

# 7-二氟甲氧基金雀异黄素对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导血管内皮细胞与单核细胞黏附的抑制作用

王春燕<sup>1</sup>, 王 莉<sup>1</sup>, 曹建国<sup>2</sup>, 郑兴<sup>3</sup>

(南华大学 1. 医学院, 3. 药物药理研究所, 湖南省衡阳市 421001; 2. 湖南师范大学医学院, 湖南省长沙市 410006)

[关键词] 7-二氟甲氧基金雀异黄素; 人脐静脉内皮细胞; 单核细胞; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 细胞黏附

[摘要] 目的 探讨 7-二氟甲氧基金雀异黄素对氧化应激诱导血管内皮细胞与单核细胞黏附的抑制作用及其机制。方法 荧光分光光度计检测单核细胞与血管内皮细胞的黏附,酶联免疫吸附法检测 E 选择素和细胞间黏附分子 1 等黏附分子的释放,Western blotting 检测 P38 丝裂原活化蛋白激酶的磷酸化水平。结果 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理血管内皮细胞 24 h 后,内皮细胞-单核细胞的黏附率显著增加,内皮细胞 E 选择素和细胞间黏附分子 1 的释放增加;加入 7-二氟甲氧基金雀异黄素后,血管内皮细胞-单核细胞的黏附率以及内皮细胞释放 E 选择素和细胞间黏附分子 1 等黏附分子呈浓度依赖性减少。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理血管内皮细胞 24 h 后,可显著激活 P38 丝裂原活化蛋白激酶,这一作用可被 7-二氟甲氧基金雀异黄素所抑制。给予 P38 丝裂原活化蛋白激酶特异性抑制剂 SB203580 亦可阻断 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的内皮细胞-单核细胞黏附及内皮细胞 E 选择素和细胞间黏附分子 1 的释放。结论 7-二氟甲氧基金雀异黄素对氧化应激诱导的血管内皮细胞与单核细胞黏附具有拮抗作用,其机制可能与其抑制 P38 丝裂原活化蛋白激酶的激活进而阻断内皮细胞释放黏附分子 E 选择素和细胞间黏附分子 1 有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Inhibitory Effect of 7-Difluoromethyl-genistein on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced Adhesion Between Vascular Endothelial Cells and Mononuclear Cells

WANG Chun-Yan<sup>1</sup>, WANG Li<sup>1</sup>, CAO Jian-Guo<sup>2</sup>, and ZHENG Xing<sup>3</sup>

(1. Medical College, 3. Institute of Pharmacy and Pharmacology, University of South China, Hengyang 421001; 2. Medical College, Hunan Normal University, Changsha 410006, China)

[KEY WORDS] 7-Difluoromethylgenistein; Human Umbilical Vein Endothelial Cells; THP-1 Cells; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; Cell Adhesion

[ABSTRACT] Aim To investigate the effect of 7-difluoromethyl-genistein (FMGEN) on oxidative stress-induced cell adhesion between vascular endothelial cells and mononuclear cells and the underlying mechanism. Methods Fluorescent light spectrophotometer was used to detect the cell adhesion between vascular endothelial cells and mononuclear cells. The concentrations of E-selectin and intercellular adhesion molecule (ICAM-1) in the cell culture supernatant were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The activation of P38 mitogen-activated protein kinase (P38-MAPK) was analyzed by Western blotting. Results Exposure of vascular endothelial cells to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 24 h increased the adhesion between vascular endothelial cells and mononuclear cells and the release of E-selectin and ICAM-1 in vascular endothelial cells; however, these effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> were inhibited by FMGEN in a concentration-dependent manner.

Treatment of vascular endothelial cells with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 24 h resulted in the significant activation of P38-MAPK and the activation of P38 induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was inhibited by FMGEN. SB203580, a specific inhibitor of P38-MAPK blocked the adhesion between vascular endothelial cells and mononuclear cells and the release of E-selectin and ICAM-1 in vascular endothelial cells induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Conclusion FMGEN antagonizes oxidative stress-induced cell adhesion between vascular endothelial cells and mononuclear cells, which is associated with inhibition of the release of E-selectin and ICAM-1 via down-regulating the activation of P38-MAPK.

血管内皮细胞能分泌和代谢多种活性物质,参

与炎症和免疫反应,影响血管平滑肌细胞增殖以及粒细胞和血小板对内皮表面的黏附等<sup>[1,2]</sup>。动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是心脑血管疾病发病的病理基础,其早期病变主要是内皮细胞功能障碍,内皮细胞的损伤是动脉粥样硬化发生发展的病理基础<sup>[3,4]</sup>。引起内皮细胞损伤的因素有很多,其中氧化应激在内皮细胞损伤中具有重要的地位<sup>[5]</sup>。研

[收稿日期] 2009-03-02 [修回日期] 2009-06-05

[基金项目] 湖南省医药卫生基金项目(B2007091)

[作者简介] 王春燕, 硕士, 讲师, 主要从事动脉粥样硬化的机制研究, E-mail 为 wcy\_5353@163.com。王莉, 硕士, 讲师, 通讯作者曹建国, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事新药研究, E-mail 为 caojianguo2005@Yahoo.com.cn。通讯作者郑兴, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事新药研究与开发工作, E-mail 为 zhengxing@166@sohu.com。

究表明金雀异黄素(genistein, GEN)对氧化应激损伤血管内皮细胞具有保护作用<sup>[6]</sup>,但因其肠道吸收甚少而导致活性较低<sup>[7]</sup>,故开发高效低毒的血管内皮保护药对防治As具有极其重要的意义。因此,我们将能显著增强化合物脂溶性的二氟甲氧基引入金雀异黄素合成了7-二氟甲氧基金雀异黄素(7-difluoromethyl-genistein, FMGEN),以增强其脂溶性和生物活性。氧化应激诱导的内皮细胞与白细胞的相互作用是氧化应激诱导内皮细胞损伤这一过程的始动因素,并由细胞黏附分子介导<sup>[5]</sup>。因此,本研究将探讨FMGEN对氧化应激促进血管内皮细胞-单核细胞黏附和内皮细胞释放黏附分子的影响及机制,为将FMGEN开发为抗As新药进行前期基础研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂

30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 购自中国广州金华大化学试剂有限公司,金雀异黄素和P38 丝裂原活化蛋白激酶(P38 MAPK)特异性抑制剂 SB203580 购自美国 Sigma 公司,E 选择素和细胞间黏附分子 1(ICAM-1) 定量 ELISA 试剂盒购自中国上海森雄科技公司,p-P38 和 P38 抗体购自美国 Cell Signaling 公司。FMGEN 由湖南师范大学药物化学研究室合成,用 DMSO 溶解配制成母液后 -20℃ 存储备用,使用时用完全培养基稀释,DMSO 的浓度小于 0.05%。

### 1.2 细胞来源和培养

人脐静脉内皮细胞(hUVEC)系 hUVEC-12 细胞由北京大学医学院肿瘤所引入(来源于 ATCC 细胞库),人单核细胞 THP-1 由中国科学院上海细胞生物研究所引入,均培养于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 并含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中,取对数生长期细胞做以下实验。

### 1.3 实验分组

实验分四组:①溶媒对照组,0.05% DMSO;② H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 损伤组,用 1 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理细胞 24 h;③ 低、中、高剂量 FMGEN 组,1 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理细胞前 30 min 分别加入 1、3 和 10 μmol/L 的 FMGEN,然后与 1 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 共同处理细胞 24 h;④ SB203580 组:1 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理细胞前 30 min 加入 P38 特异性抑制剂 SB203580 10 μmol/L,然后与 1 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 共同处理细胞 24 h。

### 1.4 荧光分光光度计检测单核细胞与血管内皮细胞黏附<sup>[8]</sup>

取生长状态良好的 hUVEC-12 细胞(1 × 10<sup>8</sup>

个/L)按 0.1 mL/孔 接种于 24 孔培养板,培养 24 h。按分组要求加入相应处理因素处理细胞,每组设 5 个复孔,培养箱中继续孵育 24 h 后,每孔加入 THP-1 单细胞悬液 0.1 mL(2 × 10<sup>8</sup> 个/L),置培养箱中孵育 30 min。用 100 μL PBS 洗孔三次,以去除未黏附细胞。将每孔未黏附细胞收集于 1 mL EP 管中,记为 A。然后用胰酶消化贴壁 hUVEC-12 细胞和黏附的 THP-1 单细胞,将他们收集于另一 1 mL EP 管中,记为 B。1 000 r/min 离心 5 min,去上清,加入 500 μL PBS 洗 1 次。500 μL PBS 重悬细胞后,每支离心管内加入 40 μL 吖啶橙(25 μL: 2 μL),室温下孵育 5 min。1 000 r/min 离心 5 min、PBS 洗 2 次,加 1 mL PBS 重悬,上荧光分光光度计测定每管的荧光强度。按如下公式计算黏附率:黏附率(%) = B 管荧光值 / (A 管荧光值 + B 管荧光值) × 100%。

### 1.5 酶联免疫吸附法检测血管内皮细胞 E 选择素和细胞间黏附分子 1 的释放

取对数生长期的 hUVEC-12 细胞接种于 24 孔培养板,每孔加 1 mL 单细胞悬液,培养 24 h 至细胞汇合率达 80% 左右时,弃原培养基,换无血清 DMEM 培养基,加入相应处理因素处理细胞,每组设 5 个复孔。置细胞培养箱中继续培养 24 h,在无菌条件下将细胞培养液吸至 1 mL EP 管内,1000 r/min 4℃ 离心 15 min,再吸取上清液至另一新的 1 mL EP 管内备用。按 ELISA 试剂盒的检测步骤逐步操作,再根据测定的样品 OD 值绘出标准曲线,在曲线图上查出相应的 E 选择素和 ICAM-1 含量。

### 1.6 Western blotting 测定 P38 蛋白的表达

培养 hUVEC-12 细胞至细胞汇合率达 80% 左右时,更换培养基,同时按上述实验分组处理细胞。24 h 后收集各组细胞,用细胞裂解液裂解,12 000 r/min 4℃ 离心 10 min,用 BCA 试剂进行蛋白定量。取提取的蛋白样品(40 μg 总蛋白/泳道)加入等体积上样缓冲液,100℃ 煮 5 min,10% SDS-PAGE 电泳后将蛋白转移至 PVDF 膜上。用含 5% 脱脂牛奶的 TBST 室温下封闭 2 h,1: 200 加入一抗于 4℃ 过夜,TEST 洗膜 3 次,每次 10 min,加入相应的二抗室温孵育 1 h 后,TEST 洗膜 3 次,每次 10 min。然后在含化学发光剂 A、B 的溶液中激发荧光,于暗室中压片、显影、定影。结果用图像分析仪分析,以面积和光密度的乘积为积分光密度表示。实验重复 3 次。

### 1.7 统计学处理

全部数据经 SPSS 12.0 统计软件进行统计分析,数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用单因素方差分析和 SNK

检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 7-二氟甲氧基金雀异黄素抑制 $H_2O_2$ 诱导血管内皮细胞与单核细胞黏附

$H_2O_2$  (1 mmol/L) 孵育血管内皮细胞 24 h 后, 能显著增加血管内皮细胞-单核细胞的黏附, 其黏附率由溶媒对照组的 28.1% 上升到 89.6% ( $P < 0.01$ )。低、中、高剂量 FMGEN 分别与  $H_2O_2$  (1 mmol/L) 共处理细胞后, 细胞黏附率分别由  $H_2O_2$  损伤组的 89.6% 降低至 56.7%、35.8% 和 21.6%, 血管内皮细胞-单核细胞黏附率随 FMGEN 浓度增加逐级降低 ( $P < 0.01$ ; 表 1)。

### 2.2 7-二氟甲氧基金雀异黄素抑制 $H_2O_2$ 诱导血管内皮细胞释放 E 选择素和细胞间黏附分子 1

$H_2O_2$  (1 mmol/L) 处理血管内皮细胞 24 h 后, 能显著增加内皮细胞 E 选择素和 ICAM-1 的释放 ( $P < 0.01$ )。FMGEN 呈浓度依赖性地抑制  $H_2O_2$  诱导血管内皮细胞 E 选择素和 ICAM-1 的释放, 低、中、高剂量的 FMGEN 分别与  $H_2O_2$  (1 mmol/L) 共处理细胞后, 培养基中 E 选择素和 ICAM-1 的含量与  $H_2O_2$  损伤组比较均明显下降, 且 E 选择素和 ICAM-1 的含量随 FMGEN 浓度增加逐级降低 ( $P < 0.01$ ; 表 1)。

### 2.3 7-二氟甲氧基金雀异黄素抑制 $H_2O_2$ 诱导血管内皮细胞 P38 丝裂原活化蛋白激酶激活

血管内皮细胞经  $H_2O_2$  (1 mmol/L) 处理 24 h 后, P38 磷酸化水平明显增高 ( $P < 0.01$ ); FMGEN 在 1 ~ 10  $\mu\text{mol/L}$  间呈浓度依赖性地抑制  $H_2O_2$  诱导血管内皮细胞 P38 的激活 ( $P < 0.05$  或 0.01; 图 1)。

### 2.4 P38 特异性抑制剂 SB203580 可取消 $H_2O_2$ 对血管内皮细胞与单核细胞黏附的诱导作用

在加入  $H_2O_2$  前 30 min 加入 P38 特异性抑制剂 SB203580 (10  $\mu\text{mol/L}$ ), 可使  $H_2O_2$  诱导的血管内皮细胞-单核细胞黏附率明显下降 ( $P < 0.01$ ; 表 1), 表明抑制 P38 激活可阻断  $H_2O_2$  诱导血管内皮细胞-单核细胞黏附。

### 2.5 P38 特异性抑制剂 SB203580 可取消 $H_2O_2$ 对血管内皮细胞释放 E 选择素和细胞间黏附分子 1 的诱导作用

在加入  $H_2O_2$  前 30 min 加入 SB203580 (10  $\mu\text{mol/L}$ ), 可使  $H_2O_2$  诱导的血管内皮细胞释放 E 选择素和 ICAM-1 的量明显减少 ( $P < 0.01$ ; 表 1), 表明抑制 P38 激活可阻断  $H_2O_2$  诱导血管内皮细胞释

放 E 选择素和 ICAM-1 等黏附分子。

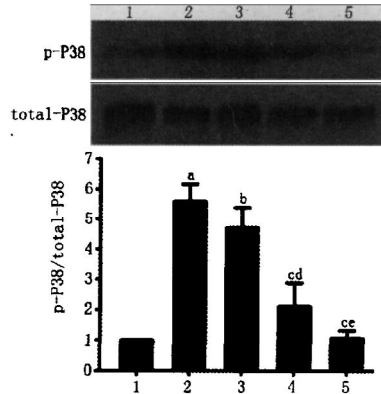


图 1 7-二氟甲氧基金雀异黄素对  $H_2O_2$  诱导血管内皮细胞 P38 激活的影响 ( $n=3$ ) 1 为溶媒对照组, 2 为  $H_2O_2$  损伤组, 3~5 分别为低、中、高剂量 FMGEN 组。a 为  $P < 0.01$ , 与溶媒对照组比较; b 为  $P < 0.05$ , c 为  $P < 0.01$ , 与  $H_2O_2$  损伤组比较; d 为  $P < 0.01$ , 与低剂量 FMGEN 组比较; e 为  $P < 0.01$ , 与中剂量 FMGEN 组比较。

表 1 7-二氟甲氧基金雀异黄素和 SB203580 对  $H_2O_2$  诱导血管内皮细胞和单核细胞黏附的影响 ( $n=5$ )

分 组	黏附率	E 选择素 ( $\mu\text{g/L}$ )	ICAM-1 ( $\mu\text{g/L}$ )
溶媒对照组	19.1% $\pm$ 3.5%	0.23 $\pm$ 0.07	1.57 $\pm$ 0.23
$H_2O_2$ 损伤组	89.6% $\pm$ 9.4% <sup>a</sup>	2.64 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	5.67 $\pm$ 0.89 <sup>a</sup>
低剂量 FMGEN 组	56.7% $\pm$ 8.9% <sup>b</sup>	1.57 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>	3.98 $\pm$ 0.56 <sup>b</sup>
中剂量 FMGEN 组	35.8% $\pm$ 5.6% <sup>bc</sup>	0.93 $\pm$ 0.12 <sup>bc</sup>	2.43 $\pm$ 0.41 <sup>bc</sup>
高剂量 FMGEN 组	21.6% $\pm$ 2.4% <sup>bd</sup>	0.51 $\pm$ 0.09 <sup>bd</sup>	1.89 $\pm$ 0.27 <sup>bd</sup>
SB203580 组	25.6% $\pm$ 4.1% <sup>b</sup>	0.43 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	1.87 $\pm$ 0.24 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.01$ , 与溶媒对照组比; b 为  $P < 0.01$ , 与  $H_2O_2$  损伤组比; c 为  $P < 0.01$ , 与低剂量 FMGEN 组比较; d 为  $P < 0.01$ , 与中剂量 FMGEN 组比较。

## 3 讨论

目前普遍认为内皮细胞损伤和内皮细胞功能紊乱是动脉粥样硬化形成的始动环节<sup>[9]</sup>。血管内皮损伤和功能紊乱与机体和局部组织抗氧化能力降低、氧自由基产生增多密切相关<sup>[10]</sup>。同时, 氧化应激诱导的内皮细胞与白细胞的黏附是氧化应激诱导内皮细胞损伤的重要环节, 大量的细胞黏附分子介导这一过程<sup>[5]</sup>。因此, 我们选择永生生化人脐静脉内皮细胞系 hUVEC-12 细胞和 THP-1 单核细胞作为实验对象,  $H_2O_2$  作为氧化应激损伤的处理因素, 探讨 FMGEN 对氧化应激诱导血管内皮细胞-单核细胞黏附及黏附分子释放的影响, 以初步明确 FMGEN 的抗 As 作用。

中性粒细胞与内皮细胞的黏附是多种血管性疾病病理变化的重要阶段。As 的发展需要单核细胞、

内皮细胞和黏附分子之间的相互作用。黏附分子介导的血管内皮细胞与单核细胞和白细胞的黏附是动脉粥样硬化的早期特征和关键步骤。本研究发现 FMGEN 能有效抑制氧化应激诱导的血管内皮细胞与单核细胞的黏附,提示 FMGEN 具有抗 As 的作用。

血管内皮细胞受到活性氧(reactive oxygen species, ROS)等因素刺激后,内皮细胞活化,可释放大量的黏附分子,介导血管内皮细胞与单核细胞和白细胞的黏附。本研究结果发现, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理血管内皮细胞 24 h 后,黏附分子 E 选择素和 ICAM-1 的释放增加。目前认为 ICAM-1 在介导白细胞和内皮细胞的黏附中起关键作用<sup>[11]</sup>。最近 Tang 等<sup>[12]</sup> 对不同种族人群的研究中进一步证明可溶性 ICAM-1 是冠状动脉硬化的生物化学标志物。敲除 ICAM-1 和 E 选择素等基因能够明显减少单核细胞募集到动脉粥样斑块的损伤表面<sup>[13]</sup>。本研究发现 FMGEN 可显著抑制 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导血管内皮细胞释放 E 选择素和 ICAM-1 的作用,这一方面表明 FMGEN 可通过抑制 E 选择素和 ICAM-1 的释放而发挥抗血管内皮细胞-单核细胞黏附的作用,另一方面也提示 FMGEN 的抗 As 作用是我们值得深入探讨的问题。

此外,我们还对 FMGEN 抑制 E 选择素和 ICAM-1 释放的机制进行了探讨。MAPK 是细胞内重要的信号转导通路,可把细胞外刺激转导到细胞核内,在细胞的增殖、分化和应激调控中起重要作用。在哺乳动物细胞,MAPK 家族至少包括 JNK、ERK 和 P38 三个亚家族,其中 P38-MAPK 在应激和炎症反应中起重要作用。Pan 等<sup>[14]</sup> 发现 P38-MAPK 在白细胞黏附中具有重要作用,国内闫文生等<sup>[15]</sup> 也发现 P38-MAPK 在离体内皮细胞 ICAM-1 的表达中起重要调节作用。我们发现 FMGEN 能显著抑制 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对 P38-MAPK 的激活,同时我们亦证实 P38-MAPK 特异性抑制剂 SB203580 能阻断血管内皮细胞-单核细胞的黏附,阻止血管内皮细胞释放 ICAM-1 和 E 选择素等黏附分子。因此,我们认为 FMGEN 抑制内皮细胞-单核细胞黏附和黏附分子释放可能

与其下调 P38-MAPK 的活性有关。

综上所述,FMGEN 能有效抑制氧化应激诱导的血管内皮细胞-单核细胞黏附,这为进一步将 FMGEN 开发为防治 As 的新药提供了实验依据。下一步我们将进一步探讨 FMGEN 对 As 动物模型治疗的有效性和机体对其的耐受性。

#### [参考文献]

- [1] Devaux C, Varin R, Mulder P, et al. Oxidative stress and endothelial dysfunction in heart failure [J]. *Therapy*, 2001, 56: 575-581.
- [2] Kurowska EM. Nitric oxide therapies in vascular diseases [J]. *Curr Pharm Des*, 2002, 8: 155-166.
- [3] Balakumar P, Kaur T, Singh M. Potential target sites to modulate vascular endothelial dysfunction: current perspectives and future directions [J]. *Toxicology*, 2008, 245 (1-2): 49-64.
- [4] Davenport AP, Maguire JJ. Endothelin [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2006, (176 Pt1): 295-329.
- [5] Muro S, Muzykantov VR. Targeting of antioxidant and anti-thrombotic drugs to endothelial cell adhesion molecules [J]. *Curr Pharm Des*, 2005, 11 (18): 2383-401.
- [6] Tuo QH, Wang C, Yan FX, et al. MAPK pathway mediates the protective effects of onychin on oxidative stress-induced apoptosis in ECV304 endothelial cells [J]. *Life Sci*, 2004, 76 (5): 487-497.
- [7] Kroom PA, Clifford MN, Crozier A, et al. How should we assess the effects of exposure to dietary polyphenols in vitro [J]. *Am J Clin Nutr*, 2004, 80 (1): 15-21.
- [8] Wang L, Zheng X, Xiang HL, et al. 7-Difluoromethyl-5,4'-dimethoxygenistein inhibits oxidative stress induced adhesion between endothelial cells and monocytes via NF-kappaB [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 605 (1-3): 31-35.
- [9] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s [J]. *Nature*, 1993, 362 (6423): 801.
- [10] Kotamraju S, Matalon S, Matsunaga T, et al. Upregulation of immunoproteasomes by nitric oxide: potential antioxidative mechanism in endothelial cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2006, 40 (6): 1034-044.
- [11] Camacho SA, Heath WR, Carbone FR, et al. A key role for ICAM-1 in generating effector cells mediating inflammatory responses [J]. *Nat Immunol*, 2001, 2 (6): 523-529.
- [12] Tang W, Pankow JS, Carr JJ, et al. Association of sICAM-1 and MCP-1 with coronary artery calcification in families enriched for coronary heart disease or hypertension: the NHLBI Family Heart Study [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2007, 7: 30.
- [13] Quehenberger O. Thematic review series: the immune system and atherosclerosis. Molecular mechanisms regulating monocyte recruitment in atherosclerosis [J]. *J Lipid Res*, 2005, 46 (8): 1582-590.
- [14] Pan SL, Tao KY, Guh JH, et al. The p38 mitogen-activated protein kinase pathway plays a critical role in PAR2-induced endothelial IL-8 production and leukocyte adhesion [J]. *Shock*, 2008, 30 (5): 496-502.
- [15] 闫文生,姜勇,黄巧冰,等. p38 MAPK 在 LPS 诱导血管内皮细胞 ICAM-1 表达中的作用[J]. *中华烧伤杂志*, 2001, 17 (1): 32-35.

(此文编辑 许雪梅)