

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2009)17-10-0802-05

氧化型低密度脂蛋白对人脐静脉内皮细胞 Fractalkine 表达的影响及机制分析

边云飞, 杨慧宇, 杨志明, 张娜娜, 高 奋, 肖传实

(山西医科大学第二医院, 山西省太原市 030001)

[关键词] 氧化型低密度脂蛋白; Fractalkine; p38 丝裂原活化蛋白激酶; 人脐静脉内皮细胞

[摘要] 目的 观察氧化型低密度脂蛋白对人脐静脉内皮细胞 Fractalkine 表达的影响并探讨其可能作用机制。方法 采用胰蛋白酶消化法原代培养人脐静脉内皮细胞, 取 2~5 代用于实验, 随机分为: 对照组用 RPMI1640 培养基; ④氧化型低密度脂蛋白不同浓度 (5、25、50 和 75 mg/L) 组; ④氧化型低密度脂蛋白作用不同时间 (6、12、24、48 和 72 h) 组; 氧化型低密度脂蛋白 + p38MAPK 特异性阻断剂 SB203580 组; p38MAPK 特异性阻断剂 SB203580 组。用 RT-PCR 及 ELISA 法检测 Fractalkine mRNA 及蛋白表达水平, 用 Western blot 法检测 p38MAPK 磷酸化表达水平。结果 氧化型低密度脂蛋白在一定浓度范围及作用时间呈时间-剂量依赖方式诱导 Fractalkine mRNA 及蛋白表达增加, 最佳作用时间为 48 h 最佳作用浓度为 50 mg/L; ④与对照组比较, 氧化型低密度脂蛋白诱导组人脐静脉内皮细胞 p38MAPK 磷酸化表达水平显著增加 ($P < 0.05$); 使用 SB203580 干预后 p38MAPK 磷酸化水平明显下降, 与氧化型低密度脂蛋白诱导组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。④预先用 p38MAPK 特异性阻断剂 SB203580 (20 $\mu\text{mol/L}$) 与内皮细胞共同孵育 60 min 后, 再加入氧化型低密度脂蛋白作用 48 h 后, Fractalkine 表达水平明显降低, 与氧化型低密度脂蛋白组比较有统计学差异 ($P < 0.05$)。结论 氧化型低密度脂蛋白可诱导内皮细胞 Fractalkine 表达增加, 其作用机制可能是通过 p38MAPK 信号转导通路。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The Effect of ox-LDL on the Expression of Fractalkine in Cultured Human Umbilical Vein Endothelial Cells and Its Mechanism

BIAN Yun-Fei, YANG Hui-Yu, YANG Zhi-Ming, ZHANG Na-Na, GAO Fen, and XIAO Chuan-Shi

(Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

[KEY WORDS] Oxidized Low Density Lipoprotein; Fractalkine; p38MAPK; Human Umbilical Vein Endothelial Cells

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) on Fractalkine expression in cultured human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) and explore its mechanism. **Methods** HUVECs were isolated and cultured, the passage 2~5 cells were used in experiment. HUVEC were cocultured with different concentrations of ox-LDL (5, 25, 50 and 75 mg/L) for 48 h or with 50 mg/L ox-LDL for different times (6, 12, 24, 48 and 72 h).

SB203580 (20 $\mu\text{mol/L}$), an inhibitor of p38MAPK activation, was pretreated for 60 min before HUVEC were cocultured with 50 mg/L ox-LDL for 48 h. Fractalkine mRNA and protein expression were detected by RT-PCR or ELISA. The phosphorylation of p38MAPK was determined by Western blot. **Results** The expressions of fractalkine in HUVEC were upregulated by ox-LDL (5, 25 and 50 mg/L) in a concentration-dependent manner and were increased by ox-LDL (50 mg/L) for 6, 12, 24, 48 and 72 h in a time-dependent manner. Compared with control group, the phosphorylation of p38MAPK was increased significantly in ox-LDL group ($P < 0.05$), SB203580 (20 $\mu\text{mol/L}$) decreased ox-LDL induced fractalkine expression. **Conclusion** ox-LDL stimulates the expression of fractalkine in a concentration and time dependent manner. p38MAPK activation may mediate ox-LDL induced fractalkine expression.

Fractalkine 为一种新发现的趋化因子, 近年研究发现 Fractalkine 与动脉粥样硬化 (atherosclerosis

As) 病理生理过程密切相关。氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 是动脉粥样硬化最明确的危险因素之一, 能诱导内皮细胞表达黏附分子和趋化因子, 从而募集单核细胞向血管内皮黏附, 但是 ox-LDL 能否上调 Fractalkine 的表达及其可能的信号传导通路尚不清楚。p38 丝裂素活化蛋白激酶 (p38MAPK) 是丝裂素活化蛋白激酶家族成员之一, 参与细胞对外界刺激的调节反应, 与内

[收稿日期] 2009-06-19 [修回日期] 2009-09-12

[基金项目] 山西省科技攻关项目 (20090311059-3)

[作者简介] 边云飞, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 主要研究方向为冠心病基础与临床, 联系电话为 0351-3365787, E-mail 为 yun-fei@163.com。杨慧宇, 博士研究生, 研究方向为冠心病基础与临床, E-mail 为 huiyuyang@yahoo.com.cn。通讯作者肖传实, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为冠心病基础与临床, 联系电话为 0351-3362132, E-mail 为 xyc0603@sohu.com。

皮细胞功能失调密切相关。本研究用不同浓度 ox-LDL 作用不同时间诱导体外培养的人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells HUVEC), 探讨 ox-LDL 能否诱导趋化因子 Fractalkine 的表达, 并选用 p38MAPK 信号转导通路探讨其作用的可能机制, 为防治 AS 提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

健康新生儿脐带 (山西医科大学第二医院妇产科提供); 生物素化马抗山羊 IgG、标记荧光素的羊抗兔 IgG、W F 免疫组织化学试剂盒、山羊 SP 试剂盒、DAB 显色剂和 CD 因子相关抗原 (北京中山生物技术有限公司); RT-PCR 试剂盒、引物、DNA Ladder Mark (大连宝生物有限公司); Fractalkine ELISA 试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司); 化学发光试剂盒 (北京普利莱基因技术有限公司); ox-LDL 和 p38MAPK 特异性阻断剂 SB203580 (Sigma 公司); 兔抗人 Fractalkine 多克隆抗体及磷酸化 p38MAPK sc-17852-R 单克隆抗体 (Santa Cruz 公司); p38MAPK 5F11 单克隆抗体及蛋白抽提试剂盒 (Cell signaling 公司)。

1.2 原代人脐静脉内皮细胞培养和鉴定

采用酶消化法进行原代 HUVEC 培养, 无菌取分娩 4 h 健康新生儿脐带, 用 PBS 缓冲液冲洗干净, 以 0.1% Ⅳ型胶原酶 37℃ 消化 10 min 终止消化后收集消化液, 1 kr/min 离心 8 min 弃上清液。加入 RPM 11640 培养基, 在 5% CO₂、37℃ 培养箱内培养。待细胞生长达亚融合状态时, 以 0.25% 胰蛋白酶消化、传代。选择生长良好的第 2~5 代细胞用于实验。采用形态学及抗 CD 因子抗体免疫荧光染色行内皮细胞鉴定。

1.3 实验分组

培养的细胞分为 5 组: 对照组: RPM 11640 培养基培养细胞; ④ox-LDL 不同浓度组: 包括不同剂量的 ox-LDL (5、25、50 和 75 mg/L) 培养细胞 48 h; ④ox-LDL 作用不同时间组: ox-LDL 50 mg/L 作用不同时间 (6、12、24、48 和 72 h); ox-LDL+ SB203580 组: 预先用 p38MAPK 特异性阻断剂 SB203580 (20 μmol/L) 与内皮细胞共同孵育 60 min 后, 再加入 ox-LDL 50 mg/L 作用 48 h; SB203580 组: 单独加入 SB203580 (20 μmol/L) 作用 48 h。

1.4 RT-PCR 检测 Fractalkine mRNA 的表达

收集上述各组细胞, 按 Trizol 试剂盒说明书提

取总 RNA。PCR 引物及扩增片段为: Fractalkine 上游引物: 5'-CTC AGC CAG ATG CAA TCA ATG CCC-3'; 下游引物: 5'-TGG AAC AAG AGG AAA AGC AAT TTG G-3', 共 450 bp; GAPDH 的引物序列上游引物: 5'-ACC ACA GTC CAT GCC ATC AC-3'; 下游引物: 5'-TCC ACC ACC CTG TTG CTG TA-3', 共 650 bp。PCR 反应体系如下: cDNA 10 μL, 10 × PCR 缓冲液 5 μL, 10 mmol/L dNTP 混合物 1 μL, 25 μmol/L 引物混合液 1 μL, Taq 酶 2 μL, 10 mmol/L MgCl₂ 4 μL, 补 DEPC 水至总体积至 50 μL。PCR 反应条件为: 94℃ 预变性 10 min; 94℃ 变性 40 s; 53℃ 退火 40 s; 72℃ 延伸 40 s; 循环 32 次; 最后 72℃ 延伸 5 min。反应结束后, 取反应产物 10 μL 进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭染色, UVP 型凝胶图像分析系统摄图, 并分析各组目的基因及 GAPDH 基因灰度值, 以二者的比值代表各基因的表达量。

1.5 ELISA 法检测 Fractalkine 蛋白的表达

采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 对细胞上清液中 Fractalkine 蛋白表达水平进行检测。严格按照试剂盒说明进行操作。用 Anthos 2010 酶标仪在 450 nm 波长依序测量各孔的光密度 (OD) 值。在计算机中输入标准物的浓度, 数据分析系统根据标准物与样品的 OD 值, 自动计算出待测样品的浓度。

1.6 Western-blot 法检测 p38MAPK 磷酸化水平

参照文献 [1], 用 4℃ 预冷的细胞裂解液将内皮细胞裂解, 考马斯亮蓝法测定蛋白浓度。取 30 μL 的总蛋白质样品经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质, 电转移至硝酸纤维素膜上。转移后的硝酸纤维素膜经脱脂奶粉封闭 2 h, 加入所检测指标的单克隆抗体中 4℃ 过夜, 洗膜、辣根过氧化物酶标记的二抗 (1: 1 000) 孵育 1 h 化学发光试剂显色, 计算机扫描蛋白条带后进行吸光度分析。

1.7 统计学处理

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用 SPSS11.5 统计软件对实验数据进行单因素方差分析, 多重比较采用 LSD 和 SNK 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 人脐静脉内皮细胞的培养与鉴定

刚分离的人脐静脉内皮细胞呈圆形或椭圆形, 多呈小团存在, 4 h 后细胞开始贴壁生长, 之后很快生长成为多数单层小多角型集落, 培养 2~3 天后, 细胞生长迅速, 集落增大, 3~5 天开始融合形成排列紧密的单层细胞。细胞呈鹅卵石样镶嵌排列, 无

重叠生长现象,细胞多呈多角形(图 1A)。抗 CD31 因子抗体免疫荧光染色结果显示人脐静脉内皮细胞核周胞浆呈较强黄绿色荧光,呈颗粒状存在或弥散分布,而背景无荧光显示(图 1B)。表明所分离培养的细胞为血管内皮细胞。对照组细胞生长良好,呈鹅卵石样镶嵌排列,细胞透明度大,轮廓不清; ox-LDL 组的细胞粗糙,轮廓增强,细胞内有许多发亮的颗粒,尤其以 75 mg/L ox-LDL 组更为明显(图 1C)。

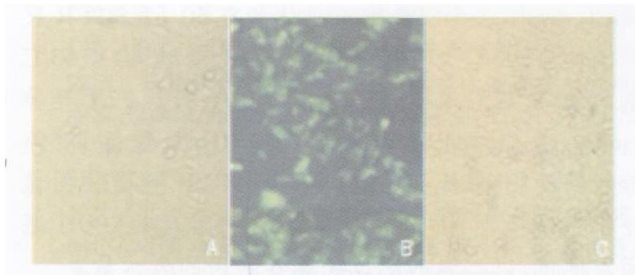


图 1 人脐静脉内皮细胞形态学观察及鉴定 (×100)

2.2 不同浓度氧化型低密度脂蛋白对内皮细胞 Fractalkine mRNA 表达的影响

不同浓度 ox-LDL 作用于人脐静脉内皮细胞 48 h 后,随着 ox-LDL 浓度的增加,内皮细胞 Fractalkine mRNA 表达水平逐渐升高,ox-LDL 浓度为 50 mg/L 时其表达达到最高峰,而后开始下降,与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 1 和图 2)。

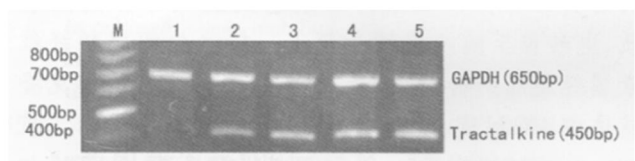


图 2 不同浓度氧化型低密度脂蛋白对内皮细胞 Fractalkine mRNA 表达的影响 M 为 Marker, 1 为对照组, 2, 3, 4, 5 分别为 5、25、50 和 75 mg/L 的 ox-LDL 作用 24 h

表 1 不同浓度氧化型低密度脂蛋白对内皮细胞 Fractalkine mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

分 组	Fractalkine mRNA 相对值
对照组	0.069 ± 0.084
5 mg/L ox-LDL 组	0.462 ± 0.063 ^{ab}
25 mg/L ox-LDL 组	0.806 ± 0.121 ^{ab}
50 mg/L ox-LDL 组	0.912 ± 0.117 ^{ab}
75 mg/L ox-LDL 组	0.883 ± 0.108 ^{ab}

a 为 $P < 0.05$ 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$ 各浓度组之间比较。

2.3 氧化型低密度脂蛋白作用不同时间对内皮细胞 Fractalkine mRNA 表达的影响

50 mg/L ox-LDL 刺激内皮细胞 6、12、24、48 和 72 h 后, Fractalkine 蛋白表达在 6 h 即开始增加,随着作用时间的延长表达逐渐增加,与对照组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 2 和图 3)。

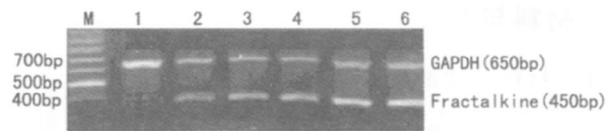


图 3 氧化型低密度脂蛋白作用不同时间对内皮细胞 Fractalkine mRNA 表达的影响 M 为 Marker, 1 为对照组, 2, 3, 4, 5, 6 分别为 ox-LDL 作用 6、12、24、48 和 72 h

表 2 氧化型低密度脂蛋白作用不同时间对内皮细胞 Fractalkine mRNA 表达的影响

分 组	Fractalkine mRNA
对照组	0.078 ± 0.033
6 h 组	0.595 ± 0.063 ^b
12 h 组	0.867 ± 0.121 ^{ab}
24 h 组	0.934 ± 0.117 ^{ab}
48 h 组	1.381 ± 0.098 ^{ab}
72 h 组	1.726 ± 0.108 ^{ab}

a 为 $P < 0.05$ 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$ 各时间组之间比较。

2.4 不同浓度的氧化型低密度脂蛋白对内皮细胞 Fractalkine 蛋白表达水平的影响

不同浓度 ox-LDL 作用 48 h 后,内皮细胞 Fractalkine 蛋白表达水平显著增高,而且随 ox-LDL 浓度的增加, Fractalkine 表达水平逐渐升高,明显高于空白对照组 ($P < 0.05$), 50 mg/L 的 ox-LDL 使其表达达到最高峰 ($P < 0.01$), 而后开始下降,与基因表达趋势一致(表 3)。

表 3 不同浓度的氧化型低密度脂蛋白对内皮细胞 Fractalkine 蛋白表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

分 组	Fractalkine 浓度 (μg/L)
对照组	25.80 ± 8.46
5 mg/L ox-LDL 组	60.76 ± 5.16 ^a
25 mg/L ox-LDL 组	75.73 ± 8.46 ^{ab}
50 mg/L ox-LDL 组	87.63 ± 7.94 ^{ab}
75 mg/L ox-LDL 组	79.05 ± 3.15 ^{ab}

a 为 $P < 0.05$ 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$ 各浓度组之间比较。

2.5 氧化型低密度脂蛋白作用不同时间对内皮细胞 Fractalkine 蛋白表达的影响

50 mg/L ox-LDL 组作用于内皮细胞不同时间, 上清液中 Fractalkine 蛋白表达水平明显增高, 并且随着作用时间的延长, Fractalkine 蛋白表达逐渐升高 (表 4)。

表 4 氧化型低密度脂蛋白 (50 mg/L) 作用不同时间对内皮细胞 Fractalkine 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

分 组	Fractalkine 浓度 ($\mu\text{g/L}$)
对照组	25.80 \pm 8.46
6 h 组	23.59 \pm 7.63 ^b
12 h 组	32.77 \pm 5.16 ^{ab}
24 h 组	42.32 \pm 4.96 ^{ab}
48 h 组	76.05 \pm 3.15 ^{ab}
72 h 组	88.66 \pm 2.13 ^{ab}

a 为 $P < 0.05$ 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$ 各时间组之间比较。

2.6 p38MAPK 抑制剂 SB203580 对氧化型低密度脂蛋白所诱导 p38MAPK 磷酸化水平的影响

与对照组比较, ox-LDL 诱导组 HUVEC p38MAPK 磷酸化表达水平显著增加, 分别为 0.78 ± 0.18 和 2.21 ± 0.27 ($P < 0.05$); 使用 SB203580 干预后 p38MAPK 磷酸化水平明显下降, 与 ox-LDL 诱导组相比差异有显著性 (1.42 ± 0.23 比 2.21 ± 0.27 , $P < 0.05$), 单用 SB203580 作用后, p38MAPK 磷酸化水平无明显改变, 与对照组相比差异无统计学意义 (0.75 ± 0.20 比 0.78 ± 0.18 , $P < 0.05$ 图 4)。

2.7 p38MAPK 抑制剂 SB203580 对氧化型低密度脂蛋白所诱导 Fractalkine mRNA 和蛋白表达的影响

50 mg/L ox-LDL 作用 48 h 后 Fractalkine mRNA 表达明显升高, 与对照组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 预先用 p38MAPK 抑制剂 SB203580 (20 $\mu\text{mol/L}$) 与内皮细胞共同孵育 60 min 后, 再加入 ox-LDL 作用 48 h 后, Fractalkine mRNA 表达水平明显降低, 与 ox-LDL 组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 单用 SB203580 作用后, Fractalkine mRNA 表达水平与对照组相比差异无显著性 (图 5)。预先用 p38MAPK 抑制剂 SB203580 (20 $\mu\text{mol/L}$) 与内皮细胞共同孵育 60 min 后, 再加入 ox-LDL 作用 48 h 后, Fractalkine 蛋白表达水平明显降低, 与基因水平相一致 (表 5)。

3 讨论

As 是一种炎症性疾病, 血液循环中的单核细胞

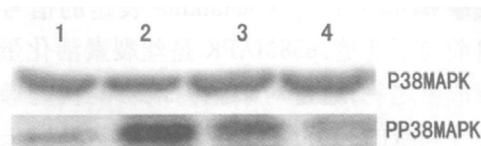


图 4. p38MAPK 抑制剂 SB203580 对氧化型低密度脂蛋白所诱导 p38MAPK 磷酸化水平的影响 1 为对照组, 2 为 ox-LDL 组, 3 为 ox-LDL + SB203580 组, 4 为 SB203580 组。

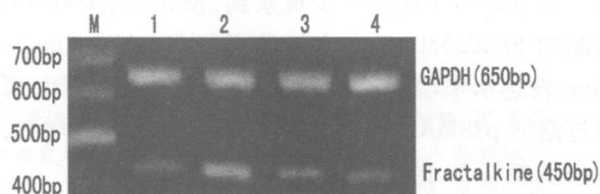


图 5. p38MAPK 抑制剂 SB203580 对氧化型低密度脂蛋白所诱导 Fractalkine mRNA 表达的影响 1 为对照组, 2 为 ox-LDL 组, 3 为 ox-LDL + SB203580 组, 4 为 SB203580 组。

表 5 p38MAPK 抑制剂 SB203580 对氧化型低密度脂蛋白所诱导 Fractalkine 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

分 组	Fractalkine 浓度 ($\mu\text{g/L}$)
对照组	25.80 \pm 8.46
ox-LDL (50 mg/L) 组	87.63 \pm 7.94 ^a
ox-LDL (50 mg/L) + SB203580 组	45.8 \pm 8.46 ^{ab}
SB203580 组	26.37 \pm 4.32

a 为 $P < 0.05$ 与对照组和 SB203580 组比较; b 为 $P < 0.05$ 与 50 mg/L ox-LDL 组比较。

是泡沫细胞的前体细胞。由血管内皮细胞产生的趋化因子在介导单核细胞和血管内皮细胞之间的作用中起了至关重要的作用。Fractalkine 是一种特殊的趋化因子, 具有膜结合型和游离型两种形式, 各自发挥使外周血白细胞游走和黏附的作用, 因此既有趋化作用又有黏附功能^[2-5]。Schafer 等^[6]发现 ox-LDL 和氧化型亚油酸以 Fractalkine 浓度依赖的方式诱导单核细胞与冠状动脉 VSMC 的异常黏附, 从而在 As 的进展中发挥作用。但目前有关 ox-LDL 对内皮细胞 Fractalkine 表达的浓度与时间依赖关系尚未见报道。本研究发现, 作用相同时间后, ox-LDL 可诱导内皮细胞 Fractalkine 表达增加, 而且呈现时间-剂量依赖性, 在 50 mg/L ox-LDL 诱导时 Fractalkine 表达达到最高峰, 而后开始下降, 分析原因可能与药物剂量增加其毒副作用增加有关。在同一浓度条件下, 随着作用时间的延长, 内皮细胞 Fractalkine 表达逐渐增高, 在本实验中其高值维持到 72 h。

关于 ox-LDL 诱导 Fractalkine 表达的信号传导通路目前尚不清楚, p38MAPK 是丝裂素活化蛋白激酶家族成员之一, 通过对细胞内信号的传递参与细胞对外界刺激的调节反应, 与内皮细胞功能失调密切相关^[7,8]。ox-LDL 在体内所介导的多种生物学作用与 p38MAPK 信号通路有关^[9,10]。本实验结果显示 ox-LDL 能显著增加 HUVEC p38MAPK 的磷酸化表达, 提示 ox-LDL 可以激活 HUVEC p38MAPK 通路。在本研究中还进一步观察到, 预先用 p38MAPK 抑制剂 SB203580 与内皮细胞共同孵育后, Fractalkine 表达水平明显降低, 由此我们推测 ox-LDL 可通过激活 p38MAPK 通路诱导 Fractalkine 表达增加, 进一步参与 As 的进程。

总之, ox-LDL 可诱导内皮细胞 Fractalkine 表达增加, 促进 As 的发生和发展, 其作用机制可能是通过 p38MAPK 信号转导通路来实现。

[参考文献]

- [1] Li D, Sakleen T, Mehta JL. Gamma-tocopherol decreases ox-LDL-mediated activation of nuclear factor-kappaB and apoptosis in human coronary artery endothelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, **259**: 157-161.
- [2] 黎娜, 朱文玲, 陈莲凤, 等. 单核细胞趋化因子-1和 Fractalkine 对平滑肌细胞增殖、趋化和组织因子表达的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006, **14** (11): 975-978.
- [3] Yang XP, Mattagajasingh S, Su S, et al. Fractalkine upregulates intercellular adhesion molecule-1 in endothelial cells through CX3CR1 and the Jak Stat5 pathway [J]. *Circ Res*, 2007, **101** (10): 1001-008.
- [4] Saedem N, Chan L, Lira SA, et al. Fractalkine deficiency markedly reduces macrophage accumulation and atherosclerotic lesion formation in CCR2^{-/-} mice: evidence for independent chemokine functions in atherogenesis [J]. *Circulation*, 2008, **117** (13): 1642-648.
- [5] 彭旭, 张智博. 趋化因子 Fractalkine 受体 CX3CR1 基因多态性与动脉粥样硬化 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, **15** (12): 958-960.
- [6] Schafer A, Schulz C, Fraccarollo D, et al. The CX3C chemokine fractalkine induces vascular dysfunction by generation of superoxide anions [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, **27** (1): 55-62.
- [7] Zheng J, Wen Y, Chen DR, et al. Angiotensin II elevates nitric oxide synthase 3 expression and nitric oxide production via a mitogen-activated protein kinase cascade in ovine fetoplacental artery endothelial cells [J]. *Biol Reprod*, 2005, **72** (6): 1421-428.
- [8] Choi JS, Choi YJ, Shin SY, et al. Dietary flavonoids differentially reduce oxidized LDL-induced apoptosis in human endothelial cells: role of MAPK- and JAK/STAT-signaling [J]. *J Nutr*, 2008, **138** (6): 983-990.
- [9] Bustamante M, Diaz F, Muñoz M. Oxidized low density lipoproteins induce apoptosis in human lymphocytes: involvement of mitogen-activated protein kinases [J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2007, **53** Suppl 01: 954-964.
- [10] Bao M, Lou Y. Isohannetin prevent endothelial cell injuries from oxidized LDL via activation of p38MAPK [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, **547** (1-3): 22-30.

(此文编辑 李小玲)