

血红素氧合酶 1——一氧化碳和一氧化氮合酶 1——一氧化氮系统在动脉粥样硬化中的作用及其相关性研究

牟 娇, 何作云, 王晓兵

(中国人民解放军第三军医大学新桥医院心内科, 重庆市 400037)

[关键词] 病理学与病理生理学; 血红素氧合酶——一氧化碳和一氧化氮合酶——一氧化氮在动脉粥样硬化中的作用; 免疫组织化学; 一氧化氮; 一氧化碳; 一氧化氮合酶; 血红素氧合酶 1

[摘要] 目的 探讨血红素氧合酶 1——一氧化碳和诱导型一氧化氮合酶——一氧化氮在动脉粥样硬化中的变化、相互关系及对动脉粥样硬化进程的影响。方法 家兔予以高胆固醇饮食($n=8$)以及在高胆固醇饮食的同时经饮水给予 L-精氨酸($n=8$)或 L-亚硝基精氨酸甲酯($n=8$), 或经腹腔注射血红素-L-赖氨酸盐($n=8$)或锌原卟啉-9($n=8$), 共 10 周。结果 与对照组比较, 胆固醇组主动脉一氧化氮生成量显著减少, 一氧化碳生成量则明显增加, 一氧化氮合酶活性显著降低(P 均 <0.01), 而血红素氧合酶 1 表达升高, 主动脉斑块面积达 $40.2\% \pm 8.9\%$ 。与胆固醇组比较, 外源性血红素-L-赖氨酸盐干预组的主动脉内膜斑块面积($26.6\% \pm 9.2\%$)明显缩小, 主动脉一氧化碳的生成量和血红素氧合酶 1 的表达明显升高($P<0.01$), 但一氧化氮合酶活性和一氧化氮生成量较正常对照组显著降低($P<0.01$), 与胆固醇组比较则无显著性差异($P>0.05$); 与胆固醇组比较, 外源性 L-精氨酸组主动脉一氧化氮合酶活性显著升高, 一氧化氮生成量增加, 主动脉斑块面积($28.1\% \pm 7.7\%$)明显缩小(P 均 <0.01), 而血红素氧合酶 1 的表达和一氧化碳的生成较正常对照组明显升高, 与胆固醇组比较则无显著性差异($P>0.05$)。与胆固醇组比较, 血红素-L-赖氨酸盐干预组、L-精氨酸组的主动脉组织内 α -myc 及 α -fos 的 mRNA 和蛋白表达均显著降低(P 均 <0.01), 而锌原卟啉组和 L-亚硝基精氨酸甲酯组则无明显差异。结论 动脉粥样硬化进程中, 血红素氧合酶/一氧化碳和一氧化氮合酶/一氧化氮系统显示出互补及代偿性调节作用, 血红素氧合酶系统通过对一氧化氮和一氧化氮合酶的调节和代偿机制抑制动脉粥样硬化病变的发展。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Relationship Between Heme Oxygenase/Carbon Monoxide and Nitric oxide Synthase/Nitric Oxide System in Atherosclerotic Progress

MU Jiao, HE Zu-Yun, and WANG Xiao-Bing

(Department of Cardiology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, PLA, Chongqing 400037, China)

[KEY WORDS] Nitric Oxide; Carbon Monoxide; Nitric Oxide Synthase; Heme Oxygenase 1; Atherosclerosis

[ABSTRACT] Aim To investigate the change rule and correlation of carbon monoxide (CO)/heme oxygenase 1 (HO-1) and nitric oxide (NO)/nitric oxide synthase (NOS) system in atherosclerosis and the influence of the two systems on atherosclerotic progress. Methods The rabbits received 1% cholesterol diet (chol group, $n=8$) or 1% cholesterol diet plus L-arginine (L-arg group, $n=8$) or L-NAME (L-NAME group, $n=8$) by drinking water, or 1% cholesterol diet plus heme-L-lysinate (Heme group, $n=8$) or ZnPP-IX (ZnPP group, $n=8$) by injection in abdominal cavity for ten weeks. Results Compared with contrast group, in chol group, aortic NO production and expression of NOS were decreased markedly; however, CO production and HO-1 activity were increased obviously ($P<0.01$). Compared with chol group ($40.2\% \pm 8.9\%$), aortic plaque areas of heme group ($26.6\% \pm 9.2\%$) was reduced distinctly while aortic CO production and NOS activity were increased obviously ($P<0.01$). However, compared with contrast group, HO-1 expression and CO production in heme group were decreased markedly ($P<0.01$) while they were not different from the chol group ($P>0.05$). Compared with chol group, aortic NOS activity and NO production of L-arg group were increased obviously and aortic plaques area ($28.1\% \pm 7.7\%$) was reduced greatly ($P<0.01$). HO-1 expression and CO production of L-arg group were increased distinctly compared with contrast group while they were not different from chol group ($P>0.05$). Compared with chol group, aortic α -myc and α -fos expression of both heme group and L-arg group were reduced markedly while in ZnPP and L-NAME group they were not different from chol group.

Conclusions The reciprocal relationship between heme oxygenase/carbon monoxide and nitric oxide synthase/nitric oxide system in atherosclerosis could play the inhibitory role against atherosclerotic lesion.

[收稿日期] 2004-09-13

[修回日期] 2005-05-15

[基金项目] 国家自然科学基金资助(39800065)项目

[作者简介] 牟娇, 博士, 讲师, 主要研究方向为动脉粥样硬化的发病机制与防治, E-mail 为 mujiao@yahoo.com。何作云, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为冠心病的发病机理及防治。王晓兵, 博士, 讲师, 主要研究方向为急性冠状动脉综合症的发病机制。

一氧化氮(nitric oxide, NO)是体内最重要的气体信使分子,它是以L-精氨酸为底物,由一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)催化合成的。NOS分为结构型(cNOS)和诱导型(iNOS)。近年的研究发现,内源性一氧化碳(carbon monoxide, CO)是体内另一个重要的气体信使分子,由血红素氧合酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)氧化分解血红素产生。CO在生物体内的作用方式与NO相似,主要通过激活可溶性鸟苷酸环化酶介导而与可溶性鸟苷酸环化酶的亚铁血红素结合,使其变构、激活,增加环磷酸鸟苷(cGMP)的生成,舒张血管平滑肌,从而参与循环系统的调节^[1]。作为内皮依赖性血管舒张因子,NO和CO不仅是调节血管舒缩功能的重要介质,而且还有抑制单核细胞及血小板向内皮的粘附聚集、抑制血管平滑肌细胞增殖、迁移等方面的作用^[2,3]。然而,在动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)进程中HO-1/CO系统与NOS/NO系统的相关性究竟如何尚不清楚。我们在高胆固醇饮食诱导的家兔食饵性As模型上,干预NOS与HO-1的活性,检测NOS、HO活性及NO、CO生成量的变化,以探讨食饵性As进程中HO/CO和NOS/NO系统的变化规律、两者之间的相互关系以及其中可能涉及的调节机制。

1 材料与方法

1.1 主要材料和试剂

新西兰雄性大白兔购自第三军医大学动物所;胆固醇粉、血红素-L-赖氨酸盐、锌原卟啉-IX(ZnPP-IX, 血红素氧合酶抑制剂)、L-精氨酸、L-亚硝基精氨酸甲酯(L-NAME, NOS抑制剂)购自Sigma公司;³H-亮氨酸及³H-脯氨酸由中国原子能科学研究院提供;抗HO-1抗体购自Santa Cruz公司。Elk800型酶标仪为BIO-TEK公司产品;倒置光学显微镜(BX60)为德国Leica公司产品;PCR仪为Eppendorf公司产品。

1.2 动脉粥样硬化模型的复制及实验分组

48只新西兰雄性大白兔,体重平均1.85 kg,随机分为6组:正常对照组、胆固醇组、血红素-L-赖氨酸盐组、ZnPP-IX组、L-精氨酸组及L-NAME组,每组8只。其中正常对照组喂饲正常饲料;胆固醇组每只兔添加胆固醇粉1 g/d,于傍晚给药;血红素干预组及ZnPP-IX组在予以胆固醇的同时,分别经腹腔注射血红素-L-赖氨酸盐[9 mg/(kg·d)]及ZnPP-IX[45 μmol/(kg·d)],共10周;L-精氨酸组及L-NAME组在予以胆固醇的同时,分别经饮水给予L-精氨酸(2.25 g/d)及L-NAME(120 mg/d),共10周。血标本

在禁食12 h后经耳中央动脉抽取。实验结束时将动物麻醉后留取主动脉标本作下一步实验。

1.3 主动脉斑块面积测定

主动脉经10%中性福尔马林液固定,常规脱色后用油红O染色,然后在多媒体彩色病理图文分析系统分别测量斑块面积和主动脉内膜面积,计算斑块面积占主动脉内膜面积的百分比。

1.4 血液生化指标检测

血清总胆固醇(total cholesterol, TC)检测用氧化酶法,氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)测定先用柠檬酸钠沉淀低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL),然后按硫代巴比妥法检测。

1.5 主动脉一氧化氮及一氧化碳生成量的测定

按Greiss法^[4]测定。主动脉孵育液中亚硝酸盐(NO₂⁻)含量代表NO的生成量。取主动脉孵育液500 μL于4℃、10 000 r/min离心15 min,取上清液100 μL,加入Griess试剂和4 mol/L盐酸各100 μL,室温反应10 min,用酶标仪在570 nm处读取光密度值,同时以亚硝酸盐作标准曲线,结果以NO转变为亚硝酸盐表示(μmol/g·protein)。

采用血红蛋白结合及联二亚硫酸盐还原法检测As动脉组织内源性CO含量。取主动脉3~5 mm血管环,用0.01 mol/L、pH7.4磷酸盐缓冲液冲洗血液后称重,每个样品加入2 mL磷酸盐缓冲液后匀浆,取匀浆液0.2 mL,空白管加双蒸水0.2 mL,每管加入2 mL血红蛋白溶液混匀,再加入0.1 mL连二亚硫酸钠溶液混匀后静置10 min后,以空白管为对照,分光光度计测OD₅₄₁和OD₅₅₅,根据文献[5]报道的公式计算。

1.6 主动脉一氧化氮合酶活性检测

主动脉NOS活性检测采用³H-精氨酸转化生成³H-脯氨酸测定法^[6]。取50 μL主动脉组织提取液,加入50 μL反应缓冲液,使其终浓度为50 mmol/L,再加入7.4 kBq³H-精氨酸,于37℃水浴中反应15 min后,用2 mL预冷的终止反应缓冲液(20 mmol/L Hepes液, pH5.5, 内含2 mmol/L EDTA、0.2 mmol/L EGTA和1 mmol/L L-脯氨酸)终止反应,经阳离子交换树脂层析柱分离反应液中的³H-精氨酸和新生成的³H-脯氨酸,收集2 mL流出液和2 mL蒸馏水洗脱液,将收集的样品混匀后取出1 mL于闪烁杯中,加入甲苯-Triton×100闪烁液7 mL,在液闪计数器上测定样品³H-脯氨酸的放射性活性,通过³H-脯氨酸的生成量结合蛋白质浓度计算NOS活性(μmol/g)。

1.7 主动脉血红素氧合酶 1、 σ -myc 和 σ -fos 的 mRNA 及蛋白表达

分别采用逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 和免疫组织化学法检测主动脉内 HO-1、 σ -myc 和 σ -fos mRNA 及蛋白表达情况, 其中扩增 HO-1 cDNA 特异性片段引物为: 上游引物 5'-GAATTCAGCATGC-CCCAGGATGGT-3; 下游引物 5'-TCTAGACTAGGAT-GTTGAGCAGGA-3。

1.8 统计学分析

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间差异采用 t 检验。

2 结果

2.1 主动脉内膜斑块面积

对照组家兔主动脉内膜无粥样斑块形成, 斑块面积在胆固醇组为 $40.2\% \pm 8.9\%$, 血红素组为 $26.6\% \pm 9.3\%$, ZnPP 组为 $42.5\% \pm 9.2\%$, L-精氨酸组为 $28.1\% \pm 7.7\%$, L-NAME 组为 $43.7\% \pm 8.5\%$ 。血红素组与精氨酸组斑块面积均明显小于胆固醇组 (P 均 < 0.01); 而 ZnPP 组、L-NAME 组的斑块面积与胆固醇组比较则无显著变化见图 1 (Figure 1)。

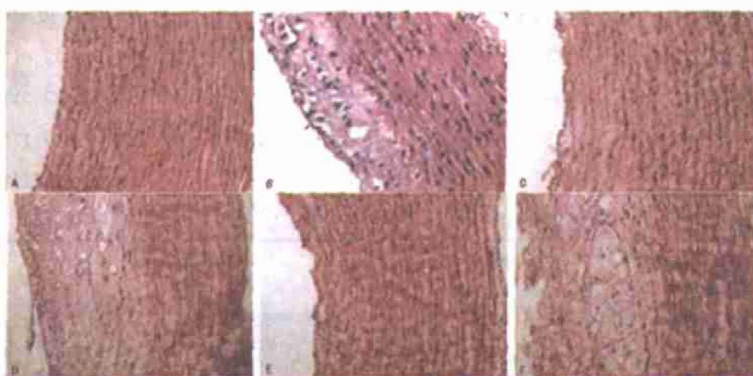


图 1. 光学显微镜下主动脉结构 ($\times 400$) A 为正常对照组, B 为胆固醇组, C 为血红素干预组, D 为 ZnPP-IX 干预组, E 为 L-精氨酸干预组, F 为 L-NAME 干预组。

Figure 1. Aorta structure observed with light microscope

2.2 总胆固醇和氧化型低密度脂蛋白水平

与对照组比较, 高胆固醇饮食各组血清 TC 均升高 20 倍以上, 血浆 ox-LDL 则升高 1 倍左右 (P 均 < 0.01)。血清 TC 及血浆 ox-LDL 在胆固醇组、ZnPP-IX 组、血红素组、L-精氨酸组及 L-NAME 组间均无显著差异。见表 1 (Table 1)。

表 1. 血清总胆固醇和氧化型低密度脂蛋白水平 ($n = 8$)

Table 1. Levels of serum TC and ox-LDL

分 组	TC (mmol/L)	ox-LDL (μmol/L)
对照组	1.45 ± 0.48	1.34 ± 0.26
胆固醇组	35.76 ± 9.63^a	2.72 ± 0.65^a
血红素组	34.42 ± 9.30^a	2.63 ± 0.57^a
ZnPP 组	34.16 ± 8.69^a	2.68 ± 0.67^a
L-精氨酸组	33.88 ± 8.79^a	2.70 ± 0.63^a
L-NAME 组	36.11 ± 9.88^a	2.64 ± 0.59^a

a: $P < 0.01$, 与正常对照组相比。

2.3 主动脉一氧化氮和一氧化碳的生成量

与对照组比较, 胆固醇组主动脉 CO 生成量增

加约 2 倍, 血红素组 CO 生成量增加约 3 倍; L-精氨酸组 CO 生成量较正常对照组明显增加 ($P < 0.01$), 但与胆固醇组比较无显著差异; L-NAME 组与对照组和胆固醇组比较 CO 生成量均显著增加 (P 均 < 0.01); ZnPP 组与胆固醇组比较内源性 CO 生成量明显减少 ($P < 0.01$)。

与对照组比较, 胆固醇组和血红素组主动脉内源性 NO 生成量明显减少 (P 均 < 0.01); 血红素组 NO 生成量与胆固醇组比较无显著差异; ZnPP 组 NO 生成量与胆固醇组比较明显增加 ($P < 0.01$); L-精氨酸组 NO 生成量较对照组无明显改变, 但与胆固醇组比较则显著增加 ($P < 0.01$); L-NAME 组内源性 NO 生成量减少 ($P < 0.01$)。见表 2 (Table 2)。

2.4 主动脉一氧化氮合酶活性

与对照组比较, 胆固醇组和血红素组主动脉 eNOS 活性降低 ($P < 0.01$), iNOS 活性升高 ($P < 0.01$); 血红素组与胆固醇组相比无显著差异; ZnPP 组与胆固醇组比较 eNOS 活性明显升高 ($P < 0.01$); L-精氨酸组与胆固醇组比较 eNOS 活性显著升高 ($P < 0.01$), 而 iNOS 活性则无显著差异; L-NAME 组

eNOS、iNOS 活性较其它各组均明显降低(P 均 <0.01)。见表 2(Table 2)。

2.5 血红素氧合酶 1、 c-myc 和 c-fos 的表达

HO-1 在正常对照组主动脉内皮细胞内呈扭曲线条状阳性反应,在平滑肌细胞内呈阴性反应;在胆固醇组、血红素组、L-精氨酸组及 L-NAME 组的主动脉内皮细胞和平滑肌细胞内均呈强阳性;而在 Zn-

PP-IX 组仅有弱阳性表达(图 2, Figure 2)。 c-myc 、 c-fos 蛋白表达比较接近,在正常对照组主动脉管壁均无明显表达, L-NAME 组、ZnPP-IX 组和胆固醇组呈强阳性, L-精氨酸组及血红素组呈弱阳性。RT-PCR 结果显示 HO-1(表 2, Table 2)、 c-myc 及 c-fos 的 mRNA 表达(图 3, Figure 3) 与其免疫组织化学检测结果基本吻合。

表 2. 主动脉一氧化氮和一氧化碳生成量及一氧化氮合酶和血红素氧合酶 1 mRNA 的表达 ($n=8$)

Table 2. Results of measured production of NO/CO and mRNA expression of NOS/HO-1

分 组	NO	CO	eNOS	iNOS	HO-1
对照组	110.72±18.10	0.135±0.016	100.02±10.67	107.26±10.89	1
胆固醇组	78.63±15.12 ^a	0.276±0.017 ^a	60.17±9.98 ^a	134.36±12.01 ^a	1.62±0.143 ^a
血红素组	77.10±13.55 ^a	0.545±0.025 ^b	62.73±8.74 ^a	133.92±12.51 ^a	2.17±0.196 ^b
ZnPP 组	106.56±19.18 ^a	0.186±0.011 ^b	78.55±8.63 ^b	135.90±13.17 ^a	1.21±0.097 ^b
L-精氨酸	108.73±17.84 ^a	0.282±0.015 ^a	92.73±9.66 ^a	129.48±11.33 ^a	1.58±0.123 ^a
L-NAME 组	62.69±1.34 ^b	0.384±0.017 ^b	43.69±7.24 ^b	73.19±8.64 ^b	1.86±0.135 ^b

a: $P<0.01$, 与正常对照组相比; b: $P<0.01$, 与胆固醇组相比。

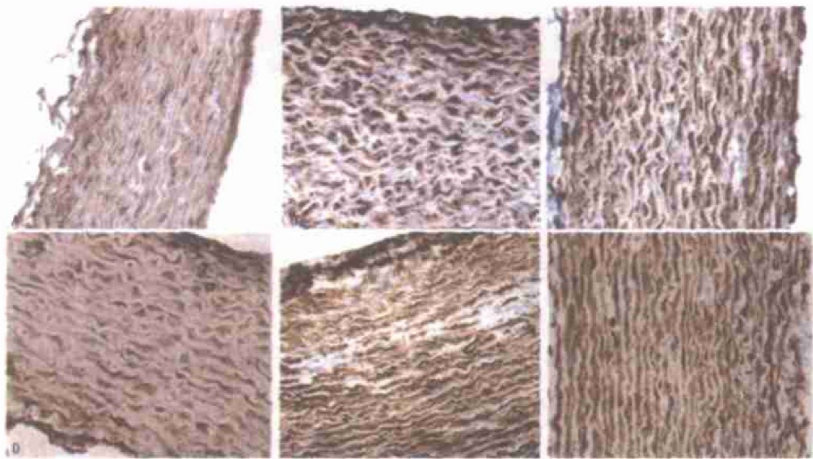


图 2. 免疫组织化学检测主动脉内血红素氧合酶 1 的表达 ($\times 400$) A 为正常对照组, B 为胆固醇组, C 为血红素组, D 为 ZnPP 组, E 为 L-NAME 组, F 为 L-精氨酸组。

Figure 2. HO-1 expression in the aorta measured by immunohistochemistry

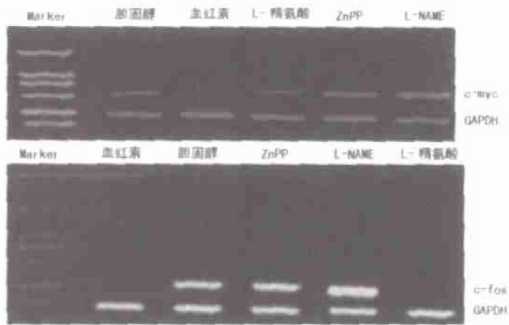


图 3. 逆转录聚合酶链反应检测 c-myc 和 c-fos mRNA 表达
Figure 3. mRNA expression of c-myc and c-fos measured by RT-PCR

3 讨论

动脉粥样硬化(As)是心血管疾病的重要原因之一,其主要病理改变是内皮舒张因子产生减少及内皮细胞受损,平滑肌细胞增殖、脂质沉积,从而引起血管壁增厚乃至管腔狭窄,血管张力增加。研究发现,血管内皮及平滑肌细胞能够产生内源性 NO 和 CO,二者在 As 进程中具有重要的保护作用^[7]。HO/CO 系统和 NOS/NO 系统之间在形式上和调节上相似。HO 和 NOS 均有固定及可诱生的形式。HO-1 和 iNOS 在许多器官和组织中都能被诱生,它们的诱

生包括基因激活和酶蛋白合成。CO 在生物体内的作用方式与 NO 相似,主要通过激活可溶性鸟苷酸环化酶介导,与可溶性鸟苷酸环化酶的亚铁血红素结合,使其变构、激活,增加 cGMP 的生成,舒张血管平滑肌、抑制血管平滑肌细胞增殖、迁移,在 As 进程中起重要的生物学作用^[8]。NO 与 cGMP 的亲合力比 CO 强 50 倍,因此在生理状态下 NO 起主要作用^[9]。在 As 病变发展过程中,由于内皮功能受损,内皮型 NOS(eNOS)表达或活性下降,内源性 NO 产生减少,而平滑肌细胞表达的诱导型 NOS(iNOS)活性增加,产生大量 NO 自由基,与过氧阴离子反应形成过氧化亚硝酸盐,引起组织损伤,促进 As 病变的发展。同时,在白细胞介素 1 β 刺激条件下, β -极低密度脂蛋白也能诱导血管平滑肌细胞表达 iNOS^[10],促进 NO 自由基形成,从而参与 As 病变的发生与发展。研究表明,在 As 病变发展过程中,HO-1 诱导性表达,CO 产生增多,一方面能增加 cGMP,代偿 eNOS 产生的 NO 的功能不足,另一方面可能通过以下机制抑制 iNOS 的活性及产生,减少组织损伤: NOS 是一种血红素蛋白,活性位点需要 2 个血红素分子,激活的 HO 能加速血红素的降解,破坏 NOS 的合成;④NOS 是一种细胞色素 P450 型血红蛋白,P450 是 HO 作用的底物,因此,HO 活性增加能促进 NOS 的降解;⑤CO 能与 NOS 结合,使之失活^[11]; 血红素分解过程中释放的铁能通过抑制核转录进一步抑制 NOS 的产生。

在食饵性 As 进程中 HO/CO 与 NOS/NO 系统的相互关系究竟如何呢? 本研究提示: 内源性 NO 和 CO 均具有抗 As 作用,这种作用可能并非通过其对血浆 TC 及 ox-LDL 的调节来实现;④通过血红素-L-赖氨酸盐干预食饵性兔 As 斑块使 HO-1mRNA 及蛋白表达增加,内源性 CO 浓度亦随之升高,而原癌基因 c-myc 和 c-fos 的 mRNA 表达降低,血管平滑肌细胞增殖受抑,显示出有效的抗 As 作用;⑤HO/CO 系统和 NOS/NO 系统存在相互调节机制,生理状态下,NO 的调节起主要作用,As 进程中,HO/CO 和 NOS/NO 系统则显示出互补及代偿性调节作用。As 时,eNOS 表达或活性下降,内皮源性 NO 产生减少,而平滑肌细胞表达的 iNOS 活性增加,产生大量 NO 自由基,刺激细胞凋亡和胶原组织降解,促进 As 的形成,NO 自由基还可与过氧阴离子反应形成过氧化

亚硝酸盐,引起组织损伤。在 As 形成中 HO-1 的活性及 CO 的产生增加,一方面能增加 cGMP,舒张血管,代偿 eNOS 产生的 NO 的功能不足;另一方面,HO-1/CO 系统可通过多种途径抑制 iNOS 的活性及产生,减少动脉组织损伤。在本研究中证实了 HO 系统能够通过对 NO 及 NOS 的调节和代偿作用抑制 As 病变的发展。

Morita 等^[12]发现血管平滑肌细胞源 CO 可以通过对内皮素 1 和血小板源生长因子 B 的抑制,控制血管平滑肌细胞的生长,从而在 As 形成中发挥防御作用。本文研究显示,血红素组 c-fos 和 c-myc 的表达较胆固醇组明显下调,而 c-fos 和 c-myc 的表达与血管平滑肌细胞的增殖有关,因此在已有的研究基础上,进一步明确了 HO-1/CO 系统抗 As 的作用靶点。

[参考文献]

- [1] Otterbein LE, Zuckerbraun BS, Haga M, Liu F, Song R, Ushewa R, et al. Carbon monoxide suppresses atherosclerotic lesions associated with chronic graft rejection and with balloon injury. *Nat Med*, 2003, **9** (2): 183-190
- [2] Gryglewski RJ, Chlopicki S, Uracz W, Marcinkiewicz E. Significance of endothelial prostacyclin and nitric oxide in peripheral and pulmonary circulation. *Med Sci Monit*, 2001, **7** (1): 1-16
- [3] Durante W, Kroll MH, Christodoulides N, Peyton KJ, Schafer AL. Nitric oxide induces heme oxygenase-1 gene expression and carbon monoxide production in vascular smooth muscle cells. *Circ Res*, 1997, **80** (4): 557-564
- [4] Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite and 15N nitrate in biological fluids. *Anal Biochem*, 1982, **126** (2): 131-138
- [5] Morita T, Kourembanas S. Endothelial cell expression of vasoconstrictors and growth factors is regulated by smooth muscle cell-derived carbon monoxide. *J Clin Invest*, 1995, **96** (1): 267-282
- [6] 徐少平,李鲁光,唐朝枢,余燕秋,沙鸥,程友琴,等. 一氧化氮及其合酶在家兔粥样硬化动脉的改变及 L-精氨酸的作用. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7** (3): 197-200
- [7] 程友琴,王士雯. 内源性 CO 在心血管系统的细胞信使作用. *生理科学进展*, 1998, **29** (8): 145-147
- [8] 喻陆,何作云. 实验性兔动脉粥样硬化发病过程中内源性一氧化碳及其合成酶基因表达的改变. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7** (2): 120-124
- [9] Siow RC, Sato H, Mann GE. Heme oxygenase-carbon monoxide signaling pathway in atherosclerosis: antiatherogenic actions of bilirubin and carbon monoxide? *Cardiovasc Res*, 1999, **41** (2): 385-394
- [10] Takahashi M, Takahashi S, Shimpo M, Naito A, Ogata Y, Kobayashi E, et al. Beta very low density lipoprotein enhances inducible nitric oxide synthase expression in cytokine-stimulated vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis*, 2002, **162** (2): 307-313
- [11] Hartsfield CL. Cross talk between carbon monoxide and nitric oxide. *Antioxid Redox Signal*, 2002, **4** (2): 301-307
- [12] Morita T, Perrella MA, Lee ME, Kourembanas S. Smooth muscle cell derived carbon monoxide is a regulator of vascular cGMP. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92** (9): 1475-479

(此文编辑 文玉珊)