-LDL, ox-VLDL and angiotensin Ⅱ could enhance VCAM-1 protein level both in hUVEC (0.552 ± 0.008 , 0.460 ± 0.006 , 0.486 ± 0.025) and SMC (0.564 ± 0.007 , 0.513 ± 0.021 , 0.524 ± 0.008) ($P < 0.01$). As well, ox-LDL, ox-VLDL and angiotensin Ⅱ could enhance MCP-1 protein level both in hUVEC and SMC ($P < 0.01$). By contrast, ox-LDL, ox-VLDL and angiotensin Ⅱ

[收稿日期] 2005-07-20 [修回日期] 2006-05-21

[基金项目] 国家自然科学基金(30300135); 湖北省自然科学基金

[作者简介] 阮秋蓉, 教授, 博士研究生导师, 主要从事动脉粥样硬化发病机制及防治的研究, E-mail 为 ruanqiuorong@sina.com。瞿智玲, 主管技师。朱 敏, 硕士研究生。

could enhance VCAM-1 and MCP-1 mRNA expression both in hUVEC and SMC ($P < 0.01$). And ligustrazine markedly reduced ox-LDL, ox-VLDL, angiotensin II induced VCAM-1 and MCP-1 expression ($P < 0.01$). By contrast, ox-LDL, ox-VLDL and angiotensin II promoted NF- κ B nuclear translocation both in hUVEC and SMC. Ligustrazine inhibited or blocked ox-LDL, ox-VLDL and angiotensin II induced NF- κ B nuclear translocation. Comparing with ox-LDL, and ox-VLDL group (2.047 ± 0.011 , 1.936 ± 0.014), ligustrazine reduced the amount of monocytes adhesion to endothelial cells (1.282 ± 0.020 , 1.265 ± 0.016) ($P < 0.01$). **Conclusion** Ligustrazine resists atherosclerosis by inhibition of VCAM-1 and MCP-1 expression of vascular cells. This effect might be mediated by NF- κ B pathway.

中药川芎的有效成分川芎嗪(Ligustrazine)具有活血化瘀等心血管系统的保护作用, 由于其对动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)等心血管疾病的明确疗效及使用的安全性, 川芎嗪已广泛应用于临床。但川芎嗪抗As的作用机制所知甚少, 研究报道不多。我室曾报道川芎嗪的抗血栓形成作用及机制^[1], 为了更全面了解川芎嗪的抗As作用及机制, 本文以As的危险因素氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)、氧化型极低密度脂蛋白(ox-VLDL)和血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)为诱导因子, 观察川芎嗪对ox-LDL和ox-VLDL和Ang II诱导的血管内皮细胞、平滑肌细胞(smooth muscle cells, SMC)表达血管细胞粘附分子1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)等As相关细胞因子的影响, 以及核因子 κ B在此过程中的作用, 并检测川芎嗪是否具有抑制单核细胞粘附于内皮的生物学功能, 为川芎嗪抗As作用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 氧化型脂蛋白的制备

参照王淳本等^[2]的方法, 用超速离心法从健康人血分离得到LDL和VLDL, 加 CuCl_2 (终浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$)使之氧化, 用硫代巴比妥酸反应物质值(TBARS)对其氧化程度进行鉴定, 实验用ox-LDL和ox-VLDL的TBARS值为 $52.0 \sim 68.5 \mu\text{mol/g}$ 蛋白。用Lowry法^[3]进行蛋白定量。

1.2 细胞培养及实验分组

1.2.1 内皮细胞培养 无菌条件下取健康人脐带, PBS洗净血液, 用酶消化法培养人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, hUVEC)^[4], 培养基为含10%胎血清的M199(Gibco公司), 待细胞汇合后, 以1:3的比例传代培养^[5]。细胞汇合时呈“铺路石”状, 检测细胞(DI)相关抗原鉴定培养hUVEC, 细胞纯度达95%以上。第2~5代生长至呈70%~90%汇合状态的hUVEC用于实验。

1.2.2 平滑肌细胞培养 取4~6周龄雄性SD大鼠(华中科技大学同济医学院实验动物学部提供), 断头处死, 无菌条件下取出胸主动脉, 小心剥去外膜, 刮下内膜, 贴壁法^[6]培养中膜SMC。光镜以及

相差显微镜下观察细胞呈梭形, 生长至融合状态时呈现特有的峰与谷特点; 用免疫组织化学特异性抗 α -actin单克隆抗体鉴定为SMC, 纯度达95%以上。第3~5代用于实验。

1.2.3 实验分组 培养细胞随机分组: 对照组: 仅加无血清培养基(DMEM/F12, Gibco公司); ④ ox-LDL组: 加含ox-LDL(终浓度为 25 mg/L)的无血清培养基; ⑤ ox-VLDL组: 加含ox-VLDL(终浓度为 25 mg/L)的无血清培养基; Ang II组: 加含终浓度为 10^{-6} mol/L Ang II(Sigma公司)的无血清培养基; 川芎嗪各组: 分别在对照组和各诱导组培养基中同时加入终浓度为 200 mg/L 的川芎嗪(北京市永康药业有限公司)。置于 37°C 培养箱($5\% \text{ CO}_2$ 、 $95\% \text{ O}_2$)中继续培养一定时间后分别收集样本。

1.3 血管细胞粘附分子1、单核细胞趋化蛋白1和核因子 κ B的免疫细胞化学检测

人脐静脉内皮细胞(hUVEC)和SMC分别传代接种于96孔培养板(10^5 个细胞/孔), 培养过夜后, 按上述分组加入不同培养基(9孔/组)。继续培养24 h后, 弃去培养基, 其中每组3孔细胞用 1 mol/L NaOH裂解, 用Lowry法进行蛋白定量, 其余6孔用4%多聚甲醛固定, 正常血清封闭, 采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶法(SP法)检测细胞VCAM-1和MCP-1蛋白。一抗为羊抗人VCAM-1或羊抗鼠VCAM-1(1:50)或MCP-1多克隆抗体(1:50)(北京中山试剂公司)。以PBS代替一抗时作阴性对照。DAB显色后用多通道酶标仪于 490 nm 测定各孔OD值。以各孔OD值与各孔细胞蛋白总含量的相对比值表示各孔细胞VCAM-1和MCP-1蛋白的相对表达量。实验重复三次。

人脐静脉内皮细胞(hUVEC)和SMC分别传代接种于预先放置有洗净盖玻片的培养瓶内, 待生长至呈70%~90%汇合状态时, 按上述分组加入不同培养基(2瓶/组)继续培养2 h后, SP法检测细胞核因子 κ B。一抗为核因子 κ B p65亚单位的单克隆抗体(1:50)(美国Santa Cruz公司)。以PBS代替一抗时作阴性对照。实验重复三次。

1.4 单核细胞粘附试验

人脐静脉内皮细胞(hUVEC)培养过夜后, 分组后加入不同培养基(8孔/组)。继续培养24 h, 弃去

培养基, PBS 轻洗, 其中每组 5 孔加入 U937 单核细胞株(10^7 /孔, 华中科技大学同济医学院基础医学院免疫学系提供) 100 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 3 h, PBS 轻洗, 洗去未粘附的单核细胞。用 1 mol/L NaOH 裂解细胞, 用 Lowry 法进行蛋白定量。用相对蛋白浓度即各孔总细胞蛋白浓度与未加 U937 单核细胞株的各孔 hU-VEC 的蛋白浓度之比来表示各组粘附的单核细胞相对量。实验重复两次。

1.5 血管细胞粘附分子 1 和单核细胞趋化蛋白 1 原位分子杂交

人脐静脉内皮细胞(hUVEC)和 SMC 分别传代接种于预先放置有洗净盖玻片的培养瓶内, 待生长至呈 70%~90% 汇合状态时, 按上述分组加入不同培养基。继续培养 24 h, 弃去培养基, 用 4% 多聚甲醛固定细胞, -70 $^{\circ}$ C 保存备用。参照 Boehringer 公司原位分子杂交试剂盒说明书进行杂交试验, 所用探针为 VCAM-1 cDNA 及 MCP-1 寡核苷酸探针(Boehringer 公司)。用 HPIAS-1000 高清晰度图象分析系统各组随机检测 50 个细胞, 用各组细胞的平均吸光

度值来判断 VCAM-1 和 MCP-1 mRNA 的表达。

1.6 统计学处理

所有数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS11.0 软件行组间方差分析(ANOVA), $P < 0.05$ 示为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 川芎嗪对血管细胞粘附分子 1 和单核细胞趋化蛋白 1 蛋白表达的影响

各组细胞 VCAM-1 和 MCP-1 蛋白相对表达量以各孔 OD 值与各孔细胞蛋白总含量的相对比值表示(表 1)。各诱导组 VCAM-1 和 MCP-1 蛋白表达明显高于对照组, 川芎嗪组 VCAM-1 和 MCP-1 蛋白表达明显低于相对应诱导组。方差分析表明差异有显著意义($P < 0.01$, $n = 18$)。川芎嗪组与对照组比较, 差异无显著意义; 各诱导组间差异无显著意义; 各川芎嗪组间差异无显著意义($P > 0.05$)。

表 1. 各组细胞血管细胞粘附分子 1 和单核细胞趋化蛋白 1 蛋白相对表达量($n = 18$)

| 分 组 | VCAM-1 | | MCP-1 | |
|---------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | hUVEC | SMC | hUVEC | SMC |
| 对照组 | 0.365 \pm 0.019 | 0.416 \pm 0.013 | 0.303 \pm 0.008 | 0.362 \pm 0.018 |
| α -LDL | 0.552 \pm 0.008 ^a | 0.564 \pm 0.007 ^a | 0.962 \pm 0.051 ^a | 0.877 \pm 0.011 ^a |
| α -VLDL | 0.460 \pm 0.006 ^a | 0.513 \pm 0.021 ^a | 0.878 \pm 0.014 ^a | 0.845 \pm 0.023 ^a |
| Ang Ⅱ | 0.486 \pm 0.025 ^a | 0.524 \pm 0.008 ^a | 0.824 \pm 0.006 ^a | 0.881 \pm 0.009 ^a |
| 对照+ 川芎嗪 | 0.354 \pm 0.005 | 0.397 \pm 0.021 | 0.362 \pm 0.022 | 0.401 \pm 0.031 |
| α -LDL+ 川芎嗪 | 0.374 \pm 0.012 ^b | 0.410 \pm 0.015 ^b | 0.352 \pm 0.007 ^b | 0.386 \pm 0.018 ^b |
| α -VLDL+ 川芎嗪 | 0.362 \pm 0.020 ^c | 0.408 \pm 0.007 ^c | 0.313 \pm 0.011 ^c | 0.367 \pm 0.009 ^c |
| Ang Ⅱ+ 川芎嗪 | 0.366 \pm 0.005 ^d | 0.418 \pm 0.011 ^d | 0.308 \pm 0.014 ^d | 0.371 \pm 0.018 ^d |

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 α -LDL 组比较; c 为 $P < 0.01$, 与 α -VLDL 组比较; d 为 $P < 0.01$, 与 Ang Ⅱ组比较。

2.2 川芎嗪对核因子 κ B 的影响

免疫细胞化学结果显示对照组及各川芎嗪组核因子 κ B p65 细胞核阴性, 细胞浆阳性, 表现为胞浆内棕黄色颗粒; α -LDL 和 α -VLDL、Ang Ⅱ诱导组核因子 κ B p65 则呈明显细胞核阳性, 胞浆阴性(图 1)。

2.3 单核细胞粘附试验

单核细胞粘附试验结果显示 α -LDL 和 α -VLDL 诱导组的细胞相对蛋白浓度明显高于对照组; 各川芎嗪组的细胞相对蛋白浓度明显低于对应诱导组($P < 0.01$, $n = 10$), 各川芎嗪组与对照组比较差异无显著意义; 各诱导组间差异无显著意义; 各川芎嗪组间差异无显著意义($P > 0.05$)(表 2)。

表 2. 单核细胞粘附试验各组细胞相对蛋白浓度($n = 10$)

| 分 组 | 相对蛋白浓度 |
|---------------------|--------------------------------|
| 对照组 | 1.208 \pm 0.021 |
| α -LDL | 2.047 \pm 0.011 ^a |
| α -VLDL | 1.936 \pm 0.014 ^a |
| 对照组+ 川芎嗪 | 1.217 \pm 0.015 |
| α -LDL+ 川芎嗪 | 1.282 \pm 0.020 ^b |
| α -VLDL+ 川芎嗪 | 1.265 \pm 0.016 ^c |

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 α -LDL 组比较; c 为 $P < 0.01$, 与 α -VLDL 组比较。

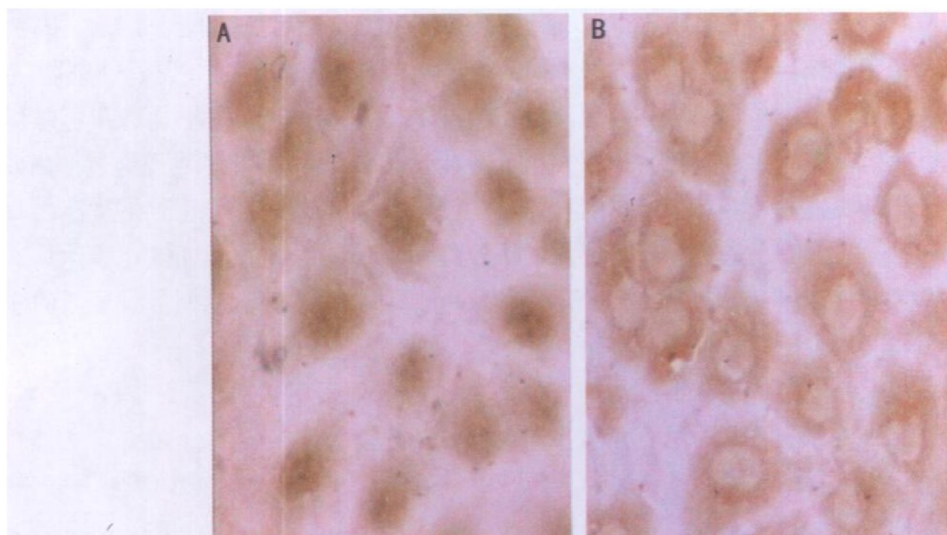


图 1. 免疫细胞化学检测结果 核因子 κ B 在 ox-LDL 组 hUVEC 中胞核阳性(A); 在 ox-LDL+ 川芎嗪组 hUVEC 中胞核阴性, 胞浆阳性(B) ($\times 200$)。

2.4 川芎嗪对血管细胞粘附分子 1 和单核细胞趋化蛋白 1 mRNA 表达的影响

原位分子杂交结果显示, VCAM-1 和 MCP-1 mRNA 呈棕黄色颗粒表达于 hUVEC 和 SMC 的胞浆和/或胞核中(图 2)。ox-LDL 和 ox-VLDL 及 Ang Ⅱ诱导组着色明显强于对照组, 图象分析系统检测其细胞

的平均吸光度值明显高于对照组 ($P < 0.01$, $n = 50$); 而各川芎嗪组着色明显弱于各诱导组, 细胞的平均吸光度值明显低于其对应诱导组 ($P < 0.01$)。川芎嗪组与对照组比较无显著性差异 ($P > 0.05$) (数据略)。

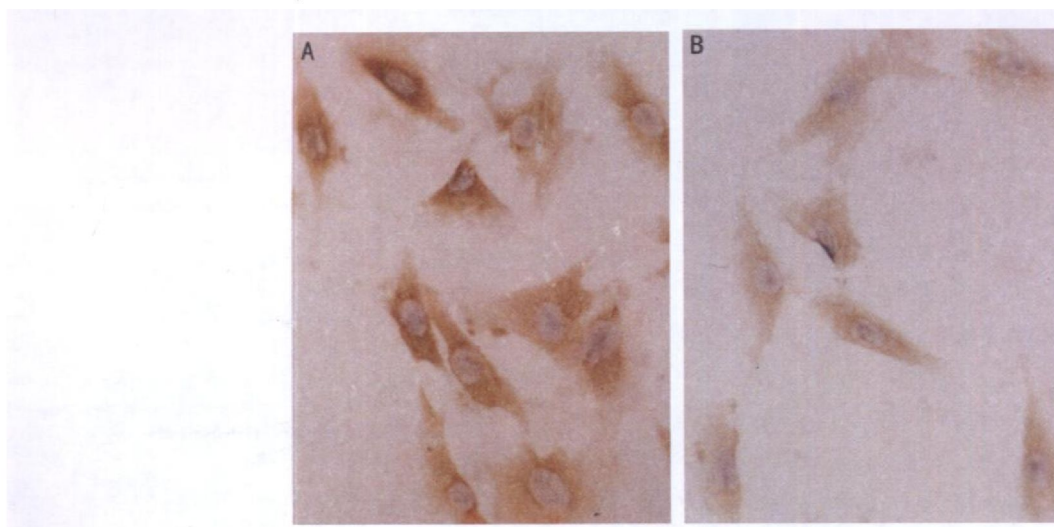


图 2. 原位杂交检测结果 血管紧张素(Ang) Ⅱ诱导组 VCAM-1 mRNA 主要在大鼠血管 SMC 胞浆内表达(A); Ang Ⅱ+ 川芎嗪组 VCAM-1 阳性着色明显变浅($200\times$, 苏木素染核)

3 讨论

伞形科植物川芎是常用的活血化淤类中药, 它可以与其它中药组成方剂, 广泛用于高血压、冠心病等的防治。川芎嗪则是从川芎的根茎中提取的有效成分, 化学结构为四甲基吡嗪, 是一种生物碱。我国在 20 世纪 70 年代初, 由北京制药工业研究所从川芎提取物中分离出单体川芎嗪^[7]。目前, 已有人工

合成的产品, 主要是盐酸和磷酸川芎嗪。大量的动物实验和临床研究证实, 川芎嗪具有扩张血管、增加冠状动脉和脑血流量、活血化淤、抑制血小板聚集等广泛的药理作用^[1]。除此之外, 川芎嗪还能通过抑制 VSMC 的表型转换、生长速度等环节, 参与逆转 As 病变, 但是其抗 As 的分子机制尚不清。由于其可靠疗效、安全、价廉等优点, 川芎嗪抗 As 的作用和机制倍受人们关注。

动脉粥样硬化(As)是一个多因素导致的复杂疾病,有关其发病机制有多种假说,但最终学者们公认内皮功能紊乱是最关键的始动环节,随之平滑肌细胞和单核细胞等共同参与As的发生发展。这一过程中内皮细胞和平滑肌细胞表达的炎症介质如粘附分子VCAM-1、趋化因子MCP-1等在As的发病机制中起重要作用^[8,9],他们介导细胞间的相互作用,自身也被多种As危险因素所调节。核因子 κ B是调节炎症相关基因的重要转录因子,生理状态下它与I κ B结合,以无活性形式存在于胞浆,激活后移位入细胞核,与粘附分子、趋化因子等的基因启动子域内相应的部位结合,启动上述因子的转录。高脂血症为As最重要的独立危险因素之一,人们对ox-LDL在As中的作用取得共识,另一血浆脂蛋白成分VLDL在As中的作用也逐渐得到重视。Marta Ruiz-Ortega等^[10]发现,肾素-血管紧张素系统中的成分AngⅡ作为炎症的一个重要调节因素,可以激活培养的鼠血管SMC核因子 κ B,促进炎症的发生发展。近期研究表明,AngⅡ在As的发生过程中亦发挥重要的作用^[11]。

本研究单核细胞粘附实验表明ox-LDL和ox-VLDL诱导组的细胞相对蛋白浓度明显高于对照组;各川芎嗪组的细胞相对蛋白浓度明显低于对应诱导组。说明川芎嗪组单核细胞粘附与hUVEC的数量显著减少,芎嗪组可抑制As危险因素引起的单核细胞粘附于培养的内皮细胞。提示川芎嗪通过抑制单核细胞粘附于内皮,阻止单核细胞进入血管内皮下间隙,从而抑制As斑块的形成。免疫细胞化学和原位分子杂交结果显示ox-LDL和ox-VLDL及AngⅡ均可使hUVEC和SMC VCAM-1和MCP-1 mRNA和蛋白表达增高,它们由此介导单核细胞粘附于内皮。川芎嗪组VCAM-1和MCP-1 mRNA和蛋白表达明显低于相对应诱导组,说明川芎嗪通过减少血管壁细胞VCAM-1和MCP-1表达,抑制单核细胞的粘附。ox-

LDL、ox-VLDL和AngⅡ诱导核因子 κ B核内阳性,提示他们通过激活核因子 κ B,介导血管壁细胞As相关基因VCAM-1和MCP-1的表达,而各川芎嗪组细胞核内核因子 κ B为阴性,说明川芎嗪通过抑制或阻断As危险因素诱导的核因子 κ B活化及核内移位,而抑制血管壁细胞VCAM-1和MCP-1表达。本研究结果为川芎嗪的抗As分子机制提供了新的实验依据,川芎嗪的其他药理作用有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Song J and Ruan Q. Mechanism of ligustrazine against thrombosis [J]. *Chin Med J*, 2000, **113** (2): 136-138
- [2] 王淳本, 宗义强, 吴万生. 两步超速离心法快速分离大量血浆极低密度脂蛋白及低密度脂蛋白[J]. *同济医科大学学报*, 1995, **24** (3): 169-171
- [3] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent [J]. *J Biol Chem*, 1951, **193** (1): 265-275
- [4] 阮秋蓉, 邓仲端, 徐增授, 瞿智玲. 培养的人脐静脉内皮细胞产生单核细胞趋化因子的研究[J]. *中华病理学杂志*, 1991, **20** (3): 205-208
- [5] Ruan QR, Zhang WJ, Hufnagel P, Kaun C, Binder BR, Wojta J. Anisodamine counteracts lipopolysaccharide-induced tissue factor and plasminogen activator inhibitor-1 expression in human endothelial cells: contribution of NF- κ B pathway [J]. *J Vasc Res*, 2001, **38** (1): 13-19
- [6] Ruan QR, Deng ZD, Song JX. Very low density lipoprotein and oxidized very low density lipoprotein induce monocyte chemoattractant protein 1 in rabbit aortic smooth muscle cells [J]. *Chin Med J*, 1996, **109** (3): 206-209
- [7] 北京制药工业研究所. 川芎嗪有效成分研究——四甲基吡嗪(川芎嗪)的药理研究[J]. *中华医学杂志*, 1977, **57** (3): 464-467
- [8] DeGrazia TJ, Siren AL, Penix L, McCarron RM, Hargraves R, Sood S, et al. Increased endothelial expression of intercellular adhesion molecule-1 in symptomatic versus asymptomatic human carotid atherosclerotic plaque [J]. *Stroke*, 1998, **29** (7): 1405-410
- [9] O'Brien KD, Allen MD, McDonald TO, Chait A, Harlan JM, Fishbein D, et al. Vascular cell adhesion molecule-1 expressed in human coronary atherosclerotic plaques: implication for the mode of progression of advanced coronary atherosclerosis [J]. *J Clin Invest*, 1993, **92** (2): 945-951
- [10] Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Ruperez M, Konig S, Wittig B, Egido J. Angiotensin II activates nuclear transcription factor κ B through AT1 and AT2 in vascular smooth muscle cells [J]. *Circ Res*, 2000, **86** (12): 1266-272
- [11] Tummala PE, Chen XL, Sundell CL, Laursen JB, Hammes CP, Alexander RW, et al. Angiotensin induces vascular cell adhesion molecule-1 expression in rat vasculature: a potential link between renin-angiotensin system and atherosclerosis [J]. *Circulation*, 1999, **100** (11): 1223-229

(此文编辑 胡必利)