论著

文章编号:1000-5404(2010)18-1976-05

NF-κB在兔蛛网膜下腔出血模型基底动脉中的表达及其与血管平滑肌增殖的关系

张建忠,周 政,刘 俊,杨 辉,黄 巍,张 旋,冯宝海 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院神经外科)

【摘要】 **目的** 观察兔蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage,SAH)模型基底动脉中核转录因子(nuclear factor-κB,NF-κB)和增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen,PCNA)的时间动态表达情况,并分析NF-κB与SAH诱导的基底动脉壁增殖的关系。**方法** 40只雄性新西兰大白兔完全随机分为假手术组和SAH组,每组20只,每组各分为术后1、4、7、14 d亚组($n=5$)。SAH组采用枕大池二次注血法建立脑血管痉挛动物模型,假手术组注入等量生理盐水,各组于二次注血术后第1、4、7、14天观察基底动脉组织病理学改变,并应用免疫组化、Western blot法分析各组基底动脉中NF-κB、PCNA阳性细胞比值和蛋白水平表达的差异。**结果** 与假手术组相比,SAH组基底动脉血管壁平滑肌随观察时间逐渐增厚,管腔狭窄,在第7天达高峰($P<0.05$),在第14天时恢复至正常水平;NF-κB和PCNA蛋白表达随时间逐渐增强,在第7天达高峰($P<0.05$),在第14天时表达下降。NF-κB的表达与基底动脉平滑肌厚度变化及PCNA表达变化呈显著正相关($r=0.80$、$r=0.75$,$P<0.05$)。**结论** NF-κB的激活可能参与了SAH后脑血管平滑肌细胞增殖,NF-κB可能通过转录多种促血管增殖因子参与SAH诱导的血管壁增殖过程。

【关键词】 蛛网膜下腔出血;NF-κB;增殖细胞核抗原;平滑肌细胞;细胞增殖;兔

【中图法分类号】 R743.35;R322.121;R329.25 【文献标志码】 A

Relationship of NF-κB expression with vascular proliferation in basilar artery of subarachnoid hemorrhage rabbits

Zhang Jianzhong, Zhou Zheng, Liu Jun, Yang Hui, Huang Wei, Zhang Xuan, Feng Baohai (Department of Neurosurgery, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

【**Abstract**】 **Objective** To investigate the dynamic expressions of nuclear transcription factor nuclear factor-κB (NF-κB) and the dynamic profile of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in the basilar artery of rabbit model of subarachnoid hemorrhage (SAH), and explore the relationship of NF-κB and basilar artery wall proliferation. **Methods** Forty New Zealand male rabbits were randomly divided into Sham group and 4 SAH groups according to different time points ($n=5$). Animal models of cerebral vasospasm was established by double injections of fresh autologous arterial blood into the cisterna magna. The animals of sham group received an injection of normal saline as same volume. In 1, 4, 7 and 14 d after second injection, the rabbits were killed and the basilar artery was taken out. Expressions of NF-κB and PCNA of basilar artery were determined by immunohistochemical staining and Western blot analysis. Morphological changes of rabbit basilar artery were observed after HE staining. **Results** Compared with Sham group, the smooth muscle layer of basilar artery wall in SAH group were gradually thickening, and the lumen became stenosed during the observation period, and these phenomena peaked on the 7th day ($P<0.05$) and restored to normal conditions on the 14th day. The protein expression of NF-κB of basilar artery was markedly higher in SAH rabbits with time elapse, and reached the peak on 7th day ($P<0.05$), however, it was decreased significantly on 14th day. Interestingly, the expression of PCNA in the basilar artery was in coincidence with that of NF-κB in SAH rabbits. Moreover, the expression of NF-κB protein was positively correlated with the thickening of smooth muscle wall and the expression of PCNA protein ($r=0.80$, $r=0.75$, $P<0.01$). **Conclusion** Activation of NF-κB may be involved in the proliferation of cerebral vascular smooth muscle cells after SAH. NF-κB might take part in vascular wall thickening after SAH *via* transcripting multiple vascular proliferation factors.

【**Key words**】 subarachnoid hemorrhage; NF-kappa B; proliferating cell nuclear antigen; myocytes, smooth muscle; cell proliferation; rabbits

Corresponding author: Zhou Zheng, Tel: 86-23-68774010, E-mail: bigbrain@yahoo.com.cn

【通信作者】 周 政,电话:(023)68774010,E-mail:bigbrain@yahoo.com.cn

蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage,SAH)占所有卒中患者的6%~8%。25%病例在SAH后24 h内死亡,在出血后1个月内病死率上升到40%~60%,总体病死率约占50%[1]。70%的幸存者中在出血后4~7 d出现迟发性血管痉挛(delayed cerebral vasospasm,DCVS),这是SAH患者最严重的并发症,由其引起的病死率甚至超过动脉瘤破裂及再出血本身引起的病死率,30%病例遗留严重的认知功能障碍和局灶性神经功能障碍[2]。目前关于DCVS的发病机制尚未完全阐明,最近的研究[3-5]提示其发生可能与脑血管壁增殖有关。已有文献报道指出,血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor,PDGF)、转化生长因子(transforming growth factor,TGF-β1)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)等可能与血管壁增殖有关[6]。越来越多的研究者认为,免疫炎症机制可能参与了SAH后血管痉挛(cerebral vasospasm,CVS)的产生。NF-κB作为炎性反应的核心因子之一,广泛调节炎性损伤,但与SAH后DCVS与脑血管壁增殖关系还不清楚。本研究拟通过建立兔蛛网膜下腔出血模型,观察脑血管壁的NF-κB、PCNA表达的变化规律,并分析二者相关性,为SAH诱发的脑血管壁增殖机制的研究提供初步的实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

兔抗NF-κB p65多克隆抗体、生物素化羊抗兔二抗购自北京博奥森生物技术有限公司,鼠抗PCNA单克隆抗体购自美国Abcam公司。SABC免疫组化试剂盒购自武汉博士德公司,Western blot相关试剂购自碧云天生物技术公司,Bio-Rad电泳仪,G. BOX凝胶成像分析系统。

1.2 实验动物

4月龄雄性成年新西兰大白兔40只,由第三军医大学新桥医院实验动物中心提供并饲养,体质量2.0~2.4 kg。动物饲养及实验操作均遵照第三军医大学实验动物饲养与使用规定。采用完全随机分组,分为SAH组20只,假手术组20只,每组各分为术后1、4、7、14 d亚组($n=5$)。

1.3 实验方法

模型制作参照黄巍等[7]实验方法,假手组和SAH组兔应用3%戊巴比妥钠(1 ml/kg)自耳缘静脉注射麻醉,用23号穿刺针穿刺枕大池,放出脑脊液约1.5 ml,SAH组取等量的非肝素化耳动脉血缓慢(1~3 min)注入枕大池内,头低30°俯卧位30 min,麻醉苏醒后送到动物室饲养并观察。48 h后采用同样方法进行二次注血。假手术组在枕大枕穿刺成功并放出脑脊液后注入等量生理盐水,余处理同SAH组。

1.3.1 灌注取基底动脉组织方法 全部实验兔麻醉后自箭突下U形开胸打开心包。8号穿刺针自左心室穿入升主动脉,应用0.9%生理盐水快速灌注,同时剪开右心耳,并阻断腹主动脉和下腔静脉,至从右心耳流出液清亮后行枕部开颅,迅速剥离附着于脑干上的基底动脉,放入冻存管,置于液氮中保存,用于Western blot实验。另外,在部分实验中,留取中段脑桥部基底动脉放入4%多聚甲醛中固定72 h,用于行病理切片。

1.3.2 基底动脉病理学观察 4%多聚甲醛固定3 d后基底动脉行石蜡包埋,常规组织切片,HE染色,进行病理形态观察,并应用Leica Appliation Suite 2.8.1软件行血管平滑肌厚度测量。

1.3.3 免疫组化检测基底动脉NF-κB p65、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen,PCNA)表达 基底动脉经包埋、切片处理后按照SABC试剂盒说明进行免疫组化染色。切片脱蜡、脱水、热修复、山羊血清封闭后分别加入抗NF-κB p65多抗(1∶100)及鼠抗PCNA单克隆抗体(1∶100)4 ℃孵育过夜。PBS洗后分别滴加生物素化羊兔二抗及生物素化山羊抗小鼠二抗。37 ℃孵育1 h,PBS冲洗3次后,加SABC三抗。最后用DAB显色,苏木精核染,自来水冲洗,0.5%的盐酸水分化,自来水冲洗30 s返蓝,梯度脱水,二甲苯透明,中性树胶封片、镜检。每张切片基底动脉断面(×200),计数免疫组化染色阳性细胞数比例。计算阳性细胞所占的比率。NF-κB p65阳性染色以细胞核染色和(或)细胞质染色,呈棕黄色。PCNA阳性细胞细胞核呈黄色。

1.3.4 Western blot检测NF-κB p65、PCNA蛋白表达 用剪刀剪取约50 mg组织,置于组织匀浆器中,加入1 ml RIPA,匀浆5~20 min直到组织充分破碎,然后冰上放置20 min后,再匀浆5~20 min,将匀浆液吸出放到1.5 ml离心管中,超声匀浆,4 ℃、12 000×g离心10 min,上清液用于蛋白印迹分析。提取组织总蛋白定量后取等量蛋白经12%聚丙烯酰胺凝胶电泳后转移至硝酸纤维膜上,5%脱脂奶粉封闭1 h,一抗为1∶200稀释的NF-κB p65、PCNA抗体和1∶2 000稀释的β-actin 37 ℃孵育1 h,加辣根过氧化物酶标的山羊抗小鼠IgG,37 ℃孵育1 h后加入发光剂,以Gel pro 4.0版凝胶光密度分析软件进行分析谱带强度,测其IOD值。将β-actin的IOD值作为1,NF-κB p65、PCNA蛋白表达结果以与β-actin的比值表示。

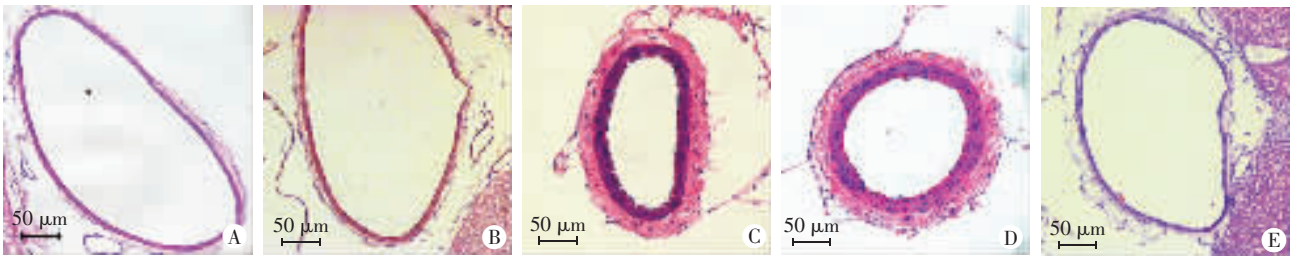
1.4 统计学分析

采用SPSS 11.5统计软件进行分析,数据用$\bar{x}\pm s$表示,组间比较采用方差分析。NF-κB与PCNA蛋白表达及血管平滑肌厚度变化采用单因素直线相关分析。

2 结果

2.1 基底动脉HE染色、一般组织学观察及平滑肌厚度测量

常规HE染色显示(图1):假手术组兔基底动脉内膜光滑,内皮细胞结构完整,内弹力膜无皱褶,管壁无增厚,结构层次清楚。中层平滑肌较薄,中膜平滑肌细胞及细胞外基质排列整齐。SAH各组与假手术组组相比,均显示不同程度的血管管腔狭窄,其中以第7天组变化最显著。血管壁发生了明显的病理



A：假手术组7 d；B：SAH后1 d；C：SAH后4 d；D：SAH后7 d；E：SAH后14 d

图1 假手术7 d组与SAH术后各组基底动脉HE染色观察

改变，表现为血管壁增厚，管腔变窄；内皮细胞肿胀、变形、脱落；内弹力膜明显迂曲、皱褶，厚薄不均；中膜可见明显变厚（表1），平滑肌细胞排列紊乱，细胞变性，核弯曲变形多见，核周间隙增宽，细胞外间质增多；血管外膜可见淋巴细胞和单核细胞浸润。SAH第14天组可见基底动脉管腔狭窄稍缓解。

表1 假手术组与SAH术后各组基底动脉平滑肌厚度（μm，$n=5$，$\bar{x}\pm s$）

组别	1 d	4 d	7 d	14 d
假手术组	11.98±3.05	13.51±4.87	11.57±3.92	13.32±3.39
SAH组	14.08±4.37	27.62±7.06[a]	38.05±7.08[a]	13.21±3.87

a：$P<0.05$，与假手术组比较

2.2 基底动脉壁NF-κB p65、PCNA表达阳性率比较

NF-κB p65在各组兔基动脉中均有不同程度的表达，主要存在于内皮细胞、平滑肌细胞中，主要表达在细胞质和部分细胞核中，表现为条状或点片状黄褐色，尤以SAH后7 d组最为明显，与其他各组比较具有显著差异（$P<0.05$）。而在该时间点，PCNA阳性细胞计数亦相应增多，PCNA阳性表达的细胞表现为细胞核呈棕黄色染色，SAH 4 d组和7 d组基底动壁NF-κB p65及PCNA阳性率明显高于假手术组7 d组（$P<0.05$），以7 d组阳性细胞表达数最多。NF-κB p65及PCNA阳性细胞比值相关分析示呈显著正相关（$r=0.86$，$P<0.05$），见图2、3，表2。

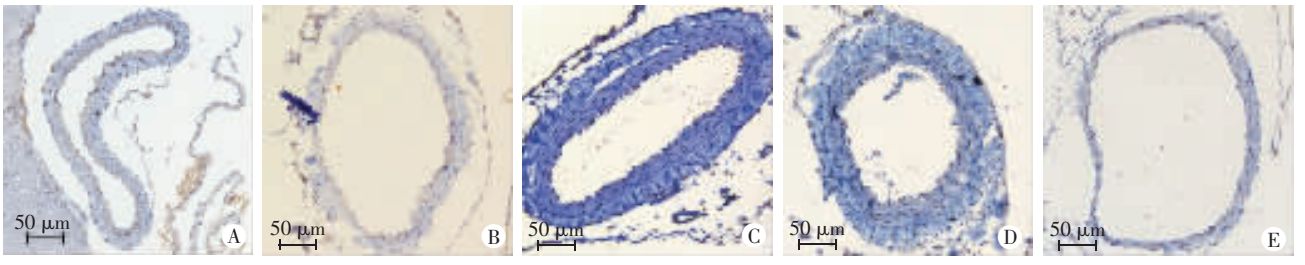
表2 假手术7 d组与SAH术后各组基底动脉NF-κB p65、PCNA阳性细胞比例（%，$n=5$，$\bar{x}\pm s$）

组别	NF-κB p65	PCNA
假手术组7 d	0.13±0.04	0.17±0.06
SAH组1 d	0.22±0.80	0.32±0.08
SAH组4 d	0.37±0.09[a]	0.50±0.11[a]
SAH组7 d	0.52±0.11[a]	0.64±0.09[a]
SAH组14 d	0.15±0.06	0.18±0.06

a：$P<0.05$，与假手术组比较

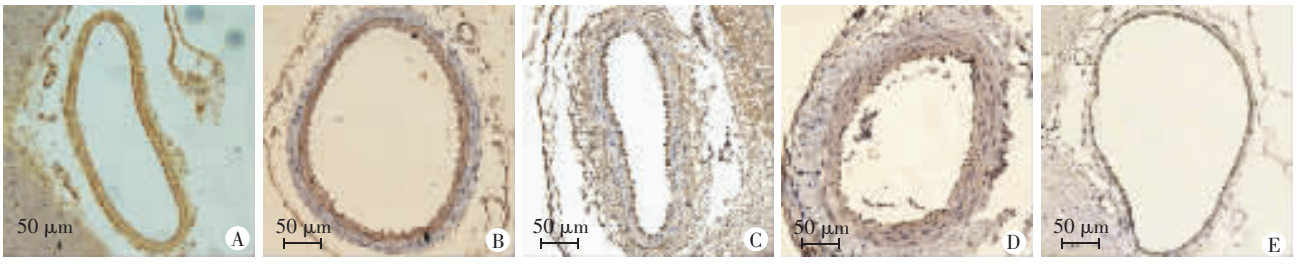
2.3 Western blot检测基底动脉NF-κB p65、PCNA蛋白表达

Western blot结果显示（图4）：SAH注血后基底动脉的NF-κB p65、PCNA蛋白表达随时间增加，7 d达到高峰，随后呈下降趋势，且二者动态表达具有同步性，4、7 d组与假手术组组间比较差异具有统计学意义（$P<0.05$）。NF-κB p65与PCNA蛋白表达及血管平滑骨厚度分别进行单因素相关分析，结果表明与后二者呈显著正相关（$r=0.75$和$r=0.80$，$P<0.05$）。NF-κB表达越多，血管平滑肌增厚越明显。



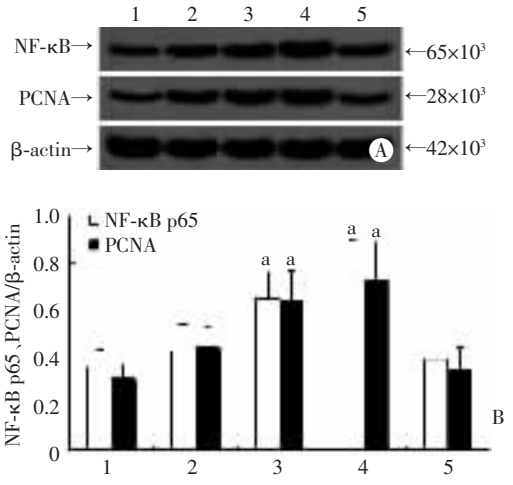
A：假手术组7 d；B：SAH后1 d；C：SAH后4 d；D：SAH后7 d；E：SAH后14 d

图2 假手术7 d组与SAH术后各组基底动脉PCNA表达 （SABC）



A：假手术组7 d；B：SAH后1 d；C：SAH后4 d；D：SAH后7 d；E：SAH后14 d

图3 假手术7 d组与SAH术后各组基底动脉NF-κB p65表达 （SABC）



1：假手术组 7 d；2：SAH 1 d；3：SAH 4 d；4：SAH 7 d；5：SAH 14 d
A：Western blot 结果；B：蛋白半定量分析　a：$P<0.05$，与假手术组 7 d 比较

图 4　Western blot 检测各组基底动脉 NF-κB、PCNA 蛋白表达

3　讨论

目前，SAH 后 DCVS 的确切病理机制尚未完全清楚，而且应用各种血管扩张剂预防和逆转 DCVS 均是比较困难的，越来越多的研究发现 DCVS 的出现不仅仅是痉挛动脉的持续收缩引起，脑血管壁的结构性改变，如细胞的增殖和凋亡也参与这一复杂的病理过程[3,8,9]。但其具体的作用机制尚未阐明。在本研究中，我们发现：①与假手术组相比，SAH 组基底动脉血管壁平滑肌随观察时间逐渐增厚，管腔狭窄，在第 7 天达高峰；②NF-κB 和 PCNA 蛋白表达随时间逐渐增强，在第 7 天达高峰，与假手术组组相比具有显著差异，相关分析结果示二者具有显著正相关性；③随 NF-κB 表达增多，血管平滑肌增厚现象越明显。

近来研究发现，在 SAH 后 DCVS 的发生过程中，脑血管壁细胞的增殖变化起了重要作用，血管壁的增生可导致血管腔的狭窄。2003 年 Borel 等[6]发现血凝块所在部位的脑血管有平滑肌细胞和成纤维母细胞的增殖，并用血清刺激体外培养的人软脑膜血管 7 d，发现血管外膜及平滑肌出现明显增殖性改变，并认为是细胞的增殖和管壁增厚导致了 DCVS。罗等应用大鼠枕大池二次注血模型的研究中发现二注血后第 4 天后出现血管平滑肌增厚，直至第 7 天达到高峰，同时 PCNA 表达阳性第 7 天有较强表达，认为 SAH 后 DCVS 的发生和严重程度与血管壁增殖程度密切相关[10]。这与我们研究发现相符合，说明血管壁增殖在 DCVS 的发生中起了重要作用。

NF-κB 是一种多向性转录因子，通过激活靶基因表达，广泛参与机体的免疫炎症反应、细胞周期调控、细胞增殖分化与凋亡，对平滑肌细胞的异常增殖起着关键性作用[11]。我们实验发现 NF-κB 蛋白在枕大池二次注血后表达随时间逐渐增强，在第 7 天达高峰，随后逐渐出现回落，且与 PCNA 的表达及血管平滑肌的增厚具有同步性，说明其在 SAH 后对血管增殖性变化起了至关重要的作用。其机制可能是多途径的。

各种生长因子通过激活 NF-κB 信号传递通路刺激血管平滑肌细胞增殖。文献[12－15]证明 SAH 后患者脑脊液中及脑血管上促进血管壁增殖的细胞因子如 PDGF、TGF、VEGF 等明显增高，PDGF 和 TGF-β1 具有促进细胞分裂、趋势化的作用，并能刺激血管平滑肌细胞、成纤维细胞、胶质细胞的分裂增生[6]。VEGF 主要引起血管内皮细胞的增殖反应。这种血管壁细胞的增殖和细胞外基质沉积可能导致血管壁顺应性下降和管腔面积的减少[16]。Shibata 等[17]在乳腺癌研究中发现 NF-κB 与 VEGF 表达具有显著相关性，通抑制 IκBα 的降解而减低 NF-κB 的活化，可以显著减少 VEGF mRNA 的表达，认为 NF-κB 可以在基因水平上对 VEGF 表达进行调控。TGF-βl 可以促进 NF-κB 进人细胞核并提高 NF-κB 的转录活性，机制可能是 TGF-βl 通过 PI3K/Akt 和 MAPK/ERK1、2 信号传导途径介导 NF-κB 的活化而进一步促进 TGF-β1 的表达[18]。Chen 等[3]在实验性 SAH 模型中发现应用 ERK 选择性抑制剂 PD98059 可明显降低血管平滑肌 PCNA 表达，其分子机制可能与 PD98059 抑制 IκBα 磷酸化降解，阻止 NF-κB 的 DNA 结合活性有关[19]。Eng 等[20]发现，用 IL-1β 激活 NF-κB，可以上调 PDGF-BB 的水平。用 NF-κB 的抑制剂 MG-132 则下调 PDGF-BB 的表达。其作用机制可能是 NF-KB 通过与 PDGF-BB 启动子的反应元件结合而调控 PDGF-BB 的表达[21]。

NF-κB 可以通过调节细胞周期素的表达而促进血管平滑肌细胞的增殖。细胞周期素依赖激酶的激活是细胞周期得以顺利进行的关键，细胞周期素 cyclin D 基因上具有 NF-κB 结合位点，NF-κB 可以结合在 cyclin D 的启动子上激活其转录，使细胞通过 G1/S 期速度加快、细胞周期进程加速，DNA 合成与增殖增加[22]。血管平滑肌细胞被激活后可通过启动细胞周期来完成其增殖过程。

PCNA 是细胞内的低分子量蛋白质，由于其在 S 期细胞核内表达大幅增加，在 G_2～M 期表达下降，其量的变化与 DNA 合成一致，故也称之为细胞周期蛋白，通过检测其在细胞中表达变化情况，可以了解细胞

分裂增殖的情况[23]。我们实验发现,PCNA表达明显增加,尤其以注血后7 d表达最为明显,说明SAH后DCVS血管壁细胞增殖活性增加,且与NF-κB动态表达变化一致。7 d后NF-κB、PCNA表达逐渐下降,可能与蛛网下腔出血逐渐吸收,炎性反应逐渐减退有关。

综上所述,通过病理学观察显示,SAH后DCVS的过程与出现脑血管壁增殖变厚组织病理学变化一致,提示SAH后脑血管壁的增殖反应在参与了DCVS形成。NF-κB在SAH后表达变化与PCNA表达变化相一致,说明NF-κB在DCVS中血管壁的增殖变化中起了重要作用,并可通过多种机制来引起血管壁的增殖反应。目前NF-κB与PCNA之间具体作用机制还未完全明了,以上研究提示SAH后深入研究NF-κB活化与PCNA表达的关系,研究抗脑血管壁细胞增殖反应可能为治疗DCVS提供一种新的途径,而NF-κB有可能成为研究SAH后血管壁增殖变化的靶点。但由于NF-κB所涉及的调控机制众多,还可调控炎性反应,氧化应激等作用,所以关于其在SAH后在引起迟发性血管壁病理变化的机制还需进一步研究。

参考文献:

[1] Mocco J, Zacharia B E, Komotar R J, *et al*. A review of current and future medical therapies for cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. Neurosurg Focus, 2006, 21(3): E9.

[2] Jeon H, Ai J, Sabri M, *et al*. Neurological and neurobehavioral assessment of experimental subarachnoid hemorrhage[J]. BMC Neurosci, 2009, 10: 103.

[3] Chen D, Chen J J, Yin Q, *et al*. Role of ERK1/2 and vascular cell proliferation in cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage[J]. Acta Neurochir (Wien), 2009, 151(9): 1127-1134.

[4] Zemke D, Farooq M U, Mohammed-Yahia A, *et al*. Delayed ischemia after subarachnoid hemorrhage: result of vasospasm alone or a broader vasculopathy?[J]. Vasc Med, 2007, 12(3): 243-249.

[5] Zhang Z D, Macdonald R L. Contribution of the remodeling response to cerebral vasospasm[J]. Neurol Res, 2006, 28(7): 713-720.

[6] Borel C O, McKee A, Parra A, *et al*. Possible role for vascular cell proliferation in cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage[J]. Stroke, 2003, 34(2): 427-433.

[7] 黄巍,周政,刘俊,等. 蛛网膜下腔出血脑脊液不对称二甲基精氨酸水平与脑血管痉挛的相关性研究[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(18): 1766-1769.

[8] Zhang J H. Editorial: experimental subarachnoid hemorrhage second issue: cerebral vasospasm[J]. Neurol Res, 2006, 28(7): 687-689.

[9] Rothoerl R D, Ringel F. Molecular mechanisms of cerebral vasospasm following aneurysmal SAH[J]. Neurol Res, 2007, 29(7): 636-642.

[10] 罗卫,马泽,沈冰. 大鼠蛛网膜下腔出血后迟发性脑血管痉挛和血管壁增殖关系的实验研究[J]. 中风与神经疾病杂志, 2008, 25(6): 666-668.

[11] Ramana K V, Chandra D, Srivastava S, *et al*. Aldose reductase mediates mitogenic signaling in vascular smooth muscle cells[J]. J Biol Chem, 2002, 277(35): 32063-32070.

[12] Gaetani P, Tancioni F, Grignani G, *et al*. Platelet derived growth factor and subarachnoid haemorrhage: a study on cisternal cerebrospinal fluid[J]. Acta Neurochir (Wien), 1997, 139(4): 319-324.

[13] Kusaka G, Ishikawa M, Nanda A, *et al*. Signaling pathways for early brain injury after subarachnoid hemorrhage[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2004, 24(8): 916-925.

[14] Douglas M R, Daniel M, Lagord C, *et al*. High CSF transforming growth factor beta levels after subarachnoid haemorrhage: association with chronic communicating hydrocephalus[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2009, 80(5): 545-550.

[15] Zhang Z W, Yanamoto H, Nagata I, *et al*. Platelet-derived growth factor-induced severe and chronic vasoconstriction of cerebral arteries: proposed growth factor explanation of cerebral vasospasm[J]. Neurosurgery, 2010, 66(4): 728-735.

[16] Miller C A, Lombard F W, Wu C T, *et al*. Role of vascular mitogens in subarachnoid hemorrhage-associated cerebral vasculopathy[J]. Neurocrit Care, 2006, 5(3): 215-221.

[17] Shibata A, Nagaya T, Imai T, *et al*. Inhibition of NF-kappaB activity decreases the VEGF mRNA expression in MDA-MB-231 breast cancer cells[J]. Breast Cancer Res Treat, 2002, 73(3): 237-243.

[18] Zhu Y, Culmsee C, Klumpp S, *et al*. Neuroprotection by transforming growth factor-beta1 involves activation of nuclear factor-kappaB through phosphatidylinositol-3-OH kinase/Akt and mitogen-activated protein kinase-extracellular-signal regulated kinase1, 2 signaling pathways[J]. Neuroscience, 2004, 123(4): 897-906.

[19] Hoshi S, Goto M, Koyama N, *et al*. Regulation of vascular smooth muscle cell proliferation by nuclear factor-kappaB and its inhibitor, I-kappaB[J]. J Biol Chem, 2000, 275(2): 883-889.

[20] Eng E, Ballermann B J. Diminished NF-kappaB activation and PDGF-B expression in glomerular endothelial cells subjected to chronic shear stress[J]. Microvasc Res, 2003, 65(3): 137-144.

[21] Khachigian L M, Resnick N, Gimbrone M A Jr, *et al*. Nuclear factor-kappa B interacts functionally with the platelet-derived growth factor B-chain shear-stress response element in vascular endothelial cells exposed to fluid shear stress[J]. J Clin Invest, 1995, 96(2): 1169-1175.

[22] Tanner F C, Yang Z Y, Duckers E, *et al*. Expression of cyclin-dependent kinase inhibitors in vascular disease[J]. Circ Res, 1998, 82(3): 396-403.

[23] Suzuki T, Sawaki D, Aizawa K, *et al*. Kruppel-like factor 5 shows proliferation-specific roles in vascular remodeling, direct stimulation of cell growth, and inhibition of apoptosis[J]. J Biol Chem, 2009, 284(14): 9549-9557.

(收稿 2010-04-22 修回 2010-06-24)

(编辑 栾 嘉)