

艾塞那肽通过下调 p22phox、NOX4 和 TGF- β 1 减轻 1 型糖尿病大鼠主动脉的氧化应激损伤

吴杰萍, 郭志新, 齐伟, 俞媛贤, 杜时晶, 刘晋津

(山西医科大学第二临床医院内分泌科, 山西省太原市 030001)

[关键词] 胰高血糖素样肽 1; 糖尿病大血管病变; NADPH 氧化酶; 转化生长因子 β 1

[摘要] 目的 观察胰高血糖素样肽 1 (GLP-1) 受体激动剂艾塞那肽对 1 型糖尿病大鼠主动脉 NADPH 氧化酶亚单位表达及其氧化应激损伤作用的影响。方法 30 只雄性 SD 大鼠随机分为正常对照组 ($n=7$) 和造模组 ($n=23$)。采用链脲佐菌素 (STZ) 制备 1 型糖尿病大鼠模型。将造模成功的 19 只 1 型糖尿病大鼠随机分为糖尿病对照组 ($n=10$) 和艾塞那肽治疗组 ($n=9$)。艾塞那肽治疗组给予艾塞那肽 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 皮下注射, 2 次/天; 正常对照组和糖尿病对照组给予等量的生理盐水皮下注射。药物干预 8 周后, 处死动物。用实时荧光定量聚合酶链反应法 (RT-PCR) 检测主动脉 p22phox 和 NOX4 mRNA 的表达, 用免疫组织化学法检测主动脉的转化生长因子 β 1 (TGF- β 1) 的表达。标本切片用 HE 染色后, 行组织形态学检查。结果 与正常对照组比较, 糖尿病对照组大鼠主动脉 p22phox 和 NOX4 mRNA 表达显著升高, TGF- β 1 蛋白表达显著升高 ($P<0.05$)。与糖尿病对照组比较, 艾塞那肽治疗组大鼠主动脉 p22phox 和 NOX4 mRNA 表达降低 ($P<0.05$), 主动脉 TGF- β 1 蛋白表达降低 ($P<0.05$)。与正常对照组比较, 糖尿病对照组大鼠主动脉内膜和中膜明显增厚, 内膜不光滑, 内皮细胞突起, 形态不规则, 平滑肌细胞排列紊乱; 与糖尿病对照组比较, 艾塞那肽治疗组大鼠主动脉内膜仅局限性增厚不光滑, 内皮细胞与平滑肌细胞排列较整齐, 中膜轻度增厚。结论 艾塞那肽通过下调 1 型糖尿病大鼠主动脉 p22phox、NOX4 和 TGF- β 1 的表达, 减轻氧化应激对主动脉的损伤, 对糖尿病大鼠血管产生保护作用。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Exenatide Reduces Oxidative Damage on the Aorta of Type 1 Diabetic Rats by Down-regulating the Over-expression of p22phox, NOX4 and TGF- β 1

WU Jie-Ping, GUO Zhi-Xin, QI Wei, YU Yuan-Xian, DU Shi-Jin, and LIU Jin-Jin

(Department of Endocrinology, Second Hospital, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China)

[KEY WORDS] Glucagon-like Peptide-1; Diabetic Macrovascular Complications; NADPH Oxidase; Transforming Growth Factor-beta 1

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effect of glucagon-like peptide-1 receptor agonist exenatide on the expression of NADPH oxidase subunits and oxidative stress damage in the aorta of type 1 diabetic rats. **Methods** Thirty male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into normal control group ($n=7$) and model group ($n=23$). Type 1 diabetic model was established by intraperitoneal injection of streptozotocin. Nineteen diabetic rats induced successfully were randomly divided into diabetic group ($n=10$), and diabetic group treated with exenatide ($n=9$). Rats in diabetic group treated with exenatide were injected subcutaneously with exenatide in dose of 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ twice daily. Rats in normal control group and diabetic group were given equivalent volume of normal saline by subcutaneous injection. All rats were sacrificed after exenatide treatment for eight weeks. The mRNA expression of aortal p22phox and NOX4 were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. The protein expression of aortal transforming growth factor-beta (TGF- β 1) was detected by immunohistochemical staining. Specimen sections were stained with hematoxylin and eosin for histological examination.

[收稿日期] 2013-03-21

[基金项目] 山西省回国留学人员科研资助项目 (2011-048), 山西医科大学科技创新基金资助项目 (01201015)

[作者简介] 吴杰萍, 硕士研究生, 研究方向为糖尿病预防和治疗, E-mail 为 wujieping1983@126.com。通讯作者郭志新, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为糖尿病预防和治疗, E-mail 为 zhxguo1966@yahoo.com.cn。齐伟, 硕士研究生, 研究方向为糖尿病预防和治疗。

Results The mRNA expression of aortal p22phox and NOX4 and the protein expression of aortal TGF-β1 were significantly increased in diabetic group than those in normal control group($P<0.05$). The mRNA expression of aortal p22phox and NOX4 and the protein expression of aortal TGF-β1 were decreased in diabetic group treated with exenatide than those in diabetic group($P<0.05$). Compared with rats in normal control group, rats in diabetic group had the obviously thickened intima and tunica elastica, unsmooth intima, endothelial cell protrusion, the irregular shape of endothelial cells, and the smooth muscle cells arranged in disorder in the aorta. The intima was locally thickened and unsmooth, endothelial cells and smooth muscle cells were arranged in order, and the unica elastica was lightly thickened in the aorta in diabetic group treated with exenatide compared with diabetic group. **Conclusions** Exenatide can down-regulate the mRNA expression of p22phox and NOX4 and the protein expression of TGF-β1 in the aorta of type1 diabetic rats, which can relieve the aortal damage by oxidative stress, thus play a protective role on the blood vessel of diabetic rats.

糖尿病大血管病变是糖尿病最常见的慢性并发症之一,是糖尿病患者致死致残的主要原因之一^[1]。氧化应激在糖尿病血管病变的发生和发展中起一定作用^[2]。尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADPH)氧化酶是心血管组织中活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)的主要来源^[3]。当ROS生成超过机体抗氧化能力时,氧化应激和氧化损伤就会产生^[4]。胰高血糖素样肽1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)是一种由肠道L细胞分泌的肠促胰岛素。GLP-1主要生理功能是改善血糖控制。但是,越来越多的证据表明,GLP-1还可通过与啮齿类动物和人类的心血管组织表达的GLP-1受体结合,发挥广泛的心血管保护作用^[5,6]。本研究旨在观察GLP-1受体激动剂艾塞那肽对1型糖尿病大鼠主动脉NADPH氧化酶亚单位表达的影响,探讨艾塞那肽对糖尿病大血管病变的保护作用及机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物及主要材料

30只6周龄雄性SD大鼠,购自山西医科大学动物实验中心[SPF级,批号:SCXY(晋)2009-0001],链脲佐菌素(Sigma公司),艾塞那肽(礼来公司),Trizol试剂(上海生工生物科技发展有限公司),逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)试剂盒(Fermentas公司),实时荧光定量聚合酶连反应仪(Roche公司),PCR内参引物(上海基康生物技术有限公司),p22phox和NOX4引物(上海生工生物工程有限公司),转化生长因子β1(TGF-β1)抗体(武汉博士德生物工程有限公司)。

1.2 糖尿病大鼠模型的建立及分组

30只6周龄雄性SD大鼠,体重 200 ± 20 g,适应性饲养1周后随机分为正常对照组($n=7$)和糖尿病组($n=23$)。糖尿病组给予链脲佐菌素(STZ)65mg/kg腹腔注射,正常对照组给予等量生理盐水腹腔注射,72h后尾静脉采血并测血糖,血糖 ≥ 16.7

mmol/L为造模成功,其中19只大鼠造模成功。将造模成功的19只1型糖尿病大鼠随机分为糖尿病对照组($n=10$)、艾塞那肽治疗组($n=9$)。艾塞那肽治疗组给予艾塞那肽5μg/kg皮下注射,2次/天;正常对照组和糖尿病对照组给予等量的生理盐水皮下注射,共干预8周。

1.3 标本收集

药物干预8周后,在实验结束前禁食10~12h,称体重,腹主动脉采血,留取血标本用于测定血脂、血糖及血胰岛素,然后处死动物,固定四肢,取腹正中切口,分离腹主动脉和胸主动脉,迅速剥离主动脉,取约1cm的主动脉置入已备好的液氮中,冻透后于-70℃的冰箱保存,用于荧光实时定量PCR检测p22phox和NOX4 mRNA的表达。再取约1cm的主动脉用中性福尔马林固定,供HE染色和免疫组织化学染色。

1.4 大鼠主动脉组织中 p22phox 和 NOX4 mRNA 表达水平测定

采用RT-PCR试剂盒进行逆转录制备cDNA。将-70℃冰箱保存的1cm主动脉取出,用Trizol法提取总RNA。p22phox:上游引物:5'-CTC TAT TGT TGC AGG AGT GC-3',下游引物:5'-TCA CAC GAC CTC ATC TGT CAC-3',扩增长度为457bp。NOX4:上游引物:5'-TAG CTG CCC ACT TGG TGA ACG-3',下游引物:5'-TGT AAC CAT GAG GAA CAA TAC CAC C-3',扩增长度为245bp。内参Beta-actin:上游引物:5'-GTC AGG TCA TCA CTA TCG GCA AT-3',下游引物:5'-AGA GGT CTT TAC GGA TGT CAA CGT-3',扩增长度为147bp。PCR反应体系:水、cDNA、SYBR(主要包括dNTP、10×buffer、rTaqDNA聚合酶及MgCl₂)及基因引物。PCR扩增条件:94℃预变性10min,活化Taq酶;94℃15s,60℃60s,45个循环结束。目的基因表达阳性的标本荧光定量扩增曲线呈S形,用实时荧光定量PCR系统读取Ct

值。 ΔCt = 待测组目的基因 Ct 值 - 待测组内参基因 Ct 值, $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct -$ (对照组目的基因平均 Ct 值 - 对照组内参基因平均 Ct 值)。以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示样品中目的基因 mRNA 相对于对照组的表达量。

1.5 主动脉组织中 TGF-β1 蛋白表达水平测定

采用免疫组织化学链霉亲和素-生物素-过氧化物酶复合物法染色,一抗按 1:400 稀释(兔抗 TGF-β1 多克隆抗体),二抗按 1:100 稀释,采用 DAB 显色法。在光镜下,每张切片随机取 6 个视野观察,出现棕褐色颗粒为阳性。用 Image-ProPlus6.0 软件对图像进行分析灰度分析,计算出 TGF-β1 的相对含量。

1.6 血脂、血糖及血胰岛素的测定

全自动生化分析仪测血胆固醇、甘油三酯及游离脂肪酸,葡萄糖氧化酶法测血糖,放射免疫法测血浆胰岛素。

1.7 主动脉形态学观测

用中性福尔马林液将主动脉标本固定,制成切片,脱蜡后行 HE 染色,在光镜下,观察主动脉组织形态学改变。

1.8 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。多组比较用方差分析,两两比较用 LSD-t 检验,所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

2 结 果

2.1 各组大鼠主动脉中 p22phox 和 NOX4 mRNA 表达的比较

糖尿病对照组大鼠主动脉 p22phox 和 NOX4 mRNA 表达水平显著高于正常对照组 ($P < 0.05$);经过艾塞那肽干预后,艾塞那肽治疗组大鼠主动脉 p22phox 和 NOX4 mRNA 表达水平较糖尿病对照组

降低 ($P < 0.05$;表 1)。

表 1. 三组大鼠主动脉 p22phox 和 NOX4 mRNA 表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Comparison of the mRNA expression of aorta p22phox and NOX4 among three groups ($\bar{x} \pm s$)

分 组	n	NOX4	p22phox
正常对照组	7	0.254 ± 0.063	0.274 ± 0.015
糖尿病对照组	10	0.678 ± 0.155 ^a	0.603 ± 0.058 ^a
艾塞那肽治疗组	9	0.333 ± 0.035 ^b	0.350 ± 0.049 ^b

a 为 $P < 0.05$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与糖尿病对照组比较。

2.2 各组大鼠主动脉中 TGF-β1 蛋白表达的比较

与正常对照组比较,糖尿病对照组大鼠主动脉 TGF-β1 蛋白表达平均灰度值显著降低,提示阳性表达增高 ($P < 0.05$)。经艾塞那肽干预后,艾塞那肽治疗组主动脉 TGF-β1 蛋白表达平均灰度值显著高于糖尿病对照组,提示阳性表达降低 ($P < 0.05$;表 2 和图 1)。

表 2. 三组大鼠主动脉 TGF-β1 蛋白表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2. Comparison of the protein expression of aorta TGF-β1 among three groups ($\bar{x} \pm s$)

分 组	n	平滑肌 TGF-β1 (灰度值)	内皮细胞 TGF-β1 (灰度值)
正常对照组	7	138.660 ± 3.663	134.4000 ± 3.903
糖尿病对照组	10	111.550 ± 8.359 ^a	102.410 ± 8.047 ^a
艾塞那肽治疗组	9	128.08 ± 5.148 ^b	114.130 ± 8.281 ^b

a 为 $P < 0.05$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与糖尿病对照组比较。

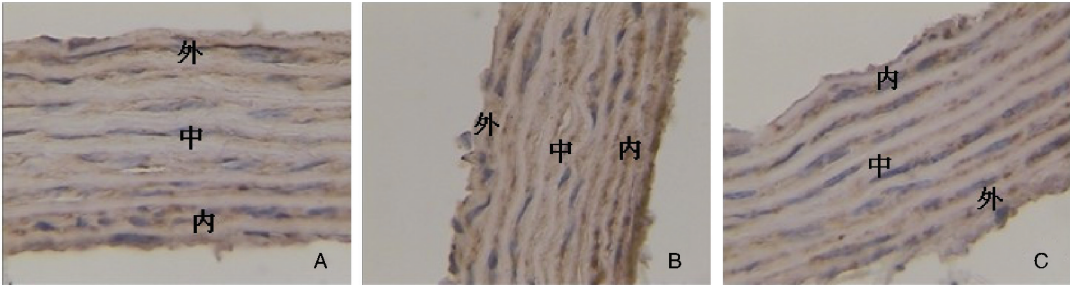


图 1. 三组大鼠主动脉 TGF-β1 免疫组织化学结果 (×400) A 为正常对照组,B 为糖尿病对照组,C 为艾塞那肽治疗组。
Figure 1. The immunohistochemical results of aorta TGF-β1 in three groups (×400)

2.3 各组大鼠血脂、血糖及血胰岛素的比较

与正常对照组相比,糖尿病对照组大鼠血胆固

醇、甘油三酯、游离脂肪酸及血糖均显著升高,胰岛素水平降低 ($P < 0.05$)。经艾塞那肽干预后,艾塞

那肽治疗组大鼠血胆固醇、甘油三酯、游离脂肪酸均显著低于糖尿病对照组($P < 0.05$);但血糖和胰岛素水平,艾塞那肽治疗组与糖尿病对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$;表3)。

表 3. 三组大鼠血脂、血糖和胰岛素的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3. Comparison of blood lipid, glucose and insulin among three groups ($\bar{x} \pm s$)

分 组	<i>n</i>	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	FFA (mmol/L)	FPG (mmol/L)	FINS (kIU/L)
正常对照组	7	1.46 ± 0.38	0.83 ± 0.13	1.45 ± 0.20	4.31 ± 0.72	19.36 ± 0.58
糖尿病对照组	1	2.79 ± 0.29 ^a	1.42 ± 0.20 ^a	2.60 ± 0.41 ^a	29.86 ± 1.32 ^a	4.91 ± 0.27 ^a
艾塞那肽治疗组	9	2.27 ± 0.72 ^{ab}	1.08 ± 0.87 ^{ab}	1.53 ± 0.34 ^b	28.66 ± 0.89 ^a	5.19 ± 0.31 ^a

总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、游离脂肪酸(FFA)、空腹血糖(FPG)、空腹胰岛素(FINS)。a为 $P < 0.05$,与正常对照组比较;b为 $P < 0.05$,与糖尿病对照组比较。

2.4 各组大鼠主动脉组织 HE 染色形态学观察结果

正常对照组大鼠主动脉内膜薄而均一,表面光滑,内皮细胞形态规则、排列整齐,中膜无增厚,平滑肌细胞排列规则。糖尿病组对照组大鼠主动脉内膜增厚明显,表面不光滑,内皮细胞突起,形态不

规则,中膜明显增厚,平滑肌细胞排列紊乱。艾塞那肽治疗组大鼠主动脉内膜仅局限性增厚不光滑,内皮细胞排列较整齐,中膜较糖尿病对照组轻度增厚,平滑肌细胞排列较整齐,程度较糖尿病对照组明显减轻(图2)。

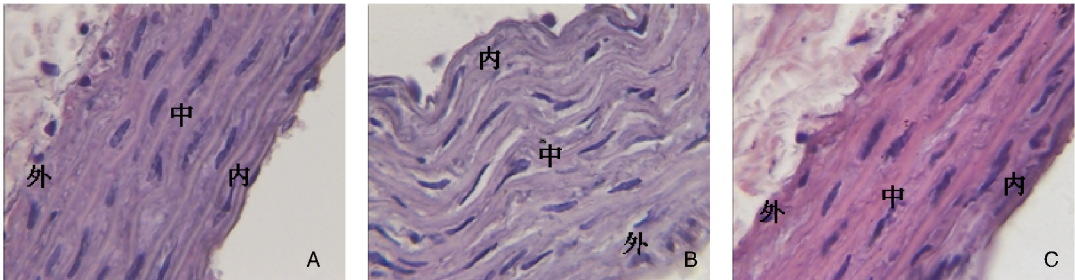


图 2. 三组大鼠主动脉 HE 染色结果(×400) A 为正常对照组,B 为糖尿病对照组,C 为艾塞那肽治疗组。

Figure 2. The HE staining results of aorta in three groups

3 讨 论

本实验结果显示,糖尿病大鼠主动脉 p22phox 和 NOX4 mRNA 表达显著升高,提示糖尿病大鼠主动脉氧化应激水平显著升高。本实验结果还显示,糖尿病大鼠主动脉 TGF-β1 蛋白表达显著升高,内中膜明显增厚,平滑肌细胞排列紊乱,主动脉病理改变加重,提示氧化应激水平增高促进了糖尿病大血管病的发生和发展。GLP-1 类似物艾塞那肽能显著降低主动脉 p22phox 和 NOX4 mRNA 表达,减少主动脉 TGF-β1 蛋白表达,减轻主动脉病理改变,提示艾塞那肽可显著降低糖尿病大鼠主动脉氧化应激水平,减轻氧化应激对主动脉的损伤,对糖尿病大血管起到保护作用。

氧化应激(oxidative stress)是由于氧化与抗氧化系统失衡,使得机体促氧化能力高于抗氧化能力

而造成的。已有研究发现,无论是 1 型还是 2 型糖尿病,都存在明显的氧化应激现象^[7-9]。氧化应激已经被认为是糖尿病各种并发症的共同发病途径^[10]。本研究结果显示,糖尿病大鼠主动脉 p22phox 和 NOX4 mRNA 表达显著升高,结果导致糖尿病大鼠主动脉氧化应激水平升高,升高的氧化应激作用于糖尿病大鼠主动脉引起主动脉组织损伤,导致主动脉 TGF-β1 蛋白表达增加,主动脉病理改变加重。我们的研究结果与其他学者^[11-14]的研究结果一致,后者研究发现糖尿病大鼠主动脉 NADPH 氧化酶活性显著增高,提示 NADPH 氧化酶可能在糖尿病大血管病变的发生发展中起重要作用。

胰高血糖素样肽 1 (GLP-1) 是一种肠促胰素,主要由远端小肠和结肠内的 L 细胞分泌,可通过多种途径降低血糖,还可减轻体重、降低血压、改善血脂。GLP-1 受体 (GLP-1R) 分布广泛,除胰腺组织

外,还分布于脑、肺、心脏、肾脏、冠状动脉、血管内皮细胞和平滑肌细胞^[15,16]。GLP-1 及其类似物具有 GLP-1R 依赖性改善血管内皮功能作用,可依赖一氧化氮(NO)和非 NO 途径,作用于血管内皮细胞及平滑肌细胞,上调一氧化氮合酶,增加 NO 的产生,从而减轻颈动脉内膜的增生,改善血管内皮功能^[17]。DPP(IV)抑制剂显著降低降低 2 型糖尿病大鼠主动脉 NADPH 氧化酶亚单位的表达^[13,14],减轻糖尿病大鼠血管老化程度^[18],产生血管保护作用。GLP-1 能通过激活 PKA 途径抑制 ROS 诱导的内皮细胞衰老^[18]。GLP-1 受体激动剂艾塞那肽能改善 2 型糖尿病大鼠血管内皮的结构和功能,剂量依赖性地下调高糖诱导的血管内皮细胞炎性细胞因子的表达,对血管内皮及内皮细胞产生保护作用^[19,20]。本实验结果显示,艾塞那肽治疗 8 周后,1 型糖尿病大鼠血脂水平降低,主动脉 p22phox 和 NOX4 mRNA 表达显著降低,TGF- β 1 表达显著减少,主动脉病理改变减轻,而血糖无明显变化,提示艾塞那肽通过降低血脂及氧化应激水平,减轻氧化应激对 1 型糖尿病大鼠主动脉的损伤,产生血管保护作用,而不依赖其降糖作用。研究发现,GLP-1 能显著降低 2 型糖尿病动物模型和人的血糖水平,其作用机理主要是与其刺激胰岛 β 细胞分泌和合成胰岛素有关^[5,6]。1 型糖尿病由于胰岛 β 细胞几乎被完全破坏,残存胰岛 β 细胞量很少,GLP-1 不能有效刺激胰岛 β 细胞分泌和合成胰岛素,因此不能显著发挥其降低血糖作用。

综上所述,高血糖可增加 p22phox 和 NOX4 mRNA 及 TGF- β 1 蛋白的表达,这些因素均可致主动脉损伤。艾塞那肽通过下调 p22phox 和 NOX4 mRNA 及 TGF- β 1 蛋白的表达,减轻主动脉的氧化应激水平,对 1 型糖尿病大鼠血管起直接或间接地保护作用。

【参考文献】

- [1] American Diabetes Association. Economic consequences of diabetes mellitus in the US in 1997 [J]. *Diabetes Care*, 1998, 21: 296-309.
- [2] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications [J]. *Nature*, 2001, 414(6 865): 813-820.
- [3] MacCarthy PA, Grieve DJ, Li JM, et al. Impaired endothelial regulation of ventricular relaxation in cardiac hypertrophy: role of reactive oxygen species and NADPH oxidase [J]. *Circulation*, 2001, 104: 2 967-974.
- [4] Lim CS, Vaziri ND. The effects of iron dextran on the oxidative stress in cardiovascular tissues of rats with chronic renal failure [J].

- Kidney Int*, 2004, 65: 1 802-809.
- [5] Ussher JR, Drucker DJ. Cardiovascular biology of the incretin system [J]. *Endocr Rev*, 2012, 33(2): 187-215.
- [6] Heo KS, Fujiwara K, Abe J. Glucagon-like peptide-1 and its cardiovascular effects [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2012, 14 (5): 422-428.
- [7] Simmons RA. Developmental origins of diabetes: The role of oxidative stress [J]. *Free Radic Biol Med*, 2006, 40(6): 917-922.
- [8] 杨楠楠, 刚晓坤, 刘青. 糖尿病肾病与氧化应激 [J]. *中国老年学杂志*, 2013, 5: 1 237-239.
- [9] 邢邯英, 野战鹰, 张冬会, 等. 改变血红素加氧酶-1 水平对糖尿病大鼠氧化应激状态及肾功能的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2011, 14: 2 689-691.
- [10] Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications [J]. *Circ Res*, 2010, 107(9): 1 058-070.
- [11] Wang J, Toba H, Morita Y, et al. Endothelial dysfunction, macrophage infiltration and NADPH oxidase-dependent superoxide production were attenuated by erythropoietin in streptozotocin-induced diabetic rat aorta [J]. *Pharmacology*, 2013, 91(1-2): 48-58.
- [12] Olukman M, Orhan CE, Celenk FG, et al. Apocynin restores endothelial dysfunction in streptozotocin iabetic rats through regulation of nitric oxide synthase and NADPH oxidase expressions [J]. *J Diabetes Complications*, 2010, 24(6): 415-423.
- [13] Matsui T, Nishino Y, Takeuchi M, et al. Vildagliptin blocks vascular injury in thoracic aorta of diabetic rats by suppressing advanced glycation end product-receptor axis [J]. *Pharmacol Res*, 2011, 63(5): 383-388.
- [14] Shen M, Sun D, Li W, et al. The synergistic effect of valsartan and LAF237 [(S)-1-[(3-hydroxy-1-adamantyl) ammo] acetyl-2-cyanopyrrolidine] on vascular oxidative stress and inflammation in type 2 diabetic mice [J]. *Exp Diabetes Res*, 2012, 2 012: 146 194.
- [15] Wei Y, Mojsov S. Tissue-specific expression of the human receptor for glucagon-like peptide- I: brain, heart and pancreatic forms have the same deduced amino acid sequences [J]. *FEBS Lett*, 1995, 358(3): 219-224.
- [16] Ban K, Noyan-Ashraf MH, Hoefer J, et al. Cardioprotective and vasodilatory actions of glucagon-like peptide 1 receptor are mediated through both glucagon-like peptide 1 receptor-dependent and -independent pathways [J]. *Circulation*, 2008, 117: 2 340-350.
- [17] Nystrom T, Gonon AT, Sjöholm A, et al. Glucagon-like peptide-1 relaxes rat con-duit arteries via an endothelium-independent mechanism [J]. *Regul Pept*, 2005, 125(1-3): 173.
- [18] Oeseburg H, de Boer RA, Buikema H, et al. Glucagon-like peptide 1 prevents reactive oxygen species-induced endothelial cell senescence through the activation of protein kinase A [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(7): 1 407-414.
- [19] 李珊, 郑丽丽, 李冲. 胰高血糖素样肽 1 受体激动剂对高糖诱导的血管内皮细胞 NF- κ B、ICAM-1 和 VCAM-1 表达的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(4): 331-334.
- [20] 赵倩, 许春伶, 王珏, 等. Exenatide 改善糖尿病大鼠血管内皮功能障碍 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2011, 19(11): 906-910.