

过氧化物酶增殖物激活受体 α 激动剂降低高糖诱导的黏附因子的表达

杨纪才(重庆市石柱县人民医院 409100)

【摘要】 目的 探讨过氧化物酶增殖物激活受体(PPAR) α 激动剂对高糖条件下人血管内皮细胞细胞间黏附因子-1(ICAM-1)和血管黏附因子-1(VCAM-1)表达的影响及相关机制。方法 体外培养人脐静脉内皮细胞和 HL-60 细胞,酶联免疫吸附试验(ELISA)、HL-60 细胞黏附试验及逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)方法检测 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达,Western blotting 和共聚焦显微镜方法探讨 NF- κ B 通路 I κ B、磷酸化-I κ B 蛋白水平及 p65 亚基的移位,流式细胞仪和共聚焦显微镜方法检测细胞内活性氧离子(ROS)水平,化学发光法测定烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶的活性。结果 (1)高糖(33 mmol/L)干预 24 h 能够显著增加内皮细胞 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达;(2)PPAR α 激动剂非诺贝特、NF- κ B 抑制剂吡咯烷二硫代氨基甲酸盐(PDTC)和 NADPH 氧化酶抑制剂二联苯碘(DPI)显著抑制高糖诱导的 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达;(3)高糖能够诱导内皮细胞 I κ B α 的降解、磷酸化-I κ B α 蛋白水平的增加;另外,高糖可以显著增加内皮细胞 NADPH 氧化酶活性和细胞内 ROS 水平;非诺贝特则呈浓度依赖性的逆转高糖引起的上述效应。结论 PPAR α 激动剂非诺贝特通过抑制 NF- κ B 通路和 NADPH 氧化酶的激活降低高糖诱导的人血管内皮细胞炎症因子 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达。

【关键词】 内皮细胞; 细胞间黏附因子-1; 血管黏附因子-1

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.07.010 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)07-0788-04

PPAR α agonist inhibits expression of ICAM-1 and VCAM-1 induced by high glucose concentration YANG Ji-cai
(Shizhu County People's Hospital, Chongqing 409100, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effects and underlying mechanism of peroxisome proliferators activated receptor(PPAR) α agonist fenofibrate on the high glucose-induced expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and vascular adhesion molecule-1(VCAM-1) in human umbilical vein endothelial cells. **Methods** Human umbilical vein endothelial cells(HUVEC) cultured in vitro were used in this study. HL-60 adhesion to endothelial cells was evaluated with rose Bengal staining and the absorbance value was measured with a microplate reader at 570nm. Cell ELISA, supernatant ELISA and RT-PCR were performed to determine the expression and secretion of ICAM-1 and VCAM-1. Nuclear and cytoplasmic extractions of HUVECs were prepared and Western blotting was performed to detect the protein level of I κ B α , phosphorylated I κ B α and p65 subunit. The translocation to nucleus of p65 was also confirmed with confocal microscopy. In addition, cellular reactive oxygen species(ROS) level were detected with flow cytometry and confocal microscopy. NADPH oxidase activity was measured using a lucigenin assay. **Results**

(1) High glucose induced the expression of ICAM-1 and VCAM-1 in endothelial cells significantly. (2) PPAR α agonist fenofibrate, nuclear factor kappa B (NF- κ B) inhibitor pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase inhibitor diphenyleneiodonium(DPI) inhibited the high glucose-induced expression of ICAM-1 and VCAM-1 in a dose-dependent manner. (3) Exposure to high glucose promoted I κ B α degradation in cytoplasm and increased the protein level of phosphorylated I κ B α were also increased in HUVECs induced by high glucose concentration. At the same time, high glucose increased the production of ROS and NADPH activity. While fenofibrate reversed these effects via the NF- κ B pathway and the activation of NADPH oxidase. **Conclusion** PPAR α agonist fenofibrate inhibits the expression of ICAM-1 and VCAM-1 induced by high glucose concentration through suppressing NF- κ B pathway and NADPH oxidase activation in human endothelial cells.

【Key words】 endothelial cell; PPAR α agonist; NADPH oxidase; high glucose; nuclear factor kappa B

流行病学研究结果表明糖尿病患者发生动脉粥样硬化的危险性较健康人显著增加,动脉粥样硬化也是糖尿病患者死亡和致残的主要原因。高血糖等刺激因素诱导的黏附因子如细胞间黏附因子-1(ICAM-1)和血管黏附因子-1(VCAM-1)的表达增加则是粥样斑块形成的早期病理变化之一,可导致血管内皮功能障碍,在动脉粥样硬化的形成和发展中起到重要作用^[1]。NF- κ B 作为重要的转录调节因子,在高糖导致的内皮功能障碍中起到关键作用^[2]。Rel/NF- κ B 家族包括 p49、p50、p52、p65、RelB 和 RelC 等亚单位组成的同源或异源二聚体复

合物,其中由 p50 和 p65 组成的异源二聚体在内皮细胞中地位最为重要^[3]。在非激活状态下,NF- κ B 同胞浆中抑制亚单位 I κ B 结合,I κ B 的磷酸化和降解导致 NF- κ B 的激活及 p65 亚基的核转位,最终使其与 DNA 结合促进相关基因的转录^[4]。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶是血管内皮细胞中 ROS 的重要来源,参与了动脉粥样硬化的形成过程^[5]。研究证实激活的内皮细胞中由 NADPH 氧化酶产生的 ROS 参与了 NF- κ B 通路的激活^[6]。PPAR α 激动剂具有独立于降脂外的抗动脉粥样硬化效应^[7],但具体的机制仍未得到阐明。本

研究通过体外试验探讨了 PPAR α 激动剂抑制高糖诱导的人血管内皮细胞黏附因子表达的作用和机制。

1 材料与方 法

1.1 材料 M199 细胞培养液、胎牛血清、胰蛋白酶购自 Gibco 公司, ELISA 试剂盒购自 NeoMarkers 公司, TRIzol 和 RT-PCR 试剂盒购自 Takara 公司、所需引物由 Invitrogen 公司合成, 细胞核及胞浆蛋白提取试剂及蛋白酶抑制剂购自 Pierce 公司, 硝酸纤维素膜购自 Millipore 公司, 兔抗人 β -actin 抗体、兔抗人 I κ B α 抗体、兔抗人 phospho-I κ B α (Ser32) 抗体购自 Cell signaling 公司, 余试剂均购自 Sigma-Aldrich 公司。

1.2 方 法

1.2.1 细胞培养及分组 用 0.1% II 型胶原酶消化正常脐静脉内膜获得内皮细胞, 用含有 25 μ g/mL 的内皮细胞生长因子和 20% 胎牛血清的 M199 培养基进行培养。细胞形态学和 VIII 因子抗体检测细胞纯度达到 95% 以上, 本研究使用培养 1~3 代的细胞。HL-60 细胞系购自美国 ATCC 公司, 用含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液进行培养。培养好的 HUVEC 分组如下: 正常组、高糖组(加入 33 mmol/L); 葡萄糖[加入非诺贝特(fenofibrate) 500 ng/mL]; 干预组(高糖 + fenofibrate 50 μ g/mL), fenofibrate 75 μ g/mL 干预组(高糖 + fenofibrate 75 μ g/mL), fenofibrate 100 μ g/mL 干预组(高糖 + Fenofibrate 100 μ g/mL), PDTC 组(高糖 + PDTC, DP 组、高糖 + DPD)。

1.2.2 细胞黏附试验 细胞黏附试验采用 Rose Bengal 染色方法进行分析^[8]。人脐静脉内皮细胞(HUVEC)接种在明胶包被的 96 孔培养板并生长至融合。干预结束, 每孔加入 100 μ L HL-60 细胞悬液(3×10^6 /mL)。37 $^{\circ}$ C 正常培养 1 h 后, 用无菌 PBS 轻洗 2 次去除未黏附细胞。Rose Bengal 染色后用酶标仪(UVM 340 microplate reader, Austria)于 570 nm 波长读取每孔吸光值。HL-60 细胞黏附表示为 $\Delta 570$ nm, $\Delta 570$ nm = 加有 HL-60 细胞的内皮细胞吸光值 - 单纯内皮细胞的吸光值。

1.2.3 细胞 ELISA 和细胞上清液 ELISA 测定 细胞 ELISA 测定方法如前所述^[9], HUVEC 接种于 96 孔明胶包被的培养板, 干预后用 4% 多聚甲醛固定 15 min, 3% 牛血清清蛋白(BSA)室温封闭 2 h, 加入单克隆鼠抗人 ICAM-1 和 VCAM-1 抗体后 4 $^{\circ}$ C 过夜, 然后加入辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠 IgG 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h, 每步都用含有 0.05% Tween-20 的 PBS 洗 3 次。ICAM-1 和 VCAM-1 的表达通过加入过氧化物酶底物(OPD)后于 492 nm 波长测定每样本吸光值进行定量。细胞上清液中 HUVEC 分泌的 ICAM-1 和 VCAM-1 应用相应的 ELISA 试剂盒参照说明进行测定。

1.2.4 RT-PCR 用 TRIzol 试剂提取细胞总 RNA, 每个样本取 1.5 μ g 总 RNA 在 25 μ L 反应体系中用 AMV 逆转录酶催化进行逆转录反应。取 2 μ L 逆转录产物作为模板通过 Gene-Amp PCR System 9700 (Applied Biosystems, ABI, USA) 进行 PCR 扩增。所需引物包括(1)ICAM-1, 正义: TGG TAG CAG CCG CAG TCG TA; 反义: CTC CTT CCT CTT GGC TTA GT, 产物长度 330 bp。(2)VCAM-1, 正义: CCC TTG ACC GGC TGG AGA TT; 反义: CTG GGG GCA ACA TTG ACA TAA AGT G, 产物长度 280 bp。(3)GAPDH, 正义: CGG TAT CGT GGA AGG ACT CAT G; 反义: TCC TTG GAG GCC ATG TGG GCC AT, 产物长度 501 bp。PCR 产物在 1.5% 琼脂糖凝胶上进行电泳, 凝胶在用溴化乙锭染色后用凝胶图像分析系统进行图像分析。

1.2.5 细胞蛋白成分的制备和免疫印迹 细胞核和细胞浆蛋白的制备采用含有有蛋白酶抑制剂的细胞核及细胞质蛋白提取试剂盒参照说明进行。细胞总蛋白用 2 \times SDS Laemmli 细胞裂解缓冲液提取。Bradford 方法进行蛋白定量, 取 50 μ g 蛋白进行 12% SDS-PAGE 电泳后电转至硝酸纤维素膜。5% 脱脂奶粉室温下封闭 1 h 后, 用一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。研究中用的一抗分别是兔抗人 β -actin 抗体、兔抗人 I κ B α 抗体、兔抗人 phospho-I κ B α (Ser32) 抗体、单克隆鼠抗人 p65 抗体。洗涤后用对应的二抗 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h, 采用鲁米诺增强的化学发光试剂进行 X 胶片曝光。图像扫描后进行密度分析。

1.2.6 共聚焦显微镜下免疫荧光标记检测细胞内 p65 HUVEC 接种于 0.1% 多聚赖氨酸包被的盖玻片上生长至融合, 先后用 4% 多聚甲醛固定和 0.01% Triton X-100 通透 15 min。3% BSA 封闭后, 单克隆鼠抗人 p65 一抗孵育 4 $^{\circ}$ C 过夜, 再用 FITC 标记得羊抗鼠二抗 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h, 共聚焦显微镜检测图像。

1.2.7 流式细胞仪和共聚焦纤维镜检测细胞内 ROS 水平 2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate(H2-DCFDA) 是一种脂溶性的能够测定细胞内 ROS 水平的荧光物质, 进入细胞被 ROS 氧化后生成能够发出高强度绿色荧光的 2', 7'-dichlorofluorescein。HUVEC 用不同浓度的 fenofibrate (50~100 μ g/mL) 预处理 1 h 后再高糖干预 8 h。细胞干预结束后, 在培养液中加入 H2-DCFDA(终浓度 10 μ mol/L) 37 $^{\circ}$ C 培养 1 h。PBS 洗涤细胞后用 0.01% 胰酶-EDTA 消化细胞, 用含有 1% BSA 的 PBS 制成细胞悬液, 流式细胞仪进行检测(525 nm 波长)。易通过细胞膜的二氢乙啶(dihydroethidium, DHE) 在细胞内和 ROS 反应后生成产生红色荧光的乙啶, 在培养液中加入 DHE(10 μ mol/L) 37 $^{\circ}$ C 培养 30 min, 通过共聚焦显微镜检测红色荧光强度(610 nm)。

1.2.8 NADPH 氧化酶活性测定 采用化学发光法测定 NADPH 氧化酶活性^[10]。用含有蛋白酶抑制剂的细胞裂解液将细胞裂解后, 收集蛋白并溶于 TRIS-蔗糖缓冲液, Bradford 法测定蛋白含量。在含有 1 mmol/L EGTA, 150 mmol/L 蔗糖, 5 μ mol/L lucigenin 和 NADPH(100 μ mol/L)(终体积为 1 mL) 的磷酸钠缓冲液(50 mmol/L, pH 7.0) 反应体系中测定 NADPH 氧化酶活性, 加入 100 μ g 蛋白启动反应, 用闪烁计数器(Orion II, Berthold Detection System, Germany) 测定光子发射量, 每隔 30 s 测定 1 次, 共测定 30 min。无蛋白的反应缓冲液中测定值作为背景值。测定结果用 cpm \cdot mg 蛋白⁻¹ \cdot min⁻¹ 表示。

1.2.9 统计学方法 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组数据采用 one-way ANOVA 作统计学分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 fenofibrate、NF- κ B 和 NADPH 氧化酶抑制剂均抑制高糖诱导的内皮细胞 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达 结果显示甘露醇干预组与对照组的内皮细胞炎症因子的表达及细胞内 ROS 水平均无显著差别。分别用吡咯烷二硫代氨基甲酸盐(PDTC)和二联苯碘(DPI) 干预 HUVEC 1 h 后再在高糖环境下培养 24 h, 细胞黏附试验结果显示高糖能够显著增加 HL-60 细胞与 HUVEC 的黏附, DPI 和 PDTC 可以显著对抗高糖所产生的细胞黏附效应(表 1)。研究结果也显示 fenofibrate 呈浓度依赖性的抑制高糖诱导的 HL-60 细胞与 HUVEC 的黏附效应(表 1)。与上述结果一致, ELISA 分析结果显示 fenofi-

brate、PDTC 和 DPI 均可显著降低高糖诱导的 ICAM-1 和 VCAM-1 的生成和分泌(表 1)。另外, RT-PCR 结果表明 fenofibrate、PDTC 和 DPI 均可显著降低高糖诱导的 ICAM-1

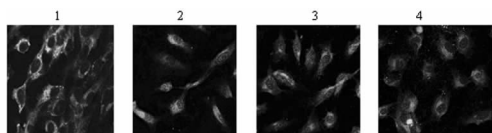
mRNA 水平的增加。同样, 高糖导致的 VCAM-1 mRNA 水平的升高也被 fenofibrate、PDTC 和 DPI 所抑制。

表 1 各组细胞黏附试验、ICAM-1、VCAM-1 的生成和分泌(̄±s)

组别	Δ570nm	ICAM-1 生成	VCAM-1 生成	ICAM-1 分泌	VCAM-1 分泌
对照组	0.32±0.01	0.036±0.007	0.17±0.015	0.11±0.027	0.073±0.008
高糖组	0.6±0.02◆	0.235±0.012◆	0.23±0.017◆	0.273±0.036◆	0.239±0.034◆
Fenofibrate(不同浓度)干预组					
50μg/mL	0.52±0.03▲	0.185±0.013▲	0.183±0.02▲	0.237±0.016▲	0.213±0.011▲
75μg/mL	0.41±0.02▲* 0.164±0.011▲*		0.168±0.02▲	0.221±0.039▲	0.185±0.004▲*
100μg/mL	0.39±0.04▲*	0.148±0.006▲*★	0.177±0.005▲	0.196±0.005▲*	0.172±0.006▲*★
PDTC 组	0.42±0.01▲	0.132±0.004▲	0.177±0.019▲	0.158±0.013▲	0.151±0.007▲
DPI 组	0.4±0.01▲	0.146±0.011▲	0.161±0.021▲	0.169±0.012▲	0.153±0.019▲

注:与对照组比较,◆P<0.05;与高糖组比较,▲P<0.05;与 fenofibrate 50 μg/mL 干预组比较,*P<0.05;与 fenofibrate 75 μg/mL 干预组比较,★P<0.05。

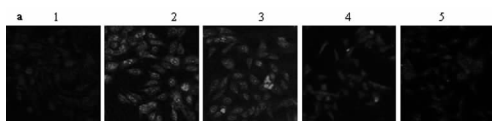
2.2 fenofibrate 抑制高糖诱导的 HUVEC p65 亚基的核转位和 IκBα 的磷酸化 荧光检测结果显示生长在正常条件下 HUVEC(5.5 mmol/L 葡萄糖)其 p65 亚基位于胞浆内,高糖干预 45 min 后胞核内的荧光强度明显增强(图 1),当 HUVEC 用 fenofibrate 预处理后,高糖对 p65 核转移的效应被明显抑制(图 1)。用免疫杂交对胞浆及胞核中的 p65 蛋白水平检测结果显示:高糖干预 45 min 可以显著增加胞核内 p65 的蛋白水平,其在胞浆内的水平显著下降,细胞内 p65 的总蛋白水平没有变化, fenofibrate 同样可以抑制高糖产生的这种效应。免疫杂交结果显示高糖可以导致 IκB 的磷酸化水平增加和 IκB 的降解,而 fenofibrate 则显著逆转高糖对 IκB 的效应。



注:1 为对照组;2 为高糖组;3 为 fenofibrate 组(50 μg/mL);4 为 fenofibrate 组(100 μg/mL)。

图 1 各组细胞激光共聚焦显微镜下定位 p65 结果

2.3 fenofibrate 及高糖对细胞内 ROS 水平和 NADPH 氧化酶的影响 流式细胞仪检测胞内 ROS 水平,结果显示高糖显著增加 HUVEC 内 ROS 水平,而 fenofibrate(75~100 μg/mL)则显著降低高糖诱导的内皮细胞内 ROS 的生成。共聚焦显微镜方法检测细胞内 ROS 产生的荧光强度结果同流式细胞仪检测结果相似(图 2)。



注:1 为对照组;2 为高糖组;3 为 fenofibrate 组(50 μg/mL);4 为 fenofibrate 组(75 μg/mL);5 为 fenofibrate 组(100 μg/mL)。

图 2 各组细胞内 ROS 水平激光共聚焦检测结果

3 讨 论

动脉粥样硬化是糖尿病患者的特征之一。血糖升高会增加血浆中低密度脂蛋白(LDL)的跨细胞转运及其在血管内皮

下的沉积,改变 LDL 的物理和化学特性并促进巨噬细胞对 LDL 的吞噬。同时,高糖诱导的血管内皮细胞黏附因子的表达增加也促进血浆中单核细胞与内皮细胞的黏附,对粥样硬化斑块的形成起到核心作用^[12],也是粥样斑块形成这一炎症过程中的重要环节。研究认为 PPARα 激动剂 fenofibrate 能够降低动脉粥样硬化和 II b 型高脂血症患者血浆中细胞因子的水平,显著降低 C 反应蛋白诱导的单核细胞趋化因子的表达^[13]。本研究发现 fenofibrate 能够显著抑制高糖条件下内皮细胞炎症因子 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达。

本研究发现高糖可以显著增加内皮细胞 NADPH 氧化酶的活性及细胞内 ROS 的生成,这同先前的报道一致^[14]。本研究结果显示 NADPH 氧化酶抑制剂具有同 fenofibrate 相似的作用,说明高糖条件下细胞内 ROS 水平的增加参与了高糖诱导的细胞炎症因子的表达过程。此外,高糖干预使得内皮细胞中 NF-κB 的活性也显著增加,且 NF-κB 通路抑制剂 PDTC 可下调高糖条件下细胞黏附因子的表达,进一步证实了 NF-κB 在高糖诱导的内皮细胞炎症反应过程中的重要作用。

PPARα 在调控衰老过程中细胞的氧化-还原状态起到重要作用^[15],而 NADPH 氧化酶是内皮细胞 ROS 的重要来源。为此,本研究就 fenofibrate 在高糖条件下的抗氧化作用及其对内皮细胞 NADPH 氧化酶的活性所产生的效应进行了探讨,发现 fenofibrate 可明显抑制该酶的活性,从而解释了 PPARα 激动剂在抑制细胞内 ROS 生成的机制。PPARα 激动剂可一定程度上抑制氧化型 LDL 诱导的内皮细胞蛋白激酶 C(protein kinase C,PKC)的表达^[16],所以 fenofibrate 可能通过 PKC 依赖途径抑制高糖引起的 NADPH 氧化酶的激活。另一方面,本研究初步的数据(本文未提供)提示某些核受体激动剂可以显著抑制高糖诱导的 NADPH 氧化酶各个亚基的表达, fenofibrate 也可能通过抑制该氧化酶的表达水平来抑制其活性,从而导致细胞内 ROS 水平的下降。另外,本研究还发现 fenofibrate 可抑制高糖诱导的 IκB 磷酸化及降解,从而阻止高糖条件下 NF-κB p65 亚单位的核转位。所以 PPARα 激动剂对 NF-κB 通路的抑制作用是其抗炎作用的另一机制。有研究证实内皮细胞中激活的 NADPH 氧化酶产生的 ROS 参与了 NF-κB 通路的激活^[6],但相关机制还有待于进一步探讨。

总之,本研究发现高糖可显著增加人内皮细胞黏附因子的表达,PPAR α 激动剂 fenofibrate 通过降低 NADPH 氧化酶活性和细胞内 ROS 的水平及其抑制 NF- κ B 通路的激活两个机制来对抗高糖对内皮细胞的致炎效应。这一结果可能为治疗糖尿病导致的粥样硬化提供新的药物治疗策略。

参考文献

[1] Price DT, Loscalzo J. Cellular adhesion molecules and atherogenesis[J]. Am J Med,1999,107:85-97.

[2] Zamboni M,Di Francesco V,Garbin U,et al. Adiponectin gene expression and adipocyte NF-kappaB transcriptional activity in elderly overweight and obese women; inter-relationships with fat distribution,hs-CRP,leptin and insulin resistance[J]. Int J Obes (Lond),2007,31(7):1104-1109.

[3] Read MA,Whitley MZ,Williams AJ,et al. NF-kappa B and I kappa B alpha;an inducible regulatory system in endothelial activation[J]. J Exp Med,1994,179:503-512.

[4] Yamamoto Y,Gaynor RB. IkappaB kinases:key regulators of the NF-kappaB pathway [J]. Trends Biochem Sci,2004,29:72-79.

[5] Sorescu D,Weiss D,Lassegue B,et al. Griendling. Superoxide production and expression of nox family proteins in human atherosclerosis [J]. Circulation,2002,105:1429-1435.

[6] Lin SJ,Shyue SK,Hung YY,et al. Superoxide dismutase inhibits the expression of vascular cell adhesion molecule-1 and intracellular cell adhesion molecule-1 induced by tumor necrosis factor-alpha in human endothelial cells through the JNK/p38 pathways[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2005,25:334-340.

[7] Forman BM,Chen J,Evans RM. Hypolipidemic drugs, polyunsaturated fatty acids, and eicosanoids are ligands for PPAR- α and δ [J]. Proc Natl Acad Sci USA,1997,94:4312-4317.

[8] Ding M,Zhao GR,Yuan YJ,et al. Aqueous extract of Salvia miltiorrhiza regulates adhesion molecule expression of tumor necrosis factor alpha-induced endothelial cells by blocking activation of nuclear factor kappaB[J]. J Cardio-

vasc Pharmacol,2005,45:516-524.

[9] Zhang WJ,Frei B. Albumin selectively inhibits TNF alpha-induced expression of vascular cell adhesion molecule-1 in human aortic endothelial cells[J]. Cardiovasc Res,2002,55:820-829.

[10] Vecchione C,Patrucco E,Marino G,et al. Protection from angiotensin II-mediated vasculotoxic and hypertensive response in mice lacking PI3Kgamma[J]. J Exp Med,2005,201:1217-1228.

[11] Dragomir E,Manduteanu I,Voinea M,et al. Aspirin rectifies calcium homeostasis,decreases reactive oxygen species,and increases NO production in high glucose-exposed human endothelial cells [J]. J Diabetes Complications,2004,18:289-299.

[12] Shin WS,Szuba A,Rockson SG. The role of chemokines in human cardiovascular pathology: enhanced biological insights[J]. Atherosclerosis,2006,160:91-102.

[13] Pasceri V,Chang J,Willerson JT,et al. Modulation of Creactive protein-mediated MCP-1 induction in human endothelial cells by anti-therosclerosis drugs[J]. Circulation,2002,103:2531-2534.

[14] Dragomir E,Manduteanu I,Voinea M,et al. Aspirin rectifies calcium homeostasis,decreases reactive oxygen species,and increases NO production in high glucose-exposed human endothelial cells [J]. J Diabetes Its Complicat,2004,18:289-299.

[15] Poynter ME,Daynes RA. Peroxisome proliferator-activated receptor α activation modulates cellular redox status, represses NF-kB signaling and reduces inflammatory cytokine production in aging [J]. J Biol Chem,1998,273:32833-32841.

[16] Martin-Nizard F,Furman C,Delerville P,et al. Peroxisome proliferator-activated receptor activators inhibit oxidized low-density lipoprotein-induced endothelin-1 secretion in endothelial cells [J]. J Cardiovasc Pharmacol,2002,40(6):822-831.

(收稿日期:2010-12-13)

(上接第 787 页)

reactive protein and lipid screening[J]. Clin hem,2001,47:28-30.

[4] Biasucci LM,Liuzzo G,Grillo RL,et al. Elevated levels of C-reactive protein after discharge in patients with unstable angina predicts recurrent instability[J]. Circulation,1999,99:855-860.

[5] Blake GJ,Ridker PM. Novel clinical markers of vascular wall inflammation[J]. Circulation Res,2001,89:763-771.

[6] Lagrand WK,Visser CA,Hermens WT,et al. C-reactive protein as a cardiovascular risk factor more than an epi-

phenomenon[J]. Circulation,2008,100:96-102.

[7] Verma S,Li SH,Badiwala MV,et al. Endothelin antagonism and interleukin-6 inhibition attenuate the proatherogenic effects of C-reactive protein[J]. Circulation,2009,105:1890-1896.

[8] Ridker PM,Hennekens CH,Buring JE,et al. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women[J]. N Engl J Med 2009,342:836-843.

(收稿日期:2010-12-15)