

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.17.015

肌动蛋白重构蛋白对瘢痕成纤维细胞增殖和分化的影响*

贾小丽¹,高 锋¹,官菊梅²

(1. 四川中医药高等专科学校附属医院皮肤科,四川绵阳 621000;2. 成都中医药大学基础医学院,成都 610075)

[摘要] **目的** 观察肌动蛋白重构蛋白(flightless I, Fli I)对人瘢痕成纤维细胞增殖和分化的影响,探讨瘢痕组织形成的部分机制。**方法** 将实验分为空白组、Lipo2000组、Fli I siRNA组、Fli I cDNA组,采用WST-1法检测细胞增殖,RT-PCR法、Western blot法分别检测Fli I、COL-1 mRNA及其蛋白的表达水平。**结果** 转染48 h后,各组成纤维细胞平均吸光度(A)值分别为:空白组 0.934 ± 0.153 ,Lipo2000组 0.910 ± 0.084 ,Fli I siRNA组 1.330 ± 0.216 ,Fli I cDNA组 0.607 ± 0.042 ,Fli I siRNA组细胞增殖水平明显高于其他3组($P < 0.05$);Fli I cDNA组细胞增殖水平明显低于其他3组($P < 0.05$);RT-PCR法检测Fli I、COL-1 mRNA的表达:与空白组比较,Fli I siRNA组扩增条带亮度减弱,Fli I cDNA组扩增条带亮度明显增强,Fli I siRNA组的Fli I与COL-1扩增产物条带相对灰度值较空白组分别降低至 0.194 ± 0.023 和 0.316 ± 0.176 ,均显著低于其他3组($P < 0.01$),而Fli I cDNA组的Fli I与COL-1扩增产物条带相对灰度值较空白组分别升高至 7.846 ± 1.075 和 9.842 ± 1.659 ,均显著高于其他3组($P < 0.01$);与空白组及Lipo2000组比较,Fli I siRNA组的成纤维细胞中Fli I、COL-1蛋白表达显著减弱($P < 0.05$, $P < 0.01$),Fli I cDNA组细胞中Fli I、COL-1蛋白表达显著增强($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** Fli I缺失能增强瘢痕成纤维细胞的增殖,并能在转录和翻译水平下调Fli I与COL-1的表达,可能是瘢痕增生的机制之一。

[关键词] 瘢痕;成纤维细胞;肌动蛋白重构蛋白;胶原I型**[中图分类号]** R816.95**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)17-2347-04

Study of the effect of actin remodeling protein on proliferation and differentiation of fibroblast car hypertrophic scar*

Jia Xiaoli¹,Gao Feng¹,Guan Jumei²

(1. Department of Dermatological, the Affiliated Hospital of Sichuan College of Traditional Chinese Medicine, Mianyang, Sichuan 621000, China; 2. College of Basic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan 610075, China)

[Abstract] **Objective** To study the role of Fli I on the proliferation and differentiation of human fibroblast hypertrophic scar and part of the mechanism of the scar formation. **Methods** All cases were divided into 4 groups, control group, Lipo2000 group, Fli I siRNA group, Fli I cDNA group. Cell proliferation was performed by WST-1, and Fli I mRNA expression, COL-1 mRNA and its protein level were detected by assay to detect by RT-PCR and Western blot. **Results** After 48 h of transfection, the average value of absorbance in different groups were as follows: the control group was 0.934 ± 0.153 , Lipo2000 control group was 0.910 ± 0.084 , Fli I siRNA group was 1.330 ± 0.216 , Fli I cDNA group was 0.607 ± 0.042 , the level of cell proliferation in Fli I siRNA group was significantly higher than those in the other 3 groups ($P < 0.05$), while the Fli I cDNA group was significantly lower than those in the other 3 groups ($P < 0.05$); Fli I mRNA, COL-1 mRNA expression by RT-PCR assay. Compared with the control group, Fli I siRNA group amplified bands brightness decreases, Fli I cDNA amplification bands set the brightness significantly enhanced, Fli I and COL-1 amplification products relative gray bands value of Fli I siRNA group was significantly lower than those in the other 3 groups ($P < 0.05$), while Fli I and COL-1 amplification products relative gray bands value of Fli I cDNA group (7.846 ± 1.075 and 9.842 ± 0.659) was significantly higher than those in the other 3 groups ($P < 0.05$); Fli I and COL-1 protein levels by Western blot. Compared with the control group and Lipo2000 group, the expression of Fli I and COL-1 protein in Fli I siRNA group significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), while Fli I cDNA group significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** Fli I deficiency could enhance the proliferation of fibroblasts, and could low down the Fli I and COL-1 gene expression at transcriptional and translational level, this may be one of mechanism of scar formation.

[Key words] cicatrix; fibroblasts; flightless I; Collagen typy I

瘢痕是创伤修复的必然结果,组织的异常修复可形成病理性瘢痕,不但影响美容,且常有瘙痒、刺痛等症状^[1],但其发病机制至今仍是医学需突破的难题。有研究显示,病理性瘢痕与成纤维细胞密不可分,细胞外基质的过度沉积与真皮成纤维细胞的异常增殖被认为是病理性瘢痕的两大特点^[2];肌动蛋白重

构蛋白(flightless I, Fli I)是创伤愈合一个重要调节因子,可以抑制细胞的增殖和移动^[3],尤其对成纤维细胞和角质形成细胞的作用明显。因此,本实验选择成纤维细胞为研究对象,采用小分子RNA片段干扰和Fli I表达质粒转染技术研究Fli I对瘢痕成纤维细胞增殖和分化的影响。

1 材料与方 法

1.1 一般资料 2012 年 1 月至 2014 年 1 月于四川中医药高等专科学校附属医院行手术切除的 12 例住院患者的增生性瘢痕组织,年龄 18~46 岁,男女不限。患者发病时间均大于半年,突出于皮肤并发红,质硬,高出正常皮面 1 cm 左右,病变部超过原损伤创面,局部皮肤无感染和溃疡;皮肤损伤局部感染、皮肤肿瘤、高血压、糖尿病等基础性疾病则排除取材^[4]。取材部位无破损、感染,取材前未行特殊治疗,患者均知情同意并签署了知情同意书^[5]。

1.2 试剂 DMEM 培养基(美国 Gibco 公司)、类标准胎牛血清(兰州民海);0.5% I 型胶原酶(Biosharp 公司);EDTA 螯合剂(杭州吉诺生物医药有限公司);WST-1(美国 Sigma 公司);Lipofectamine 2000(美国卡尔斯巴德英杰公司);Fli I siRNA(靶序列为 5'-GCU GGA ACA CUU GUC UGU GTT-3',广州复能基因公司);COL-1 引物(上游序列 5'-CCA GTG TCC ATG TCG CAG A-3',下游序列 5'-TGA GCC AGC AGA TTG AGA AC-3');兔多克隆抗胶原(Gilbertsville, PA);鼠单克隆抗 Fli I 抗体(CA, USA);ECL Plus Western blot 检测系统(GE Healthcare 公司,美国);SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II 试剂盒;Opti-MEM I 减血清培养基、TRIzol 试剂(Invitrogen 公司,美国)。

1.3 仪器 CP124S 电子分析天平(Sartorius);二氧化碳细胞培养箱(日本 Sanyo 公司);酶标定量测定仪(Thermo Multiskan AsCant 公司);超净工作台(苏州安泰公司);超声破碎仪 Uibra-cel(SONICS);Image Pro-Plus program(Media Cybernetics Inc, Maryland, USA);PCR 凝胶成像系统(美国 Transillumination 公司);灰度分析软件(美国公立卫生研究院);Gene Amp PCR System 9700 基因扩增仪(Applied Biosystems 公司)。

1.4 人瘢痕成纤维细胞的分离与培养 将标本在无菌培养皿内 PBS 冲洗 2~3 次,剥离表皮及皮下脂肪组织,保留中间瘢痕组织,在含少量 DMEM 培养基的玻璃瓶中将瘢痕剪成 1 mm² 碎块,加入 10 mL 的 0.5% I 型胶原酶消化,置于 37 °C 孵箱消化 3~4 h,分离表皮和真皮,以 PBS 冲洗 2~3 次, I 型胶原酶再次消化 1 h,期间每隔 20 min 吹打 1 次,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清,加入含 200 U/mL 双抗的完全 DMEM 培养基,吹打使细胞悬浮,再次 1 000 r/min 离心 5 min,加入完全培养基使细胞重悬,使用吸管反复轻轻吹打 2 min 后,经 200 目筛网过滤除去大块组织,将细胞接种于培养瓶中,37 °C、5% CO₂ 培养箱中孵育,24 h 后换液,弃去未贴壁细胞,加入完全培养基继续培养,细胞覆盖至瓶底 80%即可传代,选取 4~6 代细胞进行实验。

1.5 Fli I siRNA 的转染 将细胞密度调整为 1×10⁵,接种

于 6 孔板中,细胞铺板 36 h 后用于转染,在室温下 Fli I siRNA(250 μL;优化,以最终浓度为 100 nmol/L)与 250 μL Lipolectamine 2000 在低血清培养基(Invitrogen 公司)中温育 20 min,每孔加入 4 μL Lipofectamine 2000 复合物,混合,孵育 6 h 后换液,以含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基继续孵育。

1.5.1 WST-1 法检测细胞增殖 将实验分为空白组、Lipo2000 组、Fli I siRNA 组、Fli I cDNA 组,取对数期的细胞以 1×10⁵/孔接种于 96 孔板中,置入 37 °C 培养箱中孵育。24 h 后按上述实验分组进行处理,每组设 6 个复孔,细胞接种后,分别检测在 0、12、24、48 h 细胞增殖情况,37 °C 培养箱孵育 4 h 后用酶标仪测定吸光度(A)值,测量波长 450 nm,记录结果。

1.5.2 RT-PCR 检测 Fli I、COL-1 mRNA 的表达 以 TRIzol 法提取成纤维细胞总 RNA,使用 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II 试剂盒进行实时荧光定量 PCR 反应,以 mRNA 为模板,Random 为引物,1 μg RNA 逆转录酶合成 cDNA,cDNA 连同特异性引物的最终浓度为 1×SYBR Green,1×Amplitaq PCR buffer,3 mmol/L MgCl₂,dNTPs (200 μmol/L),引物 0.9 μmol(上游和下游),25 μL H₂O 中 Ampli Taq Gold DNA 聚合酶 1.25 单位,内参 NADPH 的反应体系和条件同上。分别计算 Fli I、COL-1 与内参基因拷贝数的比值来反映目的基因的表达强度。

1.5.3 Western blot 法检测 Fli I、COL-1 蛋白的表达 将收集的细胞加入 50 mmol/L 裂解液(Tris pH=7.5,1 mmol/L EDTA 中,50 mmol/L NaCl,0.5% Triton-X-100),持续振荡 30 min,离心,将上清转入 4 °C 的离心管,十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)上样 50 μL,电泳后转移至硝酸纤维素滤膜,脱脂,根据分子量分开后分别加一抗(Fli I、COL-1 稀释比例)及内参抗体(β-actin,1:3 000)室温孵育 2 h,HRP 标记二抗孵育 1 h 后,ECL 发光液发光后 X 光片曝光,各步骤之间样品清洗 3 次,扫描记录结果,Gel-analyze 分析软件分析条带灰度,进行半量比较分析,以目的基因的条带灰度与内参 β-actin 的灰度比值表示蛋白的表达水平。

1.6 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件对数据进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用单因素方差分析,对于不是正态分布的数据,采用 Mann-Whitney U 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 WST-1 法检测细胞增殖 转染后 48 h,各组成纤维细胞平均 A 值分别为:空白组 0.934±0.153,Lipo2000 组 0.910±0.084,Fli I siRNA 组 1.330±0.216,Fli I cDNA 组 0.607±0.042,Fli I siRNA 组细胞增殖水平明显高于其他 3 组($P < 0.05$);Fli I cDNA 组细胞增殖水平明显低于其他 3 组($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 WST-1 法检测瘢痕成纤维细胞活力($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	0 h	12 h	24 h	48 h
空白组	0.512±0.104	0.609±0.063	0.699±0.141	0.934±0.153
Lipo2000 组	0.534±0.085	0.589±0.074	0.687±0.089	0.910±0.084
Fli I siRNA 组	0.493±0.023	0.542±0.038	0.716±0.057 ^{ab}	1.330±0.216 ^{ab}
Fli I cDNA 组	0.479±0.087	0.583±0.114	0.546±0.063	0.607±0.042 ^{ab}

^a: $P < 0.05$,与空白组比较;^b: $P < 0.05$,与 Lipo2000 组比较。

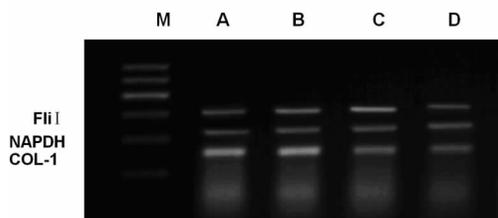
2.2 转染后瘢痕成纤维细胞 Fli I、COL-1 mRNA 的表达

RT-PCR 检测结果显示, 各组内参 GAPDH mRNA 扩增条带亮度强弱差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。以与 GAPDH 同比例的模板量加入, 各组 Fli I mRNA 与 COL-1 mRNA 的扩增条带亮度具有明显差异, 与空白组比较, FLi I siRNA 组 Fli I mRNA、COL-1 mRNA 表达显著减弱, FLi I cDNA 组 Fli I mRNA、COL-1 mRNA 表达明显增强。用 Image J 软件进行灰度分析, 以空白组的亮度为基础标准。结果显示, Fli I siRNA 组的 Fli I 与 COL-1 扩增产物条带相对灰度值分别降低至 0.194 ± 0.023 和 0.316 ± 0.176 , 且均低于其他 3 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 而 FLi I cDNA 组的 Fli I 与 COL-1 扩增产物条带相对灰度值分别升高至 7.846 ± 1.075 和 9.842 ± 1.659 , 均高于其他 3 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 2, 图 1。

表 2 RT-PCR 检测瘢痕成纤维细胞 Fli I mRNA、COL-1 mRNA 的相对表达情况 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Fli I	COL-1
空白组	2.931 ± 0.514	4.872 ± 0.937
转染 Lipo2000 组	2.524 ± 0.742	4.167 ± 1.130
FLi I siRNA 组	0.194 ± 0.023^{ab}	0.316 ± 0.176^{ab}
FLi I cDNA 组	7.846 ± 1.075^{ab}	9.842 ± 1.659^{ab}

a: $P < 0.01$, 与空白组比较; b: $P < 0.01$, 与 Lipo2000 组比较。



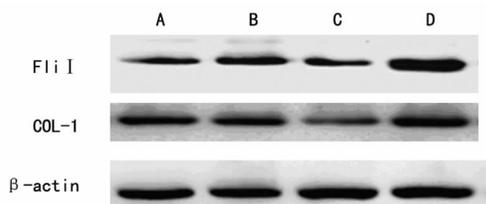
M: DNA 分子标记物; A: 空白组; B: Lipo2000 组; C: FLi I siRNA 组; D: FLi I cDNA 组。

图 1 Fli I mRNA、COL-1 mRNA 的表达

表 3 Western blot 法检测瘢痕成纤维细胞 Fli I、COL-1 蛋白的相对表达情况 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Fli I	COL-1
空白组	0.731 ± 0.043	0.675 ± 0.255
转染 Lipo2000 组	0.694 ± 0.093	0.590 ± 0.124
FLi I siRNA 组	0.153 ± 0.075^{bd}	0.216 ± 0.030^{bd}
FLi I cDNA 组	1.341 ± 0.248^{ac}	1.142 ± 0.391^{ac}

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与空白组比较; c: $P < 0.05$, d: $P < 0.01$, 与 Lipo2000 组比较。



A: 空白组; B: Lipo2000 组; C: FLi I siRNA 组; D: FLi I cDNA 组。

图 2 Fli I、COL-1 蛋白的表达

2.3 转染后瘢痕成纤维细胞 Fli I、COL-1 蛋白的表达

Western blot 检测结果显示, 与空白组及 Lipo2000 组比较, FLi I siRNA 组的成纤维细胞中 Fli I、COL-1 蛋白表达显著减弱 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), FLi I cDNA 组细胞中 Fli I、COL-1 蛋白表达显著增强 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 3, 图 2。

3 讨论

损伤修复是高度动态的过程, 需要细胞因子和蛋白质之间复杂的相互作用, 肌动蛋白细胞骨架的参与是这一过程至关重要的部分。瘢痕是创伤愈合领域的常见病、多发病^[3], 因其破坏正常皮肤的完整性, 影响美观, 并伴瘙痒、疼痛等不适及继发挛缩导致表皮器官和关节畸形改变, 影响功能和生活质量, 给患者及家属带来严重的心理负担^[6]。因此, 探索瘢痕的发病机制及治疗方法具有重要的意义。瘢痕是全层缺损的创面修复过程中成纤维细胞、细胞外基质及细胞因子等相互调节失衡的结果, 其主要表现为成纤维大量增殖, 细胞外基质过度沉积及细胞因子分泌失常, 胶原超常合成沉积与降解减少^[7]。研究表明, Fli I 是创伤修复的重要介质, 能抑制成纤维细胞的增殖和活力, 在 Fli I 基因低表达的杂交小鼠中损伤修复增强, 而 Fli I 基因高表达的小鼠损伤修复显著降低^[8]。Fli I 首次被定义为果蝇不规则的肌动蛋白组织和有缺陷的飞行肌的基因突变造成的^[9], 与人类同源的 Fli I 基因有直接关系^[10], 此蛋白能大大影响创伤愈合过程中细胞的增殖。研究发现, Fli I 在小鼠体内和体外的成纤维细胞中均有发现, 并且在体外能连接断裂的纤丝状肌动蛋白, 因此 Fli I 对组织修复的细胞机制具有重要的生物学意义^[11]。课题组前期研究表明, 创面愈合 Fli I 主要表达于皮肤真皮成纤维细胞核中, 随着创面逐渐愈合其表达开始减弱。I 型胶原蛋白是一种重要的基质蛋白, 是瘢痕组织中胶原纤维的主要成分, 是损伤产生的主要形式, 参与组织纤维化和瘢痕的形成, 其表达对创伤后瘢痕的形成具有重要的影响^[12], 且 Fli I 对 COL-1 的调控可能具有重要的意义^[13]。

正常情况下, 伤口内的胶原合成与分解呈动态平衡, 在某些情况下, 这种平衡被打破, 导致成纤维、肌纤维母细胞合成胶原增多, 而胶原纤维分解减少, 胶原合成速度远大于胶原分解, 最终导致了胶原沉积, 从而形成瘢痕组织^[14]。研究证实, Fli I 涉及细胞的增殖和迁移, 并且过程中可能通过其肌动蛋白切断功能产生负调节。本研究将小分子 RNA 片段和 Fli I 过表达质粒转染到培养的瘢痕成纤维细胞中, 转染后 48 h, 通过 WST-1 法检测发现瘢痕成纤维细胞 Fli I 沉默后, 其增殖水平明显高于其他 3 组 ($P < 0.05$); 而 Fli I cDNA 组成纤维细胞增殖水平显著降低 ($P < 0.05$), 说明 Fli I 缺陷能显著刺激创伤愈合过程中瘢痕成纤维细胞的增殖和活力, 而 Fli I 高表达则能抑制细胞增殖, 推测 Fli I 的水平在瘢痕的形成过程中具有重要作用。Fli I 在瘢痕中的表达水平低于正常组织中的表达, 成纤维细胞的主要生物学功能是合成和分泌胶原, 皮肤的细胞外基质主要是 I 型和 III 型前胶原, 在组织结构支撑中发挥重要作用, 其中 I 型前胶原抗张性强, 是创面早期瘢痕愈合的主要胶原类物质, 其组织含量高可导致皮肤瘢痕僵硬^[4]。本研究利用半定量 RT-PCR 检测病理性瘢痕组织中 Fli I mRNA 和 COL-1 mRNA 的表达情况, 发现 FLi I siRNA 组 Fli I mRNA、COL-1 mRNA 表达较其他 3 组显著减弱, FLi I cDNA 组 Fli I mRNA、COL-1 mRNA 表达较其他 3 组增强, Fli

I 缺失直接导致 Fli I、COL-1 mRNA 及蛋白表达水平下降,说明 Fli I 的高表达能促进 COL-1 mRNA 及蛋白的表达, COL-1 酶的合成增加使细胞外基质-胶原的分泌减少,从而抑制病理性瘢痕组织的形成。提示转染的 1 型胶原基因核酶可抑制成纤维细胞合成胶原酶,导致瘢痕中胶原含量增加,产生病理性瘢痕组织。

病理性瘢痕组织中 Fli I 表达极低,低浓度的 Fli I 刺激成纤维细胞增殖,使成纤维细胞数量增加,胶原酶合成减少导致胶原等细胞外基质的分泌增加,细胞外基质沉积也增多,可能是病理性瘢痕形成的机制之一。因此,采用基因逆转录的方法得到 Fli I cDNA 基因并与质粒或病毒等基因载体整合,转移至瘢痕成纤维细胞中,经过筛选、培养,得到 Fli I cDNA 的克隆株,采用基因治疗为临床治愈瘢痕提供参考。

参考文献

- [1] 陈振雨,魏爱华,张维娜,等. 病理性瘢痕组织 iNOS 和 5-HT 表达及与其增生和痛痒的关系[J]. 青岛大学医学院学报,2006,42(3):231-234
- [2] 张曦. 角质形成细胞源性蛋白因子在增生性瘢痕形成中的作用研究[D]. 西安:第四军医大学,2008.
- [3] Kopecki Z, Cowin AJ. Flightless I: an actin-remodelling protein and an important negative regulator of wound repair[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008, 40(8):1415-1419.
- [4] 刘宝珩. mac 调节增生性瘢痕成纤维细胞的凋亡[D]. 西安:第三军医大学,2013.
- [5] 林伟华,李叶扬,米兰,等. 整合素连接激酶对瘢痕成纤维细胞增殖和分化的影响[J]. 中华整形外科杂志,2014,30(1):45-49.
- [6] 周孝亮. 粉防己碱对兔耳瘢痕增生组织 I、III 型胶原及转化生长因子- β 1 基因表达的调控作用[D]. 南昌:南昌大学,2012.
- [7] 姜笃银,付小兵,盛志勇. 瘢痕组织愈合中成纤维细胞凋亡抗性及其临床意义[J]. 中华外科杂志,2006,56(7):496-498.
- [8] Adams DH. Gender specific effects on the actin-remodelling protein Flightless I and TGF-1 contribute to impaired wound healing in aged skin[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008, 40(8):1555-1569.
- [9] Campbell HD, Schimansky T, Claudianos C, et al. (1993). The *Drosophilamelanogaster* flightless-I gene involved in gastrulation and muscledeneration encodes gelsolin-like and leucine-rich repeat domains and is conserved in *Caenorhabditis elegans* and humans[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(23):11386-11390.
- [10] Campbell HD, Fountain S, Young IG, et al. Genomic structure, evolution, and expression of human FLI1, a gelsolin and leucine-rich repeat family member; overlap with LLGL[J]. *Genomics*, 1997, 42(1):46-54.
- [11] Davy DA, Ball EE, Matthaei KI, et al. The flightless I protein localizes to actin-based structures during embryonic development[J]. *Immunol Cell Biol*, 2000, 78(4):423-429.
- [12] Gowin AJ, Adams DH, Strudwick XL, et al. Flightless I deficiency enhances wound repair by increasing cell migration and proliferation[J]. *J Pathol*, 2007, 211(5):572-581.
- [13] Adams DH, Strudwick XL, Kopecki Z, et al. Gender specific effects on the actin-remodelling protein Flightless I and TGF-beta1 contribute to impaired wound healing in aged skin[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008, 40(8):1555-1569.
- [14] 闫贵春,裴银辉. 瘢痕发生机制研究进展[J]. 中国美容医学,2010,19(8):1251-1255.

(收稿日期:2014-10-25 修回日期:2015-03-28)

(上接第 2346 页)

Acta Diabetol, 2012, 49(Suppl 1):S171-177.

- [8] Jefferis BH, Papacosta O. Interleukin 18 and coronary heart disease: Prospective study and systematic review [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 217(1):227-233.
- [9] Biscetti F, Ghirlanda G, Flex A. Therapeutic potential of high mobility group box-1 in ischemic injury and tissue regeneration[J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2011, 9(6):677-681.
- [10] 拾晴,石彦彦,叶新春,等. 脑梗死合并 2 型糖尿病与血清高迁移率族蛋白 B1 关系的研究[J]. 实用医技杂志, 2014, 21(5):550-551.
- [11] Mccarty OJ, Conley RB, Shentu WA, et al. Molecular imaging of activated von willebrand factor to detect High-Risk atherosclerotic phenotype[J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2010, 3(9):947-955.
- [12] 李千会,王彦富,李清贤. 2 型糖尿病并冠心病患者 vWF 水平变化及其与冠脉病变程度、临床相关因素的关系 [J]. 山东医药, 2014, 54(3):60-63.
- [13] 杨静,王敏哲. 血糖波动对心血管内皮影响的新进展[J]. 医学综述, 2011, 17(22):3446-3449.

(收稿日期:2014-10-08 修回日期:2014-12-16)