

织中 TLR2 信号通路的调节作用[J]. 安徽医科大学学报, 2018, 53(8): 1252-1259.

[10] 杨育辉, 刘华桢, 邓晓冬, 等. 芍药苷对 1 型糖尿病小鼠的治疗作用及机制研究[J]. 中药材, 2020, 43(8): 2007-2011.

[11] 许冬明, 李显国. 高脂饮食及运动对 2 型糖尿病大鼠脂联素、瘦素及血糖水平的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2016, 32(4): 298-300.

[12] Yin Y, Li R, Li X L, *et al.* Association between homocysteine level and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in type 2 diabetes accompanied by dyslipidemia [J]. *Chin Med Sci J*, 2020, 35(1): 85-91.

[13] Zhang Y J, Sun H L, Wang T, *et al.* Pterostilbene ameliorates glycemic control, dyslipidemia and liver injury in type 2 diabetes rats[J]. *Biomed Environ Sci*, 2020, 33(5): 365-368.

[14] 吴学敏, 王 涵, 顾成娟. 健脾利湿活血方治疗 2 型糖尿病合并脂代谢紊乱临床研究[J]. 天津中医药大学学报, 2019, 38(6): 558-561.

[15] Adeshara K A, Bangar N S, Doshi P R, *et al.* Action of metformin therapy against advanced glycation, oxidative stress and inflammation in type 2 diabetes patients; 3 months follow-up study[J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2020, 14(5): 1449-1458.

[16] 贾新菊, 康 岩, 杨爱格, 等. 黄芪甲苷抑制 NLRP3/IL-1 β 轴改善糖尿病小鼠血管炎性病变[J]. 上海中医药大学学报, 2020, 34(2): 66-70.

[17] 左丽娟, 李明霞, 邓文娟, 等. 甘精胰岛素联合诺和龙对 2 型糖尿病患者胰岛功能及 TNF- α , IL-6 的影响[J]. 北华大学学报 (自然科学版), 2019, 20(4): 498-501.

[18] Wang K, Liang Y, Su Y, *et al.* DhHP-6 ameliorates hepatic oxidative stress and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus through the PI3K/AKT and AMPK pathway [J]. *Biochem J*, 2020, 477(12): 2363-2381.

[19] 孙 权, 刘士臣, 徐伟明, 等. 褪黑素对糖尿病大鼠心肌 MDA、CAT 及 GSH-Px 含量和 AGE、RAGE 表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(16): 3503-3508.

[20] 宋 娜, 苏东峰, 刘晓燕, 等. 麦冬多糖对糖尿病围绝经期大鼠血清 SOD、GSH-Px、CAT、MDA 水平的影响[J]. 东南大学学报 (医学版), 2019, 38(6): 979-984.

[21] Kim D H, Park C H, Park D, *et al.* Ginsenoside Rc modulates Akt/FoxO1 pathways and suppresses oxidative stress[J]. *Arch Pharm Res*, 2014, 37(6): 813-820.

[22] 刘 青, 汪佳佳, 胡亚琴, 等. 小檗碱调节 PI3K/AKT/FOXO1/Bim 信号通路改善高糖诱导的足细胞损伤[J]. 中国药理学通报, 2020, 36(3): 329-334.

[23] Chen L L, Liu C Y, Gao J F, *et al.* Inhibition of Miro1 disturbs mitophagy and pancreatic β -cell function interfering insulin release *via* IRS-Akt-Foxo1 in diabetes[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(53): 90693-90705.

柚皮素对 LPS 诱导人脐静脉内皮细胞损伤的保护作用

高金利¹, 张翠颖²

(1. 青海卫生职业技术学院护理系, 青海 西宁 810000; 2. 青海大学医学院附属医院检验科, 青海 西宁 810000)

摘要: **目的** 探讨柚皮素对 LPS 诱导人脐静脉内皮细胞损伤的保护作用及其机制。**方法** MTT 法检测 5、20、80、160 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮素对人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 活力的影响, 以筛选适宜实验剂量。细胞分为对照组、LPS 组和 5、20 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮素组, MTT 法检测细胞活力, ELISA 法检测细胞上清液中炎症因子 IL-6、TNF- α 水平, DCFH-DA 染色观察细胞内活性氧 (ROS) 水平, 免疫荧光法观察细胞骨架蛋白及细胞连接蛋白形态变化, Western blot、RT-qPCR 法检测细胞 ICAM1、VCAM1、p-NF- κB p65 蛋白和 mRNA 表达。**结果** 0~20 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮素对 HUVEC 细胞无明显的毒副作用。与对照组比较, LPS 组细胞活力降低 ($P<0.01$), 细胞凋亡率、ROS 荧光强度、IL-6 和 TNF- α 水平、ICAM1、VCAM1、p-NF- κB p65 蛋白表达升高 ($P<0.01$), 细胞骨架蛋白出现聚集, 细胞萎缩; 与 LPS 组比较, 柚皮素组细胞活力增加 ($P<0.05$), 细胞凋亡率、ROS 荧光强度、IL-6 和 TNF- α 水平、ICAM1、VCAM1、p-NF- κB p65 蛋白表达降低 ($P<0.01$), 细胞骨架和连接蛋白破坏得到保护。**结论** 柚皮素对人脐静脉内皮细胞具有保护作用, 可减少炎症及氧化应激反应, 其作用与调控 NF- κB 通路有关。

关键词: 柚皮素; 脂多糖; 血管内皮细胞损伤; 炎症反应; 氧化应激

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)08-2736-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.08.049

收稿日期: 2021-04-12
基金项目: 青海省科技支撑计划项目 (090NKCA142)
作者简介: 高金利 (1972—), 女, 副教授, 从事助产专业教学研究。Tel: 17725275024

血管内皮细胞损伤及功能障碍是高血压、动脉粥样硬化、慢性肾脏病、糖尿病及其并发症出现的重要因素之一^[1-3]。当脓毒血症的病原体作用于血管内皮时，内皮细胞被激活以释放炎症介质（TNF- α 和 IL-1 β 等）、黏附分子（ICAM-1 和 VCAM-1），另外炎症因子、黏附分子的释放又可激活血管内皮细胞，进而促进血管内皮损伤^[4-5]，在多器官功能障碍和脓毒症的发展中发挥重要作用^[5]。

脂多糖（LPS）是革兰氏阴性细菌细胞壁外壁的组成成分，在其作用下血管内皮可通过炎症激活发生损伤。炎症状态下的血管内皮细胞（EC）半透膜屏障受到破坏导致血管内液外渗、组织水肿、血栓形成和动脉粥样硬化加重^[6]。当受到外界环境刺激时，ROS 的产生会急剧增加，可引起体内过强的氧化反应而导致内皮细胞损伤，促进心血管疾病的发展，因此抑制或清除 ROS 的产生来阻碍内皮细胞的氧化损伤被认为是预防心血管疾病的有效策略之一^[7-10]。细胞骨架在维持内皮结构完整性、血管通透性屏障和细胞信号转导等方面起着重要作用。内皮细胞骨架损伤在各种病理情况下均有报道，包括炎症、氧化应激和异常血流动力学^[11-13]。

柚皮素是柚皮苷（4, 5, 7-三羟基-二氢黄酮-7-鼠李葡萄糖苷）的苷配基，是一种从葡萄柚和柑橘类水果中提取的天然二氢黄酮苷元，现有多项研究证实，柚皮素具有抗炎、抗凋亡、减轻氧化应激等作用^[14-16]。本研究旨在探讨柚皮素对 LPS 诱导人脐静脉内皮细胞损伤的保护作用，以期为柚皮素保护血管内皮细胞损伤提供实验依据。

1 材料

1.1 细胞 人脐静脉内皮细胞（HUVEC）购自中国科学院上海细胞库，HUVEC 细胞在含有 10% 胎牛血清、青霉素（100 U/mL）和链霉素（100 mg/mL）的 DMEM 中，置于 37 ℃、5% CO₂ 饱和湿度的培养箱中培养。

1.2 药物与试剂 柚皮素（纯度 $\geq$ 98%，批号 529-55-5）购自成都曼思特生物科技有限公司；二甲基亚砜（DMSO）、LPS（大肠杆菌 055: B5）、DAPI、抗缢蛋白（Vinculin）抗体及抗鬼笔环肽（Phalloides）抗体（批号 ME1029522511、371120、AL-125、CS-4531）购自德国默克公司；BCA 蛋白分析试剂盒、RIPA、活性氧（ROS）试剂盒（批号 P0011、P0013B、S0033S）购自上海碧云天生物技术有限公司；噻唑蓝（MTT）粉末（批号 M2003）购自美国 Sigma 公司；TNF- α 、IL-1 β 酶联免疫吸附试验（ELISA）试剂盒（批号 S4321、S4312）购自武汉爱博泰克生物科技有限公司；抗 ICAM1、抗 VCAM1 及抗 p-NF- κ B p65 抗体（批号 ABP50334、ABP64321、ABP76532）购自武汉艾美捷科技有限公司；DCFH-DA 购自江苏碧云天高新技术有限公司；DMEM、胎牛血清（批号 S0033、BC-M-007）购自赛默飞世尔科技（中国）有限公司；羧甲基纤维素钠（CMC，批号 117385-93）购自上海懋圣工贸有限公司。

2 方法

2.1 MTT 法检测细胞活力 将 HUVEC 细胞以每孔 4×10^3

个的密度接种到 96 孔板中，置于培养箱中培养 24 h，然后加入不同浓度柚皮素（0、5、20、80、160 μ mol/L），培养 24 h 后每孔加入 20 μ L MTT（5 g/L），孵育 4 h，移除上清液，每孔加入 DMSO 150 μ L，摇晃 10 min，用酶标仪检测 570 nm 波长处其吸光度。

2.2 细胞分组及给药 细胞分为对照组、LPS 组和 5、20 μ mol/L 柚皮素组。对照组仅加培养基；LPS 组加入 1 μ g/mL LPS 处理 12 h；5、20 μ mol/L 柚皮素组加入 1 μ g/mL LPS 和 5、20 μ mol/L 柚皮素，37 ℃培养 24 h，MTT 法检测各组细胞活力。

2.3 细胞形态学观察 细胞按“2.2”项下方法分组、给药，37 ℃培养 24 h 后，于倒置显微镜下观察各组 HUVEC 细胞的生长情况。10% 多聚甲醛固定细胞 10 min，室温下用 1 μ g/mL DAPI 染色 8 min，PBS 洗涤 3 次，于倒置荧光显微镜下观察并拍照。

2.4 ELISA 法检测细胞上清液 IL-6、TNF- α 水平 细胞按“2.2”项下方法分组、给药，37 ℃培养 24 h 后，离心收集上清液，按照 ELISA 试剂盒说明书检测细胞上清液 IL-6、TNF- α 水平，实验重复 3 次。

2.5 ROS 水平检测 细胞按“2.2”项下方法分组、给药，37 ℃培养 24 h 后，收集细胞，使用 DCFH-DA 在 37 ℃下孵育 30 min，PBS 洗涤 3 次，于荧光显微镜下观察并拍照；并使用流式细胞仪测定其荧光强度。

2.6 免疫荧光法检测细胞骨架重塑和连接蛋白表达 各组细胞于盖玻片单层生长，PBS 洗涤，于 10% 中性甲醛中固定 30 min，5% BSA 溶液孵育 1 h。与一抗 Vinculin（1：300）、Phalloidin（1：140）、DAPI（0.5 mg/mL）孵育 5 min，PBS 洗涤 4 次，室温下孵育山羊抗兔 IgG 二抗（1：100），封片后于荧光显微镜下观察。

2.7 RT-qPCR 法检测细胞 ICAM1、VCAM1、NF- κ B p65 mRNA 表达 细胞按“2.2”项下方法分组、给药，37 ℃培养 24 h 后，收集细胞，按照试剂盒说明书，用 TRIzol 提取细胞总 RNA，使用 M-MLV 逆转录酶将总 RNA 反转录为 cDNA，以 GAPDH 为内参，通过 ABI Prism 7900 序列检测系统进行扩增反应，反应条件为 95 ℃ 2 min；95 ℃ 15 s，60 ℃ 30 s，38 个循环；熔解曲线分析用于验证引物特异性。使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法分析基因相对表达。ICAM1 正向引物序列 5'-GCAAGCAGGCCTACGATGAGT-3'，反向引物序列 5'-TCCAACCCTATCCACTAAGCAA-3'；VCAM1 正向引物序列 5'-TCAATGCCTGATGTTTCTCCT-3'，反向引物序列 5'-TCCAACCGCTTCCCTAAAGCAA-3'；NF- κ B p65 正向引物序列 5'-GCCTACATCGTGGTGCTCTTAGAG-3'，反向引物序列 5'-CACTGTAGTGGAAGCCCGAA-3'。

2.8 Western blot 法细胞检测 ICAM1、VCAM1、p-NF- κ B p65 蛋白表达 细胞按“2.2”项下方法分组、给药，37 ℃培养 24 h 后，收集细胞，使用含 1 mmol/L PMSF 的 RIPA 裂解缓冲液提取总蛋白，BCA 法测定蛋白浓度。通过 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白，并转移到聚偏二氟乙烯膜，

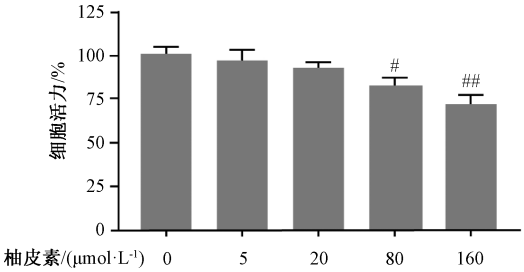
用 5% 脱脂乳封闭 2 h，加一抗 ICAM1（1：1 000）、VCAM1（1：1 000）、p-NF- κ B p65（1：1 000）、GAPDH（1：5 000）孵育过夜，洗膜后与二抗兔/小鼠抗-IgG（1：10 000）室温孵育 2 h，洗涤后利用 ECL 化学发光系统检测蛋白条带灰度值，计算目的蛋白相对表达。

2.9 统计学分析 通过 SPSS 24.0 软件进行处理，数据以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，组间差异评估采用 Student's *t* 检验，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD 法。*P*<0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 不同浓度柚皮素对 HUVEC 细胞活力的影响 图 1 显示，与对照组（0 $\mu\text{mol/L}$ ）比较，0~20 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮素对细胞活力无显著影响（*P*>0.05），故选择 5、20 $\mu\text{mol/L}$ 浓度柚皮素进行后续实验。

3.2 柚皮素对 LPS 诱导 HUVEC 细胞活力的影响 图 2 显示，与对照组比较，LPS 组细胞活力降低（*P*<0.01）；与 LPS 组比较，5、20 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮素组细胞活力增加（*P*<0.05，*P*<0.01），且 20 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮素作用更佳，表明柚皮素对 LPS 诱导的 HUVEC 细胞损伤具有一定的修复作用。

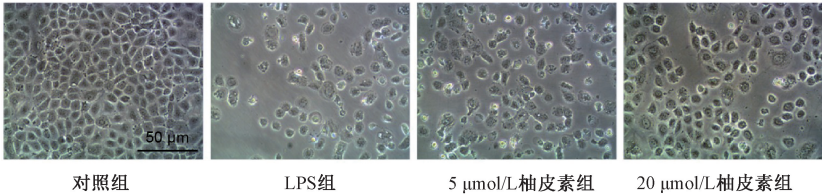


注：与对照组（0 $\mu\text{mol/L}$ ）比较，#*P*<0.05，##*P*<0.01。

图 1 不同浓度柚皮素对 HUVEC 细胞活力的影响（ $\bar{x}\pm s$ ，*n*=10）

3.3 柚皮素对 LPS 诱导 HUVEC 细胞凋亡的影响 图 3 显示，与对照组比较，LPS 组细胞出现核破裂和核固缩现象，细胞凋亡增加；与 LPS 组比较，5、20 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮素组细胞凋亡减少，且 20 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮素作用更佳，表明柚皮素可减少 LPS 诱导的 HUVEC 细胞凋亡。

3.4 柚皮素对 LPS 诱导 HUVEC 细胞炎症因子水平的影响 图 4 显示，与对照组比较，LPS 组 IL-6、TNF- α 水平升高（*P*<0.01），表明 LPS 诱导的 HUVEC 细胞炎症反应增



注：与对照组比较，##*P*<0.01；与 LPS 组比较，**P*<0.05，***P*<0.01。

图 2 柚皮素对 LPS 诱导 HUVEC 细胞活力的影响（ $\times 200$ ， $\bar{x}\pm s$ ，*n*=3）

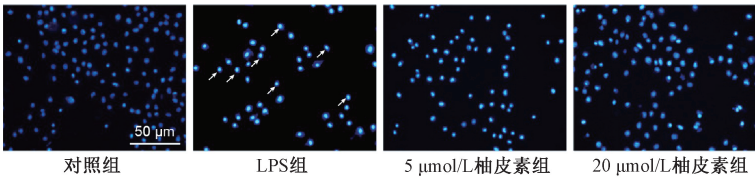
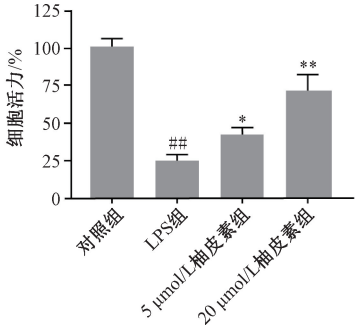
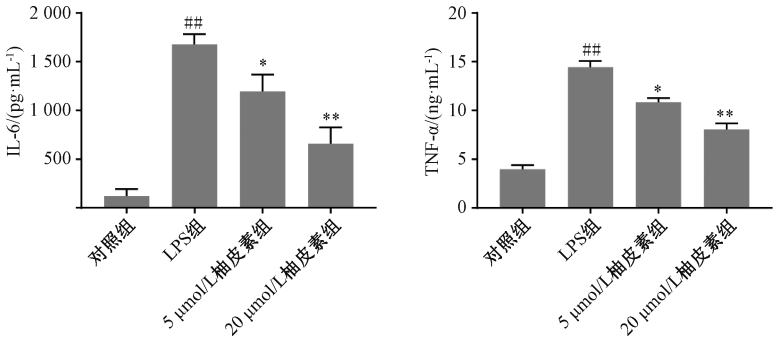


图 3 柚皮素对 LPS 诱导 HUVEC 细胞凋亡的影响（ $\times 200$ ）

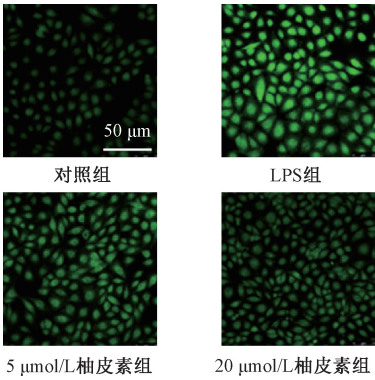


注：与对照组比较，##*P*<0.01；与 LPS 组比较，**P*<0.05，***P*<0.01。

图 4 柚皮素对 LPS 诱导 HUVEC 细胞炎症因子水平的影响（ $\bar{x}\pm s$ ，*n*=3）

强；与 LPS 组比较，5、20 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮素组 IL-6、TNF- α 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，表明柚皮素可减轻 LPS 诱导的细胞炎症反应。

3.5 柚皮素对 LPS 诱导 HUVEC 细胞 ROS 水平的影响 图 5 显示，与对照组比较，LPS 组 ROS 水平增加 ($P<0.01$)，表明 LPS 诱导的 HUVEC 细胞存在过度氧化应激；与 LPS 组比较，5、20 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮素组 ROS 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，表明柚皮素可减轻 LPS 诱导的细胞氧化应激



注：与对照组比较，^{##} $P<0.01$ ；与 LPS 组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

图 5 柚皮素对 LPS 诱导 HUVEC 细胞 ROS 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

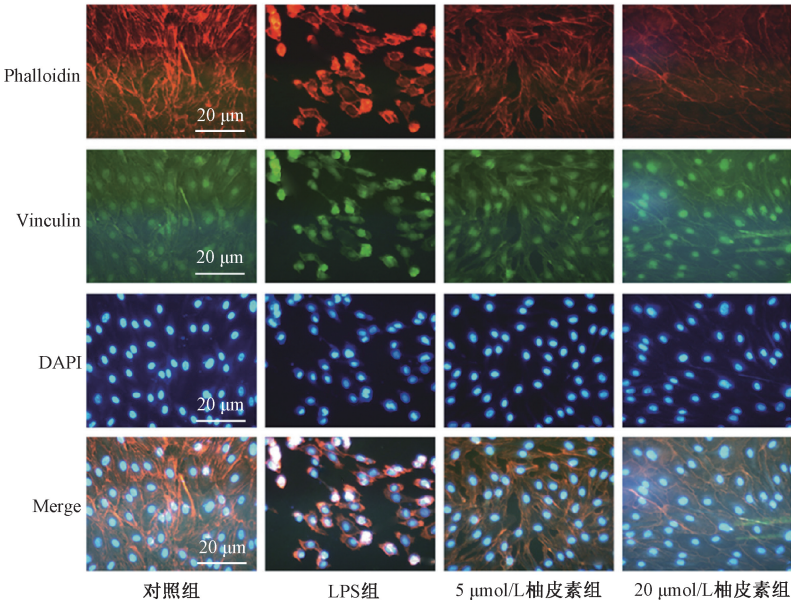
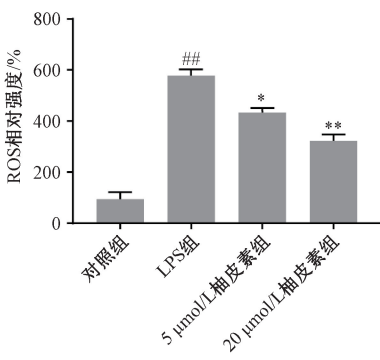


图 6 柚皮素对 LPS 诱导 HUVEC 细胞骨架和细胞连接蛋白的影响 ($\times 100$)

3.7 柚皮素对 LPS 诱导 HUVEC 细胞黏附分子及 NF- κ B 蛋白和 mRNA 表达的影响 ICAM1 和 VCAM1 在形成强黏连和白细胞向炎症血管的跨内皮迁移中起主要作用^[17]，可反映组织炎症反应程度，同时其也是 NF- κ B 通路的下游因子^[18]。图 7 显示，与对照组比较，LPS 组 ICAM1、VCAM1、p-NF- κ B p65 蛋白和 ICAM1、VCAM1、NF- κ B p65 mRNA 表达均升高 ($P<0.01$)；与 LPS 组比较，5、20 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮素组 ICAM1、VCAM1、p-NF- κ B p65 蛋白和 ICAM1、VCAM1、NF- κ B p65 mRNA 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，表明柚皮素可调控 NF- κ B 通路改善 HUVEC 细胞炎症反应进而发挥

反应。

3.6 柚皮素对 LPS 诱导 HUVEC 细胞骨架和细胞连接蛋白的影响 正常情况下，细胞骨架蛋白呈现环状排列，细胞连接蛋白在细胞间接触区域分布均匀。如图 6 所示，LPS 组 HUVEC 细胞骨架蛋白出现聚集，细胞出现萎缩，表明 LPS 能激活内皮细胞，诱导肌动蛋白收缩；而柚皮素可使这一现象得到逆转，表明柚皮素可保护内皮细胞免受或减少 LPS 诱导的细胞骨架蛋白和细胞连接蛋白的破坏。

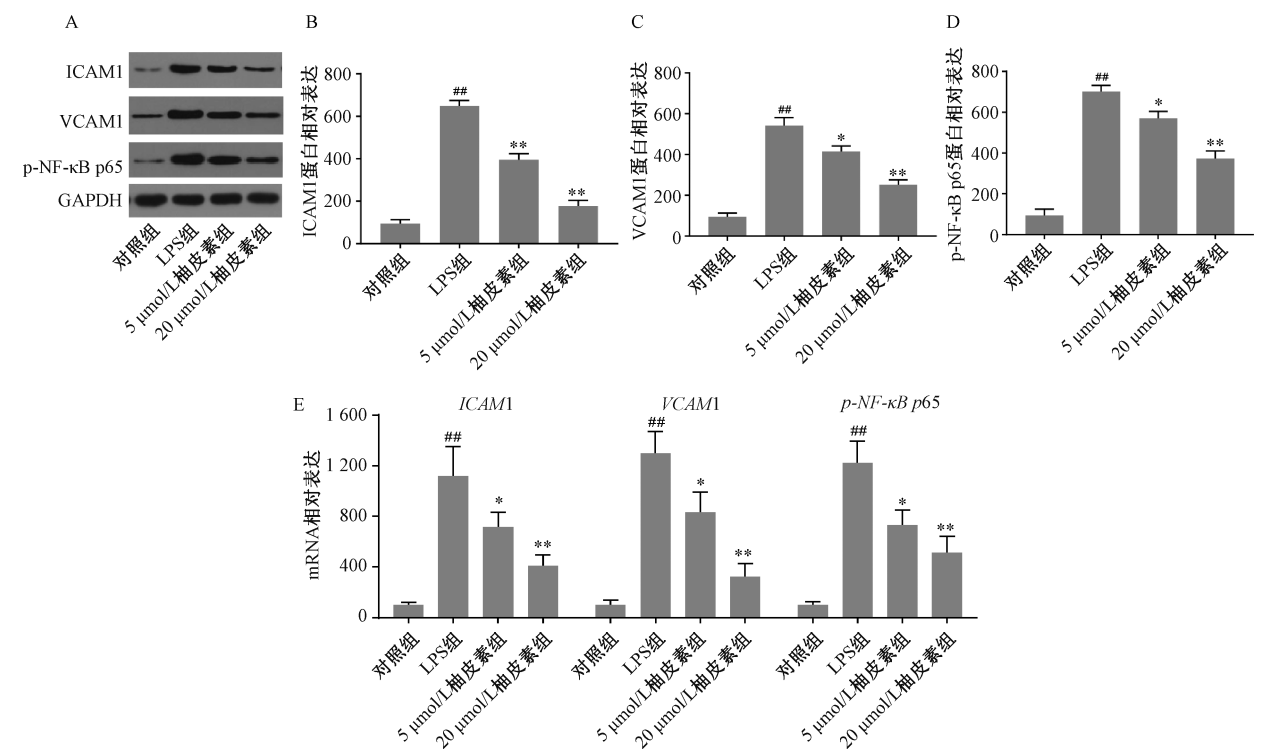


其保护作用。

4 讨论

现有大量研究已证实血管内皮细胞受损致功能障碍是心血管疾病发生及发展的重要过程之一，包括糖尿病、高血压、动脉粥样硬化以及慢性肾脏疾病等在内几乎所有可直接或间接引起心血管疾病的都涉及血管内皮细胞的损伤。因此，保护血管内皮结构和功能是临床治疗相关疾病的核心。

柚皮素是一种黄酮类化合物，已有多项研究证实柚皮素具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤及降血脂的作用。研究证实



注：A 为各组细胞 ICAM1、VCAM1、p-NF-κB p65 蛋白条带图，B~D 为各组细胞 ICAM1、VCAM1、p-NF-κB p65 蛋白表达统计图，E 为各组细胞 ICAM1、VCAM1、NF-κB p65 mRNA 表达统计图。与对照组比较，^{##}*P*<0.01；与 LPS 组比较，^{*}*P*<0.05，^{**}*P*<0.01。

图 7 柚皮素对 LPS 诱导 HUVEC 细胞 ICAM1、VCAM1、NF-κB p65 蛋白和 mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, *n*=3)

柚皮素可减轻糖尿病大鼠视网膜中的氧化应激反应，减少细胞凋亡以及改善神经营养^[19]。本研究发现，0~20 μmol/L 柚皮素对 HUVEC 细胞无明显的毒副作用，并且表现出对 LPS 诱导细胞损伤的保护作用，对细胞染色后的观察同样验证了这一结论。以上结果说明柚皮素能够在一定程度上对血管内皮受损起到保护作用。据报道，血管内皮细胞受损涉及广泛的炎症及氧化应激反应的过度激活^[4,7]。本研究发现，血管内皮细胞受损存在炎症及氧化应激反应的过度激活；而柚皮素可减轻这一病理过程的发生及发展，从而发挥对血管内皮细胞的保护作用。

有研究发现，柚皮素通过维持紧密连接蛋白结构的完整性从而减轻了 TNF-α 诱导的体外肠血管屏障损坏^[20]。本研究发现，正常情况下细胞骨架蛋白呈现环状排列，细胞连接蛋白在细胞间接触区域分布均匀；LPS 处理使血管内皮细胞骨架蛋白出现聚集，细胞出现萎缩，表明 LPS 能激活内皮细胞，诱导肌动蛋白收缩；而柚皮素可使这一现象得到逆转，说明柚皮素可保护内皮细胞免受或减少 LPS 诱导的细胞骨架和细胞连接蛋白的破坏，保护内皮细胞的完整性。

目前，关于血管内膜细胞损伤的机制研究，NF-κB 通路是目前被广泛认可的热点研究方向^[21-23]。本研究发现，血管内皮细胞受损后 NF-κB 通路被激活，从而发生炎症等病理过程；而柚皮素可对这一通路进行调节，减少其过度活化。以上研究结果表明，柚皮素可通过调节 NF-κB 通路发挥对 HUVEC 细胞的保护作用，但具体作用机制仍需进一

步研究加以证实。

综上所述，柚皮素对人脐静脉内皮细胞具有保护作用，可减少炎症及氧化应激反应，此保护作用与调控 NF-κB 通路有关。研究结果有望为保护血管内皮细胞功能提供新的治疗方法。

参考文献：

[1] Han W M, Chen X C, Li G R, *et al.* Acacetin protects against high glucose-induced endothelial cells injury by preserving mitochondrial function *via* activating Sirt1/Sirt3/AMPK signals [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 607796.

[2] Yu Y, Sun H, Zhu L, *et al.* Downregulating lncRNA PRNCR1 ameliorates LPS-induced pulmonary vascular endothelial cell injury by modulating miR-330-5p/TLR4 axis [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2021, 35(2): e22644.

[3] Chen J, Tan W. Platelet activation and immune response in diabetic microangiopathy [J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 507: 242-247.

[4] Monfoulet L E, Mercier S, Bayle D, *et al.* Curcumin modulates endothelial permeability and monocyte transendothelial migration by affecting endothelial cell dynamics[J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 112: 109-120.

[5] Opal S M, van der Poll T. Endothelial barrier dysfunction in septic shock[J]. *J Intern Med*, 2015, 277(3): 277-293.

[6] Chantelau E, Lee K M, Jungblut R. Distal arterial occlusive disease in diabetes is related to medial arterial calcification[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 1997, 105 Suppl 2: 11-13.

[7]

Watanabe Y, Cohen R A, Matsui R. Redox regulation of ischemic angiogenesis—Another aspect of reactive oxygen species[J]. *Circ J*, 2016, 80(6): 1278-1284.

[8]

Brown D I, Griendling K K. Regulation of signal transduction by reactive oxygen species in the cardiovascular system[J]. *Circ Res*, 2015, 116(3): 531-549.

[9]

Kornfeld O S, Hwang S, Disatnik M H, *et al.* Mitochondrial reactive oxygen species at the heart of the matter: new therapeutic approaches for cardiovascular diseases[J]. *Circ Res*, 2015, 116(11): 1783-1799.

[10]

Lu B, Zhu Z, Sheng L, *et al.* SMARCB1 promotes ubiquitination and degradation of NR4A3 *via* direct interaction driven by ROS in vascular endothelial cell injury[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 2048210.

[11]

Gong G, Kam H, Tse Y C, *et al.* Forchlorfenuron (CPPU) causes disorganization of the cytoskeleton and dysfunction of human umbilical vein endothelial cells, and abnormal vascular development in zebrafish embryos[J]. *Environ Pollut*, 2021, 271: 115791.

[12]

Tang S, Jiang J, Zhang N, *et al.* Tumor necrosis factor- α requires Ezrin to regulate the cytoskeleton and cause pulmonary microvascular endothelial barrier damage [J]. *Microvasc Res*, 2021, 133: 104093.

[13]

Mylvagana, S, Riedl M, Vega A, *et al.* Stabilization of endothelial receptor arrays by a polarized spectrin cytoskeleton facilitates rolling and adhesion of leukocytes [J]. *Cell Rep*, 2020, 31(12): 107798.

[14]

Caglayan C, Temel, Y, Kandemir F M, *et al.* Naringin protects against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity through modulation of oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and DNA damage[J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2018, 25(21): 20968-20984.

[15]

Basu A, Bhattacharjee A, Samanta A, *et al.* Prevention of cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and genotoxicity: Effect of an *L*-cysteine based oxovanadium (IV) complex on oxidative stress and DNA damage [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2015, 40(3): 747-757.

[16]

Khodayar M J, Kalantari H, Mahdavinia M, *et al.* Protective effect of naringin against BPA-induced cardiotoxicity through prevention of oxidative stress in male Wistar rats [J]. *Drug Chem Toxicol*, 2020, 43(1): 85-95.

[17]

Ming X, Ding M, Zhai B, *et al.* Biochanin A inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation in human umbilical vein endothelial cells[J]. *Life Sci*, 2015, 136: 36-41.

[18]

Zhang Q, Wu S, Sun G, *et al.* Hyperglycemia aggravates monocyte-endothelial adhesion in human umbilical vein endothelial cells from women with gestational diabetes mellitus by inducing Cx43 overexpression[J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(3): 234.

[19]

Al-Dosari D I, Ahmed M M, Al-Rejaie S S, *et al.* Flavonoid naringenin attenuates oxidative stress, apoptosis and improves neurotrophic effects in the diabetic rat retina [J]. *Nutrients*, 2017, 9(10): 1161.

[20]

Zhong J, Yu R, Zhou Q, *et al.* Naringenin prevents TNF- α -induced gut-vascular barrier disruption associated with inhibiting the NF- κ B-mediated MLCK/p-MLC and NLRP3 pathways [J]. *Food Funct*, 2021, 12(6): 2715-2725.

[21]

Shi X, Wang S, Luan H, *et al.* *Clinopodium chinense* attenuates palmitic acid-induced vascular endothelial inflammation and insulin resistance through TLR4-mediated NF- κ B and MAPK pathways[J]. *Am J Chin Med*, 2019, 47(1): 97-117.

[22]

Liu M, Iosef C, Rao S, *et al.* Transforming growth factor-induced protein promotes NF- κ B-mediated angiogenesis during postnatal lung development [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2021, 64(3): 318-330.

[23]

周美君, 邢岩江, 杨 隽. NF- κ B 抑制剂通过逆转 LPS 诱导的 BMPR II 下调改善肺血管重构[J]. *生理学报*, 2020, 72(5): 541-550.