

## 褪黑素减轻同型半胱氨酸诱导的冠状动脉 内皮细胞损伤及机制探讨

关信民<sup>1</sup>, 郭壮波<sup>1</sup>, 邓鹏程<sup>1</sup>, 汤穆洽<sup>1</sup>, 朱孟杰<sup>1</sup>, 赵强<sup>2</sup>

(暨南大学医学院附属广州红十字会医院 1. 急诊科, 2. 心内科, 广东省广州市 510220)

[关键词] 冠心病; 冠状动脉内皮细胞; 同型半胱氨酸; 细胞凋亡; Akt/mTOR 通路

[摘要] 目的 研究褪黑素(MT)减轻同型半胱氨酸(Hcy)诱导冠状动脉内皮细胞损伤的作用,并探讨其机制是否与激活蛋白激酶 B(Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)通路有关。方法 培养人冠状动脉内皮细胞(HCAEC)并分组,对照组用不含药物的 DMEM 处理,Hcy 组用含有 1 mmol/L Hcy 的 DMEM 处理,MT 组用含有 1 mmol/L Hcy 及 500  $\mu$ mol/L MT 的 DMEM 处理,MT+LY 组用含有 1 mmol/L Hcy、500  $\mu$ mol/L MT 及 10  $\mu$ mol/L LY294002(Akt 抑制剂)的 DMEM 处理。检测细胞活力、细胞凋亡、细胞周期及 p-Akt、p-mTOR 的含量。结果 Hcy 组的细胞活力、S 期及 G2/M 期比例、细胞中 Bcl-2、CyclinD1、p-Akt、p-mTOR 的含量低于对照组,细胞凋亡率、G0/G1 期比例、细胞中 Bax、cleaved Caspase-3 的含量高于对照组;MT 组的细胞活力、S 期及 G2/M 期比例、细胞中 Bcl-2、CyclinD1、p-Akt、p-mTOR 的含量高于 Hcy 组,细胞凋亡率、G0/G1 期比例、细胞中 Bax、cleaved Caspase-3 的含量低于 Hcy 组;MT+LY 组的细胞活力、S 期及 G2/M 期比例、细胞中 Bcl-2、CyclinD1、p-Akt、p-mTOR 的含量低于 MT 组,细胞凋亡率、G0/G1 期比例、细胞中 Bax、cleaved Caspase-3 的含量高于 MT 组。结论 MT 能够减轻 Hcy 诱导的 HCAEC 损伤,调控 Akt/mTOR 通路是 MT 减轻 HCAEC 损伤的相关机制之一。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### Melatonin reduces homocysteine-induced injury of coronary artery endothelial cells and its mechanism

GUAN Xinmin<sup>1</sup>, GUO Zhuangbo<sup>1</sup>, DENG Pengcheng<sup>1</sup>, TANG Muyu<sup>1</sup>, ZHU Mengjie<sup>1</sup>, ZHAO Qiang<sup>2</sup>

(1. Department of Emergency, 2. Department of Cardiology, Guangzhou Red Cross Hospital, Medical College of Jinan University, Guangzhou, Guangdong 510220, China)

[KEY WORDS] coronary heart disease; coronary artery endothelial cells; homocysteine; cell apoptosis; Akt/mTOR pathway

[ABSTRACT] **Aim** To study the effects of melatonin (MT) on homocysteine (Hcy)-induced injury of coronary artery endothelial cells and clarify whether the mechanism is related to the activation of protein kinase B (Akt)/mammalian rapamycin target protein (mTOR) pathway. **Methods** Human coronary artery endothelial cells (HCAEC) were cultured and grouped. The control group was treated with DMEM without drugs, the Hcy group with DMEM containing 1 mmol/L Hcy, the MT group with DMEM containing 1 mmol/L Hcy and 500  $\mu$ mol/L MT, and the MT+LY group with DMEM containing 1 mmol/L Hcy, 500  $\mu$ mol/L MT and 10  $\mu$ mol/L LY294002. Cell viability, cell apoptosis, cell cycle and the expression of p-Akt and p-mTOR were detected. **Results** Cell viability, S phase and G2/M phase ratio, the expression levels of Bcl-2, cyclinD1, p-Akt and p-mTOR in Hcy group were lower than those in control group, apoptotic rate, G0/G1 phase ratio, the expression levels of Bax and cleaved caspase-3 in Hcy group were higher than those in control group; cell viability, S phase and G2/M phase ratio, the expression levels of Bcl-2, cyclinD1, p-Akt and p-mTOR in MT group were higher than those in Hcy group, apoptotic rate, G0/G1 phase ratio, the expression levels of Bax and cleaved caspase-3 in MT group were lower than those in Hcy group; cell viability, S phase and G2/M phase ratio, the expression of Bcl-2, cyclinD1, p-Akt and p-mTOR in MT+LY group were lower than those in MT group, apoptotic rate, G0/G1 phase

[收稿日期] 2019-04-08

[修回日期] 2019-11-07

[基金项目] 广东省科技计划项目(2013B021800033)

[作者简介] 关信民,副主任医师,研究方向为心血管内科。通信作者赵强,博士研究生,主任医师,研究方向为心血管疾病。

ratio, the expression levels of Bax and cleaved caspase-3 in MT+LY group were higher than those in MT group. **Conclusion** MT can reduce the apoptosis of HCAEC induced by Hcy, regulating Akt/mTOR pathway is one of the mechanisms responsible for MT reducing HCAEC injury.

同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是一种具有细胞毒性的含硫氨基酸,由甲硫氨酸经过脱甲基反应产生,高 Hcy 血症是近年来发现的心脑血管事件独立危险因素<sup>[1-2]</sup>。异常升高的 Hcy 能够通过损伤血管内皮细胞的屏障功能及分泌功能、刺激血管平滑肌细胞增殖、激活炎症反应等方式来促进动脉发生粥样硬化,进而参与冠心病、脑卒中等多种心脑血管疾病的发生及发展<sup>[3-4]</sup>。冠状动脉粥样硬化是冠心病发病的病理基础,冠状动脉内皮细胞的损伤是冠状动脉发生粥样硬化的始动环节。已有多项研究报告, Hcy 能够诱导人冠状动脉内皮细胞(human coronary artery endothelial cells, HCAEC)发生损伤,刺激细胞发生凋亡,针对 Hcy 诱导 HCAEC 凋亡进行干预是冠心病防治的有效靶点之一<sup>[5-6]</sup>。

褪黑素(melatonin, MT)是由松果体合成和分泌的神经内分泌激素,具有广泛的抗炎、抗氧化、抗凋亡等细胞保护作用。在高 Hcy 血症大鼠中,MT 被证实能够改善血管内皮功能<sup>[7]</sup>;在缺血再灌注心肌模型中,MT 被证实能够激活 Akt/mTOR 通路并发挥心肌保护作用<sup>[8]</sup>。但是,MT 是否能够在 Hcy 诱导 HCAEC 损伤中发挥保护作用尚未明确。为此,本研究以 HCAEC 为对象,具体分析了 MT 调控 Akt/mTOR 通路减轻 Hcy 诱导 HCAEC 损伤的作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要材料

HCAEC 购自上海雅吉生物科技有限公司, Akt 抑制剂 LY294002 购自 MCE 公司, MTS 细胞活力检测试剂盒购自 Promega 公司, TUNEL 凋亡检测试剂盒、RIPA 裂解液、BCA 蛋白定量试剂盒购自上海碧云天公司, 碘化丙啶(PI)购自 Sigma 公司, B 细胞淋巴瘤/白血病基因 2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 x 蛋白(Bax)、cleaved 含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3(caspase-3)、细胞周期蛋白 D1(cyclinD1)、磷酸化蛋白激酶 B(p-Akt)、磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR)的单克隆一抗购自 Abcam 公司。

### 1.2 细胞培养及分组

HCAEC 用含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养, 用 0.25% 胰蛋白酶消化后按照 1:3 的比例传代。取传代后对数生长期的 HCAEC 接种在培养板中,

按照下列方法进行分组及处理:对照组用不含药物的 DMEM 处理; Hcy 组参照马小峰等<sup>[9]</sup>的研究, 用含有 1 mmol/L Hcy 的 DMEM 处理, 孵育 24 h; MT 组参照钟琪等<sup>[10]</sup>的研究, 先用含有 500  $\mu$ mol/L MT 的 DMEM 孵育 1 h, 而后加入 Hcy 使其终浓度达到 1 mmol/L 并继续孵育至 24 h; MT+LY 组先用含有 500  $\mu$ mol/L MT 及 10  $\mu$ mol/L LY294002 的 DMEM 孵育 1 h, 而后加入 Hcy 使其终浓度达到 1 mmol/L 并继续孵育至 24 h。每个处理条件重复 4 次。

### 1.3 细胞活力的检测

HCAEC 接种在 96 孔培养板中, 分组处理 24 h 后向每个培养孔内加入 MTS 试剂盒的检测液 20  $\mu$ L, 继续在培养箱中培养 4 h, 取出培养板、充分震荡后放置在酶标仪上检测 490 nm 波长处的吸光值, 记为 OD<sub>490</sub>。

### 1.4 细胞凋亡率的检测

HCAEC 接种在 96 孔培养板中, 分组处理 24 h 后弃去培养基, 4% 多聚甲醛固定细胞 0.5 h 后用 TUNEL 试剂盒进行避光染色, 染色后显微镜下观察并计算细胞凋亡率。

### 1.5 细胞周期的检测

HCAEC 接种在 24 孔培养板中, 分组处理 24 h 后弃去培养基, 用 0.25% 胰蛋白酶消化收集细胞, 制备细胞悬液后加入 3 mL 4  $^{\circ}$ C 的 70% 乙醇固定过夜; 次日, 加入 5 g/L PI 溶液 200  $\mu$ L、避光孵育 30 min, 最后在流式细胞仪上检测细胞周期。

### 1.6 蛋白含量的检测

HCAEC 接种在 12 孔培养板中, 分组处理 24 h 后弃去培养基, 用 RIPA 裂解液提取细胞中的总蛋白, 用 BCA 试剂盒检测总蛋白含量, 取含有 30  $\mu$ g 总蛋白的样本, 加入预先配置好的 SDS-PAGE 凝胶, 电泳后电转 NC 膜, 将 NC 膜放入 5% 脱脂牛奶、室温封闭 2 h, 洗膜后将 NC 膜放入 Bcl-2、Bax、cleaved Caspase-3、CyclinD1、p-Akt、p-mTOR 的单克隆一抗中, 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜; 次日, 洗膜后将 NC 膜放入 HRP 二抗中, 室温孵育 2 h 后在凝胶成像仪中成像, 得到蛋白条带及灰度值, 根据灰度值计算蛋白含量。

### 1.7 统计学方法

采用 SPSS22.0 软件录入数据, 计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间计量资料的比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD-t 法,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 褪黑素对 Hcy 作用下 HCAEC 活力的影响

与对照组比较,Hcy 组 HCAEC 活力值  $OD_{490}$  水平降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与 Hcy 组比较,MT 组 HCAEC 活力值  $OD_{490}$  水平增加,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与 MT 组比较,MT+LY 组 HCAEC 活力值  $OD_{490}$  水平降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ ;图 1)。

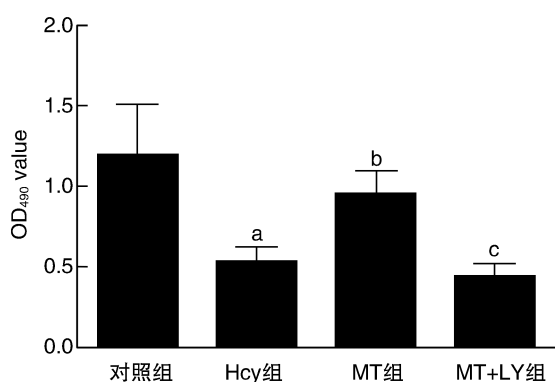


图 1. 褪黑素对 Hcy 作用下 HCAEC 活力的影响( $n=4$ )

a 为  $P<0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P<0.05$ ,与 Hcy 组比较;c 为  $P<0.05$ ,与 MT 组比较。

Figure 1. Effect of melatonin on the viability of HCAEC under the treatment of Hcy( $n=4$ )

### 2.2 褪黑素对 Hcy 作用下 HCAEC 凋亡的影响

与对照组比较,Hcy 组 HCAEC 的凋亡率增加,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与 Hcy 组比较,MT 组 HCAEC 的凋亡率降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与 MT 组比较,MT+LY 组 HCAEC 的凋亡率增加,差异有统计学意义( $P<0.05$ ;图 2)。

### 2.3 褪黑素对 Hcy 作用下 HCAEC 细胞周期的影响

与对照组比较,Hcy 组 HCAEC 的 G0/G1 期比例增加,S 期、G2/M 期比例减少,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与 Hcy 组比较,MT 组 HCAEC 的 G0/G1 期比例减少,S 期、G2/M 期比例增加,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与 MT 组比较,MT+LY 组 HCAEC 的 G0/G1 期比例增加,S 期、G2/M 期比例减少,差异有统计学意义( $P<0.05$ ;图 3 和表 1)。

### 2.4 褪黑素对 Hcy 作用下 HCAEC 中凋亡及细胞周期相关蛋白含量的影响

与对照组比较,Hcy 组 HCAEC 中 Bax、cleaved Caspase-3 的含量增加,Bcl-2、CyclinD1 的含量降低,

差异有统计学意义( $P<0.05$ );与 Hcy 组比较,MT 组 HCAEC 中 Bax、cleaved Caspase-3 的含量降低,Bcl-2、CyclinD1 的含量增加,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与 MT 组比较,MT+LY 组 HCAEC 中 Bax、cleaved Caspase-3 的含量增加,Bcl-2、CyclinD1 的含量降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ ;图 4)。

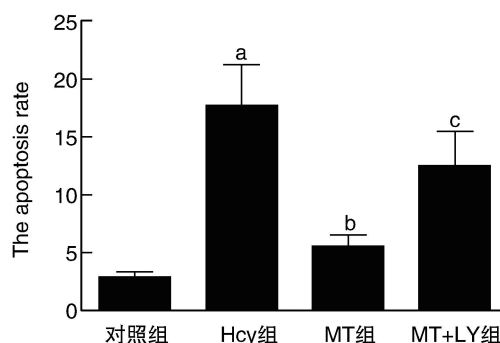
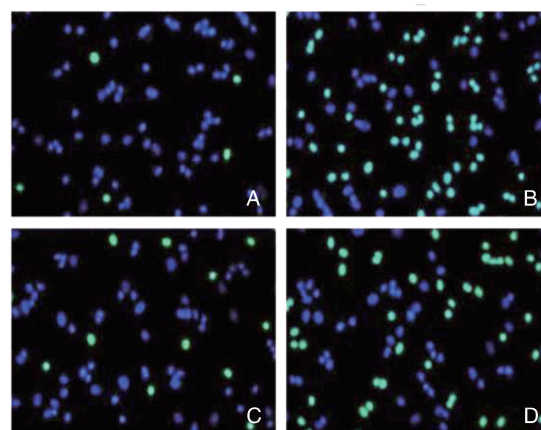


图 2. 褪黑素对 Hcy 作用下 HCAEC 凋亡的影响( $400\times, n=4$ ) A 为对照组,B 为 Hcy 组,C 为 MT 组,D 为 MT+LY 组。a 为  $P<0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P<0.05$ ,与 Hcy 组比较;c 为  $P<0.05$ ,与 MT 组比较。

Figure 2. Effect of melatonin on the apoptosis of HCAEC under the treatment of Hcy( $400\times, n=4$ )

表 1. 褪黑素对 Hcy 作用下 HCAEC 细胞周期的影响( $n=4$ )

Table 1. Effect of melatonin on the cell cycle of HCAEC under the treatment of Hcy( $n=4$ )

分组	G0/G1 (%)	S (%)	G2/M (%)
对照组	39.49±6.83	32.73±7.18	27.78±6.49
Hcy 组	61.23±11.38 <sup>a</sup>	24.18±9.93 <sup>a</sup>	14.59±4.27 <sup>a</sup>
MT 组	45.75±8.49 <sup>b</sup>	30.71±8.19 <sup>b</sup>	23.54±6.14 <sup>b</sup>
MT+LY 组	60.19±9.35 <sup>c</sup>	23.74±5.58 <sup>c</sup>	16.07±3.39 <sup>c</sup>

a 为  $P<0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P<0.05$ ,与 Hcy 组比较;c 为  $P<0.05$ ,与 MT 组比较。

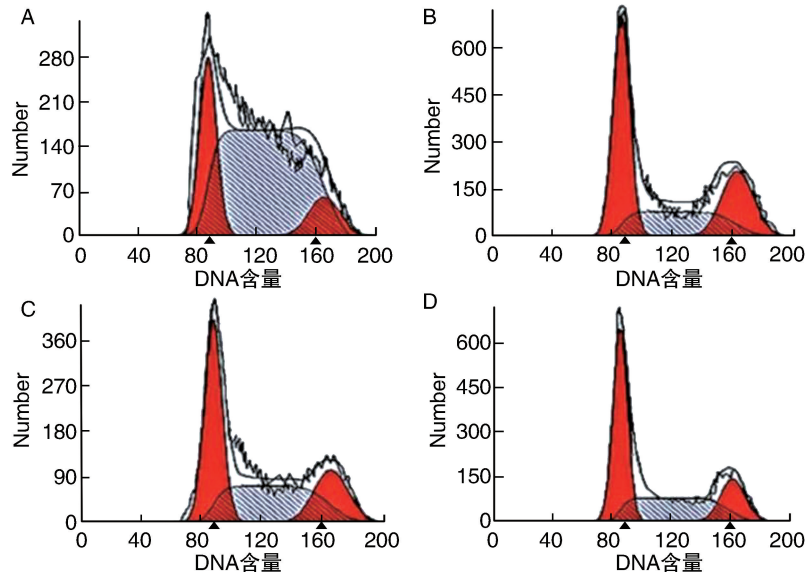


图 3. 流式细胞术检测细胞周期 A 为对照组, B 为 Hcy 组, C 为 MT 组, D 为 MT+LY 组。

Figure 3. Detection of cell cycle by flow cytometry

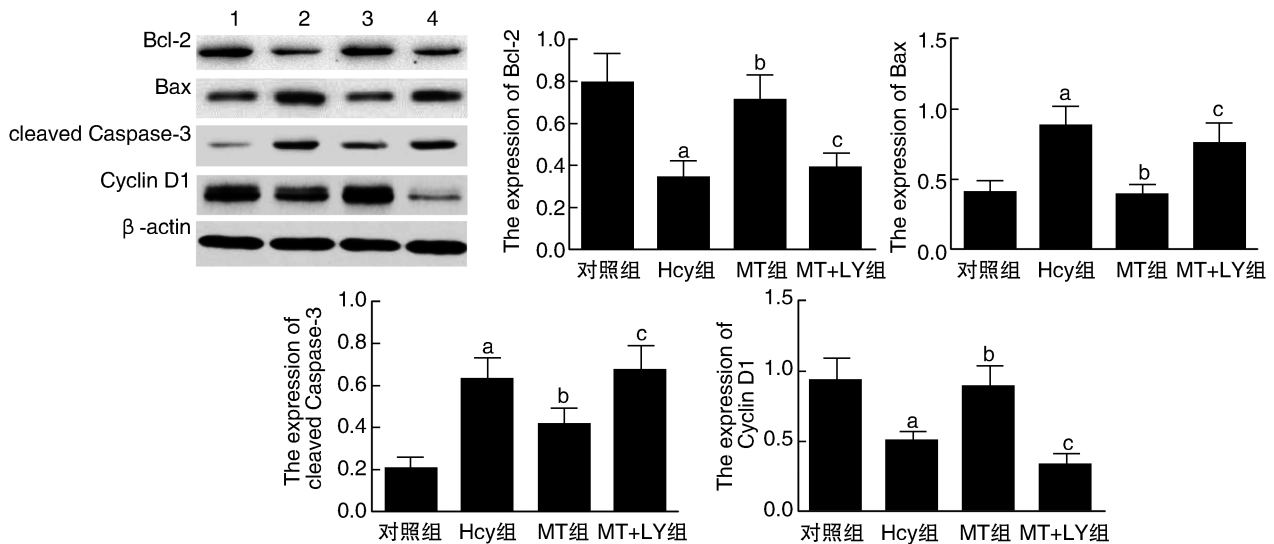


图 4. 褪黑素对 Hcy 作用下 HCAEC 中 Bax、Bcl-2、cleaved Caspase-3、CyclinD1 含量的影响 (n=4) 1 为对照组, 2 为 Hcy 组, 3 为 MT 组, 4 为 MT+LY 组。a 为 P<0.05, 与对照组比较; b 为 P<0.05, 与 Hcy 组比较; c 为 P<0.05, 与 MT 组比较。

Figure 4. Effect of melatonin on the expression of Bax, Bcl-2, cleaved caspase-3, cyclinD1 in HCAEC under the treatment of Hcy (n=4)

### 2.5 褪黑素对 Hcy 作用下 HCAEC 中 Akt 及 mTOR 含量的影响

与对照组比较, Hcy 组 HCAEC 中 p-Akt、p-mTOR 的含量降低, 差异有统计学意义 (P<0.05); 与 Hcy 组比较, MT 组 HCAEC 中 p-Akt、p-mTOR 的含量增加, 差异有统计学意义 (P<0.05); 与 MT 组比较, MT+LY 组 HCAEC 中 p-Akt、p-mTOR 的含量降低, 差异有统计学意义 (P<0.05; 图 5)。

### 3 讨论

血管内皮是介于血管壁与血液循环之间的结构, 内皮损伤在动脉粥样硬化的发生发展中起到关键作用。完整的血管内皮光滑且具有良好的舒缩功能; 而当内皮发生损伤时, 炎症细胞、血脂等容易在损伤局部浸润, 炎症细胞、血脂等容易在损伤局部浸润并参与动脉粥样硬化<sup>[11-12]</sup> 的发生发展。目前已知与血管内皮损伤有关的病理因素包括高血糖、高血脂、高 Hcy 等, 其中 Hcy 对血管内皮的损伤



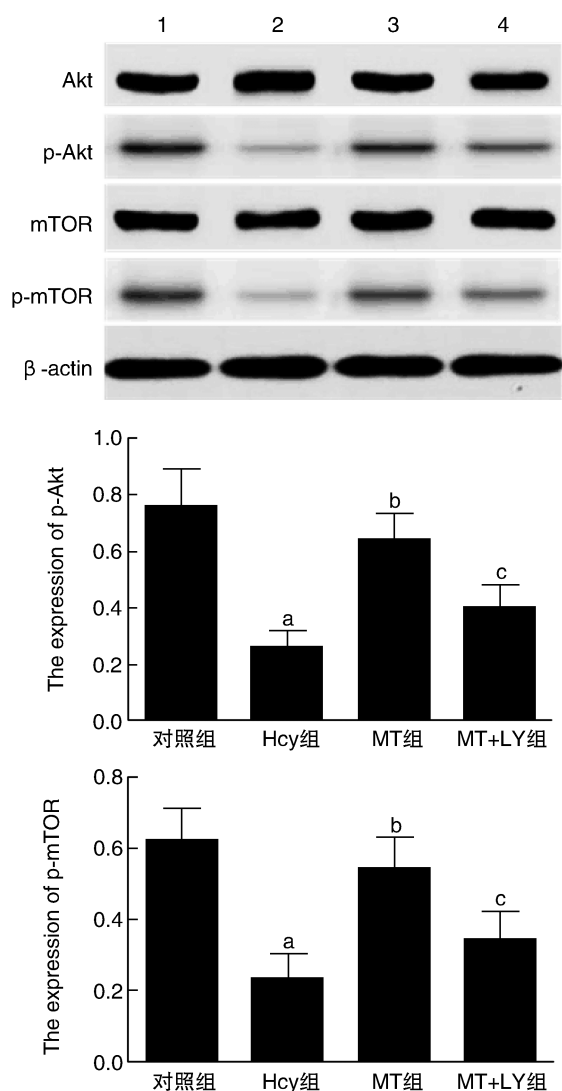


图5. 褪黑素对 Hcy 作用下 HCAEC 中 p-Akt 和 p-mTOR 表达的影响 ( $n=4$ ) 1 为对照组,2 为 Hcy 组,3 为 MT 组,4 为 MT+LY 组。a 为  $P<0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P<0.05$ ,与 Hcy 组比较;c 为  $P<0.05$ ,与 MT 组比较。

Figure 5. Effect of melatonin on the expression of p-Akt, p-mTOR in HCAEC under the treatment of Hcy ( $n=4$ )

作用在近些年受到了越来越多的关注。高 Hcy 血症是包括冠心病在内的多种心脑血管事件的独立危险因素,多项研究报道,Hcy 能够引起脐静脉内皮细胞发生损伤,相关的生物学环节包括诱导内皮细胞凋亡、细胞周期停滞<sup>[13-14]</sup>。

本研究以 HCAEC 为实验对象,分析了高 Hcy 血症对冠状动脉内皮细胞的影响,通过细胞活力、凋亡率及细胞周期的检测得到了与既往其他学者多项研究一致的结果,即 Hcy 组的细胞活力、细胞周期 S 期及 G2/M 期比例明显降低,细胞凋亡率及细胞周期 G0/G1 期比例明显增加。细胞活力的降低说明 Hcy 引起了 HCAEC 发生损伤,细胞凋亡率

的增加及细胞周期大量停滞于 G0/G1 期则说明诱导细胞凋亡及细胞周期阻滞是 Hcy 诱导 HCAEC 损伤的可能生物学途径。在此基础上,进一步分析细胞凋亡及细胞周期相关蛋白的表达来验证 Hcy 对 HCAEC 凋亡及细胞周期的影响可知:Hcy 组细胞中 Bax、cleaved Caspase-3 的含量增加,Bcl-2、CyclinD1 的含量降低。Bax 和 Bcl-2 是调控凋亡的关键分子,前者增加细胞色素 C 的释放并促进 Caspase-3 前体活化为 cleaved Caspase-3,后者减少细胞色素 C 的释放并抑制 Caspase-3 前体活化为 cleaved Caspase-3,cleaved Caspase-3 直接参与细胞凋亡,其表达增多能够促进细胞凋亡的发生<sup>[15]</sup>;CyclinD1 是调控细胞周期的关键分子,与 CDK4、CDK6 形成复合体后能够促进细胞通过细胞周期的检查点、加速细胞周期<sup>[16]</sup>。本研究对上述凋亡及细胞周期相关蛋白的分析结果与细胞凋亡率、细胞周期的变化结果吻合,进而也验证了 Hcy 诱导 HCAEC 凋亡及细胞周期停滞的作用。

MT 是一类神经内分泌激素,已经被证实具有内皮保护作用。在高 Hcy 大鼠中,MT 能够改善血管内皮的舒缩功能;在 LPS 诱导的人脐静脉内皮细胞损伤中,MT 能够发挥抗凋亡及抗炎作用。本研究将 MT 用于 Hcy 诱导 HCAEC 损伤的干预,旨在发挥 MT 对内皮细胞的保护作用,通过分析细胞活力、凋亡率及细胞周期的变化可知:MT 组的细胞活力、细胞周期 S 期及 G2/M 期比例明显高于 Hcy 组,凋亡率及细胞周期 G0/G1 期比例明显低于 Hcy 组,说明 MT 对 Hcy 诱导的 HCAEC 损伤、凋亡、细胞周期阻滞均具有改善作用。进一步分析凋亡及细胞周期相关蛋白含量的变化可知:MT 组细胞中 Bax、cleaved Caspase-3 的含量明显低于 Hcy 组,Bcl-2、CyclinD1 的含量明显高于 Hcy 组,说明 MT 能够调节多种凋亡及细胞周期相关蛋白的表达,进而也验证了 MT 对 Hcy 诱导 HCAEC 损伤、凋亡、细胞周期阻滞的改善作用。

Akt/mTOR 通路是细胞内调控细胞凋亡、细胞周期的关键信号通路,在缺血再灌注心肌细胞中,MT 被证实能够促进该通路的激活并起到心肌保护作用<sup>[8]</sup>。Akt/mTOR 通路中的信号分子以磷酸化的形式发生激活,Akt 活化为 p-Akt 后能够刺激 mTOR 磷酸化为 p-mTOR,后者在细胞核内调控 CyclinD1、Bcl-2 等基因的表达,进而起到抑制凋亡、加速细胞周期的作用<sup>[17-18]</sup>。在本研究中,Hcy 刺激 HCAEC 后细胞中 p-Akt、p-mTOR 的表达明显减少,MT 干预后 p-Akt、p-mTOR 的表达明显增加,说明 Hcy 能够

抑制 HCAEC 中 Akt/mTOR 通路的激活,而 MT 干预能够促进 HCAEC 中 Akt/mTOR 通路的激活,这也可能是 MT 在 HCAEC 中发挥保护作用的分子机制。为了验证这一机制,PI3K/Akt 的抑制剂 LY294002 与 MT 联合用于 HCAEC 的干预,在加用 Akt 抑制剂后,MT 对 Hcy 诱导 HCAEC 损伤、凋亡、细胞周期阻滞的改善作用明显被削弱,说明激活 Akt/mTOR 通路在 MT 发挥 HCAEC 保护作用中起到重要作用。

综上所述,MT 能够减轻 Hcy 诱导的 HCAEC 损伤,对 Hcy 诱导的细胞凋亡及细胞周期阻滞均具有改善作用,激活 Akt/mTOR 通路是 MT 发挥 HCAEC 保护作用的机制之一,未来 MT 有望成为防治冠心病的治疗药物。

#### [参考文献]

- [1] Wang F, Sui X, Xu N, et al. The relationship between plasma homocysteine levels and MTHFR gene variation, age, and sex in Northeast China[J]. Niger J Clin Pract, 2019, 22(3): 380-385.
- [2] Zhu M, Mao M, Lou X. Elevated homocysteine level and prognosis in patients with acute coronary syndrome: a meta-analysis[J]. Biomarkers, 2019, 24(4): 309-316.
- [3] Zhang HP, Wang YH, Ma SC, et al. Homocysteine inhibits endothelial progenitor cells proliferation via DNMT1-mediated hypomethylation of Cyclin A[J]. Exp Cell Res, 2018, 362(1): 217-226.
- [4] Ma SC, Zhang HP, Jiao Y, et al. Homocysteine-induced proliferation of vascular smooth muscle cells occurs via PTEN hypermethylation and is mitigated by Resveratrol [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(4): 5312-5319.
- [5] 季政,周昌钻,朱虹岷,等. 同型半胱氨酸诱导的内质网蛋白与动脉粥样硬化关系的研究进展[J]. 中华全科医学, 2016, 14(4): 652-655.
- [6] Li F, Chen Q, Song X, et al. MiR-30b is involved in the homocysteine-induced apoptosis in human coronary artery endothelial cells by regulating the expression of caspase 3 [J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(8): 17682-17695.
- [7] 葛沁,陈慧,秦红,等. 褪黑素对高同型半胱氨酸血症大鼠血管内皮功能的保护作用[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2019, 33(4): 287-290,294.
- [8] 徐臣年,尹文超,王建浩,等. 褪黑素通过 Akt/mTOR 信号通路对自噬和 H9C2 心肌细胞缺血再灌注损伤的影响[J]. 解放军医药杂志, 2019, 31(3): 8-14.
- [9] 马小峰,刘欢,李招兵,等. miR-23b-3p 调控脂蛋白(a)抑制同型半胱氨酸诱导的冠状动脉血管内皮细胞损伤[J]. 第三军医大学学报, 2018, 40(22): 2074-2080.
- [10] 钟琪,付凌怡,杨仕俊,等. 褪黑素对血管内皮细胞损伤的保护作用及机制[J]. 岭南心血管病杂志, 2014, 20(3): 377-382.
- [11] Rucher G, Cameliere L, Fendri J, et al. Molecular imaging of endothelial activation and mineralization in a mouse model of accelerated atherosclerosis[J]. EJNMMI Res, 2019, 9(1): 80.
- [12] Santoro L, Birra D, Bosello S, et al. Subclinical atherosclerosis and endothelial dysfunction in patients with polymyalgia rheumatica: a pilot study[J]. Scand J Rheumatol, 2019, 16: 1-7.
- [13] Korkmaz HI, Hahn NE, Jansen KM, et al. Homocysteine-induced inverse expression of tissue factor and DPP4 in endothelial cells is related to NADPH oxidase activity[J]. Physiol Int, 2019, 106(1): 29-38.
- [14] Zhang Z, Wei C, Zhou Y, et al. Homocysteine induces apoptosis of human umbilical vein endothelial cells via mitochondrial dysfunction and endoplasmic reticulum stress [J]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 2017: 5736506.
- [15] Tian X, Shi Y, Liu N, et al. Upregulation of DAPK contributes to homocysteine-induced endothelial apoptosis via the modulation of Bcl2/Bax and activation of caspase 3 [J]. Mol Med Rep, 2016, 14(5): 4173-4179.
- [16] Zhao L, Zhu Z, Yao C, et al. VEGFC/VEGFR3 signaling regulates mouse spermatogonial cell proliferation via the activation of AKT/MAPK and cyclin D1 pathway and mediates the apoptosis by affecting caspase 3/9 and Bcl-2 [J]. Cell Cycle, 2018, 17(2): 225-239.
- [17] Sun B, Dong C, Lei H, et al. Knockdown of inhibitor of differentiation 1 suppresses proliferation and induces apoptosis by inactivating PI3K/Akt/mTOR signaling in heman-gioma-derived endothelial cells[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 111: 236-243.
- [18] Xu T, Lv Z, Chen Q, et al. Vascular endothelial growth factor over-expressed mesenchymal stem cells-conditioned media ameliorate palmitate-induced diabetic endothelial dysfunction through PI3K/AKT/m-TOR/eNOS and p38/MAPK signaling pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 106: 491-498.

(此文编辑 许雪梅)