

普伐他汀和 CRP 对 ADP 诱导的血小板凝血酶受体 PAR-1 表达的调节*

楚罗湘,周素娴,杨帆,覃月秋,梁志山,莫昌干,王晓迪

(广西医科大学第四附属医院心血管内科,广西柳州 545005)

[摘要] **目的** 探讨普伐他汀对二磷酸腺苷(ADP)诱导的血小板 PAR-1 表达的影响及机制。**方法** 体外分离富血小板血浆,分别给予 C 反应蛋白(CRP)、普伐他汀干预和 ADP 刺激进行体外研究。试验分组分别为:对照组,单纯 ADP 组,低浓度普伐他汀+ADP 组,高浓度普伐他汀组+ADP 组,CRP 组,普伐他汀+CRP 联合组。采用流式细胞技术检测 PAR-1 和 LOX-1 平均荧光强度(MFI)。采用酶联免疫试验检测 TXB₂ 和 F1+2 水平。**结果** 5 μmol/L ADP 刺激能促使血小板 PAR-1 表达增加 35%。50 μg/mL CRP 显著降低 ADP 诱导的血小板 PAR-1 的表达($P<0.01$)。1 μmol/L、10 μmol/L 普伐他汀均显著降低 ADP 诱导的血小板 PAR-1 的表达($P<0.01$)。联合应用 CRP 和普伐他汀更能降低 ADP 诱导的血小板 PAR-1 表达,较单独使用 CRP 或普伐他汀降低更显著($P<0.05$)。单纯 ADP 刺激后 TXB₂ 较基础时明显增高($P<0.01$),50 μg/mL CRP、10 μmol/L 普伐他汀干预后 ADP 刺激的 TXB₂ 分别下降为(112.68±24.48)pg/mL、(146.48±46.54)pg/mL,与单纯 ADP 刺激比较,差异均有统计学意义($P<0.01$)。50 μg/mL CRP 显著增加 ADP 诱导的 F1+2 水平($P<0.01$),10 μmol/L 普伐他汀对 ADP 诱导 F1+2 的生成无明显影响。普伐他汀呈浓度依赖性的方式降低 ADP 诱导的血小板 LOX-1 表达(1 μmol/L 和 10 μmol/L 普伐他汀处理后 MFI 分别为:1.80±0.19 和 1.62±0.16),与单纯 ADP 刺激后 LOX-1 表达(MFI:3.16±0.23)比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。50 μg/mL CRP 对 ADP 刺激的血小板 LOX-1 表达无明显影响。**结论** PAR-1 在 ADP 诱导的血小板活化中起重要作用,普伐他汀和 CRP 通过不同机制明显降低 ADP 诱导的血小板 PAR-1 的表达,提示在炎症状态下他汀仍能起着重要的抗血栓作用。

[关键词] C 反应蛋白质;血小板;普伐他汀;凝血酶受体 PAR-1**[中图分类号]** R363**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)11-1459-04**Modulation of PAR-1 expression by pravastatin and C reactive protein in vitro blood platelets***

Chu Luoxiang, Zhou Suxian, Yang Fan, Qin Yueqiu, Liang Zhishan, Mo Changgan, Wang Xiaodi

(Department of Cardiology, the Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Liuzhou, Guangxi 545005, China)

[Abstract] **Objective** To study the modulation of protease-activated receptor-1 (PAR-1) expression by pravastatin and C reactive protein(CRP) in vitro blood platelets. **Methods** Platelet-rich plasma (PRP) was isolated from peripheral blood, PRP were treated with CRP, pravastatin and ADP stimulation in vitro study. Experimental groups: blank control group, simple ADP stimulated group, low concentration of pravastatin+ADP group, high concentration pravastatin group+ADP group, CRP group, pravastatin+CRP united group. PAR-1 and LOX-1 expression on platelets were detected by flow cytometry, the result were shown by mean fluorescence intensity (MFI). TXB₂ and F1+2 levels were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** The 5 μmol/L ADP stimulation significantly increased PAR-1 expression on platelets by 35%. The 50 μg/mL CRP significantly reduced platelet PAR-1 expression induced by ADP($P<0.01$). 1, 10 μmol/L pravastatin significantly reduced platelet PAR-1 expression induced by ADP($P<0.01$). Platelet PAR-1 expression induced by ADP was further reduction by combination treatment of CRP, which were significantly reduced compared with treatment of CRP or pravastatin alone($P<0.05$). Simple ADP stimulation significantly increased TXB₂ level($P<0.01$). 50 μg/mL CRP and 10 μmol/L pravastatin respectively reduced TXB₂ level treated by ADP to (112.68±24.48)pg/mL and (146.48±46.54)pg/mL. Both were reduced significantly compared with ADP stimulation alone($P<0.01$). The 50 μg/mL CRP significantly increased level of prothrombin fragment 1+2 induced by ADP($P<0.01$), 10 μmol/L pravastatin, in contrast, did not influence F1+2 level. Pravastatin reduced platelet LOX-1 expression induced by ADP in a concentration dependent manner, MFI of LOX-1 on platelets treated by 1 μmol/L and 10 μmol/L pravastatin were 1.80±0.19 and 1.62±0.16 respectively, both were reduced significantly compared with that treated by ADP alone(MFI:3.16±0.23), $P<0.01$. The 50 μg/mL CRP had no significant effect on the expression of LOX-1 stimulated by ADP. **Conclusion** PAR-1 served as a critical mechanism to relay the platelet activation process induced by ADP. CRP and pravastatin reduced PAR-1 expression in platelet induced by ADP in different way. It is suggested that statins can still play an important role in the antithrombotic effect in the inflammatory state.

[Key words] C-reactive protein; platelet; pravastatin; protease-activated receptor-1

凝血酶是最强的血小板激活剂,人类血小板表达 PAR-1 和 PAR-4 两种凝血酶受体,PAR-1 是人血小板最主要的凝血酶受体,低浓度凝血酶可与 PAR-1 结合激血小板^[1]。临床研

究发现 PAR-1 拮抗剂能减少心脏血栓事件发生^[2]。

他汀类药物能改善心血管疾病的临床预后,这不仅与他汀类药物降低低密度脂蛋白胆固醇有关,还与他汀调脂以外的多效

性作用有关,如改善血管舒缩功能,促进血管再生及稳定易损斑块等,体内外的研究提示他汀类药物还能减轻血栓负荷及抑制血小板活化,另外他汀的抗炎作用同样得到证实^[3]。

C 反应蛋白(CRP)是判断心血管事件发生的炎症因子,最近的研究发现 CRP 通过促发炎症和激活凝血系统而加重动脉硬化的进展^[4]。然而有研究发现 CRP 对血小板的作用与其促血栓作用并不一致。PARIS 临床研究发现多种他汀类药物均能降低血小板 PAR-1 的表达,减少血小板的活化和血栓形成^[5],然而其机制不清,在炎症状态下他汀类药物对血小板 PAR-1 表达作用如何也少见报道。本文通过体外研究探讨普伐他汀对血小板 PAR-1 的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 试剂 ADP、CRP、普伐他汀购自 Sigma 公司, PE 标记的抗 PAR-1 流式抗体 SPAN-12 购自 Beckman Coulter 公司, FITC 标记的 LOX-1 流式抗体购自 Hycult Biotech 公司, TXB₂ 试剂盒购自 Cayman Chemical 公司, F1+2 购自 Behring Diagnostica 公司。

1.2 试验分组 本试验为体外研究,试验分组如下:对照组,只加入 PBS;单纯 ADP 组,5 μmol/L ADP 作用 15 min;低浓度普伐他汀+ADP 组,1 μmol/L 普伐他汀干预 10 min,再给予 5 μmol/L ADP 刺激 15 min;高浓度普伐他汀+ADP 组,10 μmol/L 普伐他汀干预 10 min,再给予 5 μmol/L ADP 刺激 15 min;CRP 组,50 μg/mL CRP 作用 10 min,再给予 5 μmol/L ADP 刺激 15 min;普伐他汀+CRP 联合组,50 μg/mL CRP+10 μmol/L 普伐他汀干预 10 min,再给予 5 μmol/L ADP 刺激 15 min。

1.3 制备富血小板血浆 富血小板血浆从健康志愿者外周血分离而来,采用 3.8% 枸橼酸钠抗凝,血与抗凝剂体积比为 9:1。在室温下以 150 r/min 离心 20 min,采集上层富血小板血浆。剩余血液再以 500 r/min 离心 10 min 获得贫血小板血浆。贫血小板血浆用来调整富血小板血浆中的血小板数目,试验过程血小板的数目调整为 3×10^{11} cell/L。试验方案通过了伦理学审查,参加试验的志愿者均获知情同意。

1.4 血小板聚集试验 血小板聚集试验采用美国 Chrono-Log 聚集仪,本试验采用的致聚集为 5 μmol/L ADP,血小板聚集率通过测量透光度来确定。

1.5 流式细胞检测技术 室温下在试验管内加入 100 μL 血小板悬液(数量为 3×10^{11} cell/L),给予 5 μmol/L ADP 刺激血小板 15 min 后,通过流式细胞技术检测血小板凝血酶受体 PAR-1 及氧化低密度脂蛋白受体 LOX-1 的表达。流式细胞仪为美国贝克曼库尔特公司的 Epics-XL 型。血小板洗涤后重悬于流式缓冲液中,然后各取 5 μL 富血小板血浆分别加入 PE 标记的 SPAN12 抗体及 FITC 标记的 LOX-1 抗体,在 hepes 缓冲液中培育 10 min,最后用 1% 多聚甲醛固定,通过流式细胞仪检测,采用平均荧光强度(MFI)或阳性百分率表示,每次计算血小板数目为 50 000 个。

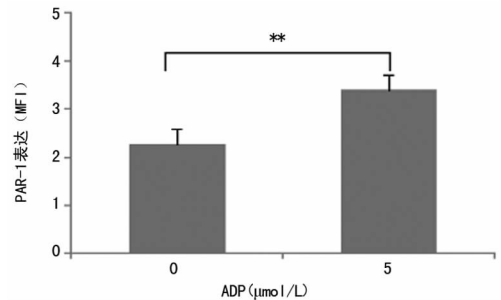
1.6 酶联免疫分析法 富血小板血浆中 TXB₂, 凝血酶原片段 F1+2 的水平采用酶联免疫吸附试验方法检测。严格按照产品说明书进行检测。

1.7 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析,计量资料和数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组均数间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 ADP 对血小板 PAR-1 表达的影响 ADP 是激活血小板

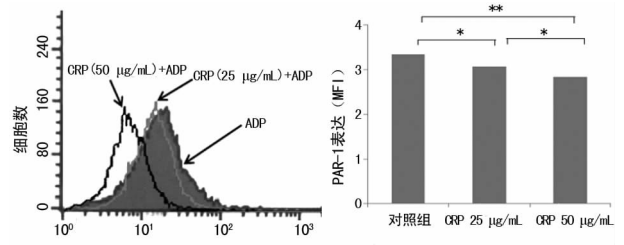
的非常重要的激动剂,首先检测不同浓度 ADP 诱导血小板聚集的情况。1 μmol/L ADP 仅仅诱导血小板发生单相聚集,而且很快发生自发性解聚,5 μmol/L ADP 诱导的血小板聚集为双相,10 μmol/L ADP 诱导的血小板双相聚集溶合在一起,表现为持续的聚集曲线。最大的聚集率为 61%,在本研究中,选择 5 μmol/L ADP 作为血小板的激动剂,通过流式细胞技术观察到血小板 PAR-1 表达,而 5 μmol/L ADP 刺激 5 min 能促使血小板 PAR-1 表达增加 35%,见图 1。



** : $P < 0.01$.

图 1 ADP 对血小板 PAR-1 表达的影响

2.2 CRP 对 ADP 诱导的血小板 PAR-1 表达的影响 富血小板血浆预先给予 CRP(25 μg/mL, 50 μg/mL), 干预 10 min, 然后加入 5 μmol/L ADP, 37 °C 培育 15 min, 采用流式细胞术检测血小板 PAR-1 表达。结果显示 CRP 呈浓度依赖性的抑制 ADP 诱导的血小板 PAR-1 的表达。血小板 PAR-1 的 MFI 从 3.33 ± 0.11 下降到 3.06 ± 0.15 (25 μg/mL CRP), 进一步下降到 2.82 ± 0.10 (50 μg/mL CRP)。见图 2。



** : $P < 0.01$, * : $P < 0.05$.

图 2 CRP 对 ADP 刺激的血小板 PAR-1 表达的影响

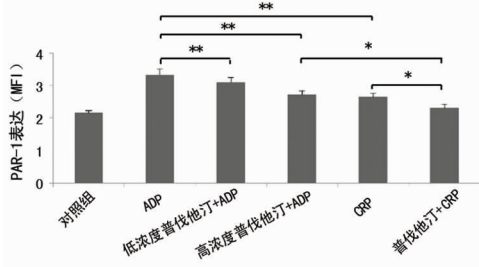
2.3 普伐他汀对 ADP 诱导的血小板 PAR-1 表达的影响 在室温下预先给予 1 μmol/L、10 μmol/L 普伐他汀于富血小板血浆中孵育 10 min, 然后加入 5 μmol/L ADP 再共同孵育 15 min, 流式细胞技术检测血小板 PAR-1 的表达。结果显示普伐他汀处理呈浓度依赖性抑制血小板 PAR-1 表达, 1 μmol/L、10 μmol/L 普伐他汀将 PAR-1 的 MFI 由单纯 ADP 刺激的 3.33 ± 0.11 分别降至 3.11 ± 0.18 和 2.72 ± 0.14 。

为验证在 CRP 存在的条件下普伐他汀对血小板 PAR-1 表达的影响, 将 50 μg/mL CRP 和 10 μmol/L 普伐他汀同时加入富血小板血浆共同孵育 10 min, 然后加入 5 μmol/L ADP 再共同孵育 15 min, 结果显示联合 CRP 和普伐他汀更明显抑制血小板 PAR-1 的表达(MFI 为 2.32 ± 0.11), 较单独使用 CRP 和普伐他汀下降得更显著($P < 0.05$), 见图 3。

2.4 CRP 和普伐他汀对血小板 TXB₂ 合成及凝血酶原片段 F1+2 生成的影响 血小板 TXA₂ 合成酶将 PGH₂ 转化成 TXA₂, 由于 TXA₂ 极不稳定, 作者检测 TXA₂ 的稳定性代谢产物 TXB₂。富血小板血浆在 ADP 刺激之前预先给予 50 μg/mL CRP 或 10 μmol/L 普伐他汀干预 10 min, 再给予 5 μmol/L

ADP 刺激 15 min, TXB₂ 的检测采用酶联免疫试剂盒检测富血小板血浆, 单纯 ADP 刺激使富血小板血浆表达 TXB₂ 从 (88.26±23.38)pg/mL 增加至 (185.30±41.82)pg/mL, 而预先给予 50 μg/mL CRP 使 TXB₂ 降至 (112.68±24.48)pg/mL, 同样, 10 μmol/L 普伐他汀同样将 TXB₂ 降至 (146.48±46.54)pg/mL。

凝血酶原片段 F1+2 可以反映血小板凝血酶的生成, 采用酶联免疫试剂盒检测富血小板血浆 F1+2 的水平变化。富血小板血浆在 ADP 刺激之前预先给予 50 μg/mL CRP 或 10 μmol/L 普伐他汀干预 10 min, 再给予 5 μmol/L ADP 刺激 15 min, 单纯 ADP 刺激使 F1+2 从 (0.65±0.20)nmol/L 上升至 (1.18±0.80)nmol/L ($P<0.05$)。而预先给予 50 μg/mL CRP 使 F1+2 显著增加 ($P<0.05$), 而 10 μmol/L 普伐他汀对 F1+2 无明显影响 ($P>0.05$)。见表 1。



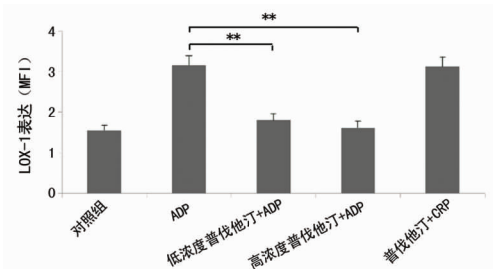
*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ 。

图 3 普伐他汀和 CRP 对 ADP 刺激的血小板 PAR-1 表达的影响

表 1 CRP 和普伐他汀对血小板 TXB₂ 合成及凝血酶原片段 F1+2 生成的影响 ($\bar{x}\pm s$)

项目	对照组	单纯 ADP 组	CRP 组	普伐他汀+ADP 组
TXB ₂ (pg/mL)	88.30±23.40	185.30±41.80	112.70±24.50*	146.50±46.50*
F1+2(nmol/L)	0.65±0.20	1.18±0.60	2.26±0.80*	1.21±0.80

* $P<0.01$, 与单纯 ADP 组比较。



** : $P<0.01$ 。

图 4 普伐他汀和 CRP 对 ADP 诱导的血小板 LOX-1 表达的影响

2.5 CRP 和普伐他汀对血小板 LOX-1 表达的影响 LOX-1 是 ox-LDL 的特异性受体, 它在动脉粥样硬化和动脉血栓形成中起重要作用。而且血小板活化后 LOX-1 在其表面大量表达。通过流式细胞检测到 ADP 刺激后血小板 LOX-1 表达明显增加, 作者研究 CRP 和普伐他汀是否会影响到 ADP 诱导的血小板 LOX-1 表达。富血小板血浆在 ADP 刺激之前预先给予 50 μg/mL CRP, 1 μmol/L 普伐他汀或 10 μmol/L 普伐他汀干预 10 min, 再给予 5 μmol/L ADP 刺激 15 min, 结果显示: ADP

刺激后血小板 LOX-1 明显增加 (MFI: 3.16±0.23 vs. 1.56±0.11, $P<0.01$)。CRP 对 ADP 刺激的血小板 LOX-1 表达无明显影响, 而普伐他汀呈浓度依赖性的方式降低 ADP 诱导的血小板 LOX-1 表达 (MFI 分别为: 1.80±0.19、1.62±0.16, 与单纯 ADP 刺激比较, $P<0.01$)。见图 4。

3 讨论

血小板凝血酶受体 PAR-1 对于 ADP 诱导血小板聚集和活化非常重要^[6]。通过流式细胞技术检测, ADP 刺激能增加血小板表面 PAR-1 表达 35% 左右, 而且是在 ADP 刺激 5 min 后就能产生这种变化, 这提示血小板表面的 PAR-1 增加不是通过翻译和合成来的, 因为这通常需要几小时至十几小时。这提示 PAR-1 在血小板表面的增加只是贮存在细胞内的抗原转到表面而被流式细胞仪检测到, ADP 刺激能促进位于血小板内部的 PAR-1 受体向细胞膜表面表达。

大量临床试验证实, CRP 不仅是判断心血管疾病预后的炎症标志物, 同时它也是动脉血栓事件的重要调节因子^[7]。Danenberg 等^[8]通过实验发现 CRP 转基因鼠在血管损伤时股动脉完全闭塞发生率明显增高, 这提示 CRP 参与了动脉血栓形成。CRP 在炎症状态下参与宿主反应的调节, CRP 能抑制 T 淋巴细胞活性和血小板的活化^[9], 但能激活补体系统和加强凝血功能^[10-11]; 在本研究中观察到 CRP 不仅能减少 ADP 刺激的血小板聚集, 而且能减少 ADP 刺激的血小板 PAR-1 的表达, 这提示炎症状态可能抑制血小板 PAR-1 的表达, 这与文献报道一致^[12]。因此 CRP 促进血栓形成并不是通过影响血小板 PAR-1 的表达, 而可能是通过影响凝血功能起作用。已有报道证实, CRP 直接作用于组织纤溶酶原系统和影响血管细胞组织因子的活性等增强凝血功能^[13-14]。CRP 下调血小板 PAR-1 的机制不清楚, 本研究发现, CRP 能降低 TXB₂ 的表达, 而 TXB₂ 是 TXA₂ 较稳定的代谢产物, TXA₂ 在 ADP 诱导血小板第二次聚集反应至关重要。还有一些研究发现 CRP 干扰前列腺素生成和代谢, 而这些均与花生四烯酸水解有关。研究发现 CRP 能与磷脂结合起到稳定细胞膜^[15], 防止组织损伤的作用, 这可能是其抑制血栓形成的机制, 从而在 CRP 下调 ADP 刺激血小板 PAR-1 表达中起一定的作用。另一方面, 证实 CRP 能增加凝血酶原片段 F1+2 表达, 这提示 CRP 能促进凝血酶形成, 而形成的凝血酶将与血小板表面的 PAR-1 结合并水解其 N 端从而激活受体, 而 PAR-1 一旦裂解激活, PAR-1 会失去再与凝血酶结合的能力, 也不能被 PAR-1 抗体识别而检测。

他汀类药物具有防止血栓形成等血管保护作用, 而且不依赖于其调脂作用。通过流式细胞技术, 证实普伐他汀体外干预能抑制 ADP 诱导血小板 PAR-1 的表达, 这与临床研究中报道的各种他汀均能降低血小板 PAR-1 的活性和表达水平相一致^[5]。本研究还发现普伐他汀能下调 ADP 依赖的血栓素形成, 同样在临床研究中使用他汀也有类似的作用。有研究报道辛伐他汀和普伐他汀能直接与血小板作用, 抑制 GPIIb-IIIa 受体表达, 进而能抑制血栓素的形成^[16]。由于 PAR-1 在 ADP 诱导的血小板聚集和活化中起重要作用, 作者推测普伐他汀对血栓素的作用与抑制血小板 PAR-1 有关。他汀类药物通过阻断 ROS 形成和减少 NAD⁺/NADH 比例起着抗氧化作用^[17]。LOX-1 是 ox-LDL 特异性受体, 一般认为在氧化应激状态下 LOX-1 会上调, LOX-1 在动脉硬化形成、进展及血栓形成中均起重要作用。研究表明阻断 LOX-1 能抑制 ADP 诱导的血小板聚集^[18], 这提示氧化应激在 ADP 诱导的血小板聚集和活化

中同样存在。通过流式细胞技术发现 ADP 能诱导血小板 LOX-1 表达,与 P-选择素类似,LOX-1 表达与血小板活化程度一致,普伐他汀能下调 ADP 诱导的血小板 LOX-1 表达,这可能是其抑制血小板 PAR-1 表达的一个重要机制。由于 CRP 对 ADP 诱导的血小板 LOX-1 表达无明显影响,而在 CRP 和普伐他汀均存在的情况下,ADP 诱导的血小板 PAR-1 表达下降更明显,这提示 CRP 和普伐他汀抑制 ADP 诱导的血小板 PAR-1 表达有不同的机制。

总之,PAR-1 在 ADP 诱导的血小板活化中起重要作用,普伐他汀和 CRP 通过不同机制明显降低 ADP 诱导的血小板 PAR-1 的表达,提示在炎症状态下他汀仍能起着重要的抗血栓作用,这为临床使用他汀类药物减少缺血事件提供了理论依据。

参考文献

- [1] Coughlin SR. Protease-activated receptors in hemostasis, thrombosis and vascular biology[J]. *J Thromb Haemost*, 2005, 3(8):1800-1814.
- [2] Storey RF, Kotha J, Smyth SS, et al. Effects of vorapaxar on platelet reactivity and biomarker expression in non-ST-elevation acute coronary syndromes. The TRACER Pharmacodynamic Substudy[J]. *Thromb Haemost*, 2014, 111(5):883-891.
- [3] Tousoulis D, Psarros C, Demosthenous M, et al. Innate and adaptive inflammation as a therapeutic target in vascular disease; the emerging role of statins[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 63(23):2491-2502.
- [4] Johnson GJ, Leis LA, Slater BC, et al. Elevated platelet count, C-reactive protein and thromboxane analog-induced platelet aggregation in patients with Gulf War veterans' illnesses; evidence of a chronic inflammatory state? [J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2013, 24(7):736-741.
- [5] Serebruany VL, Miller M, Pokov AN, et al. Effect of statins on platelet PAR-1 thrombin receptor in patients with the metabolic syndrome (from the PAR-1 inhibition by statins[PARIS]study)[J]. *Am J Cardiol*, 2006, 97(9):1332-1336.
- [6] Jiang L, Xu C, Yu S, et al. A critical role of thrombin/PAR-1 in ADP-induced platelet secretion and the second wave of aggregation[J]. *J Thromb Haemost*, 2013, 11(5):930-940.
- [7] Bisioendial RJ, Kastelein JJ, Levels JH, et al. Activation of inflammation and coagulation after infusion of C-reactive protein in humans[J]. *Circ Res*, 2005, 96(7):714-716.
- [8] Danenberg HD, Grad E, Swaminathan RV, et al. Neointi-

mal formation is reduced after arterial injury in human crp transgenic mice[J]. *Atherosclerosis*, 2008, 201(1):85-91.

- [9] Hansson GK, Libby P. The immune response in atherosclerosis; a double-edged sword[J]. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(7):508-519.
- [10] Bisioendial RJ, Kastelein JJ, Peters SL, et al. Effects of CRP infusion on endothelial function and coagulation in normocholesterolemic and hypercholesterolemic subjects [J]. *J Lipid Res*, 2007, 48(4):952-960.
- [11] Fujita Y, Yamaguchi S, Kakino A, et al. Lectin-like oxidized LDL receptor 1 is involved in CRP-mediated complement activation[J]. *Clin Chem*, 2011, 57(10):1398-1405.
- [12] Reiter R, Derhaschnig U, Spiel A, et al. Regulation of protease-activated receptor 1 (PAR1) on platelets and responsiveness to thrombin receptor activating peptide (TRAP) during systemic inflammation in humans[J]. *Thromb Haemost*, 2003, 90(5):898-903.
- [13] Wu J, Stevenson MJ, Brown JM, et al. C-reactive protein enhances tissue factor expression by vascular smooth muscle cells; mechanisms and in vivo significance[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(4):698-704.
- [14] Singh U, Devaraj S, Jialal I. C-reactive protein decreases tissue plasminogen activator activity in human aortic endothelial cells; evidence that C-reactive protein is a pro-coagulant[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(10):2216-2221.
- [15] Vigo C. Effect of C-reactive protein on platelet-activating factor-induced platelet aggregation and membrane stabilization[J]. *J Biol Chem*, 1985, 260(6):3418-3422.
- [16] Luzak B, Rywaniak J, Stanczyk L, et al. Pravastatin and simvastatin improves acetylsalicylic acid-mediated in vitro blood platelet inhibition[J]. *Eur J Clin Invest*, 2012, 42(8):864-872.
- [17] Lim S, Barter P. Antioxidant effects of statins in the management of cardiometabolic disorders [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2014, 21(10):997-1010.
- [18] Marwali MR, Hu CP, Mohandas B, et al. Modulation of ADP-induced platelet activation by aspirin and pravastatin; role of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1, nitric oxide, oxidative stress, and inside-out integrin signaling[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 322(3):1324-1332.

(收稿日期:2015-11-28 修回日期:2016-01-07)

(上接第 1458 页)

the effect of the micro-environment[J]. *Tissue Engin*, 2006, 12(6):1687-1697.

- [15] Qu C, Puttonen KA, Lindeberg H, et al. Chondrogenic differentiation of human pluripotent stem cells in chon-

drocyte co-culture[J]. *Int J Bioc Cell Biol*, 2013, 45(8):1802-1812.

(收稿日期:2015-12-08 修回日期:2016-02-01)