

[文章编号] 1007-3949 (2011) 19-03-0181-06

· 实验研究 ·

二苯乙烯苷对过氧化氢诱导内皮细胞凋亡的影响

龙石银, 黄良珠, 乔新惠, 张彩平, 高细强, 佟 丽, 田 英

(南华大学生物化学与分子生物学教研室, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 二苯乙烯苷; 人脐静脉内皮细胞; 细胞凋亡; Caspase-3

[摘要] 目的 探讨二苯乙烯苷对过氧化氢诱导人脐静脉内皮细胞凋亡的影响及其可能机制。方法 体外培养人脐静脉内皮细胞, 以过氧化氢作用内皮细胞建立细胞凋亡模型, 再加入不同浓度的二苯乙烯苷作用 24 h。采用 MTT 法检测细胞生长活力, Hoechst33258 染色观察细胞形态, 流式细胞仪检测细胞凋亡率, RT-PCR、免疫印迹法检测 Caspase-3 的表达。结果 与空白对照组相比, 300 $\mu\text{mol/L}$ 过氧化氢作用后细胞增殖明显受到抑制, Hoechst33258 染色可见大量凋亡细胞, 流式细胞仪检测出明显的凋亡峰, Caspase-3 的表达量显著增加; 加入二苯乙烯苷作用后, 与过氧化氢组比较, 10 $\mu\text{mol/L}$ 二苯乙烯苷能够显著提高细胞增殖率, 抑制细胞凋亡, 并且使 Caspase-3 的表达减少 ($P < 0.05$)。结论 二苯乙烯苷能够抑制过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡, 其作用机制与抑制 Caspase-3 表达有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effect of 2, 3, 5, 4'-Tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-Glucoside on Hydrogen Peroxide-Induced Apoptosis of Human Umbilical Vein Endothelial Cell

LONG Shi-Yin, HUANG Liang-Zhu, QIAO Xin-Hui, ZHANG Cai-Pin, GAO Xi-Qiang, TONG Li, and TIAN Ying

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] Tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-Glucoside; Human Umbilical Vein Endothelial Cells; Apoptosis; Caspase-3

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the role and mechanism of TSG on the apoptosis of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) induced by H_2O_2 . **Methods** HUVEC were treated with TSG (0.1, 1, 10 and 100 $\mu\text{mol/L}$) for 24 hours then exposed to H_2O_2 (100, 200, 300, 400 and 500 $\mu\text{mol/L}$) for 24 hours, the optimal concentration of H_2O_2 and TSG were detected by MTT and Flow Cytometry. Morphology of apoptosis and the protective effect of TSG on HUVEC induced by H_2O_2 were observed by Hoechst33258 staining. The mRNA and protein expression of Caspase-3 were detected by RT-PCR and Western blot analysis respectively. **Results** According to the MTT and Flow Cytometry, the optimal concentration for H_2O_2 to establish apoptosis model and for TSG to protect HUVEC induced by H_2O_2 were 300 $\mu\text{mol/L}$ and 10 $\mu\text{mol/L}$ respectively. Compared with the control group, the group of 300 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 inhibited the cell proliferation, increased the number of apoptotic cells and the expression of Caspase-3 significantly. Compared with H_2O_2 group, 10 $\mu\text{mol/L}$ of TSG improved the rate of cell proliferation, inhibited cell apoptosis, and decreased expression of the caspase-3 significantly ($P < 0.05$). **Conclusion** TSG could inhibit H_2O_2 -induced apoptosis of HUVEC, and its mechanism was associated with the inhibition of Caspase-3 expression.

2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D 葡萄糖苷简称二苯乙烯苷 (tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside, TSG), 是中药何首乌中主要的水溶性药效成分。研究显示 TSG 具有较强的抗氧化、调脂、抗炎、

舒血管和改善内皮功能等药理作用^[1-5], 但其作用机制尚不清楚。活性氧能引起血管内皮损伤、凋亡, 破坏内皮结构, 使内皮功能异常。受损的内皮细胞是多种心血管疾病的共同病理生理学基础, 也是动

[收稿日期] 2011-04-10

[基金项目] 国家自然科学基金(30800474)资助; 湖南省教育厅项目(09C832)资助; 湖南省科技厅项目(2010SK3037, 湘科条字[2009]130-19)资助

[作者简介] 龙石银, 副教授, 研究方向为脂蛋白与动脉粥样硬化, E-mail 为 longshiyin@126.com; 通讯作者田英, 教授, 研究方向为脂蛋白与动脉粥样硬化, E-mail 为 uscty@163.com。

脉粥样硬化触发的早期重要事件,即氧化应激和内皮细胞凋亡在动脉粥样硬化发生、发展中相互调控,相互影响^[6-8],因此,保护内皮细胞功能,抑制内皮细胞凋亡是药物防治心血管疾病研究热点之一。本研究采用过氧化氢(H_2O_2)体外诱导人脐静脉内皮细胞(HUVEC)凋亡,探讨TSG对氧化应激诱导的内皮细胞凋亡的影响及凋亡相关基因Caspase-3的表达,对深入了解TSG的药理作用机制具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 主要材料与试剂

HUVEC细胞株购自中国科学院细胞生物研究所上海细胞库,TSG为中国药品生物制品检定所产品(编号110844)。RPMI-1640培养基购自美国Gibco公司,胎牛血清购自杭州四季青公司,胰蛋白酶、MTT、DMSO购自Amresco公司,Hoechst33258购自碧云天生物技术研究,单克隆抗体Caspase-3购自CST公司,其余均为国产试剂(分析纯级)。

1.2 细胞培养及实验分组

细胞接种于无菌培养瓶中,用含10%胎牛血清的RPMI-1640培养基在37℃、5%CO₂、95%饱和湿度条件下培养。取处于对数生长期的内皮细胞,用MTT法、Hoechst33258染色和流式细胞术分别筛选不同浓度 H_2O_2 (100、200、300、400及500 μmol/L)和不同浓度TSG(0.1、1、10及100 μmol/L)对内皮细胞生长活性、形态及凋亡率的影响,确定 H_2O_2 诱导内皮细胞凋亡的浓度和最佳的药物浓度。研究基因表达的实验分组为:对照组; H_2O_2 组;TSG + H_2O_2 组,以10 μmol/L TSG预处理24 h,加 H_2O_2 300 μmol/L孵育24 h(结合MTT实验结果、细胞形态学观察、Hoechst33258染色和流式细胞术测定的细胞凋亡率,选择300 μmol/L H_2O_2 作为建立细胞凋亡的最适浓度,选择10 μmol/L TSG为药物作用浓度,见本研究结果部分)。

1.3 MTT法检测细胞活力

取80%满培养瓶培养的HUVEC,0.25%胰蛋白酶消化,以 5×10^7 个/L为接种密度、每孔200 μL接种在96孔培养板中。生长48 h,细胞融合度达到85%,弃掉原培养基,用PBS清洗2遍,弃PBS。无血清培养基同步12 h,用PBS缓冲液洗1~2遍,换新鲜培养液。不同浓度的 H_2O_2 组、TSG预处理组均设6个平行孔,在37℃、0.5%CO₂培养箱中培养24 h后,倾去培养液,用PBS缓冲液洗1~2遍,换新鲜培养液每孔150 μL,同时每孔加MTT 20 μL(5

g/L),培养4 h后弃上清,每孔加DMSO 150 μL,震荡15 min,在酶联免疫仪于490 nm波长处测定吸光度值。

1.4 Hoechst33258染色观察内皮细胞凋亡

取80%满培养瓶培养的HUVEC,0.25%胰蛋白酶消化,以 5×10^7 个/L为接种密度,500 μL接种到24孔板,生长48 h,细胞融合度达到85%,弃掉原培养基,用PBS清洗2遍。无血清培养基同步12 h,用PBS缓冲液洗1~2遍,换新鲜培养液。按上述实验分组,每组设3个平行孔,培养24 h,弃培养基,用PBS洗一遍,弃PBS,每孔加入0.5 mL 4%多聚甲醛4℃固定过夜,弃多聚甲醛,PBS洗3遍,每次10 min,弃PBS后,每孔加入10 mg/L Hoechst33258染液0.5 mL,染色30 min,在倒置荧光显微镜下拍照。

1.5 流式细胞仪检测细胞凋亡率

取80%满培养瓶培养的HUVEC,0.25%胰蛋白酶消化,以 5×10^7 个/L为接种密度,平均接种到培养瓶中,每瓶5 mL。生长48 h,细胞融合度达到85%,弃掉原培养基,用PBS清洗2遍,弃PBS。无血清培养基同步12 h,用PBS缓冲液洗1~2遍,换新鲜培养液。按上述实验分组,每组设3个平行组,在37℃、0.5%CO₂培养箱中培养24 h后,收集细胞,离心,用4℃ PBS洗1遍再离心,加入1 mL预冷的75%冰乙醇,吹匀放置4℃冰箱固定过夜,PI单染检测细胞凋亡。

1.6 RT-PCR检测Caspase-3 mRNA的表达

收集各组细胞,提取细胞总RNA,鉴定RNA完整性及纯度;按照MBI公司逆转录试剂盒合成cDNA第一链,PCR扩增各基因。NF-κB上游引物为5'-ATG GAA GCG AAT CAA TGG AC-3',下游引物为5'-TGG CTC AGA AGC ACA CAA AC-3',扩增片段为298 bp;GAPDH上游引物为5'-TGT CGC TGT TGA AGT CAG AG-3',下游引物为5'-TCA CCA TCT TCC AGG AGC GAG-3',扩增片段为648 bp。反应参数:95℃预变性4 min,95℃变性30 s,61℃退火30 s,72℃延伸1 min,30个循环后72℃延伸10 min,4℃保存。1.5%琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像系统拍照,并对各目的DNA条带扫描,以GAPDH为内参,分析Caspase-3 mRNA的相对表达。

1.7 免疫印迹法检测Caspase-3蛋白的表达

收集各组细胞,用细胞裂解液裂解细胞后提取细胞总蛋白,BCA法测定蛋白质含量。每组取60 μg蛋白进行SDS-PAGE电泳分离,转移到硝酸纤维素膜上,用含5%牛奶的封闭液封闭12 h,加入一抗

(兔抗人 Caspase-3 单克隆抗体, GAPDH 单克隆抗体, 1:1000), 4℃ 孵育过夜, TBST 缓冲液 (含 0.05% Tween20 的 TBS 缓冲液) 洗膜 10 min × 3 次, 以 1:5000 稀释 HRP 标记的二抗, 室温孵育 1 ~ 2 h, TBST 洗膜 3 次, 每次 15 min, 化学发光试剂显色, 胶片显影, 扫描胶片后用凝胶图像分析系统测光密度值。

1. 8 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析及 *t* 检验, 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2. 1 H₂O₂ 对内皮细胞的影响

2. 1. 1 H₂O₂ 对内皮细胞增殖的影响 以不同浓度的 H₂O₂ 处理细胞 24 h 后, MTT 结果显示, 随着 H₂O₂ 浓度增加, 细胞增殖率逐渐降低; 与对照组相比, 200、300、400 及 500 μmol/L H₂O₂ 处理后细胞增殖率显著降低 (*P* < 0.01; 表 1)。

表 1. H₂O₂ 对内皮细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 6)

Table 1. Effect of H₂O₂ on endothelial cell proliferation

分 组	吸光度值	增殖率
对照组	1. 666 ± 0. 131	100%
100 μmol/L H ₂ O ₂ 组	1. 513 ± 0. 157	89. 2%
200 μmol/L H ₂ O ₂ 组	1. 349 ± 0. 144 ^a	77. 6%
300 μmol/L H ₂ O ₂ 组	1. 158 ± 0. 105 ^a	64. 1%
400 μmol/L H ₂ O ₂ 组	0. 857 ± 0. 060 ^a	42. 9%
500 μmol/L H ₂ O ₂ 组	0. 683 ± 0. 071 ^a	30. 6%

a 为 *P* < 0.01, 与对照组比较。

表 2. H₂O₂ 对细胞凋亡率的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 3)

Table 2. Effect of H₂O₂ on the rate of apoptosis

分 组	G1	S	G2	细胞凋亡率
对照组	45. 1% ± 1. 2%	36. 6% ± 1. 1%	18. 3% ± 1. 1%	1. 9% ± 0. 01%
100 μmol/L H ₂ O ₂ 组	18. 9% ± 0. 9%	49. 4% ± 0. 9%	31. 7% ± 0. 4%	6. 3% ± 0. 03%
200 μmol/L H ₂ O ₂ 组	29. 4% ± 1. 0%	53. 8% ± 1. 4%	16. 8% ± 0. 5%	14. 9% ± 0. 2%
300 μmol/L H ₂ O ₂ 组	24. 8% ± 0. 8%	34. 8% ± 1. 3%	40. 5% ± 0. 9%	25. 3% ± 0. 3%
400 μmol/L H ₂ O ₂ 组	16. 0% ± 0. 7%	46. 8% ± 1. 0%	37. 2% ± 1. 2%	28. 8% ± 0. 6%
500 μmol/L H ₂ O ₂ 组	34. 7% ± 0. 9%	49. 0% ± 1. 3%	16. 3% ± 0. 7%	33. 0% ± 1. 1%

2. 2 TSG 对 H₂O₂ 诱导内皮细胞凋亡的影响

2. 2. 1 MTT 法检测细胞活力 0. 1、1、10 及 100 μmol/L TSG 预处理细胞 24 h 后, 加入 300 μmol/L H₂O₂ 作用 24 h, 与对照组比较, 各组细胞活力显著下降 (*P* < 0.01); TSG 预处理后细胞活力呈剂量依

2. 1. 2 Hoechst33258 染色观察细胞凋亡 不同浓度的 H₂O₂ 处理细胞 24 h 后, 显微镜下观察到随着 H₂O₂ 浓度的增加, 细胞数量减少, 细胞坏死和皱缩增多, 并且在 400 和 500 μmol/L H₂O₂ 组能够明显看到细胞碎片。经 Hoechst33258 染色后, 正常细胞的细胞核蓝染, 而凋亡细胞的细胞核致密浓染、核固缩, 颜色发白甚至呈亮白色, 且随着 H₂O₂ 浓度的增加, 出现核固缩的细胞增多, 尤其在 300 μmol/L 组凋亡的细胞核固缩明显 (图 1)。

2. 1. 3 流式细胞术检测细胞凋亡率 流式细胞术检测结果显示, 随着 H₂O₂ 浓度的升高, 细胞凋亡率增加。从细胞周期图分析, 300 μmol/L 组 G2/M 期阻滞明显高于对照组和其他浓度的 H₂O₂ 组 (表 2)。

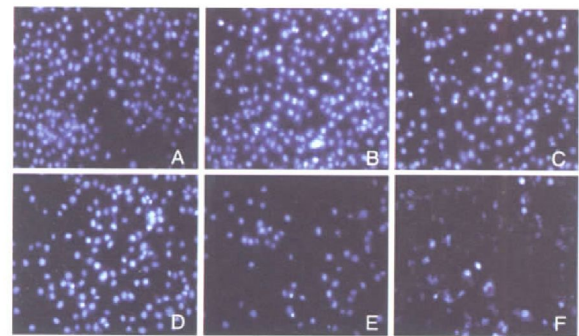


图 1. H₂O₂ 对 HUVEC 的影响 (Hoechst33258 染色, ×200)

A 为对照组, B 为 100 μmol/L H₂O₂ 组, C 为 200 μmol/L H₂O₂ 组, D 为 300 μmol/L H₂O₂ 组, E 为 400 μmol/L H₂O₂ 组, F 为 500 μmol/L H₂O₂ 组。

Figure 1. Effect of H₂O₂ on HUVEC

赖性增加, 其中 10 μmol/L 及 100 μmol/L TSG 组细胞活力高于 H₂O₂ 组 (*P* < 0.05; 图 2)。

2. 2. 2 Hoechst33258 染色观察细胞凋亡 细胞发生凋亡时, 会出现染色质浓缩。经 Hoechst33258 染色后, 在荧光显微镜下观察到正常细胞的细胞核

蓝染,而发生凋亡的细胞核染色质致密浓染、边缘化,有的呈碎块状,颜色发白甚至呈亮白色。在过氧化氢组、0.1 $\mu\text{mol/L}$ TSG 组均可见大量的核固缩凋亡细胞,随着 TSG 浓度增加,出现核固缩的细胞数量逐渐减少,表明 TSG 能够抑制 H_2O_2 所致的内皮细胞凋亡,具有抗凋亡作用(图3)。

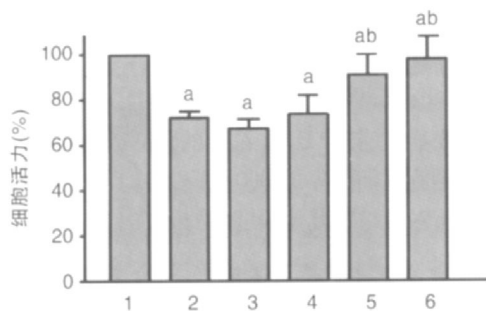


图2. TSG 对 H_2O_2 诱导的细胞活力的影响 1 为对照组,2 为 300 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 组,3 为 0.1 $\mu\text{mol/L}$ TSG + H_2O_2 组,4 为 1 $\mu\text{mol/L}$ TSG + H_2O_2 组,5 为 10 $\mu\text{mol/L}$ TSG + H_2O_2 组,6 为 100 $\mu\text{mol/L}$ TSG + H_2O_2 组。a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 H_2O_2 组比较。

Figure 2. Effect of TSG on cell viability induced by H_2O_2

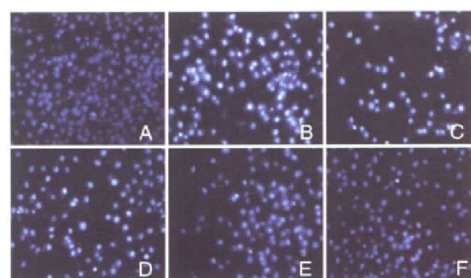


图3. TSG 对 H_2O_2 诱导内皮细胞凋亡的影响 (Hoechst33258 染色, $\times 200$) A 为对照组, B 为 300 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 组, C 为 0.1 $\mu\text{mol/L}$ TSG + H_2O_2 组, D 为 1 $\mu\text{mol/L}$ TSG + H_2O_2 组, E 为 10 $\mu\text{mol/L}$ TSG + H_2O_2 组, F 为 100 $\mu\text{mol/L}$ TSG + H_2O_2 组。

Figure 3. Effect of TSG on cell apoptosis induced by H_2O_2

2.2.3 流式检测细胞凋亡率 对照组凋亡峰不明显,凋亡率为 $2.51\% \pm 0.2\%$; H_2O_2 组呈现明显的凋亡峰,凋亡率为 $22.76\% \pm 4.76\%$;经不同浓度的 TSG 作用后,各组内皮细胞凋亡率均较 H_2O_2 组降低,凋亡率分别为 $15.00\% \pm 2.35\%$ 、 $18.33\% \pm 2.60\%$ 、 $16.16\% \pm 1.96\%$ 及 $12.43\% \pm 1.37\%$, 0.1、10 及 100 $\mu\text{mol/L}$ TSG 组与 H_2O_2 组相比均有统计学差异 ($P < 0.01$; 图4)。

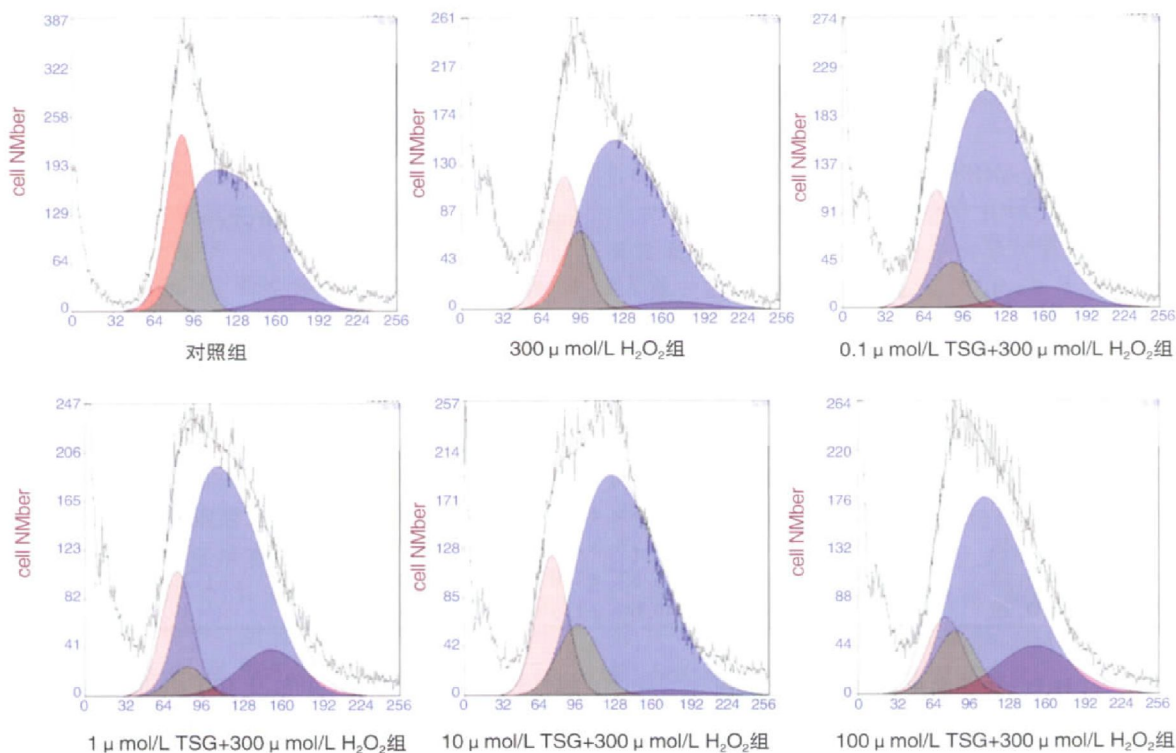


图4. TSG 对 H_2O_2 诱导的内皮细胞凋亡的影响

Figure 4. Effect of TSG on cell apoptosis induced by H_2O_2

2.3 TSG 对 H_2O_2 诱导的内皮细胞 Caspase-3 表达的影响

H_2O_2 处理内皮细胞 24 h 后, Caspase-3 mRNA 及蛋白水平的表达均较对照组显著增加; 经 TSG 预处理后, 显著抑制 H_2O_2 诱导的 Caspase-3 激活, mRNA 及蛋白水平表达下降 ($P < 0.01$; 图 5)。

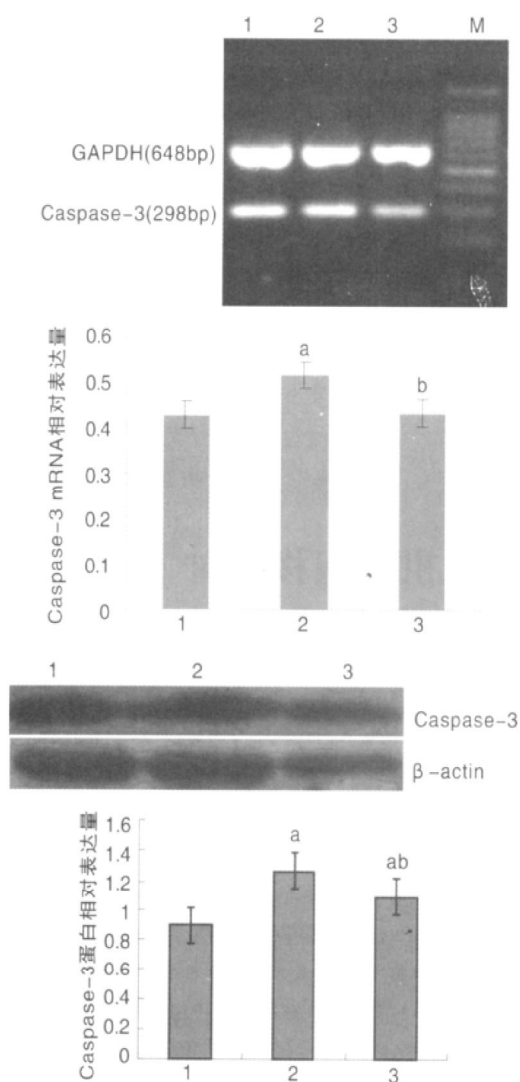


图 5. TSG 对内皮细胞 Caspase-3 表达的影响 M 为分子量标准, 1 为对照组, 2 为 H_2O_2 组, 3 为 $10 \mu\text{mol/L}$ TSG + H_2O_2 组。a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 H_2O_2 组比较。

Figure 5. Effect of TSG on the expression of Caspase-3 in endothelial cell

3 讨论

血管内皮细胞是构成血管内膜的结构和功能屏障, 对各种刺激的敏感性较高, 容易受到损伤。受损后的血管内皮细胞功能失调, 是多种心血管疾病的

共同病理生理学基础, 随着分子心血管病的深入研究, 越来越多的资料研究表明血管内皮细胞凋亡参与了动脉粥样硬化的发生、发展, 甚至认为内皮细胞凋亡是动脉粥样硬化病变的主要特征^[9,10]。因此, 保护内皮细胞功能, 抑制内皮细胞凋亡是防治心血管疾病的关键。

H_2O_2 是一类活性氧, 能直接氧化内皮细胞膜上的脂质和蛋白, 并穿过细胞膜对细胞产生氧化损伤, 诱发一系列损伤后反应, 包括引起内皮细胞发生凋亡^[11,12]。本研究选择 H_2O_2 作用 HUVEC, 结果发现, 能显著抑制细胞的增殖并诱导细胞凋亡, 随着浓度增加, 使细胞增殖率逐渐降低, 凋亡率逐渐增加, $300 \mu\text{mol/L}$ H_2O_2 作用 24 h 能稳定造模凋亡。二苯乙烯苷的预作用可显著抑制 H_2O_2 诱导的氧化损伤, 并呈现剂量依赖性的增加内皮细胞的活性, 抑制细胞凋亡。

在细胞凋亡信号转导途径中, Caspase 半胱氨酸蛋白酶家族起着关键性的作用, 其中 Caspase-3 是凋亡级联通路中的效应分子, 是凋亡的执行者。Caspase-3 激活后作用于相应的凋亡底物, 引起细胞凋亡^[13-15]。本研究中, $300 \mu\text{mol/L}$ H_2O_2 作用内皮细胞后, Caspase-3 基因表达显著增高, 经 TSG 预处理后, Caspase-3 表达量减少, 表明 TSG 抗氧化诱导内皮细胞凋亡的作用与降低 Caspase-3 的表达有关, TSG 抑制了 Caspase-3 的表达, 减少激活的 Caspase-3 对其特异性底物进行降解, 最终减少细胞 DNA 的裂解而减少细胞凋亡。

内皮细胞的凋亡是多环节、多通路相互联系的复杂调控系统, TSG 究竟是通过何种环节和方式抗内皮细胞凋亡还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 王春英, 张兰桐. 何首乌中有效成分二苯乙烯苷的研究进展 [J]. 河北医科大学学报, 2008, 29(1): 157-160.
- [2] Zhang W, Wang YQ, Li F, et al. Effects of 2,3,4',5-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside on expression of ICAM-1, VCAM-1 and VEGF in atherosclerotic rats [J]. Clin Pharm acol Bull, 2007, 23(12): 1 630-635.
- [3] Lv LS, Gu XH, Tang J, et al. Antioxidant activity of stilbene glycosides from poygonum multiflorum [J]. Food Chemistry, 2007, 104(4): 1 678-681.
- [4] 崔慧辉, 田英, 龙石银. 二苯乙烯苷抗动脉粥样硬化的作用和机制 [J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(20): 3 968-971.
- [5] 龙石银, 崔慧辉, 张彩平, 等. 二苯乙烯苷对 H_2O_2 诱导人脐静脉内皮细胞核因子 κ B、肿瘤坏死因子 α 表达的影

- 响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18(7): 510-513.
- [6] Bonomini F, Tengattini S, Fabian A, et al. Atherosclerosis and oxidative stress [J]. *Histol Histopathol*, 2008, 23(3): 381-390.
- [7] 陈 璠, 周 玫. 氧化应激-炎症在动脉粥样硬化发生发展中作用研究的新进展 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2008, 16(10): 757-762.
- [8] Liu QL, Xiao JH, Ma R, et al. Effect of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-beta-D-glucoside on lipoprotein oxidation and proliferation of coronary arterial smooth cells [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2007, 9(8): 689-697.
- [9] Sima AV, Stancu CS, Simionescu M. Vascular endothelium in atherosclerosis [J]. *Cell Tissue Res*, 2009, 335(1): 191-203.
- [10] Noonan DM, Vannini N, Pfeffer U, et al. Endothelial cell aging and apoptosis in prevention and disease: E selectin expression and modulation as a model [J]. *Curr Pharm Des*, 2008, 14(3): 221-225.
- [11] Siu PM, Wang Y, Alway SE. Apoptotic signaling induced by H_2O_2 -mediated oxidative stress in differentiated C2C12 myotubes [J]. *Life Sci*, 2009, 84(13-14): 468-481.
- [12] Wang YK, Hong YJ, Wei M, et al. Curculigoside attenuates human umbilical vein endothelial cell injury induced by H_2O_2 [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 132(1): 233-239.
- [13] J Park S, Kim JA, Choi S, et al. Superoxide is a potential culprit of caspase-3 dependent endothelial cell death induced by lysophosphatidylcholine [J]. *Physiol Pharmacol*, 2010, 61(4): 375-381.
- [14] Lamkanfi M, Festjens N, Declercq W, et al. Caspases in cell survival, proliferation and differentiation [J]. *Cell Death Differ*, 2007, 14(1): 44-55.
- [15] Song J, Liu K, Yi J, et al. Luteolin inhibits lysophosphatidylcholine-induced apoptosis in endothelial cells by a calcium/mitochondrion/caspases-dependent pathway [J]. *Planta Med*, 2010, 76(5): 433-438.
- (此文编辑 文玉珊)