

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2011)19-07-0578-05

血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 基因沉默抑制人脐静脉内皮细胞表达分形趋化因子和单核细胞趋化蛋白 1

张社兵^{1,2}, 姜德谦², 欧柏青², 刘虹², 张小炼², 徐新¹, 马绍椿¹, 唐良秋¹

(1. 广东省粤北人民医院心内科, 广东省韶关市 512026; 2. 中南大学湘雅二医院心内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 人脐静脉内皮细胞; RNA 干扰; 氧化型低密度脂蛋白; 血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1; 分形趋化因子; 单核细胞趋化蛋白 1

[摘要] 目的 探讨血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 基因沉默后能否抑制氧化型低密度脂蛋白诱导的分形趋化因子和单核细胞趋化蛋白 1 的表达。方法 分别用不同浓度的氧化型低密度脂蛋白与人脐静脉内皮细胞共孵育, 及预先对人脐静脉内皮细胞转染 pGenesil-1 LOX-1 shRNA 后再用氧化型低密度脂蛋白刺激, 半定量 RT-PCR、Western blot 及酶联免疫吸附法检测血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1、分形趋化因子和单核细胞趋化蛋白 1 的 mRNA 和蛋白表达。结果 氧化型低密度脂蛋白能呈浓度依赖性诱导血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1、分形趋化因子和单核细胞趋化蛋白 1 的 mRNA 和蛋白表达 ($P < 0.01$)。用 RNA 干扰抑制血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 的表达后, 显著抑制了氧化型低密度脂蛋白诱导的分形趋化因子和单核细胞趋化蛋白 1 的 mRNA 和蛋白表达 ($P < 0.01$)。结论 氧化型低密度脂蛋白能呈浓度依赖性诱导人脐静脉内皮细胞中分形趋化因子和单核细胞趋化蛋白 1 表达; 这种诱导作用可以被血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 基因沉默抑制。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Lectin-Like Oxidized-LDL Receptor-1 Gene Silence Suppressed Expression of Fractalkine and Monocyte Chemoattractant Protein-1 Induced By Oxidized Low-Density Lipoprotein in Human Umbilical Vein Endothelial Cells

ZHANG She-Bing^{1,2}, JIANG De-Qian², OU Bai-Qing², LIU Hong², ZHANG Xiao-Lian², XU Xin¹, MA Shao-Chun¹, and TANG Liang-Qiu¹

(1. Department of Cardiology, Yuebei People's Hospital, Shaoguan, Guangdong 512026; 2. Department of Cardiology, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, Hunan 410011, China)

[KEY WORDS] Human Umbilical Vein Endothelial Cells; RNA Interference; Oxidized Low Density Lipoprotein; Lectin-Like Oxidized Low Density Lipoprotein Receptor-1; Fractalkine; Monocyte Chemoattractant Protein-1

[ABSTRACT] **Aim** To observe effect of lectin-like oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) receptor-1 (LOX-1) gene silence on the expressions of fractalkine and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) induced by ox-LDL in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). **Methods** HUVEC were cultured and treated with ox-LDL of three different concentrations (25, 50, 100 mg/L respectively) for 24 hours; pGenesil-1 LOX-1 shRNA were transfected into HUVEC and then cells were treated with ox-LDL (50 mg/L). mRNA and protein expressions of LOX-1, fractalkine and MCP-1 were determined by semi-quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR), Western Blot analysis and enzyme linked immunosorbent assay. **Results** Ox-LDL could induce mRNA and protein expressions of LOX-1, fractalkine and MCP-1 in a dose-dependent manner ($P < 0.01$). Expressions of fractalkine and MCP-1 induced by ox-LDL (50 mg/L) were significantly suppressed by transfection with LOX-1 specific shRNA ($P < 0.01$). **Conclusions** Ox-LDL can induce expressions of fractalkine and MCP-1 in a dose-dependent manner in HUVEC, and this process can be suppressed by LOX-1 gene silence.

[收稿日期] 2011-03-04

[作者简介] 张社兵, 博士, 副主任医师, 研究方向为动脉粥样硬化及冠心病, E-mail 为 zhangshebing618@163.com。通讯作者 姜德谦, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化及冠心病。欧柏青, 博士, 主任医师, 研究方向为冠心病心律失常。

在动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 的发生发展过程中,循环单核细胞趋化、聚集、黏附到血管内皮是动脉粥样硬化的最早期事件,由血管内皮细胞产生的趋化因子和黏附分子在介导循环单核细胞趋化、聚集、黏附到血管内皮的过程中起至关重要的作用。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,可通过多种机制参与动脉粥样硬化的形成。血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 (lectin-like oxidized-LDL receptor-1, LOX-1) 是血管内皮细胞上 ox-LDL 的主要受体,ox-LDL 能够通过与其结合诱导内皮细胞表达黏附分子和趋化因子,募集单核细胞向血管内皮黏附。RNA 干扰是一种特异性的基因沉默技术,是将外源或内源性的双链 RNA (double strand RNA, dsRNA) 导入细胞而引起的与 dsRNA 同源的 mRNA 降解,进而抑制其相应的基因表达的技术,具有高度的序列特异性、高效性、长效性等优点,已成为基因功能研究和基因治疗研究的重要工具。分形趋化因子 Fractalkine 是一种能趋化单核细胞的新发现的趋化因子,ox-LDL 能否诱导和上调内皮细胞 Fractalkine 的表达尚不清楚,本研究旨在探讨 RNA 干扰抑制 LOX-1 后能否对血管内皮细胞趋化因子表达产生影响。

1 材料和方法

1.1 主要材料

人脐静脉内皮细胞株 (HUVEC) (美国 ATCC) (CRL-1730); RPMI1640 培养基 (GIBCO); 新生小牛血清 (中南大学湘雅中心实验室); ox-LDL (北京协和三友公司); pGenesil-1 载体 (武汉市晶赛生物工程有限公司); Lipofectamine™ 2000 和 Opti-MEM I 无血清培养基 (Invitrogen Corporation); Trizol (分子研究中心, Inc); RT 试剂盒 (Fermentas); 羊抗人 LOX-1 单克隆抗体 (R & D systems, Inc); 兔抗人 CX3CL1 多克隆抗体 (eBioscience); MCP-1 ELISA 试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司); Western-IP 细胞裂解液、台盼蓝染色细胞存活率检测试剂盒、细胞核蛋白与浆蛋白抽提试剂盒及 BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (江苏碧云天生物技术研究); 内参抗体 (兔抗人 β -actin) (Chemicon); 生物素标记二抗 (羊抗兔 IgG) (KPL 公司); TaKaRa Taq™ Hot start version 及 DNA Ladder Marker (大连宝生物工程有限公司); 引物由北京奥科生物技术有限责任公司设计与合成。

1.2 发卡样 LOX-1 基因的 siRNA (LOX-1 shRNA) 的设计和合成

根据 GeneBank 提供的 LOX-1 基因序列 (OLR1:NM_002543), 参考 siRNA 的设计策略, 通过 Blast 挑选长为 19 个碱基的特异性寡核苷酸序列 5'-GCA TGC AAT TAT CCC AGG T-3'; 另外, 阴性对照 (HK) 特异性寡核苷酸序列为 5'-GACTTCATAAG-GCGCATGC-3'。然后按照文献 [1] 方法构建 pGenesil-1 LOX-1 shRNA。

1.3 人脐静脉内皮细胞的培养

HUVEC 用含 10% 小牛血清的 RPMI1640 完全培养基 (含 10 mmol/L 的 HEPES, 2 mmol/L 谷氨酰胺, 1.5 g/L 碳酸氢钠, 10% 小牛血清), 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养, 隔天换液, 生长至 85% 汇合时接种于 6 孔板, 接种密度为 1×10^6 /孔。台盼蓝染色检测细胞活力大于 90%。待细胞贴壁生长占孔板底面积约 50% 满后, 随机分组用于实验, 每组重复 3 孔。

1.4 氧化型低密度脂蛋白刺激实验

低、中、高剂量 ox-LDL (丙二醛含量为 75 nmol/L) 组为 HUVEC 中分别加入 25 mg/L、50 mg/L、100 mg/L 的 ox-LDL, 共同孵育 24 h 后留取上清用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定 MCP-1 含量, 收集细胞用于提取总 RNA 及细胞蛋白。对照组 HUVEC 中除不加 ox-LDL 外其余条件同 ox-LDL 组。

1.5 阳性克隆质粒转染和氧化型低密度脂蛋白刺激

采用脂质体转染法, 具体操作步骤见试剂说明书。转染 8 h 后, 吸去细胞上清, 每孔加 2 mL RPMI1640 完全培养基。37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 48 h, 荧光显微镜下观察转染效果。吸去细胞上清, 每孔加含 G418 300 mg/L 的完全培养基 2 mL, 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 4 周后随机分为对照组、HUVEC + 50 mg/L ox-LDL 组 (ox-LDL 组)、HUVEC + pGenesil-1 LOX-1 shRNA1 + 50 mg/L ox-LDL 组 (阳性质粒组)、HUVEC + pGenesil-1 HK + 50 mg/L ox-LDL 组 (阴性质粒组)。

1.6 逆转录聚合酶链反应

收集细胞, 提取细胞总 RNA, 经紫外分光光度仪 (Beckman DU-640) 测定 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值在 1.8 ~ 2.0, RT-PCR 检测 LOX-1、MCP-1 和 Fractalkine 的 mRNA 表达, RT-PCR 操作按试剂盒说明书进行。RT 反应条件为 70℃ 5 min, 25℃ 5 min, 25℃ 10 min, 42℃ 60 min, 70℃ 10 min。根据引物设计的原理和要求, 设计的引物为: ①人 LOX-1 上游引物 5'-

TTA CTC TCC ATG GTG GTG CC-3', 下游引物 5'-AGC TTC TTC TGC TTG TTG CC-3', PCR 扩增片长 193 bp。②人 Fractalkine 上游引物 5'-ACT CTT GCC CAC CCT CAG C-3', 下游引物 5'-TGG AGA CGG GAG GCA CTC-3', PCR 扩增片长 597 bp。③人 MCP-1 上游引物 5'-CAT AGC AGC CAC CTT CAT TCC-3', 下游引物 5'-GAG TTT GGG TTT GCT TGT CCA-3', PCR 扩增片长 254 bp。④内参 GAPDH 上游引物 5'-TCG GAG TCA ACG GAT TTG GTC GTA-3', 下游引物 5'-ATG GAC TGT GGT CAT GAG TCC TTC-3', PCR 扩增片长 521 bp。引物由北京奥科生物技术有限责任公司合成。PCR 反应条件: 人 LOX-1 94℃ 变性 30 s, 56℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 30 个循环, 最后 72℃ 延伸 5 min; 人 Fractalkine 94℃ 变性 30 s, 56℃ 退火 30s, 72℃ 延伸 1 min, 30 个循环, 最后 72℃ 延伸 5 min; 人 MCP-1 94℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 60 s, 30 个循环, 最后 72℃ 延伸 7 min。用 Gel Doc2000 成像系统扫描, Queantity One 4.03 分析软件对琼脂糖凝胶电泳结果进行半定量分析。

1.7 Western Blot 法检测蛋白表达

收集细胞, 提取膜蛋白, BCA 法测定蛋白浓度。取适量蛋白浓度的样品, 加 6 × SDS 蛋白电泳加样缓冲液, 100℃ 加热 5 min, 再分别行 SDS-PAGE 电泳, 转膜, 封闭, 加一抗, 洗膜, 加内参抗体, 洗膜, 加二抗, 再洗膜, 加 LumiGLO 化学发光底物进行化学发光显色, 拍照, 成像分析仪下用 BandsScan 图像分析软件分析结果。

1.8 统计学分析

所有实验数据输入 SPSS 13.0 统计软件包进行统计分析, 对计量资料进行正态分布检验。实验数据来自三次重复的实验, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 one-way ANOVA 分析进行组间比较, 两两比较用 LSD 法, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度 ox-LDL 刺激对 LOX-1、Fractalkine 和 MCP-1 mRNA 表达的影响

分别用 25、50 和 100 mg/L 的 ox-LDL 刺激 HUVEC 后, LOX-1、Fractalkine 和 MCP-1 的 mRNA 表达呈浓度依赖性上调 ($P < 0.01$), 且低、中、高剂量 ox-LDL 组间差异亦有显著性 ($P < 0.01$; 图 1 和表 1)。

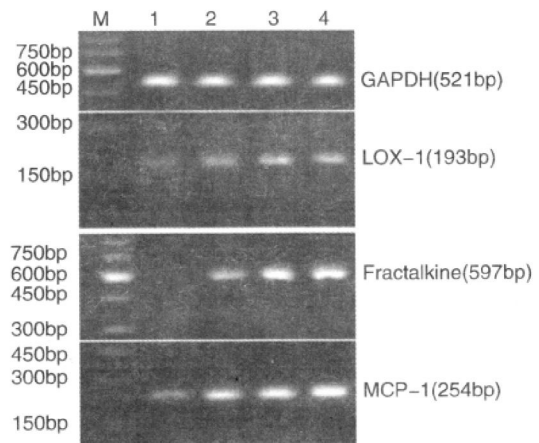


图 1. ox-LDL 刺激对 LOX-1、Fractalkine 和 MCP-1 mRNA 表达的影响 M 为 Marker, 1 为对照组, 2~4 依次为低、中、高剂量 ox-LDL 组。

Figure 1. Effect of ox-LDL on mRNA expression of LOX-1, fractalkine and MCP-1

表 1. ox-LDL 刺激对 LOX-1、Fractalkine 和 MCP-1 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Effect of ox-LDL on mRNA expression of LOX-1, fractalkine and MCP-1

分 组	LOX-1	Fractalkine	MCP-1
对照组	0.194 ± 0.009	0.096 ± 0.010	0.229 ± 0.018
低剂量 ox-LDL 组	0.383 ± 0.018 ^a	0.631 ± 0.122 ^a	0.661 ± 0.029 ^a
中剂量 ox-LDL 组	0.666 ± 0.018 ^{ab}	0.943 ± 0.159 ^{ab}	0.952 ± 0.062 ^{ab}
高剂量 ox-LDL 组	0.892 ± 0.011 ^{abc}	1.284 ± 0.057 ^{abc}	1.183 ± 0.050 ^{abc}

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与低剂量 ox-LDL 组比较; c 为 $P < 0.01$, 与中剂量 ox-LDL 组比较。

2.2 不同浓度 ox-LDL 刺激对 LOX-1 和 Fractalkine 蛋白表达及细胞上清中 MCP-1 含量的影响

用不同浓度 ox-LDL 刺激后, LOX-1 和 Fractalkine 蛋白的表达呈浓度依赖性上调 ($P < 0.01$)。且不同浓度 ox-LDL 组间差异亦有显著性 ($P < 0.01$); ox-LDL 刺激 HUVEC 后细胞上清中 MCP-1 的含量显著增高 ($P < 0.01$), 不同浓度 ox-LDL 组间差异亦有显著性 ($P < 0.01$; 图 2 和表 2)。

表 2. 不同浓度 ox-LDL 刺激后 LOX-1 和 Fractalkine 蛋白表达量及细胞上清中 MCP-1 含量 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2. Effect of ox-LDL on protein expression of LOX-1, fractalkine, and concent of MCP-1

分 组	LOX-1	Fractalkine	MCP-1 (ng/L)
对照组	0.195 ± 0.023	0.024 ± 0.007	64.658 ± 9.110
低剂量 ox-LDL 组	0.591 ± 0.008 ^a	0.309 ± 0.015 ^a	131.843 ± 16.934 ^a
中剂量 ox-LDL 组	0.704 ± 0.012 ^{ab}	0.559 ± 0.017 ^{ab}	212.385 ± 20.525 ^{ab}
高剂量 ox-LDL 组	0.825 ± 0.018 ^{abc}	0.764 ± 0.010 ^{abc}	245.900 ± 20.775 ^{abc}

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与低剂量 ox-LDL 组比较; c 为 $P < 0.01$, 与中剂量 ox-LDL 组比较。

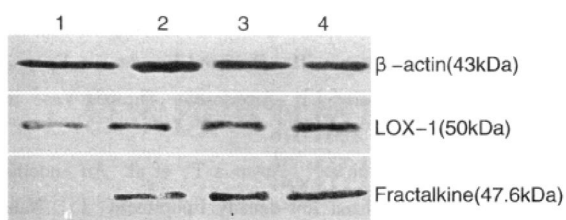


图 2. 不同浓度 ox-LDL 刺激对 LOX-1 和 Fractalkine 蛋白表达的影响 1 为对照组, 2~4 依次为低、中、高剂量 ox-LDL 组。

Figure 2. Effect of ox-LDL on protein expression of LOX-1, fractalkine

2.3 LOX-1 基因 RNA 干扰对 LOX-1、Fractalkine 和 MCP-1 mRNA 表达的影响

转染 pGenesil-1 LOX-1 shRNA1 质粒抑制 LOX-1 基因后, HUVEC 的 LOX-1、Fractalkine 和 MCP-1 mRNA 表达下调 ($P < 0.01$; 图 3 和表 3)。

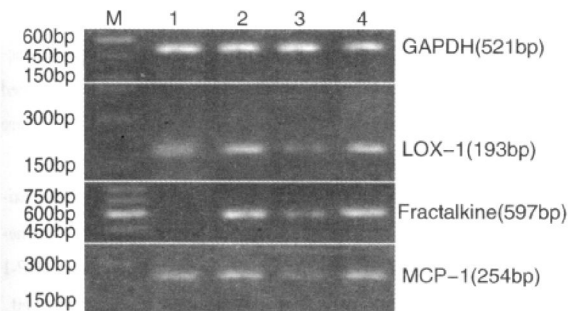


图 3. LOX-1 基因 RNA 干扰对 LOX-1、Fractalkine 和 MCP-1 mRNA 表达的影响 M 为 Marker, 1 为对照组, 2 为 ox-LDL 组, 3 为阳性质粒组, 4 为阴性质粒组。

Figure 3. Effect of LOX-1 gene silencing on mRNA expression of LOX-1, fractalkine and MCP-1

表 3. LOX-1 基因 RNA 干扰对 LOX-1、Fractalkine 和 MCP-1 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3. Effect of LOX-1 gene silencing on mRNA expression of LOX-1, fractalkine and MCP-1

分组	LOX-1	Fractalkine	MCP-1
对照组	0.205 ± 0.011	0.104 ± 0.009	0.243 ± 0.021
ox-LDL 组	0.711 ± 0.024 ^a	1.012 ± 0.173 ^a	0.968 ± 0.053 ^a
阳性质粒组	0.068 ± 0.010 ^{ab}	0.224 ± 0.025 ^{ab}	0.286 ± 0.016 ^b
阴性质粒组	0.704 ± 0.015 ^a	0.969 ± 0.054 ^a	1.013 ± 0.077 ^a

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

2.4 LOX-1 基因 RNA 干扰对 LOX-1、Fractalkine 蛋白表达及细胞上清中 MCP-1 含量的影响

转染 pGenesil-1 LOX-1 shRNA1 质粒抑制 LOX-1 基因后, HUVEC 的 LOX-1 和 Fractalkine 蛋白表达

下调 ($P < 0.01$), 细胞上清中 MCP-1 含量显著降低 ($P < 0.01$; 图 4 和表 4)。

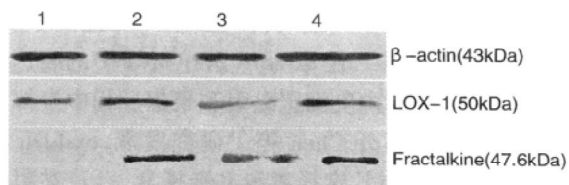


图 4. LOX-1 基因 RNA 干扰对 LOX-1 和 Fractalkine 蛋白表达的影响 1 为对照组, 2 为 ox-LDL 组, 3 为阳性质粒组, 4 为阴性质粒组。

Figure 4. Effect of LOX-1 gene silencing on protein expression of LOX-1 and fractalkine

表 4. LOX-1 基因 RNA 干扰对 LOX-1、Fractalkine 蛋白表达及细胞上清中 MCP-1 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4. Effect of LOX-1 gene silencing on protein expression of LOX-1, fractalkine, and content of MCP-1

分组	LOX-1	Fractalkine	MCP-1 (ng/L)
对照组	0.219 ± 0.016	0.016 ± 0.004	65.675 ± 9.981
ox-LDL 组	0.701 ± 0.017 ^a	0.557 ± 0.027 ^a	197.228 ± 17.977 ^a
阳性质粒组	0.072 ± 0.017 ^{ab}	0.181 ± 0.019 ^{ab}	92.478 ± 16.219 ^{ab}
阴性质粒组	0.675 ± 0.009 ^a	0.538 ± 0.011 ^a	206.568 ± 18.079 ^a

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

3 讨论

大量研究表明, ox-LDL 在致 As 的病理过程中起关键的作用^[2,3]。ox-LDL 可以通过多种机制促进 As 的发生和发展: 被巨噬细胞的清道夫受体摄入后形成泡沫细胞; 损害血管内皮功能; 参与血管壁的炎症和免疫反应等。LOX-1 是内皮细胞上 ox-LDL 的主要受体^[4], ox-LDL 被其受体识别、结合后引起随后的一系列细胞反应参与 As 的发生和发展过程。有研究表明, ox-LDL 能促进单核细胞向血管内皮募集, 这个过程与 ox-LDL 上调内皮细胞表达趋化因子和黏附分子有关^[5]。Fractalkine 是趋化因子中迄今发现的 CX3C 亚家族中唯一的成员^[6], 近年来研究表明, Fractalkine 与 As 的病理生理过程密切相关^[7]。本研究结果显示, 用 25、50 和 100 mg/L ox-LDL 刺激培养的 HUVEC, 可以浓度依赖性上调趋化因子 MCP-1 和 Fractalkine 的基因和蛋白表达, 提示 ox-LDL 可以通过诱导趋化因子 Fractalkine 参与 As 的病理生理过程。

既往研究表明, 将人冠状动脉内皮细胞与 ox-

LDL 共同培养 24 h 后 MCP-1 在基因和蛋白水平表达都增加,同时单核细胞向内皮细胞的黏附增加,但如果预先加入反义 LOX-1 则可抑制上述过程,而正义 LOX-1 mRNA 则无此作用,这提示 ox-LDL 的受体 LOX-1 在 ox-LDL 诱导 MCP-1 的表达和促进单核细胞向内皮细胞黏附和聚集过程中发挥了重要作用^[5]。另外 Chen 等^[8] 研究发现,ox-LDL 能通过 LOX-1 上调 E 选择素和 P 选择素,以及黏附分子包括血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、细胞间黏附分子 1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1) 的表达,因为用反义 LOX-1 能抑制 LOX-1 和黏附分子的表达。LOX-1 本身亦作为一种黏附分子可募集单个核的白细胞^[9]。本研究结果也显示,ox-LDL 在上调趋化因子 MCP-1 和 Fractalkine 基因和蛋白表达的同时亦上调了 LOX-1 基因和蛋白的表达,采用 RNA 干扰技术抑制 LOX-1 表达同时,也抑制了 ox-LDL 对 HUVEC 中 MCP-1 和 Fractalkine 基因和蛋白的上调作用,说明 LOX-1 在 ox-LDL 诱导趋化因子 Fractalkine 表达过程中起着重要的作用。

[参考文献]

- [1] 张社兵,姜德谦,欧柏青,等. 靶向血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 基因的发卡样 siRNA 表达载体的构建及其效应 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, 15 (11): 827-830.
- [2] Kita T, Kume N, Minami M, et al. Role of oxidized LDL in atherosclerosis [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2001, 947: 199-205.
- [3] Steinberg D, Witztum JL. Oxidized low-density lipoprotein and atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30 (12): 2 311-316.
- [4] Sawamura T, Kume N, Aoyama T, et al. An endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein [J]. *Nature*, 1997, 386 (6620): 73-77.
- [5] Li D, Mehta JL. Antisense to LOX-1 inhibits oxidized LDL-mediated upregulation of monocyte chemoattractant protein-1 and monocyte adhesion to human coronary artery endothelial cells [J]. *Circulation*, 2000, 101 (25): 2 889-895.
- [6] Bazan JF, Bacon KB, Hardiman G, et al. A new class of membrane-bound chemokine with a CX3C motif [J]. *Nature*, 1997, 385 (6617): 640-644.
- [7] Schäfer A, Bauersachs J. Endothelial dysfunction, impaired endogenous platelet inhibition and platelet activation in diabetes and atherosclerosis [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2008, 6 (1): 52-60.
- [8] Chen H, Li D, Saldeen T, et al. Transforming growth factor-beta (1) modulates oxidatively modified LDL-induced expression of adhesion molecules: role of LOX-1 [J]. *Circ Res*, 2001, 89 (12): 1 155-160.
- [9] Hayashida K, Kume N, Minami M, et al. Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) supports adhesion of mononuclear leukocytes and a monocyte-like cell line THP-1 cells under static and flow conditions [J]. *FEBS Lett*, 2002, 511 (1-3): 133-138.

(此文编辑 许雪梅)