

维生素 D3 通过 VDR-p38 途径抑制内皮细胞 VCAM-1 表达的研究^{*}

索 荣¹, 刘 行², 赵 辉^{1△}

(1. 天津医院心内科 300211; 2. 天津医科大学第二医院心脏科/天津心脏病学研究所 300211)

[摘要] **目的** 细胞水平探究维生素 D(VD)对血管内皮细胞的保护作用。**方法** 采用肿瘤坏死因子 α (TNF- α)诱导内皮损伤和黏附分子表达;维生素 D 采用最具活性形式的骨化三醇;利用流式细胞术检测血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)表达水平;荧光显微镜观察绿色荧光加载的 THP-1 单核细胞与内皮细胞的黏附作用;Western blot 检测 VD 受体(VDR)、p38、磷酸化 p38 蛋白水平。**结果** 与对照组比较,TNF- α 组内皮细胞 VCAM-1 表达增高($P<0.05$)、内皮细胞与单核细胞黏附作用增加($P<0.05$)。当内皮细胞预孵育 10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} mol/L 骨化三醇后,TNF- α 诱导的内皮细胞 VCAM-1 的表达降低,与单核细胞之间的黏附作用减弱($P<0.05$)。特异性 siRNA 敲低 VDR 蛋白水平后,骨化三醇对内皮细胞 VCAM-1 表达的抑制作用减弱,内皮细胞与单核细胞的黏附作用减弱($P<0.05$)。TNF- α 促进内皮细胞 p38 蛋白磷酸化、而骨化三醇抑制 TNF- α 诱导的内皮细胞 p38 蛋白磷酸化($P<0.05$)。特异性 siRNA 敲低 VDR 蛋白水平后,骨化三醇对 TNF- α 诱导的内皮细胞 p38 蛋白磷酸化及 VCAM-1 的表达和单核细胞黏附抑制作用均降低($P<0.05$)。**结论** 维生素 D3 通过 VDR-p38 信号途径抑制 TNF- α 诱导的血管内皮细胞 VCAM-1 蛋白表达,以及抑制内皮细胞与单核细胞黏附作用。

[关键词] 维生素 D;骨化三醇;动脉粥样硬化;内皮细胞;血管细胞黏附分子-1

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2020)24-4045-05

Study on vitamin D3 inhibiting expression of VCAM-1 in endothelial cells through VDR-p38 pathway^{*}

SUO Rong¹, LIU Xing², ZHAO Hui^{1△}

(1. Department of Cardiology, Tianjin Hospital, Tianjin 300211, China;

2. Department of Cardiology, Tianjin Hospital, Tianjin Medical University/Tianjin Institute of Cardiology, Tianjin 300211, China)

[Abstract] **Objective** To study the protective effect of vitamin D (VD) on vascular endothelial cells in cellular level. **Methods** The tumor necrosis factor- α (TNF- α) was used to induce the endothelial injury and the expression of adhesion molecules. Vitamin D adopted the most active form of calcitriol. The flow cytometry was used to detect the expression level of VCAM-1; the fluorescence microscopy was used to observe the adhesion effect of THP-1 monocytes loaded with green fluorescence and endothelial cells; the Western blot was used to detect the levels of vitamin D receptor (VDR), p38, phosphorylated p38 protein. **Results** Compared with the control group, the endothelial cellular VCAM-1 expression level in the TNF- α group was increased ($P<0.05$) and the adhesive effect of endothelial cells to monocytes was increased ($P<0.05$). When endothelial cells preincubating 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} mol/L calcitriol, the expression level of endothelial cellular VCAM-1 induced by TNF- α was decreased, and its adhesive effect to monocytes was weakened ($P<0.05$). After specific siRNA knocking down the VDR protein level, the inhibiting effect of calcitriol on endothelial cellular VCAM-1 expression was weakened and the adhesive effect of endothelial cells to monocytes was weakened ($P<0.05$). TNF- α promoted the phosphorylation of p38 protein in endothelial cells, while calcitriol inhibited the phosphorylation of endothelial cellular p38 protein induced by TNF- α ($P<0.05$). After specific

^{*} 基金项目:天津市教委科研计划项目(2017KJ205)。 作者简介:索荣(1985—),医师,研究生,主要从事心血管疾病发病机制的研究。

[△] 通信作者, E-mail: suorong188@126.com。

siRNA knocking down VDR protein level, the effect of calcitriol on p38 protein phosphorylation induced by TNF- α and VCAM-1 expression as well as monocytes adhesive inhibiting effect were decreased ($P < 0.05$).

Conclusion Calcitriol inhibits TNF- α induced endothelial cellular VCAM-1 protein expression and inhibits the adhesive effect of endothelial cells to monocytes through VDR-p38 signaling pathway.

[Key words] vitamin D; calcitriol; atherosclerosis; endothelial cells; VCAM-1

内皮细胞功能损伤是动脉硬化性心血管疾病(ASCVD)发生、发展的重要环节^[1]。由于机械力或者慢性炎症造成的内皮细胞功能障碍,导致了大量免疫细胞浸润和脂质沉积^[2]。受损的内皮细胞通过增加黏附分子的表达^[3],一氧化氮合成紊乱^[4],通透性增加^[5]等诸多因素促进 ASCVD 的发生、发展。因此,通过外源性的药物改善内皮功能障碍是预防 ASCVD 发生的重要靶点。大量研究表明,维生素 D (VD) 的缺乏会增加心血管疾病发病风险^[6-7]。较低水平的 25-羟基维生素 D [25-(OH)D] 与急性心肌梗死^[8]、高血压^[9]、心肌肥厚^[10]及心律失常^[11]等疾病均具有负相关性。机制方面,VD 可以调节肾素与血管紧张素的分泌从而达到调节血压的目的。VD 还具有抑制炎症的作用,抑制巨噬细胞向促炎表型分化等。VD 受体(VDR)敲除小鼠与野生型小鼠相比,血液炎症因子水平显著增高,并且单核细胞表面黏附分子表达增加^[12]。VD 在心血管疾病中具有诸多调节作用。但 VD 缺乏导致的内皮细胞功能障碍鲜有文献报道。本研究假设 VD 缺乏容易造成血管内皮细胞功能障碍,以至于促进 ASCVD 发病来展开研究,采用 VD 的活性形式骨化三醇来探讨其对血管内皮细胞的保护作用。

1 材料与方法

1.1 材料来源

人脐静脉内皮细胞(HUVECs)、人单核细胞系(THP-1)由天津心脏病学研究所惠赠。

1.2 方法

1.2.1 试剂

高糖改良的 Eagle 基础细胞培养基(DMEM), 1640 培养基购自 Gibco 公司(美国),胎牛血清(FBS)购自 BI 公司(以色列);PE 标记的抗人血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)抗体购自 Biolegend 公司(美国);兔多抗 VDR、兔多抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体购自 Proteintech 公司(中国);鼠单抗 p38 抗体、鼠单抗磷酸化 p38 抗体购自 Abcam 公司(英国);钙黄绿素购自苏州宇恒公司(中国);人重组肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 购自金斯瑞公司(中国);骨化三醇购自 Med Chem Express 公司(美国)。

1.2.2 细胞培养

HUVECs 培养基为含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM,置于 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 的细胞培养箱。THP-1 培养基为含 10% 胎牛血清的 1640,置于 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 的细胞培养箱。

1.2.3 细胞计数试剂(CCK-8)检测内皮细胞活性

HUVECs 处理不同水平骨化三醇(10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} mol/L)共孵育 4 h,通过 CCK-8 检测骨化三醇对 HUVECs 活性的影响。在 96 孔板中接种细胞悬液(每孔 100 μL)。向每孔加入 10 μL CCK-8 溶液。将培养板在培养箱内孵育 1 h。酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度。

1.2.4 流式细胞仪检测 VCAM-1 蛋白水平

0.25% 胰酶消化 HUVECs,取 10^5 个细胞加入 50 μL 染色缓冲液,加入 3 μL PE 标记的抗人 VCAM-1 抗体,室温孵育 20 min。上机检测,读取几何荧光强度。

1.2.5 细胞黏附实验

24 孔板种 HUVECs,细胞铺满孔板后,进行预处理 0、 10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} mol/L 的骨化三醇 1 h 后,加入 50 ng/mL 的 TNF- α 处理 HUVECs,4 h 后去除培养基,磷酸盐缓冲液(PBS)清洗细胞 2 次,加入新鲜 DMEM 培养基。THP-1 孵育 50 nmol/L 钙黄绿素,37 $^{\circ}\text{C}$, 30 min。离心去除染料。每孔加入 10^4 个 THP-1 细胞与 HUVECs 共孵育 1 h。PBS 清洗 3 次,去除未黏附的 THP-1 细胞,显微镜下观察绿色荧光。取 10 个视野进行拍照,计算绿色荧光平均个数。

Western blot 检测 VDR、p38、磷酸化 p38 蛋白表达,裂解不同处理的内皮细胞,蛋白质定量(BCA)法测定总蛋白质水平,等量上样做 SDS-PAGE 电泳,将凝胶中的蛋白质转至 PVDF 膜,5% 脱脂牛奶封闭,分别与稀释 GAPDH 抗体(1 : 10 000)、VDR 抗体(1 : 2 000)、p38 抗体(1 : 1 000)、磷酸化 p38 抗体(1 : 1 000)4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, TBST 洗膜,相应二抗室温孵育 45 min, TBST 洗膜, ECL 化学发光并在成像系统中曝光。

1.3 统计学处理

采用 SPSS17.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

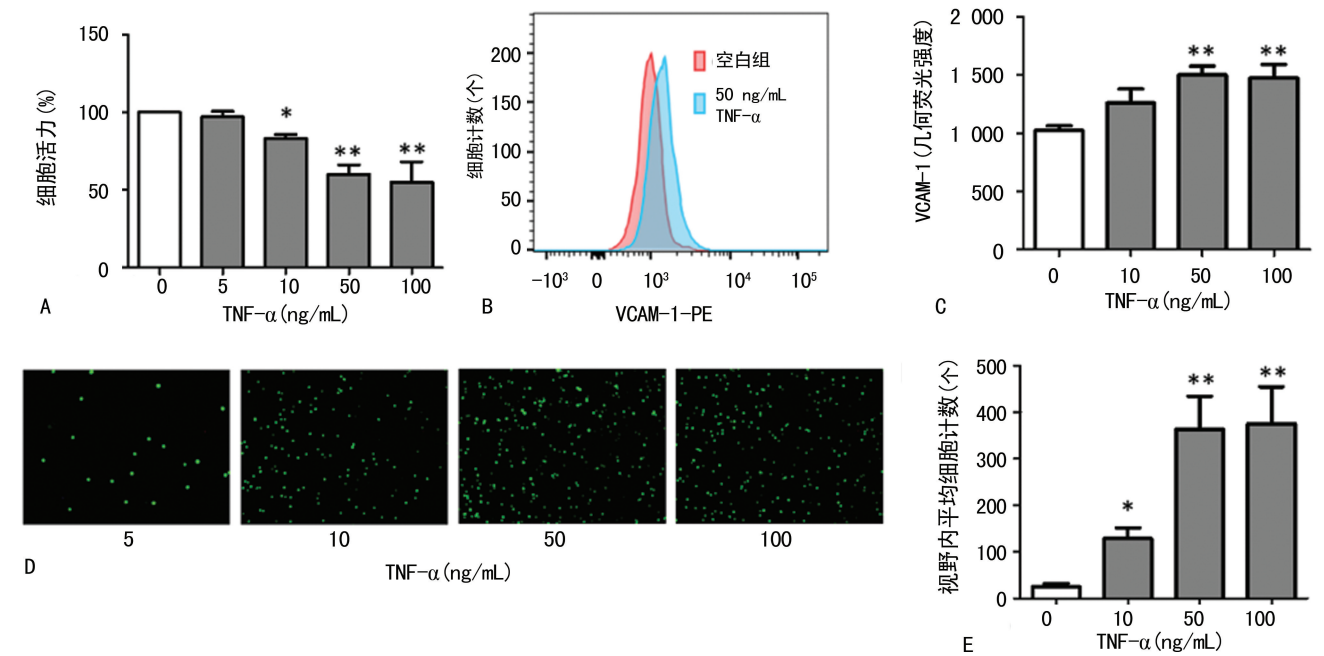
2 结果

2.1 TNF- α 诱导内皮细胞损伤,促进黏附分子表达

不同水平(5、10、50、100 ng/mL) TNF- α 处理 HUVECs 4 h 后,通过 CCK-8 试剂盒检测细胞活性。由图 1A 可知,10、50、100 ng/mL 的 TNF- α 对 HUVECs 活性具有明显抑制作用。50 ng/mL 与 100

ng/mL 的 TNF- α 处理 HUVECs 后活性下降至 60%。故后续实验选取 50 ng/mL 的 TNF- α 进行实验。图 1B 和图 1C 表明,50 ng/mL TNF- α 促进 HU-

VECs 表达 VCAM-1。图 1D 和图 1E 表明,50 ng/mL 的 TNF- α 促进 HUVECs 与单核细胞之间的黏附。



A:不同水平 TNF- α 刺激内皮细胞 4 h 后,CCK-8 检测细胞活性;B:流式直方图显示内皮细胞 VCAM-1 水平;C:不同水平 TNF- α 刺激内皮细胞 4 h 后,流式细胞术检测内皮细胞 VCAM-1 水平;D、E:荧光显微镜分析内皮细胞与单个细胞(绿色荧光)黏附作用;* : $P<0.05$,与 0 ng/mL TNF- α 比较;** : $P<0.01$,与 0 ng/mL TNF- α 比较。

图 1 TNF- α 诱导内皮损伤和黏附分子的表达

2.2 骨化三醇对内皮细胞的保护作用

由图 2A 可知,不同水平的骨化三醇对细胞存活率无明显影响。 10^{-4} mol/L 和 10^{-5} mol/L 的骨化三醇对内皮细胞活性有抑制作用(图 2A)。因此,在后续实验中采用低于 10^{-5} mol/L 的骨化三醇进行实验。为了分析骨化三醇对内皮细胞的保护作用,采用 50 ng/mL 的 TNF- α 诱导的内皮细胞损伤模型。内皮细胞预孵育不同水平的骨化三醇后,加入 50 ng/mL 的 TNF- α 处理 4 h,CCK-8 检测 HUVECs 活性。结果显示, 10^{-8} mol/L 的骨化三醇可有效抑制 TNF- α 诱导的内皮细胞活性降低(图 2B)。

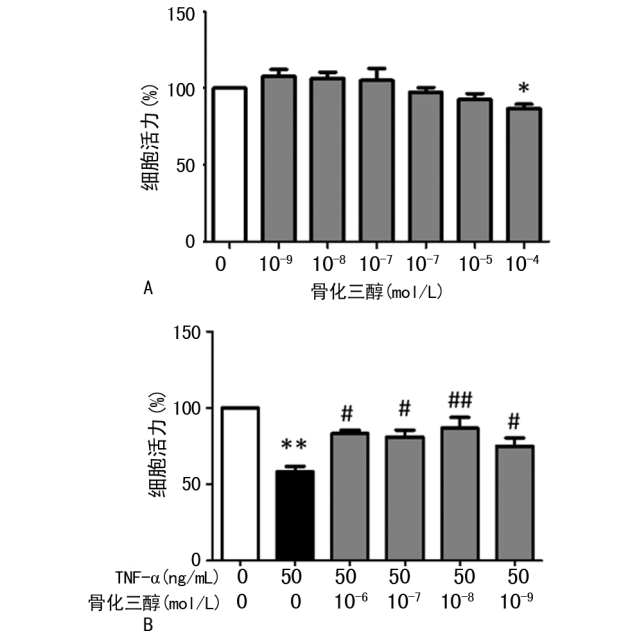
2.3 骨化三醇抑制 TNF- α 诱导的内皮细胞黏附作用

如图 3A 所示, 10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} mol/L 的骨化三醇均对 TNF- α 诱导的 VCAM-1 表达有抑制作用, 10^{-8} mol/L 的骨化三醇抑制作用更为显著。见图 3B。

2.4 骨化三醇通过 VDR-p38 途径抑制 TNF- α 诱导的内皮细胞黏附作用

VDR 作为骨化三醇的受体,可能参与骨化三醇对内皮细胞的保护作用。合成 VDR 特异性小干扰 RNA(siRNA-VDR)及乱序对照(siRNA-con),分别转染 HUVECs,结果显示(图 4A)siRNA-VDR 组相

对于 siRNA-con 组 VDR 蛋白水平显著降低。



A:不同水平骨化三醇孵育内皮细胞 4 h 后,CCK-8 检测细胞活性;B:预孵育不同水平骨化三醇,再用 TNF- α 刺激内皮细胞 4 h 后,CCK-8 检测细胞活性;* : $P<0.05$,与 0 ng/mL TNF- α 比较;** : $P<0.01$,与 0 ng/mL TNF- α 比较;# : $P<0.05$,与 TNF- α 组比较;## : $P<0.01$,与 TNF- α 组比较。

图 2 骨化三醇对内皮细胞的保护作用

敲低内皮细胞 VDR 后,骨化三醇对于 TNF- α 诱

导的内皮细胞黏附的抑制作用明显降低(图 4B 和 C)。结果显示,TNF- α 处理内皮细胞促进 p38 的磷酸化,而预孵育骨化三醇后,p38 的磷酸化水平显著降

低。敲低内皮细胞 VDR 后,骨化三醇不能抑制 TNF- α 引起的内皮细胞 p38 磷酸化(图 4D)。

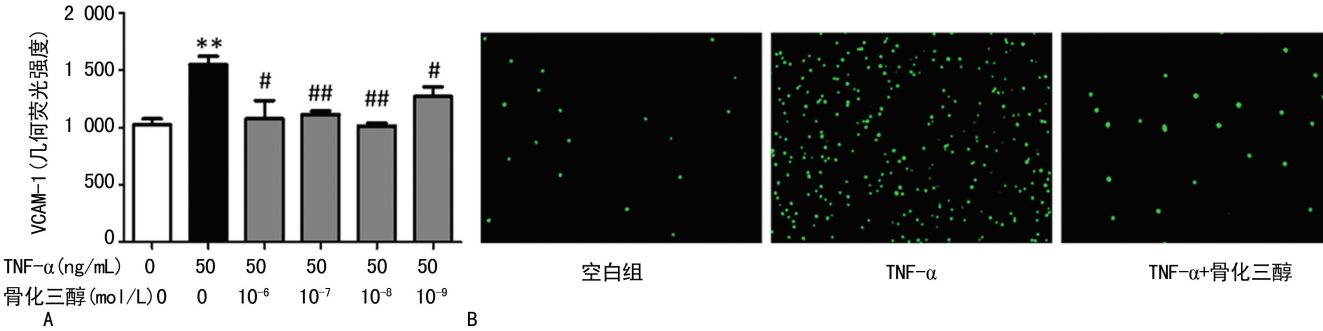


图 3 骨化三醇抑制 TNF- α 诱导的内皮细胞黏附作用

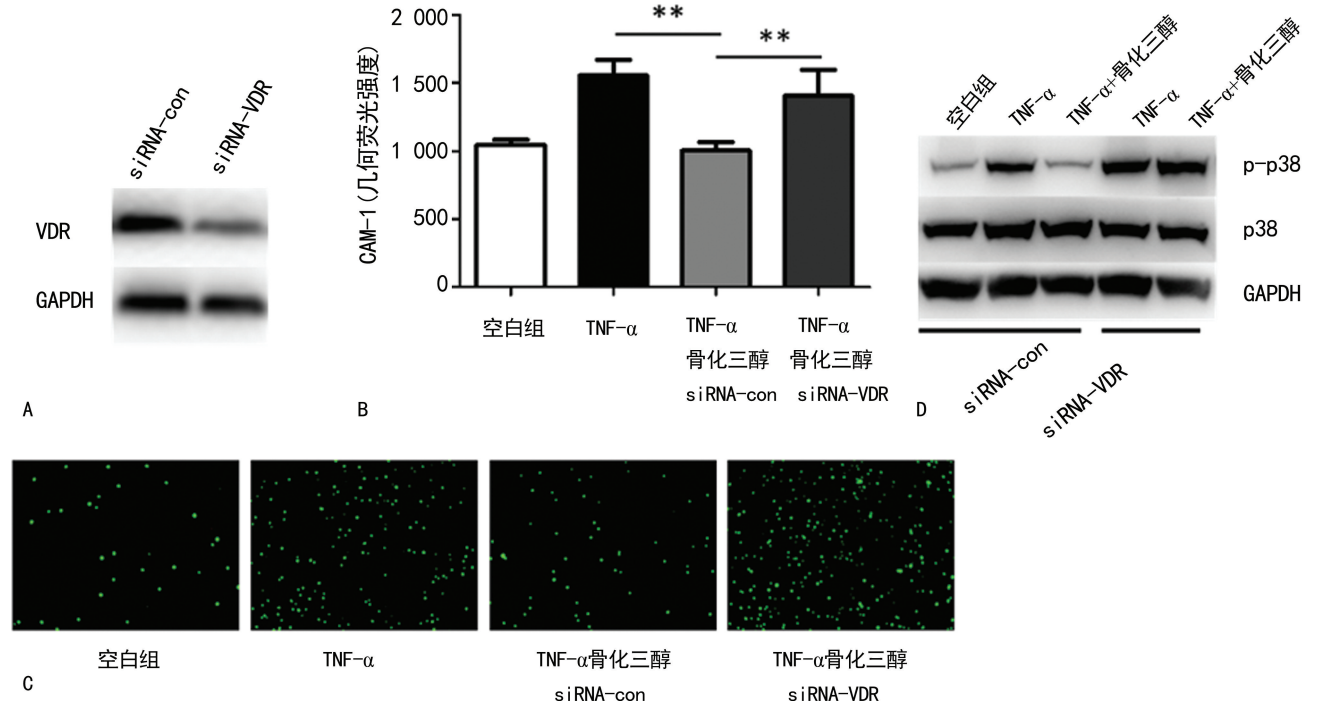


图 4 骨化三醇通过 VDR-p38 途径抑制 TNF- α 诱导的内皮细胞黏附作用

3 讨 论

内皮功能障碍被认为是动脉粥样硬化发生的起始阶段,在受到切应力改变或炎症刺激后,内皮细胞中 VCAM-1 等黏附分子表达增高并招募免疫细胞黏附从而进入内皮下^[13]。本研究通过 TNF- α 诱导的内皮细胞损伤模型,以细胞活性、VCAM-1 表达及单核细胞黏附等指标评价内皮细胞损伤^[14]。研究表明,VD 除了调节钙代谢之外,也参与糖尿病、高血压,冠心病、房颤、心力衰竭、传染性疾病及自身免疫性疾病的发病过程。文献表明,VD 缺乏与冠心病呈正相关

性^[7]。说明 VD 及 VDR 信号通路在动脉粥样硬化的发生、发展中起到了作用。本研究用骨化三醇,一种体内活性最高的 VD 形式处理内皮细胞,低于 10⁻⁵ mol/L 的骨化三醇均对内皮细胞起到保护作用。通过流式细胞术检测发现,10⁻⁸ mol/L 的骨化三醇抑制 TNF- α 刺激的内皮细胞 VCAM-1 表达。本研究中,利用 THP-1 单核细胞检测其与内皮细胞的黏附作用。荧光显微镜结果显示,10⁻⁸ mol/L 的骨化三醇抑制 TNF- α 刺激的内皮细胞与单核细胞的黏附作用。

VDR 是 VD 的重要受体,骨化三醇通过与 VDR

的结合,并激活 VDR 的转录因子活性,从而调节特定基因的转录。VDR 调节的基因众多,功能广泛,多以糖代谢、骨代谢及抗炎功能的蛋白居多。本实验中,为了验证骨化三醇抑制内皮细胞黏附作用是否依赖 VDR 途径,采用 siRNA 敲低内皮细胞 VDR。结果表明,敲低内皮细胞 VDR 后,骨化三醇对于 TNF- α 诱导的内皮细胞黏附的抑制作用显著降低。为了进一步阐明 VD 和 VDR 抑制内皮黏附作用的机制,通过文献[15]发现 p38 是调节细胞黏附和运动性的重要信号通路蛋白。有报道称,蛋白酶 C 依赖的 p38 和应激活化蛋白激酶磷酸化是 VCAM-1 表达的关键^[16]。本研究证明 TNF- α 促进内皮细胞 p38 蛋白磷酸化,而预孵育骨化三醇可以抑制 TNF- α 刺激的内皮细胞 p38 蛋白磷酸化。但通过 siRNA 抑制 VDR 表达后,骨化三醇抑制 p38 蛋白磷酸化作用显著降低。这些结果表明骨化三醇通过 VDR-p38 途径调节内皮细胞 VCAM-1 表达。

本研究初步证明了 VD 调节内皮细胞功能和黏附作用的机制。但仍停留在体外水平,没有对体内实验进行进一步的评估。本研究中,低于 10^{-5} mol/L 的骨化三醇均对内皮细胞具有保护作用,这与 VD 补充过量的临床依据一致。尽管 VD 过量造成的毒性是较为罕见的,但应该避免无节制的摄入^[17]。虽然细胞水平的实验证明一定水平的 VD 补充对内皮细胞具有抗炎保护作用,但后期需要在实验动物和人群试验进行探讨。

综上所述,VD 活性形式骨化三醇通过 VDR-p38 途径抑制 TNF- α 诱导的内皮细胞黏附作用,为营养素补充预防心血管疾病提供了新的思路和靶点。

参考文献

- [1] LIN Z, KUMAR A, SENBANERJEE S, et al. Kruppel-like factor 2 (KLF2) regulates endothelial thrombotic function[J]. *Circulat Res*, 2005, 96(5):48-57.
- [2] WEINKAUF C C, CONCHA-MOORE K, LINDNER J R, et al. Endothelial vascular cell adhesion molecule 1 is a marker for high-risk carotid plaques and target for ultrasound molecular imaging[J]. *J Vasc Surg*, 2018, 68(6S):105S-113S.
- [3] YAMAGISHI K, ISO H. Soluble vascular cell adhesion molecule and cardiovascular disease: an epidemiological view [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2017, 24(8):791-792.
- [4] JANASZAK-JASIECKA A, SIEKIERZYCKA A, BARTOSZEWSKA S, et al. eNOS expression and NO release during hypoxia is inhibited by miR-200b in human endothelial cells [J]. *Angiogenesis*, 2018, 21(4):711-724.
- [5] SHIRAKURA K, ISHIBA R, KASHIO T, et al. The Robo4-TRAF7 complex suppresses endothelial hyperpermeability in inflammation[J]. *J Cell Sci*, 2019, 132(1):220228.
- [6] ALJACK H A, ABDALLA M K, IDRIS O F, et al. Vitamin D deficiency increases risk of nephropathy and cardiovascular diseases in Type 2 diabetes mellitus patients[J]. *J Res Med Sci*, 2019, 24(1):47.
- [7] FANARI Z, HAMMAMI S, HAMMAMI M B, et al. Vitamin D deficiency plays an important role in cardiac disease and affects patient outcome: still a myth or a fact that needs exploration? [J]. *J Saudi Heart Assoc*, 2015, 27(4):264-271.
- [8] SAFAIE N, REZAEE H, SEIF DVATI B, et al. Vitamin D deficiency predicts the ST elevation type of myocardial infarction in patients with acute coronary syndrome[J]. *Iran J Pharm Res*, 2018, 17(Suppl):73-78.
- [9] MIRHOSSEINI N, VATANPARAST H, KIMBALL S M. The association between serum 25 (OH) D status and blood pressure in participants of a community-based program taking Vitamin D supplements[J]. *Nutrients*, 2017, 9(11):1244.
- [10] LEIFHEIT-NESTLER M, GRABNER A, HERMANN L, et al. Vitamin D treatment attenuates cardiac FGF23/FGFR4 signaling and hypertrophy in uremic rats [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2017, 32(9):1493-1503.
- [11] LIU X, WANG W, TAN Z, et al. The relationship between vitamin D and risk of atrial fibrillation: a dose-response analysis of observational studies[J]. *Nutr J*, 2019, 18(1):73.
- [12] BOZIC M, ALVAREZ A, DE PABLO C, et al. Impaired Vitamin D signaling in endothelial cell leads to an enhanced leukocyte-endothelium interplay: implications for atherosclerosis development[J]. *PLoS one*, 2015, 10(8):e0136863.
- [13] ABDALA-VALENCIA H, KOUNTZ T S, MARCHESE M E, et al. VCAM-1 induces signals that stimulate ZO-1 serine phosphorylation and reduces ZO-1 localization at (下转第 4054 页)

- [J]. *Medicine* (Baltimore), 2019, 98 (28): e16347.
- [8] GRONEWOLD J, BAUER M, LEHMANN N, et al. Coronary artery calcification, intima-media thickness, and ankle-brachial index are complementary stroke predictors [J]. *Stroke*, 2014, 45(9):2702-2709.
- [9] DEN RUIJTER H M, PETERS S A, ANDERSON T J, et al. Common carotid intima-media thickness measurements in cardiovascular risk prediction: a meta-analysis [J]. *JAMA*, 2012, 308(8):796-803.
- [10] POLAK J F, SZKLO M, O'LEARY D H. Carotid intima-media thickness score, positive coronary artery calcium score, and incident coronary heart disease: the multi-ethnic study of atherosclerosis [J]. *J Am Heart Assoc*, 2017, 6 (1):e004612.
- [11] DIAZ A, BIA D, ZÓCALO Y, et al. Carotid intima media thickness reference intervals for a healthy argentinean population aged 11-81 years [J]. *Int J Hypertens*, 2018, 2018:8086714.
- [12] LORENZ M W, GAO L, ZIEGELBAUER K, et al. Predictive value for cardiovascular events of common carotid intima media thickness and its rate of change in individuals at high cardiovascular risk-results from the PROG-IMT collaboration [J]. *PLoS One*, 2018, 13(4):e0191172.
- [13] HUANG R, MILLS K, ROMERO J, et al. Comparative effects of lipid lowering, hypoglycemic, antihypertensive and antiplatelet medications on carotid artery intima-media thickness progression: a network meta-analysis [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2019, 18(1):14.
- [14] KATAKAMI N, MATSUOKA T A, SHIMO-MURA I. Clinical utility of carotid ultrasonography: application for the management of patients with diabetes [J]. *J Diabetes Investig*, 2019, 10(4):883-898.
- [15] VAN DEN OORD S C, SIJBRANDS E J, TEN KATE G L, et al. Carotid intima-media thickness for cardiovascular risk assessment: systematic review and meta-analysis [J]. *Atherosclerosis*, 2013, 228(1):1-11.
- [16] 王增武, 杨瑛, 王文, 等. 我国高血压流行新特征-中国高血压调查的亮点和启示 [J]. *中国循环杂志*, 2018, 33(10):6-8.
- [17] 中国高血压防治指南修订委员会, 高血压联盟(中国), 中华医学会心血管病学分会, 等. 中国高血压防治指南 2018 年修订版 [J]. *中国心血管杂志*, 2019, 24(1):1-44.
- [18] OSAWA K, NAKANISHI R, MCCLELLAND R L, et al. Ischemic stroke/transient ischemic attack events and carotid artery disease in the absence of or with minimal coronary artery calcification: results from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis*, 2018, 275:22-27.
- [19] GEPNER A D, YOUNG R, DELANEY J A, et al. Comparison of coronary artery calcium presence, carotid plaque presence, and carotid intima-media thickness for cardiovascular disease prediction in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis [J]. *Circ Cardiovasc Imaging*, 2015, 8 (1):e002262.

(收稿日期:2020-02-18 修回日期:2020-07-02)

(上接第 4049 页)

- lung endothelial cell junctions [J]. *J Leukoc Biol*, 2018, 104(1):215-228.
- [14] TAKAFUJI Y, HORI M, MIZUNO T, et al. Humoral factors secreted from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells ameliorate atherosclerosis in *Ldlr*^{-/-} mice [J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(6):1041-1051.
- [15] CHEN H T, TSOU H K, CHEN J C, et al. Adiponectin enhances intercellular adhesion molecule-1 expression and promotes monocyte adhesion in human synovial fibroblasts [J]. *PloS one*, 2014, 9(3):e92741.
- [16] CHEN W C, LIN C Y, KUO S J, et al. Resistin enhances VCAM-1 expression and monocyte adhesion in human osteoarthritis synovial fibroblasts by Inhibiting MiR-381 expression through the PKC, p38, and JNK signaling pathways [J]. *Cells*, 2020, 9(6):1369.
- [17] GALIOR K, GREBE S, SINGH R. Development of Vitamin D toxicity from overcorrection of Vitamin D deficiency: a review of case reports [J]. *Nutrients*, 2018, 10(8):953.

(收稿日期:2020-03-18 修回日期:2020-08-12)