

脂蛋白(a)损伤小鼠骨髓源性内皮祖细胞的生物学功能

胡毅敏¹, 张斌¹, 刘小红¹, 张凯², 王仁², 曾钧发², 王佐²

(1. 中山大学附属第五医院, 广东省珠海市 519000;

2. 南华大学心血管病研究所 动脉硬化化学湖南省重点实验室, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 内皮祖细胞; 脂蛋白(a); 生物学功能

[摘要] **目的** 探讨脂蛋白(a)[Lp(a)]对小鼠骨髓源性内皮祖细胞的损伤作用。**方法** 实验分为6组:对照组加等量含200 μmol/L EDTA的全培养液,其余各组分别加1、10、100、300及600 mg/L的Lp(a)处理。贴壁法分离与培养内皮祖细胞,摄取ac-LDL和结合UEA-1鉴定内皮祖细胞,MTT法检测细胞存活,Transwell测定细胞迁移,明胶黏附法测定内皮祖细胞的黏附,Photoshop 7.0计算血管长度。**结果** Lp(a)呈剂量依赖性影响内皮祖细胞存活,100 mg/L时开始产生损伤效用,300 mg/L Lp(a)对内皮祖细胞的损伤作用最为显著。1 mg/L Lp(a)即能显著抑制内皮祖细胞的迁移,300 mg/L时其迁移细胞数约为对照组的1/14。1 mg/L Lp(a)可明显减少内皮祖细胞黏附细胞数目(145.2 ± 8.4个/视野比115.2 ± 12.6个/视野, $P < 0.05$, $n = 5$),当Lp(a)的浓度达到300 mg/L时,内皮祖细胞黏附数目下降最显著,为对照组的约1/16。10 mg/L Lp(a)使血管形成能力明显受到抑制,当Lp(a)的浓度达到300 mg/L时,差不多已经见不到完整的血管样结构。经100 mg/L Lp(a)处理后,不但克隆数目明显减少(10.2 ± 1.3比3.1 ± 0.4, $P < 0.01$, $n = 5$),而且克隆生长明显受到抑制。**结论** Lp(a)呈浓度依赖性地损伤内皮祖细胞存活、迁移、黏附、血管形成能力和克隆形成能力。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Lipoprotein (a) Injury Biological Functions of Mouse Bone Marrow-derived Endothelial Progenitor Cells

HU Yi-Min¹, ZHANG Bin¹, LIU Xiao-Hong¹, ZHANG Kai², WANG Ren², ZENG Jun-Fa², and WANG Zuo²

(1. The Fifth Affiliated Hospital of Zhongshan University, Zhuhai, Guangdong 519000, China; 2. Institute of Cardiovascular Disease, University of South China & Key Laboratory for Atherosclerosis of Hunan Province, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] Endothelial Progenitor Cells; Lipoprotein(a); Biological Function

[ABSTRACT] **Aim** To study the injury effect of lipoprotein (a) [Lp(a)] on biological function of mouse bone marrow-derived endothelial progenitor cells (EPC). **Methods** EPC were divided into control groups and five treatment groups with different concentrations (1, 10, 100, 300 and 600 mg/L) of Lp(a). EPC were isolated by adherence culture and identified by binding of UEA-1, and uptake of acetylated low density lipoprotein (ac-LDL). The abilities of survival, migration and adherence were detected by the MTT, Transwell and gelatin adherence assays respectively. The total length of the tube structures in each photograph was measured using Adobe Photoshop software 7.0. **Results** Lp(a) dose-dependently decreased the survival rate of EPC, 100 mg/L Lp(a) reduced it significantly and the maximum injury concentration was 300 mg/L. A significantly reduced migratory rate of EPC could be seen after treatment with 1 mg/L Lp(a), the count of the migratory cells was less than 1/6 of the control, so 1/9 for 10 mg/L Lp(a) and 1/14 for 300 mg/L Lp(a). EPC treated with Lp(a) showed a dose-dependent decrease of adhesion to gelatin. 1 mg/L Lp(a) markedly decreased the number of adhesive cells (145.2 ± 8.4/every field vs 115.2 ± 12.6/every field, $P < 0.05$, $n = 5$). When EPC were exposed to 10 or 100 mg/L Lp(a), the capability of adhesion had further descended. When at 300 mg/L, it was remarkably descent to 1/16 of control. Treatment with 10 mg/L Lp(a) impaired the ability of EPC to form tube str-

[收稿日期] 2013-08-02

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81070221/H0215)

[作者简介] 胡毅敏,大专,研究方向为心血管病学, E-mail 为 13926924820@163.com。张凯,硕士,研究方向为心血管病学, E-mail 为 251981416@qq.com。通讯作者王佐,博士,教授,研究方向为动脉粥样硬化发病机制与防治, E-mail 为 smt121101@163.com。

uctures. EPC cultivated with 100 mg/L had presented decreased tube formation and was less than 1/4 of control (36.34 ± 1.54 mm/field vs 8.76 ± 0.62 mm/field, $P < 0.001$, $n = 5$), and when incubated at 300 mg/L of Lp(a), the integrity tube structure was severely disrupted. After treated with 100 mg/L of Lp(a), not only the EPC colony-forming was decreased (10.2 ± 1.3 vs 3.1 ± 0.4 , $P < 0.01$, $n = 5$) but also the growth of the colony-forming was inhibited. **Conclusions** Lp(a) inhibited proliferation, migration, adhesion, vasogenesis, colony-forming capacity of EPC in a dose-dependent manner.

内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPC)是一种血管内皮细胞的前体细胞,血管损伤后,EPC可移动并结合到血管损伤部位,抑制新生内膜增生^[1,2],冠心病患者EPC的数目及迁移、新生血管化等功能均受损^[3],EPC注入肢体或心肌缺血的受者体内,可增加血管新生,改善缺血脏器功能^[4]。EPC的数目成为心血管疾病发病和致死独立预测指标和干预靶标^[5]。但绝大多数动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)危险因素,如血脂异常、糖尿病、高血压、同型半胱氨酸等都不同程度地对循环EPC数目及其生物学功能产生不利的作用,EPC数目明显与As危险因子的总和呈负性相关关系^[6],血浆高水平脂蛋白(a)[lipoprotein(a), Lp(a)]被认为是As的独立危险因素,然而Lp(a)与EPC的关系并不清楚,且尚无任何报道。

氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)可对EPC产生明显的毒害作用。ox-LDL抑制EPC对缺血组织治疗性血管新生作用^[7];体外研究发现经ox-LDL处理后,EPC的迁移、黏附、血管形成能力均受到损害,增殖能力下降,严重时出现细胞凋亡^[8-11]。由于Lp(a)在结构、脂肪酸组成和抗氧化剂含量及体外氧化行为均与低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)相似^[12],且载脂蛋白(a)上的环柄V为氧化磷脂专一结合位点,使Lp(a)更容易被氧化^[13],氧化应激减少EPC数目,损伤其生物学功能^[14]。我们据此推测Lp(a)有对EPC产生损伤作用的可能性。故本研究拟从存活、克隆形成能力、迁移、黏附、血管形成能力等方面研究Lp(a)对EPC的损伤作用,为阐明Lp(a)与As之间的关系提供新的实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物和试剂

两周龄大小的昆明种属小白鼠由南华大学实验动物部提供,DMEM培养基购自Gibco公司,Lp(a)购自American Research Products公司,胎牛血清购自元亨圣马生物技术研究所,其他试剂均为国产分析纯。

1.2 骨髓EPC的分离培养及实验分组

用断颈法处死2周龄小鼠,无菌条件下取出双下

肢胫骨和腓骨,用M199液反复冲洗骨髓腔得细胞悬液,以密度梯度离心法(2000 r/min 离心15 min)分离单个核细胞,EGM-2培养基中重浮接种于0.1%明胶包被的培养瓶,37℃、5%CO₂条件下培养。72 h后将未贴壁细胞移植入另一明胶包被的培养瓶,继续培养,待细胞完全贴壁后更换培养基,每隔3天换液1次,第12天收集2次贴壁细胞供实验使用,显微镜下观察并摄像记录。待培养瓶中的EPC基本长满后,即可用来实验,首先用2.5 g/L胰蛋白酶进行消化处理,细胞重悬直至单细胞悬液再接种到96孔板或24孔培养板。细胞贴壁后,将对数生长期的细胞进行分组;对照组为加等量含200 μmol/L EDTA的全培养液,其余各组分别加1、10、100、300及600 mg/L的Lp(a)处理。

1.3 EPC鉴定

培养的P1代EPC消化传代时,以 1×10^5 /cm²密度接种到预先放置了玻片的24孔细胞培养板中。细胞培养1~3天后在倒置显微镜下观察,待细胞生长至50%的细胞生长对数期。待测孔内加入5 μL 10 mg/L Dil-ac-LDL或10 mg/L UEA-1-FITC。上述步骤完成后即可在37℃、5%CO₂下孵育2~4 h。小心吸取上层培养液,加入PBS浸洗5 min。往每个培养孔内加入4℃预冷的1%多聚甲醛1 mL固定10 min。PBS洗片,DAPI核复染,荧光显微镜下观察,摄像。镜下Dil-ac-LDL呈红色荧光,FITC-UEA-1则为绿色荧光,细胞核呈蓝色荧光。红、绿荧光两色重叠的细胞可判定为EPC。

1.4 细胞存活分析

以MTT法测定细胞的生存情况。对各培养瓶内的细胞采用0.25%胰蛋白酶进行消化处理,显微镜下对EPC计数后,在包被有明胶96孔培养板的实验孔内加入 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$ cells/L EPC,体积控制在200 μL,培养48 h后每孔加5 g/L MTT,体积10 μL,在37℃、5%CO₂培养箱内培养4 h后,弃上清液,每孔再加入150 μL二甲基亚砷,微量振荡器上充分振荡混匀10 min,最后在酶标仪上490 nm测定OD值。

1.5 细胞迁移分析

收集生长良好的贴壁细胞并在镜下计数,将 1×10^8 cells/L EPC 1.5 mL悬液注入上室,将含100 μg/L SDF-1α 2.6 mL培养液注入Transwell下室。继续在培

养箱中培养 24 h, 然后取出上室槽, 以酒精棉球擦掉上室膜层面上未迁移的细胞, 95% 酒精固定 10 min, 苏木素染色 5 min, 随机选择 3 个连续显微镜视野(放大倍数为 100×)计数迁移到聚碳酸酯膜下室面镜下可见变形的迁移的细胞后, 对细胞计数, 取平均值。

1.6 细胞黏附测定

取倒置显微镜下生长状况良好的 EPC, 以 0.25% 胰酶消化, 并在显微镜下计数, 将 1×10^8 cells/L EPC 2 mL 悬液接种于 6 孔培养板, 37°C、5% CO₂ 培养条件下孵育 48 h, 再以 0.25% 胰酶消化, 取相同数量的 EPC 接种于包裹有明胶的盖玻片, 37°C、5% CO₂ 培养箱培养 30 min, 以 PBS 洗掉未贴壁黏附的细胞, 在显微镜下随机选择 3 个视野, 对贴壁细胞进行计数, 取其平均值。

1.7 EPC 体外成血管分析

EPC 血管生成能力用体外血管生成试剂盒基质胶进行检测分析。首先将用 10× 基质胶稀释液稀释的 ECM 置于 4°C 下解冻过夜, 按 900 μL ECM 胶液与 100 μL ECM 10× 稀释液的比例混合, 并在微型振荡器上充分混匀。然后用微量加样器取适量等体积的混合液至 24 孔培养板, 每孔 200 μL, 37°C 孵育 1 h 直至成胶即可。0.25% 胰酶消化体外增殖的 EPC, 用含有 0.5% BAS 和 VEGF (100 μg/L) 的 EBM-2 培养液培养, 调整细胞数为 1×10^8 /L, 接种于 ECM 胶上(每孔 200 μL)。37°C 孵育 12 h, 在 200 倍倒置显微镜下观察血管生成情况, 当细胞拉长变形, 长度为宽度的

4 倍时即可被认为管状结构形成。随机选择 6 个视野中的血管网, 用显微镜拍摄。每个血管结构的总长度用 Adobe Photoshop 7.0 软件测量。

1.8 细胞克隆形成分析

贴壁法培养 EPC 3~5 天, 镜下观察单个细胞克隆形状, 计数并观测初级 EPC 克隆的生长能力。次级克隆形成能力分析采用 0.25% 胰酶从杂交瘤皿小孔内消化初级 EPC 克隆, 以每毫升 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$ 个 EPC 接种至明胶包被的 6 孔板。计数次级 EPC 克隆。

1.9 统计学方法

实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用方差分析及 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 判定差异的显著性。

2 结果

2.1 小鼠骨髓 EPC 摄取 ac-LDL 和结合 UEA-1 的鉴定

荧光显微镜下, 可见有较多的骨髓 EPC 吞噬 ac-LDL, 在 543 nm 激光激发下, 可见 DiI 标记的红色 ac-LDL 呈颗粒状分布于 BM-EPC 胞浆中(图 1A)。488 nm 激光激发下可见绿色荧光分布于整个细胞表面, 证明 UEA-1 可以结合在 BM-EPC 的细胞膜上。蓝色荧光激发下可见 DAPI 标记的细胞核(图 1B)。两种荧光下叠加为橙色(图 1C), 说明该细胞可以同时吞噬 ac-LDL 并结合 UEA-1, 符合 EPC 的结构与功能特征。

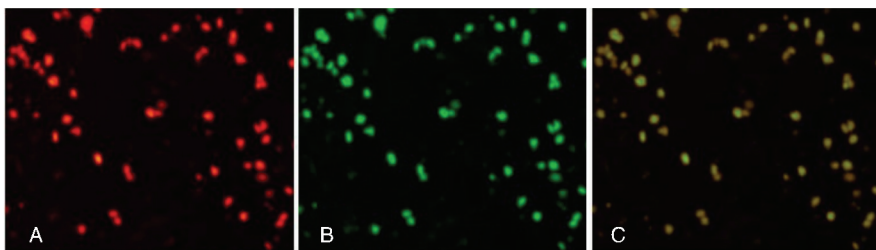


图 1. 小鼠骨髓 EPC 的鉴定(10×)

Figure 1. Identification of mouse bone-marrow derived endothelial progenitor cells

2.2 Lp(a) 损伤小鼠骨髓 EPC 的存活

对照组小鼠骨髓 EPC 生长良好, 悬浮的细胞较少, 大部分细胞贴壁并呈铺路石样铺满整个孔底; 10 mg/L 和 100 mg/L Lp(a) 开始对 EPC 的生长产生一定的损伤作用, 细胞之间开始出现空隙, 部分细胞由于肿胀而使轮廓增大, 悬浮细胞增多, 100 mg/L Lp(a) 对 EPC 产生的损伤作用显著 ($P < 0.05, n = 3$); 当 Lp(a) 浓度达到 300 mg/L 时, Lp(a) 对 EPC 的损伤作用急速加大 ($P < 0.01$), 细胞之间的连接几乎破

坏殆尽, 大量的悬浮细胞出现, 细胞由于萎缩而成圆形, OD₄₅₀ 值下降 5 倍; 600 mg/L Lp(a) 作用效果与 300 mg/L Lp(a) 作用效果类似, 说明 300 mg/L Lp(a) 为小鼠骨髓 EPC 的最大破坏剂量(图 2)。

2.3 Lp(a) 损伤小鼠骨髓 EPC 的迁移

显微镜下可见对照组有大量的细胞迁移, 经 1 mg/L Lp(a) 处理后, 迁移到下槽的细胞数有所减少 ($P < 0.05, n = 3$); Lp(a) 浓度达到 10 mg/L 时, 迁移到下槽的细胞数目大大减少, 其迁移细胞数不到对

对照组的 1/6; Lp(a) 浓度为 100 mg/L 时, 其迁移细胞数约为对照组的 1/9; Lp(a) 浓度为 300 mg/L 时, 其迁移细胞数约为对照组的 1/14; Lp(a) 浓度为 600

mg/L 时, 其迁移细胞数约为对照组的 1/30, 平均每个视野约 4 个迁移的细胞, 远少于对照组平均每个视野 125 个细胞(图 3)。

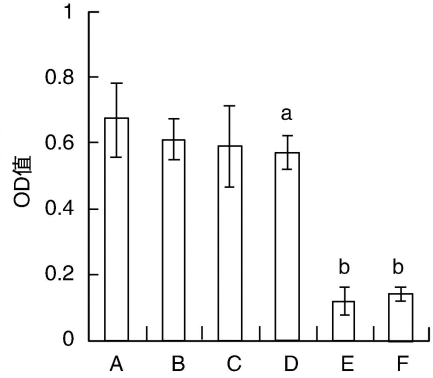
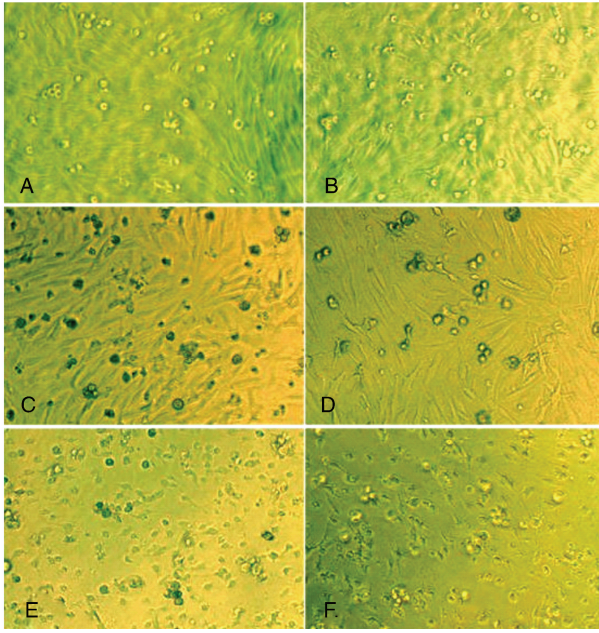


图 2. 不同浓度 Lp(a) 对小鼠骨髓 EPC 存活的影响 (n=3, 10 ×) A 为对照组, B-F 分别为 1、10、100、300 及 600 mg/L Lp(a) 处理组。a 为 P<0.05, 与对照组比较; b 为 P<0.01, 与 100 mg/L Lp(a) 处理组比较。

Figure 2. Effects of different concentration lipoprotein (a) on vitality of mouse bone-marrow derived endothelial progenitor cells

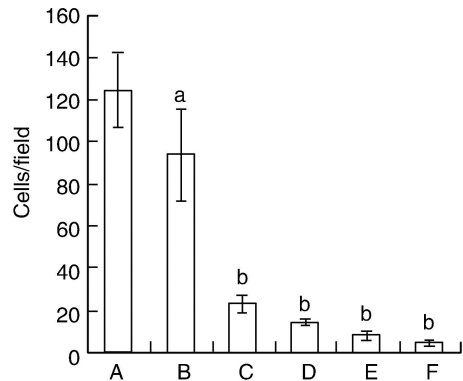
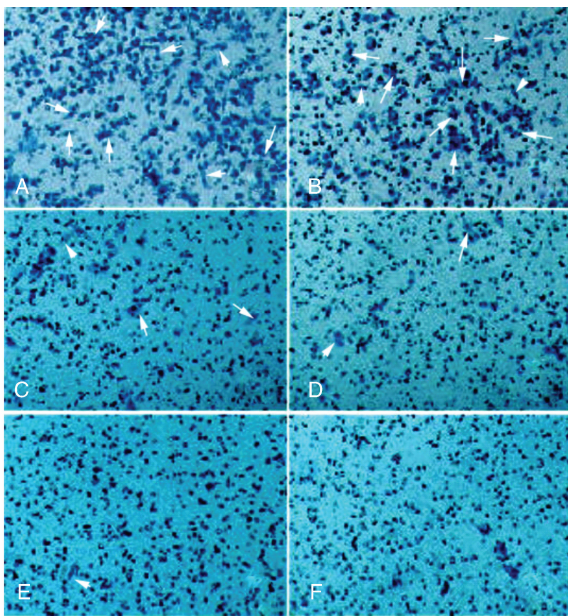


图 3. Lp(a) 损伤小鼠骨髓 EPC 的迁移 (10 ×) A 为对照组, B-F 分别为 1、10、100、300 及 600 mg/L Lp(a) 处理组。a 为 P<0.05, b 为 P<0.01, 与对照组比较。箭头所示为迁移到下室的 EPC。

Figure 3. Lipoprotein (a) injury migration of mouse bone-marrow derived endothelial progenitor cells

2.4 Lp(a) 损伤小鼠骨髓 EPC 的克隆形成

小鼠骨髓 EPC 培养 3 天时即可见单个细胞克隆的形成, 到第 7 天时更加明显。其以一团细胞为

中心, 类似胚胎形成时期的血岛, 其周围游离出许多呈梭形、圆形细胞。取第 4 天的细胞进行观察, 可见对照组由于在条件培养基的刺激下, 能形成较多

的 EPC 克隆,每个视野下多达 10 个。经 100 mg/L Lp(a) 处理后,不但克隆数目明显减少(10.2 ± 1.3 比 3.1 ± 0.4 , $P < 0.01$, $n = 5$),而且克隆生长明显受

到损伤,从克隆群落形状来看,其明显偏小,群落中的细胞明显萎缩,向周边克隆扩展的能力下降,可明显损伤 EPC 克隆的形成(图 4)。

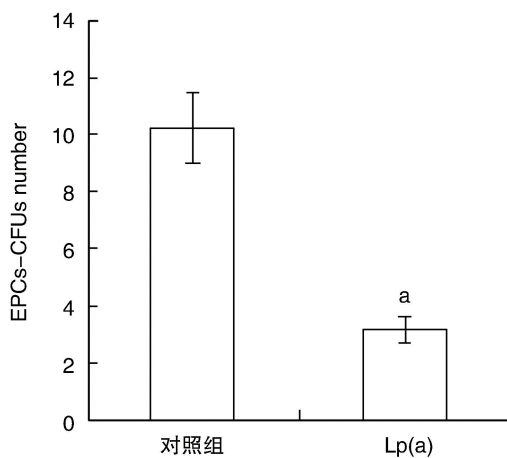
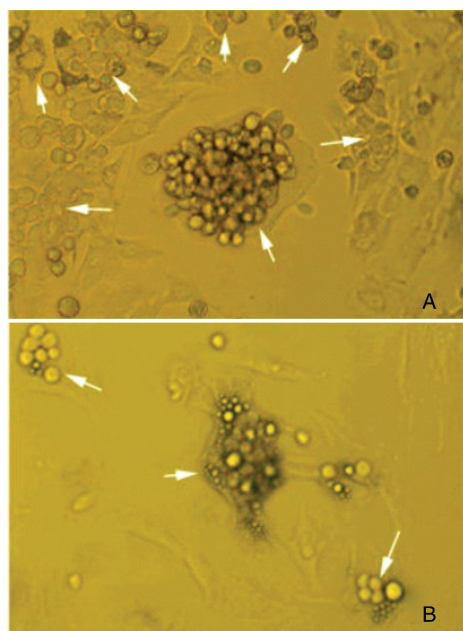


图 4. Lp(a) 损伤小鼠骨髓 EPC 的克隆形成 ($n = 5, 10 \times$) A 为对照组, B 为 100 mg/L Lp(a) 处理组。a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。箭号所示为 EPC 的单个细胞克隆。

A 为对照组, B 为 100 mg/L Lp(a) 处理组。a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

Figure 4. Lipoprotein(a) injury clone-form-units of mouse bone-marrow derived endothelial progenitor cells

2.5 Lp(a) 损伤小鼠骨髓 EPC 的黏附

对照组可见较多的细胞黏附;1 mg/L Lp(a) 可明显减少 EPC 黏附细胞数目 (145.2 ± 8.4 个/视野比 115.2 ± 12.6 个/视野, $P < 0.05$, $n = 5$);当 Lp(a) 的浓度达到 10 mg/L 时 EPC 黏附数目进一步下降,下降到对照组的 1/2;当 Lp(a) 的浓度达到 100

mg/L 时 EPC 黏附数目下降到对照组的约 1/3;当 Lp(a) 的浓度达到 300 mg/L 时 EPC 黏附数目下降最显著,其下降到对照组的约 1/16;600 mg/L Lp(a) 作用效果与 300 mg/L Lp(a) 作用效果无差异,说明 300 mg/L Lp(a) 已经对 EPC 黏附产生最大的损伤效用(图 5)。

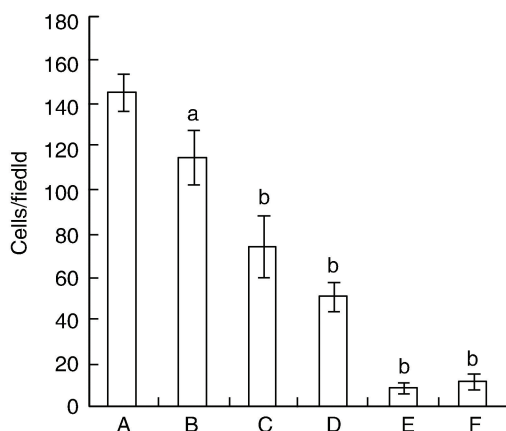
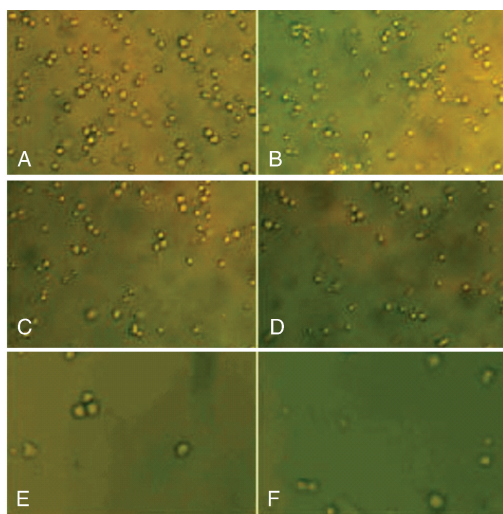


图 5. Lp(a) 损伤小鼠骨髓 EPC 的黏附 ($10 \times$) A 为对照组, B-F 分别为 1、10、100、300 及 600 mg/L Lp(a) 处理组。a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

A 为对照组, B-F 分别为 1、10、100、300 及 600 mg/L Lp(a) 处理组。a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

Figure 5. Lipoprotein(a) injury adhesion of mouse bone-marrow derived endothelial progenitor cells

2.6 Lp(a) 损伤小鼠骨髓 EPC 的血管形成

高倍显微镜下对照组可见内皮样细胞伸展、变形呈扁平状,细胞之间相互连接,形成血管样结构。10 mg/L Lp(a)已经显示对 EPC 的血管形成产生明显损伤效用($P < 0.01, n = 5$);随着 Lp(a)浓度的进一步加大,其对 EPC 的血管形成损伤作用越强。当 Lp(a)的浓度增加到 100 mg/L 时,EPC 的血管形成大大减弱,已经不到对照组的 1/4(每个视野 36.34

± 1.54 mm 比 8.76 ± 0.62 mm, $P < 0.001, n = 5$);当 Lp(a)的浓度增加到 300 mg/L 时,差不多已经见不到完整的血管样结构,其血管形成远低于对照组(每个视野 36.34 ± 1.54 mm 比 3.75 ± 0.14 mm, $P < 0.001, n = 5$);当 Lp(a)的浓度增加到 600 mg/L 时,镜下显示都是一些较短的碎片,几乎看不到血管形状的轮廓,其成血管能力在各个浓度中为最低(图 6)。

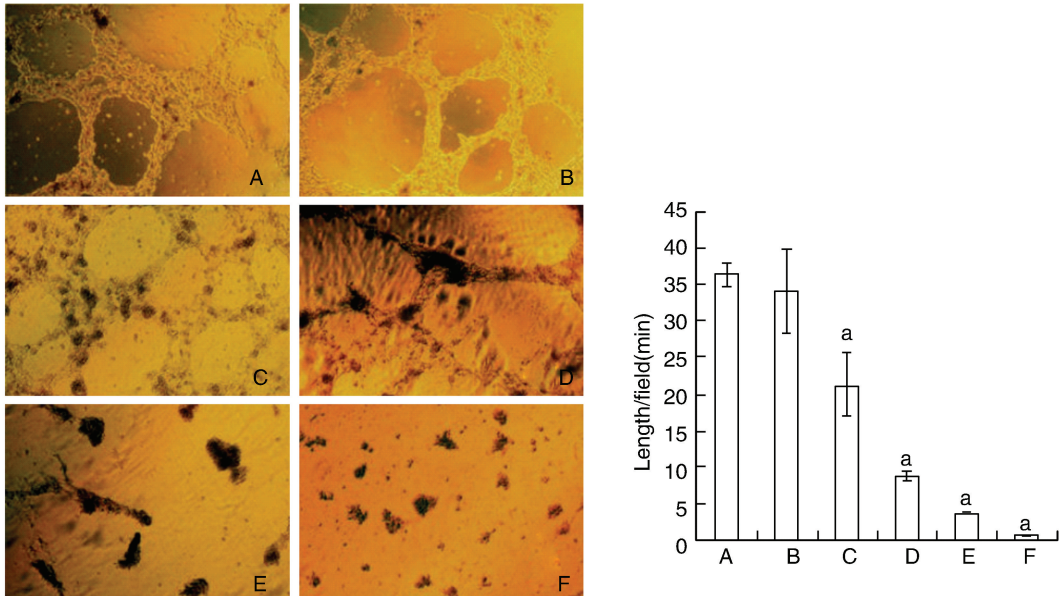


图 6. Lp(a) 损伤小鼠骨髓 EPC 的血管形成 (20 ×) A 为对照组, B-F 分别为 1、10、100、300 及 600 mg/L Lp(a) 处理组。a 为 $P < 0.001$, 与对照组比较。

Figure 6. Lipoprotein (a) injury tubule-like formation of mouse bone-marrow derived endothelial progenitor cells

3 讨论

Lp(a) 是 1963 年研究 β 脂蛋白变异时从血浆中分离出来的一种与低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 相似的蛋白质, 其由载脂蛋白 (a) 和载脂蛋白 B100 经二硫键连接而成。人群中血浆 Lp(a) 水平差别很大, 当血浆 Lp(a) 浓度达到 300 mg/L 时, 心血管疾病发生的危险性升高数倍, 因而高水平 Lp(a) 被认为是 As 的独立危险因子^[15]。

ox-LDL 能损伤 EPC 增殖^[8-11], 由于 Lp(a) 在结构、脂肪酸组成和抗氧化剂含量及体外氧化行为均与 LDL 相似^[12], 且载脂蛋白 (a) 上的环柄 V 为氧化磷脂专一结合位点, 使 Lp(a) 容易被氧化^[16], 而氧化磷脂能引起氧化应激^[16]。体外和临床研究证据显示, 氧化应激减少 EPC 数目, 损伤其生物学功能^[14]。本研究以实验手段证实了 Lp(a) 对 EPC 的损伤作用, 其损伤作用显示出几个特点: 其一是对

EPC 损伤的广泛性, Lp(a) 几乎能对 EPC 的存活与增殖、黏附、克隆形成能力、迁移、成血管能力这些包括了 EPC 生物学功能均有损伤作用; 其二是表现出较强的浓度依赖性, 在浓度依赖性中特别值得注意的是 300 mg/L 这个浓度。在此浓度下, Lp(a) 对 EPC 无论是存活与增殖, 还是迁移、黏附、克隆形成能力及血管形成能力都接近于最大的损伤效用, 特别是对 EPC 存活的影响更是如此, 当 Lp(a) 浓度达到 300 mg/L 时, Lp(a) 对 EPC 的损伤作用急速加大, 细胞之间的连接几乎破坏殆尽, 临床上把大于 300 mg/L Lp(a) 水平定义为高 Lp(a) 浓度, 从其对于 EPC 的损伤作用来看, 这个浓度的划分是合理的, 我们的实验结果很好地为临床高 Lp(a) 浓度的划分提供了实验证据。Lp(a) 对 EPC 的成血管能力和黏附能力的损伤作用也是在 300 mg/L 这个浓度变化最为急剧。Lp(a) 对 EPC 迁移损伤作用对 Lp(a) 浓度要更敏感些, 其变化最为显著的浓度是 10 mg/L。

[参考文献]

- [1] Walter DH, Rittig K, Bahlmann FH, et al. Statin therapy accelerates reendothelialization: a novel effect involving mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells[J]. *Circulation*, 2002, 105 (25): 3 017-024.
- [2] Werner N, Junk S, Laufs U, et al. Intravenous transfusion of endothelial progenitor cells reduces neointima formation after vascular injury[J]. *Circ Res*, 2003, 93 (2): e 17-24.
- [3] Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease[J]. *Circ Res*, 2001, 89 (1): E1-E7.
- [4] Wu YJ, Ip JE, Huang J, et al. Essential role of ICAM-1/CD18 in mediating EPCs recruitment, angiogenesis, and repair to the infarcted myocardium[J]. *Circ Res*, 2006, 99 (3): 315-322.
- [5] Takashi U, Yukihito H. Endothelial progenitor cells: therapeutic target for cardiovascular diseases[J]. *J Pharmacol Sci*, 2008, 108 (1): 1-6.
- [6] Hill JM, Zalos G, Halcox JP, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk[J]. *N Engl J Med*, 2003, 348 (6): 593-600.
- [7] Zhou B, Ma FX, Liu PX, et al. Impaired therapeutic vasculogenesis by transplantation of oxLDL-treated endothelial progenitor cells[J]. *J Lipid Res*, 2007, 48 (3): 518-527.
- [8] Wu Y, Wang Q, Cheng L, et al. Effect of oxidized low-density lipoprotein on survival and function of endothelial progenitor cell mediated by p38 signal pathway[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2009, 53 (2): 151-156.
- [9] 李秀丽, 谢秀梅, 陈晓彬, 等. 氧化型低密度脂蛋白对人脐静脉内皮祖细胞增殖、凋亡及 bcl-2 表达的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, 15 (10): 755-758.
- [10] 朱军慧, 陈君柱, 王兴祥, 等. 氧化低密度脂蛋白对外周血内皮祖细胞数量和功能的影响[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2005, 21 (1): 13-17.
- [11] 刘应才, 胡国勇, 王艳, 等. ox-LDL 诱导人外周血内皮祖细胞凋亡及 17 β -雌二醇的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2010, 20 (14): 2 132-138.
- [12] Serdar Z, Sarandöl E, Dirican M, et al. Relation between lipoprotein (a) and in vitro oxidation of apolipoprotein B-containing lipoproteins [J]. *Clin Biochem*, 2000, 33 (4): 303-309.
- [13] Klezovitch O, Edelstein C, Scanu AM. Stimulation of interleukin-8 production in human THP-1 macrophages by apolipoprotein(a). Evidence for a critical involvement of elements in its C terminal domain[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276 (50): 46 864-869.
- [14] Tousoulis D, Andreou I, Antoniadis C, et al. Role of inflammation and oxidative stress in endothelial progenitor cell function and mobilization: therapeutic implications for cardiovascular diseases[J]. *Atherosclerosis*, 2008, 201 (2): 236-247.
- [15] Nguyen TT, Ellefson RD, Hodge DO, et al. Predictive value of electrophoretically detected lipoprotein (a) for coronary heart disease and cerebrovascular disease in a communitybased cohort of 9936 men and women[J]. *Circulation*, 1997, 96 (5): 1 390-397.
- [16] Kono N, Inoue T, Yoshida Y, et al. Protection against oxidative stress-induced hepatic injury by intracellular type II platelet-activating factor acetylhydrolase by metabolism of oxidized phospholipids in vivo[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283 (3): 1 628-636.

(此文编辑 文玉珊)