

ox-LDL 对血管内皮细胞促聚集和促黏附相关分子表达的影响

钟小娟, 陈天伟, 陈元红, 陈芳辉, 李宙雪, 刘丽丽, 刘美岐, 黄起壬

(江西省基础药理学重点实验室 南昌大学药学院药理学教研室, 江西省南昌市 330006)

[关键词] 氧化型低密度脂蛋白; 人脐静脉内皮细胞; 细胞间黏附分子1; 前列环素; 血栓素 A2

[摘要] **目的** 观察血管内皮细胞在不同浓度的氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导及诱导不同时间后内皮细胞促聚集和促黏附活性的动态改变及可能机制。**方法** 将人脐静脉内皮细胞(HUVEC)株接种在6孔培养板,分别加入不同浓度的ox-LDL(50、100和200 mg/L)并孵育不同时间(12、24和48 h)。放射免疫法测定细胞上清液中前列环素(PGI₂)和血栓素 A2(TXA₂)含量;Western blot检测HUVEC中组织因子(TF)、细胞间黏附分子1(ICAM-1)和血管细胞黏附分子1(VCAM-1)的表达。**结果** 量效关系显示,ox-LDL预处理HUVEC 24 h后,ox-LDL呈浓度依赖性促进HUVEC聚集,表现为PGI₂/TXA₂比值显著下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);时效关系显示类似的结果,但以24 h作用最为显著;同时,TF的表达随浓度的升高呈升高趋势。此外,ox-LDL还促进HUVEC黏附,表现为ICAM-1和VCAM-1呈浓度依赖性升高。**结论** ox-LDL可增强HUVEC促聚集和促黏附活性,其机制可能与其分泌的PGI₂/TXA₂下降及上调TF、ICAM-1和VCAM-1的表达有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effects of ox-LDL on the Proaggregation and Proadhesion-related Molecules Expression of Vascular Endothelial Cells

ZHONG Xiao-Juan, CHEN Tian-Wei, CHEN Yuan-Hong, CHEN Fang-Hui, LI Zhou-Xue, LIU Li-Li, LIU Mei-Qi, and HUANG Qi-Ren

(Key Laboratory of Basic Pharmacology in Jiangxi Province & Department of Pharmacology, College of Pharmacy, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

[KEY WORDS] Oxidized Low Density Lipoprotein; Human Umbilical Vein Endothelial Cell; Intercellular Cell Adhesion Molecule-1; Prostacyclin; Thromboxane A2

[ABSTRACT] **Aim** The effect of oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) on proaggregation and proadhesion in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) and the underlying mechanisms were observed. **Methods** HUVEC in 6-well plate were treated with varied concentrations of ox-LDL (50, 100 and 200 mg/L) for 12 h, 24 h and 48 h, respectively. After that, the levels of prostacyclin (PGI₂) and thromboxane A2 (TXA₂) in supernatants were detected by radioimmunoassay. Finally, the expression levels of tissue factor (TF), intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) were examined by Western blot. **Results** Dose-response assay showed that the proaggregation of HUVEC induced by ox-LDL was enhanced in a concentration-dependent manner by treatment with ox-LDL for 24 h, presenting that the ratios of PGI₂/TXA₂ markedly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The similar results from time-course relationship assay were obtained. In addition, the expression levels of TF significantly increased in a fashion of concentration-dependence. More importantly, the proadhesion of HUVEC was enhanced, displaying the expression levels of ICAM-1 and VCAM-1 were significantly increased in a concentration-dependent fashion.

Conclusions ox-LDL enhances the activities of proaggregation and proadhesion in HUVEC in a concentration-dependent manner. The underlying mechanisms might downregulate the value of PGI₂/TXA₂ and upregulate the expression of TF, ICAM-1 and VCAM-1.

[收稿日期] 2013-10-14

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81070633、30860111、30660058);江西省自然科学基金资助项目(0640040)

[作者简介] 钟小娟, 硕士研究生, 研究方向为代谢性疾病药物药理学, E-mail 为 zxiaojuan8810@126.com。陈芳辉, 硕士, 研究方向为内分泌和代谢性疾病药物药理学。通讯作者黄起壬, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为内分泌和代谢性疾病药物药理学, E-mail 为 qrhuang@ncu.edu.cn。

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 是一个多因素参与、多基因调控的复杂病理生理过程,其中血管内皮细胞功能失常是 As 形成关键的初始环节^[1]。大量研究表明血管内皮细胞的慢性炎症是 As 形成的必要条件,内皮细胞可表达黏附和趋化因子来招募单核细胞到血管表面刺激形成 As^[2]。在这个过程中,组织因子 (tissue factor, TF)、血栓素 A2 (thromboxane A2, TXA2)、血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 引起内皮抗凝和抗黏附功能失调,加快 As 形成^[3]。已有报道表明,VCAM-1、细胞间黏附分子 1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1) 的基因缺失或表达下调将降低 As 的形成^[4]。目前,关于氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 在 As 发病中的作用有大量文献报道。郭卿等^[5]研究表明,内皮细胞在发生脂质过氧化过程中功能逐渐减退,且细胞表面超结构发生了改变,并随时间推移呈现动态变化;研究还发现 ox-LDL/HDL 比值能预测和反映同型半胱氨酸诱导 As 形成及进展程度^[6]。但是,有关 ox-LDL 对血管内皮细胞分泌功能及促凝集和促黏附相关分子表达的动态研究尚未见报道。为此,本研究拟在体外培养人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC),通过不同浓度 ox-LDL 诱导不同时间,观察内皮细胞促聚集和促黏附相关分子表达的动态改变及其可能机制,为更深入理解 As 形成的分子机制以及寻找抗 As 药物新的分子靶点奠定基础。

1 材料和方法

1.1 试剂

HUVEC 株购自 ATCC;DMEM 培养基购自 Gibco BRL 公司;胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司;胰酶、二甲基亚砷 (Dimethyl sulfide, DMSO)、抑肽酶、亮抑肽酶购自 Sigma 公司;二硫苏糖醇 (Dithiothreitol, DTT) 购自 Serva 公司;抗 VCAM-1 抗体、抗 ICAM-1 抗体、抗 TF 抗体购自 Santa Cruz 公司;Goat anti-rat IgG/HRP (辣根过氧化物酶) 购自北京中杉生物技术有限公司;一氧化氮测定试剂盒购自北京碧云天生物技术有限公司;6-酮前列腺素-1 α (6-keto-prostaglandin F1 α , 6-keto-PGF1 α)、血栓素 B2 (Thromboxane B2, TXB2) 放射免疫试剂盒购自北京东亚免疫技术研究所。

1.2 ox-LDL 的制备及鉴定

取新鲜正常人血清,用梯度超速离心法分离低

密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL)^[7],将提取得到的 LDL 置于 10 $\mu\text{mol/L}$ CuSO₄ 的 PBS 溶液 (pH = 7.2) 中,37 $^{\circ}\text{C}$ 透析 20 h,氧化修饰。修饰后的 LDL 置于含 100 $\mu\text{mol/L}$ EDTA 的 PBS 中,4 $^{\circ}\text{C}$ 透析 24 h,每 4 h 换一次透析液,终止氧化。超滤除菌后,BCA 法定量。用硫代巴比妥酸反应物含量来鉴定 LDL 修饰程度。样品或丙二醛标准品 0.1 mL 加入到 2.9 mL 复合液中 (0.92 mol/L CCl₃COOH, 0.026 mol/L C₄H₄N₂O₂S, 0.25 mol/L HCl), 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中放置 30 min,冷却后测定 OD 值 (波长为 532 nm),得到硫代巴比妥酸反应物含量。用总胆固醇试剂盒测定总胆固醇含量。LDL 的氧化修饰程度以每克胆固醇的硫代巴比妥酸反应物含量来表示。

1.3 细胞培养和分组

参照文献[8]报道的方法进行 HUVEC 培养,实验共分 5 组:正常对照组、LDL 组、50 mg/L ox-LDL 组、100 mg/L ox-LDL 组、200 mg/L ox-LDL 组,每组设复孔。量效关系分析:将 HUVEC 均匀接种在 6 孔培养板上,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 孵育箱中静置培养,待细胞长至 90% 汇合度时,分别加入不同浓度的 ox-LDL (50、100 和 200 mg/L) 和 LDL (200 mg/L) 孵育 24 h,正常对照组只加等量的 DMEM。时效关系分析:将 HUVEC 均匀接种在 6 孔培养板上,待细胞长至 90% 汇合度时,加入 100 mg/L ox-LDL 分别孵育细胞 0、12、24 及 48 h,以选择最佳作用时间。

1.4 前列环素和 TXA2 含量的检测

由于前列环素 (prostacyclin, PGI₂) 和 TXA₂ 很不稳定,直接测量困难,故分别以其稳定的代谢产物 6-keto-PGF1 α 和 TXB₂ 的含量来表示 PGI₂、TXA₂ 的含量。将 HUVEC 接种于 6 孔板,按实验分组预处理细胞 24 h 后,分别收集各组细胞培养液,指标检测采用放射免疫法,严格按试剂盒说明书操作。

1.5 Western blot 检测 TF、ICAM-1 和 VCAM-1 的蛋白表达

按实验分组预处理细胞,收集处理后的细胞,用预冷的 PBS 洗 3 遍。加预冷的 lysing buffer, 4 $^{\circ}\text{C}$ 裂解 30 min 并转移至预冷的 Eppendorf 管中。离心后,取上清,收集蛋白,BCA 法测定浓度。取蛋白上样量为 30 μg ,经 SDS-PAGE 凝胶,湿转致 PVDF 膜,5% 脱脂牛奶封闭 2 h, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,用 TBST 漂洗 3 次,与辣根过氧化物酶偶联的二抗室温孵育 1 h,洗膜上的二抗 3 次,每次 20 min,膜在 ECL 中反应 1 min 后,置暗室曝光,显影、定影。实验重复 3 次。将 X 光胶片扫描后,使用 Quantity One 软件进行灰度分析。将各组所得蛋白条带的综合密度分别除以对

应组 β -actin 的综合密度,再以正常对照组所得光密度比值为参照(定为 1),其他各组的光密度比值除以正常对照组光密度比值后所得倍数作为蛋白表达水平。

1.6 统计学方法

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS17.0 进行方差齐性检验、单因素方差分析,组间比较用 LSD 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ox-LDL 的鉴定

LDL 中脂质过氧化物(lipid peroxide, LPO)含量为每克胆固醇中含 $3 \sim 5 \mu\text{mol}$ 硫代巴比妥酸反应物被定义为轻度修饰。LDL 经 $10 \mu\text{mol/L}$ CuSO_4 的 PBS 溶液处理 20 h 后,测得每克胆固醇中硫代巴比妥酸反应物含量达到 $19.3 \pm 1.5 \mu\text{mol}$,其颜色由淡黄变为乳白,达到氧化修饰程度;而未经氧化修饰的 LDL 中每克胆固醇含硫代巴比妥酸反应物为 $2.1 \pm 0.3 \mu\text{mol}$,结果提示 LDL 被成功氧化修饰。

2.2 不同浓度 ox-LDL 对 PGI₂ 和 TXA₂ 含量的影响

ox-LDL 预处理细胞 24 h 后, HUVEC 分泌 6-keto-PGF 1α 含量显著下降,而 TXB₂ 含量显著升高,即内皮细胞分泌 PGI₂ 含量显著下降,而 TXA₂ 含量显著升高。50、100 和 200 mg/L ox-LDL 干预后 PGI₂/TXA₂ 比值分别为 0.54、0.43、0.24,与 LDL 组 (PGI₂/TXA₂ = 1.08) 相比 PGI₂/TXA₂ 比值均显著下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),且 PGI₂/TXA₂ 比值对 ox-LDL 的作用呈现浓度依赖性降低(图 1)。

2.3 ox-LDL 对 PGI₂ 和 TXA₂ 含量影响的时效关系

100 mg/L ox-LDL 分别孵育细胞 12、24 和 48 h,内皮细胞分泌 PGI₂ 含量分别为 $42.7 \pm 5.6 \text{ ng/L}$ 、 $31.9 \pm 4.2 \text{ ng/L}$ 、 $33.7 \pm 4.6 \text{ ng/L}$,与 0 h ($68.5 \pm 7.6 \text{ ng/L}$) 相比其含量显著下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);内皮细胞分泌 TXA₂ 含量分别为 $72.4 \pm 6.7 \text{ ng/L}$ 、 $96.7 \pm 7.9 \text{ ng/L}$ 、 $98.4 \pm 8.6 \text{ ng/L}$,与 0 h ($49.6 \pm 5.3 \text{ ng/L}$) 相比其含量显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),其中 ox-LDL 孵育 24 h 后,以上两种指标的变化最为显著,故后续的实验选择 ox-LDL 最佳作用时间为 24 h(图 2)。

2.4 ox-LDL 诱导 HUVEC 中 TF 的表达

50、100 和 200 mg/L ox-LDL 孵育细胞 24 h 后,与 LDL 组相比,ox-LDL 处理后 HUVEC 中 TF 表达

均升高 ($P < 0.05$),其中 100 mg/L ox-LDL 组 TF 表达最高;但 LDL 组 TF 表达与正常对照组相比差异无显著性 ($P > 0.05$;图 3)。

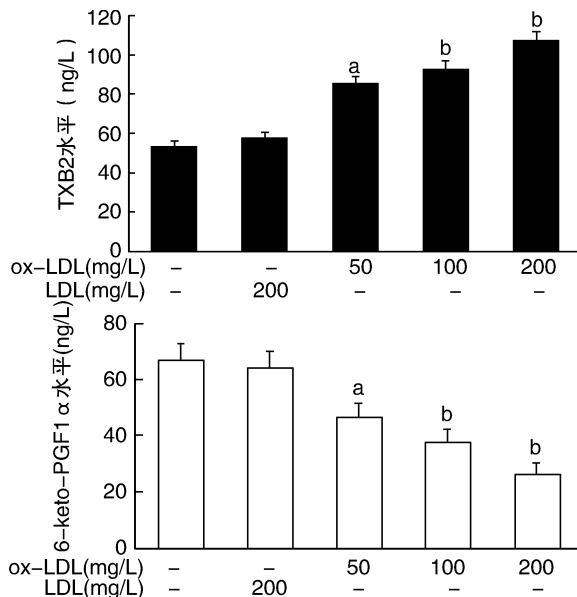


图 1. 不同浓度 ox-LDL 对 HUVEC 6-keto-PGF 1α 、TXB₂ 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$) a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$,与 LDL 组相比。

Figure 1. Effect of different concentration of ox-LDL on expression of 6-keto-PGF 1α and TXB₂ in HUVEC ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

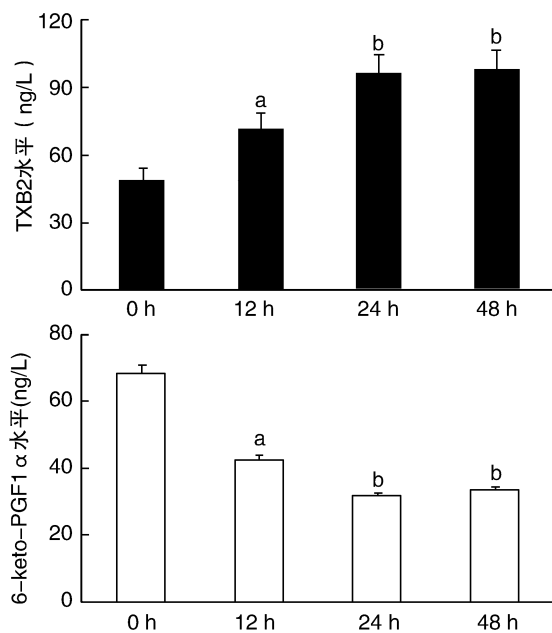


图 2. ox-LDL 对 HUVEC PGI₂ 和 TXA₂ 含量影响的时效关系 ($\bar{x} \pm s, n = 4$) a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$,与 0 h 组相比。

Figure 2. Time-course of 6-keto-PGF 1α and TXB₂ expression in ox-LDL stimulated HUVEC ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

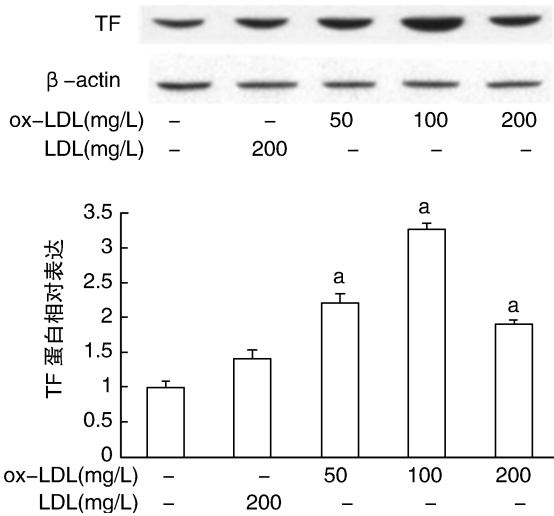


图 3. ox-LDL 对 HUVEC 中 TF 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)
a 为 $P < 0.05$, 与 LDL 组相比。

Figure 3. Effect of ox-LDL on expression of TF in HUVEC ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.5 ox-LDL 诱导 HUVEC 中 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达

50、100 和 200 mg/L ox-LDL 孵育细胞 24 h 后, 与 LDL 组相比, ox-LDL 处理后的 HUVEC 中 ICAM-1 和 VCAM-1 表达均明显增加, 并呈一定的浓度依赖性 ($P < 0.05$); 但 LDL 组 HUVEC 中 ICAM-1 和 VCAM-1 表达与正常对照组相比差异无显著性 ($P > 0.05$; 图 4)。

3 讨论

ox-LDL 在 As 发生发展过程中起着重要作用。目前对于 As 发生的因素已有许多报道, 如胰岛素受体信号通路的激活促使 As 形成^[9]。研究还发现, ox-LDL、炎性细胞因子和氧化应激等能诱导内皮细胞凋亡, 促进 As 形成, 而 As 保护因子如一氧化氮 (nitric oxide, NO) 和抗氧化剂可抑制内皮细胞凋亡^[10]。其原因包括: ox-LDL 具有高度细胞毒作用, 可使内皮细胞的结构和功能受损, 结构受损的内皮细胞间隙增大后, ox-LDL 向内皮下迁移, 血液中的单核细胞等细胞更容易跨内膜迁移; 内皮细胞功能受损后, 表现为细胞分泌功能紊乱, 促使内皮细胞抗凝功能减弱, 表现为促凝物质显著增加, 而抗凝和抗血小板聚集的物质如 NO 和 PGI2 等的生成显著减少; 同时, 内皮损伤后导致胶原暴露, 内皮损伤后胶原暴露, 内皮细胞表达的细胞黏附分子明显增多, 促进单核细胞和淋巴细胞的黏附和随后的跨内皮的迁移^[11]。其次, ox-LDL 可

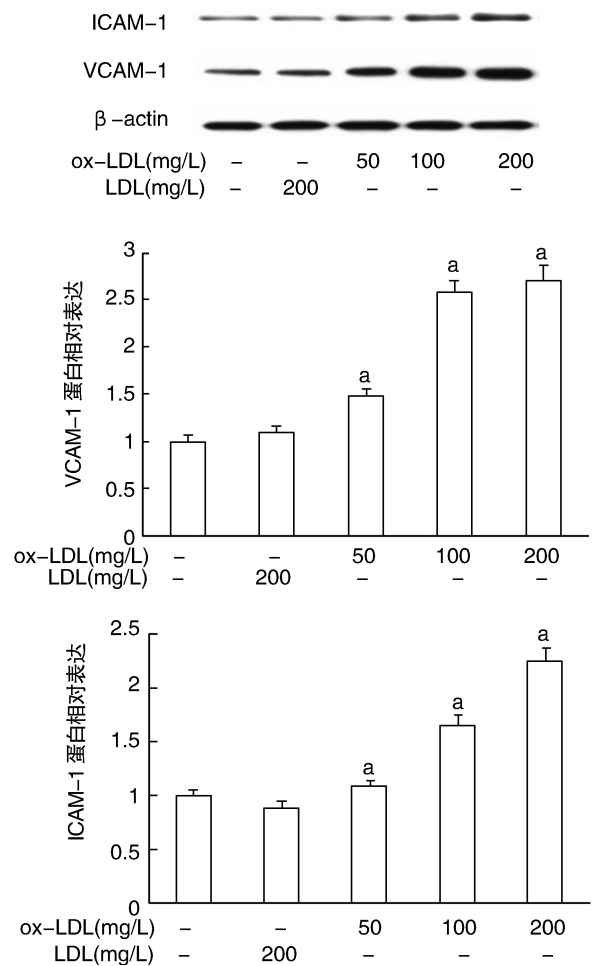


图 4. ox-LDL 对 HUVEC 中 ICAM-1 和 VCAM-1 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$) a 为 $P < 0.05$, 与 LDL 组相比。

Figure 4. Effect of ox-LDL on expression of ICAM-1 and VCAM-1 in HUVEC($\bar{x} \pm s, n = 3$)

促进泡沫细胞形成, 进入内膜下的单核细胞分化为巨噬细胞, 活化后的巨噬细胞通过细胞表面的清道夫受体大量摄取 ox-LDL 进入细胞, 并在细胞内造成胆固醇分布及代谢障碍^[12]。

ox-LDL 对内皮细胞具有细胞毒性作用。因此, 前期预实验已用不同浓度的 ox-LDL 孵育 HUVEC, 通过测定 LDH 释出量和 MTT 法测定细胞活力来观察 ox-LDL 的细胞毒作用。结果显示, 本研究所用浓度的 ox-LDL 对内皮细胞造成的损伤是可逆的, 故本实验所使用的 ox-LDL 浓度和孵育时间是适宜的。

内皮细胞可分泌许多血管活性物质, 包括血管收缩因子(如内皮素 1、TXA2 等)、扩血管因子(如 NO 和 PGI2 等), 在生理状态下, PGI2/TXA2 处于一种动态平衡当中, 使心血管系统处于稳态。生理状态的内皮细胞存在内源性的抗凝机制来抑制血栓的形成、合成和分泌的抗凝物质如 PGI2、NO 等^[13]。

当内皮细胞受到 ox-LDL 的攻击后,就由抗凝活性转化为促凝活性,表现为合成和分泌的促凝集物质如内皮素 1、TXA2 和 TF 等增加,内皮抗凝活性降低。本研究结果显示,不同浓度的 ox-LDL 刺激下,ox-LDL 呈浓度和时间依赖性升高 TXA2 量,抑制 PGI2 的生成,表现为 PGI2/TXA2 比值显著下降,并呈现出浓度依赖性,从而导致内皮细胞抗凝活性降低。同时,ox-LDL 处理后,TF 的表达呈浓度依赖性升高,这说明了 ox-LDL 作用使内皮细胞促凝集活性增加,导致内皮细胞血管活性物质分泌失衡。

ox-LDL 诱导内皮细胞促黏附活性增加,其主要表现为内皮细胞表达的细胞黏附分子显著增多。细胞黏附分子是一类介导细胞与细胞外基质间黏附作用的膜表面糖蛋白,参与人体多种生理、病理过程。高琳琳等^[14]研究已说明蚤休皂苷可以通过抑制内皮细胞黏附分子的表达从而抑制炎症性损伤,达到保护内皮细胞抗 As 的目的。细胞内多种信号通路会引起细胞黏附分子基因的转录和蛋白的表达,导致内皮细胞黏附和迁移,从而产生炎症反应^[15]。有报道称阿魏酸可以通过抑制 NF- κ B 信号途径减轻血管内皮细胞氧自由基增高黏附分子表达,抑制炎症因子导致细胞损伤^[16]。ox-LDL 诱导内皮细胞促黏附活性增加,其主要表现为内皮细胞表达的细胞黏附分子显著增多。本研究中,不同浓度的 ox-LDL 对 HUVEC 的作用下,ox-LDL 呈现浓度依赖性升高 ICAM-1、VCAM-1 表达,使 HUVEC 促黏附活性显著提高,这对于单核细胞的黏附和随后的跨内皮迁移是至关重要的。

综上所述,本研究认为 ox-LDL 可增强 HUVEC 促聚集和促黏附相关分子的表达,其表现在内皮细胞分泌的 PGI2/TXA2 比值下降以及上调 TF、ICAM-1 和 VCAM-1 表达。目前,对于黏附分子及细胞因子在 As 发病中作用及确切机制尚不明确,有待进一步研究和探讨,这也是我们下一步研究的重点。相信随着对黏附分子及其促凝分子在 As 发病中研究的不断深入,通过药物抑制 ox-LDL 含量升高,利用基因工程手段研制各种 ICAM-1、VCAM-1 单抗和抑制黏附分子表达的药物,以及封闭黏附分子有关配体的人工合成药物有可能为临床 As 提供新的治疗方向。

[参考文献]

[1] Elliott JT, Woodward JT, Langenbach KJ, et al. Vascular smooth muscle cell response on thin films of collagen [J]. *Matrix Biol*,

2005, 24 (7): 489-502.

- [2] Ramli J, CalderonArtero P, Block RC, et al. Novel therapeutic targets for preserving a healthy endothelium: strategies for reducing the risk of vascular and cardiovascular disease [J]. *J Cardiol*, 2011, 18 (5): 352-363.
- [3] Little PJ, Chait A, Bobik A. Cellular and cytokine-based inflammatory processes as novel therapeutic targets for the prevention and treatment of atherosclerosis [J]. *Pharmacol Ther*, 2011, 131: 255-268.
- [4] Zhang HP, Zheng FL, Zhao JH, et al. Genistein inhibits ox-LDL-induced VCAM-1, ICAM-1 and MCP-1 expression of HUVECs through heme oxygenase-1 [J]. *Arch Med Res*, 2013, 44 (1): 13-20.
- [5] 郭卿, 刘惠亮, 董敏. 氧化型低密度脂蛋白对豚鼠脐静脉内皮细胞功能及膜表面超微结构的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2011, 19 (1): 34-38.
- [6] 王菊, 杨安宁, 孙炜炜, 等. 氧化低密度脂蛋白与高密度脂蛋白比值在同型半胱氨酸致 ApoE^{-/-} 鼠动脉粥样硬化中的意义 [J]. *中国现代医学杂志*, 2013, 23 (1): 18-21.
- [7] Cominacini L, Garbin U, Davoli A, et al. A simple test for predisposition to LDL oxidation based on the fluorescence development during copper-catalyzed oxidative modification [J]. *J Lipid Res*, 1991, 32 (2): 349-358.
- [8] Huang QR, Li Q, Chen YH, et al. Involvement of anion exchanger-2 in apoptosis of endothelial cells induced by high glucose through an mPTP-ROS-Caspase-3 dependent pathway [J]. *Apoptosis*, 2010, 15 (6): 693-704.
- [9] 陈灿, 刘江华, 祖旭宇, 等. 胰岛素信号通路与动脉粥样硬化 [J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2013, 33 (1): 315-318.
- [10] Huang QQ, Feng HZ, Liu J, et al. Co-expression of skeletal and cardiac troponin T decreases mouse cardiac function [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008, 294 (1): 213-222.
- [11] Nilsson J, Hansson GK. Autoimmunity in atherosclerosis: a protective response losing control [J]. *J Intern Med*, 2008, 263 (5): 464-478.
- [12] 崔淑华. 动脉粥样硬化中巨噬细胞凋亡与内质网应激机制 [J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2011, 31 (4): 315-318.
- [13] Telen MJ. Red blood cell surface adhesion molecules: their possible roles in normal human physiology and disease [J]. *Semin Hematol*, 2000, 37 (2): 130-142.
- [14] 高琳琳, 李福荣, 康莉, 等. 蚤休皂苷对氧化损伤的豚鼠脐静脉内皮细胞 ICAM-1、VCAM-1 表达的影响 [J]. *中国现代医学杂志*, 2009, 19 (13): 1968-972.
- [15] Awad EM, Khan SY, Sokolikova B, et al. Cold induces reactive oxygen species production and activation of the NF-kappa B response in endothelial cells and inflammation in vivo [J]. *J Thromb Haemost*, 2013, 11 (9): 1716-726.
- [16] 沈涛, 朱玉萍, 阮杨, 等. 阿魏酸通过抑制核因子 κ B 信号途径降低肿瘤坏死因子 α 诱导的人血管内皮细胞氧化应激及黏附分子表达 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2013, 21 (5): 385-390.

(此文编辑 文玉珊)