

乙醛脱氢酶 2 通过抗氧化减少氧化型低密度脂蛋白诱导的内皮祖细胞凋亡

姜其钧, 龚志刚, 李志刚, 丁世芳

(广州军区武汉总医院心血管内科, 湖北省武汉市 430070)

[关键词] 内皮祖细胞; 乙醛脱氢酶 2; 氧化应激; 线粒体膜电位; 细胞凋亡

[摘要] **目的** 探讨乙醛脱氢酶 2 (ALDH-2) 在氧化型低密度脂蛋白 (ox-LDL) 诱导的内皮祖细胞 (EPC) 氧化应激和凋亡中的作用及分子机制。**方法** 培养人外周血 EPC, 分别用空白对照、10 mg/L ox-LDL 和 1 μ mol/L Alda-1 (ALDH-2 特异性激活剂) 预处理+10 mg/L ox-LDL 干预, 再分别采用 DAPI、JC-1 和 DCFH-DA 染色 EPC, 检测 EPC 的凋亡水平、活性氧 (ROS) 水平和线粒体膜电位, 采用 Western blot 评价 EPC 的 Caspase-3 信号通路激活情况。**结果** 对照组、ox-LDL 组和 Alda-1+ox-LDL 组的 EPC 凋亡率分别为 $4.9\% \pm 0.4\%$ 、 $17.9\% \pm 2.9\%$ 和 $7.5\% \pm 0.8\%$, 差异有显著性 ($P < 0.05$, $n = 6$)。对照组、ox-LDL 组和 Alda-1+ox-LDL 组的 EPC 发生线粒体膜电位丢失的细胞比率分别为 $3.6\% \pm 0.7\%$ 、 $28.5\% \pm 5.3\%$ 和 $12.4\% \pm 1.3\%$, 组间差异有显著性 ($P < 0.05$, $n = 6$)。ox-LDL 组和 Alda-1+ox-LDL 组的 ROS 水平相对于对照组分别为 $319.7\% \pm 23.5\%$ 和 $152.7\% \pm 9.4\%$, 差异有显著性 ($P < 0.05$, $n = 6$)。而 ox-LDL 能够增加 Caspase-3 表达, 但 Alda-1 预处理可能抑制 Caspase-3 的表达 ($P < 0.05$, $n = 6$)。**结论** ALDH-2 可以减少 EPC 内 ROS 水平, 保护线粒体膜电位, 减少 EPC 的凋亡, 而这与 Caspase-3 有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Aldehyde Dehydrogenase-2 Reduced the ox-LDL Induced Endothelial Progenitor Cells Apoptosis via Anti-oxidative Stress

JIANG Qi-Jun, GONG Zhi-Gang, LI Zhi-Gang, and DING Shi-Fang

(Department of Cardiology, Wuhan General Hospital of Guangzhou Military, Wuhan, Hubei 430070, China)

[KEY WORDS] Endothelial Progenitor Cells; Aldehyde Dehydrogenase-2; Oxidative Stress; Mitochondrial Membrane Potentials; Cell Apoptosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the role of aldehyde dehydrogenase-2 (ALDH-2) in the oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) induced endothelial progenitor cells (EPC) apoptosis and its molecular mechanism. **Methods**

EPC isolated from peripheral circulation of healthy adults were cultured, challenged with blank, 10 mg/L ox-LDL and 1 μ mol/L Alda-1 (a ALDH-2 specific activator) pretreatment plus 10 mg/L ox-LDL and used to evaluate apoptotic rate with DAPI stain, reactive oxygen species (ROS) level with DCFH-DA, mitochondrial membrane potentials with JC-1, caspase-3 signal pathway with Western blot. **Results** The apoptotic rate of the blank group, ox-LDL treatment group and Alda-1 pretreatment plus ox-LDL treatment group were respectively $4.9\% \pm 0.4\%$, $17.9\% \pm 2.9\%$ and $7.5\% \pm 0.8\%$, the difference was significant ($P < 0.05$, $n = 6$). The proportion of EPC lost which their mitochondrial membrane potentials were respectively $3.6\% \pm 0.7\%$, $28.5\% \pm 5.3\%$ and $12.4\% \pm 1.3\%$ in the blank group, ox-LDL treatment group and Alda-1 pretreatment plus ox-LDL treatment group, the difference was significant ($P < 0.05$, $n = 6$). The ROS levels were respectively $319.7\% \pm 23.5\%$ and $152.7\% \pm 9.4\%$ in ox-LDL treatment group and Alda-1 pretreatment plus ox-LDL treatment group compared to the blank group ($P < 0.05$, $n = 6$). The Western blot results showed that ox-LDL increased caspase-3 expression, but the pretreatment of Alda-1 reduced the ox-LDL induced caspase-3 expression ($P < 0.05$, $n = 6$). **Conclusion** ALDH-2

[收稿日期] 2015-09-16

[修回日期] 2016-01-26

[基金项目] 湖北省自然科学基金重点资助项目 (2014CAF066); 湖北省自然科学基金面上项目 (2014CFC1055)

[作者简介] 姜其钧, 博士, 主治医师, 研究方向为动脉粥样硬化的形成机制, E-mail 为 jqjraymond@qq.com。龚志刚, 硕士, 副主任医师, 研究方向为抗氧化治疗在动脉粥样硬化中的作用和机制, E-mail 为 gongyuxuan2004@yahoo.com.cn。通讯作者丁世芳, 主任医师, 研究方向为冠心病介入治疗后再狭窄的防治和心律失常的诊断和治疗, E-mail 为 DingSFMD@gmail.com。

could reduce ROS level in EPC, stabilize mitochondrial membrane potentials of EPC and reduce EPC apoptosis. Otherwise these are related to caspase-3.

内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPC) 是成人最重要的调节血管新生和形成血管内皮的一组干细胞。它在冠心病患者血管内皮细胞修复中起关键作用。既往的研究表明 EPC 具有较强的抗氧化能力,能够避免氧化应激导致的损伤。而最近的研究表明,在急性心肌梗死等严重状态下,EPC 活力显著受到影响,凋亡显著增加^[1],其机制还不十分明确。乙醛脱氢酶 2 (aldehyde dehydrogenase-2, ALDH-2) 是机体乙醛代谢中的关键限速酶,被认为能够起到明显抗氧化的作用。而最近的研究发现 ALDH-2 在 EPC 是普遍高表达^[2],但其在 EPC 抗氧化和抗凋亡中的作用却未被全面了解。本文的研究重点在于探讨 ALDH-2 在 EPC 的氧化应激调节和抗凋亡中的作用及其分子机制。

1 材料和方法

1.1 主要材料

低密度脂蛋白 (LDL)、0.25%胰酶、硫氰酸荧光素标记荆豆凝集素 I (FITC-UEA-I)、Alda-1 (ALDH-2 特异性激活剂)、DCFH-DA、JC-1 和 6-二脒基-2-苯基吲哚 (DAPI) 购自美国 Sigma 公司;淋巴细胞分离液 Histopaque 1077 购自美国 Amersham Biosciences 公司;碱性成纤维生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 购于英国 Peprotech 公司;乙酰化低密度脂蛋白 (Dil-ac-LDL) 购自美国 Molecular Probe 公司;胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 和 M199 培养液购于美国 Gibco 公司;鼠抗人磷酸化 Caspase-3 IgG 抗体、鼠抗人 Caspase-3 IgG 抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司。

1.2 内皮祖细胞的分离与培养

采取健康志愿者外周血,用磷酸盐缓冲液 (PBS) 以 1:2 的比例稀释,缓慢转移至 Histopaque 1077 淋巴细胞分离液上方,室温下 400×g 离心 30 min,分离出单个核细胞层。将单个核细胞用 M199 培养液 (含 10% PBS、20% 胎牛血清、VEGF 10 μg/L、bFGF 10 μg/L) 稀释成 5×10⁹/L,放置于含 5% CO₂ 37℃ 孵箱中培养;于第 7 天的细胞加入 2.4 mg/L Dil-ac-LDL 和 10 mg/L FITC-UEA-I,孵育 1 h 后,用荧光显微镜检测双染色阳性细胞百分比。另取第 7

天的细胞,用 0.25% 胰蛋白酶去贴壁,加入 10 mg/L FITC 标记的 CD34 抗体和 10 mg/L PE 标记的 VEGF-R2 单克隆抗体,4℃ 孵育 30 min,用流式细胞仪检测 CD34 和 VEGF-R2 的表达率。

1.3 低密度脂蛋白氧化为氧化型低密度脂蛋白

取 1 g/L LDL 无菌溶液,经分子多孔渗透膜 4℃ 透析 2 h,以去除 EDTA,加入 10 mmol/L CuSO₄ 溶液 37℃ 氧化 24 h,再使用分子多孔渗透膜 4℃ 透析 3 次,每次 2 h,以去除 CuSO₄。

1.4 细胞凋亡率的测定

取培养至第 7 天的 EPC,在培养液中根据不同分组加入不同药物干预细胞 24 h,除去培养液,用 PBS 洗 2 次,然后用 4% 多聚甲醛固定 15 min,用 DAPI (2.5 mg/L) 染细胞核 20 min,在荧光显微镜下观察细胞核形态。在荧光显微镜下,活细胞核呈弥散均匀荧光,凋亡细胞核或细胞质内可见致密的颗粒块状荧光,核出现不同程度的固缩或 DNA 荧光碎片 (凋亡小体)。随机选取 5 个视野,计数 100 个细胞核,计算细胞核凋亡小体形成率,细胞凋亡小体形成率 (%) = 凋亡小体细胞数/总的细胞数 × 100%。

1.5 细胞线粒体膜电位的检测

采用 JC-1 试剂检测 EPC 内线粒体膜电位。在培养至第 7 天的 EPC 培养液中,根据实验分组加入相应药物干预 24 h,除去培养液,采用 PBS 洗 2 次,加入 JC-1 工作液 100 μL,于含 5% CO₂ 的 37℃ 孵箱中培养 20 min,采用 1×Incubation Buffer 洗 2 次,于荧光显微镜下观察细胞膜电位丢失细胞比例。

1.6 细胞内活性氧水平测定

采用 DCFH-DA 染色检测细胞内活性氧 (ROS) 水平。在 EPC 培养液中,根据不同分组加入不同药物干预细胞 24 h,加入含 10 μmol/L DCFH-DA 荧光探针的培养液替换原培养液,孵育 20 min,用无血清细胞培养液清洗 3 次以去除探针,采用荧光显微镜 (激发波长 488 nm) 拍照检测绿色荧光强度,采用 Image-proplus6.0 软件分析荧光强度。DCF 的相对荧光强度 (%) = 处理组的荧光值/对照组的荧光值 × 100%。

1.7 Western blot 检测

将药物干预过的 EPC 加入蛋白提取裂解液,于 4℃ 裂解细胞 30 min,采用 4℃ 8000 g 离心 30 min 以去除沉淀,加入上样缓冲液煮沸 10 min,于 12%

SDS-聚丙烯酰胺凝胶中电泳,再次电泳转入硝酸纤维素膜,用 5%无脂牛奶封闭 1 h,分别采用鼠抗人 Caspase-3 IgG 抗体和鼠抗人 β -actin IgG 抗体孵育 12 h,TBST 洗 3 次,加入羊抗鼠二抗室温下孵育 1 h,采用电化学发光(ECL)液显影,Image-proplus6.0 软件分析信号强度。

1.8 统计学处理

采用 SPSS15.0 统计学软件分析数据。数据以 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示,多组间比较采用 One-Way ANOVA 法,两组数据间比较采用 S-N-K 法,检验水准 α 为 0.05。

2 结 果

2.1 内皮祖细胞的形态与鉴定

EPC 体外培养 48 h 后出现集落,4 天后多数集落已经形成,于第 8 天后加入 Dil-ac-LDL 和 FITC-UEA-I 染色,其中 90%细胞吞噬 Dil-ac-LDL(荧光显微镜下呈红色),及 FITC-UEA-I(荧光显微镜下呈绿色)染色阳性。采用 FITC 标记的鼠抗人 CD34 以及 PE 标记的鼠抗人 VEGF-R2 抗体于流式细胞仪检测细胞表面标志,结果显示 CD34 及 VEGF-R2 阳性率分别为 $81.6\% \pm 3.3\%$ 和 $89.2\% \pm 5.8\%$ (图 1)。

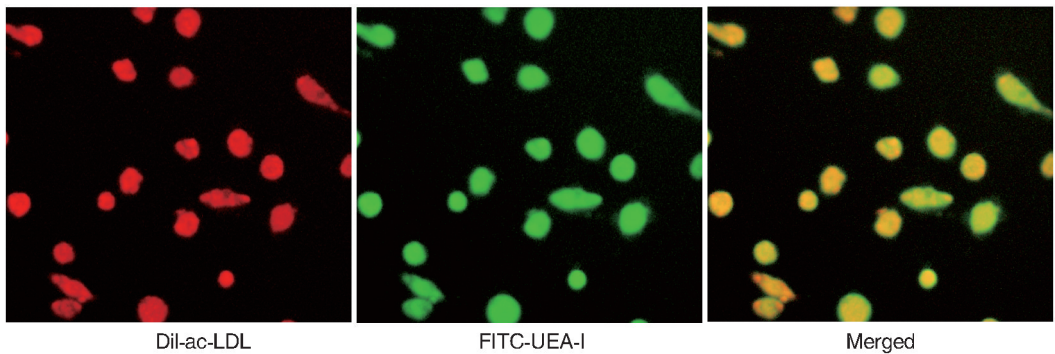


图 1. 内皮祖细胞的形态与鉴定(200 \times)

Figure 1. Morphology and identification of endothelial progenitor cells(200 \times)

2.2 乙醛脱氢酶 2 影响内皮祖细胞的凋亡水平

应用 DAPI 染色 EPC 的细胞核检测激活 ALDH-2 对 EPC 凋亡的影响。加入 10 mg/L 的氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)处理 EPC 24 h 后,部分细胞出现典型的凋亡核形态学改变,与对照组比较,细胞染色质浓缩,核固缩明显,凋亡小体数目显著增加,加入 1 μ mol/L Alda-1 预处理 30 min 后,再加入 10 mg/L ox-LDL 处理,相对于单纯 ox-LDL 处理,Alda-1 预处理可显著改善细胞凋亡状况。经过凋亡小体计算统计,对照组凋亡小体形成率为 $4.9\% \pm 0.4\%$,ox-LDL 组凋亡小体形成率($17.9\% \pm 2.9\%$)明显增多,差异有统计学意义($P < 0.05, n = 6$),Alda-1 + ox-LDL 组凋亡小体形成率($7.5\% \pm 0.8\%$)则较 ox-LDL 组显著减少($P < 0.05, n = 6$),可见 ALDH-2 对 ox-LDL 诱导的细胞凋亡具有明显的保护作用(图 2)。

2.3 乙醛脱氢酶 2 激活能够稳定内皮祖细胞的线粒体膜电位

在培养至第 8 天的 EPC 培养基中分别加入空白对照、10 mg/L ox-LDL 或 1 μ mol/L Alda-1 + 10 mg/L ox-LDL 干预细胞,24 h 后加入 JC-1,通过荧光

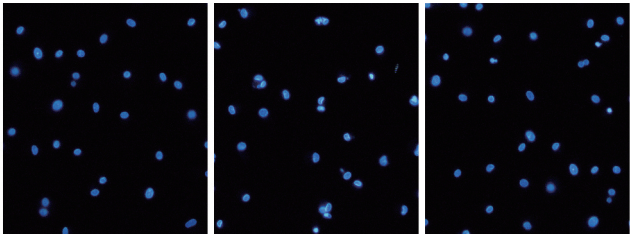


图 2. 乙醛脱氢酶 2 影响内皮祖细胞的凋亡水平(100 \times)

从左到右依次为对照组、ox-LDL 组和 Alda-1+ox-LDL 组。

Figure 2. Aldehyde dehydrogenase-2 influence endothelial progenitor cells apoptosis level(100 \times)

显微镜检测 EPC 细胞内线粒体膜电位。结果显示对照组、ox-LDL 组和 Alda-1 + ox-LDL 组发生线粒体膜电位丢失 EPC 的比率分别为 $3.6\% \pm 0.7\%$ 、 $28.5\% \pm 5.3\%$ 和 $12.4\% \pm 1.3\%$ ($P < 0.05, n = 6$;图 3)。提示 ox-LDL 干预 EPC 后,较多细胞出现线粒体膜电位下降,而通过 Alda-1 预处理 EPC,激活 ALDH-2 后,再加入 ox-LDL,EPC 内的线粒体膜电位丢失细胞的比率显著低于 ox-LDL 组。这说明激活 ALDH-2 能抑制 ox-LDL 引起的 EPC 线粒体膜电位去极化,从而提高线粒体膜电位水平,进而对线粒体膜电位丢

失促发的 EPC 凋亡具有一定的保护作用。

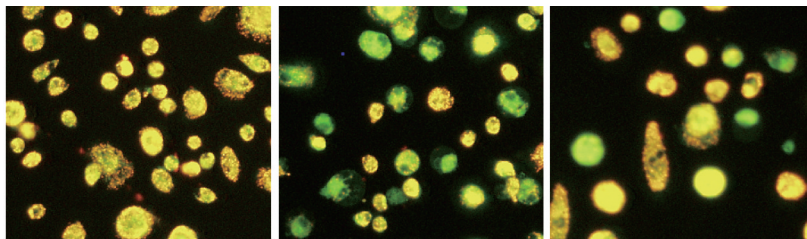


图 3. 乙醛脱氢酶 2 激活能够稳定内皮祖细胞的线粒体膜电位 (100×) 从左到右依次为对照组、ox-LDL 组和 Alda-1+ox-LDL 组。

Figure 3. Aldehyde dehydrogenase-2 activation could stabilize endothelial progenitor cells mitochondrial membrane potentials (100×)

2.4 乙醛脱氢酶 2 调节内皮祖细胞的 ROS 水平

在培养至第 8 天的 EPC 培养基中分别加入空白对照、10 mg/L ox-LDL 或 1 μmol/L Alda-1 + 10 mg/L+ox-LDL, 24 h 后加入 DCFH-DA, 通过荧光显微镜检测 EPC 细胞内 ROS 水平。结果显示相对于对照组, ox-LDL 组和 Alda-1+ox-LDL 组的荧光强度分别为 $319.7\% \pm 23.5\%$ 和 $152.7\% \pm 9.4\%$, 各组差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $n = 6$)。结果提示 ox-LDL 能够显著地增加 EPC 内 ROS 水平, 而通过 Alda-1 预处理 EPC, 激活 ALDH-2 后, 再加入 ox-LDL, EPC 内的 ROS 水平显著地低于 ox-LDL 组 (图 4)。

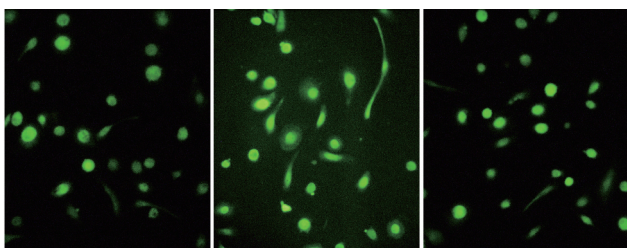


图 4. 乙醛脱氢酶 2 调节内皮祖细胞的活性氧水平 (100×)

Figure 4. Aldehyde dehydrogenase-2 regulated reactive oxygen species level of endothelial progenitor cells (100×)

2.5 Caspase-3 的作用

将培养至第 8 天的 EPC 无血清培养 24 h, 然后在培养基中分别加入 ox-LDL 和 Alda-1, 24 h 后提取蛋白, Western blot 检测结果显示, 相对于对照组, ox-LDL 能够增加 Caspase-3 的表达 (相对于对照组为 237.7% , $P < 0.05$, $n = 6$), 而激活 ALDH-2 能够减少 Caspase-3 的表达 (相对于对照组为 157.8% , $P < 0.05$, $n = 6$) (图 5)。

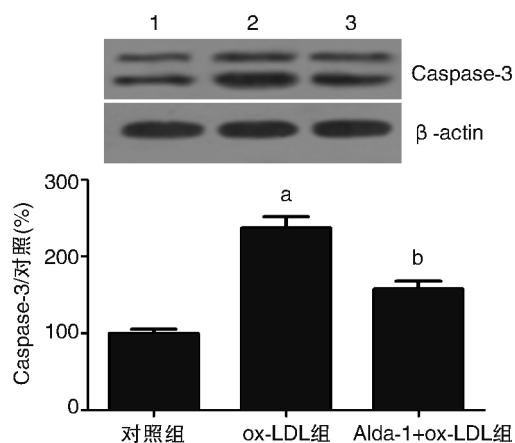


图 5. 乙醛脱氢酶 2 调节内皮祖细胞 Caspase-3 的表达 1 为对照组, 2 为 ox-LDL 组, 3 为 Alda-1+ox-LDL 组。a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 ox-LDL 组比较。

Figure 5. Aldehyde dehydrogenase-2 regulated Caspase-3 expression of endothelial progenitor cells

3 讨论

EPC 在缺血组织的血管新生过程中起重要作用, 在冠心病患者血管内皮的修复过程中起关键作用^[3]。氧化应激与许多心血管疾病的发病有着密切的关系, 可通过引起内皮功能紊乱在高血压、动脉粥样硬化及心肌缺血再灌注损伤等疾病或病理生理过程中起关键作用^[4]。临床研究显示冠心病的危险因素对 EPC 的数量和功能都会产生不利影响, 限制 EPC 在患者体内的血管新生能力^[5]。但冠心病患者体内 EPC 数量减少的确切机制还不十分清楚, 氧化应激诱导的细胞凋亡或衰老也许是影响 EPC 数量和功能的潜在机制。既往的研究表明 ALDH-2 在缺血、内质网应激等导致的心肌损伤中具有保护作用^[6]。本研究显示 ox-LDL 能引起 EPC 的氧化应激, 导致其线粒体膜电位降低, 凋亡增加, 而激

活 ALDH-2 能够对抗 ox-LDL 的氧化应激作用,减少线粒体膜电位降低,减少凋亡。Caspase-3 信号通路在这个过程中起着重要作用。

EPC 具有比较强的抗氧化能力,能表达一系列抗氧化酶,避免氧化应激损伤^[7]。但是各种抗氧化酶在 EPC 对抗氧化应激过程中的作用却不得而知。ALDH-2 在 EPC 中高表达,但其在 EPC 抗氧化过程中的作用并未被系统阐述。既往的研究表明 ALDH-2 与细胞的氧化应激反应密切相关^[8]。ALDH-2 缺乏或功能低下会增加细胞对氧化应激的敏感性,导致阿尔茨海默病、糖尿病或冠心病等的患病风险增加^[9]。近年的研究还表明 ALDH-2 酶活性的下降增加酒精、缺血等多种因素引起的心肌损伤并促进硝酸甘油耐受的发生^[10]。国内的研究还发现汉族人群中突变型 ALDH-2 基因是急性心肌梗死和急性冠状动脉综合症的独立危险因素^[11]。ALDH-2 在缺血性心肌损伤中起到保护作用,ALDH-2 活性与心肌梗死面积及心肌梗死后的心功能有关。

细胞内的氧化还原环境在调节细胞增殖、自我更新、衰老、分化和凋亡中起着重要作用。氧化应激可直接诱导凋亡,或通过把刺激信号由细胞膜转移至细胞内,激发细胞内凋亡相关信号的转导和基因的表达,诱导凋亡^[12]。ALDH-2 可能通过减少细胞内脂质过氧化,消耗过量的活性氧,起到降低氧化应激和避免蛋白合成障碍的作用。ALDH-2 是一种线粒体酶,主要代谢机体内的各种醛类物质。醛类物质多具有较大毒性,可以通过细胞膜扩散,与细胞内的脂质、蛋白质或 DNA 结合,形成加成物,影响这些大分子的功能,从而产生各种病理性损害。氧化应激过程中,脂质过氧化可产生四羟基壬烯醛(4-hydroxy-2-nonenal,4-HNE)和丙二醛(malondialdehyde,MDA)等醛类物质,造成细胞损伤^[13]。ALDH-2 是对抗内质网应激和线粒体损伤的重要保护因子。它除能够催化乙醛氧化为乙酸,还能氧化分解 4-HNE 为无毒性的相应酸类,起到减少体内脂质过氧化、消耗过量的活性氧和避免蛋白合成障碍的作用。本研究通过特异性标志物(JC-1 和 DCFH-DA)检测线粒体膜电位和活性氧的水平,确定了 ALDH-2 在 EPC 的抗氧化过程中的重要作用。即 ALDH-2 可能通过清除细胞脂质过氧化产物,消耗细胞内的 ROS,间接减少细胞内的氧化应激水平。本研究通过特异性标志物染色细胞核,发现 ALDH-2 不仅能够起到抗氧化的作用,还能起到减少 EPC 凋亡的作用。而这可能与氧化应激引起的 Caspase-3 信号通路的激活有关。本研究在深入研究 EPC

氧化损伤机制的基础上,有利于后续研发新的药物或基因治疗方法,阻断氧化应激引起 EPC 损伤的信号通路,提高 EPC 的存活能力,给心血管疾病的治疗带来新的希望。

[参考文献]

- [1] Ant6nio N, Fernandes R, Soares A, et al. Impact of prior chronic statin therapy and high-intensity statin therapy at discharge on circulating endothelial progenitor cell levels in patients with acute myocardial infarction; a prospective observational study [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2014, 70(10): 1 181-193.
- [2] Nakamura K, Tsurushima H, Marushima A, et al. A subpopulation of endothelial progenitor cells with low aldehyde dehydrogenase activity attenuates acute ischemic brain injury in rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 418(1): 87-92.
- [3] Aziz MT, Nabi EA, Hamid M, et al. Endothelial progenitor cells regenerate infarcted myocardium with neovascularisation development [J]. *J Adv Res*, 2015, 6(2): 133-144.
- [4] Polimeni L, Del Ben M, Baratta F, et al. Oxidative stress: New insights on the association of non-alcoholic fatty liver disease and atherosclerosis [J]. *World J Hepatol*, 2015, 7(10): 1 325-336.
- [5] Di Stefano R, Felice F, Pini S, et al. Impact of depression on circulating endothelial progenitor cells in patients with acute coronary syndromes: a pilot study [J]. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*, 2014, 15(4): 353-359.
- [6] 邹丽华,刘晋萍,张浩.乙醛脱氢酶 2 抗心肌缺血-再灌注损伤机制[J].*国际心血管病杂志*, 2013, 4(4): 220-223.
- [7] Lee SH, Kim JY, Yoo SY, et al. Cytoprotective effect of dieckol on human endothelial progenitor cells (hEPCs) from oxidative stress-induced apoptosis [J]. *Free Radic Res*, 2013, 47(6-7): 526-534.
- [8] Wenzel P, M6ller J, Zurmeyer S, et al. ALDH-2 deficiency increases cardiovascular oxidative stress--evidence for indirect antioxidant properties [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 367(1): 137-143.
- [9] Gu Q, Wang B, Zhang XF, et al. Chronic aerobic exercise training attenuates aortic stiffening and endothelial dysfunction through preserving aortic mitochondrial function in aged rats [J]. *Exp Gerontol*, 2014, 56: 37-44.
- [10] W6lkart G, Beretta M, Wenzl MV, et al. Tolerance to nitroglycerin through proteasomal down-regulation of aldehyde dehydrogenase-2 in a genetic mouse model of ascorbate deficiency [J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 168(8): 1 868-877.
- [11] 姜爱华,胡桃红,马会利.乙醛脱氢酶-2 基因多态性对北京市汉族老年冠心病患者急性心肌梗死发生率的影响[J].*中国医学工程*, 2011, 19(4): 54-56.
- [12] Kim YW, Byzova TV. Oxidative stress in angiogenesis and vascular disease [J]. *Blood*, 2014, 123(5): 625-631.
- [13] Song X, Wang B, Lin S, et al. Astaxanthin inhibits apoptosis in alveolar epithelial cells type II in vivo and in vitro through the ROS-dependent mitochondrial signalling pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2014, 18(11): 2 198-212.

(此文编辑 许雪梅)