

## 欧芹素乙对人脐静脉内皮细胞的保护作用及对血管内皮生长因子表达的影响

刘厚佳<sup>1</sup>,李铁军<sup>2</sup>,邱彦<sup>3</sup>,芮耀诚<sup>2</sup>,卫立辛<sup>4</sup>,吴孟超<sup>4</sup>,张黎<sup>4</sup>(1第二军医大学第一附属医院,上海 200433; 2第二军医大学药学院,上海 200433; 3中国人民解放军 454医院药剂科,江苏 南京 210002; 4第二军医大学第三附属医院,上海 200433)

**摘要** 目的:研究欧芹素乙对内皮细胞的保护作用;溶血磷脂酰胆碱(LPC)对人脐静脉内皮细胞株 HUVEC 细胞中血管内皮生长因子(VEGF)表达的影响以及欧芹素乙的影响。方法:应用四唑盐(MTT)法检测溶血磷脂酰胆碱对 HUVEC 细胞的毒性作用及欧芹素乙的保护作用;应用基础酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组条件培养基中 VEGF 蛋白含量;采用 RT-PCR 法及 Realtime PCR 方法检测溶血磷脂酰胆碱对 VEGF mRNA 的表达及欧芹素乙的影响。结果:MTT 检测结果显示,溶血磷脂酰胆碱对 HUVEC 细胞具有较强的生长抑制作用,而欧芹素乙对溶血磷脂酰胆碱所致的细胞增殖抑制具有较好的保护作用。ELISA 结果显示, HUVEC 细胞暴露于溶血磷脂酰胆碱后,VEGF 蛋白含量明显升高;加入欧芹素乙后剂量依赖性地降低 VEGF 蛋白的表达。RT-PCR 结果显示,溶血磷脂酰胆碱可以增加 3 种 VEGF 异构体的转录水平,其中 VEGF165 的表达显著增加,欧芹素乙可剂量依赖性地抑制溶血磷脂酰胆碱引起的 VEGF mRNA 的高表达。结论:欧芹素乙对溶血磷脂酰胆碱引起的细胞损伤有明显的保护作用;欧芹素乙可抑制溶血磷脂酰胆碱所诱导的 HUVEC 细胞中 VEGF 蛋白及 VEGF mRNA 的高表达,对内皮细胞起到保护作用。

**关键词** 溶血磷脂酰胆碱;血管内皮生长因子;欧芹素乙

中图分类号:R965 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2009)02-0094-05

## Inhibitory effects of vascular endothelial growth factor expression on human umbilical vein endothelial cells by imperatorin

LIU Hou-jia<sup>1</sup>, LI Tie-jun<sup>2</sup>, QIU Yan<sup>3</sup>, RU IRao-cheng<sup>2</sup>, WEILi-xin<sup>4</sup>, WU Meng-chao<sup>4</sup>, ZHANG Li<sup>4</sup>(1 Changhai Hospital, Secondary Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2 College of Pharmacy, Secondary Military Medical University, Shanghai 200433, China; 3 Department of Pharmacy, the 454th Hospital of PLA, Nanjing 210002, China; 4 Eastern Hepatobiliary Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China)

**ABSTRACT Objective:** To study the protective effects of imperatorin (MP) against human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) damage and expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) induced by lysophosphatidylcholine (LPC). **Methods:** Cell injury were determined by MTT assay. Vascular endothelial growth factor protein production from HUVEC was determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). VEGF mRNA expression was examined by RT-PCR and realtime PCR. **Results:** Imperatorin prevented LPC-induced injury in cultured HUVEC in a concentration-dependent manner. LPC induced expression of VEGF protein and VEGF mRNA on HUVEC. Imperatorin could inhibit the expression of VEGF protein and VEGF mRNA in co-cultured with LPC. **Conclusions:** LPC could induce cell damage and a strong expression of VEGF on HUVEC. Imperatorin could protect HUVEC against the LPC-induced damage and downregulate VEGF protein and VEGF mRNA expression in cultured HUVEC.

**KEY WORDS** lysophosphatidylcholines; endothelial growth factors; imperatorin

### 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth

factor, VEGF)也称血管通透性因子(VPF),通过旁分泌方式作用于内皮细胞,促进内皮细胞增殖,生理性和病理性血管生成及血管通透性的增加<sup>[1,2]</sup>。由于在动脉粥样硬化斑块组织中,VEGF mRNA 的表达明显升高<sup>[3,4]</sup>,故推测 VEGF 可能在动脉粥样硬化(AS)早期发展中起重要作用。

溶血磷脂酰胆碱(LPC)是氧化低密度脂蛋白

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 39870870; No. 30500615);军队“十五”医学科研课题资助项目(No. 04A-8);上海市卫生局青年课题资助项目(No. 2004-55-94);第二军医大学启动基金(2003-SQ-11)。

作者简介:刘厚佳(1976-),男,博士,主管药师。

通讯作者:张黎. E-mail: lizhang@smmu.edu.cn

(ox-LDL)的主要成分<sup>[5]</sup>。近年来研究发现,溶血磷脂酰胆碱具有细胞毒性,可激活血管内蛋白激酶 C 而进一步氧化修饰低密度脂蛋白,使其生成氧化低密度脂蛋白。溶血磷脂酰胆碱参与内皮功能紊乱及动脉粥样硬化的形成<sup>[6]</sup>。在喂食致动脉粥样硬化饲料的动物模型中,发现动脉损伤处测得溶血磷脂酰胆碱的浓度明显升高<sup>[7]</sup>,因此进一步研究溶血磷脂酰胆碱对内皮细胞的影响对阐明动脉粥样硬化的形成机制提供新的思路。

欧芹素乙(imperatorin, MP)是中药欧前胡和白芷根部的有效成分<sup>[8,9]</sup>,具有抗炎作用,抑制花生四烯酸诱导的血小板聚集,抑制肿瘤坏死因子、白介素 1 诱导的牛脑微血管平滑肌细胞的增殖、单核细胞的迁移及单核细胞与内皮细胞的黏附作用<sup>[10,11]</sup>。研究证实,动脉粥样硬化进程中单核细胞向内膜迁移并与内皮细胞黏附,是泡沫细胞形成的关键,更是动脉粥样硬化发生的启动因素。研究发现,VEGF 可以促进内皮细胞的通透性,促进单核细胞的迁移,但欧芹素乙对内皮细胞表达 VEGF 的影响尚未见报道。基于前期工作中对欧芹素乙的作用研究,我们推测欧芹素乙可能对动脉粥样硬化的形成具有一定的保护作用,但是其作用机制尚未完全明确。因此本研究拟探讨欧芹素乙对人脐静脉内皮细胞的保护作用,并进一步研究欧芹素乙对溶血磷脂酰胆碱诱导人脐静脉内皮细胞表达 VEGF 的影响。本研究对于阐明动脉粥样硬化的形成机制及探寻防治策略具有一定的意义。

## 1 材料与方法

**1.1 试剂与材料** 欧芹素乙(MP,结构式见图 1),用 DMEM 配成浓度为  $1 \times 10^4$  g/L,  $1 \times 10^5$  g/L 和  $1 \times 10^6$  g/L 3 种待测样品;溶血磷脂酰胆碱、四唑盐(MTT)及胰酶均为 Sigma 公司提供;胎牛血清 FBS 和 DMEM 培养基为 Gibco 公司产品;人 VEGF ELISA 检测试剂盒购自 Invitrogen 公司;TAKARA One Step RNA PCR Kit (AMV)购自 TAKARA B D-TECH;细胞/组织总 RNA 提取试剂盒购自上海华舜生物工程有限公司;VEGF 引物及 Taqman 探针由上海申友生物有限公司提供。

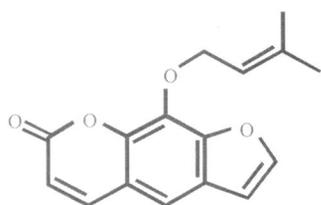


图 1 欧芹素乙结构式

**1.2 细胞培养** HUVEC 细胞用含 15% FBS 的 DMEM 培养基培养,待细胞长成致密单层后,用 0.125% 的胰酶消化,调整细胞数为  $1 \times 10^5$  个/mL,按每瓶  $5 \times 10^3$  L 接种于培养瓶中,置 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 孵箱中孵育 48 h 后,可长成融合的单层细胞,换以无血清培养基,静息 24 h,以消除血清的影响。将准备好的细胞单层换以含 2.5 mg/L 溶血磷脂酰胆碱的无血清 DMEM 培养基刺激 24 h,取其上清液(条件培养基, CM),离心 5 min,用 ELISA 方法检测 VEGF 的表达。药物组加入 5 mg/L 溶血磷脂酰胆碱 + 欧芹素乙 ( $1 \times 10^4$  g/L,  $1 \times 10^5$  g/L,  $1 \times 10^6$  g/L) 共孵,对照组只加无血清 DMEM 培养基。

**1.3 欧芹素乙对溶血磷脂酰胆碱所致 HUVEC 损伤的保护作用** 应用 MTT 比色实验检测溶血磷脂酰胆碱对 HUVEC 细胞存活和生长的影响。HUVEC 细胞以  $1 \times 10^4$  个/孔接种于 96 孔细胞培养板,将长成致密单层的细胞换以含 2.5 mg/L 溶血磷脂酰胆碱的无血清 DMEM 培养基,或者加入 2.5 mg/L 溶血磷脂酰胆碱 + 欧芹素乙 ( $1 \times 10^4$  g/L,  $1 \times 10^5$  g/L,  $1 \times 10^6$  g/L) 共孵,对照组只加无血清 DMEM 培养基,刺激 24 h 后移去 DMEM 培养基, PBS 洗后每孔加入 0.1 mL DMEM 培养基和 0.01 mL MTT (5 g/L), 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 孵箱中孵育 4 h 后,弃去上清液,每孔加入 0.1 mL 异丙醇(含 0.1 N 盐酸),振荡数分钟,使 MTT 结晶完全溶解,在酶标仪 570 nm 处测定吸收值。

**1.4 欧芹素乙对溶血磷脂酰胆碱诱导 HUVEC 表达 VEGF 的影响**

**1.4.1 ELISA 法检测条件培养基中 VEGF 蛋白的含量** 按照试剂盒操作要求,在已用包被液包被的 96 孔酶标板相应位置加入 100 μL VEGF 标准品或条件培养基,与 4 mg/L 鼠抗人 VEGF 抗体室温孵育 3 h 后,加入 25 μL 兔抗鼠 IgG-HRP,室温孵育 30 min。PBS 洗板 5 次,加入 100 μL 含 0.01% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的邻苯二胺盐酸盐,室温显色 25 min,50 μL 2 mol/L 氢氧化钠终止反应。以酶标仪测定 492 nm 处吸收值(A)。

**1.4.2 RT-PCR 法检测 VEGF 不同异构体 mRNA 的表达** 细胞经过溶血磷脂酰胆碱或溶血磷脂酰胆碱 + 欧芹素乙刺激 6 h 后,应用细胞/组织总 RNA 提取试剂盒提取细胞内总 RNA。各取 1 μg 总 RNA 进行 RT-PCR 反应。PCR 反应条件为 42 °C 30 min 逆转录,变性 94 °C 30 s,退火 55 °C 30 s,延伸 72 °C 1 min,35 个循环后,72 °C 延伸 10 min。VEGF165 上游引物为 5'-CCA TGA GAT CGA GTA CAT-3',下游引物为 5'-AGC AAG GCC CAC AGG GAT TT-3',扩增片段长度为 254 bp。VEGF121 上游引物为

5'-CCA TGA GAT CGA GTA CAT-3',下游引物为 5'-GCC TCG GCT TGT CAC ATT TT-3';扩增片段长度为 254 bp。VEGF189 上游引物为 5'-CCA TGA GAT CGA GTA CAT-3',下游引物为 5'-AAC GCT CCA GGA CTT ATA CCG-3',扩增片段长度为 310 bp。管家基因 GADPH 上游引物为 5'-GTG AAG GTC GGA GTC AAC G-3',下游引物为 5'-GGT GAA GAC GCC AGT GGA CTC-3',扩增片段长度为 510 bp。各取 5 μL RT-PCR 产物进行 2%琼脂糖凝胶电泳。其余部分纯化后进行 VEGF-pDNA3 真核表达载体的构建。

1.4.3 Realtime RT-PCR 法检测 VEGF165 mRNA 的表达

1.4.3.1 VEGF 标准品 (VEGF165-pDNA3 质粒) 的构建 VEGF 165 RT-PCR 产物纯化后构建于 T vector, 经 EcoR I 及 Xba I 双酶切后, 连接于 pDNA3 空质粒中。构建好的 VEGF165-pDNA3 重组质粒经扩增, 酶切鉴定及测序无误后, 测定 260 nm 及 280 nm 的吸收值, 对 VEGF165-pDNA3 重组质粒 DNA 定量。制备成  $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^8$  拷贝, 用于制备 Realtime RT-PCR 反应中的标准曲线。

1.4.3.2 Realtime RT-PCR 检测 VEGF165 mRNA 的表达 细胞经过溶血磷脂酰胆碱或溶血磷脂酰胆碱 + 欧芹素乙刺激 6 h 后, 应用细胞组织总 RNA 提取试剂盒提取细胞内总 RNA。各取 0.5 μg 总 RNA 进行逆转录反应。分别取 1 μL cDNA 进行 Realtime RT-PCR 反应。VEGF165 上游引物为 5'-CCA TGA GAT CGA GTA CAT-3'; 下游引物为 5'-AGC AAG GCC CAC AGG GAT TT-3'; 扩增片段长度为 254 bp。探针序列为 5'-FAM ATC CTG TGT GCC CCT GAT GCG ATG CGG T TAMRA -3'; PCR 反应条件为 92 3min, 60 30 s, 55 30 s, 40 5 s, 共计 30 个循环。

1.5 数据处理 每组实验均重复 3 次, 所得数据均采用  $\bar{x} \pm s$  的形式, 并进行 ANOVA 检验。

2 结果

2.1 欧芹素乙对溶血磷脂酰胆碱致 HUVEC 增殖抑制的保护作用 MTT 结果显示溶血磷脂酰胆碱对 HUVEC 细胞具有细胞毒性作用, 可明显抑制 HUVEC 的增殖, 其吸收值为 (0.362 ± 0.012), 与对照组 (0.500 ± 0.013) 相比具有显著性差异 ( $P < 0.01$ ), 加入欧芹素乙后剂量依赖性的抑制溶血磷脂酰胆碱对内皮细胞的损伤作用 (图 2)。

2.2 欧芹素乙对 VEGF 表达的影响 ELISA 法得到标准曲线方程为  $Y = 0.0383X + 0.124$ ,  $R^2 =$

0.9871 (图 3)。根据标准曲线方程, HUVEC 细胞条件培养基中, 对照组的 VEGF 蛋白含量为 (1.11 ± 0.06) μg/L, 当 HUVEC 细胞暴露于溶血磷脂酰胆碱后, VEGF 蛋白含量为 (2.43 ± 0.04) μg/L。加入欧芹素乙后, VEGF 蛋白含量明显降低, 当欧芹素乙为  $1 \times 10^4$  g/L 时, VEGF 蛋白含量为 (0.54 ± 0.04) μg/L, 与溶血磷脂酰胆碱组相比降低 4.5 倍, 差异非常显著 ( $P < 0.01$ ,  $n = 3$ ) (图 4)。

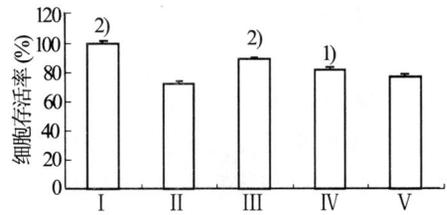


图 2 欧芹素乙对溶血磷脂酰胆碱所致 HUVEC 细胞损伤的保护作用

I-对照组; II-LPC(2.5 mg/L); III-LPC(2.5 mg/L) + IMP(0.001 mg/L); IV-LPC(2.5 mg/L) + IMP(0.01 mg/L); V-LPC(2.5 mg/L) + IMP(0.1 mg/L)。n = 8, <sup>1)</sup>P < 0.01; <sup>2)</sup>P < 0.001, 与 LPC 组比较

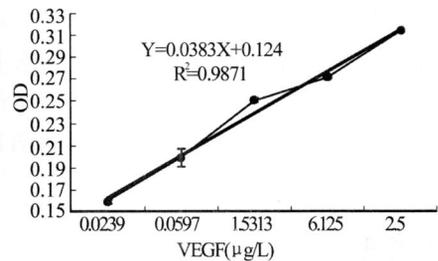


图 3 ELISA 检测 VEGF 蛋白含量标准曲线

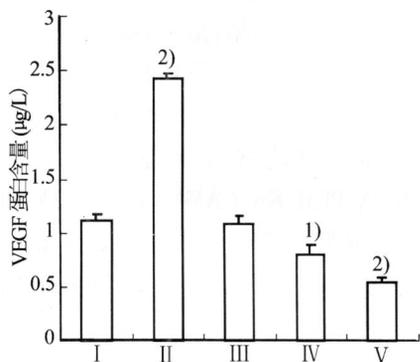


图 4 欧芹素乙对溶血磷脂酰胆碱诱导 HUVEC 表达 VEGF 的影响

I-对照组; II-LPC(2.5 mg/L); III-LPC(2.5 mg/L) + IMP(0.001 mg/L); IV-LPC(2.5 mg/L) + IMP(0.01 mg/L); V-LPC(2.5 mg/L) + IMP(0.1 mg/L)。n = 3, <sup>1)</sup>P < 0.05, 与对照组比较; <sup>2)</sup>P < 0.01, 与 LPC 组比较

**2.3 欧芹素乙对 VEGF mRNA 表达的影响** HU-VEC经溶血磷脂酰胆碱诱导后,RT-PCR 产物电泳结果显示,VEGF不同异构体中,VEGF165的表达量最高,VEGF121次之,VEGF189表达量最少(图 5),故检测溶血磷脂酰胆碱及欧芹素乙对 VEGF 165 mRNA 表达的影响可能更有意义。正常培养的 HU-VEC细胞中,仅有极少量 VEGF 165 mRNA 的表达;溶血磷脂酰胆碱刺激后可使 VEGF 165 mRNA 高表达;加入欧芹素乙后,可剂量依赖性地降低 VEGF 165 mRNA 的表达(图 6)。

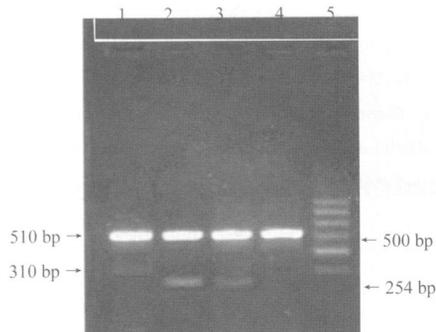


图 5 溶血磷脂酰胆碱对 HUVEC 不同 VEGF 异构体 mRNA 表达的影响

Lane 1~4: Control group; Lane 5: Marker;  
Lane 6~8: LPC group; Lane 1, 6: VEGF189;  
Lane 2, 7: VEGF165; Lane 3, 8: VEGF121

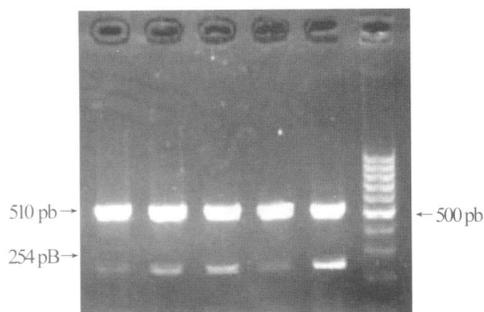


图 6 欧芹素乙对溶血磷脂酰胆碱诱导 HUVEC 表达 VEGF165 mRNA 的影响

Lane 1: LPC + IMP  $1 \times 10^{-4}$  g/L;  
Lane 2: LPC + IMP  $1 \times 10^{-5}$  g/L;  
Lane 3: LPC + IMP  $1 \times 10^{-6}$  g/L;  
Lane 4: 对照组; Lane 5: LPC 组 p;  
Lane 6: 100 bp DNA Ladder

**2.4 欧芹素乙对 VEGF165 mRNA 表达的影响** 抽提纯化的 VEGF165-pcDNA3 质粒 DNA 定量后,用 TE 配制成  $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^8$  拷贝数的标准品。分别取  $1 \mu\text{L}$  不同拷贝数的 DNA 进行 VEGF165 mRNA 的 Realtime RT-PCR 反应。标准曲线如图 7。斜率 Slope = -3.115,说明扩增效率很高;  $r = -1.00$ ,说明

线性良好。Realtime RT-PCR 结果与 RT-PCR 结果相似。当溶血磷脂酰胆碱与 HUVEC 共孵后,VEGF165 mRNA 表达显著增加,是空白对照组的 4.1 倍,加入欧芹素乙后可剂量依赖性地降低 VEGF165 mRNA 的表达(图 8)。

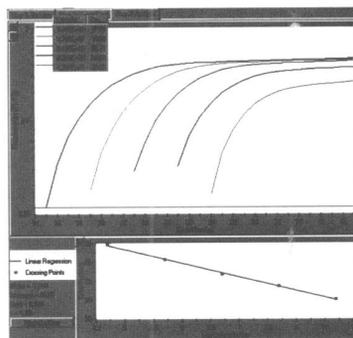


图 7 Real-time PCR 检测 VEGF165 mRNA 表达的标准曲线

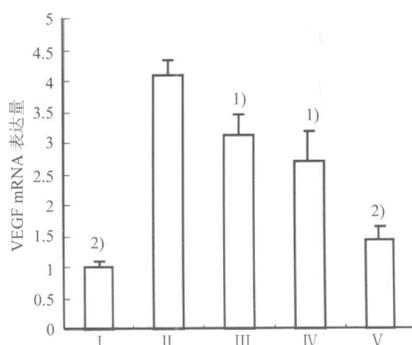


图 8 Real-time PCR 检测欧芹素乙对溶血磷脂酰胆碱诱导 HUVEC 中 VEGF165 mRNA 表达的影响

I-对照组; II-LPC(2.5 mg/L);  
III-LPC(2.5 mg/L) + IMP(0.001 mg/L)  
IV-LPC(2.5 mg/L) + IMP(0.01 mg/L);  
V-LPC(2.5 mg/L) + IMP(0.1 mg/L)。  
 $n = 3$ , <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,与对照组相比 I; <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  与 LPC 组相比

### 3 讨论

目前普遍认为内皮细胞损伤,动脉壁通透性增加,使脂蛋白易通过内皮,沉积在内皮下,与 AS 的早期发展有密切关系<sup>[12~14]</sup>。在诸多引起内皮损伤的有害刺激中,ox-LDL 是引起内皮功能紊乱的重要物质,其可以通过调节多种细胞分泌多种细胞因子,生长因子发挥致 AS 效应<sup>[14]</sup>。溶血磷脂酰胆碱是 ox-LDL 的主要成分,在 LDL 氧化过程中 40% 磷脂酰胆碱可转变成溶血磷脂酰胆碱。溶血磷脂酰胆碱具有细胞毒性,可引起内皮细胞变性、坏死、脱落<sup>[6]</sup>。溶血磷脂酰胆碱可以通过 L 氨基酸转运蛋白 1 (LAT1) 和细胞表面抗原 4 F2 (4 F2 hc) 促进

HUVEC细胞因子 L-6和 L-8的表达<sup>[15]</sup>。本实验表明,溶血磷脂酰胆碱不仅增加 HUVEC细胞 VEGF蛋白的表达,而且能促使 VEGF mRNA高表达,提示在动脉粥样硬化的发生发展过程中,VEGF表达的增加可能与溶血磷脂酰胆碱有密切关系。

近年来研究证明,溶血磷脂酰胆碱可以促进牛主动脉平滑肌细胞 (BAMC)增殖,而欧芹素乙可以抑制溶血磷脂酰胆碱产生的细胞增殖作用<sup>[16]</sup>。研究发现,在人单核细胞株 U937建立的泡沫细胞模型中,当加入氧化低密度脂蛋白作用时,细胞间黏附分子-1(ICAM-1)的表达水平显著增加,而欧芹素乙可以剂量依赖性地抑制 ICAM-1蛋白和 ICAM-1 mRNA的表达,提示欧芹素乙可以通过降低黏附分子的表达,从而对泡沫细胞的形成具有一定的抑制作用<sup>[17]</sup>。欧芹素乙还可以抑制小鼠腹腔巨噬细胞释放 TNF<sup>[18]</sup>。由于 TNF可引起血管内皮损伤,促进血管平滑肌细胞分化与增殖,激活凝血机制介导心血管系统病理性改变而造成某些心脑血管疾病,因此欧芹素乙有望在某些心脑血管系统疾病的防治中产生积极的作用。本研究发现,欧芹素乙对于溶血磷脂酰胆碱诱导的内皮细胞损伤,具有较强的保护作用,可显著提高细胞的存活率;对溶血磷脂酰胆碱引起的 VEGF蛋白及 VEGF mRNA表达的增加亦有明显的抑制作用,结合以往的研究结果,提示欧芹素乙可能通过抑制 VEGF的表达保护内皮细胞,维持正常的内皮功能,从而发挥动脉粥样硬化的保护作用。欧芹素乙在动脉粥样硬化的预防及治疗中具有潜在的药物开发前景。

#### 参考文献:

- [1] Stefanadis C, Toutouzas K, Stefanadi E, Lazaris A, *et al* Inhibition of plaque neovascularization and intimal hyperplasia by specific targeting vascular endothelial growth factor with bevacizumab-eluting stent: an experimental study[J]. *Atherosclerosis*, 2007, 195 (2): 269.
- [2] Ferrara N. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor[J]. *J Mol Med*, 1999, 77 (7): 527.
- [3] Matsumoto T, Mugishima H. Signal transduction via vascular endothelial growth factor (VEGF) receptors and their roles in atherogenesis[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2006, 13 (3): 130.
- [4] Ramos MA, Kuzuya M, Esaki T, *et al* Induction of macrophage VEGF in response to oxidized LDL and VEGF accumulation in human atherosclerotic lesions[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998, 18 (7): 1188.
- [5] Matsumoto T, Kobayashi T, Kamata K. Role of lysophosphatidylcholine (LPC) in atherosclerosis[J]. *Curr Med Chem*, 2007, 14 (30): 3209.
- [6] Kougiaris P, Chai H, Lin PH, *et al* Lysophosphatidylcholine and secretory phospholipase A2 in vascular disease: mediators of endothelial dysfunction and atherosclerosis[J]. *Med Sci Monit*, 2006, 12 (1): RA5.
- [7] Colles SM, Chisolm GM. Lysophosphatidylcholine-induced cellular injury in cultured fibroblasts involves oxidative events[J]. *J Lipid Res*, 2000, 41 (8): 1188.
- [8] 翁德新,李天傲. 蛇床子中 5种成分的 HPLC测定法[J]. *中国中药杂志*, 2007, 32 (18): 1883.
- [9] 江英桥. 蛇床子中香豆素类成分的 HPLC-ESI/MS分析[J]. *中药材*, 2006, 29 (10): 1033.
- [10] Li J, Zhang M, Rui YC. Tumor necrosis factor mediated release of platelet-derived growth factor from bovine cerebral microvascular endothelial cells[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 1997, 18 (2): 133.
- [11] 储智勇,龚纯贵,芮耀诚. 欧芹素乙拮抗 TNF促进牛脑微血管内皮细胞与单核细胞黏附作用[J]. *第二军医大学学报*, 1998, 15 (2): 156.
- [12] Deng TL, Yu L, Ge YK, *et al* Intracellular-free calcium dynamics and F-actin alteration in the formation of macrophage foam cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 338 (2): 748.
- [13] Tabata T, Mine S, Kawahara C, *et al* Monocyte chemoattractant protein-1 induces scavenger receptor expression and monocyte differentiation into foam cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 305 (2): 380.
- [14] Chouinard JA, Grenier G, Khalil A, *et al* Oxidized-LDL induce morphological changes and increase stiffness of endothelial cells[J]. *Exp Cell Res*, 2008, 314 (16): 307.
- [15] Takabe W, Kanai Y, Chainoungdua A, *et al* Lysophosphatidylcholine enhances cytokine production of endothelial cells via induction of L-type amino acid transporter 1 and cell surface antigen 4F2[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24 (9): 1640.
- [16] 王杰松,芮耀诚,倪震宇等. 丹酚酸 B及欧芹素乙对溶血磷脂酰胆碱刺激牛主动脉平滑肌细胞增殖的影响[J]. *中草药*, 2004, 35 (6): 662.
- [17] Yang PY, Rui YC, Li K, *et al* Expression of intercellular adhesion molecule-1 in U937 foam cells and inhibitory effect of imperatorin[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2002, 23 (4): 327.
- [18] 嵇扬,曾国钱,芮耀诚. 欧芹素乙和异欧芹素乙对小鼠腹腔巨噬细胞体外释放肿瘤坏死因子的抑制作用[J]. *第二军医大学学报*, 1994, 15 (6): 511.

收稿日期: 2008-08-28

欢迎登录《药学实践杂志》远程投稿、审稿系统

www. yxsjzz. cn