

· 实验研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2016)24-05-0440-07

## ghrelin 通过 PI3K/Akt 信号通路促进 RAW264.7 源性泡沫细胞迁移

丁英鹏<sup>1</sup>, 孙玉慧<sup>2</sup>, 杜荣增<sup>1</sup>, 王中群<sup>1</sup>, 严金川<sup>1</sup>, 徐绥宁<sup>1</sup>, 杨洪强<sup>3</sup>, 朱杰<sup>4</sup>, 张薪茹<sup>1</sup>, 史雷忠<sup>5</sup>

(1. 江苏大学附属医院心内科, 江苏省镇江市 212001; 2. 广东江门出入境检验检疫局江门国际旅行卫生保健中心, 广东省江门市 529000; 3. 济宁市第一人民医院急诊科, 山东省济宁市 272011; 4. 六安市人民医院心内科, 安徽省六安市 237005; 5. 溧阳市人民医院心内科, 江苏省常州市 213300)

[关键词] 细胞迁移; 泡沫细胞; Ghrelin; PI3K/Akt 信号通路

[摘要] 目的 探讨 ghrelin 对 RAW264.7 源性泡沫细胞迁移的影响及相关机制。方法 油红 O 检测泡沫细胞模型的构建, 胆固醇氧化酶法检测泡沫细胞内总胆固醇(TC)、游离胆固醇(FC)和胆固醇酯(CE)含量, transwell 小室实验检测 ghrelin 对 RAW264.7 源性泡沫细胞迁移的影响, Western blot 检测 Akt、p-Akt 和 cleaved Caspase-3 蛋白的表达, 免疫荧光检测 p-Akt 和 cleaved Caspase-3 的表达, 细胞骨架荧光探针检测细胞骨架的变化。观察 PI3K 特异性抑制剂 LY294002 是否影响 RAW264.7 源性泡沫细胞的迁移能力及相关蛋白的表达。结果  $10^{-7}$  mol/L ghrelin 处理 RAW264.7 源性泡沫细胞可以促进泡沫细胞迁移, 此过程可以被 LY294002 逆转。Western blot 结果显示  $10^{-7}$  mol/L ghrelin 可显著升高 RAW264.7 源性泡沫细胞 p-Akt 的表达, 降低 cleaved Caspase-3 的表达 ( $P < 0.05$ ), 并明显改善 RAW264.7 源性泡沫细胞的迁移能力 ( $P < 0.05$ ), LY294002 可逆转以上变化。免疫荧光检测显示 Akt 在 RAW264.7 细胞明显表达, ghrelin 组表达增多, LY294002 组明显降低。结论 ghrelin 可促进 RAW264.7 源性泡沫细胞迁移, 其分子机制可能与激活 PI3K/Akt 信号通路有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

### Ghrelin Promotes the Migration of Foam Cells Through PI3K/Akt Signal Pathway

DING Ying-Peng<sup>1</sup>, SUN Yu-Hui<sup>2</sup>, DU Rong-Zeng<sup>1</sup>, WANG Zhong-Qun<sup>1</sup>, YAN Jin-Chuan<sup>1</sup>, XU Sui-Ning<sup>1</sup>, YANG Hong-Qiang<sup>3</sup>, ZHU Jie<sup>4</sup>, ZHANG Xin-Ru<sup>1</sup>, and SHI Lei-Zhong<sup>5</sup>

(1. Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212001, China; 2. Jiangmen Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Jiangmen, Guangdong 529000, China; 3. Department of Emergency, Jining NO.1 People's Hospital, Jining, Shandong 272011, China; 4. Department of Cardiology, Liu'an People's Hospital, Liu'an, Anhui 237005, China; 5. Department of Cardiology, Liyang People's Hospital, Changzhou, Jiangsu 213300, China)

[KEY WORDS] Cell Migration; Foam Cells; Ghrelin; PI3K/Akt Signal Pathway

[ABSTRACT] **Aim** The effects of ghrelin on RAW264.7 derived foam cells migration and its associated mechanisms were investigated. **Methods** The detection of total cholesterol (TC), free cholesterol (FC), cholesterol ester (CE) and lipid droplets were performed by cholesterol oxides method and oil red O staining, respectively. The effects of ghrelin on RAW264.7 derived foam cells migration were detected by transwell chamber assay, the expression of Akt, p-Akt, cleaved Caspase-3 were semi-quantified by Western blot, the distribution of p-Akt and cleaved Caspase-3 in cells was qualitatively analyzed with fluorescent staining. The dissociation and polymerization of cell cytoskeleton was observed with F-actin fluorescence probe. **Results**  $10^{-7}$  mol/L ghrelin could promote the migration of RAW264.7 derived foam cells, which was reversed by LY294002. Western blot analysis showed that  $10^{-7}$  mol/L ghrelin could significantly in-

[收稿日期] 2015-10-09

[修回日期] 2016-01-27

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81370408); 江苏省自然科学基金项目(BK20131246); 江苏省卫生厅项目(Q201308); 镇江市社会发展项目(SH2015038, SH2015023 和 SH2015036); 卫生部核医学重点实验室和江苏省分子核医学重点实验室开放课题(KF201504)

[作者简介] 丁英鹏, 硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化的发生与治疗, E-mail 为 doctording0556@163.com。王中群, 博士, 主治医师, 讲师, 硕士研究生导师, 主要从事动脉粥样硬化的基础与临床研究, E-mail 为 wangtsmc@aliyun.com。通讯作者 杜荣增, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事冠心病、电生理的基础与临床研究, E-mail 为 adu309@sohu.com。

crease the expression of p-Akt and reduce the expression of cleaved Caspase-3 ( $P<0.05$ ) in RAW264.7 derived foam cells. What's more, it could improve the ability of RAW264.7 migration obviously ( $P<0.05$ ). Interestingly, these processes above can be reversed by LY294002 treatment. Fluorescent analysis demonstrated that there was an obvious expression of Akt in RAW264.7 cells. The treatment of ghrelin could upregulate its expression, while LY294002 treatment downregulated the expression. **Conclusion** Ghrelin could promote the migration of RAW264.7 derived foam cells, which may be related to the activation of the PI3K/Akt signal pathway.

心血管疾病的高致残率及高致死率与血管动脉粥样硬化的发生密切相关。前期研究证实血管内皮下的巨噬细胞捕获吞噬氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 形成泡沫细胞<sup>[1]</sup>在动脉粥样硬化的形成和发展中起着至关重要的作用。关于泡沫细胞的最终宿命现阶段研究多指向其发生凋亡、坏死形成坏死核心,且与斑块破裂密切相关<sup>[2-3]</sup>,随着人们对疾病研究的深入,研究发现动脉内皮下泡沫细胞存在外迁的过程,与单核巨噬细胞的内迁构成一个动态的过程<sup>[4]</sup>。如果内流的巨噬细胞增多不断地吞噬 ox-LDL 就会导致巨噬细胞源性泡沫细胞集聚,加重动脉粥样硬化进程;同理加速泡沫细胞外迁可能会延缓动脉粥样硬化进程<sup>[5]</sup>。ghrelin 是由 28 个氨基酸组成的多肽类物质,它是生长激素促分泌素受体 (growth hormone secretagogue receptor, GHS-R) 的内源性配体,ghrelin 在体内的多个组织中均有表达,但是以胃粘膜内的表达量最高<sup>[6]</sup>。ghrelin 除了影响食欲和新陈代谢及刺激生长激素分泌发挥重要的作用,研究证实 ghrelin 可以抑制心肌细胞及内皮细胞凋亡,对改善心肌的射血分数和心肌的缺血再灌注损伤都有着重要的作用<sup>[7]</sup>。同时 ghrelin 在肿瘤细胞的侵袭及迁移中占据十分重要的地位<sup>[8]</sup>。目前关于动脉粥样硬化的研究多局限在巨噬细胞的内迁,对泡沫细胞的外迁鲜有报道。鉴于目前的研究现状和本课题组的前期试验结果<sup>[9]</sup>,本研究仅作 ghrelin 对泡沫细胞迁移影响的部分体外细胞实验,并研究其机制,为临床动脉粥样硬化的治疗提供新的治疗策略和理念。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要药品与试剂

ghrelin 购自 RayBiotech 公司,ox-LDL 购自广州奕源生物有限公司,RAW264.7 单核巨噬细胞系购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库,Akt 一抗、p-Akt 一抗购自 Abcam 公司,tubulin 购自 Bioworld 公司,微丝荧光、荧光二抗购自碧云天生物工

程公司;transwell 小室购自 Millipore 公司;其他试剂均购自上海生工及进口公司。

### 1.2 细胞培养及分组

RAW264.7 细胞置于含 10% 胎牛血清的低糖 DMEM 全培养基中培养,放在 37℃、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中,待细胞呈对数期生长时取其进行实验。用 40 mg/L ox-LDL 与 RAW264.7 细胞系共孵育 24 h 制备泡沫细胞模型<sup>[10]</sup>并分组,各组实验重复 3 次以上。空白对照组:用含 10% 胎牛血清的 DMEM 低糖培养液正常孵育 RAW264.7 细胞 24 h;ox-LDL 组:在空白对照组基础上加 40 mg/L ox-LDL 共孵育 24 h;ghrelin 组在 ox-LDL 组基础上加 10<sup>-7</sup> mol/L ghrelin 共孵育 24 h;LY294002 组:在 ghrelin 组基础上加用 PI3K 特异性抑制剂 LY294002 共孵育 24 h。

### 1.3 RAW264.7 源性泡沫细胞泡沫化程度的测定

将适量生长状态良好的 RAW264.7 细胞系与 40 mg/L ox-LDL 在 6 孔板中共孵育 24 h,4% 多聚甲醛固定 10 min,双蒸水洗,油红 O 染色 10~15 min,60% 异丙醇分色至背景无色,双蒸水洗后苏木精复染,最后用甘油封片,置于显微镜下观察;按照试剂盒说明书测定泡沫细胞内总胆固醇 (total cholesterol, TC) 和游离胆固醇 (free cholesterol, FC) 含量。

### 1.4 transwell 小室测定细胞迁移能力

将对数分裂期的 RAW264.7 细胞分别接种到孔径为 8 μm 的 transwell 小室的上室,置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中,待细胞贴膜 80% 以上按实验分组需要给予各组不同的培养体系,孵育 24 h。取小室固定用棉签小心的擦去未迁移过膜的细胞,DAPI (1 : 1000) 染色,置于荧光显微镜下观察细胞穿膜。每组设 3 个复孔,选取视野的 10% 的面积行细胞计数,取均数。

### 1.5 Western blot 检测细胞 p-Akt、cleaved Caspase-3 的蛋白表达

按 BCA 蛋白试剂盒说明书提取各实验组细胞中的总蛋白,按其不同浓度制备成蛋白含量相等的实验样品,煮沸变性低温冷藏备用。每孔上样 20 μL,电泳、转膜、封闭后于 4℃ 分别加 p-Akt (1 : 100)、cleaved Caspase-3 (1 : 150) 一抗孵育过

夜,TBST 洗涤 3 次后室温下二抗(1 : 5000) 孵育 2 h,加高灵敏发光液置于发光系统观察待测蛋白条带的灰度差异,并定量其相应蛋白表达。

1.6 免疫荧光观察

将处于对数生长期的巨噬细胞接种于 24 孔板中,待细胞完全贴壁后,分别予以不同的培养体系,置于 37℃、5%CO<sub>2</sub> 的培养箱中共孵育 24 h。后固定细胞,0.3%Triton X-100 作用 40 min 后,3%BSA 封闭,加 p-Akt(1 : 50)、cleaved Caspase-3(1 : 100) 一抗 4℃孵育过夜,二抗(1 : 200) 室温孵育 1 h,DAPI 染核。置于荧光显微镜观察,分别在不同的激发波长下观察其荧光并合成图片。

1.7 细胞骨架观察

取各实验组细胞用甲醛固定 20 min,含 BSA 的 PBS 洗涤 3 次,0.3%Triton X-100 透膜 40 min,避光加细胞荧光探针(1 : 40) 共孵育 1 h,含 BSA 的 PBS 洗涤 3 次后置于荧光显微镜观察,并拍摄照片。

1.8 统计学方法

所有数据采用 $\bar{x}\pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析及小样本 *t* 检验,*P*<0.05 为差异有统计学

意义。

2 结 果

2.1 泡沫细胞模型中胆固醇含量分析

ox-LDL 组 TC、FC、胆固醇酯(cholesterol ester, CE)含量较空白对照组明显升高(*P*<0.05),ox-LDL 组 CE/TC 大于 0.5。油红 O 染色显示,空白对照组未见明显红染,ox-LDL 组细胞生长状态未见明显抑制,细胞内脂滴遍布分散,可见明显的泡沫细胞形成(表 1 和图 1)。

表 1. ox-LDL 组和空白对照组细胞胆固醇含量比较( $\bar{x}\pm s$ , *n* = 3)

Table 1. Comparison of cholesterol content in ox-LDL group and blank control group( $\bar{x}\pm s$ , *n* = 3)

分 组	CE( mg/g)	FC( mg/g)	TC( mg/g)
空白对照组	35.3±4.5	8.5±0.9	43.5±5.1
ox-LDL 组	60.1±5.3 <sup>a</sup>	57.1±5.7 <sup>a</sup>	115.2±13.1 <sup>a</sup>

a 为 *P*<0.05,与空白对照组比较。

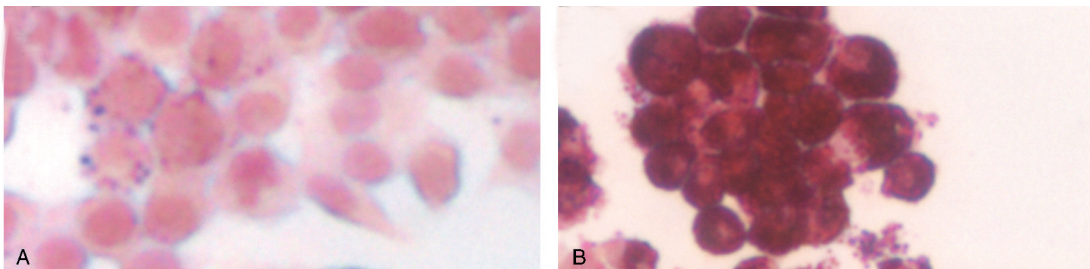


图 1. 油红 O 染色检测细胞内脂质形成 A 为空白对照组,B 为 ox-LDL 组。

Figure 1. The intracellular lipid acumulation by oil red O staining

2.2 ghrelin 促进 RAW264.7 源性泡沫细胞迁移

ox-LDL 组泡沫细胞迁移较空白对照组减少,

ghrelin 组泡沫细胞迁移较 ox-LDL 组增多,而 LY294002 处理可以抑制泡沫细胞迁移(图 2)。

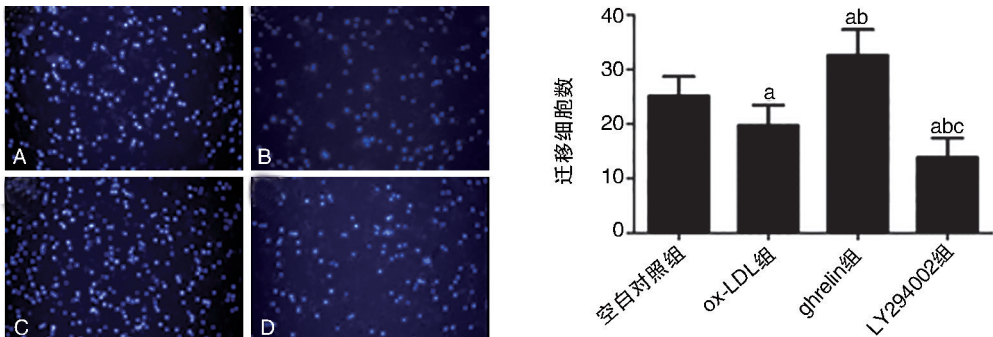


图 2. transwell 小室检测 RAW264.7 源性泡沫细胞迁移 A 为空白对照组,B 为 ox-LDL 组,C 为 ghrelin 组,D 为 LY294002 组。a 为 *P* <0.05,与空白对照组比较;b 为 *P*<0.05,与 ox-LDL 组比较;c 为 *P*<0.01,与 ghrelin 组比较。

Figure 2. RAW264.7 derived foam cells migration by transwell chamber assay



2.3 p-Akt 和 cleaved Caspase-3 蛋白表达水平

Western blot 检测显示,与 ox-LDL 组和空白对照组相比,ghrelin 明显上调细胞内 p-Akt 的表达,这个过程可以被 LY294002 抑制。与 ox-LDL 组相比,ghrelin 明显下调 cleaved Caspase-3 的表达,这个过程同样可以被 LY294002 抑制(图 3)。免疫荧光检测显示,与空白对照组相比,ox-LDL 组 p-Akt 荧光减弱,cleaved Caspase-3 荧光增强;ghrelin 组 p-Akt 荧

光增强,但 cleaved Caspase-3 荧光减弱,其效应可以被 LY294002 逆转(图 4 和 5)。

2.4 ghrelin 对细胞骨架的影响

与空白对照组相比,ox-LDL 组细胞骨架荧光显著受抑,ghrelin 可以改善 RAW264.7 源性泡沫细胞骨架荧光,但是这个过程可以被 LY294002 部分阻断(图 6)。

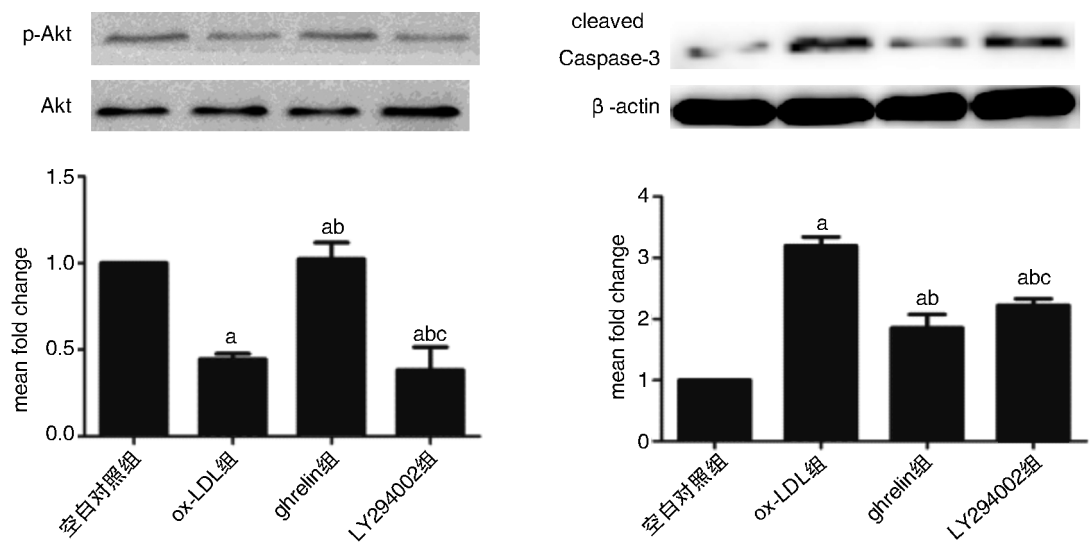


图 3. RAW264.7 源性细胞内 p-Akt 和 cleaved Caspase-3 的表达  
Figure 3. Expression of p-Akt and cleaved Caspase-3 in RAW264.7 derived cells

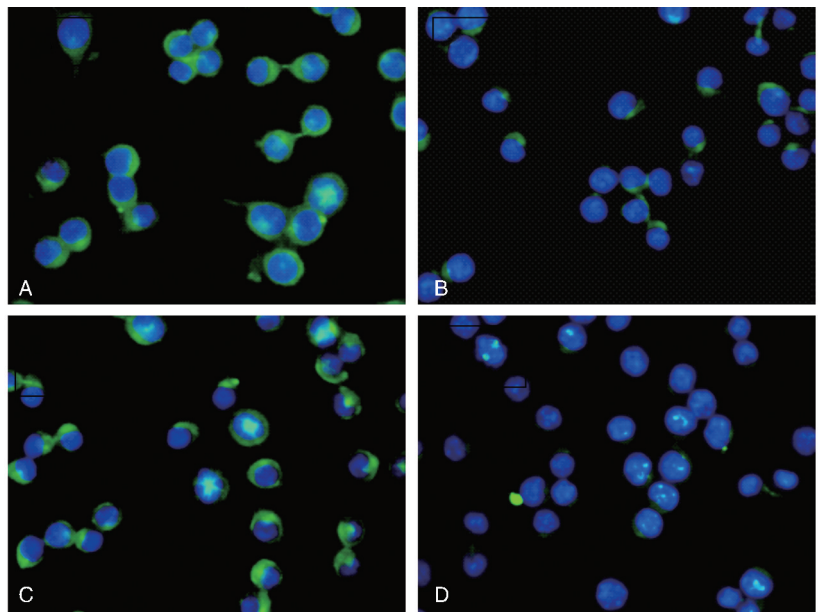


图 4. 免疫荧光检测 RAW264.7 源性细胞内 p-Akt 的表达 A 为空白对照组,B 为 ox-LDL 组,C 为 ghrelin 组,D 为 LY294002 组。  
Figure 4. Expression of p-Akt in RAW264.7 derived cells with immunofluorescence method

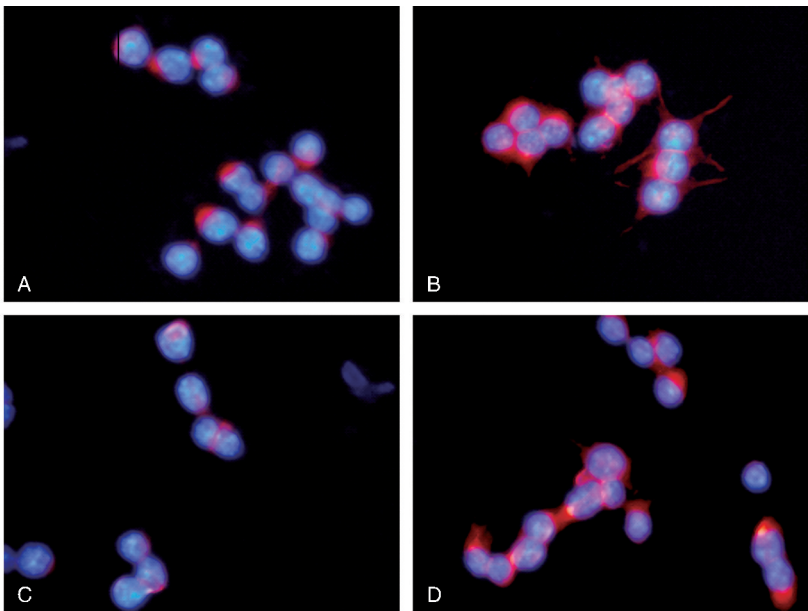


图 5. 免疫荧光检测 RAW264.7 源性细胞内 cleaved Caspase-3 的表达      A 为空白对照组, B 为 ox-LDL 组, C 为 ghrelin 组, D 为 LY294002 组。

Figure 5. Expression of cleaved Caspase-3 in RAW264.7 derived cells with immunofluorescence method

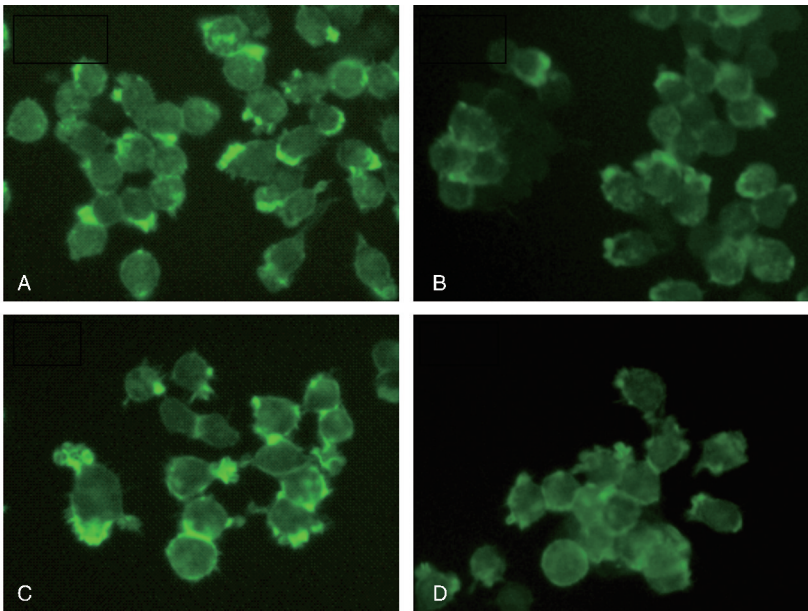


图 6. 免疫荧光检测 RAW264.7 细胞细胞骨架      A 为空白对照组, B 为 ox-LDL 组, C 为 ghrelin 组, D 为 LY294002 组。

Figure 6. RAW264.7 cell cytoskeleton was detected by immunofluorescence assay

3 讨 论

Akt 和 eNOS 磷酸化及 NO 生成是细胞迁移和抑制凋亡中重要的信号通路<sup>[11-14]</sup>,但是关于 ghrelin 相关研究结果存在明显冲突。一些研究显示在人主动脉内皮细胞  $10^{-9}$  mol/L ghrelin 可以明显抑制血管紧张素 2 诱导的细胞迁移<sup>[15]</sup>。另一些研究又显示在人微血管内皮细胞 (human microvascular vein

endothelial cell, HMVEC)  $10^{-10}$  mol/L 到  $10^{-8}$  mol/L ghrelin 可以通过激活 MAPK/ERK2 信号通路促进其迁移,但  $10^{-7}$  mol/L ghrelin 可以明显抑制细胞迁移<sup>[16]</sup>。这些结果提示 ghrelin 促进细胞迁移可能跟其细胞类型及 ghrelin 浓度有关。为了进一步验证 ghrelin 是否在 RAW264.7 细胞迁移中起作用,我们观察了  $10^{-7}$  mol/L ghrelin 处理 RAW264.7 源性泡沫细胞后磷酸化 Akt 和 cleaved Caspase-3 的变化,结

果发现 Akt 的磷酸化和 cleaved Caspase-3 蛋白表达随 ghrelin 诱导的 RAW264.7 源性细胞迁移而发生变化。

本研究中,我们证实了 ghrelin 可以促进泡沫细胞迁移,其机制至少部分是通过 PI3K/Akt 信号通路。第一,ghrelin 明显可提高 RAW264.7 源性泡沫细胞的迁移能力并减少动脉粥样硬化的发生和泡沫细胞的凋亡。第二,p-Akt 在 RAW264.7 源性泡沫细胞中表达,当与 ghrelin 共孵育时,p-Akt 出现明显的上调。第三,加用 PI3K 特异性抑制剂 LY294002 可明显抑制 ghrelin 对细胞迁移的影响及 p-Akt 的表达。这些结果都显示 ghrelin 能够影响泡沫细胞的迁移以及减少泡沫细胞的凋亡,并且这一作用可能与 PI3K/Akt 通路相关。

应该说 ghrelin 改善动脉粥样硬化的机制是复杂的,这中间涉及到很多的因素,如炎症反应、内膜损伤、泡沫细胞凋亡、氧化应激、钙化等<sup>[7]</sup>。目前研究已经证实凋亡和钙化在动脉粥样硬化的过程中扮演着重要的地位,导致纤维斑块破裂、急性心肌梗死发生<sup>[17]</sup>。因此抑制细胞凋亡也许是治疗动脉粥样硬化潜在的靶点。PI3K 是存在于很多疾病信号通路中的一个关键性因子,我们实验组前期实验已证实 PI3K 在小鼠动脉粥样硬化发展中的重要性<sup>[18]</sup>。PI3K 通过下调 Caspase-3 的表达降低细胞凋亡从而提高细胞存活<sup>[19]</sup>。本研究发现 p-Akt 水平在空白对照组和 ox-LDL 组之间存在差异,说明 ox-LDL 可能对细胞的凋亡产生部分影响,且 ghrelin 组 cleaved Caspase-3 蛋白的表达水平明显下降。同时,ghrelin 组可以明显增加 Akt 的激活,增强 RAW264.7 源性泡沫细胞迁移,给予 PI3K 特异性抑制剂 LY294002 时细胞凋亡增加。这些结果充分说明 ox-LDL 与 RAW264.7 细胞系共孵育可以激活 Akt 信号通路。与此同时,ghrelin 可以明显增加 Akt 的激活,增强细胞骨架荧光,增加 RAW264.7 源性泡沫细胞迁移。而且,PI3K 特异性抑制剂 LY294002 可以阻止 Akt 磷酸化,这样导致细胞死亡增加。此外,免疫荧光发现,活化的 Akt 在 RAW264.7 源性泡沫细胞中存在明显表达。Western blot 结果与荧光结果高度一致,这些结果显示:ghrelin 对动脉粥样硬化的发生发展起着明显的保护作用,这一作用很可能是通过影响 PI3K/Akt 信号通路来实现的。至少部分表明在 RAW264.7 源性泡沫细胞中激活 PI3K/Akt 信号通路可以表现出明显的抗细胞凋亡和促进泡沫细胞迁移。

ghrelin 主要由胃粘膜内皮细胞分泌,是 GHS 的

受体。前期研究已经证实 ghrelin 在动脉粥样硬化的进程中通过影响 PI3K/Akt 信号通路发挥作用,ghrelin 通过激活 PI3K/Akt 通路改变 Bcl-2 家族蛋白的表达,抑制细胞色素 C 的释放以及 Caspase-3 的失活,促进细胞存活<sup>[7]</sup>。

我们研究发现,RAW264.7 细胞与 ox-LDL 共孵育后 cleaved Caspase-3 水平升高,这一过程可被 ghrelin 抑制。此外,在 ghrelin 存在的情况下,PI3K/Akt 信号通路出现明显激活,这一改变可抑制细胞凋亡,促进泡沫细胞迁移,最终起到减缓动脉粥样硬化的作用。

但是,我们的实验也存在着许多的不足和缺陷,首先,在 RAW264.7 源性泡沫细胞中模拟人体动脉粥样硬化,这种体外实验与实际的体内环境存在较大差距。此外,本实验只检测了 PI3K/Akt 信号通路的变化,ghrelin 还可能通过其他的细胞信号通路参与泡沫细胞的迁移过程和缓解泡沫细胞的凋亡,从而抑制动脉粥样硬化的发展。再者,我们只是探索了局限的时间和浓度的 ghrelin 对 RAW264.7 源性泡沫细胞迁移的影响,具体的最佳的时间点和浓度值还需进一步深入研究。最后,ghrelin 激活 Akt 的机制是否与 Bax/Bcl-2 的表达变化存在相关性目前还不是很明显,还需要进一步研究。

基于目前的研究结果,我们得出:ghrelin 可以促进 RAW264.7 源性泡沫细胞迁移,减缓动脉粥样硬化进程,其机制可能与激活 PI3K/Akt 信号通路有关,因此,ghrelin 很可能会成为治疗动脉粥样硬化的一个关键性靶标,以期临床动脉粥样硬化的治疗提供策略性指导。

#### [参考文献]

- [1] Qu SL, Fan WJ, Zhang C, et al. Mip1 overexpression protects macrophages from oxLDL-induced foam cell formation and cell apoptosis [J]. DNA Cell Biol, 2014, 33 (12): 839-846.
- [2] Robbins CS, Chudnovskiy A, Rauch PJ, et al. Extramedullary hematopoiesis generates Ly-6C<sup>high</sup> monocytes that infiltrate atherosclerotic lesions [J]. Circulation, 2012, 125 (2): 364-374.
- [3] 李爱松, 李婧, 任长虹, 等. 动脉粥样硬化相关基因与缺血性卒中的相关性研究进展 [J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2011, 38 (5): 477-481.
- [4] Curtiss LK. Reversing atherosclerosis [J]. N Engl J Med, 2009, 360 (11): 1 144.
- [5] 崔淑华, 庾勤慧. 动脉粥样硬化中巨噬细胞凋亡与内质网应激机制 [J]. 国际病理科学与临床杂志, 2011, 31

- (4): 315-318.
- [6] Han D, Huang W, Ma S, et al. Ghrelin improves functional survival of engrafted adipose-derived mesenchymal stem cells in ischemic heart through PI3K/Akt signaling pathway [J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 858349.
- [7] Isgaard J, Granata R. Ghrelin in cardiovascular disease and atherogenesis[J]. Mol Cell Endocrinol, 2011, 340 (1): 59-64.
- [8] Chopin L, Walpole C, Seim I, et al. Ghrelin and cancer [J]. Mol Cell Endocrinol, 2011, 340 (1): 65-69.
- [9] 李丽华, 严金川, 王中群, 等. 羧甲基赖氨酸对 RAW264.7 源性泡沫细胞迁移的影响[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2013, 15 (9): 969-972.
- [10] 周云, 沃兴德, 卢德赵. RAW264.7 巨噬细胞源性泡沫细胞模型的建立及鉴定[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18 (9): 687-690.
- [11] Lee SJ, Namkoong S, Kim YM, et al. Fractalkine stimulated angiogenesis by activating the Raf-1/MEK/ERK-and PI3K/Akt/eNOS-dependent signal pathways [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006, 291(6): H2 836-846.
- [12] Ziche M, Morbidelli L. Nitric oxide and angiogenesis[J]. J Neurooncol, 2000, 50 (1-2): 139-148.
- [13] Choi HE, Yoo MS, Choi JH, et al. BRN-103, a novel nicotinamide derivative, inhibits VEGF-induced angiogenesis and proliferation in human umbilical vein endothelial cells[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2011, 21 (21): 6 236-241.
- [14] Wang Y, Yan W, Lu X, et al. Overexpression of osteopontin induces angiogenesis of endothelial progenitor cells via the  $\alpha v\beta 3$ /PI3K/AKT/eNOS/NO signaling pathway in glioma cells [J]. Eur J Cell Biol, 2011, 90 (8): 642-648.
- [15] Rossi F, Bertone C, Petricca S, et al. Ghrelin inhibits angiotensin II-induced migration of human aortic endothelial cells[J]. Atherosclerosis, 2007, 192 (2): 291-297.
- [16] Ahluwalia A, Li A, Cheng G, et al. Reduced ghrelin in endothelial cells plays important mechanistic role in aging-related impairment of angiogenesis[J]. J Physiol Pharmacol, 2009, 60 (2): 29-34.
- [17] Wang Y, Krishna SM, Moxon J, et al. Influence of apolipoprotein E, age and aortic site on calcium phosphate induced abdominal aortic aneurysm in mice[J]. Atherosclerosis, 2014, 235 (1): 204-212.
- [18] Wang C, Jin R, Nanda A, et al. Platelet PI3K $\gamma$  contributes to carotid intima-media thickening under severely reduced flow conditions[J]. PloS One, 2015, 10 (6): e0129265.
- [19] Kim SW, Choi OK, Jung JY, et al. Ghrelin inhibits early osteogenic differentiation of C3H10T1/2 cells by suppressing Runx2 expression and enhancing PPAR $\gamma$  and C/EBP $\alpha$  expression[J]. J Cell Biochem, 2009, 106 (4): 626-632.
- (此文编辑 文玉珊)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 作者更正

发表在《中国动脉硬化杂志》2016 年第 24 卷第 3 期 217-223 页《雌激素抑制内质网应激引起的血管内皮细胞凋亡及机制》一文,由于作者王宇的疏忽,要求作如下更正:文章基金项目更正为国家自然科学基金(81270667)。