

脱氢表雄酮通过抑制高脂诱导的巨噬细胞炎性蛋白-1 α 抗动脉粥样硬化的机制

周颖 李桃 陈艳昕 肖芳 赵敏

【摘要】 目的:探讨脱氢表雄酮(DHEA)是否通过抑制高脂诱导的巨噬细胞炎性蛋白-1 α (MIP-1 α)的表达发挥抗动脉粥样硬化(AS)作用,以及细胞色素 P450 芳香酶基因(CYP19)对 DHEA 的作用。 方法:氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导人脐静脉内皮细胞(HUVEC),给予 DHEA、全反式维甲酸(ATRA)干预;pcDNA3.1-CYP19-GFP 真核表达质粒及 pcDNA3.1-GFP 空质粒分别转染 HUVEC,给予 ox-LDL 诱导及 DHEA 干预。实时荧光定量 PCR 和细胞酶联免疫吸附法检测各组 HUVEC 及各组转染细胞 MIP-1 α mRNA 及蛋白的表达。高脂饮食建立 AS 兔模型,给予 DHEA、ATRA 干预,实时荧光定量 PCR 和免疫组织化学法检测兔主动脉 MIP-1 α mRNA 及蛋白的表达。 结果:ox-LDL 诱导的 HUVEC 的 MIP-1 α 表达显著升高,给予 DHEA 干预后,MIP-1 α 的表达明显回降(P 均 <0.05),同时给予 ATRA 干预对 DHEA 抑制 MIP-1 α 的表达无明显影响。喂饲高脂饲料的大耳白兔,主动脉 MIP-1 α 表达显著升高,而在高脂饲料中添加 DHEA 后,MIP-1 α 的表达明显回降(P 均 <0.05),同时添加 ATRA 对 DHEA 抑制 MIP-1 α 的表达无明显影响。经 ox-LDL 诱导及 DHEA 干预后,转染 CYP19 质粒的 HUVEC MIP-1 α 的表达较转染空质粒的 HUVEC 显著降低($P<0.05$)。 结论:DHEA 能够抑制高脂诱导的 HUVEC 和兔主动脉 MIP-1 α 的表达,发挥抗 AS 作用;CYP19 能够增强 DHEA 的作用。

【关键词】 动脉粥样硬化;脱氢表雄酮;细胞色素 P450 芳香酶基因;巨噬细胞炎性蛋白-1 α ;人脐静脉内皮细胞

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2018.04.008

Mechanism of dehydroepiandrosterone resisting atherosclerosis by inhibiting the expression of MIP-1 α induced by high lipid ZHOU Ying, LI Tao, CHEN Yanxin, XIAO Fang, ZHAO Min. Department of Pathology, The First Hospital of Qinhuangdao, Hebei 066000, China

【Abstract】 Objective: To investigate whether dehydroepiandrosterone (DHEA) can resist atherosclerosis by inhibiting the expression of macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α) induced by high lipid, and the effect of cytochrome P450 aromatase gene (CYP19) on DHEA. **Methods:** Human umbilical venous endothelial cells (HUVEC) induced by ox-LDL were intervened by DHEA and ATRA. The eukaryotic expression plasmid pcDNA3.1-CYP19-GFP and pcDNA3.1-GFP were transfected into HUVEC respectively. The transfected HUVEC were intervened by ox-LDL and DHEA. The expression of MIP-1 α mRNA and protein in all groups of HUVEC and transfected HUVEC were determined by RT-qPCR and cell ELISA. Rabbit atherosclerosis model caused by high lipid diets were intervened by

DHEA and ATRA. The expression of aortic MIP-1 α mRNA and protein were determined by RT-qPCR and immunohistochemistry. **Results:** Ox-LDL stimulation significantly induced MIP-1 α expression in HUVEC ($P < 0.05$). After intervened by DHEA, the MIP-1 α expression was obviously decreased ($P < 0.05$). ATRA had no remarkable effect on MIP-1 α expression inhibited by DHEA in HUVEC ($P > 0.05$). High lipid diets significantly induced MIP-1 α expression in rabbit aorta ($P < 0.05$). After DHEA was added, the MIP-1 α expression was obviously decreased ($P < 0.05$). ATRA also had no remarkable effect on MIP-1 α expression inhibited by DHEA in rabbit aorta ($P > 0.05$). After intervened by ox-LDL and DHEA, the MIP-1 α expression in CYP19 plasmid transfected HUVEC was significantly decreased compared with empty plasmid transfected HUVEC. **Conclusions:** DHEA resist atherosclerosis by inhibiting the expression of MIP-1 α induced by high lipid in HUVEC and rabbit aorta. CYP19 can enhance the effect of DHEA.

【Key words】 Artherosclerosis; Dehydroepiandrosterone; CYP19; Macrophage inflammatory protein-1 α ; Human umbilical venous endothelial cells

脱氢表雄酮(dehydroepiandrosterone, DHEA)是内源性甾体类前体激素,血浆 DHEA 水平随年龄的增长而降低。研究发现,DHEA 可能是人体的一种内源性抗动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)因子,具有预防和治疗 AS 的应用前景^[1-2],但其作用机制尚不明确。巨噬细胞炎性蛋白-1 α (macrophage inflammatory protein-1 α , MIP-1 α)属于 CC 型趋化因子,对单核细胞和 T 淋巴细胞有较强的趋化活性,与 AS 的发生发展密切相关^[3]。本研究旨在探讨 DHEA 是否通过抑制高脂诱导的 MIP-1 α 的表达发挥抗 AS 作用,并探讨细胞色素 P450 芳香酶基因(CYP19)在 DHEA 抗 AS 中的作用。

1 材料与方法

1.1 人脐静脉内皮细胞(HUVEC)的原代培养与分组

无菌条件下取分娩 4 h 内健康新生儿的脐带,采用胰蛋白酶消化法从脐静脉获取内皮细胞。用含 15%胎牛血清、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ECGS 的 M199 培养基(Gibco 公司)培养 HUVEC。将生长良好的细胞换用无血清 DMEM/F12 培养基,培养 12 h 后分为 5 组。(1)正常对照组:DMEM/F12 培养基;(2)ox-LDL 组:DMEM/F12 培养基 + 30 mg/L 氧化低密度脂蛋白(ox-LDL);(3)ox-LDL + DHEA 组:DMEM/F12 培养基 + 30 mg/L ox-LDL + 1 $\mu\text{mol}/\text{L}$ DHEA(Fluka 公司);(4)ox-LDL + DHEA + ATRA 组:DMEM/F12 培养基 + 30 mg/L ox-LDL + 1 $\mu\text{mol}/\text{L}$ DHEA + 0.01 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 全反式维甲酸(ATRA,山东良福集团制药有限公司);(5)DHEA 组:DMEM/F12 培养基 + 1 $\mu\text{mol}/\text{L}$ DHEA。各组培养 24 h 后,收集细胞,测

定 MIP-1 α mRNA 及蛋白水平。

1.2 细胞转染与转染后 HUVEC 的分组

采用含有 CYP19 的 pcDNA3.1-CYP19-GFP 质粒和 pcDNA3.1-GFP 空质粒分别对 HUVEC 进行转染。将 HUVEC 接种于 6 孔板中培养,待细胞密度达 80%~90%时应用脂质体 LipofectamineTM 2000(Invitrogen 公司)进行体外质粒(浙江大学医学院)转染,转染后对细胞进行分组。(1)CYP19 组:转染 CYP19 的 HUVEC 采用无血清 DMEM/F12 培养基培养;(2)CYP19 + ox-LDL 组:转染 CYP19 的 HUVEC 采用无血清 DMEM/F12 培养基 + 30 mg/L ox-LDL 培养;(3)CYP19 + ox-LDL + DHEA 组:转染 CYP19 的 HUVEC 采用无血清 DMEM/F12 培养基 + 30 mg/L ox-LDL + 1 $\mu\text{mol}/\text{L}$ DHEA 培养;(4)空质粒组:转染空质粒的 HUVEC 采用无血清 DMEM/F12 培养基培养;(5)空质粒 + ox-LDL 组:转染空质粒的 HUVEC 采用无血清 DMEM/F12 培养基 + 30 mg/L ox-LDL 培养;(6)空质粒 + ox-LDL + DHEA 组:转染空质粒的 HUVEC 采用无血清 DMEM/F12 培养基 + 30 mg/L ox-LDL + 1 $\mu\text{mol}/\text{L}$ DHEA 培养。各组转染细胞均培养 24 h。

1.3 AS 动物模型的构建与分组

成年雄性新西兰大白兔 25 只,体质量 2.5~3.0 kg。随机分为 5 组,每组 5 只,各组分别给予以下饮食喂饲 10 周。(1)正常对照组:给予正常饲料;(2)高脂组:给予 1%胆固醇、3%猪油;(3)高脂 + DHEA 组:给予 1%胆固醇、3%猪油、0.27% DHEA;(4)高脂 + DHEA + ATRA 组:给予 1%胆

固醇、3%猪油、0.27% DHEA、0.6 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ ATRA;(5)单 DHEA 组:给予 0.27% DHEA。将兔处死后,分离主动脉,取主动脉弓处一小段动脉进行 MIP-1 α mRNA 及蛋白水平的测定。

1.4 实时荧光定量 PCR 检测 mRNA 表达水平

取各组 HUVEC 及新西兰大耳白兔不同处理组的主动脉,用 Trizol 一步法提取总 RNA,逆转录

合成 cDNA。按照实时荧光定量 PCR 试剂盒 (Applied Biosystems 公司)说明书对 MIP-1 α 进行扩增。对转染后的 HUVEC 同时检测 CYP19 mRNA 表达水平。以 GAPDH 作为内参照,采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法确定目的基因的相对表达水平,实验重复 3 次。扩增条件和引物见表 1。

表 1 实时荧光定量 PCR 的扩增条件和引物

检测内容	细胞来源	扩增条件	基因	引物			
MIP-1 α mRNA 表达水平	HUVEC	95 °C 3 min;94 °C 20 s, 58 °C 20 s, 68 °C 20 s, 40 个循环	MIP-1 α	正义 5'-CTGCCCTTGCTGTCCTCCTCTG-3' 反义 5'-CTGCCGGCTTCGCTTGGTTA-3'			
			GAPDH	正义 5'-GCTGGGGCTCACCTGAAGGG-3' 反义 5'-GGATGACCTTGCCACAGCC-3'			
			CYP19 mRNA 表达水平	HUVEC	95 °C 3 min;94 °C 30 s, 58 °C 30 s, 72 °C 30 s, 40 个循环	CYP19	正义 5'-TGGAAGGATGCACAGACTCG-3' 反义 5'-TGACCAGCCTTCTCTAGTGTTC-3'
						GAPDH	正义 5'-GCTGGGGCTCACCTGAAGGG-3' 反义 5'-GGATGACCTTGCCACAGCC-3'
MIP-1 α mRNA 表达水平	新西兰大耳 白兔主动脉	95 °C 3 min;94 °C 20 s, 58 °C 20 s, 72 °C 20 s, 40 个循环	MIP-1 α	正义 5'-ACTGAGCTGGAATAAATGC-3' 反义 5'-AATGTGCCCTGAGGTCTTTC-3'			
			GAPDH	正义 5'-GCGCTGGTCACCAGGGCTGCTT-3' 反义 5'-TGCCGAAGTGGTCGTGGATGACCT-3'			

1.5 细胞酶联免疫吸附法(ELISA)法检测 MIP-1 α 蛋白表达水平

以 10⁵ 个/孔的细胞密度将原代 HUVEC 及转染后的 HUVEC 接种于 96 孔板,无血清 DMEM/F12 培养基培养 12 h 后,按 1.1 和 1.2 所述分组进行处理,每组 8 孔细胞,培养 24 h。弃去培养液,其中每组取 3 孔细胞用 1 mol/L NaOH 进行裂解,采用 Lowry 法进行蛋白定量;其余 5 孔用 4%多聚甲醛固定,正常血清封闭后,加羊抗人 MIP-1 α 多克隆抗体(1:400),4 °C 孵育 48 h,采用兔抗羊链霉菌抗生素蛋白-过氧化物酶(SP)试剂盒检测 MIP-1 α 蛋白。酶标仪在 490 nm 处检测各孔细胞的积分吸光度值,各孔细胞 MIP-1 α 蛋白的相对表达水平 = 各孔积分吸光度值/各孔细胞蛋白总含量。

1.6 免疫组织化学法检测兔主动脉 MIP-1 α 蛋白表达水平

取新西兰大耳白兔主动脉弓处动脉放入 4%多聚甲醛中固定,石蜡包埋,切片。脱蜡、水化后,用免疫组织化学 SP 法检测 MIP-1 α 蛋白的表达,按试剂盒(福州迈新生物技术开发公司)说明书进行操

作,兔抗兔 MIP-1 α 多克隆抗体 1:400 稀释。用 ImageJ 图像处理系统采集图像并分析结果,各组主动脉 MIP-1 α 的蛋白表达水平用细胞质棕黄色阳性颗粒的平均吸光度值表示。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,计数资料以均数士标准差表示,多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),组间两两比较采用 *q* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HUVEC MIP-1 α 的 mRNA 及蛋白表达水平

ox-LDL 组 MIP-1 α 的 mRNA 和蛋白表达水平明显高于正常对照组 (*P* < 0.05)。ox-LDL + DHEA 组 MIP-1 α 的 mRNA 和蛋白表达水平与 ox-LDL 组相比明显降低 (*P* < 0.05)。ox-LDL + DHEA + ATRA 组与 ox-LDL + DHEA 组 MIP-1 α 的 mRNA 和蛋白表达水平无统计学差异,DHEA 组与正常对照组 MIP-1 α 的 mRNA 和蛋白表达水平无统计学差异。见表 2。

表 2 各组 HUVEC MIP-1 α mRNA 和蛋白的表达水平比较

组别	mRNA 相对表达水平	蛋白相对表达水平
正常对照组	1.00 \pm 0.17	0.10 \pm 0.02
ox-LDL 组	6.65 \pm 0.92 ⁽¹⁾	0.65 \pm 0.04 ⁽¹⁾
ox-LDL + DHEA 组	2.75 \pm 0.61 ⁽²⁾	0.30 \pm 0.05 ⁽²⁾
ox-LDL + DHEA + ATRA 组	2.35 \pm 0.52 ⁽²⁾	0.27 \pm 0.06 ⁽²⁾
DHEA 组	0.90 \pm 0.12	0.09 \pm 0.02

注: ⁽¹⁾与正常对照组相比, $P < 0.05$; ⁽²⁾与 ox-LDL 组相比, $P < 0.05$

2.2 HUVEC 转染后 CYP19 的 mRNA 表达水平

实时荧光定量 PCR 检测结果显示, 转染 pcDNA3.1-CYP19-GFP 的 HUVEC 的 CYP19 mRNA 表达水平 (4.06 \pm 0.20) 明显高于转染 pcDNA3.1-GFP 空质粒的 HUVEC (1.09 \pm 0.19) 及未转染的 HUVEC (1.00 \pm 0.15) (P 均 < 0.05)。

2.3 HUVEC 转染后 MIP-1 α 的 mRNA 及蛋白表达水平

CYP19+ox-LDL 组 MIP-1 α mRNA 及蛋白表达

水平均高于 CYP19 组 ($P < 0.05$)。CYP19+ox-LDL+DHEA 组 MIP-1 α mRNA 及蛋白表达水平与 CYP19+ox-LDL 组相比均降低 ($P < 0.05$)。CYP19+ox-LDL+DHEA 组 MIP-1 α 的 mRNA 及蛋白表达水平与空质粒+ox-LDL+DHEA 组相比均显著降低 ($P < 0.05$)。CYP19 组与空质粒组 MIP-1 α mRNA 及蛋白的表达水平均无统计学差异, CYP19+ox-LDL 组与空质粒+ox-LDL 组 MIP-1 α mRNA 及蛋白表达水平均无统计学差异。见表 3。

表 3 各组转染细胞 MIP-1 α mRNA 和蛋白的表达水平比较

组别	mRNA 相对表达水平	蛋白相对表达水平
空质粒组	1.08 \pm 0.19	0.10 \pm 0.01
空质粒 + ox-LDL 组	6.43 \pm 0.42 ⁽¹⁾	0.69 \pm 0.01 ⁽¹⁾
空质粒 + ox-LDL + DHEA 组	3.35 \pm 0.31 ⁽¹⁾⁽²⁾	0.34 \pm 0.02 ⁽¹⁾⁽²⁾
CYP19 组	1.00 \pm 0.15	0.09 \pm 0.02
CYP19 + ox-LDL 组	6.19 \pm 0.27 ⁽³⁾	0.67 \pm 0.03 ⁽³⁾
CYP19 + ox-LDL + DHEA 组	2.02 \pm 0.23 ⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾	0.22 \pm 0.01 ⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾

注: ⁽¹⁾与空质粒组相比, $P < 0.05$; ⁽²⁾与空质粒 + ox-LDL 组相比, $P < 0.05$; ⁽³⁾与 CYP19 组相比, $P < 0.05$; ⁽⁴⁾与 CYP19 + ox-LDL 组相比, $P < 0.05$; ⁽⁵⁾与空质粒 + ox-LDL + DHEA 组相比, $P < 0.05$

2.5 兔主动脉 MIP-1 α 的 mRNA 表达水平

实时荧光定量 PCR 检测结果显示, 高脂组 MIP-1 α 的 mRNA 表达水平显著高于正常对照组 ($P < 0.05$)。高脂 + DHEA 组 MIP-1 α 的 mRNA 表达水平与高脂组相比明显降低 ($P < 0.05$)。高脂 + DHEA + ATRA 组与高脂 + DHEA 组 MIP-1 α 的 mRNA 表达水平无统计学差异。单 DHEA 组与正常对照组 MIP-1 α 的 mRNA 表达水平无统计学差异。见表 4。

2.6 兔主动脉 MIP-1 α 的蛋白表达水平

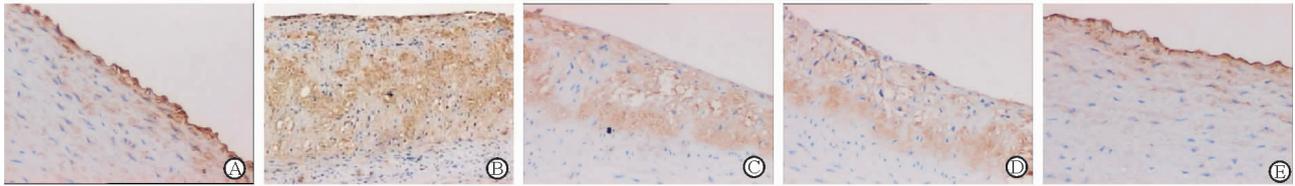
高脂组兔主动脉内膜明显增厚, 并见大量棕黄

色颗粒, 与正常对照组相比 MIP-1 α 蛋白表达明显增强 ($P < 0.05$)。高脂 + DHEA 组内膜也有不同程度增厚, 厚度及棕黄色颗粒表达水平较高脂组降低, MIP-1 α 蛋白表达受到抑制 ($P < 0.05$)。高脂 + DHEA + ATRA 组内膜增厚的程度及棕黄色颗粒表达水平与高脂 + DHEA 组相似, 两组 MIP-1 α 蛋白表达差异无统计学意义。单 DHEA 组与正常对照组仅内膜表面血管内皮细胞胞质中见少量着色, 两组 MIP-1 α 蛋白表达差异无统计学意义。见图 1、表 4。

表 4 各组主动脉 MIP-1 α mRNA 和蛋白的表达水平比较

组别	mRNA 相对表达水平	蛋白相对表达水平
正常对照组	1.00 \pm 0.14	0.08 \pm 0.01
高脂组	4.45 \pm 0.54 ⁽¹⁾	0.27 \pm 0.02 ⁽¹⁾
高脂 + DHEA 组	2.55 \pm 0.37 ⁽²⁾	0.19 \pm 0.01 ⁽²⁾
高脂 + DHEA + ATRA 组	2.35 \pm 0.27 ⁽²⁾	0.18 \pm 0.01 ⁽²⁾
单 DHEA 组	0.87 \pm 0.12	0.07 \pm 0.00

注: ⁽¹⁾与正常对照组相比, $P < 0.05$; ⁽²⁾与高脂组相比, $P < 0.05$



注: A 为正常对照组; B 为高脂组; C 为高脂 + DHEA 组; D 为高脂 + DHEA + ATRA 组; E 为单 DHEA 组

图 1 免疫组织化学显示各组兔主动脉 MIP-1 α 蛋白表达情况 (SP 法, $\times 200$)

3 讨论

AS 是多因素、多因子介导的炎症反应。MIP-1 α 是 AS 发生发展过程中的重要因子, 可以活化血管内皮细胞, 引起单核细胞、淋巴细胞浸润, 还能调节基质金属蛋白酶(MMP)的产生, 介导基质降解, 促进单核细胞迁移至内膜下, 吞噬脂质并转化为泡沫细胞^[4-5]。

DHEA 是性激素合成过程的中间产物, 主要由肾上腺皮质网状带分泌, 是血浆中浓度最高的类固醇激素^[6]。DHEA 的分泌在青春期达到高峰, 之后随年龄的增加而速减, 有“青春激素”之称^[7-8]。近年来学者们开始研究 DHEA 与 AS、衰老等的关系。有学者对 DHEA 及脱氢表雄酮硫酸盐(DHEAS)与冠状动脉粥样硬化心脏病(冠心病)关系的文章进行分析^[9], 在 36 篇文献中, 有 22 篇报道了冠心病患者血浆中 DHEA 和 DHEAS 水平低于正常人。Bednarek 等^[10]发现, 给新西兰白兔喂饲胆固醇及 DHEA 后, DHEA 可显著抑制新西兰白兔因喂饲胆固醇而形成的主动脉脂纹。

本研究细胞实验以 ox-LDL 作为刺激因素建立体外 AS 模型。结果显示, ox-LDL 诱导 HUVEC 后, 可显著促进 MIP-1 α 的表达; 同时给予 ox-LDL 诱导及 DHEA 干预后, MIP-1 α 的表达明显降低; 而单独使用 DHEA 作用于 HUVEC, MIP-1 α 的表达与正常对照组无明显差异。这提示 DHEA 能特异性抑制 ox-LDL 诱导的 HUVEC MIP-1 α 的表达。动物实验中, 喂饲高脂饲料的大耳白兔, 主动脉内

膜有明显脂纹形成, 证明 AS 模型构建成功。结果显示, 喂饲高脂饲料的大耳白兔, 主动脉 MIP-1 α 表达显著升高; 而高脂饲料中同时添加 DHEA, MIP-1 α 的表达明显降低。另外, 喂饲添加 DHEA 的正常饲料的大耳白兔, 主动脉 MIP-1 α 的表达与正常对照组无明显差异。提示 DHEA 能特异性抑制高脂诱导的兔主动脉 MIP-1 α 的表达。这与细胞实验的结果一致, 由此我们推断, DHEA 是通过抑制高脂诱导的 MIP-1 α 的表达而发挥抗 AS 作用。

DHEA 在体内主要通过转化为雌酮而发挥作用, 而 CYP19 是 DHEA 转化为雌酮的关键酶^[11-12]。本研究将 pcDNA3.1-CYP19-GFP 真核表达质粒体外转染至 HUVEC, 发现转染 pcDNA3.1-CYP19-GFP 的 HUVEC 的 CYP19 mRNA 表达水平较转染空质粒的 HUVEC 明显上调, 提示 pcDNA3.1-CYP19-GFP 质粒能有效上调 CYP19 的表达。对转染 CYP19 质粒及空质粒的 HUVEC 同时给予 ox-LDL 诱导及 DHEA 干预后, 转染 CYP19 质粒的 HUVEC MIP-1 α 的表达较转染空质粒的 HUVEC 显著降低, 提示过表达 CYP19 可促使 DHEA 大量转化为雌酮, 进而抑制高脂诱导的 MIP-1 α 的表达。这也提示过表达 CYP19 能够通过增强 DHEA 抑制 MIP-1 α 的表达, 提高 DHEA 的抗 AS 作用。研究发现, CYP19 的表达在不同组织中由不同的启动子调控, 在血管内皮细胞、血管平滑肌细胞中主要是启动子 I.6^[13]。ATRA 受体激活后可通过 I.6 启动子增强 CYP19 的表达, 由此推断, 补充 ATRA

可以特异性增强 DHEA 的抗 AS 作用。本研究显示,对于 ox-LDL 诱导的 HUVEC 和喂饲高脂饲料的大耳白兔, ATRA 与 DHEA 共同干预后, HUVEC 和兔主动脉的 MIP-1 α mRNA 和蛋白表达均稍低于只给予 DHEA 干预的高脂诱导组,然而差异无统计学意义,因此推测 ATRA 通过 I. 6 启动子对 CYP19 表达的增强作用是有限的。 ATRA 与 DHEA 在抗 AS 中的关系有待今后进一步研究证实。

参 考 文 献

- [1] Naessen T, Sjogren U, Bergquist J, et al. Endogenous steroids measured by high-specificity liquid chromatography-tandem mass spectrometry and prevalent cardiovascular disease in 70-year-old men and women[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2010, 95(4):1889-1897.
- [2] 胡迪聃, 徐彤彤, 王文艳, 等. 原发性高血压病患者血清瘦素、可溶性瘦素受体及沉默信息调节因子相关酶 3 水平与动脉粥样硬化的关系研究[J]. 中国全科医学, 2016, 19(22): 2676-2680.
- [3] Lee SC, Brummet ME, Shahabuddin S, et al. Cutaneous injection of human subjects with macrophage inflammatory protein-1 alpha induces significant recruitment of neutrophils and monocytes[J]. J Immunol, 2015, 164(6):3392-3401.
- [4] Stary HC, Chandler AB, Glagov S, et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association[J]. Circulation, 1994, 89(5):2462-2478.
- [5] 孟馨, 王涤非, 曹艳丽, 等. 球形脂联素对高糖诱导的人脐静脉内皮细胞表达巨噬细胞炎症蛋白-1 α mRNA 的影响及机制[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(23):5922-5923.
- [6] Chevalier M, Gilbert G, Lory P, et al. Dehydroepiandrosterone (DHEA) inhibits voltage-gated T-type calcium channels[J]. Biochem Pharmacol, 2012, 83(11):1530-1539.
- [7] Wang L, Hao Q, Wang YD, et al. Protective effects of dehydroepiandrosterone on atherosclerosis in ovariectomized rabbits via alleviating inflammatory injury in endothelial cells[J]. Atherosclerosis, 2011, 214(1):47-57.
- [8] Marder W, Somers EC, Kaplan MJ, et al. Effects of prasterone (dehydroepiandrosterone) on markers of cardiovascular risk and bone turnover in premenopausal women with systemic lupus erythematosus: a pilot study[J]. Lupus, 2010, 19(10):1229-1236.
- [9] Creatsa M, Armeni E, Stamatelopoulos K, et al. Circulating androgen levels are associated with subclinical atherosclerosis and arterial stiffness in healthy recently menopausal women[J]. Metabolism, 2012, 61(2):193-201.
- [10] Bednarek-Tupikowska G, Gosk I, Szuba A, et al. Influence of dehydroepiandrosterone on platelet aggregation, superoxide dismutase activity and serum lipid peroxide concentrations in rabbits with induced hypercholesterolemia[J]. Med Sci Monit, 2000, 6(1):40-45.
- [11] 李佳莹, 刘艳阳. 脱氢表雄酮及其硫酸盐与动脉粥样硬化关系的研究现状[J]. 医学综述, 2013, 19(24):4439-4441.
- [12] 王彦永, 张庆, 王铭维. 绝经与颈动脉粥样硬化发生发展的关系[J]. 中国全科医学, 2010, 13(14):1607-1608.
- [13] Bouraïma H, Hanoux V, Mitre H, et al. Expression of the rabbit cytochrome P450 aromatase encoding gene uses alternative tissue-specific promoters [J]. Eur J Biochem, 2001, 268(16):4506-4512.

(收稿:2018-03-08 修回:2018-06-12)

(本文编辑:胡晓静)