

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00184

## Resistin 基因对 TNF- $\alpha$ 诱导血管内皮细胞 ICAM-1 表达的影响

梁明<sup>1</sup>, 梁晓军<sup>1</sup>, 陈小雨<sup>1</sup>, 梁敏<sup>2</sup>, 唐小龙<sup>1,3\*</sup>

1. 广东省佛山市第一人民医院内分泌科, 佛山 528000
2. 广西医科大学第一附属医院内分泌科, 南宁 530021
3. 暨南大学医学院微生物学与免疫学教研室, 广州 510632

**[摘要]** **目的:** 研究抵抗素(resistin)基因对 TNF- $\alpha$  诱导血管内皮细胞 ECV304 表达细胞间黏附分子 1(ICAM-1)的影响。**方法:** 应用分子生物学技术, 将 *resistin* 基因克隆到载体 pEGFP-C1 中构建质粒 pEG/Resi, 脂质体转染 ECV304, 转染 6 h 加入 20  $\mu$ g/L TNF- $\alpha$  诱导, 用 RT-PCR 方法分别检测转染 18、30、42 和 54 h 时 *resistin* 和 ICAM-1 mRNA 表达; 同时用免疫印迹法检测 *resistin* 蛋白的表达, 并用 ELISA 方法检测各期 ECV304 上清 ICAM-1 蛋白表达。**结果:** 经酶切鉴定和测序证实质粒 pEG/Resi 构建成功并可在 ECV304 中表达; 相同 TNF- $\alpha$  诱导条件下转染 *resistin* 基因组的 ICAM-1 表达水平始终高于未转染组, 在 *resistin* 基因表达高峰(30 和 42 h) ICAM-1 mRNA 和蛋白表达量较未转染组均显著升高 ( $P < 0.05$ ); 且 ICAM-1 mRNA 和蛋白表达水平均随 *resistin* 基因表达量的增加而升高。**结论:** *Resistin* 基因能够增强 TNF- $\alpha$  诱导 ECV304 细胞表达 ICAM-1。

**[关键词]** *resistin*; 肿瘤坏死因子  $\alpha$ ; 细胞间黏附分子 1

**[中图分类号]** R 587      **[文献标志码]** A      **[文章编号]** 0258-879X(2008)02-0184-05

### Effects of *resistin* gene on TNF- $\alpha$ -induced expression of ICAM-1 in vascular endothelial cells

LIANG Ming<sup>1</sup>, LUAN Xiao-jun<sup>1</sup>, CHEN Xiao-yu<sup>1</sup>, LIANG Min<sup>2</sup>, TANG Xiao-long<sup>1,3\*</sup>

1. Department of Endocrinology, First People's Hospital of Foshan, Foshan 528000, China
2. Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021
3. Department of Microbiology and Immunology, Medical College, Jinan University, Guangzhou 510632

**[ABSTRACT]** **Objective:** To study the effect of *resistin* gene on TNF- $\alpha$ -induced expression of ICAM-1 in ECV304 cells. **Methods:** Resistin gene was cloned into vector pEGFP-C1 to construct pEG/Resi plasmid; the latter was then used to transfect ECV304 cells *via* liposome. TNF- $\alpha$ (20  $\mu$ g/L) was added to the system 6 h after transfection. RT-PCR was used to detect the expression of *resistin* and ICAM-1 mRNA in the cells 18, 30, 42 and 54 h after transfection; meanwhile, the *resistin* protein levels were determined by Western blotting analysis. ICAM-1 protein levels in the supernatants of ECV304 cells were determined by ELISA. **Results:** Restriction enzyme digestion and sequencing demonstrated that the recombinant plasmid was successfully constructed and was expressed in ECV304. ICAM-1 levels in *resistin*-transfected group were consistently higher than that in the non-transfected group in the presence of TNF- $\alpha$ . ICAM-1 mRNA and protein expression in the transfected-group was significantly higher than that in the non-transfected group during the peak periods (30 and 42 h) of *resistin* expression ( $P < 0.05$ ); ICAM-1 mRNA and protein expression increased with the increase of *resistin* gene expression. **Conclusion:** Resistin gene can enhance TNF- $\alpha$ -induced expression of ICAM-1 in ECV304 cells.

**[KEY WORDS]** *resistin*; tumor necrosis factor- $\alpha$ ; intercellular adhesion molecule-1

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(2):184-188]

抵抗素(resistin)是 2001 年初由 Steppan 等<sup>[1]</sup>首次在脂肪细胞中发现的一种特异性分泌多肽类激素,它可能导致胰岛素抵抗,是联系肥胖与 2 型糖尿病的重要信号分子。糖尿病患者常合并有明显的血

管病变,而炎症因子在血管病变过程中发挥着重要的病理生理作用<sup>[2-3]</sup>。研究认为, *resistin* 的表达水平与炎症因子有关,并可能参与了炎症反应的发生<sup>[4]</sup>。本研究对 *resistin* 基因进行克隆和表达,并体

**[收稿日期]** 2007-06-27      **[接受日期]** 2007-11-08

**[基金项目]** 广东省医学科研基金(A2005340). Supported by Medical Research Fund of Guangdong Province(A2005340).

**[作者简介]** 梁明,副主任医师. E-mail: colinchou@tom.com

\* 通讯作者(Corresponding author). E-mail: zsg82@tom.com

外观察了该基因对 TNF- $\alpha$  诱导血管内皮细胞 ECV304 表达细胞间黏附分子 1(ICAM-1)的影响,以进一步探讨 resistin 在参与糖尿病血管病变发生发展中的分子机制。

## 1 材料和方法

1.1 材料 Resistin 基因 cDNA 模板,载体 pEG-FP-C1 和 ECV304 人血管内皮细胞株由广西医科大学第一附属医院内分泌科保存;Ex Taq DNA 聚合酶, T<sub>4</sub> DNA 连接酶,限制性内切酶 EcoR I, Kpn I, DL-1 kb marker,质粒提取试剂盒,DNA 凝胶回收纯化试剂盒和 RT-PCR 试剂盒购自大连宝生物公司;转染试剂 Lipofectamine 2000 和配套液 Opti-MEM 购自 Invitrogen 公司;人 resistin 单克隆抗体购自加拿大 Stressgen 公司;人 TNF- $\alpha$  蛋白和 ICAM-1 ELISA 试剂盒购自 R&D 公司;引物合成由上海生物工程公司完成。

1.2 Resistin 基因扩增 参照 GenBank 人 resistin 基因 CDS 序列(NCBI No. NM 020415),用 Primer5.0 设计引物如下:上游 P1 为:GC GAATTC AGG ATG AAAGCTCTCTG,含有起始密码子 ATG 和 EcoR I 酶切位点;下游 P2 为:TT GG-TACC ACC TGA GGGCTGC,含有终止密码子 TGA 和 Kpn I 酶切位点。扩增基因长度为 349 bp。用引物 P1、P2 进行 PCR 扩增 resistin 基因,反应条件为:95℃预变性 5 min;95℃ 30 s,55℃ 30 s,72℃ 60 s,共 30 个循环;72℃再延伸 10 min。琼脂糖凝胶电泳确定扩增产物大小。

1.3 重组质粒 pEG/Resi 的构建 将 resistin 的 PCR 产物经过回收纯化后与载体 pEGFP-C1 同时用 EcoR I 和 Kpn I 双酶切,琼脂糖凝胶电泳回收, T<sub>4</sub>DNA 连接酶连接。转化 *E. coli* DH5 $\alpha$  感受态细菌,涂布于含 50  $\mu$ g/ml 卡那霉素的 LB 固体培养基中。次日,随机挑取 10 个单菌落,分别接种于 3 ml 含卡那霉素的 LB 培养液中,37℃振荡培养过夜。将 PCR 阳性菌落抽提质粒 DNA,EcoR I 和 Kpn I 双酶切,电泳检测并送上海生物工程公司测序。

1.4 细胞的培养和传代 冻存的 ECV304 细胞株经复苏后培养于含 100 ml/L 胎牛血清的 DMEM 培养液中,在 37℃、体积分数 5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中培养,每 3 d 消化传代 1 次。

1.5 pEG/Resi 转染 ECV304 转染前 1 d 将 ECV304 细胞传代接种在 6 孔板内,细胞生长至 80%~90%融合时,以 Opti-MEM 各 250  $\mu$ l 分别稀

释 5  $\mu$ g pEG/Resi 质粒和 10  $\mu$ l Lipofectamine 2000 进行转染,培养 6 h,更换培养基,加入含 20  $\mu$ g/L TNF- $\alpha$  和 100 ml/L 胎牛血清的 DMEM 2 ml 进行诱导,分别于转染 18、30、42 和 54 h 在荧光显微镜下观察转染效率。

1.6 TNF- $\alpha$  诱导 ECV304 ICAM-1 的表达 于转染 6 h 分别向转染 pEG/Resi、空载体 pEGFP-C1 和未转染的 ECV304 细胞中加入终浓度为 20  $\mu$ g/L TNF- $\alpha$  进行诱导。

1.7 Resistin 蛋白的检测 收集转染 pEG/Resi 42 h ECV304,用细胞裂解液处理,离心后取上清,采用 BCA(bicinchoninic acid)法行蛋白定量,十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)后电转膜,封闭,加鼠抗人 resistin 单克隆抗体结合(4℃振荡 1.5 h),再与 1:5 000 的 HRP 标记的羊抗鼠抗体结合(水平振荡摇床 1 h),经显色后照相。

1.8 转染后 Resistin 基因 mRNA 表达的检测 用荧光定量 PCR 的方法测定。(1)采用 TRIzol 一步法抽提转染 18、30、42 和 54 h ECV304 的 RNA,溶于适量的去核酸酶水中,应用 UV-1601 紫外分光光度仪测定细胞总 RNA 的产量和纯度, $D_{260}/D_{280}$  比值 > 1.8。(2)逆转录过程:总 RNA 溶液 5  $\mu$ g, Oligo(dT) 1  $\mu$ l, DEPC 水加至 11  $\mu$ l,混匀,70℃、5 min,放置冰上至少 1 min;加入 10 mmol/L dNTP 2  $\mu$ l, 5 $\times$ RT buffer 4  $\mu$ l, DEPC 水 1.5  $\mu$ l, RNA 酶抑制剂 0.5  $\mu$ l,轻柔混匀,短暂离心,37℃、2 min;加入逆转录酶,轻柔混匀,25℃、10 min,37℃、60 min,70℃、10 min,标本进行荧光定量 PCR 或 -20℃保存备用。(3)PCR 分别扩增 resistin 和内参照  $\beta$ -actin,其中  $\beta$ -actin 引物序列为:上游 5'-AAC CCT AAG GCC AAC AGT GAA AAG-3',下游 5'-TCA TGA GGT AGT CTG TGA GGT-3',产物长度为 231 bp。PCR 反应条件:94℃预变性 3 min;94℃变性 45 s,56℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,共 35 个循环。(4)结果判定:标准参制品 1~5 管,含量依次为 10<sup>5</sup>~10<sup>9</sup> copy/ml,测定阈值循环数(threshold cycle, Ct),以 Ct 值为横坐标, resistin cDNA 含量为纵坐标,电脑自动绘制标准曲线,并根据此自动计算出各标本的 resistin 含量。resistin 表达量数据采用 resistin 含量/ $\beta$ -actin cDNA 含量的形式给出。

1.9 RT-PCR 检测 ECV304 中 ICAM-1 的 mRNA 表达 分别收集转染 18、30、42 和 54 h 时未诱导

组、转染空载体组和转染 pEG/Resi 组的 ECV304 细胞,采用 RT-PCR 方法检测 ICAM-1 的 mRNA 表达,具体操作步骤同 1.8。其中扩增 ICAM-1 引物序列为:上游引物 5'-ACA TGC AGC ACC TCC' TGT G-3',下游引物 5'-CAC CGT GGT CGT GAC CTC AG-3',扩增片段长 381 bp。PCR 反应条件:94℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 45 s,55℃ 退火 40 s,72℃ 延伸 30 s,共 35 个循环。

1.10 ELISA 检测各组 ECV304 细胞上清 ICAM-1 的表达 分别于转染的 18、30、42 和 54 h 取出 50 μl 未诱导组、未转染组、转染空载体组和转染 pEG/Resi 组的 ECV304 细胞上清液以及标准品,分别用样品稀释液稀释后加入到 ELISA 的 48 孔板中,复设 4 孔,另设空白对照,室温孵育 60 min,用洗涤缓冲液进行冲洗,后依次加入二抗、酶作用物后,分别孵育 30 min,洗板后,每孔内加入 100 μl 显色液,37℃ 孵育 20 min 后,每孔加入 50 μl 终止液,轻轻混匀后在 450 nm 处读取 D 值。

1.11 统计学处理 用 SPSS 13.0 统计软件对数据 ( $\bar{x} \pm s$ ) 进行方差分析和相关性分析。

## 2 结果

2.1 重组质粒 pEG/Resi 鉴定 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳分析显示, *resistin* 基因 PCR 扩增产物 DNA 片段大小同预计结果相符。将重组质粒 pEG/Resi 用 *EcoR* I 和 *Kpn* I 双酶切,可以切出大约 4 300 bp 的表达载体 pEGFP-C1 和大小为 349 bp 目的基因 *resistin*,同预期结果相符(图 1)。对质粒 pEG/Resi 上的多克隆位点内的 DNA 序列进行序列分析鉴定,结果与 GenBank 上人 *resistin* 基因 CDS 序列 (NCBI 登陆号:NM020415) 完全相同。

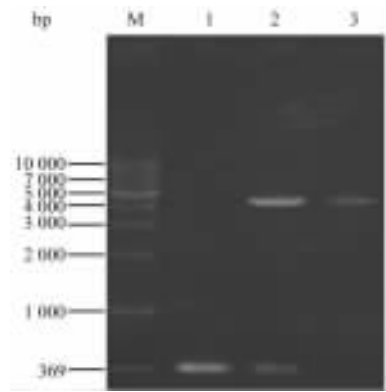


图 1 重组质粒 pEG/Resi 酶切鉴定电泳图

Fig 1 Electrophoresis analysis of pEG/Resi after digestion M: DNA ladder; 1: Resistin PCR product; 2: pEG/Resi digest with *EcoR* I + *Kpn* I; 3: pEGFP-C1 digest with *EcoR* I + *Kpn* I

2.2 Resistin 蛋白在 ECV304 中的表达 Western 印迹结果显示,转染空载体 pEGFP-C1 的 ECV304 中无 resistin 蛋白的表达,而转染重组质粒 pEG/Resi 的 ECV304 中表达的融合蛋白 GFP-resistin 的  $M_r$  为约 37 000 (图 2),其中 GFP 蛋白  $M_r$  为 27 000, resistin 蛋白  $M_r$  为 10 500,与预期结果相符。对 ECV304 细胞分别于转染 18、30、42 和 54 h 在荧光显微镜下观察报告基因 EGFP 的表达情况,可以看出在 30 和 42 h 是转染的高峰期(图 3)。

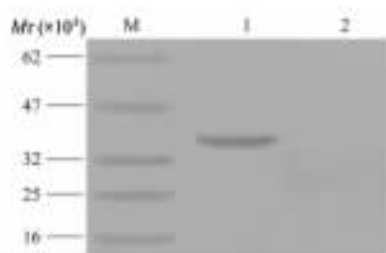


图 2 融合蛋白 GFP-resistin Western 印迹分析

Fig 2 Western blotting analysis of GFP-resistin protein M: Protein marker; 1: GFP-resistin protein; 2: pEGFP-C1

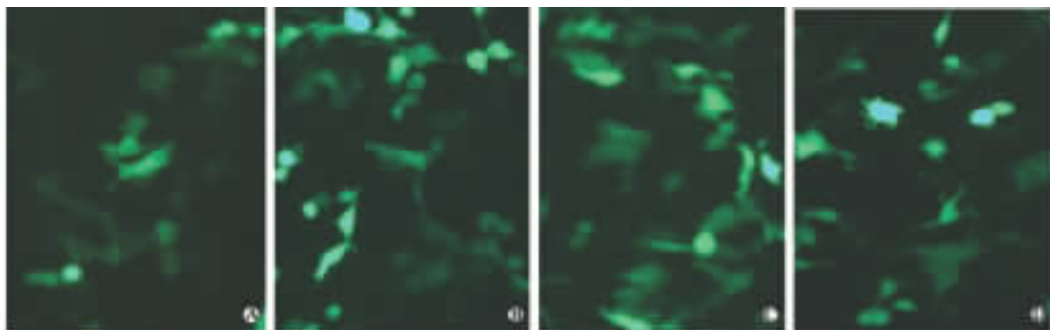


图 3 质粒 pEG/Resi 转染不同时间绿色荧光蛋白表达图

Fig 3 Green fluorescent protein expression after different periods of pEG/Resi transfection

A: 18 h after transfection; B: 30 h after transfection; C: 42 h after transfection; D: 54 h after transfection. Original magnification:  $\times 200$

2.3 *Resistin* mRNA 在 ECV304 中的表达 结果显示, 扩增片段大小约 349 bp, 与预期结果相符(图 4)。经计算得出: 转染 18、30、42 和 54 h 时 *resistin* 基因 mRNA 的相对表达量分别为  $1.27 \pm 0.11$ 、 $3.78 \pm 0.24$ 、 $5.34 \pm 0.44$  和  $3.17 \pm 0.31$ 。

mRNA 的表达, 与转染空载体组和转染 pEG/*Resi* 组比较, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 而转染 pEG/*Resi* 组在转染 30 和 42 h 时 ICAM-1 mRNA 表达量与转染空载体组比较, 差异也有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。



图 4 Resistin mRNA 的表达

Fig 4 Resistin mRNA expression

M: DNA marker; 1-2: 18 h after transfection; 3-4: 30 h after transfection; 5-6: 42 h after transfection; 7-8: 54 h after transfection

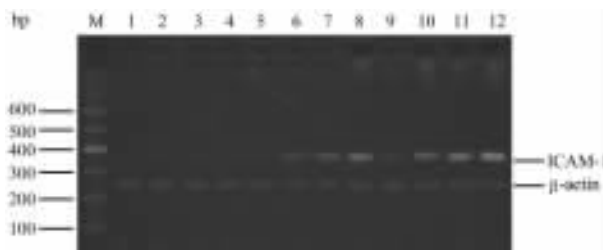


图 5 ICAM-1 mRNA 的表达

Fig 5 ICAM-1 mRNA expression

M: DNA marker; 1-4: 18 h, 30 h, 42 h and 54 h non-induced group; 5-8: 18 h, 30 h, 42 h and 54 h after pEGFP-C1 transfected; 9-12: 18 h, 30 h, 42 h and 54 h after pEG/*Resi* transfection

2.4 ICAM-1 mRNA 在 ECV304 中的表达 结果显示, 扩增片段大小约 381 bp, 与预期结果相符(图 5)。经计算得出: 未诱导组在转染 18、30、42 和 54 h 时 ICAM-1 mRNA 表达量分别为  $0.18 \pm 0.03$ 、 $0.22 \pm 0.04$ 、 $0.29 \pm 0.07$  和  $0.26 \pm 0.06$ , 转染空载体组 ICAM-1 mRNA 表达量分别为  $0.24 \pm 0.05$ 、 $1.37 \pm 0.14$ 、 $2.78 \pm 0.21$  和  $4.92 \pm 0.41$ , 而转染 pEG/*Resi* 组 ICAM-1 mRNA 表达量分别为  $0.29 \pm 0.07$ 、 $2.63 \pm 0.22$ 、 $4.78 \pm 0.37$  和  $5.11 \pm 0.47$ 。结果表明, 未诱导组能够产生低水平的 ICAM-1

2.5 ELISA 检测 ICAM-1 的表达水平结果分析 ELISA 法检测结果表明, TNF- $\alpha$  诱导的未转染组、转染空载体组和转染 pEG/*Resi* 组的 ECV304 在 30 h、42 h 和 54 h 时 ICAM-1 的表达量显著高于未加 TNF- $\alpha$  诱导的 ECV304 产生的基础表达量 ( $P < 0.05$ )。随着转染时间的延长, 转染 pEG/*Resi* 的 ECV304 细胞 ICAM-1 表达也逐渐增多(表 1), 并且在 30 h 和 42 h 时与未转染组和空载体组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

表 1 各组 ECV304 细胞不同时间上清液 ICAM-1 的含量

Tab 1 ICAM-1 contents in ECV304 cell supernatants after different periods of pEG/*Resi* transfection

[ $n=4, \bar{x} \pm s, \rho_B / (\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1})$ ]

Group	Inducing time <i>t</i> /h			
	18	30	42	54
Non-induced	$0.0241 \pm 0.0013$	$0.0374 \pm 0.0023$	$0.0427 \pm 0.0029$	$0.0395 \pm 0.0027$
Non-transfected	$0.0323 \pm 0.0006$	$0.1564 \pm 0.0087^*$	$0.3788 \pm 0.0021^*$	$0.5162 \pm 0.0106^*$
pEG transfected	$0.0347 \pm 0.0011$	$0.1497 \pm 0.0076^*$	$0.3572 \pm 0.0046^*$	$0.5053 \pm 0.0135^*$
pEG/ <i>Resi</i> transfected	$0.0511 \pm 0.0014$	$0.3633 \pm 0.0053^{*\Delta}$	$0.5028 \pm 0.0009^{*\Delta}$	$0.5583 \pm 0.0034^{*\Delta}$

\*  $P < 0.05$  vs non-induced group;  $\Delta P < 0.05$  vs non-transfected and pEGFP-C1 transfected groups

2.6 ICAM-1 表达水平与 resistin 表达量的相关分析 Pearson 相关分析显示: ICAM-1 mRNA 表达水平与 *resistin* mRNA 表达量呈显著正相关 ( $r = 0.676, P = 0.024$ ); ICAM-1 蛋白表达水平与 *resistin* mRNA 表达量呈显著正相关 ( $r = 0.691, P = 0.013$ ), 提示 ICAM-1 mRNA 和蛋白表达水平均随 *resistin* 基因表达量的增加而升高。

### 3 讨论

ICAM-1 是一种分布于细胞表面的单链糖蛋白, 是免疫球蛋白超家族中的一类细胞黏附分子。ICAM-1 主要由血管内皮细胞表达, 在正常情况下仅有少量表达, 但在 IL-1、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  等炎症因子刺激下, 可导致 ICAM-1 持续异常高表达, 致自身免疫

平衡紊乱,单核巨噬细胞在局部大量聚集,并释放多种炎症因子,加速炎症细胞浸润,细胞外基质(ECM)产生增多,降解减少,最终对机体造成不利的影 响。有研究表明,ICAM-1与动脉粥样硬化的形成有关<sup>[5-6]</sup>,Okada等<sup>[6]</sup>提出ICAM-1能够引起血管内皮损伤,可作为血管内皮功能障碍的标志物之一。糖尿病血管病变引起ICAM-1升高的机制,一般认为是高糖促进内皮细胞产生氧化应激,而ICAM-1基因启动子上包含NF- $\kappa$ B转录因子结合位点,其基因表达受该氧自由基敏感的信号转导系统调控<sup>[7]</sup>。TNF- $\alpha$ 可由多种细胞分泌,但主要由活化的巨噬细胞产生。2型糖尿病普遍存在循环内皮细胞损伤现象,内皮细胞表面广泛存在TNF- $\alpha$ 受体(TNFR),所以它是TNF- $\alpha$ 作用的主要靶细胞之一,TNF- $\alpha$ 使静脉内皮细胞可出现损伤及脱落,形态发生显著变化,可能是病理情况下导致循环内皮细胞损伤的原因之一。ECV304细胞是人脐静脉内皮细胞株,其本身ICAM-1表达水平很低,但在TNF- $\alpha$ 的刺激下,ICAM-1分子的表达水平有明显的增加<sup>[8]</sup>。Zhou等<sup>[9]</sup>研究认为TNF- $\alpha$ 诱导ICAM-1和VCAM-1表达是依赖NF- $\kappa$ B通路,且在人血管内皮细胞中是由TNFR1分子介导。

人*resistin*基因位于19号染色体上,其mRNA全长476 bp,编码108个氨基酸,蛋白相对分子质量为105 000<sup>[1]</sup>。目前对*resistin*引起胰岛素抵抗的报道很多,Tokuyama等<sup>[10]</sup>检测日本2型糖尿病患者血清中*resistin*水平发现胰岛素抵抗组的*resistin*水平要明显高于胰岛素敏感组;并认为一旦进入显性糖尿病阶段胰岛素抵抗将发展迅速,而且在这个过程中*resistin*起着十分重要的作用。在糖尿病患者的预后中,血管病变是致死或致残的重要病因,而内皮细胞受损在其中起着至关重要的作用<sup>[11]</sup>。国外有报道认为*resistin*可能参与了血管病变的发生,其中Patel等<sup>[12]</sup>发现*resistin*基因编码序列中存在可以识别过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ )反应元件序列,*resistin*基因可能在PPAR $\gamma$ 直接调控下表达受抑制,而在糖尿病患者中NF- $\kappa$ B通路竞争抑制PPAR $\gamma$ ,使*resistin*基因失去PPAR $\gamma$ 调控对并PPAR $\gamma$ 产生负反馈调节,增强NF- $\kappa$ B通路引起巨噬细胞TNF- $\alpha$ 及IL-12表达升高。

本研究对人*resistin*基因进行克隆并转染ECV304,观察*resistin*基因不同表达量时期对TNF- $\alpha$ 诱导ECV304表达细胞间黏附分子ICAM-1的影响,进而探讨*resistin*是否参与对炎症发生过程中炎症分子表达的调控。研究显示,在相同TNF- $\alpha$

诱导条件下转染*resistin*基因组的ICAM-1表达水平始终高于未转染组,在*resistin*基因瞬时表达高峰(30 h和42 h)ICAM-1 mRNA和蛋白表达量较未转染组均有显著升高;且ICAM-1 mRNA和蛋白表达水平均随*resistin*基因表达量的增加而升高;提示*resistin*可能具有增强TNF- $\alpha$ 诱导ECV304表达ICAM-1作用。今后我们将对*resistin*影响TNF- $\alpha$ 所依赖的NF- $\kappa$ B通路调控血管内皮ICAM-1等黏附分子表达的分子机制作进一步探讨。

## [参考文献]

- [1] Steppan C M, Bailey S T, Bhat S, Brown E J, Banerjee R R, Wright C M, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes [J]. *Nature*, 2001, 109: 307-312.
- [2] 唐小龙, 江振友, 曾耀英, 林 羿, 王华东, 蔡淑玉. IL-6 诱导血管内皮细胞纤溶相关蛋白的表达[J]. 第二军医大学学报, 2005, 26: 783-787.
- [3] 唐小龙, 蔡淑玉, 张荣波, 周 昕. 2型糖尿病患者血浆中可溶性血栓调节蛋白的意义[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2005, 21: 316-317.
- [4] Malyszko J, Malyszko J S, Pawlak K, Mysliwiec M. resistin, a new adipokine, is related to inflammation and renal function in kidney allograft recipients[J]. *Transplant Proc*, 2006, 38: 3434-3436.
- [5] Rizzoni D, Muesan M L, Porteri E, Castellano M, Salvetti M, Monteduro C, et al. Circulating adhesion molecules and carotid artery structural changes in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus[J]. *J Hum Hypertens*, 2003, 17: 463-470.
- [6] Okada S, Shikata K, Matsuda M, Ogawa D, Usui H, Kido Y, et al. Intercellular adhesion molecule-1-deficient mice are resistant against renal injury after induction of diabetes[J]. *Diabetes*, 2003, 52: 2586-2593.
- [7] Dietrich J B. The adhesion molecule ICAM-1 and its regulation in relation with the blood-brain barrier[J]. *J Neuroimmunol*, 2002, 128(1-2): 58-68.
- [8] Kim I, Moon S O, Kim S H, Kim H J, Koh Y S, Koh G Y. Vascular endothelial growth factor expression of intercellular adhesion molecule 1(ICAM-1), vascular cell adhesion molecule 1(VCAM-1), and E-selection through nuclear factor-kappa B activation in endothelial cells[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 7614-7620.
- [9] Zhou Z G, Connell M C, MacEwan D J. TNFR1-induced NF- $\kappa$ B, but not ERK, p38MAPK or JNK activation, mediates TNF-induced ICAM-1 and VCAM-1 expression on endothelial cells [J]. *Cell Sig*, 2007, 19: 1238-1248.
- [10] Tokuyama Y, Osawa H, Ishizuka T, Onuma H, Matsui K, Egashira T, et al. Serum resistin level is associated with insulin sensitivity in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Metabolism*, 2007, 56: 693-698.
- [11] Farhangkhoe H, Khan Z A, Kaur H, Xin X, Chen S, Chakrabarti S. Vascular endothelial dysfunction in diabetic cardiomyopathy: Pathogenesis and potential treatment targets [J]. *Pharmacol Ther*, 2006, 11: 384-399.
- [12] Patel L, Buckels A C, Kinghorn I J, Murdock P R, Holbrook J D, Plumpton C, et al. resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR  $\gamma$  activators[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 300: 472-476.