

[文章编号] 1007-3949(2019)27-01-0011-07

· 实验研究 ·

## 丹皮酚通过抑制 p38 MAPK/N-SMase2 通路减少脂多糖诱导的 THP-1 细胞外泌体分泌

谢先梅, 李超, 孙颖, 戴敏

(安徽中医药大学药学院 新安医学教育部重点实验室, 安徽省合肥市 230012)

[关键词] 丹皮酚; 外泌体; 中性鞘磷脂酶 2; p38 丝裂原活化蛋白激酶; THP-1 细胞

[摘要] 目的 探讨丹皮酚抑制脂多糖诱导后 THP-1 细胞分泌外泌体的作用及机制。方法 超速离心法提取外泌体,透射电镜(TEM)观察外泌体形态,Western blot 检测标志蛋白 Alix、TSG101、CD9 和 CD63,动态光散射检测外泌体粒径。CCK-8 检测细胞存活率,BCA 法检测外泌体蛋白量,Western blot 检测 N-SMase2、p-p38 MAPK 蛋白水平。结果 超速离心法获得的微囊泡结构物具有完整清晰茶托样膜,直径众数为 130 nm,含标志性蛋白 Alix、TSG101、CD9 和 CD63,鉴定为外泌体。丹皮酚(120、60 及 30  $\mu\text{mol/L}$ )可降低脂多糖(1 mg/L)诱导的 THP-1 细胞分泌外泌体,减少 N-SMase2 蛋白表达,抑制 p38 MAPK 磷酸化。结论 丹皮酚抑制 THP-1 细胞外泌体分泌,该作用与抑制 p38 MAPK/N-SMase2 通路有关。

[中图分类号] R966;R5

[文献标识码] A

### Paeonol reduces exosome secretion in LPS-induced THP-1 cells by inhibiting p38 MAPK/N-SMase2 pathway

XIE Xianmei, LI Chao, SUN Ying, DAI Min

(College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine &amp; Key Laboratory of Xin'an Medicine, Ministry of Education, Hefei, Anhui 230012, China)

[KEY WORDS] paeonol; exosome; N-SMase2; p38 MAPK; THP-1 cells

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect and mechanism of paeonol on the secretion of exosomes in THP-1 cells induced by lipopolysaccharide (LPS). **Methods** THP-1 cell culture supernatant exosomes were extracted by ultracentrifugation; the morphology of exosomes was observed by transmission electron microscope (TEM), and the marker proteins Alix, TSG101, CD9 and CD63 were detected by Western blot, and the dynamic light scattering (DLS) was used to detect exosome particle size. CCK-8 was used to detect the effect of different concentrations (100, 10, 1, 0.1, 0.01 and 0.001 mg/L) of LPS on the survival rate of THP-1 cells to determine the optimal concentration; CCK-8 was used to detect the survival rate of THP-1 cells in different concentrations of paeonol (240, 120, 60, 30 and 15  $\mu\text{mol/L}$ ) medium for different time (12, 24 and 48 h), to determine the optimal concentration and time; the amount of exosome protein was detected by BCA; the levels of N-SMase2 and p38 MAPK proteins in the cells were detected by Western blot. **Results** The results showed that the microvesicle structure obtained by ultracentrifugation was exosome. When the dose of LPS was 1 mg/L, it was suitable; when paeonol was administered at 60  $\mu\text{mol/L}$ , the cell survival rate was higher at 24 h. The exosome secretion of the LPS group was significantly increased compared with the blank group, and the N-SMase2 protein level was increased, and the effect was similar to that of DNR. The exosome secretion of the paeonol group was significantly reduced compared with the LPS group, and the expression of N-SMase2 protein was decreased, and the effect was similar to that of GW4869. LPS promoted phosphorylation of p38 MAPK, and paeonol and SB203580 inhibited p38 MAPK phosphorylation. Paeonol inhibited the secretion of exosome of THP-1 cells after LPS stimulation. **Conclusion** Paeonol inhibits the se-

[收稿日期] 2018-08-22

[修回日期] 2018-09-27

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81773937)

[作者简介] 谢先梅, 硕士研究生, 研究方向为中药有效成分抗动脉粥样硬化作用机制, E-mail 为 xiexianmei163@163.com。通信作者戴敏, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为中药及其有效成分抗动脉粥样硬化作用及分子机制, E-mail 为 daiminliao@163.com。

cretion of THP-1 cell exosome, which is related to the inhibition of p38 MAPK/N-SMase2 pathway.

丹皮酚 (paeonol, Pae) 是毛茛科植物牡丹 *Paeonia Suffruticosa* Andr. 干燥根皮的主要活性成分之一, 具有抗炎、抗动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 等作用<sup>[1-2]</sup>, 对脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的单核/巨噬细胞炎症相关基因的表达有调控作用<sup>[3]</sup>。外泌体 (exosome, exo) 是细胞分泌的具有双层膜结构的胞外囊泡, 是细胞间通讯的重要介质, 具有调节免疫、炎症反应等功能。单核细胞是外泌体的重要来源细胞之一, 也是炎症反应发生的主要细胞。LPS、TNF- $\alpha$  等诱导因素引起的单核细胞炎症状态下, 外泌体的分泌大幅提高, 从而参与了 As 内皮血管的炎症反应<sup>[4]</sup>。中性鞘磷脂酶 2 (neutral sphingomyelin-2, N-SMase2) 是介导外泌体分泌的重要环节<sup>[5]</sup>, 上游介质 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 mitogen activated protein kinase, p38 MAPK) 可以诱导 N-SMase2 磷酸化并改变其活性<sup>[6]</sup>。既有研究表明丹皮酚可抑制 p38 MAPK 表达<sup>[7]</sup>, 也可缓解细胞炎症反应<sup>[8]</sup>。那么丹皮酚是否抑制单核细胞分泌外泌体? 该作用是否通过对 p38 MAPK/N-SMase2 通路的调控而实现? 本研究以外泌体为主要对象, 探索丹皮酚对单核细胞外泌体这一细胞间信息交流载体的影响, 以期对丹皮酚抑制单核细胞炎症反应提供新思路 and 科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 THP-1 细胞

THP-1 细胞购自中国科学院上海生命科学研究院细胞库, 培养于 RPMI 1640 培养基 (含 15% 胎牛血清, 1% 青霉素-链霉素), 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度条件下, 每 2~3 天传代一次。

### 1.2 药物与试剂

丹皮酚 (宣城百草植物工贸有限公司, 纯度 99%); GW4869、LPS (美国 Sigma 公司); RPMI 1640 培养基、胎牛血清 (美国 Gibco 公司); 青霉素-链霉素溶液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、CCK-8 试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司); Rabbit anti-CD63 (美国 Santa Cruz 公司); Rabbit anti-CD9、Rabbit anti-Alix、Rabbit anti-TSG101、N-SMase2 (英国 Abcam 公司); p38 MAPK antibody、p-p38 MAPK rabbit mAb (美国 Cell Signaling Technology 公司); 柔红霉素 (daunorubicin, DNR)、SB203580 (上海陶素生化科技有限公司)。

### 1.3 主要仪器

CO<sub>2</sub> 细胞培养箱 (日本 Sanyo 公司); 高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); 超速冷冻离心机 (美国 Beckman Coulter 公司); 酶标仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 电泳装置 (美国 Bio-Rad 公司)。

### 1.4 超速离心法提取外泌体<sup>[9]</sup>

取对数生长期 THP-1 细胞, 离心后无菌 PBS 洗 3 次, 换用含无外泌体胎牛血清<sup>[10]</sup> 的 RPMI 1640 培养基继续培养 48 h; 收集细胞培养上清, 使用 300×g 离心 10 min, 2000×g 离心 10 min, 18000×g 离心 30 min, 以连续离心取上清的方法去除细胞上清液中的悬浮细胞、死细胞、细胞碎片、微泡及凋亡小体等杂质; 离心后上清液用 0.22  $\mu$ m 滤器过滤, 110000×g 离心 70 min, 冰 PBS 重悬稀释外泌体沉淀, 110000×g 离心 70 min, 获得的沉淀物为纯净的外泌体, 200  $\mu$ L PBS 重悬后冻存于 -80 °C 保存备用。

### 1.5 TEM 观察外泌体形态

用 PBS 溶液稀释纯化的微泡, 重悬后混匀; 取 10  $\mu$ L 样本滴加至铜网状栅上, 1 min 后, 以滤纸轻轻吸干, 用 PBS 洗 2 次; 滴加 10  $\mu$ L 醋酸双氧铀于铜网上, 1 min 后用滤纸吸干, 室温下自然晾干; 透射电子显微镜 80~120 kV 成像观察外泌体形态。

### 1.6 动态光散射检测外泌体粒径

离心沉淀后的外泌体用适量纯水稀释, 用 1 mL 注射器将样品注射至检测槽中, 注意不要留气泡; 检测条件为温度 25 °C、温度平衡时间 70 s、黏度 0.89 cP、折射率 1.330, 测量 3 次, 待机器自动读数、记录并生成报告, 即得样品粒径平均值和粒径大小分布。

### 1.7 CCK-8 检测 THP-1 细胞存活率

将 THP-1 细胞混悬液 ( $1 \times 10^8$  cells/L) 接种于 96 孔板中培养, 分别给予 100、10、1、0.1、0.01 及 0.001 mg/L LPS 培养 24 h, 每孔加入 20  $\mu$ L CCK-8 (5 g/L), 再培养 0.5、1、2 及 4 h 后, 酶标仪检测 490 nm 处吸光度 (A), 确定 LPS 最佳作用浓度。细胞存活率 = (实验组 A 值 - 空白孔 A 值) / (正常对照组 A 值 - 空白孔 A 值)  $\times$  100%。与上述方法相同, 分别检测含 240、120、60、30 及 15  $\mu$ mol/L 丹皮酚的培养基培养 12、24 及 48 h 后 THP-1 细胞存活率, 确定最佳给药浓度和给药时间。

### 1.8 BCA 法定量

根据说明书将试剂 A、试剂 B 按 50 : 1 的比例配制成 BCA 工作液;用 PBS 将结晶牛血清白蛋白配制成 500 mg/L 的蛋白质标准溶液,分别加 0、1、2、4、8、12、16 及 20  $\mu\text{L}$  到 96 孔板中,并补足至 20  $\mu\text{L}$ ;将待测样品加入板中,以溶剂稀释到 20  $\mu\text{L}$ 。向上述稀释后的标准品及待测样品中分别加入 200  $\mu\text{L}$  BCA 工作液,混匀后 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 30 min;在酶标仪中测量 562 nm 处吸光度,根据标准曲线计算出样品的蛋白浓度。

### 1.9 Western blot 检测蛋白质水平

将药物干预培养后的细胞离心取沉淀,以适量的 RIPA 裂解液裂解得到蛋白,取此细胞蛋白或超速离心所得外泌体以 BCA 法定量后调整蛋白浓度,加 5 $\times$ Loading buffer,金属浴 100  $^{\circ}\text{C}$  加热 8 min 使蛋白变性。之后依次进行电泳、转膜、封闭、一抗孵育 (N-SMase2、p38 MAPK、p-p38 MAPK、Alix、TSG101、CD9 及 CD63 蛋白抗体)、二抗孵育,采用凝胶成像系统进行检测。

### 1.10 统计学分析

实验数据用 SPSS 23.0 软件进行统计分析,数据组间比较采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 外泌体的提取与鉴定

通过超速离心法从细胞培养上清液中获得大小均一的微囊泡结构物,透射电镜下观察其具有完整清晰茶托样膜(图 1),样本直径众数为 130 nm (图 2),Western blot 检测到其标志性蛋白 Alix、TSG101、CD9 和 CD63(图 3),鉴定为外泌体。

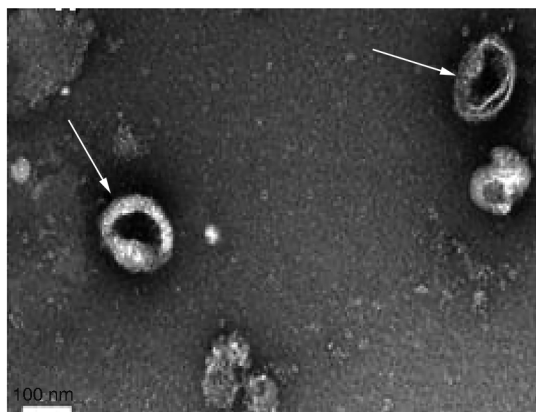


图 1. 透射电镜观察外泌体形态

Figure 1. Observation of exosome morphology by TEM

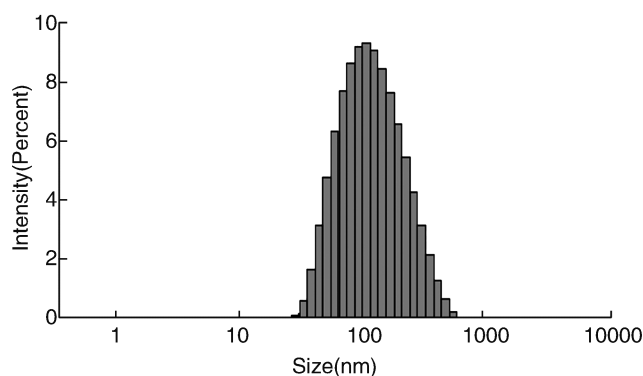


图 2. DLS 法检测外泌体粒径 ( $n=3$ )

Figure 2. Detection of exosome particle size by DLS ( $n=3$ )

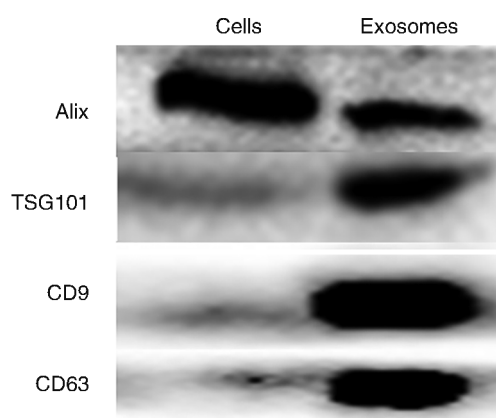


图 3. Western blot 检测外泌体标志性蛋白

Figure 3. Detection of exosome marker proteins by Western blot

### 2.2 丹皮酚对 LPS 诱导 THP-1 细胞的保护作用

随着 LPS 浓度的增加,THP-1 细胞存活率降低,LPS 为 1 mg/L 时与空白对照组比较差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ; 图 4);丹皮酚给药浓度为 60  $\mu\text{mol/L}$ ,作用 24 h 时细胞存活率最高(图 5)。

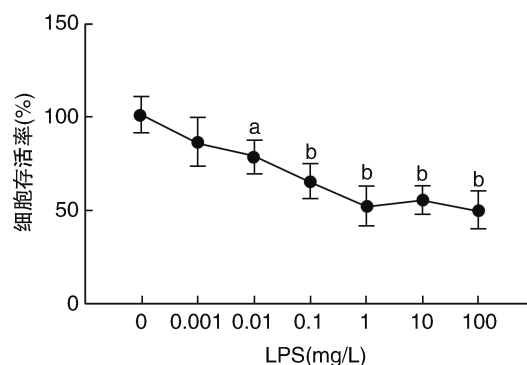


图 4. LPS 对 THP-1 细胞存活率的影响 ( $n=6$ ) a 为  $P < 0.05$ , b 为  $P < 0.01$ ,与空白对照组比较。

Figure 4. Effect of LPS on THP-1 cell survival rate ( $n=6$ )

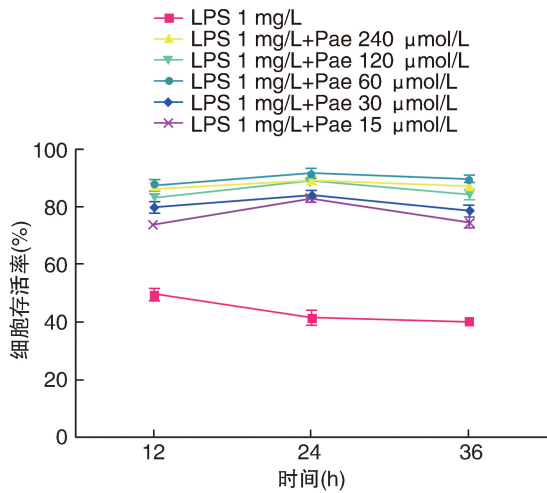


图 5. 丹皮酚对 LPS 诱导的 THP-1 细胞存活率的影响 (n=8)  
 Figure 5. Effect of Pae on LPS-induced THP-1 cell death rate (n=8)

2.3 丹皮酚减少外泌体分泌并抑制 N-SMase2 蛋白表达

LPS 诱导的 THP-1 细胞外泌体分泌和 N-SMase2 蛋白表达均明显增加,丹皮酚可以降低 LPS 诱导的 THP-1 细胞外泌体分泌,并抑制 N-SMase2 蛋白表达(图 6 和图 7)。

2.4 丹皮酚减少外泌体分泌与 N-SMase2 有关

Western blot 检测显示, N-SMase2 抑制剂 GW4869 作用后外泌体分泌和 N-SMase2 蛋白表达显著减少(图 8 和 9);N-SMase2 激动剂 DNR 作用后外泌体分泌和 N-SMase2 蛋白表达较空白对照组显著增加,但与 LPS 组比较差异无统计学意义,丹皮酚干预后外泌体分泌和 N-SMase2 蛋白含量有所降低(图 10 和 11),说明丹皮酚减少外泌体分泌可能与 N-SMase2 有关。

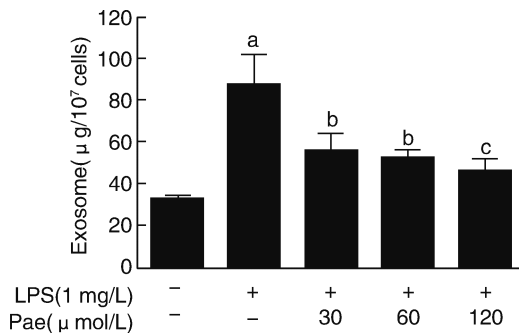


图 6. 丹皮酚对 LPS 诱导的 THP-1 细胞外泌体分泌的影响 (n=8) a 为 P<0.01,与空白对照组比较;b 为 P<0.05,c 为 P<0.01,与 LPS 组比较。

Figure 6. Effect of Pae on exosome secretion in LPS-induced THP-1 cells (n=8)

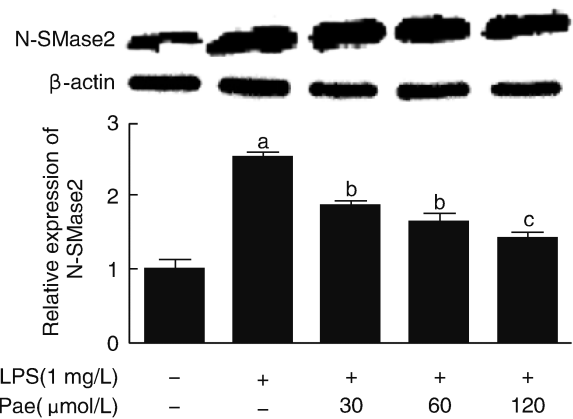


图 7. 丹皮酚对 LPS 诱导的 THP-1 细胞 N-SMase2 蛋白表达的影响 (n=3) a 为 P<0.01,与空白对照组比较;b 为 P<0.05, c 为 P<0.01,与 LPS 组比较。

Figure 7. Effect of Pae on N-SMase2 protein in LPS-induced THP-1 cells (n=3)

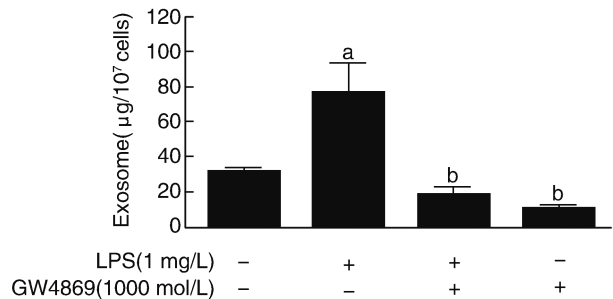


图 8. GW4869 对 LPS 诱导的 THP-1 细胞外泌体分泌的影响 (n=8) a 为 P<0.01,与空白对照组比较;b 为 P<0.01,与 LPS 组比较。

Figure 8. Effect of GW4869 on exosome secretion in LPS-induced THP-1 cells (n=8)

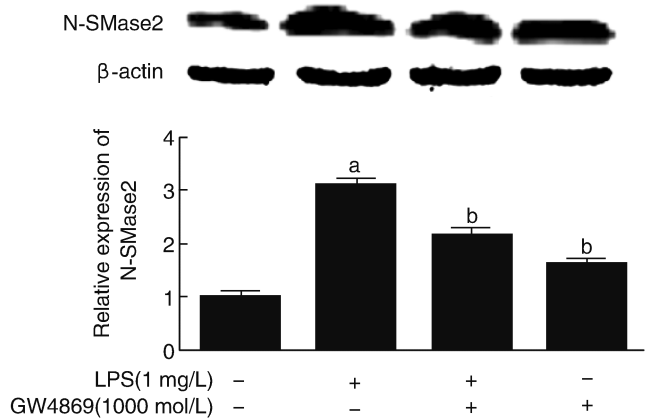


图 9. GW4869 对 LPS 诱导的 THP-1 细胞 N-SMase2 蛋白表达的影响 (n=3) a 为 P<0.01,与空白对照组比较;b 为 P<0.01,与 LPS 组比较。

Figure 9. Effect of GW4869 on N-SMase2 protein in LPS-induced THP-1 cells (n=3)

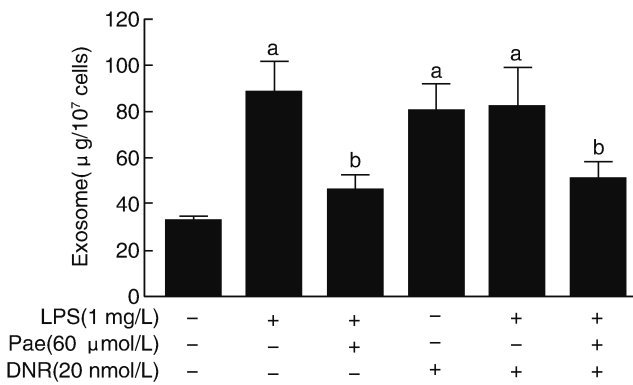


图 10. N-SMase2 激动剂 DNR 对 THP-1 细胞外泌体分泌的影响 ( $n=8$ ) a 为  $P<0.01$ , 与空白对照组比较; b 为  $P<0.01$ , 与 LPS 组比较。

Figure 10. Effect of N-SMase2 agonist DNR on exosome secretion in THP-1 cells ( $n=8$ )

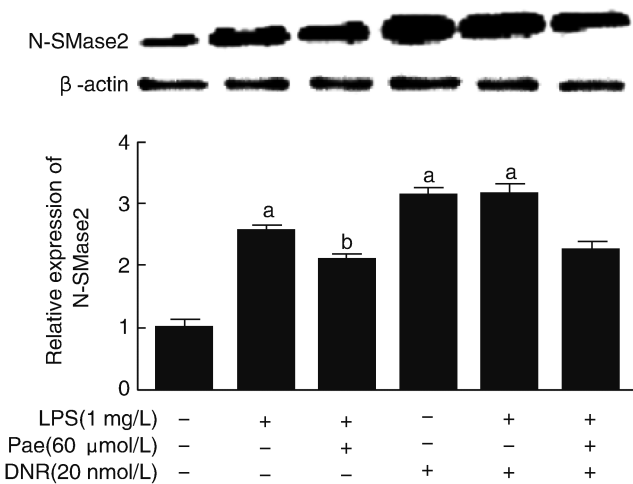


图 11. N-SMase2 激动剂 DNR 对 THP-1 细胞 N-SMase2 蛋白表达的影响 ( $n=3$ ) a 为  $P<0.01$ , 与空白对照组比较; b 为  $P<0.05$ , 与 LPS 组比较。

Figure 11. Effect of N-SMase2 agonist DNR on N-SMase2 protein in THP-1 cells ( $n=3$ )

### 2.5 丹皮酚抑制 LPS 诱导的 THP-1 细胞 p38 MAPK 磷酸化

p38MAPK 是 N-SMase2 的上游调控介质。Western blot 结果显示, LPS 对 p38 MAPK 磷酸化起促进作用, 丹皮酚可降低 LPS 诱导的 p38 MAPK 磷酸化, 且 p38 MAPK 表达量随丹皮酚浓度增加而减少(图 12)。

### 2.6 丹皮酚减少外泌体分泌与 p-p38 MAPK/N-SMase2 通路有关

丹皮酚给药后外泌体分泌降低, 其作用与 p38 MAPK 特异性抑制剂 SB203580 的作用相似(图 13)。Western blot 结果显示, 与 LPS 组相比, 丹皮酚

组 p-p38 MAPK、N-SMase2 蛋白表达减少, 使用 SB203580 后 p-p38 MAPK、N-SMase2 蛋白表达较 LPS 组也显著下降(图 14), 提示丹皮酚降低外泌体分泌可能与 p38 MAPK/N-SMase2 通路有关。

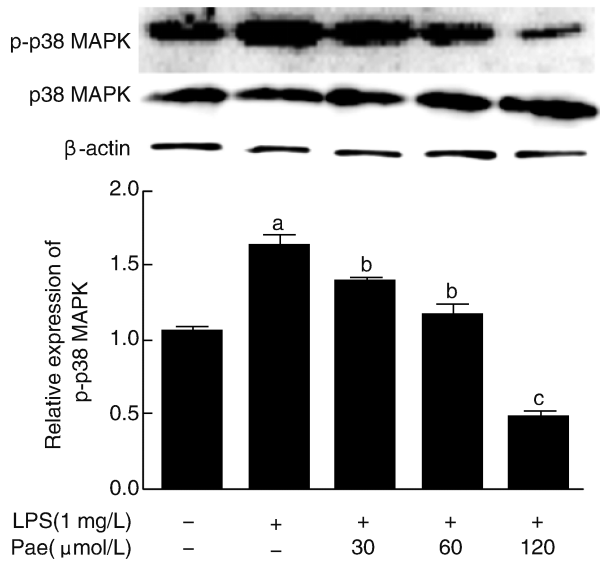


图 12. 丹皮酚对 LPS 诱导的 THP-1 细胞 p-p38 MAPK 蛋白表达的影响 ( $n=3$ ) a 为  $P<0.01$ , 与空白对照组比较; b 为  $P<0.05$ , c 为  $P<0.01$ , 与 LPS 组比较。

Figure 12. Effect of Pae on p-p38 MAPK protein in LPS-induced THP-1 cells ( $n=3$ )

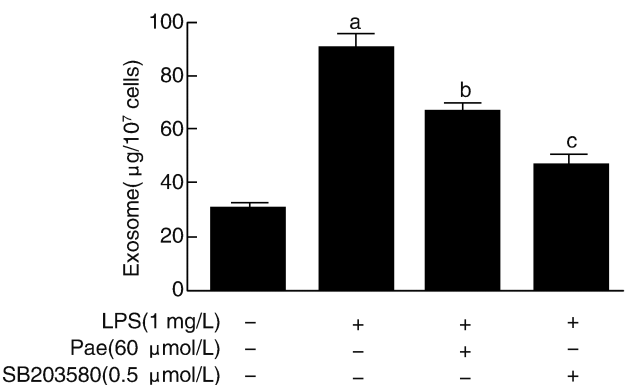


图 13. 丹皮酚与 SB203580 均降低外泌体分泌 ( $n=8$ ) a 为  $P<0.01$ , 与空白对照组比较; b 为  $P<0.05$ , c 为  $P<0.01$ , 与 LPS 组比较。

Figure 13. Both Pae and SB203580 reduced exosome secretion

## 3 讨论

炎症反应贯穿 As 发生发展的全过程, 单核细胞在其中发挥着重要作用。活化的单核细胞黏附于内皮细胞并分化为巨噬细胞, 大量吞噬 ox-LDL 而转

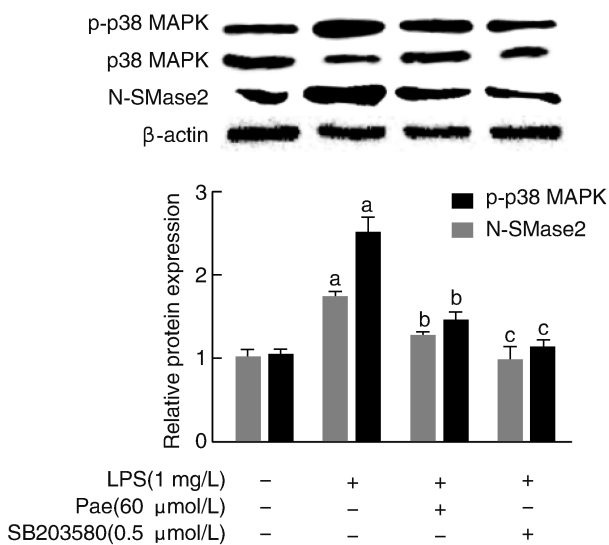


图 14. 丹皮酚与 SB203580 均抑制 p-p38 MAPK 和 N-SMase2 蛋白表达 ( $n=3$ ) a 为  $P<0.01$ , 与空白对照组比较; b 为  $P<0.05$ , c 为  $P<0.01$ , 与 LPS 组比较。

Figure 14. Both Pae and SB203580 inhibited p-p38 MAPK and N-SMase2 protein expression ( $n=3$ )

化为巨噬细胞源性泡沫细胞,在动脉内壁堆积形成脂质斑块<sup>[11]</sup>,由此,抑制单核细胞炎症反应是抗 As 的有效路径。

外泌体是由生物体内多种细胞释放的细胞外囊泡,直径在 30~150 nm,含有丰富的蛋白质、DNA、RNA、mRNA 等物质,是细胞间重要的通讯工具。炎症因子诱导后的外泌体中含有多种促炎介质,大量的促炎介质使外泌体具有促炎作用。单核/巨噬细胞在 LPS 等诱导因素作用下,分泌的外泌体炎症因子含量大大增加,这些炎症因子通过外泌体的形式进入细胞,参与调控其下游靶基因表达,加重炎症损伤,促进疾病进程<sup>[12-13]</sup>。本研究采用 LPS 诱导 THP-1 细胞模型以探讨丹皮酚对外泌体的分泌作用及机制。采用超速离心法提取外泌体,TEM 观察外泌体形态、Western blot 检测其标志蛋白、DLS 检测外泌体粒径,证明所得产物为外泌体。采用 BCA 法检测外泌体总蛋白,LPS 诱导的 THP-1 细胞外泌体分泌增加,丹皮酚干预显著降低外泌体含量,提示丹皮酚对外泌体分泌有抑制作用。

N-SMase2 主要是存在于高尔基体和内质网的 pH 为中性的酶,它可以水解鞘磷脂,形成神经酰胺 (ceramide, Cer), Cer 则是外泌体形成的关键物质。含有蛋白脂质蛋白 (proteolipid protein, PLP) 的外泌体在富含鞘脂的膜结构域产生,通过 Cer 微结构域并聚结成更大的结构域,促进囊泡向内出芽, Cer 的

锥形结构诱导内体膜自发形成负曲率,利于形成内囊泡<sup>[5,14]</sup>。当缺乏 N-SMase2 基因时外泌体分泌受到抑制<sup>[15]</sup>;给予 N-SMase2 干扰 RNA 时,外泌体分泌同样受到抑制<sup>[16]</sup>。DNR 和 GW4869 是实验研究中常用的 N-SMase2 蛋白激动剂和抑制剂。本研究结果显示,丹皮酚作用后 N-SMase2 含量降低,趋势与 GW4869 组相同,且随着丹皮酚给药浓度的增加而减少;N-SMase2 激动剂 DNR 干预后 N-SMase2 表达量显著升高,丹皮酚给药后 N-SMase2 含量有所降低,提示丹皮酚抑制外泌体分泌的作用靶点可能与 N-SMase2 有关。

p38 MAPK 是激活 N-SMase2 的上游介质<sup>[6]</sup>。通过 ROS、ox-LDL 等激活上游调控介质 p38 MAPK 可以诱导 N-SMase2 磷酸化而上调其活性,并且在此过程中 N-SMase2 下游物质 Cer 浓度也随之升高<sup>[17]</sup>。p38 MAPK 是 MAPK 家族调控炎症反应的重要成员之一,可被 LPS、促炎因子、ox-LDL 等多种物质激活,并且其可以特异性调节炎症细胞的分化、增殖和黏附迁移<sup>[18-19]</sup>。本研究采用 Western blot 检测了丹皮酚和 p38 MAPK 抑制剂 SB203580 干预后 THP-1 细胞 p-p38 MAPK 的表达量,结果显示两组 p-p38 MAPK 表达量均显著低于 LPS 组,且随着丹皮酚给药浓度的增加 p-p38 MAPK 表达量减少,说明丹皮酚对 p38 MAPK 通路有抑制作用。本研究结果提示丹皮酚抑制外泌体分泌可能通过抑制 p38 MAPK/N-SMase2 发挥作用。

#### [参考文献]

- [1] 胡文君, 张振, 戴敏. 丹皮酚通过抑制 PI3K/AKT-NF- $\kappa$ B 通路对 LPS 诱导的与平滑肌细胞共培养的大鼠血管内皮细胞的保护作用[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(12): 2298-2302.
- [2] 戴敏, 李后开. 丹皮酚对动脉粥样硬化家兔 TNF- $\alpha$  含量及其诱导的血管平滑肌细胞增殖的影响[J]. 中国中医药科技, 2007, 14(1): 31-32.
- [3] Lei H, Wen Q, Li H, et al. Paeonol inhibits lipopolysaccharide-induced HMGB1 translocation from the nucleus to the cytoplasm in RAW2647 cells[J]. Inflammation, 2016, 39(3): 1177-1187.
- [4] 李超, 戴敏. 不同细胞来源的外泌体在动脉粥样硬化中的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2017, 33(1): 27-32.
- [5] Trajkovic K, Hsu C, Chiantia S, et al. Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes [J]. Science, 2008, 319: 1244-1247.
- [6] Back MJ, Ha HC, Fu Z, et al. Activation of neutral sphin-

- gomyelinase 2 by starvation induces cell-protective autophagy via an increase in Golgi-localized ceramide[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(6): 670.
- [7] 刘雅蓉, 陈君君, 戴敏, 等. 丹皮酚通过 miR-21 介导的 p38 MAPK 信号通路下调氧化低密度脂蛋白诱导的大鼠血管内皮细胞肿瘤坏死因子- $\alpha$  释放[J]. *安徽中医药大学学报*, 2014, 33(1): 51-56.
- [8] Choy KW, Lau YS, Murugan D, et al. Paeonol attenuates LPS-induced endothelial dysfunction and apoptosis by inhibiting BMP4 and TLR4 signaling simultaneously but independently[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2018, 364(3): 420-432.
- [9] Narayanan K, Kumar S, Padmanabhan P, et al. Lineage-specific exosomes could override extracellular matrix mediated human mesenchymal stem cell differentiation[J]. *Biomaterials*, 2018, 182: 312-322.
- [10] Sharma S, Alharbi M, Kobayashi M, et al. Proteomic analysis of exosomes reveals an association between cell invasiveness and exosomal bioactivity on endothelial and mesenchymal cell migration in-vitro[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2018, 132(18): 2029-2044.
- [11] 李路, 钟巧青. 动脉粥样硬化疾病新的危险因素的控制[J]. *中国医师杂志*, 2016, 18(12): 1778-1781.
- [12] Tang N, Sun B, Gupta A, et al. Monocyte exosomes induce adhesion molecules and cytokines via activation of NF- $\kappa$ B in endothelial cells[J]. *FASEB J*, 2016, 30(9): 3097-3106.
- [13] Zhang Y, Liu D, Chen X, et al. Secreted monocytic miR-150 enhances targeted endothelial cell migration[J]. *Mol Cell*, 2010, 39(1): 133-144.
- [14] Verderio C, Gabrielli M. Role of sphingolipids in the biogenesis and biological activity of extracellular vesicles[J]. *J Lipid Res*, 2018, 59(8): 1325-1340.
- [15] Dinkins MB, Enasko J, Hernandez C, et al. Neutral sphingomyelinase-2 deficiency ameliorates Alzheimer's disease pathology and improves cognition in the 5XFAD mouse[J]. *J Neurosci*, 2016, 36(33): 8653-8667.
- [16] Menck K, Sönmezer C, Worst TS, et al. Neutral sphingomyelinases control extracellular vesicles budding from the plasma membrane [J]. *J Extracell Vesicles*, 2017, 6(1): 1378056.
- [17] Camaré C, Augé N, Pucelle M, et al. The neutral sphingomyelinase-2 is involved in angiogenic signaling triggered by oxidized LDL[J]. *Free Radic Biol Med*, 2016, 93: 204-216.
- [18] 马春艳, 徐瑞霞, 姚雨宏, 等. 小檗碱抑制氧化型低密度脂蛋白诱导的人脐静脉内皮细胞增殖及其分子机制[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(2): 144-151.
- [19] 孙慧琳, 黄志秋, 曾海龙, 等. p38MAPK-eNOS-NO 信号通路在人脐静脉内皮细胞凋亡的保护作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2016, 24(6): 561-565.
- (此文编辑 文玉珊)