

重组人肿瘤坏死因子相关弱凋亡诱导因子对小鼠主动脉内皮舒张功能及凝血相关因子的影响

王贤方^{1,2}, 张园², 李锐², 徐琳², 何建新², 阮云军², 洪长江², 邱健²
(1. 南方医科大学, 2. 广州军区广州总医院心血管内科, 广东省广州市 510010)

[关键词] 肿瘤坏死因子相关弱凋亡诱导因子; 内皮功能; 组织因子; 组织因子途径抑制物; 高敏 C 反应蛋白

[摘要] **目的** 采用重组人肿瘤坏死因子相关弱凋亡诱导因子 (rhTWEAK) 经腹腔注射, 诱导血管内皮损伤模型, 观察 rhTWEAK 对小鼠主动脉内皮舒张功能和凝血相关因子的影响。**方法** 3~4 周龄 C57BL 小鼠 32 只, 随机分成 4 组, 每组 8 只, 腹腔注射各药物: ①rhTWEAK 组: rhTWEAK 按 5 μg/(kg·d) 的量溶于生理盐水, 共 0.3 mL, 腹腔注射, 连续注射 7 天; ②rhTWEAK + 抗 rhTWEAK 组: 先给予抗 rhTWEAK 腹腔注射, 15 min 后再给予 rhTWEAK 注射; ③IgG 组: 给予小鼠非特异性 IgG 腹腔注射; ④对照组: 给予 0.3 mL 生理盐水注射。分别在干预 1 周后眼球取血, 分离上清; 取小鼠胸主动脉段进行血管舒张功能的检测。酶联免疫吸附法检测血浆中内皮型一氧化氮合酶 (eNOS)、高敏 C 反应蛋白 (hs-CRP)、一氧化氮 (NO)、组织因子 (TF)、组织因子途径抑制物 (TFPI) 含量。**结果** ①与对照组、rhTWEAK + 抗 rhTWEAK 组、IgG 组相比, rhTWEAK 组内皮依赖性血管舒张功能、血浆中 eNOS、NO、TFPI 水平明显降低, TF 水平明显升高, 均有统计学意义 (均 $P < 0.05$); 血浆中 hs-CRP 含量未见明显改变 ($P > 0.05$); ②rhTWEAK 组、IgG 组与对照组相比, 血管内皮舒张功能、血浆中 NO、TF、TFPI、eNOS、hs-CRP 含量变化均无统计学差异 (均 $P > 0.05$)。**结论** rhTWEAK 可诱导内皮功能紊乱和凝血相关因子含量的改变, 这可能是 TWEAK 参与动脉粥样硬化早期血管内皮损害的机制。

[中图分类号] R363 [文献标识码] A

Impact of Recombinant Human Tumor Necrosis Factor-like Weak Inducer of Apoptosis on the Aorta Endothelial Function and Blood Coagulation

WANG Xian-Fang^{1,2}, ZHANG Yuan², LI Rui², XU Lin², HE Jian-Xin², RUAN Yun-Jun², HONG Chang-Jiang², and QIU Jian²

(1. Southern Medical University, 2. Department of Cardiology, Guangzhou General Hospital of Guangzhou Military Region, Guangzhou, Guangdong 510010, China)

[KEY WORDS] Tumor Necrosis Factor-like Weak Inducer of Apoptosis; Endothelial Function; Tissue Factor; Tissue Factor Pathway Inhibitor; High-sensitivity C-reactive Protein

[ABSTRACT] **Aim** Using animal model to determine the effect of recombinant human tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (rhTWEAK) on aortic endothelial diastolic function and tissue factor and its inhibitor.

Methods C57BL mice were randomly divided into four groups: (1) rhTWEAK group: given rhTWEAK by intraperitoneal injection; (2) rhTWEAK + anti-rhTWEAK group: after intraperitoneal injection with anti-TWEAK factor, then treated with rhTWEAK factor 15 minutes later; (3) IgG group: treated with nonspecific IgG; (4) Control group: given the same amount 0.3 mL of normal saline injection. After 7 weeks, we took eyeball blood to separate supernatant and thoracic aortic area to detect the vasodilatation function. Circulating endothelial nitric oxide synthase (eNOS), high-sensitivity C-reactive pr-

[收稿日期] 2013-08-17
[基金项目] 广东省科技计划项目(2012B031800418)
[作者简介] 王贤方, 硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化早期内皮细胞功能改变, E-mail 为 343378627@qq.com。张园, 博士后, 主治医师, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制, E-mail 为 grace198033@126.com。通讯作者邱健, 硕士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向为冠心病介入治疗, E-mail 为 QJianGZ@163.com。

otein (hs-CRP), nitric oxide (NO) and tissue factor (TF) and tissue factor pathway inhibitor (TFPI) were detected in mouse plasma by enzyme linked immunosorbent serologic assay. **Results** (1) We found that endothelial diastolic function and the concentration of NO and eNOS in plasma in TWEAK group obviously decreased, TF levels increased significantly and the TFPI decreased when compared with control rhTWEAK + anti-rhTWEAK and IgG group, those factors had significant difference ($P < 0.05$), however the hs-CRP content had no obvious change ($P > 0.05$). (2) Our results show that the endothelial diastolic function and the content of NO eNOS TF and TFPI and hs-CRP have no obvious difference in the control rhTWEAK + anti-rhTWEAK and IgG group ($P > 0.05$). **Conclusion** rhTWEAK can induce endothelial dysfunction and blood coagulation factor content changes, and this may be a mechanism of vascular endothelial damage in early stage atherosclerosis.

肿瘤坏死因子相关弱凋亡诱导因子(tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis, TWEAK)是 1997 年 Chicheporeiche 等人从人扁桃体和胎肝 cDNA 文库中筛选出的一条约 1.3 kb cDNA 编码产物,是一种新的 TNF 超家族产物。新近研究发现^[1-3], TWEAK 通过引起血管平滑肌细胞增殖、迁移,诱导慢性炎症反应,参与动脉粥样硬化的发生、发展并影响斑块的稳定性。但是 TWEAK 对内皮功能的影响及其机制研究较少。Campbell 等^[4]研究发现, TWEAK 可以诱导内皮细胞间黏附分子 1、单核细胞趋化蛋白 1 和 E 选择素表达升高,这提示 TWEAK 可能有引起内皮损伤的作用。为了进一步明确 TWEAK 对内皮损伤的作用及其可能机制,我们拟通过动物实验观察 TWEAK 对于内皮舒张功能及凝血相关因子的影响。

1 材料和方法

1.1 主要试剂和仪器

Kerb's 营养液(由 KCl、CaCl₂、MgCl₂ · 6H₂O、NaCl、NaH₂PO₄ · 2H₂O、NaHCO₃ 配置而成);苯肾上腺素(日本 Tykoyo 公司);乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)(美国 Sigma 公司);硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)(西班牙 Fluka 公司)。重组人 TWEAK(recombinant human TWEAK, rhTWEAK)购自美国 Peprotech 公司;TWEAK 抗体购自美国 Santa Cruz 公司;非特异性小鼠 IgG 购自上海碧云天公司;小鼠一氧化氮(nitric oxide, NO)酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒购自上海凯博生物化学试剂有限公司;小鼠内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)、高敏 C 反应蛋白(high-sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)、组织因子(tissue factor, TF)和组织因子途径抑制物(tissue factor pathway inhibitor, TFPI)ELISA 试剂盒购自武汉优尔生科技股份有限公司。8 通道生理记录仪-4 通道浴槽-5 g 张力换能器(澳大利亚 AD Instrument 公司);荧光酶标仪(瑞士 Te-

can 公司);-80℃低温冰箱(日本 Sanyo 公司);低温离心机(德国 Eppendorf 公司);电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);pH 计(瑞士 Mettler Toledo 公司)。

1.2 小鼠内皮功能障碍模型的建立

3~4 周龄 C57BL 小鼠, SPF 级, 雄性, 32 只, 体重 21~26 g, 由中山大学动物实验中心提供, 以标准颗粒饲料饲养。随机分为 4 组, 每组 8 只小鼠: ①rhTWEAK 组: rhTWEAK 按 5 μg/(kg · d) 的量溶于生理盐水, 共 0.3 mL, 腹腔注射, 连续注射 7 天, 建立小鼠内皮功能损伤模型。②rhTWEAK + 抗 TWEAK 组: 先给予抗 TWEAK 按 500 μg/(kg · d) 的量溶于生理盐水, 共 0.3 mL, 腹腔注射, 15 min 后给予 rhTWEAK 按 5 μg/(kg · d) 的量溶于生理盐水, 共 0.3 mL, 腹腔注射, 连续注射 7 天。③IgG 组: 给予小鼠非特异性 IgG 按 500 μg/(kg · d) 的量溶于生理盐水, 共 0.3 mL, 腹腔注射, 连续注射 7 天。④对照组: 每天给予生理盐水 0.3 mL, 腹腔注射, 连续注射 7 天。分别于干预 1 周后眼球取血, 处死小鼠。

1.3 离体胸主动脉血管环的舒张实验

参考谭斌等^[5]的实验方法, 给予 rhTWEAK 腹腔注射 1 周后, 眼球采血, 处死动物, 开胸迅速取出胸主动脉, 置于连续通含 95% O₂ 和 5% CO₂ 混合气体的改良 Kerb's 营养溶液, 将周围脂肪和结缔组织小心分离干净, 注意勿牵拉, 保护内皮, 将动脉条断离成 3~4 mm 左右的环。每个血管环用 2 个凸型不锈钢小钩小心贯穿入血管环管腔, 一端固定于固定杆, 穿好的动脉环置于 10 mL Kerb's 液的恒温浴槽中, 浴槽中持续通含 95% O₂ 和 5% CO₂ 混合气体并且每隔 15 min 换液 1 次, 内槽恒温 37℃; 另一端通过丝线连接于张力换能器与 Powerlab 系统相连接。负荷 0.5 g, 平衡 1 h。收缩张力信号通过张力换能器 8 通道接头传输到与 Powerlab 系统相连的计算机上, 直接采用 Powerlab 系统及其软件 Chart for Windows 进行数据记录和分析。平衡 1 h 后给以 3.6 mol/L KCl 收缩血管, 共刺激 3 次, 前后连续 2

次得到的收缩幅度差小于 10%, 被认为血管标本反应可重复, 否则弃之。在随后的实验过程中, 每一步实验完成后, 及时冲洗, 待曲线回至基线并稳定 30 min 后再进行下一步实验。血管环高钾预收缩稳定冲洗至基线平衡后, 10 mL Kerb's 液定容, 加入 10^{-4} mol/L 的苯肾上腺素 100 μ L (终浓度为 10^{-6} mol/L), 待收缩反应达平台后, 以不同累积终浓度 ($10^{-9} \sim 10^{-5}$ mol/L) 的 Ach 作用于血管环, 记录各浓度下血管环的舒张百分比, 观察 Ach 诱导的内皮依赖性血管舒张反应; 以不同累积终浓度 ($10^{-9} \sim 10^{-5}$ mol/L) 的 SNP 作用于血管环, 记录各浓度下血管环的舒张百分比, 观察 SNP 诱导的非内皮依赖性血管舒张反应。

1.4 血生物化学指标检测

小鼠血液收集于含 3.8% 的枸橼酸钠管 (按 9:1 混合均匀), 以 3 000 r/min 4℃ 离心 15 min, 收集上清血浆保存备用。血浆中 NO、eNOS、hs-CRP、TF、TFPI 浓度水平都采用酶联免疫吸附双抗体夹心法测定, 检测步骤严格按照说明书操作。

1.5 统计学处理

血管环实验数据以收缩幅度变化相对值的百分比来表示 (计算方法为: 各浓度下的舒张百分比 = 各浓度下的舒张值/坪值 $\times 100\%$)。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。用 SPSS 13.0 统计软件进行 One-way ANOVA 统计分析, 用 GraphPad Prism 5.0 进行作图分析。 $P < 0.05$ 为差别有统计学意义。

2 结果

2.1 腹腔注射 rhTWEAK 对小鼠体重的影响

小鼠腹腔注射前体重 4 组间无统计学差异 ($P > 0.05$); 注射后各组小鼠体重与注射前相比, 及注射后各组间小鼠体重均无统计学差异 ($P > 0.05$)。说明 rhTWEAK 对小鼠体重无明显影响 (表 1)。

表 1. 4 组小鼠腹腔注射前后体重变化 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 1. Weight change before and after intraperitoneal injection ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

分 组	注射前体重(g)	注射后体重(g)
rhTWEAK 组	22.800 \pm 2.062	23.550 \pm 2.302
rhTWEAK + 抗 rhTWEAK 组	23.075 \pm 1.523	23.325 \pm 1.717
IgG 组	23.200 \pm 1.786	23.850 \pm 1.759
对照组	22.925 \pm 1.805	23.775 \pm 1.722

2.2 腹腔注射 rhTWEAK 对小鼠血管内皮舒张功能的影响

rhTWEAK 组对不同浓度乙酰胆碱诱导的舒张百分比显著低于 rhTWEAK + 抗 rhTWEAK 组、IgG 组、对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), rhTWEAK 组不同浓度硝普钠诱导的舒张百分比与 rhTWEAK + 抗 rhTWEAK 组、IgG 组、对照组相比均无明显差异 ($P > 0.05$)。与对照组比较, rhTWEAK + 抗 rhTWEAK 组、IgG 组对各浓度乙酰胆碱的舒张百分比无明显变化 ($P > 0.05$), 不同浓度硝普钠诱导的舒张百分比亦无统计学差异 ($P > 0.05$); 与 IgG 组比较, rhTWEAK + 抗 TWEAK 组对各浓度乙酰胆碱的舒张百分比无明显变化, 不同浓度硝普钠诱导的舒张百分比亦无明显变化 ($P > 0.05$; 图 1、图 2)。

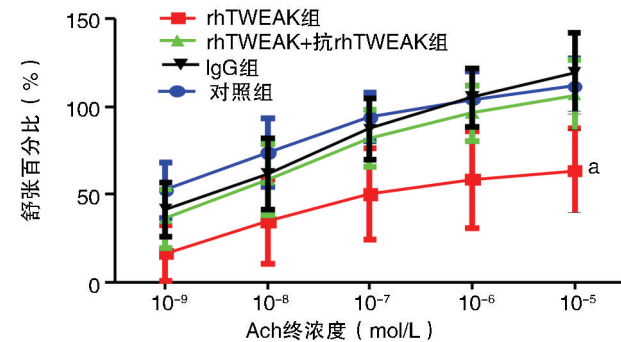


图 1. 乙酰胆碱诱导的内皮依赖性舒张反应曲线 a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

Figure 1. Dose-response curves of Ach-induced endothelium-dependent relaxation

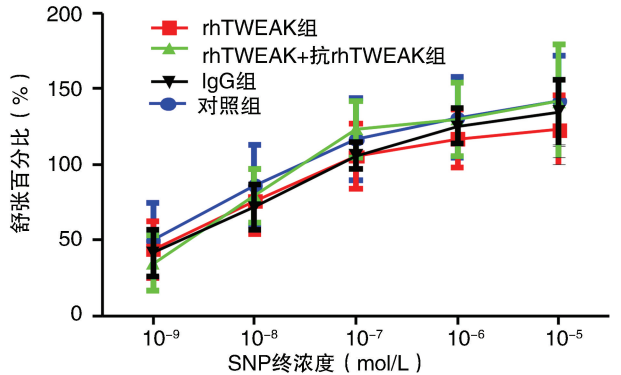


图 2. 硝普钠诱导的非内皮依赖性舒张反应曲线
Figure 2. Dose-response curves of SNP-induced endothelium-independent relaxation

2.3 腹腔注射 rhTWEAK 对小鼠血管内皮分泌 NO、eNOS 和 hs-CRP 的影响

与对照组比较, rhTWEAK 组血浆中 NO、eNOS

浓度明显降低($P < 0.05$),hs-CRP 浓度未见明显变化($P > 0.05$)。与对照组相比,rhTWEAK + 抗 rhTWEAK 组和 IgG 组血浆中 NO、eNOS、hs-CRP 含量未见明显变化($P > 0.05$;表 2)。

表 2. 各组血浆中 NO、eNOS、hs-CRP 的浓度
Table 2. The concentration of plasma NO, eNOS, and hs-CRP in each group

分 组	NO($\mu\text{g/L}$)	eNOS($\mu\text{g/L}$)	hs-CRP($\mu\text{g/L}$)
rhTWEAK 组	533.95 \pm 116.31 ^a	19.86 \pm 5.99 ^a	5.70 \pm 1.82
rhTWEAK + 抗 rhTWEAK 组	753.54 \pm 162.40	33.33 \pm 6.70	6.48 \pm 4.75
IgG 组	741.81 \pm 147.27	32.89 \pm 7.29	5.13 \pm 1.03
对照组	762.93 \pm 138.79	32.67 \pm 10.94	5.48 \pm 1.33

a 为 $P < 0.05$,与对照组比较。

2.4 腹腔注射 rhTWEAK 对小鼠血浆中 TF、TFPI 的影响

小鼠 rhTWEAK 腹腔注射 1 周后检测血浆中 TF、TFPI 的浓度。与对照组相比,rhTWEAK 组血浆 TF 含量明显升高($P < 0.05$),TFPI 含量明显降低($P < 0.05$);rhTWEAK + 抗 rhTWEAK 组、IgG 组血浆中 TF、TFPI 水平无显著差别(均 $P > 0.05$;表 3)。

表 3. 各组血浆中 TF 和 TFPI 的含量变化
Table 3. The concentration of plasma TF and TFPI in each group

分 组	TF(ng/L)	TFPI($\mu\text{g/L}$)
rhTWEAK 组	161.98 \pm 55.28 ^a	69.17 \pm 10.02 ^a
rhTWEAK + 抗 TWEAK 组	72.86 \pm 21.41	87.63 \pm 15.31
IgG 组	61.04 \pm 11.15	87.25 \pm 9.56
对照组	51.98 \pm 19.89	88.85 \pm 14.94

a 为 $P < 0.05$,与对照组比较。

3 讨 论

内皮细胞是人体血管壁的第一道屏障,在动脉粥样硬化(atherosclerosis,As)病变的发生上有重要意义。血管内皮细胞可分泌多种活性物质,如一氧化氮、内皮素、前列环素、黏附分子,这些活性物质维持着血管舒缩状况,并有效调节炎性反应及凝血状态等。内皮依赖性舒张是指在药物或生理刺激下,内皮细胞中的一氧化氮合酶将左旋精氨酸转为 NO,即内皮依赖性舒张因子,NO 通过 cGMP 途径引

起平滑肌细胞的舒张,NO 被认为是引起内皮依赖性舒张最重要的因子,内皮依赖性舒张功能受损以 NO 生物化学活性减低为特征^[6]。吴仕平等^[7]研究发现血管内皮细胞形态的改变及功能的下降与血清中一氧化氮水平降低密切相关。大量研究表明^[8,9],内皮依赖性舒张功能是评价内皮功能最重要指标,其紊乱是 As 的早期病理生理改变,在冠心病、高血压等疾病中内皮功能损害非常常见和重要。

TWEAK 是近几年发现的分子量为 30 kDa 的一种跨膜糖蛋白,生理情况下,内皮细胞存在着少量的 TWEAK,在病理因素如急性损伤、肿瘤,TWEAK 可迅速激活呈高表达状态,参与炎症、免疫和组织修复等过程^[10]。TWEAK 是否引起内皮依赖性舒张功能改变报道较少。我们利用重组的 TWEAK 注射到小鼠腹腔内,7 天后观察小鼠主动脉内皮舒张功能的改变,结果显示,rhTWEAK 组的内皮依赖性血管舒张功能明显低于其他各组,差异有统计学意义($P < 0.05$);而其他 3 组之间差异均无统计学意义($P > 0.05$);这说明,在排除了特异的外源性蛋白诱导下,TWEAK 可引起内皮依赖性舒张功能的降低,提示 TWEAK 可能是引起内皮功能紊乱的一个新的因子。为进一步探讨其可能机制,我们检测了各组小鼠血浆中 NO 和 eNOS 的变化,结果显示,rhTWEAK 组 eNOS 和 NO 显著降低,提示 TWEAK 可能是通过降低 eNOS 活性,减少 NO 产生,从而改变内皮依赖性舒张功能。国外有研究显示^[11],在早期高血压患者血浆中 TWEAK 浓度及肱动脉内皮舒张功能明显高于健康对照组。细胞学实验显示^[12],不同浓度的 TWEAK 可以诱导内皮细胞株中细胞间黏附分子 mRNA 和蛋白的表达,这些研究均提示,TWEAK 具有引起内皮功能紊乱的作用。

为了进一步明确 TWEAK 诱导内皮功能紊乱可能的相关因素,我们检测了血浆中组织因子、组织因子途径抑制物的改变,结果显示,rhTWEAK 组血浆中 TF 含量明显升高,TFPI 水平则明显降低,与其他各组 TF、TFPI 水平相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。这一结果提示 rhTWEAK 诱导了 TF 分泌增多,同时抑制了 TFPI 的表达与分泌,打破了 TF/TFPI 含量的平衡。Munoz-Garcia 等^[13]利用体外培养的血管平滑肌细胞株发现,TWEAK 可以诱导平滑肌细胞中 TF 和纤溶酶激活物抑制物 1 表达的改变,体内研究进一步发现,腹腔注射外源性的 TWEAK 促进了小鼠血浆中 TF 和纤溶酶激活物抑制物 1 活性的升高;我们的结果与此类似。这提示,TWEAK 可诱导血管内皮细胞凝血相关因子异常表

达,导致凝血功能失衡,易引起血栓形成^[14]。

hs-CRP 是一种全身非特异性炎症反应的标志物,已被证实是心血管疾病的危险因素^[15],检测其浓度变化对心血管疾病的干预及预后评价起重要作用,因而被临床重视^[16,17]。本研究结果显示,TWEAK 没有诱导 hs-CRP 的升高;与我们预期相反。查阅了国外的相关文献,目前尚无关于 TWEAK 对 hs-CRP 影响的相关报道。我们考虑可能原因是我们给小鼠注射的 TWEAK 剂量为反复多次持续诱导慢性炎症的剂量,时间为 7 天,还不足以导致全身炎症性反应,特别是急性炎症反应;hs-CRP 在急性炎症反应中常有明显升高。

本实验证实 rhTWEAK 在诱导 eNOS 活性降低、NO 生成减少、主动脉内皮依赖性舒张功能降低的同时引起 TF 升高和 TFPI 降低,提示其可导致内皮细胞功能紊乱和凝血功能平衡失调。内皮功能改变和凝血功能失衡是动脉粥样硬化的始动环节,提示 TWEAK 可能与动脉粥样硬化的发生发展有关。本实验未做形态学方面的观察,本课题组以后将进一步展开相关研究。

[参考文献]

[1] Chorianopoulos E, Jarr K, Steen H, et al. Soluble TWEAK is markedly upregulated in patients with ST-elevation myocardial infarction and related to an adverse short-term outcome[J]. *Atherosclerosis*, 2010, 211(1): 322-326.

[2] Kim SH, Kang YJ, Kim WJ, et al. TWEAK can induce pro-inflammatory cytokines and matrix metalloproteinase-9 in macrophages[J]. *Circ J*, 2004, 68(4): 396-399.

[3] Harada N, Nakayama M, Nakano H, et al. Pro-inflammatory effect of TWEAK/Fn14 interaction on human umbilical vein endothelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 299(3): 488-493.

[4] Campbell S, Michaelson J, Burkly L, et al. The role of TWEAK/Fn14 in the pathogenesis of inflammation and systemic autoimmunity [J]. *Front Biosci*, 2004, 9(2): 273-284.

[5] 谭斌, 黄煌, 谷彬, 等. 牛磺酸对低密度脂蛋白所致大鼠血管内皮损伤的保护作用[J]. *湘南学院学报(自然科学版)*, 2005, 7(4): 1-4.

[6] Pinto VL, Brunini TM, Ferraz MR, et al. Depression and cardiovascular disease: role of nitric oxide[J]. *Cardiovasc*

Hematol Agents Med Chem, 2008, 6(2): 142-149.

[7] 吴仕平, 陈明. 替米沙坦防治糖尿病大鼠血管内皮损伤的实验研究[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2011, 03(1): 38-40.

[8] Chyrchel M, Dudek D, Rzeszutko L, et al. Effects of short-term anti-inflammatory therapy on endothelial function in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome [J]. *Cardiovasc Revasc Med*, 2011, 12(1): 2-9.

[9] Traupe T, Ortmann J, Munter K, et al. Endothelial therapy of atherosclerosis and its risk factors [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2003, 1(2): 111-121.

[10] Burkly LC, Michaelson JS, Hahm K, et al. TWEAKing tissue remodeling by a multifunctional cytokine: role of TWEAK/Fn14 pathway in health and disease[J]. *Cytokine*, 2007, 40(1): 1-16.

[11] Yilmaz MI, Carrero JJ, Martin-Ventura JL, et al. Combined therapy with renin-angiotensin system and calcium channel blockers in type 2 diabetic hypertensive patients with proteinuria: effects on soluble TWEAK, PTX3, and flow-mediated dilation [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010, 5(7): 1174-181.

[12] Chen T, Guo ZP, Li L, et al. TWEAK enhances E-selectin and ICAM-1 expression, and may contribute to the development of cutaneous vasculitis[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56830.

[13] Munoz-Garcia B, Madrigal-Matute J, Moreno JA, et al. TWEAK-Fn14 interaction enhances plasminogen activator inhibitor-1 and tissue factor expression in atherosclerotic plaques and in cultured vascular smooth muscle cells[J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 89(1): 225-233.

[14] Winckers K, Ten CH, Hackeng TM. The role of tissue factor pathway inhibitor in atherosclerosis and arterial thrombosis[J]. *Blood Rev*, 2013, 27(3): 119-132.

[15] 童海. 高敏 C 反应蛋白与动脉粥样硬化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2010, 18(9): 746-750.

[16] Nesar HV, Yosef NK, Abdollahian F. Short-term therapy with high dose atorvastatin in patients with coronary artery disease can reduce inflammatory process[J]. *Acta Med Iran*, 2010, 48(4): 218-221.

[17] Benzaquen LR, Yu H, Rifai N. High sensitivity C-reactive protein: an emerging role in cardiovascular risk assessment[J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2002, 39(4-5): 459-497.

(此文编辑 曾学清)