

文章编号:1004-7220(2019)04-0393-06

# 异常血流动力对人脐静脉内皮细胞影响

朱晔斌<sup>1</sup>, 朱晔荣<sup>2</sup>

(1. 乌兰察布医学高等专科学校 药检系, 内蒙古 乌兰察布 012000; 2. 南开大学 生命科学学院, 植物学系, 天津 300071)

**摘要:**目的 研究异常血流动力对人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)分泌 ET-1、NO 以及 ET-1、eNOS、VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 mRNA 和蛋白表达水平的影响,初步探讨异常血流动力致动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)的机制。方法 按照 HUVECs 所受作用力的不同分为应力组、壁面压力组和正常组。3 组在各自作用力持续作用下培养 24 h,收集细胞备用。采用酶法和放免法检测 ET-1、NO 分泌水平,采用 qPCR 检测 ET-1、eNOS、VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 mRNA 表达水平,采用蛋白免疫印迹方法检测 VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 蛋白表达。结果 壁面压力组 ET-1 分泌和 mRNA 表达水平较正常组明显升高,应力组 NO 分泌和 eNOS mRNA 表达水平较正常组明显升高;应力组和壁面压力组 VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 的 mRNA 和蛋白表达较正常组明显增高。结论 应力或壁面压力单独作用于 HUVECs 能够导致其分泌功能和基因、蛋白表达功能紊乱,异常血流动力导致 AS 的机制与 HUVEC 功能紊乱有关。

**关键词:**壁面切应力;张应力;壁面压力;人脐静脉内皮细胞;动脉粥样硬化

**中图分类号:** R 318.01 **文献标志码:** A

**DOI:** 10.16156/j.1004-7220.2019.04.009

## The Effect of Abnormal Blood Flow on Human Umbilical Vein Endothelial Cells

ZHU Yebin<sup>1</sup>, ZHU Yerong<sup>2</sup>

(1. Department of Pharmaceutical Examination, Wulanchabu Medical College, Wulanchabu 012000, Inner Mongolia, China; 2. Department of Phytology, College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China)

**Abstract:** **Objective** To study the effects of abnormal blood flow on the secretion of ET-1/NO and the expression of the mRNA and the protein of ET-1, eNOS, VCAM-1, ICAM-1 and MCP-1 in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs), so as to explore the mechanism of atherosclerosis (AS) caused by abnormal hemodynamics. **Methods** The HUVECs were divided into stress group, wall pressure group and normal group according to the different stress. The HUVECs were cultured under the corresponding stress for 24 hours and then collected. The secretion levels of NO and ET-1 were detected by enzyme method and radioimmunoassay method. The mRNA expression levels of eNOS and ET-1 were detected by qPCR. The expression levels of the mRNA and the protein of VCAM-1, ICAM-1, MCP-1 were detected by qPCR and Western blot. **Results** Compared with normal group, the secretion level and the mRNA expression level of ET-1 in wall pressure group increased significantly ( $P < 0.01$ ), and the secretion level of NO and the mRNA expression level of eNOS in stress group also increased significantly ( $P < 0.01$ ). The expressions level of the mRNA and the protein of VCAM-1, ICAM-1 and MCP-1 obviously increased in stress group and wall pressure group ( $P < 0.01$ ). **Conclusions** Stress or wall pressure acting on HUVECs alone could lead to its dysfunction of the secretion and the expression of gene and protein. The mechanism of AS caused by abnormal blood flow was related to these dysfunction of HUVEC.

**Key words:** wall shear stress; circumferential strain; wall pressure; human umbilical vein endothelial cells (HUVECs); atherosclerosis (AS)

收稿日期:2018-05-31; 修回日期:2018-09-07

通信作者:朱晔荣,副教授,硕士研究生导师,E-mail: zhuyr@nankai.edu.cn

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是发生在大中动脉的动脉壁增厚变硬的血管病变。AS 好发部位有它自身的特点, 其具有局灶性, 在扰动或湍流的大中动脉分支入口处、血管口径变窄的远心端以及弯曲血管的内侧壁等处多发<sup>[1]</sup>。AS 好发部位的血管内皮细胞 (vascular endothelial cell, VEC) 受异常血流动力作用 (AS 好发部位 VEC 膜受到的所有作用力), “异常”指 AS 好发部位的血流动力特点, 是针对 AS 不好发部位 (即本文“正常”直血管部位) 的血流动力特点而言。在体内作用于 VEC 的力主要包括血管内流体静压力产生的壁面压力, 该力垂直作用于 VEC 膜; 血流冲刷 VEC 产生的壁面切应力 (wall shear stress, WSS), 该力作用方向与 VEC 膜切线方向相同; 以及在血管舒缩运动过程中对 VEC 牵拉产生的张应力 (circumferential strain, CS)<sup>[2]</sup>, 该力作用方向与 VEC 膜切线方向相同。在本研究中, 把沿 VEC 膜切线方向的作用力定义为应力, 把垂直于 VEC 膜的作用力定义为壁面压力。AS 好发部位 VEC 受到的应力和壁面压力与 AS 不好发部位相比有其自身的特点: 应力大的时候, 壁面压力小; 应力小的时候, 壁面压力大 (即本文所强调的不平衡)。而 AS 不好发部位 VEC 受到的应力和壁面压力则是同时增大或同时减小 (即本文所强调的平衡)。心室射血时 VEC 受到的应力和壁面压力同时增大, 心室舒张时 VEC 受到的应力和壁面压力同时缩小。

国内外对异常血流动力导致 AS 机制的报道多集中在低切应力可致 AS 方面<sup>[3]</sup>, 鲜有关于从应力和壁面压力两方面综合考虑研究异常血流动力致 AS 机制的报道。本文探讨了在应力或壁面压力的单独作用下, 人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVECs) 分泌一氧化氮 (nitric oxide, NO) 和内皮素-1 (endothelin-1, ET-1) 水平的变化; 内皮型一氧化氮合酶 (endothelial NO synthase, eNOS) 和 ET-1 基因表达水平的变化; 以及与 AS 病变相关的炎症因子, 如血管细胞黏附分子-1 (vascular cellular adhesion molecule-1, VCAM-1)、细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 和单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1) mRNA 和蛋白表

达水平的变化。结果表明, VEC 结构和功能正常有赖于适当强度的应力和壁面压力的平衡作用, VEC 所受应力和壁面压力不平衡是导致 VEC 形态、结构和功能紊乱的始动因素。本文研究结果为阐明异常血流动力在 AS 疾病发生和发展过程中的作用以及可能的作用机制提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 细胞株** 人脐静脉内皮细胞系 ECV-304 (上海晶抗生物公司)。

**1.1.2 主要试剂及仪器** 改良型 1640 培养基 (上海抚生实业有限公司), 胎牛血清 (江苏晶美生物科技有限公司), II 型胶原酶、胰蛋白酶 (上海麦约尔生物技术有限公司), ET-1 放免试剂盒 (上海信帆生物科技有限公司), 蛋白电泳检测试剂 (北京索莱宝科技有限公司), NO 试剂盒 (上海酶联生物有限公司), PCR 引物 (委托上海生物工程技术有限公司合成), Trizol、氯仿、异丙醇、无水乙醇、第一链 cDNA 合成试剂盒、qPCR 试剂盒 (大连宝生物工程有限公司), VCAM-1、MCP-1 和 ICAM-1 一抗 (Abcam 公司, 英国)。7270 型 PCR 扩增仪 (上海创萌生物科技有限公司)。细胞综合应力刺激实验系统 (上海泉众机电科技有限公司)。该系统利用流动培养液对附着于培养基质的细胞产生切应力, 利用静压力装置对 VEC 施加压力从而产生壁面压力, 利用基底变形加载技术使附着于该底面的 VEC 受到张应力<sup>[4]</sup>。WD-9413B 凝胶电泳成像分析系统 (北京六一仪器厂)。

**1.1.3 HUVECs 传代与培养** 复苏 HUVECs 系 ECV-304, 在 5% CO<sub>2</sub>、37 °C 培养箱中培养至最佳状态后, 以 1×10<sup>5</sup> 个/mL 密度接种于细胞综合应力刺激实验系统中, 选择细胞贴壁生长融合至 80% 时, 开始给细胞加载作用力。将 HUVECs 按所受作用力不同分成应力组 (实验组)、壁面压力组 (实验组) 和正常组 (对照组), 每组 12 孔。对应力组 HUVECs 施加 2 Pa 切应力和 15% 应变张应力; 对壁面压力组 HUVECs 施加 12 kPa 压应力; 对正常组 HUVECs 施加 2 Pa 切应力、15% 应变张应力和 12 kPa 压应力 (符合 AS 不好发部位 VEC 所受的血流动力特点)。3 组在各自作用力的持续作用下培养 24 h, 收集细胞备用。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 HUVECs 细胞形态观察** HUVECs 按照上述培养方法培养 24 h 后,采用显微镜观察细胞的形态和生长情况。

**1.2.2 NO 和 ET-1 测定** 用硝酸还原酶法测定 NO 的含量,按照说明书进行操作。用放射免疫分析法测定 ET-1 的含量,按 ET-1 试剂盒操作说明进行检测。

**1.2.3 qPCR 检测 eNOS、ET-1、VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 mRNA 的表达** 取干预后细胞,按总 RNA 提取说明书用 Trizol 提取,进行逆转录反应生成 cDNA,再进行荧光定量 PCR 反应。PCR 扩增参数:96 °C 预变性 8 min;96 °C,15 s;58 °C,20 s;72 °C,15 s(28 个循环),72 °C 延伸 5 min。绘制 PCR 产物溶解曲线。eNOS、ET-1、VCAM-1、ICAM-1、MCP-1 引物及内参照  $\beta$ -actin 引物用 Primer 5.0 软件设计,结果见表 1。根据  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法通过统计软件对结果进行分析。

表 1 eNOS、ET-1、VCAM-1、ICAM-1、MCP-1 及内参照  $\beta$ -actin 基因实时荧光定量 PCR 引物序列

Tab.1 Real-time qPCR primer sequences for the gene of eNOS, ET-1, VCAM-1, ICAM-1, MCP-1 and  $\beta$ -actin

基因	引物序列	扩增产物大小/bp
ET-1	上游引物 5'-GATTATTGCTCATGATTT-3'	500
	下游引物 5'-TCACCAATGTGCTCGGTG-3'	
eNOS	上游引物 5'-TAGCCAAAGTCACCATCGT-3'	400
	下游引物 5'-GAGCCATACAGGATTGTCG-3'	
VCAM-1	上游引物 5'-CTCCGTCTCATGACTFGC-3'	521
	下游引物 5'-GAACAGTTCATGTCACAG-3'	
ICAM-1	上游引物 5'-CCGAGGTGTATGAACTG-3'	476
	下游引物 5'-TCCATGGTGTCTCTCTC-3'	
MCP-1	上游引物 5'-TTAAGCCCCACTCACCTGCTG-3'	500
	下游引物 5'-GCTTCTTTGGGACACCTGCTGC-3'	
$\beta$ -actin	上游引物 5'-TGACGTGGACATCCGAAAG-3'	223
	下游引物 5'-CTGGAAGGTGGACAGCGAGG-3'	

**1.2.4 蛋白免疫印迹检测** 提取干预后的 HUVECs 细胞总蛋白,检测所提蛋白浓度后。取适量样品进行电泳(12% 聚丙烯酰胺凝胶)分离,而后将蛋白电转移至硝酸纤维素薄膜上。用 5% 脱脂奶粉溶液室温孵育 1 h,分别加入 VCAM-1、MCP-1 和 ICAM-1 一抗(稀释至适当浓度),室温孵育 1.5 h。漂洗后加 HRP 二抗(稀释至 1:3 000)室温孵育 1.5 h。加入化学发光剂,压片,X 胶片曝光、显影、定影。用 GIS 1 000 分析软件测量图片上每个特异条带的分子量和净光密度值,再进行统计计算。

## 1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。特异条带的测量结果以均数 $\pm$ 标准差表示,多组样本比较,服从正态分布,方差齐性,采用方差分析,进一步作两两比较采用 Wilcoxon 检验。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 镜下形态和生长情况

显微镜下观察可见,正常组的 HUVECs 紧密排列呈梭形,其长轴与切应力方向一致,内皮细胞的致密度高,大小均匀,边界清楚,贴壁良好,增生快;应力组和壁面压力组的 HUVECs 呈多角形,皱缩变圆,大小分布不均,排列不规则、紊乱,内皮细胞生长速度较正常组慢(见图 1)。

### 2.2 异常血流动力对 HUVECs 分泌 ET-1 和 NO 的影响

与正常组相比较,应力组 NO 分泌水平明显升高( $P < 0.01$ ),而 ET-1 变化不明显。壁面压力组 ET-1 水平显著升高( $P < 0.01$ ),而 NO 变化不明显(见表 2)。

### 2.3 eNOS、ET-1、VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 mRNA 表达

qPCR 结果显示,与正常组相比较,壁面压力组 ET-1 的 mRNA 表达显著增高( $P < 0.01$ ),应力组

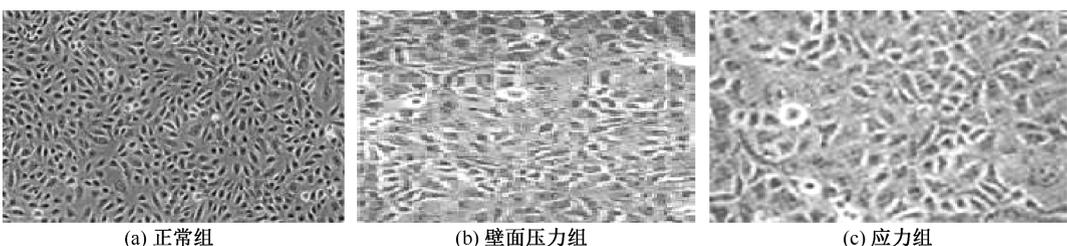


图 1 显微镜下各组 HUVECs 形态( $\times 200$  倍)

Fig.1 Morphology of the HUVECs under microscope (a) Normal group, (b) Wall pressure group, (c) Stress group

表2 异常血流动力学下 HUVECs 分泌 ET-1 和 NO 结果

Tab.2 Results of ET-1 and NO secreted by HUVECs under abnormal blood flow

组别	ET-1/(ng·L <sup>-1</sup> )	NO/(μmol·L <sup>-1</sup> )
正常组	21.05±1.09	52.06±8.03
应力组	19.36±3.49	82.91±8.90*
壁面压力组	56.12±9.13*	48.37±7.87

注:与正常组比较 \**P*<0.01

eNOS 的 mRNA 表达显著增高 (*P* < 0.01)。VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 的 mRNA 表达显著增高 (*P* < 0.01), 见表 3 和图 2。

## 2.4 VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 蛋白表达

蛋白免疫印迹检测结果显示,与正常组相比

表3 ET-1、eNOS、VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 mRNA 表达 (*n*=12)

Tab.3 mRNA expression of ET-1, eNOS, VCAM-1, ICAM-1 and MCP-1

组别	ET-1	eNOS	VCAM-1	ICAM-1	MCP-1
正常组	1.05±0.24	0.78±0.20	1.03±0.04	1.06±0.04	1.05±0.06
应力组	1.17±0.31	1.34±0.13*	2.62±0.47*	2.83±0.35*	2.76±0.26*
壁面压力组	2.16±0.23*	0.61±0.11	2.91±0.31*	2.72±0.37*	2.85±0.28*

注:与正常组比较 \**P*<0.01

较,应力组和壁面压力组 VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 蛋白的表达显著增高 (*P* < 0.01), 见表 4 和图 3。

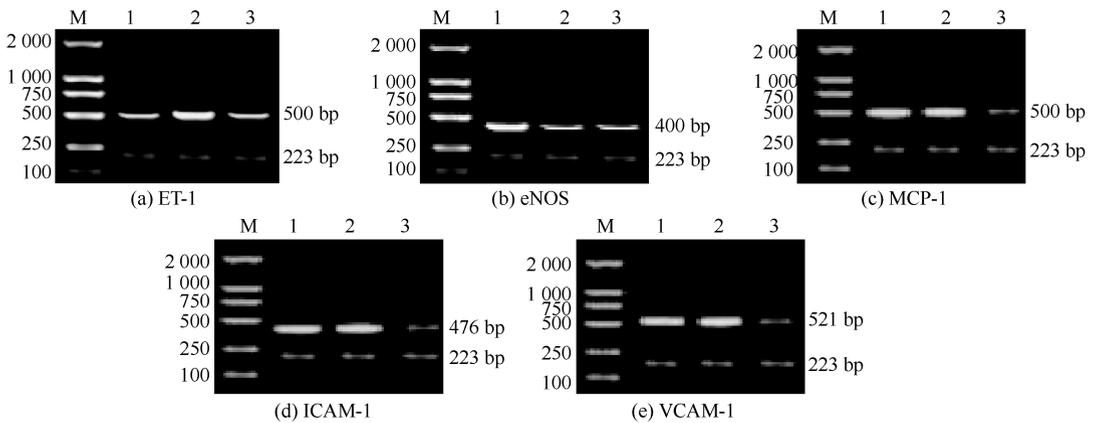


图2 mRNA 表达电泳结果(1-应力组,2-壁面压力组,3-正常组)

Fig.2 Electrophoresis results of mRNA expression (a) ET-1, (b) eNOS, (c) MCP-1, (d) ICAM-1, (e) VCAM-1

表4 VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 蛋白表达结果(*n*=12)

Tab.4 Protein expression of VCAM-1, ICAM-1 and MCP-1

组别	VCAM-1/ GAPDH	ICAM-1/ GAPDH	MCP-1/ GAPDH
正常组	0.27±0.06	0.21±0.05	0.24±0.04
应力组	0.62±0.11*	0.56±0.14*	0.76±0.12*
壁面压力组	0.70±0.13*	0.64±0.15*	0.66±0.11*

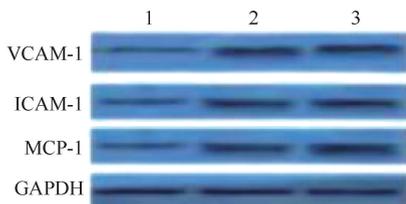
注:与正常组比较 \**P*<0.01

图3 VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 蛋白表达结果 (1-正常组, 2-壁面压力组, 3-应力组)

Fig.3 Protein expression of VCAM-1, ICAM-1 and MCP-1

## 3 讨论与结论

AS 好发于血管走行特殊的大中动脉, AS 好发部位的局灶性分布提示在 AS 发生、发展过程中血流动力学因素是一个非常重要的因素<sup>[5-6]</sup>。AS 好发部位的血流动力学特点(不同于直血管的层流)是情况复杂,作用于 VEC 的力种类多,方向各异,不易测量。因此,逐一研究每一个力对 VEC 的作用效果,然后对各个力的效果进行综合,这种思路实际上并不可行。本文将作用于 VEC 的多个力按力的作用方向归类为应力和壁面压力两类,即可以把作用于 VEC 膜的复杂的多个力分解为应力和壁面压力两个力,使复杂的问题简单化。实验组包括应力组和壁面压力组,表示 AS 好发部位 VEC 所受的血流动力学;正常组为对照组,表示 AS 不好发部位 VEC 所受的血流动力学。以正常组为对照研究异常血流

动力与 VEC 分泌、基因和蛋白表达的关系,使得异常血流动力的研究难点得到化解。本文从 HUVECs 形态、基因和蛋白表达 3 个方面讨论异常血流动力对其的影响。

### 3.1 应力、壁面压力与 VEC 形态

VEC 是衬贴于血管壁内表面的一层连续单层扁平上皮,它可以把血流和血管壁(包括平滑肌细胞和基质蛋白)紧密连系起来<sup>[7]</sup>,通过分泌多种血管活性介质对血流应力、压力以及血液中的炎性信号、激素水平等信息做出应答反应。研究表明,低流体切应力使 VEC 皱缩变圆,大小分布不均,排列紊乱,呈多角形生长,生长速度明显减慢<sup>[8-9]</sup>;该结论与本实验中应力组和壁面压力组的 HUVECs 生长情况相同。但文献<sup>[8-9]</sup>中只考虑了切应力,没有综合考虑其他作用力,故未能真实模拟体内 VEC 所受的异常血流动力环境。仅仅考虑低切应力一个因素是本文应力组中的一种特殊情况,在这种特殊情况下得到的实验结论与文献<sup>[8-9]</sup>相同。同时,本文将这一结论得到扩展,当病灶处多个力共同作用于 VEC 时,上述结论也适用。与正常组相比,应力组和壁面压力组细胞形态异常,生长速度下降,提示应力和壁面压力不平衡的异常血流动力是导致 HUVECs 形态改变的主要因素之一。

### 3.2 应力、壁面压力与 ET-1、NO

ET-1 和 NO 分别是 VEC 合成和分泌的一对重要的内源性缩血管<sup>[10]</sup>和舒血管<sup>[11]</sup>活性物质。ET-1 和 NO 通过各自的生物学功能调节血管的收缩和舒张,维持大中动脉的弹性功能。研究证明,ET-1、NO 分泌量失衡将导致 AS 的发生与发展<sup>[12]</sup>。有关 ET-1、NO 与 AS 的关系,目前研究比较透彻,且上述结论在科学界已经认同,故本文选用这两个指标。eNOS 是生成 NO 的限速酶。本文结果表明,异常血流动力作用于 HUVECs 导致其 ET-1、eNOS 的 mRNA 表达失调(壁面压力组 ET-1 mRNA 表达显著升高,应力组 eNOS 的 mRNA 表达显著升高),进而导致 ET-1、NO 分泌功能紊乱。其可能的信号传导机制是:血流动力作用于 VEC 膜上相应的壁面压力和应力感受器,通过信号传导,壁面压力使 ET-1 mRNA 表达升高,而壁面压力基本不影响 NO 分泌;应力使 eNOS mRNA 表达升高,NO 分泌增多,而应力基本不影响 ET-1 分泌,故在 VEC 内传导壁面压力和应

力的信号通路可能是独立两条。在 AS 好发部位,VEC 膜受异常血流动力作用,应力和壁面压力不平衡,而是其中一种力占优势。如果壁面压力占优势,压力感受器传导的信号强,ET-1 mRNA 表达增强,导致 ET-1 分泌增加,血管收缩效应占优势;如果应力占优势,应力感受器传导的信号强,eNOS mRNA 表达增强,导致 NO 分泌增加,血管舒张效应占优势。而在 AS 不好发部位,VEC 膜受正常血流动力作用,壁面压力感受器传导的信号和应力感受器传导的信号一样强,ET-1 和 NO 分泌产生的血管效应相当,血管保持良好的弹性。由此可见,异常血流动力导致 VEC 分泌 ET-1/NO 失衡是其致 AS 的机制之一。

### 3.3 应力、壁面压力与 VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 表达

ICAM-1、VCAM-1 属于免疫球蛋白超家族中的成员,主要表达于 VEC 表面,介导白细胞和 VEC 黏附。研究表明,ICAM-1、VCAM-1 在 AS 病变组织中显著高表达;而在正常动脉 VEC 中几乎不表达<sup>[13]</sup>,VCAM-1 和 ICAM-1 过量表达与 AS 发生、发展密切相关。MCP-1 是由体内多种细胞分泌的趋化因子家族中的一员,可促进单核-巨噬细胞聚集于 VEC 导致炎症反应,可使平滑肌细胞增生并使其向血管内膜迁移<sup>[14]</sup>,MCP-1 作为一个重要的促 AS 因子参与了 AS 的整个炎症反应过程<sup>[15]</sup>,同时 AS 病变组织中 MCP-1 的表达水平与 AS 的炎症病变呈正相关<sup>[16]</sup>。因此,VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 与 AS 密切相关,且理论成果科学界普遍认同,故本文选择这 3 个参数作为检测指标。

本文结果表明,在应力组和壁面压力组中,HUVECs 的 VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 mRNA 和蛋白表达水平均显著增高,与正常组相比较,两者差异显著。因此,在 AS 不好发部位,VEC 受到正常血流动力作用,VEC 不表达或低水平表达 VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1,没有这些因子,白细胞不被趋化、不集边、不黏附、不游出,血管壁光滑,血流通畅,VEC 发挥正常生理功能,对抗 AS 的形成;而在 AS 好发部位,VEC 受到异常血流动力作用,引起 VEC 大量表达 VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1,这些因子可促进白细胞向 AS 好发部位趋化、聚集,使其向动脉内膜浸润,炎症形成,VEC 间隙增加,进而脂质

浸润,沉积于动脉壁,最终导致AS。因此,异常血流动力通过增加VEC的VCAM-1、ICAM-1和MCP-1的mRNA和蛋白表达,进而促进AS的发生。

综上所述,异常血流动力通过直接影响VEC的形态和功能最终导致AS的发生。因此,AS好发部位的异常血流动力是AS发生的始动因素,异常血流动力的直接作用对象是VEC。

### 参考文献:

- [ 1 ] BUCHANAN JR, KLEINSTREUER C, TRUSKEY GA, *et al.* Relation between non-uniform hemodynamics and sites of altered permeability and lesion growth at the rabbit aorto-ce-  
liac junction [J]. *Atherosclerosis*, 1999, 143(1): 27-40.
- [ 2 ] CHIEN S. Mechanotransduction and endothelial cell home-  
ostasis: The wisdom of the cell [J]. *Am J Physiol Heart  
Circ Physiol*, 2007, 292(3): H1209-H1224.
- [ 3 ] KRIZANAC-BENGEZ L, MAYBERGMR, JANIGRO D. The  
cerebral vasculature as a therapeutic target for neurological  
disorders and the role of shear stress in vascular hor-  
neostatis and pathophysiology [J]. *Neurol Res*, 2014, 26  
(8): 846-853.
- [ 4 ] 刘丽,李乐乐,何福明.体外培养细胞的加力实验装置[J].  
细胞生物学杂志,2011,25(3):157-160.
- [ 5 ] CHANIODES AK, KAIKTSIS I, KATRITSIS D, *et al.* Com-  
putational study of pulsatile blood flow in prototype vessel  
geometries of coronary segments [J]. *Phys Med*, 2016,  
26(3): 140-156.
- [ 6 ] LEHOUX S. Redox signalling in vascular responses to  
shear and stretch [J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 71(2):  
269-279.
- [ 7 ] 任长辉,刘肖,康红艳,等.剪切力条件下血管内皮细胞与  
平滑肌细胞的相互作用[J].医用生物力学,2015,30(2):  
185-191.
- REN CH, LIU X, KANG KY, *et al.* Interactions between  
vascular endothelial cells and smooth muscle cells under  
shear stress [J]. *J Med Biomech*, 2015, 30(2): 185-191.
- [ 8 ] 张鲁,严志强,李玉青,等.流体切应力梯度对血管内皮细胞  
排列和形状的影响[J].医用生物力学,2010,25(5):328-  
333.
- ZHANG L, YAN ZQ, LI YQ, *et al.* Effect of flow shear  
stress gradient on the arrangement and shape of endothe-  
lial cells [J]. *J Med Biomech*, 2010, 25(5): 328-333.
- [ 9 ] CHIU JJ, CHEN LJ, CHEN CN, *et al.* A model for stud-  
ying the effect of shear stress on interactions between vas-  
cular endothelial cells and smooth muscle cells [J]. *J Bio-  
mech*, 2016, 37(4): 531-539.
- [ 10 ] 黄召谊,吴汉卿,叶慧明,等.冠心病对实验性家兔动脉粥样  
硬化血清NO及血浆ET-1的影响[J].微循环学杂志,  
2012,14(1):10-12.
- [ 11 ] LOSCALZO J, WELCH G. Nitric oxide and its role in the  
cardiovascular system [J]. *Pro Cardiovasc Dis*, 2012, 38  
(2): 87-104.
- [ 12 ] 孟威宏.培哚普利对家兔实验性动脉粥样硬化的防治研究  
[J].中国老年学杂志,2012,5(3):231-233.
- [ 13 ] DAVIES MJ, GORDON JL, GEARING AHJ, *et al.* The ex-  
pression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PE-  
CAM, E-selectin in human atherosclerosis [J]. *J Pathol*,  
2015, 171(3): 223-229.
- [ 14 ] DEO R, KHER AA, MEGUIRE DK, *et al.* Association  
among plasma levels of monocyte chemoattractant  
protein-1 traditional cardiovascular risk factors and subelin-  
ical atherosclerosis [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 44(9):  
1812-1818.
- [ 15 ] 刘含嫣,霍清萍.单核细胞趋化蛋白-1与动脉粥样硬化及中  
医药防治[J].中西医结合心脑血管病杂志,2016,9(2):  
218-221.
- [ 16 ] HOOGEVEEN RC, MORRISON A, BOERWINKLE E,  
*et al.* Plasma MCP-1 level and risk for peripheral arterial  
disease and incident coronary heart disease; Atherosclero-  
sis risk in communities study [J]. *Atherosclerosis*, 2015,  
183(2): 301-307.