

彭臻菲, 李泳宁, 魏碧娜, 等. 海带多糖抑制平滑肌细胞增殖及抗氧化活性研究 [J]. 福建农业学报, 2019, 34 (12): 1457-1462.

PENG Z F, LI Y N, WEI B N, et al. Inhibitory Effects of *Laminaria Japonica* Polysaccharides on Proliferation and Antioxidant Activities of Vascular Smooth Muscle Cells [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 34 (12): 1457-1462.

海带多糖抑制平滑肌细胞增殖及抗氧化活性研究

彭臻菲, 李泳宁*, 魏碧娜, 林碧珠

(福建卫生职业技术学院, 福建 福州 350101)

摘要:【目的】研究海带多糖对 H_2O_2 诱导血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMC) 增殖及胞内脂质过氧化物生成量的影响, 为阐明海带多糖对 VSMC 的作用机制奠定基础。【方法】以 H_2O_2 为诱导剂建立体外 VSMC 增殖模型, 通过四甲基偶氮唑盐法和细胞形态观察评价海带多糖对 H_2O_2 诱导 VSMC 生长和增殖的影响, 同时以丙二醛为指标考察海带多糖对 H_2O_2 诱导 VSMC 胞内脂质过氧化物生成量的影响。【结果】以 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ H_2O_2 为诱导剂建立 VSMC 体外增殖模型。四甲基偶氮唑盐法测定结果表明海带多糖对 H_2O_2 诱导 VSMC 增殖具有显著抑制活性, 最大增殖抑制率达到 73.56%。细胞形态学观察结果表明海带多糖作用下 H_2O_2 诱导的 VSMC 生长状态发生改变且细胞数量显著减少。丙二醛检测结果表明海带多糖作用下 VSMC 胞内脂质过氧化物量显著减少。【结论】海带多糖能够抑制 H_2O_2 诱导的 VSMC 增殖, 且显著降低 VSMC 胞内脂质过氧化物生成量。

关键词: 海带多糖; 血管平滑肌细胞; H_2O_2 诱导; 细胞增殖; 脂质过氧化物

中图分类号: P 745

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2019) 12-1457-06

Inhibitory Effects of *Laminaria Japonica* Polysaccharides on Proliferation and Antioxidant Activities of Vascular Smooth Muscle Cells

PENG Zhen-fei, LI Yong-ning*, WEI Bi-na, LIN Bi-zhu

(Fujian Health College, Fuzhou, Fujian 350101, China)

Abstract: 【Objective】Effects of *Laminaria japonica* polysaccharides on the proliferation and lipid peroxide production of H_2O_2 -induced vascular smooth muscle cells (VSMCs) were examined *in vitro* for further understanding on the metabolic mechanism. 【Method】Proliferation of VSMCs was artificially induced by using $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ H_2O_2 . Inhibitory rate on the proliferation by the *L. japonica* polysaccharides were determined by a methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay. Morphological changes on VSMCs were observed under a microscope. Malondialdehyde (MDA) was employed as an indicator of the lipid peroxide production in VSMCs. 【Result】A significant inhibition effect of the polysaccharides on the H_2O_2 -induced VSMC proliferation with the greatest rate of 73.56% was shown by MTT. Morphologically, the number of VSMCs significantly decreased after an exposure to the polysaccharide. The MDA analysis indicated that the lipid peroxide production by VSMCs significantly declined after the treatment with *L. japonica* polysaccharides. 【Conclusion】The *L. japonica* polysaccharides significantly inhibited the proliferation and lipid peroxide production in the H_2O_2 -induced VSMCs.

Key words: *Laminaria japonica* polysaccharides; vascular smooth muscle cell; H_2O_2 -induced model; cellular proliferation; lipid peroxide

0 引言

【研究意义】近年来, 随着社会经济发展与人们生活水平提升, 心血管疾病发病率呈逐年上升趋势

势, 已严重威胁人类健康。动脉粥样硬化是心血管系统疾病中最常见的疾病之一, 也是心血管疾病共同的病理基础^[1]。积极预防和控制动脉粥样硬化是预防心血管疾病、降低疾病发病率的重要手段。【前

收稿日期: 2019-10-28 初稿; 2019-12-09 修改稿

作者简介: 彭臻菲 (1978-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 生物大分子活性表征 (E-mail: Zhenfei2001@163.com)

* 通信作者: 李泳宁 (1979-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 生物制药 (E-mail: yongningli@163.com)

基金项目: 福建省医学创新基金项目 (2015-CXB-27); 福建卫生职业技术学院科研基金项目 (2014-1-2)

人研究进展】病理学研究结果表明, VSMC 增殖是早期动脉粥样硬化形成的始动环节之一, 成为心血管疾病防治研究的重要靶细胞^[2]。同时, 有研究发现, 活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS) 与 VSMC 增殖相关。血管紧张素 II、高糖等通过提高 VSMC 胞内 ROS 水平促进细胞增殖^[3-4]。抗氧化剂调控 ROS 介导信号通路抑制 VSMC 增殖^[5-6]。因此, 以 ROS 清除剂筛选 VSMC 增殖抑制剂成为研究方向之一。【本研究切入点】海带是我国东南沿海常见的经济型养殖海藻, 具有药食同源性, 在我国多部古代医学典籍中均有记载其药学功效。多糖是海带主要的药效学活性成分, 动物学试验研究结果表明, 海带多糖可有效降低试验性大鼠血管脂质沉积, 降低动脉粥样硬化风险^[7]。本课题组前期研究发现海带多糖具有清除超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$) 活性, 且抑制碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF) 诱导 VSMC 增殖^[8-9]。已有研究发现 H_2O_2 通过调控 $O_2^{\cdot-}$ 介导信号通路促进 VSMC 增殖^[10-11]。但是海带多糖对 VSMC 增殖抑制活性与其抗氧化活性相关性研究未见相关报道。【拟解决的关键问题】因此, 本课题以氧化剂 H_2O_2 为诱导剂建立 VSMC 体外增殖模型, 研究海带多糖对氧化剂诱导 VSMC 增殖及胞内过氧化物生成影响, 为阐明海带多糖对 VSMC 的作用机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 原料

海带多糖由本实验室制备, 多糖含量为 87.2%^[8]; DMEM 培养基购自 Gibco 公司; 胎牛血清(FBS) 购自杭州四季青; 丙二醛(MDA) 检测试剂盒购自碧云天公司; 二甲基亚砜(DMSO)、 H_2O_2 购自 Sigma 公司; 动物细胞裂解液购自上海生工; MTT 购自 Biosharp 公司; 其他试剂均为国产分析纯。

1.2 主要仪器设备

BCM-1000 超净工作台, 苏州净化设备有限公司; HERAcell 150i CO_2 恒温培养箱, 美国 Thermo 公司; TGL-16M 冷冻离心机, 湖南湘仪; P10-Y 超纯水系统, 科尔顿有限公司; M3 酶标分析仪, 美国 MD 公司; TS-100F 倒置显微镜, 日本尼康公司; UV-2600 紫外-可见分光光度计, 日本岛津公司。

1.3 试验方法

1.3.1 细胞培养 VSMC 由本实验室制备。细胞培养及传代: VSMC 采用含 10% FBS 的 DMEM 培养液, 于 $37^\circ C$ 、5% CO_2 培养箱内静置培养。待细胞生长汇合后, 吸弃培养瓶内培养液, PBS 缓冲液清洗细胞

瓶, 加入适量 0.25% 胰酶, $37^\circ C$ 放置 3 min, 倒置显微镜下观察, 待细胞呈悬浮, 即加入完全培养液终止酶解反应。吸管反复轻轻吹打培养液以分散细胞团, 取 0.5 mL 细胞悬液接种于新的培养瓶内, 补加新鲜的完全培养液至 3 mL。置于 $37^\circ C$ 、5% CO_2 培养箱静置培养。

1.3.2 H_2O_2 诱导 VSMC 增殖模型构建 取浓度为 1×10^5 个 $\cdot mL^{-1}$ VSMC 悬液接种 96 孔板, $37^\circ C$ 、5% CO_2 培养箱静置培养 24 h, 待细胞完全贴壁后, 用无血清的 DMEM 培养液 $37^\circ C$ 孵育 8 h。加入 H_2O_2 溶液于 96 孔板至终浓度为设定浓度, 对照组用无血清 DMEM 代替 H_2O_2 。孵育至 12 h、24 h、36 h 后加入 MTT 溶液 ($100 \mu g \cdot \text{孔}^{-1}$), 孵育 4 h 后, 弃上清液, 加入 DMSO ($200 \mu L \cdot \text{孔}^{-1}$)。振荡混匀, 于 578 nm 下检测吸光值。每个试验组设定 6 孔平行孔。细胞增殖率计算公式:

$$\text{增值率}/\% = \frac{A_i}{A_o} \times 100 \quad (1)$$

式中: A_i 为 H_2O_2 模型组吸光值; A_o 为对照组吸光值。

1.3.3 MTT 法测定 VSMC 增殖 取对数生长期细胞悬液 (1×10^5 个 $\cdot mL^{-1}$) 接种于 96 孔培养板中, $200 \mu L \cdot \text{孔}^{-1}$, 待细胞贴壁后更换无血清培养液, $37^\circ C$ 、5% CO_2 培养箱内静置过夜培养。吸弃培养液, 向 96 孔板内分别加入 0.1、0.5、1.0 $mg \cdot mL^{-1}$ 海带多糖样品, 每个浓度样品设置 6 个平行孔, H_2O_2 模型组用 DMEM 代替多糖样品。培养至设定时间后, 向各孔分别加入 H_2O_2 , 继续孵育至设定时间, 加入 MTT 溶液 ($100 \mu g \cdot \text{孔}^{-1}$), 孵育 4 h 后, 弃上清液, 加入 DMSO ($200 \mu L \cdot \text{孔}^{-1}$)。振荡混匀, 于 578 nm 下检测吸光值。细胞增殖抑制率计算公式:

$$\text{抑制率}/\% = \frac{A_o - A_i}{A_o} \times 100 \quad (2)$$

式中: A_o 为 H_2O_2 模型组的吸光值; A_i 为海带多糖试验组吸光值。

1.3.4 VSMC 形态观察 取对数生长期细胞悬液 (1×10^5 cells $\cdot mL^{-1}$) 接种于 6 孔培养板中, $1 mL \cdot \text{孔}^{-1}$, 待细胞贴壁后更换无血清培养液, $37^\circ C$ 、5% CO_2 培养箱内静置过夜培养。吸弃培养液, 向 6 孔板内分别加入 0.5、1.0 $mg \cdot mL^{-1}$ 海带多糖样品, 每个浓度样品设置 3 个平行孔, H_2O_2 模型组用 DMEM 代替多糖样品。培养至设定时间后, 向各孔分别加入 H_2O_2 , 继续孵育至设定时间后于倒置显微镜下观察细胞形态。

1.3.5 MDA 含量测定 按 1.3.4 方法处理细胞, 待细胞经无血清培养液过夜饥饿处理后吸弃培养液, 向

6 孔板内分别加入 0.1、0.5、1.0 mg·mL⁻¹ 海带多糖样品，每个浓度样品设置 3 个平行孔，H₂O₂ 模型组用 DMEM 代替多糖样品。培养至设定时间后，向各孔分别加入 H₂O₂，继续孵育至设定时间后收集细胞，按碧云天 MDA 检测试剂盒说明操作，于 532 nm 下测定吸光值，并计算 MDA 含量。

1.3.6 数据分析 数据均采用 SPSS 17.0 软件进行统计学处理，均数±标准差表示，并对结果进行 LSD-*t* 检验。

2 结果与分析

2.1 H₂O₂ 诱导 VSMC 体外增殖模型的建立

本课题以 H₂O₂ 为诱导剂建立 VSMC 体外增殖模型，结果如表 1 所示。在相同的 H₂O₂ 浓度下，24 h 试验组 VSMC 增殖率均高于 12 h 和 48 h 试验组。而在 H₂O₂ 相同作用时间下，VSMC 增殖率均随着 H₂O₂ 浓度的增加呈先上升而后下降的趋势。在 H₂O₂ 浓度为 10~100 μmol·L⁻¹ 时，VSMC 增殖率随着 H₂O₂ 浓度增高而增大。当时间为 24 h，H₂O₂ 浓度为 50 μmol·L⁻¹ 时，VSMC 增殖率达到 142.54%，再增加 H₂O₂ 浓度至 100 μmol·L⁻¹，其 VSMC 增殖率略有增加，但与 50 μmol·L⁻¹ 试验组相比，差异并不显著。而当 H₂O₂ 浓度增加至 150 μmol·L⁻¹，其 VSMC 增殖率则有所下降。可见当 H₂O₂ 浓度增大至 150 μmol·L⁻¹ 对 VSMC 具有细胞毒性，这与文献 [12] 报道一致。因此，本课题选择 H₂O₂ 诱导 VSMC 增殖处理浓度为 50 μmol·L⁻¹，作用时间为 24 h。

表 1 MTT 测定 VSMC 增殖率
Table 1 Viability of VSMCs determined by MTT assay

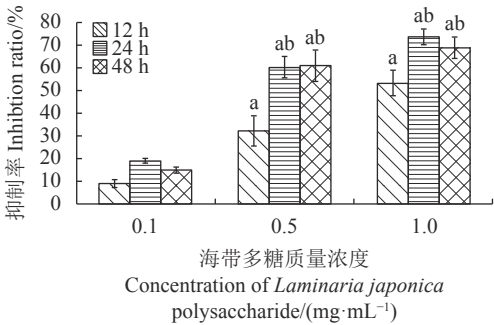
H ₂ O ₂ 浓度 H ₂ O ₂ Concentration/ (μmol·L ⁻¹)	12 h	24 h	36 h
10	102.11±5.22	112.23±3.15	108.74±4.42
20	112.08±2.15	127.65±1.55	117.24±5.68
50	129.56±2.43 a	142.54±2.91 a	133.25±3.48 a
100	132.87±3.56 a	144.29±3.68 a	138.62±2.84 a
150	107.23±5.27	114.87±4.35	96.48±2.57

注：a：与相同作用时间下 H₂O₂ 浓度为 10 μmol·L⁻¹ 试验组比，*P*<0.05。
Note: a: during the same pretreatment time, indicated significant differences compared with the group of 10 μmol·L⁻¹ H₂O₂, *P*<0.05.

2.2 海带多糖对 VSMC 增殖作用的影响

采用 MTT 法测定海带多糖对 VSMC 增殖影响，结果见图 1 所示。从图 1 可以看出，海带多糖预处理时间相同时，随着海带多糖预处理质量浓度的增加 VSMC 增殖抑制率增大，呈量效相关性。在相同

海带多糖预处理时间下，与海带多糖预处理质量浓度为 0.1 mg·mL⁻¹ 试验组相比，海带多糖预处理质量浓度为 0.5 mg·mL⁻¹ 和 1.0 mg·mL⁻¹ 试验组 VSMC 增殖抑制率均显著增高 (*P*<0.05)。当海带多糖预处理时间为 12 h 时，质量浓度为 1.0 mg·mL⁻¹ 海带多糖预处理试验组 VSMC 增殖抑制率为 53.11%，是相同多糖预处理时间下 0.1 mg·mL⁻¹ 海带多糖预处理试验组的 5.72 倍。由此可见，海带多糖可抑制氧化剂 H₂O₂ 诱导 VSMC 增殖。



注：a：相同海带多糖预处理时间下，与 0.1 mg·mL⁻¹ 海带多糖试验组相比，*P*<0.05；b：相同海带多糖预处理浓度下，与预处理时间 12 h 海带多糖试验组相比，*P*<0.05。

Note: a: during the same pretreatment time of polysaccharide, indicated significant differences compared with the group of 0.1 mg·mL⁻¹ polysaccharide, *P*<0.05; b: under the same concentration of polysaccharide pretreatment, indicated significant differences compared with the group of 12 h treatment with polysaccharide, *P*<0.05.

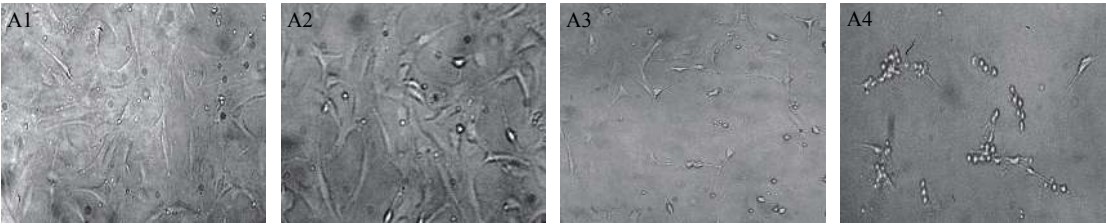
图 1 海带多糖对 H₂O₂ 诱导 VSMC 增殖抑制率

Fig. 1 Effects of *L. japonica* polysaccharides on H₂O₂-induced VSMC proliferation

同时，由图 1 可以看出，当海带多糖预处理质量浓度高于 0.5 mg·mL⁻¹ 时，与多糖预处理时间 12 h 试验组相比，多糖预处理时间为 24 h 和 48 h 试验组 VSMC 增殖抑制率均显著增高 (*P*<0.05)，增殖抑制率均达到 60%。其中，当海带多糖预处理质量浓度为 1.0 mg·mL⁻¹ 时，多糖预处理时间为 24 h 试验组 VSMC 增殖抑制率最大，达 73.56%。因此，后续试验选择海带多糖预处理时间为 24 h。

2.3 海带多糖对 VSMC 形态影响

由图 2 可知，H₂O₂ 模型组细胞透光性强，细胞边缘模糊，细胞呈伸展的梭状，且细胞密度大。海带多糖预处理试验组 VSMC 形态则出现显著变化，0.5 mg·mL⁻¹ 海带多糖预处理试验组 VSMC 数目减少，且细胞胞质回缩，部分细胞呈圆形。1 mg·mL⁻¹ 海带多糖预处理试验组 VSMC 密度显著降低，细胞边缘清晰，细胞胞质回缩，镜下可见大部分细胞呈圆形。由此可见，海带多糖可引起 VSMC 生长形态改变，随着海带多糖预处理浓度的增高，VSMC 数



注：A₁：对照组，A₂：H₂O₂ 模型组，A₃：0.5 mg·mL⁻¹ 海带多糖+H₂O₂ 处理组，A₄：1 mg·mL⁻¹ 海带多糖+H₂O₂ 处理组。
Note: A₁: Control group; A₂: H₂O₂ model group; A₃: the group treatment with 0.5 mg·mL⁻¹ polysaccharide and H₂O₂; A₄: the group treatment with 1 mg·mL⁻¹ polysaccharide and H₂O₂.

图 2 VSMC 形态 (×100)
Fig. 2 Morphology of VSMC (×100)

量显著减少，且呈圆形的 VSMC 数量增多，表明海带多糖预处理后 VSMC 形态发生显著变化，使其增殖速度减慢。

2.4 海带多糖对 H₂O₂ 诱导 VSMC 胞内 MDA 生成的影响

研究发现，H₂O₂ 诱导 VSMC 胞内大量累积 ROS 可促进 VSMC 胞内一系列脂质过氧化产物的生成^[13-14]，进而诱导细胞释放生长因子促使 VSMC 增殖^[15-16]，因此脂质过氧化物是评估 VSMC 胞内 ROS 水平的重要参数。本课题以 MDA 表征胞内脂质过氧化物生成量，结果如表 2 所示。

表 2 VSMC 胞内 MDA 生成量
Table 2 MDA concentration in VSMC

样品Samples	丙二醛 MDA/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
对照组 Control	1.94±0.05
H ₂ O ₂ 模型组 H ₂ O ₂ Model Group	3.21±0.09 a
0.1 mg·mL ⁻¹ 海带多糖+H ₂ O ₂ 0.1 mg·mL ⁻¹ <i>Laminaria japonica</i> polysaccharide+H ₂ O ₂	2.91±0.04
0.5 mg·mL ⁻¹ 海带多糖+H ₂ O ₂ 0.5mg·mL ⁻¹ <i>Laminaria japonica</i> polysaccharide+H ₂ O ₂	1.75±0.08 b
1.0 mg·mL ⁻¹ 海带多糖+H ₂ O ₂ 1.0 mg·mL ⁻¹ <i>Laminaria japonica</i> polysaccharide+H ₂ O ₂	1.27±0.05 b

注：a:与对照组相比， $P<0.01$ ；b:与H₂O₂模型组相比， $P<0.01$ 。
Note: a: indicated significant differences compared with the control group, $P<0.01$; b: indicated significant differences compared with the H₂O₂ model group, $P<0.01$.

从表 2 中可以看出，与对照组相比，H₂O₂ 模型组 MDA 含量显著提高，达到 3.21 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，表明 H₂O₂ 诱导 VSMC 胞内生成大量脂质过氧化物，ROS 水平显著提高，这是其诱导 VSMC 增殖的重要因素。而采用不同质量浓度海带多糖进行预处理后，其 VSMC 胞内 MDA 生成量均有下降。当海带多糖质量浓度达到 1.0 mg·mL⁻¹ 时，VSMC 胞内 MDA 生成量最低，仅为 1.27 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，与 H₂O₂ 模型组相比

下降了 60.44%。由此可见，VSMC 胞内脂质过氧化物生成量随着海带多糖预处理浓度的增加而降低，呈量效相关性，表明海带多糖预处理后有效抑制 VSMC 胞内因 H₂O₂ 诱导引起的 ROS 升高，提示海带多糖对 H₂O₂ 诱导 VSMC 增殖的抑制机制与调控 VSMC 胞内 ROS 水平相关。因此，后续试验可进一步从分子水平探讨海带多糖对 VSMC 胞内 ROS 的调控机制，阐明海带多糖对 H₂O₂ 诱导 VSMC 增殖抑制机制。

3 讨论与结论

病理学研究发现，血管平滑肌细胞异常增殖是动脉粥样硬化形成的始动环节，也是动脉粥样硬化心血管疾病共同的病理基础。研究发现抗动脉粥样硬化活性物质西洛他唑通过阻断 VSMC 胞内 ERK1/2 信号通路，抑制 VSMC 增殖^[17]。Bin 等对动脉粥样硬化形成分子机制研究发现，动脉粥样硬化重要诱因氧化低密度脂蛋白 (ox-LDL) 诱导 VSMC 胞内转录因子 KLF5 表达，进而上调胞内微小 RNA-29a 表达水平，最终促进 VSMC 增殖而形成动脉粥样硬化斑块^[18]。细胞学研究发现，ROS 水平增高激活 VSMC 胞内 MAPK 信号通路并促进 VSMC 增殖^[19]。Yang 等研究结果表明高糖处理引起细胞 ROS 水平增高是其诱导 VSMC 增殖的主要因素^[4]。因此，胞内 ROS 水平增高是 VSMC 增殖的促进因子。

天然产物活性研究结果表明，海藻多糖具有显著抗氧化活性，可有效降低胞内 ROS 水平。马军等研究发现海藻多糖具有自由基清除和抗脂质过氧化活性^[20]。杨运高等用大鼠红细胞免疫功能缺陷模型研究海藻多糖对红细胞免疫功能及自由基损伤的影响。试验结果显示，海藻多糖增强超氧化物歧化酶、谷胱甘肽等还原性物质活性，并降低 MDA 含量，表明海藻多糖可降低大鼠体内 ROS 水平，是抗氧化剂的重要备选资源^[21]。海带多糖是一种抗氧化活性显著的海藻多糖，其对 DPPH、羟自由基、超氧阴离子等自由基的清除活性显著^[22]。张晴岚等研究

发现海带多糖可改善大鼠血脂水平，提高一氧化氮浓度和一氧化氮合酶活性，抑制动脉粥样硬化斑块发生和发展^[23]。本课题以 H_2O_2 为诱导剂建立 VSMC 增殖模型，评估海带多糖作用下动脉粥样硬化始动因子 VSMC 生长与脂质过氧化水平的相关性。结果表明，海带多糖可抑制 H_2O_2 诱导 VSMC 增殖且呈量效相关性。而海带多糖浓度与 VSMC 胞内 MDA 含量呈负相关性，可见海带多糖缓解了 VSMC 胞内因 H_2O_2 诱导引起的 ROS 水平增高，表明海带多糖抑制 VSMC 增殖与其抗氧化活性相关。因此，后续研究需进一步从 ROS 调控细胞增殖的 MAPK 通路上进一步探讨海带多糖对 VSMC 增殖的抑制机制，为深度开发海带药用价值奠定基础。

参考文献：

- [1] CHISTIAKOV D A, OREKHOV A N, BOBRYSEV Y V. Vascular smooth muscle cell in atherosclerosis [J]. *Acta Physiologica*, 2015, 214 (1) : 33–50.
- [2] ZERNECKE A. CD98 promotes vascular smooth muscle cell accumulation in atherosclerosis to confer plaque stability [J]. *Atherosclerosis*, 2017, 256: 128–130.
- [3] BOURMOUM M, CHARLES R, CLAING A. The GTPase ARF6 controls ROS production to mediate angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell proliferation [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (1) : e0148097.
- [4] YANG M M, FANG J, LIU Q G, et al. Role of ROS-TRPM7-ERK1/2 Axis in high concentration glucose-mediated proliferation and phenotype switching of rat aortic vascular smooth muscle cells [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, 494 (3/4) : 526–533.
- [5] LU Q B, WAN M Y, WANG P Y, et al. Chicoric acid prevents PDGF-BB-induced VSMC dedifferentiation, proliferation and migration by suppressing ROS/NFκB/mTOR/P70S6K signaling cascade [J]. *Redox Biology*, 2018, 14: 656–668.
- [6] ZHANG F, REN X, ZHAO M, et al. Angiotensin-(1–7) abrogates angiotensin II-induced proliferation, migration and inflammation in VSMCs through inactivation of ROS-mediated PI_3K/Akt and MAPK/ERK signaling pathways [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 34621.
- [7] 陈浩然. 海带多糖LJP61A对动脉粥样硬化的调控机制研究 [J]. *安徽农业科学*, 2018, 46 (21) : 158–161, 171.
CHEN H R. Study on the regulation mechanism of Laminarin LJP61A on atherosclerosis [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2018, 46 (21) : 158–161, 171. (in Chinese)
- [8] 彭臻菲, 方哲翔, 刘敏, 等. 海带多糖纯化及清除自由基活性研究 [J]. *食品工业科技*, 2013, 34 (15) : 80–83.
PENG Z F, FANG Z X, LIU M, et al. Purification and radical scavenging effect of *Laminaria japonica* polysaccharide [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013, 34 (15) : 80–83. (in Chinese)
- [9] 刘敏, 彭臻菲, 方哲翔, 等. 海带多糖硫酸酯对bFGF诱导的血管平滑肌细胞增殖的影响 [J]. *食品科学*, 2013, 34 (3) : 257–260.
LIU M, PENG Z F, FANG Z X, et al. Effect of sulfated polysaccharides extracted from *Laminaria japonica* on proliferation of vascular smooth muscle cells induced by bFGF [J]. *Food Science*, 2013, 34 (3) : 257–260. (in Chinese)
- [10] MENSNIKOV M, PLEKHANOVA O, CAI H, et al. Urokinase plasminogen activator stimulates vascular smooth muscle cell proliferation via redox-dependent pathways [J]. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2006, 26 (4) : 801–807.
- [11] SCHRÖDER K, HELMCKE I, PALFI K, et al. Nox1 mediates basic fibroblast growth factor-induced migration of vascular smooth muscle cells [J]. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2007, 27 (8) : 1736–1743.
- [12] 郭晓纲, 陈君柱, 朱建华, 等. 过氧化氢对血管平滑肌细胞增殖和明胶酶A及其抑制因子基因表达的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2002, 18 (12) : 1524–1528.
GUO X G, CHEN J Z, ZHU J H, et al. Effects of hydrogen peroxide on cell proliferation and expression of gelatinase A and its inhibitor in vascular smooth muscle cells [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2002, 18 (12) : 1524–1528. (in Chinese)
- [13] DAS D K, ENGELMAN R M, KIMURA Y. Molecular adaptation of cellular defences following preconditioning of the heart by repeated ischaemia [J]. *Cardiovascular Research*, 1993, 27 (4) : 578–584.
- [14] DAS D K, ENGELMAN R M, ROUSOU J A, et al. Pathophysiology of superoxide radical as potential mediator of reperfusion injury in pig heart [J]. *Basic Research in Cardiology*, 1986, 81 (2) : 155–166.
- [15] ROSS R. The pathogenesis of atherosclerosis: an update [J]. *New England Journal of Medicine*, 1986, 314 (8) : 488–500.
- [16] PENTIKAINEN M O, OORNI K, ALA-KORPELA M, et al. Modified LDL - trigger of atherosclerosis and inflammation in the arterial Intima [J]. *Journal of Internal Medicine*, 2000, 247 (3) : 359–370.
- [17] YOO A R, KOH S H, CHO G W, et al. Inhibitory effects of cilostazol on proliferation of vascular smooth muscle cells (VSMCs) through suppression of the ERK1/2 pathway [J]. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 2010, 17 (10) : 1009–1018.
- [18] ZHENG B, ZHENG C Y, ZHANG Y, et al. Regulatory crosstalk between KLF5, miR-29a and Fbw7/CDC4 cooperatively promotes atherosclerotic development [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 2018, 1864 (2) : 374–386.
- [19] JIN Z G. SOXF: redox mediators of vascular smooth muscle cell growth [J]. *Heart*, 2004, 90 (5) : 488–490.
- [20] 马军, 侯萍, 陈燕, 等. 几种海藻多糖抗氧化活性及体外抗脂质过氧化作用的研究 [J]. *南方水产科学*, 2017, 13 (6) : 97–104.
MA J, HOU P, CHEN Y, et al. Study on antioxidant activity and anti-lipid peroxidation effect of several algal polysaccharides [J]. *South China Fisheries Science*, 2017, 13 (6) : 97–104. (in Chinese)
- [21] 杨运高, 华何与, 张红栓, 等. 海藻多糖对大鼠红细胞免疫及自由基损伤的实验研究 [J]. *深圳中西医结合杂志*, 2005, 15 (1) : 21–23.
YANG Y G, HUA H Y, ZHANG H S, et al. Experimental Study of

- Algal Amylose on Erythrocyte Immune and Free Electron Injury in Rats [J]. *Shenzhen Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine*, 2005, 15 (1) : 21–23. (in Chinese)
- [22] 蔡婉静, 刘少伟, 李苒, 等. 乙酰化降解海带多糖的抗氧化、吸湿/保湿性能探究 [J]. 食品工业科技, 2019, 40 (10) : 109–114, 121.
- CAI W J, LIU S W, LI R, et al. Antioxidant and absorption/retention activities of the acetylated degraded *Laminaria japonica* polysaccharides [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40 (10) : 109–114, 121. (in Chinese)
- [23] 张晴岚, 张伟, 陈向凡. 海带多糖对实验性动脉粥样硬化大鼠血脂和 NO 及 NOS 的影响 [J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37 (4) : 1761–1767.
- ZHANG Q L, ZHANG W, CHEN X F. Effect of Laminaria Polysaccharide on Blood Lipids, Nitric Oxide and Nitric Oxide Synthase in experimental Atherosclerosis Rats [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2018, 37 (4) : 1761–1767. (in Chinese)

(责任编辑: 林海清)