

p38MAPK-eNOS-NO 信号通路在人脐静脉内皮细胞凋亡中的保护作用

孙慧琳¹, 黄志秋¹, 曾海龙¹, 张艺能², 刘一鸣³

(广东药科大学附属第一医院 1.内分泌科,2.中心实验室,3.核医学科,广东省广州市 510080)

[关键词] 胰高血糖素样肽 1; p38MAPK; 人脐静脉内皮细胞; 动脉粥样硬化

[摘要] **目的** 探讨 p38MAPK 信号通路在胰高血糖素样肽 1 (GLP-1) 拮抗人脐静脉内皮细胞凋亡中的作用。**方法** 实验分为对照组、糖基化终末产物 (AGE) 组、GLP-1 组、AGE+GLP-1 组、AGE+SB203580 组、AGE+GLP-1+SB203580 组及 AGE+GLP-1+L-NAME 组, Western blot 检测 p-p38MAPK/p38MAPK、磷酸化内皮型一氧化氮合酶/内皮型一氧化氮合酶 (p-eNOS/eNOS) 蛋白表达情况, NO 检测试剂盒 (一步法) 检测 NO 含量, DCFH-DA 荧光探针检测细胞活性氧 (ROS) 含量, Annexin V/PI 流式检测细胞凋亡率。**结果** 与 AGE 组相比, GLP-1 预处理可诱导 p-p38MAPK 蛋白表达下降 ($P=0.000$); 与对照组比较, GLP-1 或 p38MAPK 抑制剂 (SB203580) 预处理后, 受 AGE 抑制的 eNOS 蛋白表达或诱导的 ROS 水平分别显著升高 ($P=0.004$) 或下降 ($P=0.000$); GLP-1 预处理后, 因 AGE 诱导的细胞凋亡率显著降低 ($P=0.000$), 而加入 L-NAME 后, GLP-1 的抗凋亡作用显著减弱 ($P=0.002$); GLP-1 预处理后, 细胞 NO 含量较单纯 AGE 组明显升高 ($P=0.000$), 而予以 L-NAME 后, 细胞 NO 含量显著降低 ($P=0.011$)。**结论** GLP-1 可抑制 p38MAPK 信号通路的活化, 拮抗 AGE 对血管内皮细胞的氧化损伤; 上调 eNOS 蛋白的表达, 拮抗 AGE 诱导的内皮细胞 NO 生成障碍及细胞凋亡, 从而延缓糖尿病合并动脉粥样硬化的发生发展。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Role of p38MAPK-eNOS-NO Signaling Pathway in the Protection Mechanisms of Apoptosis of Endothelial Cells

SUN Hui-Lin¹, HUANG Zhi-Qiu¹, ZENG Hai-Long¹, ZHANG Yi-Neng², and LIU Yi-Ming³

(1. Endocrinology Department, 2. Central Laboratory, 3. Nuclear Medicine Department, the First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong 510080, China)

[KEY WORDS] Glucagon Like Peptide-1; p38MAPK; Human Umbilical Vein Endothelial Cells; Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate whether p38MAPK signaling pathway is involved in the protective mechanism of glucagon like peptide-1 (GLP-1) on endothelial cell damage induced by advanced glycation endproducts (AGE).

Methods The experiment was divided into control group, AGE group, GLP-1 group, AGE + GLP-1 group, AGE + SB203580 group, AGE+GLP-1+SB203580 group, AGE+GLP-1+L-NAME group. Expression of p-p38MAPK/p38MAPK, phospho endothelial nitric oxide synthase/endothelial nitric oxide synthase (p-eNOS/eNOS) protein were examined by Western blot. Nitric oxide (NO) generation was detected by NO detection kit. Reactive oxygen species (ROS) generation was examined by fluorescent probe technique. The apoptosis rate was tested by Annexin V/PI flow cytometry.

Results Compared with AGE group, GLP-1 inhibited the expression of p-p38MAPK protein ($P=0.000$). Compared with control group, after adding GLP-1 or p38MAPK inhibitor (SB203580), the expression of eNOS protein inhibited and ROS generation induced by AGE was significantly increased ($P=0.004$) or decreased ($P=0.000$). After adding GLP-1, the increased apoptosis rate induced by AGE was inhibited significantly ($P=0.000$). While after adding L-NAME, the anti-apoptosis effect was significantly weakened ($P=0.002$). After adding GLP-1, NO generation increased significantly ($P=0.000$) compared with AGE group. While after adding L-NAME, NO generation decreased significantly ($P=0.011$).

[收稿日期] 2015-10-30

[修回日期] 2015-12-20

[基金项目] 广东省自然科学基金 (S2011010002074); 清远市科技计划项目 (2011B011112044)

[作者简介] 孙慧琳, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 从事糖尿病的基础和临床研究, E-mail 为 sun-hui-lin@126.com。黄志秋, 硕士研究生。曾海龙, 硕士研究生。

Conclusion GLP-1 can inhibit the oxidative damage of vascular endothelial cells by inhibiting the activation of p38MAPK signaling pathway, and increase the expression of eNOS protein to increase NO generation and antagonize apoptosis induced by AGE.

内皮功能紊乱是糖尿病并发动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 发生的早期病变。因此, 保护血管内皮对治疗及预防糖尿病合并动脉粥样硬化具有重要意义。糖基化终末产物 (advanced glycation endproducts, AGE) 的病理性聚集与 As 的发生和发展有着密切的关系^[1]。胰高血糖素样肽 1 (glucagon like peptide-1, GLP-1) 可通过受体或非受体依赖性途径直接改善内皮功能。血管损伤和器官微循环的病理生理改变往往与 p38 细胞丝裂素活化蛋白激酶 (p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK) 信号通路的激活密切相关, 本研究以 AGE 诱导人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) 损伤为病理模型, 探讨 p38MAPK 信号通路在 GLP-1 保护内皮细胞中的作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

兔抗人 vWF 多克隆抗体及抗鼠 p-p38MAPK 单克隆抗体、抗鼠 p38MAPK 多克隆抗体、抗 eNOS 单克隆抗体 (美国 SANTA CRUZ 公司), 山羊抗兔 IgG 抗体 (美国 R&D 公司), 异硫氰酸荧光素标记的羊抗兔多克隆抗体及 GLP-1 (7-36) a、DCFH-DA 荧光试剂 (美国 Sigma 公司), Annexin V/PI 检测试剂盒 (中国宝赛生物技术公司), NO 检测试剂盒 (中国南京建成生物公司), SB203580、L-NAME (美国 Selleck 公司), 荧光显微镜 (Nikon Eclipse Te2000u, 日本), 流式细胞仪、酶标仪 (BIO-RAD, 美国)。

1.2 人脐静脉内皮细胞的分离、培养及鉴定

人脐静脉内皮细胞的分离、培养及鉴定具体步骤与本课题组前期研究相同^[2]。

1.3 糖基化终末产物的制备

糖基化终末产物的制备及鉴定具体步骤可参考本课题组前期研究^[3]。

1.4 实验分组

将 HUVEC 按以下方法分组: 对照组、AGE 组 (AGE 400 mg/L 处理 24 h)、GLP-1 组 (GLP-1 100 nmol/L 处理 30 min)、AGE+GLP-1 组 (GLP-1 100 nmol/L 处理 30 min+AGE 400 mg/L 处理 24 h)、AGE+SB203580 组 (SB203580 10 μ mol/L 处理 1 h+

AGE 400 mg/L 处理 24 h)、AGE+GLP-1+L-NAME 组 (GLP-1 100 nmol/L 处理 30 min+L-NAME 1 mmol/L 处理 1 h+AGE 400 mg/L 处理 24 h)、AGE+GLP-1+SB203580 组 (GLP-1 100 nmol/L 处理 30 min+SB203580 10 μ mol/L 处理 1 h+AGE 400 mg/L 处理 24 h)。

1.5 Western blot 法检测磷酸化 p38MAPK 及磷酸化内皮型一氧化氮合酶的表达

细胞培养结束后收集细胞, 转移至离心管, 冰浴下, 使细胞充分裂解 (裂解液中, PMSF 工作浓度为 1 mmol/L), 离心取上清。蛋白质浓度测定采用 BCA 法, 按照 BCA 蛋白浓度测定试剂盒说明书操作测定。取等量蛋白与 2 \times 上样缓冲液混合煮沸 5 min 后进行 SDS-PAGE 电泳, 将蛋白转至 PVDF 膜后放入 10% 脱脂奶粉封闭液中, 封闭 2 h; PBST 洗膜后, 先后加一抗鼠 p-p38MAPK 或抗内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 单克隆抗体 (1:1000 抗单克隆抗体), 反应 1.5 h, 加 1:3000 辣根过氧化物酶标记二抗, 反应 1 h, PBST 洗膜, ECL 法显影。结果经 Image J 图象分析系统对目的条带进行分析, 以各组细胞 p-p38MAPK 或 eNOS 蛋白表达与内参 α -tubulin 表达的比值作为 p-p38MAPK 或 eNOS 蛋白表达水平。

1.6 一氧化氮检测试剂盒 (一步法) 检测一氧化氮含量

消化、离心、清洗细胞后, 弃上清, 留细胞沉淀; 加入 200 μ L 0.1 mol/L pH 7.4 的磷酸缓冲液进手动匀浆, 制备好的匀浆液不离心待测。按 NO 检测试剂盒说明书操作: 漩涡充分混匀后静置 10 min, 3500~4000 r/min, 离心 15 min, 取上清 160 μ L 操作。将各反应物混匀, 室温下静置 15 min, 酶标仪比色 (波长 550 nm), 测定各个孔的 OD 值。按以下公式计算 NO 生成水平: NO 含量 (μ mol/g) = (OD 值_{实际} - OD 值_{空白孔}) / (OD 值_{标准品孔} - OD 值_{空白孔}) \times 标准品浓度 \times 稀释倍数 / 待测蛋白浓度。

1.7 DCFH-DA 荧光探针检测细胞诱导活性氧含量

各实验组作用 24 h 后加入 DCFH-DA 荧光试剂避光孵育 30 min, 上流式细胞仪检测活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 荧光强度。

1.8 Annexin V/PI 检测细胞凋亡

抑制剂预处理 1 h 后, 随后加入 GLP-1 30 min,

最后加入 AGE, 在 37℃、5%CO₂ 条件下培养 24 h。24 h 后胰酶消化细胞,800 r/min 离心 4 min,随后加入预冷的无菌 PBS 洗 2 次。再次离心后吸尽残留的 PBS,轻轻振荡细胞悬液 30 s,使之均匀。随后按 Annexin V/PI 凋亡试剂盒说明进行操作。

1.9 统计学处理

数据采用 SPSS19.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),两两比较采用 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 GLP-1 对 AGE 诱导下血管内皮细胞 p38MAPK 蛋白磷酸化的影响

p-p38MAPK 及 t-p38MAPK 蛋白量表达水平经方差分析显示,给予不同处理后,多组间 p-p38MAPK 蛋白表达差异具有统计学意义 (*F* = 56.989, *P* = 0.000),而 t-p38MAPK 蛋白表达差异无统计学意义 (*F* = 0.568, *P* = 0.652)。进一步两两比较后发现,与对照组比较,单独加入 AGE 或 GLP-1 可分别导致 p-p38MAPK 蛋白表达水平上升 (*P* = 0.001)或下降 (*P* = 0.000),差异有统计学意义;而予以 AGE 及 GLP-1 共同处理后,其 p-p38MAPK 蛋白表达水平较 AGE 单独处理组下降 (*P* = 0.000),差异有统计学意义(图 1)。

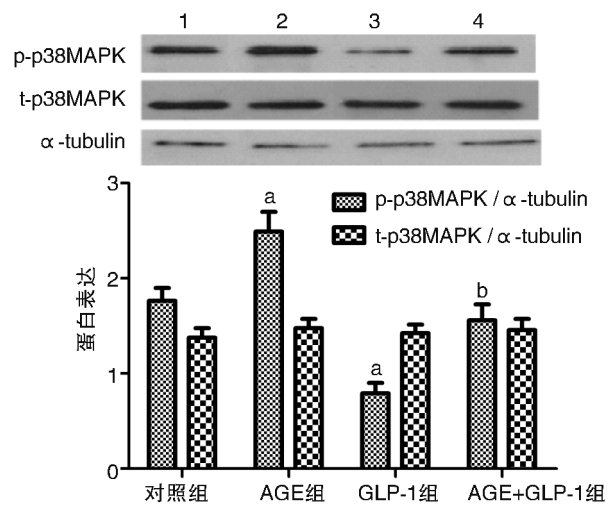


图 1. GLP-1 对 AGE 诱导 p-p38MAPK 和 t-p38MAPK 蛋白表达的影响 1 为对照组,2 为 AGE 组,3 为 GLP-1 组,4 为 AGE+GLP-1 组。a 为 *P* < 0.05,与对照组比较;b 为 *P* < 0.05,与 AGE 组比较。

Figure 1. Effects of GLP-1 on the protein expression of p-p38MAPK and t-p38MAPK induced by AGE

2.2 p38MAPK 抑制剂 SB203580 及 GLP-1 对 AGE 诱导细胞活性氧生成的影响

DCFH-DA 荧光标记后经流式细胞仪检测各组 ROS 生成水平,经方差分析显示,各组间差异具有统计学意义 (*F* = 12.411, *P* = 0.000)。多重比较显示,与对照组比较,AGE 可诱导细胞 ROS 生成显著增多 (*P* = 0.000),而 GLP-1 单独处理并不影响细胞 ROS 生成量 (*P* = 0.170);在加入 AGE 同时再予以 GLP-1 或 SB203580 预处理后,AGE 诱导的 ROS 生成水平均显著降低 (*P* = 0.000 和 *P* = 0.006);而在 AGE+GLP-1 组予以 SB203580 预处理前后,细胞 ROS 生成差异无统计学意义 (*P* = 0.069),提示对于 AGE 诱导的内皮细胞 ROS 生成增加,GLP-1 及 SB203580 具有类似拮抗作用(表 1)。

表 1. p38MAPK 抑制剂对内皮细胞 ROS 生成的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 1. Effects of p38MAPK inhibitor on EC ROS generation($\bar{x}\pm s$)

分 组	<i>n</i>	ROS 生成
对照组	3	701.33±193.68
AGE 组	3	1580.00±307.90 ^a
GLP-1 组	3	471.33±123.45
AGE+GLP-1 组	3	706.67±147.85 ^b
AGE+ SB203580 组	3	1056.67±51.32 ^b
AGE+GLP-1+SB203580 组	3	741.67±255.55 ^b

a 为 *P* < 0.05,与对照组比较;b 为 *P* < 0.05,与 AGE 组比较。

2.3 p38MAPK 抑制剂 SB203580 及 GLP-1 对 AGE 诱导下内皮细胞 eNOS 磷酸化的影响

各组给予不同处理后,组间 p-eNOS 蛋白表达差异有统计学意义 (*F* = 6.645, *P* = 0.007),而各组间 t-eNOS 蛋白表达无统计学差异 (*F* = 1.677, *P* = 0.231)。进一步两两比较后显示,与对照组比较,AGE 可降低 p-eNOS 表达水平,差异有统计学意义 (*P* = 0.007);而予以 GLP-1 或 p38MAPK 抑制剂 SB203580 预处理后,受抑制的 eNOS 蛋白表达水平再次升高 (*P* = 0.004 和 *P* = 0.011),差异有统计学意义;在 AGE+GLP-1 组予以 SB203580 预处理前后,p-eNOS 蛋白表达水平差异无统计学意义 (*P* = 0.273;图 2)。

2.4 eNOS 抑制剂 L-NAME 对 GLP-1 抑制 AGE 诱导细胞凋亡的影响

流式细胞仪检测结果表明,各组予以不同处理后,各组间细胞凋亡率差异具有统计学意义 (*F* = 50.866, *P* = 0.000)。多重比较显示,与对照组相比,加入 AGE 后,细胞凋亡率显著增高 (*P* = 0.000);加

入 GLP-1 与 AGE 共孵育后,细胞凋亡率较单纯 AGE 组显著降低($P=0.000$);而在 AGE+GLP-1 共孵育组加入 L-NAME 后,GLP-1 的抗凋亡作用显著减弱($P=0.002$),提示对于 AGE 诱导的细胞凋亡,L-NAME 可抑制 GLP-1 的抗凋亡作用(图 3 及表 2)。

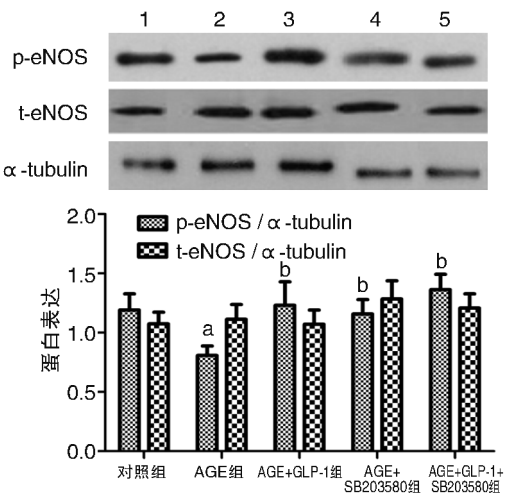


图 2. p38MAPK 抑制剂和 GLP-1 对 AGE 诱导 p-eNOS 及 t-eNOS 蛋白表达的影响 1 为对照组,2 为 AGE 组,3 为 AGE+GLP-1 组,4 为 AGE+SB203580 组,5 为 AGE+GLP-1+SB203580 组。a 为 $P<0.05$,与对照组比较;b 为 $P<0.05$,与 AGE 组比较。

Figure 2. Effects of p38MAPK inhibitor and GLP-1 on the protein expression of p-eNOS and t-eNOS induced by AGE

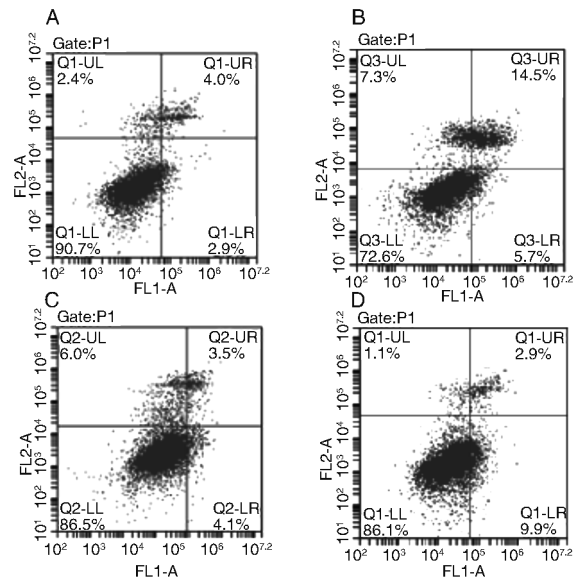


图 3. L-NAME 对 GLP-1 抑制 AGE 诱导的内皮细胞凋亡的影响 A 为对照组,B 为 AGE 组,C 为 AGE+GLP-1 组,D 为 AGE+GLP-1+L-NAME 组。

Figure 3. Effect of L-NAME on EC apoptosis inhibited by GLP-1

表 2. L-NAME 对 GLP-1 抑制 AGE 诱导内皮细胞凋亡的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 2. The effects of L-NAME on EC apoptosis inhibited by GLP-1($\bar{x}\pm s$)

分 组	<i>n</i>	细胞凋亡率
对照组	3	6.17%±0.67%
AGE 组	3	20.63%±2.87% ^a
AGE+GLP-1 组	3	6.97%±0.71% ^b
AGE+GLP-1+L-NAME 组	3	12.77%±1.15% ^c

a 为 $P<0.05$,与对照组比较;b 为 $P<0.05$,与 AGE 组比较;c 为 $P<0.05$,与 AGE+GLP-1 组比较。

2.5 eNOS 抑制剂 L-NAME 及 GLP-1 对 AGE 诱导的内皮细胞 NO 生成的影响

各组予以不同处理后,NO 生成组间差异具有统计学意义($F=25.013, P=0.000$)。与对照组相比,AGE 可诱导细胞 NO 生成水平显著下降($P=0.000$),而 GLP-1 单独处理对细胞 NO 生成的影响无统计学差异($P=0.055$);加入 GLP-1 与 AGE 共孵育后,细胞 NO 含量较 AGE 组明显升高($P=0.000$);而在 AGE+GLP-1 组予以 eNOS 抑制剂 L-NAME 预处理细胞后,细胞 NO 含量较 AGE+GLP-1 组降低($P=0.011$),提示在 AGE 诱导的 NO 生成障碍中,GLP-1 至少部分通过激活 eNOS 通路促进 NO 生成(表 3)。

表 3. L-NAME 和 GLP-1 对内皮细胞 NO 生成的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 3. The effects of L-NAME and GLP-1 on the release of NO($\bar{x}\pm s$)

分 组	<i>n</i>	NO
对照组	3	2.14±0.25
AGE 组	3	1.13±0.09 ^a
GLP-1 组	3	2.47±0.23
AGE+GLP-1 组	3	1.98±0.16 ^b
AGE+GLP-1+L-NAME 组	3	1.51±0.14 ^c

a 为 $P<0.05$,与对照组比较;b 为 $P<0.05$,与 AGE 组比较;c 为 $P<0.05$,与 AGE+GLP-1 组比较。

3 讨 论

糖尿病可合并多种急慢性并发症。研究表明,AGE 是许多慢性疾病的诱因,AGE 在糖尿病血管并发症如 As 等的发生、发展中起重要作用^[4-5]。GLP-1 是一种由肠道内分泌细胞和脑神经细胞分泌的激素,具有促进胰岛素分泌降低血糖、保护心血管系统等作用^[6]。

糖尿病高糖状态下,AGE 生成明显加速,并在

血管壁沉积而难以降解,通过与其受体结合后激活氧化应激,诱导 ROS 生成明显增加,破坏内皮细胞功能并促使其凋亡,加速 As 的发展^[7]。本研究发现 GLP-1 可抑制 AGE 诱导的内皮细胞 ROS 病理性增加,下调 p38MAPK 蛋白的表达。AGE 组予以 p38MAPK 蛋白的特异抑制剂 SB203580 预处理后,AGE 诱导的 ROS 生成水平显著降低($P=0.006$)。我们推测 GLP-1 可能通过下调 p38MAPK 信号蛋白的表达,抑制 AGE 诱导的 ROS 病理性增加。

eNOS 作为调节血管内皮细胞最重要的蛋白酶之一,在细胞增殖、凋亡及血管形成中扮演了重要作用^[8]。研究表明,NO 是内皮细胞重要的保护因子,具有抑制细胞凋亡及舒张血管的作用^[9]。Erdogdu 等^[10]认为,GLP-1 是通过 AKT 信号通路来调节 eNOS 的活性。GLP-1 调节 eNOS 的表达可能是通过多个信号通路来调节的。Huang 等^[11]报道,在糖尿病大鼠中,一定浓度的 AGE 可通过 p38MAPK 信号通路介导,抑制内皮细胞 eNOS 磷酸化,使 NO 生成减少,从而促进细胞凋亡。Ishibashi 等人^[12]研究显示,GLP-1 可以抑制 AGE 诱导 HUVEC 的 eNOS mRNA 水平。我们推测 p38MAPK 信号通路可能参与了 GLP-1 保护内皮细胞的作用。

本研究发现 AGE 可显著抑制内皮细胞 eNOS 磷酸化($P=0.007$),而 GLP-1 预处理后可拮抗上述抑制作用($P=0.004$)。在 AGE 组加入 p38MAPK 抑制剂 SB203580 预处理后,AGE 对 eNOS 蛋白表达的抑制作用减弱($P=0.011$)。在 AGE+GLP-1 组予以 SB203580 预处理后,eNOS 磷酸化蛋白表达水平差异无统计学意义($P=0.273$)。以上结果表明,GLP-1 至少部分通过 p38MAPK 信号通路调节 eNOS 的表达。在 AGE+GLP-1 共孵育组加入 eNOS 抑制剂 L-NAME 后,GLP-1 对 AGE 诱导内皮细胞凋亡的拮抗作用显著减弱($P=0.002$)。与单纯 AGE 组比较,AGE+GLP-1 组的 NO 含量明显升高($P=0.000$);在 AGE+GLP-1 组加入 eNOS 抑制剂 L-NAME 预处理细胞后,细胞 NO 含量较 AGE+GLP-1 组降低($P=0.011$)。以上结果提示,在 AGE 诱导内皮细胞损伤时,GLP-1 可抑制 p38MAPK 信号通路激活 eNOS 磷酸化反应,拮抗 AGE 诱导的细胞凋亡及 NO 生成障碍,从而对内皮细胞功能发挥保护作用。换言之,GLP-1 可以通过上调 eNOS 的表达提高细胞 NO 的含量,进而抑制细胞凋亡,达到保护内皮细胞的作用。

综上所述,GLP-1 至少部分通过抑制 p38MAPK

信号蛋白,上调 eNOS 表达,提高细胞 NO 含量,抑制血管内皮细胞凋亡,起到延缓 As 的作用。

魏丹丹等人^[13]的研究认为,ROS 作为 p38MAPK 信号蛋白的上游信号,ROS 的下降导致 p38MAPK 蛋白表达的下调。ROS 与 p38MAPK 蛋白的关系,仍需要我们进一步研究。

[参考文献]

- [1] Singh VP, Bali A, Singh N, et al. Advanced glycation end products and diabetic complications[J]. Korean J Physiol Pharmacol, 2014, 18(1): 1-14.
- [2] 孙慧琳, 湛奕, 刘珍珍, 等. 人脐静脉内皮细胞的原代培养及鉴定[J]. 广东医学, 2012, 33(6): 744-746.
- [3] 孙慧琳, 刘珍珍, 李琼, 等. 胰高血糖素样肽-1 对糖基化终末产物诱导的血管内皮细胞损伤的保护作用[J]. 实用医学杂志, 2013, 24(3): 496-498.
- [4] Fukami K, Yamagishi S, Okuda S. Role of AGEs-RAGE system in cardiovascular disease[J]. Curr Pharm Des, 2014, 20(14): 2395-402.
- [5] Hu H, Jiang H, Ren H, et al. AGEs and chronic subclinical inflammation in diabetes; disorders of immune system[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2015, 31(2): 127-137.
- [6] Dharmalingam M. Efficacy and tolerability of GLP-1 agonists in patients with type 2 diabetes mellitus: an Indian perspective[J]. Ther Adv Endocrinol Metab, 2014, 5(6): 159-165.
- [7] Weinberg E, Maymon T, Weinreb M. AGEs induce caspase-mediated apoptosis of rat BMSCs via TNFalpha production and oxidative stress[J]. J Mol Endocrinol, 2014, 52(1): 67-76.
- [8] Xia N, Forstermann U, Li H. Resveratrol and endothelial nitric oxide[J]. Molecules, 2014, 19(10): 16102-121.
- [9] Bir SC, Xiong Y, Kevil CG, et al. Emerging role of PKA/eNOS pathway in therapeutic angiogenesis for ischaemic tissue diseases[J]. Cardiovasc Res, 2012, 95(1): 7-18.
- [10] Erdogdu O, Nathanson D, Sjöholm A, et al. Exendin-4 stimulates proliferation of human coronary artery endothelial cells through eNOS-, PKA- and PI3K/Akt-dependent pathways and requires GLP-1 receptor[J]. Mol Cell Endocrinol, 2010, 325(1-2): 26-35.
- [11] Huang A, Yang YM, Yan C, et al. Altered MAPK signaling in progressive deterioration of endothelial function in diabetic mice[J]. Diabetes, 2012, 61(12): 3181-188.
- [12] Ishibashi Y, Matsui T, Takeuchi M, et al. Sitagliptin augments protective effects of GLP-1 against advanced glycation end product receptor axis in endothelial cells[J]. Horm Metab Res, 2011, 43(10): 731-734.
- [13] 魏丹丹, 林旭红, 王慧超, 等. 香草乙酮改善葡聚糖硫酸钠诱发溃疡性结肠炎小鼠的炎症反应与 NOx-ROS-p38MAPK 信号通路的关系[J]. 生理学报, 2015, 67(1): 74-82.

(此文编辑 许雪梅)