

# 阿托伐他汀对脂多糖诱导的人脐静脉内皮细胞 Toll 样受体 4 及炎症因子表达的影响

姜 华, 姜玉姬

(延边大学附属医院, 吉林省延吉市 133000)

[关键词] 阿托伐他汀; Toll 样受体 4; 髓样分化因子 88; 血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1; 动脉粥样硬化

[摘要] **目的** 研究阿托伐他汀对脂多糖诱导的人脐静脉内皮细胞 Toll 样受体 4 及血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1、肿瘤坏死因子  $\alpha$  及细胞间黏附分子表达的影响,探讨阿托伐他汀对炎症性疾病的影响及防治动脉粥样硬化的机制。**方法** 体外培养人脐静脉内皮细胞,用脂多糖刺激人脐静脉内皮细胞 2 h 后,加入阿托伐他汀干预 24 h,收集细胞,荧光定量 PCR 法测定 Toll 样受体 4、髓样分化因子 88、肿瘤坏死因子受体相关因子 6、血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1、肿瘤坏死因子  $\alpha$  及细胞间黏附分子 1 的 mRNA 表达;Western Blotting 法测定其蛋白表达。**结果** 用脂多糖刺激人脐静脉内皮细胞后,引起 Toll 样受体 4、髓样分化因子 88、肿瘤坏死因子受体相关因子 6、血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1、肿瘤坏死因子  $\alpha$  及细胞间黏附分子 1 的高表达( $P < 0.01$ ),用阿托伐他汀干预后显著抑制 Toll 样受体 4、髓样分化因子 88、肿瘤坏死因子受体相关因子 6、血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1、肿瘤坏死因子  $\alpha$  及细胞间黏附分子 1 的表达( $P < 0.01$ )。**结论** 阿托伐他汀可抑制 Toll 样受体 4 信号转导通路主要原件及血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1、肿瘤坏死因子  $\alpha$  及细胞间黏附分子 1 的表达,这可能是其治疗炎症性疾病及防治动脉粥样硬化作用的机制之一。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Effect of Atorvastatin on Expression of Toll Like -Receptor-4 and Inflammatory Cytokines Induced by Lipopolysaccharide in Human Umbilical Vein Endothelial Cells

JIANG Hua, and JIANG Yu-Ji

(The Affiliated Hospital of Yanbian University, Yanji, Jilin 133000, China)

[KEY WORDS] Atorvastatin; Toll-Like Receptor-4; Myeloid Differentiation Factor 88; Lectin-Like Oxidized Low-Density Lipoprotein Receptor-1; Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the influence of atorvastatin on the expression of toll-like receptor-4 (TLR4) and lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC), and to study its possible anti-atherosclerotic mechanism. **Methods** HUVEC was cultured in vitro and stimulated with lipopolysaccharide (LPS) for 2 h, then treated with atorvastatin for 24 h, finally the mRNA expression of TLR4, myeloid differentiation factor 88 (MyD88), tumour-necrosis factor receptor-associated factor 6 (TRAF-6), LOX-1, TNF- $\alpha$  and ICAM-1 was measured with real-time PCR, the protein expression of TLR4, MyD88, TRAF-6, LOX-1, TNF- $\alpha$  and ICAM-1 was analyzed using Western Blotting method. **Results** LPS enhanced the expression of TLR4, MyD88, TRAF-6, LOX-1, TNF- $\alpha$  and ICAM-1 ( $P < 0.01$ ), atorvastatin decreased the high expression of TLR4, MyD88, TRAF-6, LOX-1, TNF- $\alpha$  and ICAM-1 ( $P < 0.01$ ) which were stimulated by LPS. **Conclusion** Atorvastatin can block the high expression of TLR4 and its downstream signal transduction pathway and the high expression of LOX-1, TNF- $\alpha$  and ICAM-1. Maybe it's the mechanism of action of atorvastatin to exert the function of anti-atherosclerosis.

[收稿日期] 2011-05-25

[作者简介] 姜华,博士,主治医师,研究方向为心脑血管疾病。E-mail 为 jianghua62@hotmail.com。姜玉姬,硕士,主治医师,研究方向为肾小球疾病。

研究表明, Toll 样受体 4 (toll-like receptor-4, TLR4) 在抗感染免疫、肿瘤的形成、动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 的形成和炎症性肠病等疾病中起重要作用。TLR4 是免疫反应和慢性炎症之间的一个桥梁, 在 As 过程中发挥重要的作用<sup>[1]</sup>。TLR4 通过其下游髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) 依赖性及非依赖性信号转导通路来激活各种炎症因子。而研究表明炎症因子如肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 及细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 在 As 的发生和发展中起重要作用。同时脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 可通过 TLR4/NF- $\kappa$ B 途径上调血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 (lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1, LOX-1) 的表达, 增加氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 对内皮细胞的损伤, 从而加速 As 的进程<sup>[2]</sup>。因此本实验应用脂多糖 (LPS) 刺激人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC), 激活 TLR4 及下游 MyD88 依赖性信号转导通路, 并激活下游 LOX-1、TNF- $\alpha$  及 ICAM-1 等炎症因子, 用阿托伐他汀 (atorvastatin, ATV) 进行干预, 观察其对 TLR4 及下游信号转导通路的影响和对 LOX-1、TNF- $\alpha$  及 ICAM-1 表达的影响, 探讨阿托伐他汀防治 As 的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂

胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 购自杭州四季青生物研究所; 第 VIII 因子相关抗原购于北京中杉金桥生物技术有限公司产品; DMEM 培养基、胰蛋白酶为美国 GIBCO 公司产品; RNA-OUT 总 RNA 提取试剂盒、RIPA 蛋白裂解液、BCA 蛋白定量测定试剂盒购自北京天来生物医学科技责任公司; LPS 为 Sigma 公司产品; 阿托伐他汀纯品为美国 LKT Laboratories 公司产品; M-MLV 逆转录酶为 Promega 公司产品; 兔抗人 TLR4、MyD88、肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (tumour-necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF-6)、LOX-1、ICAM-1 及 TNF- $\alpha$  单克隆抗体和二抗为 Santa Cruz 公司产品。

### 1.2 人脐静脉内皮细胞的培养及鉴定

参考 HUVEC 的培养方法<sup>[3]</sup>, 取健康新生儿新鲜脐带 25 ~ 30 cm, 置于无菌玻璃培养皿中以 PBS 冲洗, 用无菌剪刀将两端脐带剪齐, 在脐带一端找到

静脉, 将注射器插入脐静脉, 用粗丝线扎牢; 注入 PBS 液, 灌洗脐静脉直至脐静脉内残血全部冲净; 将脐带一端用止血钳夹闭, 从另一端用注射器向脐静脉注入预热 37℃ 的 0.25% 胰蛋白酶至血管充盈; 37℃ 水浴中消化 8 ~ 10 min; 用注射器吸取消化液并收集于无菌一次性离心管内, 并加入 2 倍于消化液的含 20% FBS 的培养液冲洗静脉终止消化, 一并收集于离心管内, 按 1000 r/min 离心 10 min; 弃上清, 加入含 20% FBS 培养液, 反复吹打, 接种于 25 cm<sup>2</sup> 培养瓶, 置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵育箱中静止培养。鉴定时在 6 孔培养板内放置无菌的盖玻片, 按传代方法进行细胞接种, 待细胞生长至近融合状态时, 取出盖玻片, 用 PBS 冲洗 3 次; 放入乙醇-丙酮混合液 (1:1) 中固定 10 min; 滴加兔抗人 VIII 因子相关抗原多抗工作液, 37℃ 孵育 60 min; PBS 冲洗浸泡 10 min; 加入羊抗兔荧光抗体, 37℃ 孵育 30 min; PBS 冲洗浸泡 15 min; 缓冲甘油封片; 置于荧光显微镜下观察。实验时采用第 2 ~ 5 代细胞, 待细胞生长融合成单层后用于实验。

### 1.3 分组及干预

用含 10% 胎牛血清 (FBS) 的 DMEM 培养液在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 HUVEC 18 h, 待细胞生长融合成单层后, 经过 24 h 饥饿同步化, 之后随机分为 3 组: 即空白对照组、模型组、阿托伐他汀组 (用 LPS 刺激 HUVEC 2 h 后, 加入阿托伐他汀干预 24 h)。各组分别用下列方法进行干预: (1) 空白对照组: 仅含 10% FBS 的 DMEM 培养液; (2) 模型组: 含 10% FBS 的 DMEM 培养液 + LPS (1 mg/L); (3) 阿托伐他汀组: 含 10% FBS 的 DMEM 培养液 + LPS (1 mg/L) + 阿托伐他汀 (10  $\mu$ mol/L)。处理 24 h 后收集细胞。

### 1.4 荧光定量 PCR

用 RNA-OUT 提取总 RNA, 逆转录, 应用荧光定量 PCR 法测定 mRNA 的表达。扩增条件为 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 1 min, 60℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 共 55 个循环后, 72℃ 再延伸 5 min。以 GAPDH 为内参照。引物由大连宝生物工程有限公司合成。TLR4 上游引物为 5'-AGC GCT GCC TAC ACT AC-3', 下游引物为 5'-GAT TAT ACC AGC GCG AC-3', 扩增片长 187 bp; MyD88 上游引物为 5'-ATA GGC ACC AGC ATG CAC-3', 下游引物为 5'-TAG GGT CCT TAC CAG GTA-3', 扩增片长 181 bp; TRAF-6 上游引物为 5'-AGC CAC AAT CCC ATG-3', 下游引物为 5'-GTC ACG GAA AGG CGC-3', 扩增片长 224 bp; LOX-1 上游引物为 5'-ATC CAT CAT CCC

TCA A-3',下游引物为 5'-GAA AGA AGC CAG ACA AA-3',扩增片长 142 bp;TNF- $\alpha$  上游引物为 5'-CCA TGT CTT TCT ACC CTA ATC-3',下游引物为 5'-AGC TGC TCT GTC GGA TG-3',扩增片长 98 bp;ICAM-1 上游引物为 5'-GTA GCA GCC GCA GTC ATA-3',下游引物为 5'-CGG GAT AGG TTC AGG GAG-3',扩增片长 151 bp;内参 GAPDH 上游引物为 5'-CTC ATG ACC ACA GTC CAT GC-3',下游引物为 5'-CAC ATT GGG GGT AGG AAC AC-3',扩增片长 201 bp。用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法进行计算。

1.5 Western Blotting 分析

收集 HUVEC 后加入预冷的细胞裂解液,收集蛋白,用 BCA 法检测蛋白浓度。以 60  $\mu$ g 蛋白/泳道上样,经 SDS-PAGE 电泳,然后转膜。加入 1:200 的兔抗人 TLR4、MyD88、TRAF-6、LOX-1、TNF- $\alpha$  及 ICAM-1 一抗稀释液,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,TBST 洗膜 3 次,再加入过氧化物酶标记的羊抗兔二抗稀释液(1:1000),置室温 2 h 显色,使用光密度分析软件处理分析。

1.6 统计学处理

数据均应用 SPSS15.0 统计软件进行分析,实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 人脐静脉内皮细胞的鉴定

显微镜下融合状态的 HUVEC 呈单层“铺路石”样排列,状如梭形或多角形,大小均匀;用第Ⅷ因子相关抗原免疫荧光染色,绝大多数细胞为第Ⅷ因子相关抗原阳性(图 1)。

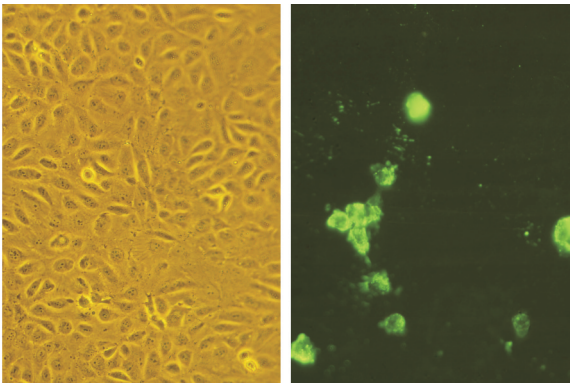


图 1. 人脐静脉内皮细胞的鉴定 左为显微镜下传代培养的人脐静脉内皮细胞( $\times 40$ ),右为人脐静脉内皮细胞第Ⅷ因子相关抗原免疫荧光染色( $\times 100$ )。

Figure 1. Identification of HUVEC

2.2 阿托伐他汀对 TLR4、MyD88、TRAF-6、LOX-1、TNF- $\alpha$  和 ICAM-1 mRNA 表达的影响

用 LPS 刺激 24 h 后,模型组 TLR4、MyD88、TRAF-6、LOX-1、TNF- $\alpha$  和 ICAM-1 mRNA 表达明显升高( $P < 0.01$ ),而用阿托伐他汀干预 24 h 后,TLR4、MyD88、TRAF-6、LOX-1、TNF- $\alpha$  和 ICAM-1 mRNA 表达明显降低( $P < 0.01$ ;表 1)。

表 1. 阿托伐他汀对 TLR4、MyD88、TRAF-6、LOX-1、TNF- $\alpha$  和 ICAM-1 mRNA 表达的影响( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 1. Effect of atrovastatin on mRNA expression level of TLR4, MyD88, TRAF-6, LOX-1, TNF- $\alpha$  and ICAM-1

指标	空白对照组	模型组	阿托伐他汀组
TLR4	1.007	4.23 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	2.46 $\pm$ 0.47 <sup>b</sup>
MyD88	1.002	3.58 $\pm$ 0.72 <sup>a</sup>	2.31 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>
TRAF-6	1.007	3.64 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>	2.07 $\pm$ 0.51 <sup>b</sup>
LOX-1	1.001	2.93 $\pm$ 0.48 <sup>a</sup>	1.59 $\pm$ 0.27 <sup>b</sup>
TNF- $\alpha$	1.000	3.35 $\pm$ 0.58 <sup>a</sup>	1.97 $\pm$ 0.53 <sup>b</sup>
ICAM-1	1.006	2.80 $\pm$ 0.54 <sup>a</sup>	1.74 $\pm$ 0.33 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.01$ ,与空白对照组比较;b 为  $P < 0.01$ ,与模型组比较。

2.3 阿托伐他汀对 TLR4、MyD88、TRAF-6、LOX-1、TNF- $\alpha$  和 ICAM-1 蛋白表达的影响

用 LPS 刺激 24 h 后,模型组 TLR4、MyD88、TRAF-6、LOX-1、TNF- $\alpha$  和 ICAM-1 蛋白表达明显升高( $P < 0.01$ ),而用阿托伐他汀干预 24 h 后,TLR4、MyD88、TRAF-6、LOX-1、TNF- $\alpha$  和 ICAM-1 蛋白表达明显降低( $P < 0.01$ ;表 2 和图 2)。

表 2. 阿托伐他汀对 TLR4、MyD88、TRAF-6、LOX-1、TNF- $\alpha$  和 ICAM-1 蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 2. Effect of atrovastatin on protein expression level of TLR4, MyD88, TRAF-6, LOX-1, TNF- $\alpha$  and ICAM-1

指标	空白对照组	模型组	阿托伐他汀组
TLR4	0.377 $\pm$ 0.026	0.992 $\pm$ 0.061 <sup>a</sup>	0.584 $\pm$ 0.020 <sup>b</sup>
MyD88	0.310 $\pm$ 0.008	0.963 $\pm$ 0.036 <sup>a</sup>	0.634 $\pm$ 0.012 <sup>b</sup>
TRAF-6	0.226 $\pm$ 0.004	0.837 $\pm$ 0.054 <sup>a</sup>	0.475 $\pm$ 0.016 <sup>b</sup>
LOX-1	0.259 $\pm$ 0.014	0.726 $\pm$ 0.048 <sup>a</sup>	0.437 $\pm$ 0.072 <sup>b</sup>
TNF- $\alpha$	0.471 $\pm$ 0.026	0.971 $\pm$ 0.066 <sup>a</sup>	0.607 $\pm$ 0.034 <sup>b</sup>
ICAM-1	0.253 $\pm$ 0.027	0.940 $\pm$ 0.023 <sup>a</sup>	0.415 $\pm$ 0.008 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.01$ ,与空白对照组比较;b 为  $P < 0.01$ ,与模型组比较。



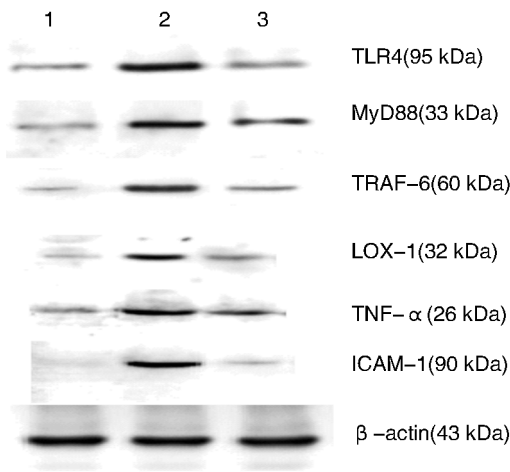


图 2. 阿托伐他汀对 TLR4、MyD88、TRAF-6、LOX-1、TNF- $\alpha$  和 ICAM-1 蛋白表达的影响 1 为空白对照组,2 为模型组,3 为阿托伐他汀组。

Figure 2. Effect of atorvastatin on protein expression level of TLR4, MyD88, TRAF-6, LOX-1, TNF- $\alpha$  and ICAM-1

3 讨论

As 以血管壁内脂质、炎症细胞聚集为特征<sup>[4]</sup>。研究显示免疫反应贯穿了 As 的整个过程。TLR4 作为一种介导天然免疫反应的跨膜信号转导受体可通过多途径影响 As 进程<sup>[5]</sup>。研究发现体外培养的人血管内皮细胞在基础条件下 TLR4 表达很低,但经促炎因子刺激,TLR4 表达明显升高;血管外膜成纤维细胞中 TLR4 激活可促进新内膜的生成,此效应在 TLR4 缺陷的基因敲除小鼠模型中明显降低,表明 TLR4 参与了 As 进程中新内膜的形成<sup>[6]</sup>。TLR4 存在 MyD88 依赖性信号转导途径和 MyD88 非依赖性信号转导途径<sup>[7]</sup>。活化的 TLR 的胞内结构域与 MyD88 羧基端相互作用使其活化,活化的 MyD88 可诱导 IRAK 激酶磷酸化,进而激活胞浆内的 TRAF-6<sup>[8]</sup>。活化后的 TRAF-6 通过 TAK1 与 IKK 信号级联,使 I $\kappa$ B 磷酸化而降解,最终激活 NF- $\kappa$ B。活化后的 NF- $\kappa$ B 由胞浆转移到细胞核内,引起促炎细胞因子基因的转录和表达,启动天然免疫和炎症反应有关基因的转录,诱发各种炎症反应<sup>[9]</sup>。通过上述信号转导途径,TLR4 介导转录因子的活化,诱导靶基因的转录,介导早期的天然免疫反应。而 MyD88 非依赖性途径主要包括 Toll 样受体相关分子 (toll-like receptor-associated molecule, TRAM) 及 Toll 样受体相关的干扰素活化子 (TIR domain-containing adaptor inducing IFN- $\beta$ , TRIF) 等主要元件<sup>[10]</sup>。

白细胞和单核细胞与血管内皮细胞的黏附、迁

移是 As 最重要的始动环节。单核细胞与血管内皮细胞黏附、跨内皮迁移、内膜巨噬细胞聚集、平滑肌细胞的迁移和增殖以及细胞外基质的聚集等多个环节均依赖于黏附分子 (如 ICAM-1) 的作用。ICAM-1 能促进免疫细胞浸润,使单核细胞和淋巴细胞黏附于内皮,然后迁移入内皮下,单核细胞分化为巨噬细胞,表达识别氧化型低密度脂蛋白 (ox-LDL) 的清道夫受体,使胆固醇沉积失去限制,形成泡沫细胞进而促进 As 的发生<sup>[11]</sup>。而黏附分子的表达同时受转录因子 NF- $\kappa$ B 的调节,而脂多糖可以通过内皮细胞中的 TLR4 激活 NF- $\kappa$ B,上调 ICAM-1,参与单核细胞聚集,启动进一步炎症反应。TNF- $\alpha$  是促炎症反应的细胞因子,能直接作用于血管内皮细胞,最终导致血管内皮细胞损伤,提示 TNF- $\alpha$  对内皮细胞有明显的细胞毒性,这可能也是 TNF- $\alpha$  促进 As 发生、发展的一个途径。而且 TNF- $\alpha$  还通过促进黏附分子的表达来促进白细胞、单核细胞、淋巴细胞等与血管内皮细胞的黏附及迁移,加速 As 的进程<sup>[12]</sup>。同时 ox-LDL 作为致 As 的独立危险因素,可通过其特异性受体 LOX-1 结合、摄取及降解并介导其生物学功能。研究发现 ox-LDL 经 LOX-1 介导使内皮细胞活化,胞内活性氧簇大量产生,并形成正反馈促进脂质氧化,诱导核转录因子如 NF- $\kappa$ B 的活化,从而引发促炎因子和黏附分子 (如 TNF- $\alpha$ 、ICAM-1) 的表达升高<sup>[13]</sup>;LOX-1 本身也可作为内皮黏附分子,促进 ox-LDL 和细胞聚集于血管壁,进一步导致斑块的炎症反应,增加斑块的不稳定性<sup>[14]</sup>。

目前在 As 治疗方面,主要以降血脂为主,同时也用一些抗氧化保护血管内皮、抗血栓形成、抗免疫损伤的药物。他汀类药物是调脂治疗的一线药物,通过阻断肝脏羟甲基戊二酰辅酶 A 转化为甲羟戊酸而抑制胆固醇的合成,降低血浆中的低密度脂蛋白。他汀类药物除有效降低血脂外,还具有抗炎、抗氧化、改善血管内皮功能、调节细胞增殖等独立于降脂之外的作用<sup>[15]</sup>。如今他汀类药物的非降脂效应尤其是抗炎作用越来越受到心血管及其相关领域专家的关注,其抗炎效应被认为在降低心血管事件发生率上也扮演着极为重要的角色,而且该效应可能独立于其降脂效应<sup>[16]</sup>。

实验结果表明,用 LPS 刺激内皮细胞后,TLR4 表达明显升高,并激活下游 MyD88 依赖性信号转导通路,因此 MyD88 和 TRAF-6 表达也显著升高。通过 MyD88 依赖性信号转导通路的激活,最终激活 NF- $\kappa$ B。活化后的 NF- $\kappa$ B 激活下游炎症因子 LOX-1、TNF- $\alpha$  及 ICAM-1,从而引起 As 及各种炎症性疾病

病。用阿托伐他汀干预 24 h 后,TLR4、MyD88 及 TRAF-6 的基因及蛋白表达明显下降,说明阿托伐他汀对 TLR4 及下游 MyD88 依赖性信号转导通路有明显的抑制作用。同时用阿托伐他汀干预 24 h 后,LOX-1、TNF- $\alpha$  及 ICAM-1 表达明显下降,说明阿托伐他汀对 LOX-1、TNF- $\alpha$  及 ICAM-1 有明显的抑制作用。通过抑制 LOX-1、TNF- $\alpha$  及 ICAM-1 的表达,阿托伐他汀可减少单核细胞与血管内皮细胞黏附以及内皮细胞的损伤,从而达到抗 As 的作用。但阿托伐他汀是通过抑制 TLR4 及下游 MyD88 依赖性信号转导通路来发挥其抑制 LOX-1、TNF- $\alpha$  及 ICAM-1 的作用,还是直接抑制 LOX-1、TNF- $\alpha$  及 ICAM-1 的表达,本实验仍无法解释。同时在此过程中 MyD88 非依赖性途径是否起作用,尚需进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] Schoneveld AH, Hoefer I, Sluijter JP, et al. Atherosclerotic lesion development and Toll like receptor 2 and 4 responsiveness[J]. *Atherosclerosis*, 2008, 197(1): 95-104.
- [2] 王虹艳,曲鹏,富晶,等. TLR4 激动上调内皮细胞氧化低密度脂蛋白受体 LOX-1 表达[J]. *高血压杂志*, 2005, 13(7): 422-426.
- [3] 姜华,张艳,王辰. 益气活血复方含药血清对人脐静脉内皮细胞 TLR4 及其下游髓样分化因子 88/肿瘤坏死因子受体相关因子-6 表达的影响[J]. *中西医结合杂志*, 2010, 30(5): 519-522.
- [4] Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease[J]. *New Engl J Med*, 2005, 352(16): 1685-695.
- [5] Li H, Sun B. Toll-like receptor 4 in atherosclerosis[J]. *J Cell Mol Med*, 2007, 11(1): 88-95.
- [6] Hollestelle SC, De Vries MR, Van Keulen JK, et al. Toll-like receptor 4 is involved in outward arterial remodeling[J]. *Circulation*, 2004, 109(3): 393-398.
- [7] Kaisho T, Akira S. Toll-like receptor function and signaling[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2006, 117(5): 979-988.
- [8] Cao Z, Xiong J, Takeuchi M, et al. TRAF-6 is a signal transducer for interleukin-1 receptor[J]. *Nature*, 1996, 383: 442-446.
- [9] Mercurio F, Manning AM. Multiple signals converging on NF-kappaB[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 1999, 11(2): 226-232.
- [10] Yamamoto M, Sato S, Hemmi H, et al. Role of adaptor TRIF in the MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway[J]. *Science*, 2003, 301(5633): 640-643.
- [11] Papa A, Danese S, Urgesi R, et al. Intercellular adhesion molecule-1 gene polymorphisms in inflammatory bowel disease[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2004, 8(5): 187-191.
- [12] Thorne SA, Abbot SE, Stevens CR, et al. Modified low density lipoprotein and cytokines mediate monocyte adhesion to smooth muscle cells[J]. *Atherosclerosis*, 1996, 127(2): 167-176.
- [13] Reiss AB, Anwar K, Wirkowski P. Lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor 1 (LOX-1) in atherogenesis: a brief review[J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(21): 2641-652.
- [14] Mehta JL, Chen J, Yu F, et al. Aspirin inhibits ox-LDL-mediated LOX-1 expression and metalloproteinase-1 in human coronary endothelial cells[J]. *Cardiovasc Res*, 2004, 64(2): 243-249.
- [15] Davignon J. Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins[J]. *Circulation*, 2004, 109(23 Suppl 1): 39-43.
- [16] Hoffmann R, Haager P, Suliman H, et al. Effect of statins therapy before Q-wave myocardial infarction on myocardial perfusion[J]. *Am J Cardiol*, 2008, 101: 139-143.

(此文编辑 许雪梅)