

补体 C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白 1 通过激活 p38 信号通路增加内皮细胞黏附

孟华, 安松涛, 张燕, 陈岩

(河南省人民医院 阜外华中心血管病医院, 河南省郑州市 450000)

[关键词] CTRP1; 人脐静脉内皮细胞; 细胞黏附; p38 丝裂原活化蛋白激酶

[摘要] **目的** 探讨补体 C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白 1(CTRP1) 对人脐静脉内皮细胞(HUVEC) 黏附分子表达及黏附功能的影响及其分子机制。**方法** 体外实验采用培养 HUVEC 和人单核细胞白血病细胞株 THP-1 细胞。(1) 采用不同浓度 rCTRP1(10、100、1 000 $\mu\text{g}/\text{L}$) 刺激 HUVEC 24 h, 用实时荧光定量 PCR 和 Western blot 分别检测血管细胞黏附分子 1(VCAM-1) 和细胞间黏附分子 1(ICAM-1) mRNA 和蛋白表达水平;(2) 不同浓度 rCTRP1(10、100、1 000 $\mu\text{g}/\text{L}$) 或 TNF- α (10 $\mu\text{g}/\text{L}$) 分别刺激 HUVEC 24 h, 通过共孵育 HUVEC 和 THP-1 在倒置荧光显微镜下观察单个核细胞-内皮细胞黏附情况;(3) 对照组: 生理盐水和 BSA(10 μg) 为阴性对照, TNF- α (3 μg) 为阳性对照; 实验组: rCTRP1(3、10 μg) 分别腹腔注射小鼠, 倒置显微镜下实时观察小鼠肠系膜上动脉中白细胞的滚动及黏附情况;(4) 1 000 $\mu\text{g}/\text{L}$ rCTRP1 刺激 HUVEC(15、30、60 min), 采用 Western blot 检测 p38、ERK、JNK、p65 的磷酸化水平, 应用 SB203580 抑制 p38MAPK 信号通路后, Western blot 检测黏附分子 VCAM-1、ICAM-1 的蛋白表达。**结果** (1) rCTRP1 刺激 HUVEC 后, 黏附分子 VCAM-1 和 ICAM-1 的 mRNA 和蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$), 呈剂量依赖性, 尤以 ICAM-1 明显;(2) 体外实验: 随着 CTRP1 刺激剂量增加, 单个核细胞-内皮细胞黏附数显著增加, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 体内实验: 小鼠腹腔注射 rCTRP1 后, 血管内白细胞滚动速度显著下降, 黏附在内皮的细胞数目显著增加, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); (3) rCTRP1 刺激 HUVEC 后 p38 和 p65 磷酸化水平显著增加, ERK、JNK 磷酸化水平无明显变化, SB203580 抑制 p38MAPK 信号通路后, rCTRP1 诱导的 VCAM-1 和 ICAM-1 蛋白表达显著下降($P < 0.05$)。**结论** CTRP1 诱导内皮细胞分泌 VCAM-1 和 ICAM-1, 增加内皮细胞黏附能力, 其机制可能是通过激活 p38MAPK 信号通路。

[中图分类号] R363;R5

[文献标识码] A

CTRP1 promotes the adhesion of human umbilical vein endothelial cells through activation of the p38 signaling pathway

MENG Hua, AN Songtao, ZHANG Yan, CHEN Yan

(Henan Provincial People's Hospital, Fuwai Central China Cardiovascular Hospital, Zhengzhou, Henan 450000, China)

[KEY WORDS] C1q/TNF-related protein 1; human umbilical vein endothelial cell; cell adhesion; p38 mitogen-activated protein kinase(P38MAPK)

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of C1q/TNF-related protein 1 (CTRP1) on the expression of adhesion molecules and adhesion function of human umbilical vein endothelial cells(HUVEC) and related mechanisms.

Methods HUVEC were cultured and treated with different doses of recombinant CTRP1(10, 100, 1 000 $\mu\text{g}/\text{L}$). After 24 hours of stimulation, the gene expression and protein expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) were detected by Real-time fluorescence quantitative PCR and Western blot respectively. Fluorescence labeled THP-1 monocytes were incubated with HUVEC which were pre-treated with recombinant CTRP1(10, 100, 1 000 $\mu\text{g}/\text{L}$) or TNF- α (10 $\mu\text{g}/\text{L}$) for 24 h. The number of adhesion monocytes was counted by fluorescent microscope. In in vivo adhesion experiment, recombinant CTRP1 (3 or 10 μg), positive control factor

[收稿日期] 2018-05-18

[修回日期] 2018-09-02

[基金项目] 河南省科技厅基础与前沿技术研究计划项目(142300410264)

[作者简介] 孟华, 硕士, 主治医师, 研究方向为冠状动脉粥样硬化发病机制, E-mail 为 menghua0706@126.com。通信作者陈岩, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为冠心病的诊断及治疗, E-mail 为 doctorchen04@163.com。

TNF- α (3 μg), or negative control protein bovine serum albumin (BSA) was injected intraperitoneally for 2 h. Real-time monitoring microscopy was used to examine the rolling and adhesion of monocytes to the wall of mesenteric arteries. HUVEC were incubated with recombinant CTRP1 (1 000 $\mu\text{g}/\text{L}$) and the expression levels of phospho-p38MAPK, phospho-ERK, phospho-JNK and phospho-p65 were detected by Western blot. Simultaneously, HUVEC pre-treated with SB203580 (the p38MAPK special inhibitor) were incubated with recombinant CTRP1 (1 000 $\mu\text{g}/\text{L}$). The expression of adhesion molecules were detected by Western blot. **Results** After 24 h stimulation with recombinant CTRP1, protein and mRNA levels of adhesion molecules (VCAM-1 and ICAM-1) were significantly increased in a concentration-dependent manner in HUVEC ($P < 0.05$). CTRP1 dose-dependently induced the adhesion of THP-1 cells to HUVEC in vitro and interactions of leukocytes to the wall of mesenteric arteries in vivo. CTRP1 activated the p38 mitogenprotein kinase (MAPK) pathway with concurrent phosphorylation of the p65 in HUVECs. Consistently administration of p38 inhibitor SB203580, virtually abolished CTRP1-induced expression of VCAM-1 and ICAM-1. **Conclusion** CTRP1 can induce the expression of VCAM-1 and ICAM-1 in HUVEC and promote the adhesion function of HUVEC through the activation of p38 MAPK signaling pathway.

动脉粥样硬化是影响人们生存和生活质量的重大疾病, 尽管其发生机制尚未完全明确, 但是多数学者认为动脉粥样硬化是一种血管的慢性炎症疾病, 是炎症细胞、炎症因子、生长因子、血管内皮细胞、血管平滑肌细胞和血小板等共同参与和相互作用的结果^[1]。炎症细胞黏附于血管内皮细胞, 并穿越血管内皮细胞向内膜下渗出是炎症最重要的特征, 也是动脉粥样硬化性心血管疾病发生的始动环节^[2-3]。

补体 C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白 1 (C1q/TNF-related protein 1, CTRP1) 是一种多组织分泌的脂肪因子, 作为炎症因子参与机体的代谢调节和炎症反应^[4]。Kim 等^[5]研究发现 LPS 注入大鼠体内后, 通过肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 和白细胞介素 1 β (IL-1 β) 能够提高脂肪组织 CTRP1 表达。有研究显示冠心病患者侧枝循环形成不良与血清 CTRP1 水平升高相关, 该研究提示 CTRP1 可能作为炎症介质参与冠心病发展过程中新生血管生成, 但具体机制尚未完全阐明^[6-8]。因此, 本实验旨在研究 CTRP1 对血管内皮细胞黏附功能的影响及其分子机制, 有助于进一步探讨动脉粥样硬化的发病机制。

1 材料和方法

1.1 细胞培养

人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC) (中国科学院上海细胞生物学研究所) 采用专用培养基 M200 (GIBCO 公司) 进行培养。THP-1 细胞系 (ATCC, Manassas, VA) 在含 10% 胎牛血清 (GIBCO 公司) RPMI1640 培养基 (GIBCO 公司) 中悬浮培养。培养条件: 37 $^{\circ}\text{C}$ 、饱和湿度 5% CO_2 培养箱中。

1.2 rCTRP1 对黏附分子表达的影响

采用不同浓度 (10、100、1 000 $\mu\text{g}/\text{L}$) 小鼠源性 CTRP1 重组蛋白 (Adipobioscience 公司) 刺激人脐静脉内皮细胞 24 h, 提取 RNA 和细胞总蛋白。采用实时荧光定量 PCR 法检测 VCAM-1 和 ICAM-1 的 mRNA 表达。VCAM-1 引物序列: 上游 5'-TGTTT-GTCAGGCTAAG-3', 下游 5'-GACCAAGACGGTTG-TATC-3'; ICAM-1 引物序列: 上游 5'-AGGTGTAT-GAACTGAGCA-3', 下游 5'-TGGCAGCCTAGGGTAA G-3'。采用 Western blot 法检测 VCAM-1 (抗体购自 Abcam 公司) 和 ICAM-1 蛋白 (抗体购自 Cell Signaling Technology 公司) 水平。

1.3 THP-1 单核细胞与内皮细胞黏附实验

(1) 预处理 THP-1 细胞: 将悬浮培养的 THP-1 细胞 1 000 r/min 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min, PBS (Hyclone 公司) 重悬细胞调整细胞密度至 $10^9/\text{L}$, 加入 10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 绿色荧光染料 BCECF-AM (Invitrogen 公司) 标记细胞, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min, 1 000 r/min 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min, PBS 清洗 2 次, 用 M200 培养基重悬细胞。(2) 预处理 HUVEC: 6 孔板中培养 HUVEC, 采用不同浓度的 rCTRP1 (10、100、1 000 $\mu\text{g}/\text{L}$) 或 TNF- α (10 $\mu\text{g}/\text{L}$) 刺激 HUVEC 24 h, 去除 HUVEC 细胞培养液。(3) 共同培养: 将 HUVEC 的培养液更换为上述 THP-1 细胞悬液, 共孵育 40 min 后 PBS 清洗 3 次, 去除未贴壁的 THP-1 细胞。(4) 标记: 应用 Rhodamine-phalloidin (罗丹明, Invitrogen 公司) 和 DAPI (Invitrogen 公司) 分别对细胞形态和细胞核染色, 在倒置的荧光显微镜下观察 THP-1 细胞-内皮细胞黏附情况, 并拍照 (采用 20 倍率)。

1.4 CTRP1 增加血管内白细胞滚动黏附实验

4 周龄的 C57 小鼠 (购自上海斯莱克实验动物有限责任公司), 对照组: 生理盐水和 BSA (10 μg)

为阴性对照, TNF- α (3 μ g) 为阳性对照; 实验组: rCTR1 (3 μ g、10 μ g) 分别通过腹腔注射 2 h 后, 再给予腹腔注射氯胺酮/甲苯噻嗪 (0.13/0.0088 mg/g, Sigma 公司) 实行麻醉, 眼底静脉注射 0.05% Rhodamine 6G 50 μ L (Invitrogen 公司), 沿腹白线切开小鼠腹腔, 暴露肠系膜血管, 胶水固定小肠在培养皿上, 打开倒置荧光显微镜 (IX71、Olympus), 接通载物台上的 37 $^{\circ}$ C 恒温加热板, 将小鼠及培养皿放置加热板上, 实时观测肠系膜动静脉内白细胞滚动及黏附情况, 视频记录, 利用 Image-Pro Plus 软件定量分析各组小鼠肠系膜动静脉血管中白细胞的滚动和黏附差异。

1.5 CTR1 对 p38MAPK 信号通路的影响

使用 1 000 μ g/L rCTR1 刺激 HUVEC 15、30 和 60 min, 提取细胞蛋白, Western blot 法检测 p38、ERK、JNK 和 p65 磷酸化 (抗体购自 Cell Signaling Technology 公司) 水平, 使用 SB203580 (Cell Signaling Technology 公司) 预处理 HUVEC 1 h, 而后加入 rCTR1 (1 000 μ g/L) 刺激 24 h, 提取细胞蛋白, 采用 Western blot 检测 ICAM-1 和 VCAM-1 蛋白水平。

1.6 图像的灰度分析及统计

Western blot 显影胶片用 HP2410 扫描仪扫描为 “*.TIF” 文件, 采用 NIH Image 软件进行分析, 计算相关蛋白质显影条带的灰度值, 以 GAPDH 作为内

参, 求得各蛋白质的相对灰度值 (RI), 结果以 RI 表示。将生物学重复试验的结果用 SPSS16.0 软件进行分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CTR1 刺激 HUVEC 后黏附分子表达增加

不同浓度的 rCTR1 刺激 HUVEC 24 h 后, 内皮细胞中 VCAM-1 mRNA 水平在低剂量和中剂量刺激时虽较正常对照组呈升高趋势, 但无统计学差异 ($P > 0.05$), 在高剂量组显著升高, 为正常对照组的 (5.20 \pm 0.88) 倍 (图 1); ICAM-1 mRNA 水平随着 rCTR1 刺激浓度的增加而增加, 其中高剂量组 ICAM-1 mRNA 是正常对照组的 (9.30 \pm 2.52) 倍, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$; 图 1)。VCAM-1 和 ICAM-1 蛋白表达水平均随着 CTR1 刺激浓度增加而显著增加 ($P < 0.05$; 图 1)。

2.2 CTR1 促进 THP-1 单核细胞与内皮细胞黏附

不同浓度 rCTR1 (10、100、1 000 μ g/L) 预刺激 HUVEC 24 h, 用 TNF- α (10 μ g/L) 作为阳性对照, 然后将 1×10^6 个 THP-1 细胞和 HUVEC 共孵育 40 min 后, 荧光显微镜下分析黏附在内皮细胞上的 THP-1 细胞, 结果显示 THP-1-内皮细胞黏附数量随着 rCTR1 剂量增加而增加 ($P < 0.05$; 图 2)。

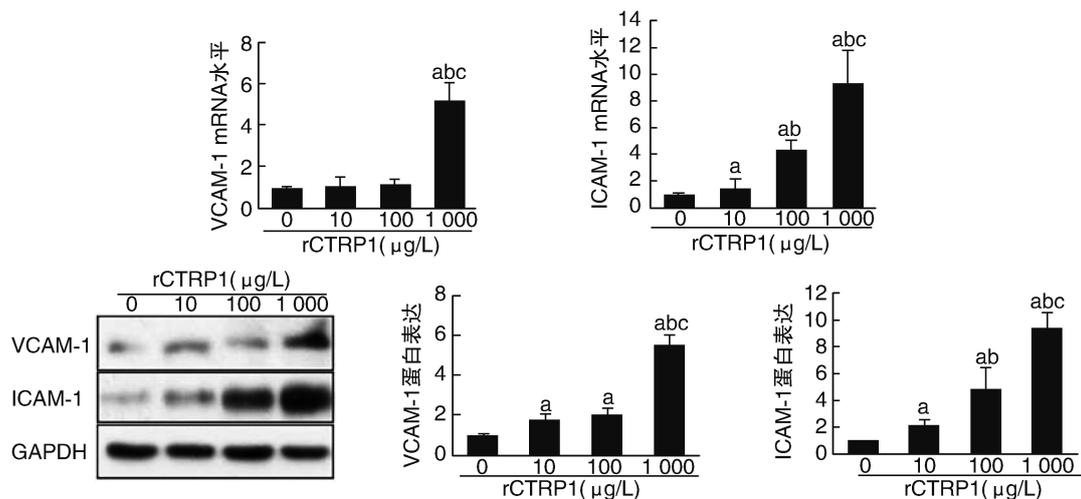


图 1. CTR1 刺激 HUVEC 后黏附分子 mRNA 和蛋白表达水平 a 为 $P < 0.05$, 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 10 μ g/L rCTR1 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 100 μ g/L rCTR1 组比较。

Figure 1. mRNA and protein expression levels of adhesion molecules after CTR1 stimulation

2.3 CTR1 增加体内白细胞-内皮黏附

循环中的白细胞沿血管壁滚动、黏附和向内皮下迁移是动脉粥样硬化病变发生的起始步骤之一。为进一步研究小鼠体内炎症因子 CTR1 引起的细

胞黏附改变, 采用眼底静脉注射 0.05% 的 Rhodamine 荧光染料标记血管内白细胞, 显微镜下实时观测血管中白细胞-内皮细胞间的滚动和黏附情况, 分析腹腔注射 rCTR1 小鼠与正常对照组小鼠间白细胞黏

附差异(图 3A),结果显示 rCTRP1 组小鼠肠系膜动脉中,滚动的白细胞数量随着 rCTRP1 剂量的增加而增加(图 3B),黏附在内皮的白细胞数显著增加(图 3C),而白细胞沿血管壁滚动速度显著下降(图

3D),高剂量 rCTRP1 组结果与阳性对照组间差异无显著性。该研究结果显示 CTRP1 可降低白细胞滚动速度,增加白细胞在血管内皮的黏附聚集。

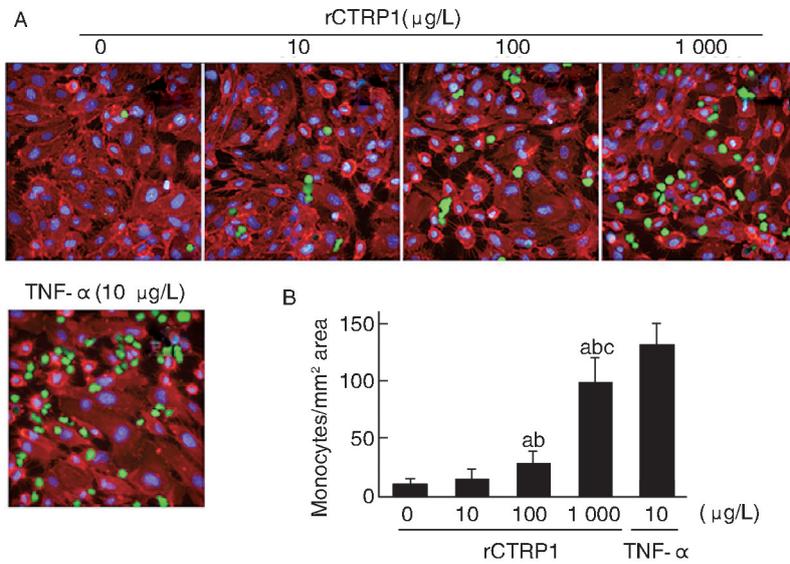


图 2. CTRP1 孵育对单核细胞-内皮细胞间黏附的影响 A 为不同浓度的 rCTRP1 或 TNF-α 刺激 HUVEC 后,荧光显微镜下(20×)拍摄 THP-1-内皮细胞黏附,红色为 Rhodamine-phalloidin 标记的 HUVEC,蓝色为 DAPI 标记的细胞核,绿色为 BCECF-AM 标记的 THP-1 细胞;B 为统计每平方米黏附的单个核细胞数。a 为 $P < 0.05$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与 10 μg/L rCTRP1 组比较;c 为 $P < 0.05$,与 100 μg/L rCTRP1 组比较。

Figure 2. CTRP1 promotes THP-1 monocyte-endothelial cells adhesion in vitro

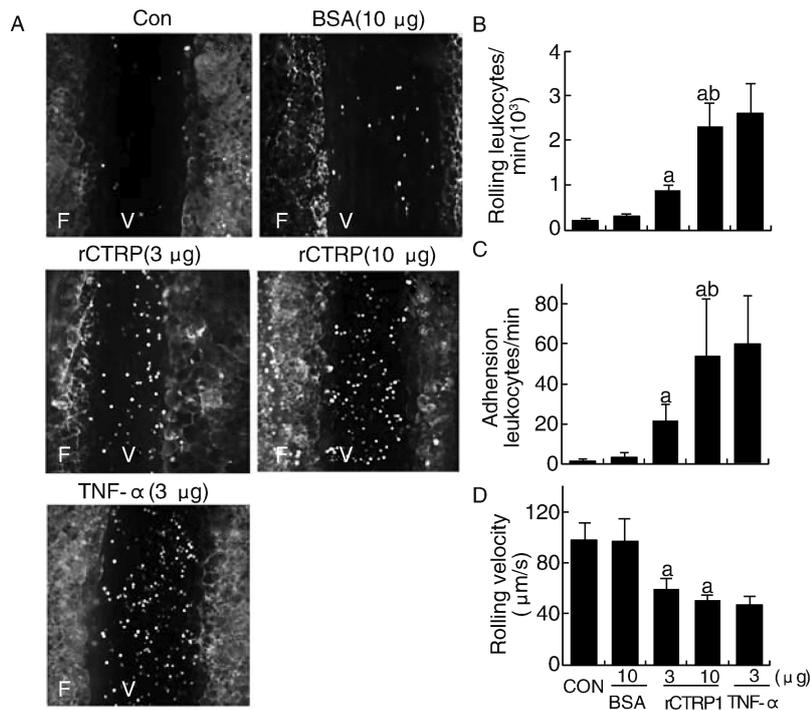


图 3. CTRP1 体内促进白细胞-内皮细胞黏附 A 为 4 周龄的 C57 小鼠,分别给予腹腔注射生理盐水、BSA(10 μg)、TNF-α(3 μg)和 rCTRP1(3、10 μg)2 h,显微镜下(100×)观察血管内白细胞滚动和黏附改变(F 为脂肪组织,V 为血管,白色圆点为白细胞);B 为定量分析血管中滚动的白细胞数;C 为定量分析血管中黏附的白细胞数(3 s 滚动的距离 < 50 μm 定义为黏附);D 为定量分析白细胞滚动速度。a 为 $P < 0.05$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与 rCTRP1(3 μg)组比较。

Figure 3. CTRP1 increases leukocyte-endothelial cells adhesion in vivo

2.4 CTRP1 通过激活 p38MAPK 调控内皮细胞黏附分子表达

CTRP1 激活内皮细胞后,以剂量依赖性增加黏附分子表达,参与调节体内炎症反应,而 p38MAPK 通路被认为是细胞内参与炎症反应的重要通路。本实验检测了 CTRP1 对细胞信号通路磷酸化水平的影响,结果显示 CTRP1 显著增加了 p38 和 p65 的

磷酸化水平,而 ERK 和 JNK 的磷酸化水平无显著增加(图 4)。应用 p38 信号通路的特异性阻断剂 SB203580 预处理细胞抑制 p38 激活,能很大程度抑制 CTRP1 诱导的 VCAM-1 和 ICAM-1 的表达水平升高(图 4),提示 CTRP1 刺激内皮细胞后通过激活 p38MAPK 调节内皮细胞表达黏附分子、增加细胞黏附功能。

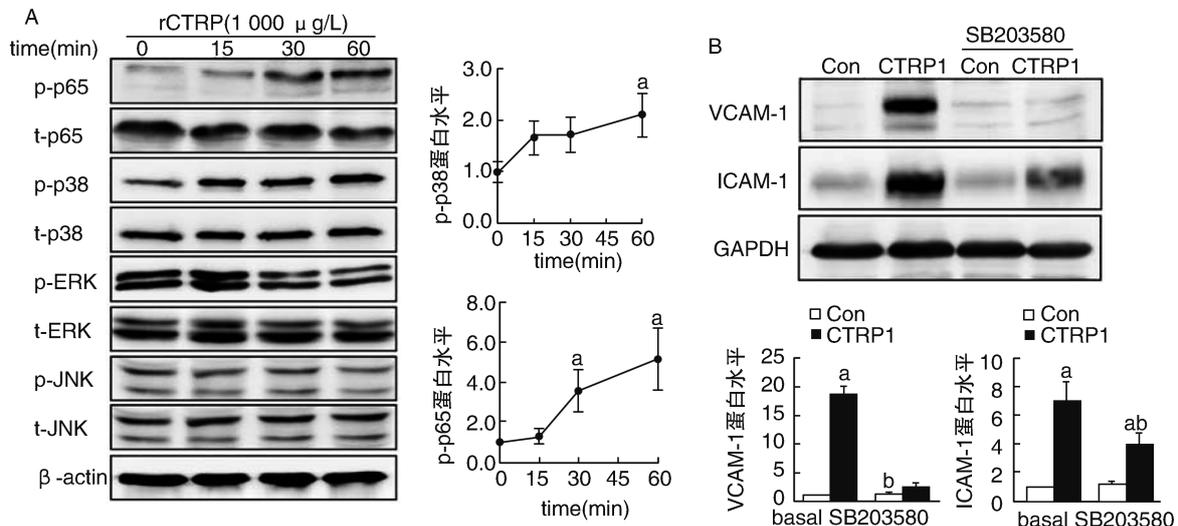


图 4. CTRP1 激活 p38 和 p65 信号通路 A 为 HUVEC 给予不同时间 rCTRP1 刺激,Western blot 分析 p-p38、p-ERK、p-JNK 和 p-p65 蛋白表达及定量分析 p-p38 和 p-p65 蛋白水平;B 为 SB203580 预处理细胞后,CTRP1 诱导的 VCAM-1 和 ICAM-1 蛋白表达及 VCAM-1 和 ICAM-1 蛋白表达水平灰度分析。A 为 $P < 0.05$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与无 SB203580 组比较。

Figure 4. CTRP1 promotes the activation of p65 and p38 signaling pathways

3 讨论

CTRP1 是近些年发现的脂肪细胞因子,近期多项研究显示冠心病患者循环中 CTRP1 水平显著升高^[9],升高的 CTRP1 与侧枝循环形成不良、缺血再灌注损伤等相关^[7-8]。这些研究结果说明 CTRP1 与冠心病有密切关系,因此受到较多学者关注。Lu 等^[10]研究发现,腹腔注射 CTRP1 可促进 ApoE 敲除小鼠动脉硬化,而在 CTRP1/ApoE 双敲除小鼠中动脉粥样硬化范围及血管炎症反应均显著降低,推测 CTRP1 参与冠状动脉粥样硬化病理过程。

内皮细胞(endothelial cell, EC)功能障碍可导致血管内皮依赖性异常、血小板聚集性增强、白细胞黏附于血管壁及平滑肌增生^[11],被认为是动脉粥样硬化的始动因素。而内皮细胞损伤始于内皮细胞激活,内皮细胞被激活后释放多种细胞因子如 ICAM-1、VCAM-1,引起各种不同程度的炎症反应和细胞凋亡^[12-13]。引起内皮细胞激活的因素有很多种,包括物理应力、外界刺激、细菌产物如内毒素

(LPS)、细胞因子如 IL-1、TNF- α 等均可引起内皮细胞激活^[13-14]。本研究发现 rCTRP1 刺激内皮细胞后,黏附分子 ICAM-1 和 VCAM-1 mRNA 和蛋白水平均增加,尤以 ICAM-1 明显,小剂量 rCTRP1 刺激即可引起 ICAM-1 高表达,并呈剂量依赖性,而 VCAM-1 表达增加虽达到统计学差异,但不如 ICAM-1 明显。

本研究中通过 THP-1 和内皮细胞共培养,在体外观察内皮细胞黏附功能。结果发现,随着 rCTRP1 刺激剂量的增加单核细胞在内皮细胞上的黏附数目显著增加。同时,通过动物实验,显微镜下在体内实时观察血管中白细胞-内皮细胞间的滚动和黏附,结果显示 rCTRP1 腹腔注射小鼠后,白细胞贴壁滚动速度显著下降,滚动的白细胞数目及黏附在血管内皮的白细胞数目显著增加。本研究结果进一步证实 CTRP1 可以激活内皮细胞,导致内皮细胞功能紊乱,分泌黏附分子和炎症分子,进而促进白细胞贴壁、黏附、聚集及内膜下迁移,促进动脉粥样硬化的发生发展^[15]。既往研究显示,LPS 和 TNF- α 可

单独或协同激活 p38MAPK 激酶,启动核转录因子 p65,促进内皮细胞激活,分泌 ICAM-1 和 VCAM-1 黏附分子,加速中性粒细胞和单核细胞与内皮细胞的黏附,并向内膜下迁移,诱发炎症反应和血栓形成,促进动脉粥样硬化的进展^[16-17]。本研究中,我们发现 rCTRP1 作用于内皮细胞后 p38MAPK 和 p65 信号通路被激活,而 p44/p42MAPK 和 JNK 磷酸化水平未见明显变化。应用 p38 特异性阻断剂 SB203580 后,CTRP1 引起内皮细胞黏附增加被抑制,提示 CTRP1 可能通过激活 p38MAPK 通路,启动跨核被膜调控,致内皮细胞激活并功能紊乱,该研究结果与前期结果相符合。

综上所述,本研究结果提示 CTRP1 可能作为一种潜在的炎症因子,通过 p38MAPK 信号途径激活内皮细胞,促进内皮细胞分泌黏附分子,增加单核细胞-内皮细胞间黏附,参与动脉粥样硬化病理过程。

[参考文献]

- [1] Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis [J]. *Nature*, 2011, 473(7347): 317-325.
- [2] Woollard KJ. Immunological aspects of atherosclerosis [J]. *Clin Sci*, 2013, 125(5): 221-235.
- [3] 毛洋, 刘小琼, 王洪梅, 等. 细胞间黏附分子 1、血管细胞黏附分子 1 促进兔动脉粥样硬化斑块内血管新生 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(3): 217-222.
- [4] Peterson JM, Aja S, Wei Z, et al. CTRP1 protein enhances fatty acid oxidation via AMP-activated protein kinase (AMPK) activation and acetyl-CoA carboxylase (ACC) inhibition [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(2): 1576-1587.
- [5] Kim KY, Kim HY, Kim JH, et al. Tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β increases CTRP1 expression in adipose tissue [J]. *FEBS Lett*, 2006, 580(16): 3953-3960.
- [6] Jeon JH, Kim KY, Kim JH, et al. A novel adipokine CTRP1 stimulates aldosterone production [J]. *FASEB J*, 2008, 22(5): 1502-1511.
- [7] Yuasa D, Ohashi K, Shibata R, et al. Association of circulating C1q/TNF-related protein 1 levels with coronary artery disease in men [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99846.
- [8] Shen Y, Lu L, Liu ZH, et al. Increased serum level of CTRP1 is associated with low coronary collateralization in stable angina patients with chronic total occlusion [J]. *Int J Cardiol*, 2014, 174(1): 203-206.
- [9] 凌媛, 王书鸿, 梁伟, 等. 血清补体 C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白 1 水平与冠状动脉粥样硬化性心脏病相关性研究 [J]. *诊断学理论与实践*, 2017(2): 199-203.
- [10] Lu L, RY Zhang, XQ Wang, et al. C1q/TNF-related protein-1: an adipokine marking and promoting atherosclerosis [J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(22): 1762-1771.
- [11] 马彩云, 柳景华, 王韶屏, 等. 内皮功能障碍与冠心病的研究 [J]. *心肺血管病杂志*, 2016, 35(6): 482-484.
- [12] Stanley C, Robert W, Christopher A, et al. Endothelial dysfunction in patients with recent myocardial infarction and hyperhomocysteinaemia: effects of vitamin supplementation [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2005, 108(1): 65-72.
- [13] 陈洪娜, 李军, 王福文. 非血脂因素致内皮损伤时黏附分子变化的研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25(3): 314-320.
- [14] Liao F, Li M, Han D, et al. Biomechanopharmacology: a new borderline discipline [J]. *Trends Pharmacol Sel*, 2006, 27(6): 287-289.
- [15] Ling S, Nheu L, Komesaroff PA. Cell adhesion molecules as pharmaceutical target in atherosclerosis [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2012, 12(2): 175-183.
- [16] Kawanami D, Maemura K, Takeda N, et al. C-reactive protein induced VCAM-1 gene expression through NF-kappaB activation in vascular endothelial cells [J]. *Atherosclerosis*, 2006, 185(1): 39-46.
- [17] Rahman A, Anwar KN, Minhajuddin M, et al. cAMP targeting of p38 MAP kinase inhibits thrombin-induced NF-kappaB activation and ICAM-1 expression in endothelial cells [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004, 287(5): L1017-L1024.

(此文编辑 许雪梅)