

[文章编号] 1007-3949(2009)17-09-0731-05

• 实验研究 •

## 美乐托宁对冠心病患者循环血中 内皮祖细胞增殖与凋亡的影响

李秀丽<sup>1,2</sup>, 谢秀梅<sup>1</sup>, 陈美芳<sup>1</sup>, 陈晓彬<sup>1</sup>, 何晋<sup>1</sup>

(1. 中南大学湘雅医院干内科, 湖南省长沙市 410008; 2. 江西省南昌市第一医院心内科, 江西省南昌市 330008)

[关键词] 美乐托宁; 内皮祖细胞; 细胞增殖; 细胞凋亡; Bcl2

[摘要] 目的 探讨抗氧化剂美乐托宁对冠心病患者循环血中内皮祖细胞增殖与凋亡的影响及其机制。方法

选择冠状动脉造影确定冠心病患者 36 例, 密度梯度离心法获取冠心病患者外周血单个核细胞, 培养 7 天后, 收集贴壁细胞并加入不同浓度美乐托宁 (0.5、1.0 和 2.0 mmol/L) 干预 6、12、24 和 48 h。MTT 法检测美乐托宁对内皮祖细胞增殖能力的影响, 流式细胞仪检测美乐托宁对细胞凋亡率的影响, 逆转录-聚合酶链式反应技术检测 Bcl2 mRNA 表达, Western blot 检测 Bcl2 的蛋白表达。结果 美乐托宁呈浓度和时间依赖性改善体外培养的冠心病患者外周血内皮祖细胞的粘附、迁移和增殖能力 ( $P < 0.01$ ); 美乐托宁抑制体外培养的冠心病患者外周血中内皮祖细胞的凋亡, 作用呈浓度和时间依赖性 ( $P < 0.01$ ); 美乐托宁上调内皮祖细胞内 Bcl2 mRNA 和蛋白的表达 ( $P < 0.01$ )。结论 美乐托宁能改善体外培养的冠心病患者外周血内皮祖细胞的粘附、迁移和增殖能力, 并通过上调凋亡抑制基因 Bcl2 而发挥抑制内皮祖细胞凋亡的作用。

[中图分类号] R541

[文献标识码] A

## Effect of Melatonin on the Proliferation and Apoptosis in Endothelial Progenitor Cells from Patients with Coronary Artery Disease

LI Xiu-Li<sup>1,2</sup>, XIE Xiu-Mei<sup>1</sup>, CHEN Mei-Fang<sup>1</sup>, CHEN Xiao-Bin<sup>1</sup>, and HE Jin<sup>1</sup>

(1. Department of Geriatric Medicine, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410008, China; 2. Department of Cardiology, the First Hospital of Nanchang, Nanchang, Jiangxi 330008, China)

[KEY WORDS] Melatonin; Endothelial Progenitor Cell; Cell Proliferation; Cell Apoptosis; Bcl2

**[ABSTRACT]** **Aim** To explore the effect of melatonin (MT) on the proliferation and apoptosis in endothelial progenitor cells (EPC) from patients with coronary artery disease in vitro. **Methods** Total mononuclear cells were isolated from patients with coronary artery disease in vitro by Ficoll density gradient centrifugation, then the cells were plated on fibronectin-coated culture dishes. After 7 days, the attached cells were treated by MT with different concentrations (0.5, 1.0, 2.0 mmol/L) for different hours (6, 12, 24, 48 h). EPC were identified by demonstrating the expression of CD34, VEGFR-2 and CD133 under a laser scanning confocal microscope. MTT assay was used to detect the effect of MT on the proliferation ability of EPC. EPC adhesion assay was performed by replating it on fibronectin-coated dishes, and the adherent cells were then counted. EPC migration were assayed by modified Boyden chamber assay. Flow cytometry was used to detect cell apoptosis. The expressions of bcl2 mRNA and protein were detected respectively by RT-PCR and western blot. **Results** After exposure to MT, the proliferation, adhesion and migration of EPC in MT group was higher, and the cell apoptosis rate was lower than that in control group in a dose-dependent and time-dependent manner ( $P < 0.01$ ). Expression of bcl2 mRNA and protein of EPC in MT group was higher than that in control group ( $P < 0.01$ ).

**Conclusion** MT promotes the proliferation, adhesion and migration of EPC and inhibits the cell apoptosis via upregulating bcl2 expression.

血管内皮祖细胞 (endothelial progenitor cell, EPC) 是血管内皮细胞的前体细胞, 是以 CD133、VEGFR-2 (KDR) 和 CD34 为标志的一群细胞, 可以迁移、增殖并分化为成熟的内皮细胞, 促进内皮的修

复及出生后新生血管化的形成。EPC 与冠心病关系密切。多因素分析证明 EPC 降低是心血管事件的独立预测因素, EPC 缺乏会加速心血管病的进展。有研究发现冠心病患者的 EPC 数量较正常人低 40%。冠心病患者外周血 EPC 的黏附能力、迁移能力、增殖能力明显受损。本研究拟通过体外培养的冠心病患者外周血 EPC, 采用抗氧化剂美乐托宁 (melatonin, MT) 干预, 观察美乐托宁对冠心病患者 EPC 增殖、凋亡及功能的影响, 进一步探讨美乐托宁

[收稿日期] 2009-07-13 [修回日期] 2009-09-10

[作者简介] 李秀丽, 博士, 副主任医师, 从事心血管疾病的诊治, E-mail 为 lixiuli791@sina.com。通讯作者谢秀梅, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为心血管疾病。E-mail 为 xyxiem@sina.com。陈美芳, 博士研究生, 主治医师, 主要从事冠心病的防治。

对冠心病患者的保护作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂与仪器

RPM 11640培养基购自 Gibco公司;美乐托宁(melitonin, TM)购自 Alexis公司;人纤维连接蛋白(HFN)、VEGF及bFGF购自 Chemicon公司;胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料研究所;二苯基四氮唑溴盐(MTT)购自华美生物工程公司,进口分装;PE标记的小鼠抗人CD133单克隆抗体购自 Miltenyi公司;Histopaque-1077细胞分离液, FITC标记的小鼠抗人VEGFR-2(KDR)和CD34单克隆抗体购自 Sigma公司;Trizol试剂、RevertAidIM 第一链cDNA合成试剂盒、PCR扩增试剂盒、膜联蛋白(Annexin)V-FITC/碘化丙啶(PI)凋亡检测试剂盒购自晶美生物技术有限公司;兔抗人bcl-2多克隆抗体购自北京中山生物技术有限公司。Olympus Tokyo CK相差显微镜(奥林巴斯), LSM 5PASCAL激光共聚焦显微镜(ZEISS公司), FACSCALIBUR流式细胞仪(Biosciences公司)。

### 1.2 研究对象

入选冠心病患者36例,其中男28例,女8例,年龄42~60岁,平均 $50.0 \pm 5.5$ 岁,均为湘雅医院心内科住院患者。冠心病的诊断标准为冠状动脉造影证实左主干、左前降支、左回旋支、右冠状动脉中至少有1支血管内径狭窄 $\geq 50\%$ 。入选对象为无外伤、溃疡、视网膜病、高血压病、近期外科手术、炎症、肿瘤等影响EPC疾病的患者,并且无吸烟史,未服用他汀类、ARB类、ACEI类及抗氧化药物,近3个月无急性心肌梗死发生。

### 1.3 冠心病患者外周血内皮祖细胞的分离和培养

参照文献[1],取入选对象空腹外周静脉血20 mL,以密度梯度离心法分离外周血单个核细胞,以 $5 \times 10^5$ 个/ $\text{cm}^2$ 密度接种于包被有纤维连接蛋白的6孔培养板中(每孔1 mL),RPM 11640培养基(含20% FBS, VEGF10  $\mu\text{g/L}$ ,青霉素100 ku/L,链霉素100 ku/L)培养4天,用磷酸盐缓冲液(PBS)洗掉非贴壁细胞,换培养液继续培养至7天,进一步用PBS洗掉非贴壁细胞,贴壁细胞供实验用。

### 1.4 实验分组

贴壁细胞用不含FBS的RPM 11640培养液培养24 h后,分成4组:对照组:先用不含胎牛血清的RPM 11640培养液培养24 h,然后换含胎牛血清的RPM 11640培养液;④美乐托宁各浓度组(共3组):

分别用含0.5、1.0和2.0 mmol/L美乐托宁的条件RPM 11640培养液培养6、12、24和48 h。

### 1.5 细胞鉴定

激光共聚焦:细胞爬片48 h后,40 g/L多聚甲醛固定30 min, PBS冲洗3次,干燥后分别按1:300稀释CD133和KDR的一抗,及CD133和CD34的一抗进行双标,4℃冰箱,湿盒过夜后,吸除剩余的一抗, PBS冲洗后分别加入1:100稀释的二抗进行双标,置入4℃冰箱,湿盒过夜, PBS冲洗后行激光共聚焦检测(图1)。

### 1.6 内皮祖细胞粘附能力试验

用0.25%胰蛋白酶消化收集贴壁细胞,悬浮在500  $\mu\text{L}$ 培养液,计数,然后将等量EPC铺在包被有人纤维连接蛋白培养板,在37℃培养30 min,计数贴壁细胞。

### 1.7 内皮祖细胞迁移能力试验

消化搜集贴壁细胞并计数;同时将25  $\mu\text{L}$ 培养液和VEGF(50  $\mu\text{g/L}$ )加入改良的Boyden chamber的下室,盖过滤膜(滤膜光泽的一面朝下),再盖上趋化小室的上室;然后将 $2 \times 10^4$ 个EPC放在50  $\mu\text{L}$ 培养液注入上室,盖以载玻片,覆盖全部孔;在37℃、5%  $\text{CO}_2$ 温箱培养24 h,最后刮去滤膜上面的未移动细胞,用甲醛固定3~5 min,进行Giemsa染色15~30 min,用蒸馏水冲洗,干后镜检,随机选择3个显微镜视野( $\times 400$ )计数迁移到低层的细胞。

### 1.8 内皮祖细胞增殖能力试验

用0.25%胰蛋白酶消化收集贴壁细胞,悬浮在500  $\mu\text{L}$ 培养液,计数,然后将等量EPC接种到包被HFN的96孔培养板,每孔加10  $\mu\text{L}$  MTT(5 g/L),37℃孵育4 h后,吸弃上清液,再加入二甲基亚砜(150  $\mu\text{L}/\text{孔}$ ),于微量振荡器充分振荡10 min,置酶标仪测OD<sub>490</sub>值。

### 1.9 流式细胞仪检测细胞凋亡

分组收集细胞 $5 \times 10^5$ 个,按Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒操作,送流式细胞仪检测各组细胞的凋亡率。Annexin V-FITC将凋亡细胞标记上荧光(FITC呈绿色),PI则为红色荧光。因此,将细胞用两种染料同时染色后,可以检测出非凋亡的活细胞(FITC-/PI-),凋亡细胞(FITC+/PI-),及坏死细胞(FITC+/PI+),计算凋亡细胞比率。

### 1.10 逆转录-聚台酶链式反应技术检测bcl-2 mRNA表达

取对数生长期细胞,收集对照组和实验组细胞,采用Trizol试剂提取样本总RNA, RNA的反转录操作步骤按试剂盒说明进行。将反转录产物cD-

NA 于 95℃预变性 5 min 后, 94℃变性 30 s, 49℃退火 45 s, 72℃延伸 45 s, 共 40 个循环, 最后 72℃延伸 10 min。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳后, 用凝胶分析系统进行分析、照相。以 GAPDH 为内参照。引物由上海英俊生物技术有限公司合成。

### 1.11 Western blot 检测细胞内 Bcl-2 蛋白表达

细胞裂解提取总蛋白质, 凝胶电泳, 转膜。5% 脱脂奶粉封闭、一抗 (兔抗人 Bcl-2) 1: 1 000 稀释, 室温下反应 2 h 后常规洗膜、加入 1: 1 000 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的二抗 (生物素标记山羊抗兔 IgG) 60 min, 洗膜后加入 ECL3 min, 暗室显影 2 min 定影。用图像分析软件 GEL-pro3.0 对条带吸光度值进行分析。

### 1.12 统计学方法

数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS10.0 统计软件分析, 组间资料比较采用方差分析和 *t* 检验。

## 2 结果

### 2.1 内皮祖细胞的鉴定

分离获得的单个核细胞培养 7 天后形成了梭形的内皮样细胞, 以 CD133 和 KDR, CD133 和 CD34 对细胞双标染色后, 通过激光共聚焦显微镜鉴定, CD133 表达阳性呈红色, VEGFR-2 表达阳性呈绿色, 同时表达 CD133 与 VEGFR-2 阳性呈黄色是正在分化的内皮祖细胞; CD133 表达阳性呈红色,

CD34 表达阳性呈绿色, 同时表达 CD133 与 CD34 阳性呈黄色是正在分化的内皮祖细胞 (图 1)。

### 2.2 美乐托宁对细胞粘附能力和细胞迁移能力的影响

美乐托宁改善 EPC 粘附能力, 在浓度为 0.5 mmol/L 时较对照组明显增强 ( $P < 0.01$ ), 浓度为 2.0 mmol/L 时最为显著 ( $P < 0.01$ ), 此外, 各浓度美乐托宁呈时间依赖性增加 EPC 的粘附能力。EPC 的粘附能力在美乐托宁刺激 6 h 后开始明显改善 ( $P < 0.05$ ), 于 48 h 达到高峰 ( $P < 0.01$ ; 表 1)。美乐托宁呈浓度、时间依赖性改善 EPC 迁移能力 ( $P < 0.01$ ; 表 1)。

### 2.3 美乐托宁对细胞增殖的影响

美乐托宁促进 EPC 增殖, 呈一定的量效关系, 在浓度为 2.0 mmol/L 时最为显著 ( $P < 0.01$ )。此外, 各浓度美乐托宁呈时间依赖性促进 EPC 增殖。EPC 的 OD 值在美乐托宁刺激 6 h 后开始明显升高 ( $P < 0.01$ ), 于 48 h 达到高峰 ( $P < 0.01$ ; 表 1)。

### 2.4 流式细胞仪检测美乐托宁对细胞凋亡的影响

美乐托宁显著抑制 EPC 的凋亡, 呈一定的量效关系, 在浓度为 2.0 mmol/L 时最为显著 ( $P < 0.01$ )。此外, 各浓度美乐托宁呈时间依赖性抑制 EPC 的凋亡。EPC 的凋亡率在美乐托宁刺激 6 h 后开始明显下降 ( $P < 0.01$ ), 于 48 h 达到高峰 ( $P < 0.01$ ; 表 1)。

表 1. 美乐托宁对外周血内皮祖细胞粘附、迁移、增殖及凋亡率影响的浓度和时间效应关系 ( $n = 12, \bar{x} \pm s$ )

分 组	粘附 (细胞数 / × 200)	迁移 (细胞数 / × 200)	增殖 (OD <sub>490</sub> )	凋亡率
6 h				
对照组	30.28 ± 1.21	23.39 ± 1.23	0.261 ± 0.004	30.60% ± 3.03%
0.5 mmol/L MT 组	35.23 ± 1.14 <sup>a</sup>	27.51 ± 1.23 <sup>a</sup>	0.312 ± 0.003 <sup>a</sup>	27.88% ± 3.00% <sup>a</sup>
1.0 mmol/L MT 组	42.31 ± 1.25 <sup>b</sup>	32.28 ± 1.22 <sup>b</sup>	0.361 ± 0.003 <sup>b</sup>	25.21% ± 2.01% <sup>b</sup>
2.0 mmol/L MT 组	51.86 ± 1.19 <sup>c</sup>	37.41 ± 1.15 <sup>c</sup>	0.410 ± 0.011 <sup>c</sup>	23.30% ± 2.01% <sup>c</sup>
12 h				
对照组	31.23 ± 1.32	21.88 ± 1.23	0.282 ± 0.004	31.59% ± 3.01%
0.5 mmol/L MT 组	38.71 ± 1.13 <sup>a</sup>	29.63 ± 1.25 <sup>a</sup>	0.371 ± 0.009 <sup>a</sup>	25.21% ± 2.01% <sup>a</sup>
1.0 mmol/L MT 组	47.12 ± 1.21 <sup>b</sup>	35.57 ± 1.21 <sup>b</sup>	0.423 ± 0.006 <sup>b</sup>	22.28% ± 2.01% <sup>b</sup>
2.0 mmol/L MT 组	53.93 ± 1.25 <sup>c</sup>	39.82 ± 1.12 <sup>c</sup>	0.491 ± 0.001 <sup>c</sup>	19.35% ± 2.01% <sup>c</sup>
24 h				
对照组	32.19 ± 1.32	22.14 ± 1.22	0.290 ± 0.009	30.58% ± 3.03%
0.5 mmol/L MT 组	41.23 ± 1.51 <sup>a</sup>	32.73 ± 1.31 <sup>a</sup>	0.414 ± 0.002 <sup>a</sup>	22.30% ± 2.01% <sup>a</sup>
1.0 mmol/L MT 组	50.58 ± 1.27 <sup>b</sup>	39.39 ± 1.25 <sup>b</sup>	0.472 ± 0.001 <sup>b</sup>	18.41% ± 1.01% <sup>b</sup>
2.0 mmol/L MT 组	58.81 ± 1.74 <sup>c</sup>	45.41 ± 1.59 <sup>c</sup>	0.551 ± 0.011 <sup>c</sup>	16.46% ± 1.01% <sup>c</sup>
48 h				
对照组	31.04 ± 1.22	21.69 ± 1.21	0.304 ± 0.008	31.61% ± 3.03%
0.5 mmol/L MT 组	46.19 ± 1.39 <sup>a</sup>	37.86 ± 1.23 <sup>a</sup>	0.452 ± 0.003 <sup>a</sup>	21.37% ± 2.01% <sup>a</sup>
1.0 mmol/L MT 组	54.97 ± 1.23 <sup>b</sup>	42.17 ± 1.25 <sup>b</sup>	0.535 ± 0.001 <sup>b</sup>	17.49% ± 1.02% <sup>b</sup>
2.0 mmol/L MT 组	65.87 ± 1.63 <sup>c</sup>	49.84 ± 1.62 <sup>c</sup>	0.621 ± 0.009 <sup>c</sup>	13.56% ± 1.02% <sup>c</sup>

a 为  $P < 0.01$ , 与对照组比较; b 为  $P < 0.01$ , 与 0.5 mmol/L MT 组比较; c 为  $P < 0.01$ , 与 1.0 mmol/L MT 组比较。

## 2.6 美乐托宁对内皮祖细胞 Bcl-2 mRNA 表达的影响

美乐托宁组与对照组相比, bcl-2 mRNA 表达明

显增加 ( $P < 0.01$ ), 呈一定的量效关系, 在浓度为 2.0 mmol/L 时最为显著 ( $P < 0.01$ ; 表 2 和图 2)。

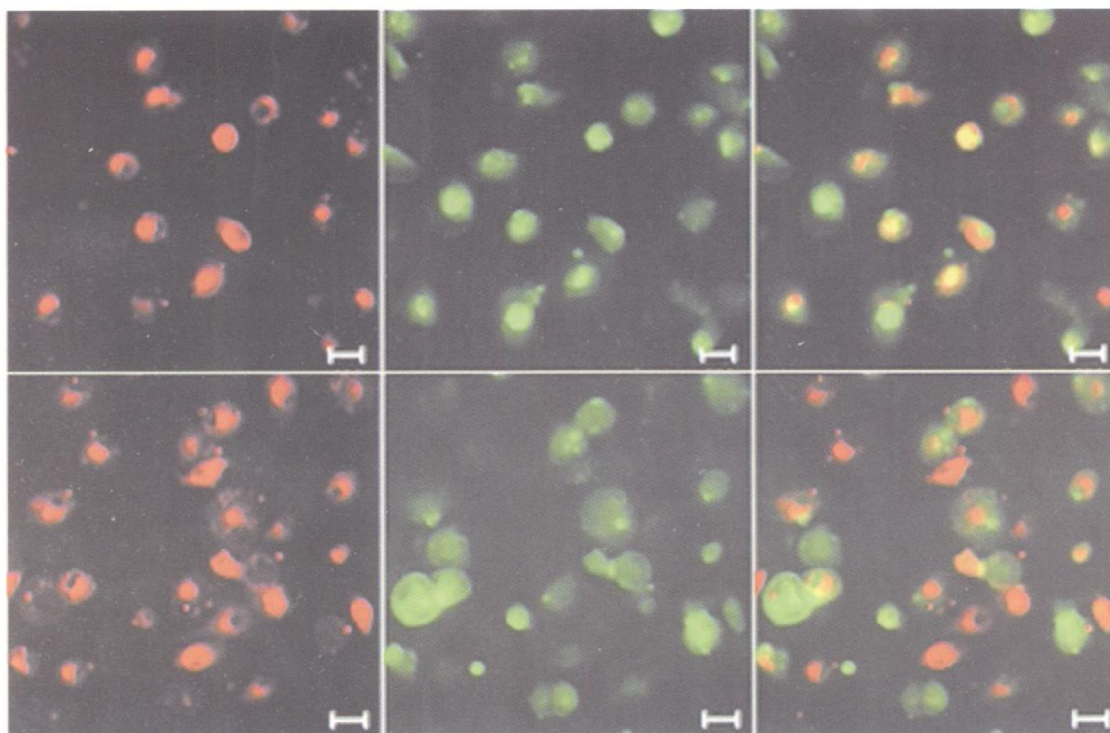


图 1 内皮祖细胞荧光染色激光共聚焦显微镜鉴定 左上为 CD133 表达阳性 (呈红色), 上中为 VEGFR-2 表达阳性 (呈绿色), 右上为同时表达 CD133 与 VEGFR-2 阳性 (呈黄色); 左下为 CD133 表达阳性 (呈红色), 下中为 CD34 表达阳性 (呈绿色), 右下为同时表达 CD133 与 CD34 阳性 (呈黄色)。

## 2.7 美乐托宁对内皮祖细胞的 Bcl-2 蛋白表达的影响

美乐托宁组与对照组相比, bcl-2 蛋白表达明显增加 ( $P < 0.01$ ), 呈一定的量效关系, 在浓度为 2.0 mmol/L 时最为显著 ( $P < 0.01$ ; 表 2 和图 3)。

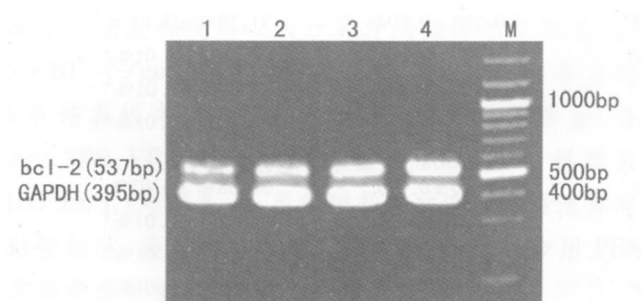


图 2 内皮祖细胞的 Bcl-2 mRNA 表达 1 为对照组, 2 为 0.5 mmol/L MT 组, 3 为 1.0 mmol/L MT 组, 4 为 2.0 mmol/L MT 组, M 为 Marker

表 2 不同浓度美乐托宁预处理 24 h 对内皮祖细胞 Bcl-2 mRNA 和 bcl-2 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

分 组	n	bcl-2 mRNA 表达	bcl-2 蛋白表达
对照组	12	1.48 ± 0.05	1.28 ± 0.05
0.5 mmol/L MT 组	12	1.82 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.73 ± 0.07 <sup>a</sup>
1.0 mmol/L MT 组	12	2.31 ± 0.08 <sup>ab</sup>	2.26 ± 0.08 <sup>ab</sup>
2.0 mmol/L MT 组	12	2.59 ± 0.06 <sup>abc</sup>	2.82 ± 0.06 <sup>abc</sup>

a 为  $P < 0.01$  与对照组比较; b 为  $P < 0.01$  与 0.5 mmol/L 美乐托宁组比较; c 为  $P < 0.01$  与 1.0 mmol/L 美乐托宁组比较。

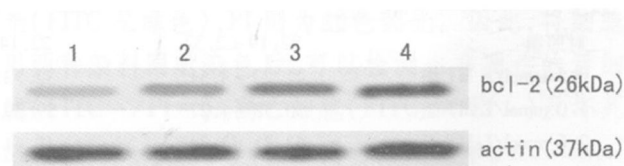


图 3 western blot 法检测内皮祖细胞的 Bcl-2 蛋白表达 1 为对照组, 2 为 0.5 mmol/L MT 组, 3 为 1.0 mmol/L MT 组, 4 为 2.0 mmol/L MT 组。



### 3 讨论

内皮祖细胞是血管内皮细胞的前体细胞,是以 CD133 VEGFR-2 CD34为标志的一群细胞,可以迁移、增殖并分化为成熟的内皮细胞,促进内皮的修复及出生后新生血管化的形成。本实验采用密度梯度离心法分离培养的细胞表达 CD34<sup>+</sup> KDR<sup>+</sup> CD133<sup>+</sup>,证实该细胞为 EPC。

美乐托宁又叫褪黑素,是由松果体分泌的一种神经内分泌激素<sup>[2]</sup>,是目前已知的最强的自由基清除剂,可直接清除各种自由基,抑制脂质过氧化,而且还能增强体内抗氧化酶及其他抗氧化剂活性的作用<sup>[3-4]</sup>。我们的前期研究表明美乐托宁能拮抗 ox-LDL诱导体外培养的人脐静脉血 EPC 凋亡,改善 EPC 功能<sup>[5]</sup>。本研究发现,用不同剂量的 MT 孵育从冠心病患者外周血中分离的 EPC 后,美乐托宁组 EPC 的粘附、迁移和增殖能力明显提高,凋亡率显著下降,与对照组差异有统计学意义,而且存在一定的剂量依赖和时间依赖关系。可见美乐托宁可以改善 EPC 的粘附、迁移和增殖能力,抑制 EPC 的凋亡,对冠心病患者外周血中的 EPC 有保护作用。

细胞凋亡,又称程序性细胞死亡,是细胞在一系列基因调控下的一种有序的死亡方式。细胞凋亡是有许多基因参与的细胞结束其生命的过程,有着非常复杂的调控机制,其中 Bcl-2是最主要的细胞凋亡抑制基因<sup>[6]</sup>。Bcl-2家族的成员通常以二聚体的形式发挥作用,Bcl-2/Bcl-2 Bcl-2/Bax和 Bcl-2/Bcl-x<sub>L</sub>抑制细胞凋亡;Bax/Bax Bax/Bad Bcl-2/Bax-x<sub>L</sub>促进细胞凋亡<sup>[7-8]</sup>。

在对大鼠缺血再灌注模型的研究中,给予腹腔注射 0.5% 美乐托宁 1 mL/kg 以缺口末端标记法及免疫组化法检测心肌细胞凋亡指数及 bcl-2, bax 的蛋白表达的变化,结果表明,褪黑素可抑制缺血/再灌注后心肌细胞凋亡、下调 bax 基因的蛋白表达与上调 bcl-2 基因的蛋白表达,从而抵抗缺血/再灌注

心肌损伤<sup>[9]</sup>,证明美乐托宁抗凋亡作用与其对 bcl-2, bax 蛋白表达的影响有关。本研究结果显示:冠心病患者外周血中的 EPC 用不同剂量的美乐托宁孵育后, EPC 的 Bcl-2 表达增强,随着剂量增加, Bcl-2 表达越强,同时,细胞的凋亡减少。由此可以得出结论:美乐托宁通过上调凋亡抑制基因 Bcl-2 从而抑制 EPC 凋亡。

综上所述,美乐托宁可以改善 EPC 的粘附、迁移和增殖能力,抑制 EPC 的凋亡,并通过上调抗凋亡基因 Bcl-2 而发挥其抗凋亡的细胞保护效应。这有利于 EPC 的增殖,有利于 EPC 参与新生血管化,从而促进缺血组织的血管新生,促进冠心病等缺血性心血管病的代偿性侧支血管形成、受损内皮的修复等。

### 【参考文献】

- [1] 张怀勤,胡盛寿,杨德业,等. 脐血来源的人类内皮前体细胞培养的试验研究 [J]. 中国循环杂志, 2003, 18: 456-457.
- [2] 魏涛,唐芬芳,金宗彦. 褪黑素的生理功能 [J]. 食品工业科技, 2002, 23(9): 98-102.
- [3] Trubiani O, Recchioni R, Moroni E, et al. Melatonin provokes cell death in human B-lymphoma cells by mitochondria-dependent apoptotic pathway activation [J]. J Pineal Res 2005 39 (4): 425-431.
- [4] 李秋霞,张全江,熊正英,等. 褪黑素的生物学功能及其在运动医学中的应用 [J]. 中国运动医学杂志, 2004, 23 (3): 220-224.
- [5] 李秀丽,谢秀梅,陈晓彬,等. 氧化低密度脂蛋白对人脐静脉血内皮祖细胞增殖、凋亡及 Bcl-2 表达的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, 15 (10): 755-758.
- [6] Bannova AV, Menshanov PN, Il'ykh FA, et al. Bax and Bcl-X<sub>L</sub> apoptosis protein mRNA in rat brain stem and cortex during ontogeny [J]. Bull Exp Biol Med, 2005, 139 (6): 700-702.
- [7] Guan QH, Pei DS, Xu TL, et al. Brain ischemia/reperfusion-induced expression of DP5 and its interaction with Bcl-2, thus freeing Bax from Bcl-2/Bax dimers are mediated by c-Jun N-terminal kinase [JNK] pathway [J]. Neurosci Lett 2006 393 (2): 226-230.
- [8] Kirkin V, Joos S, Zomig M. The role of Bcl-2 family members in tumorigenesis [J]. Biochim Biophys Acta, 2004, 1644 (2-3): 229-249.
- [9] 明章银,向继洲,吴基良,等. 褪黑素对大鼠心肌缺血/再灌注后细胞凋亡的影响 [J]. 华中科技大学学报(医学版), 2003, 32 (4): 358-360.

(此文编辑 李小玲)