

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.10.003
文章编号: 1005-8982(2018)10-0012-06

shRNA 沉默趋化素对小鼠主动脉平滑肌细胞增殖能力的影响及可能的机制*

牛美芝¹, 杨辉¹, 刘福垒²

(1. 山东省肥城矿业中心医院 心内科, 山东 肥城 271608;
2. 山东省泰安市中心医院, 山东 泰安 271000)

摘要: 目的 探讨 shRNA 沉默趋化素 (Chemerin) 对小鼠主动脉平滑肌细胞增殖能力的影响及可能的机制。**方法** 构建 Chemerin 基因 RNA 干扰慢病毒载体, 培养小鼠主动脉平滑肌细胞 (ASMC), 分成 4 组: Sham 组、PDGF 组、对照序列组和 Chemerin 沉默组。Chemerin 沉默组和对照序列组分别转染携带 Chemerin 干扰基因和对照基因序列的慢病毒, 分别向 PDGF 组、对照序列组和 Chemerin 沉默组细胞中加入 PDGF-BB, Sham 组则加入等量的 PBS。利用实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 检测各组细胞中 Chemerin 基因表达, 细胞计数实验和 BrdU 掺入法测定各组细胞增殖能力, Western blot 法检测各组细胞中 Chemerin、ERK1/2、p-ERK1/2、JNK 和 p-JNK 蛋白表达。**结果** Chemerin 沉默组细胞中 Chemerin 基因和蛋白相对表达量分别为 (0.35 ± 0.09) 和 (0.32 ± 0.09) , 与其他 3 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 均低于其他 3 组, 且对照序列组和 PDGF 组均高于 Sham 组; Chemerin 沉默组细胞数和吸光度 A 值分别为 $(34.27 \pm 3.08) \times 10^3$ 个/cm² 和 (1.26 ± 0.07) , 与其他 3 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 均低于其他 3 组, 且对照序列组和 PDGF 组均高于 Sham 组; Chemerin 沉默组细胞中 ERK1/2 和 JNK 蛋白相对表达量高于对照序列组和 PDGF 组, 低于 Sham 组, Chemerin 沉默组细胞中 p-ERK1/2 和 p-JNK 蛋白相对表达量低于其他 3 组, 而对照序列组和 PDGF 组高于 Sham 组, 均差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 特异性沉默 Chemerin 基因可阻止 ASMC 的增殖作用, 其机制可能与抑制 ERK1/2 和 JNK 信号通路有关。

关键词: 趋化素; 主动脉平滑肌细胞; 增殖; 丝裂原活化蛋白激酶

中图分类号: R-332

文献标识码: A

Effect of shRNA silencing of Chemerin on proliferation of mouse aortic smooth muscle cells and possible mechanisms*

Mei-zhi Niu¹, Hui Yang¹, Fu-lei Liu²

(1. Department of Cardiology, Feicheng Mining Center Hospital, Feicheng, Shandong 271608, China;

2. Taian City Central Hospital, Taian, Shandong 271000, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of shRNA silencing of Chemerin on the proliferation of aortic smooth muscle cells (ASMCs) in mice and the possible mechanisms. **Methods** Chemerin gene RNA interference lentiviral vector was constructed. The mouse ASMCs were cultured and divided into four groups: sham group, PDGF group, control sequence group and Chemerin-silenced group. ASMCs in the Chemerin-silenced group and the control sequence group were transfected with lentiviruses carrying the Chemerin interference gene and the control gene sequence, respectively. PDGF-BB was added to the PDGF group, the control sequence group and the Chemerin-

收稿日期: 2017-03-04

* 基金项目: 山东省自然科学基金 (No: ZR2014HL108)

silenced group, respectively. The sham group was added with the same amount of PBS. The expressions of Chemerin gene were detected by qRT-PCR. The cell proliferative ability was measured using cell counting test and BrdU incorporation method. The expressions of Chemerin, ERK1/2, p-ERK1 2, JNK and p-JNK proteins were analyzed by Western blot. **Results** The relative expression levels of Chemerin mRNA and protein in the Chemerin-silenced group were (0.35 ± 0.09) and (0.32 ± 0.09) , respectively, which were lower than those of the remaining 3 groups ($P < 0.05$), and they were statistically higher in the control sequence group and the PDGF group than in the sham group ($P < 0.05$). The number of cells and A value in the the Chemerin-silenced group were $(34.27 \pm 3.08) \times 10^3/\text{cm}^2$ and (1.26 ± 0.07) , which were lower than those in the remaining 3 groups ($P < 0.05$), and they were significantly higher in the control sequence group and the PDGF group than in the sham group ($P < 0.05$). The relative expression levels of ERK1/2 and JNK proteins in the Chemerin-silenced group were higher than those in the control sequence group and the PDGF group, but lower than those in the sham group; the relative expression levels of p-ERK1/2 and p-JNK proteins in the Chemerin-silenced group were lower than those in the remaining 3 groups, while they were statistically higher in the control sequence group and the PDGF group than in the sham group ($P < 0.05$). **Conclusions** Specific silencing of Chemerin gene could prevent the proliferation of ASMCs, the mechanism might be related to inhibition of ERK1/2 and JNK signaling pathway.

Keywords: Chemerin; aortic smooth muscle cell; proliferation; mitogen-activated protein kinase

冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)作为严重威胁人类健康的常见病,近年来发病率呈逐年上升趋势,冠状动脉粥样硬化是其重要的病理基础^[1],研究表明^[2],冠状动脉粥样硬化作为血管壁的一种慢性炎症疾病,是炎症反应、血管内皮细胞功能异常、血管平滑肌细胞异常增殖及迁移等共同作用的结果。有研究指出^[3],血管平滑肌细胞增殖及迁移异常在动脉粥样硬化发生及进展中发挥基础性作用。趋化素(Chemerin)作为新发现的一种趋化因子和脂肪因子,与肥胖、糖脂代谢异常等密切相关^[4],研究发现^[5],Chemerin在人冠状动脉周围脂肪组织及冠状动脉病变部位的血管平滑肌细胞中高表达。亦有研究指出^[6],Chemerin与其受体人趋化因子样受体1(chemokine receptor-like 1, CMKLR1)结合通过活化下游相应信号通路而参与了冠心病发生及进展过程。本研究通过转染 *Chemerin* 基因 RNA 干扰慢病毒载体,观察其对小鼠主动脉平滑肌细胞(aortic smooth muscle cell, ASMC)增殖能力的影响,并探讨可能的机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与设备

SPF 级 ICR 小鼠购自河南省实验动物中心[许可证号 SCXK(豫)2010-0002],雌雄不限,8~10 周龄,饲养于标准环境下。DMEM 培养基、胎牛血清、青链霉素混合液均购自美国 Gibco 公司,0.25% 胰蛋白酶、Trizol 总 RNA 提取试剂盒和 Lipofectamine

2000 转染试剂盒均购自美国 Invitrogen 公司,慢病毒表达载体试剂盒购自日本 TaKaRa 公司,293T 包装细胞购自广州赛业生物公司,血小板源性生长因子-BB(platelet-derived growth factor, PDGF-BB)购自上海古朵生物科技有限公司,逆转录试剂盒和聚合酶链反应试剂盒均购自大连宝生物公司,Chemerin 及内参引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司设计合成,兔抗小鼠 α 平滑肌肌动蛋白抗体购自北京中衫金桥生物技术有限公司,小鼠抗大鼠 Chemerin 单克隆抗体购自美国 Enzo Life Sciences 公司,兔抗鼠细胞外调节蛋白激酶 1/2(ERK1/2)单克隆抗体购自美国 Cell Signalling 公司,小鼠抗大鼠 p-ERK1/2 多克隆抗体、鼠抗 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)单克隆抗体购自美国 Biosource 公司,鼠抗 p-JNK 单克隆抗体购自上海瑞齐生物科技有限公司,兔抗山羊二抗购自武汉博士德生物技术有限公司,5-溴脱氧尿嘧啶核苷(BrdU)抗体购自美国 Sigma 公司,凝胶电泳分析系统购自美国 Bio-Rad 公司,实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)仪购自美国 ABI 公司。

1.2 方法

1.2.1 Chemerin 基因 RNA 干扰慢病毒载体构建及鉴定 根据小鼠 *Chemerin* 基因 mRNA 序列为干扰靶点,设计其靶向干扰的短发夹 RNA 序列(shRNA),正向:5'-GATCCGCTTTGTGAGGTTGGAATTTAATTCAAGAGATTAAATTCACCTCACAAAGTTTTTACGCGTG-3',反向:5'-AATTCACGCGTAAAAAAGTTTTGTGAG

GTTGGAATTTAATCTCTTGAATTAATCCAACCTCACAAAGCG-3'。根据试剂盒说明书,构建利用 293T 细胞对慢病毒进行包装,采用梯度稀释后,利用荧光计数对病毒滴度进行检测。

1.2.2 小鼠 ASMC 培养、鉴定及分组 利用颈椎脱臼法将小鼠处死,无菌操作下将胸主动脉取出,用眼科剪剪成小块状,胰酶预消化后,利用组织块贴壁法对 ASMC 进行原代细胞培养。细胞贴壁生长后进行传代培养,并采用免疫荧光法对 ASMC 进行鉴定。取传代培养细胞,分成 4 组:Sham 组、PDGF 组、对照序列组和 Chemerin 沉默组,其中,Chemerin 沉默组 and 对照序列组分别用携带 Chemerin 干扰基因和对照基因序列的慢病毒进行感染,分别向 PDGF 组、对照序列组和 Chemerin 沉默组细胞中加入终浓度为 20 ng/ml 的 PDGF-BB,Sham 组则加入等量的 PBS。

1.2.3 qRT-PCR 检测各组细胞中 Chemerin 基因表达 取各组传代培养 48 h 细胞,加入细胞裂解液进行裂解,用 Trizol 总 RNA 提取试剂盒对总 RNA 进行提取,用紫外分光光度计对总 RNA 纯度进行检测,取 $A_{260}/A_{280} \geq 1.80$ 作为合格样品。用逆转录试剂盒进行逆转录,获得模板单链 cDNA,以 cDNA 为模板进行 PCR。引物序列:Chemerin 引物,正向:5'-TACAGGTGCTCTGGAGGAGTTC-3',反向:5'-CTTCTCCCGTTTGTTTGATTG-3'; β -actin 引物,正向:5'-AGCCATGTACGTAGCCATCC-3',反向:5'-CTCTCAGCTGTGGTGGTGAA-3'。PCR 反应条件:92℃ 1 min,92℃ 30 s,58℃ 30 s,73℃ 30 s,连续进行 40 次循环。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法获得各组细胞中 Chemerin 基因相对表达量。

1.2.4 细胞计数实验 取各组细胞,胰酶消化后离心,接种于 96 孔板中,调整细胞密度为 1×10^4 个/孔,每组设置 6 个反应复孔,4 ~ 6 h 后改用 100 μ l 完全培养基进行培养。在加入 PDGF-BB 后培养 48 h 时,去除培养基,用含 EDTA 的胰酶 30 μ l 消化后,加入培养液 70 μ l,充分吹打,使细胞充分混合均匀,取细胞悬液 10 μ l,于显微镜下利用计数板对各组细胞进行计数。

1.2.5 BrdU 掺入法测定各组细胞增殖能力 取各组传代培养 48 h 细胞,接种于 96 孔板,将 10 μ mol/L 的 BrdU 溶液加入各孔,于恒温培养箱中培养 10 h,将 200 μ l 的 FixDenant 溶液加入,室温下孵育 25 min,于 2 000 r/min 离心 10 min,弃上清,将 100 μ l 的抗 BrdU-POD 工作液加入,室温下孵育 100 min,于

2 000 r/min 离心 10 min,弃上清,缓冲液反复冲洗 3 次,弃上清,将 100 μ l 的底物溶液加入,室温下孵育 25 min,将 25 μ l 的 H_2SO_4 溶液加入,于 400 r/min 离心 2 min,于 20 min 内利用酶标仪取 450 nm 波长对吸光度 (A) 值进行检测。

1.2.6 Western blot 检测各组细胞中 Chemerin、ERK1/2、p-ERK1/2、JNK 和 p-JNK 蛋白表达 取各组传代培养 48 h 细胞,加入细胞裂解液进行裂解,用总蛋白提取试剂盒对总蛋白进行提取,用 BCA 蛋白检测试剂盒对蛋白浓度进行检测。取 30 μ g 蛋白样品,进行 SDS-PAGE 电泳,电转移至 PVDF 膜上,用 5% 脱脂奶粉封闭 120 min,分别将小鼠抗大鼠 Chemerin 单克隆抗体、兔抗鼠细胞外调节蛋白激酶 1/2 (ERK1/2) 单克隆抗体、小鼠抗大鼠 p-ERK1/2 多克隆抗体、鼠抗 JNK 单克隆抗体和鼠抗 p-JNK 单克隆抗体 (稀释比例:1 : 800,1 : 1 200,1 : 1 000,1 : 500 和 1 : 800) 加入,4℃ 下过夜孵育,用 TBST 洗涤 3 次,将二抗加入,室温下孵育 60 min,用 ECL 发光试剂盒避光反应 30 min,利用 Image J 图像分析软件对获得的条带进行分析,获得各组细胞中 Chemerin、ERK1/2、p-ERK1/2、JNK 和 p-JNK 蛋白相对表达量。

1.3 统计学方法

利用 SPSS21.0 软件对数据进行分析,计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠 ASMC 培养及慢病毒感染检测结果

显微镜下观察,小鼠 ASMC 呈不规则形、三角形或长梭形,体积较小,见图 1A;沉默组和对照序列组小鼠 ASMC 分别转染 Chemerin 基因感染序列和阴性对照序列后,培养 48 h,荧光显像观察可见绿色荧光达 90% 以上,见图 1B,提示 ASMC 细胞慢病毒感染成功。

2.2 各组细胞中 Chemerin 基因表达比较

qRT-PCR 检测各组细胞中 Chemerin 表达水平,经单因素方差分析,差异有统计学意义 ($F = 172.943$, $P = 0.000$),各组 Chemerin 表达水平有差异;进一步两两比较显示,与 Sham 组相比,对照序列组和 PDGF

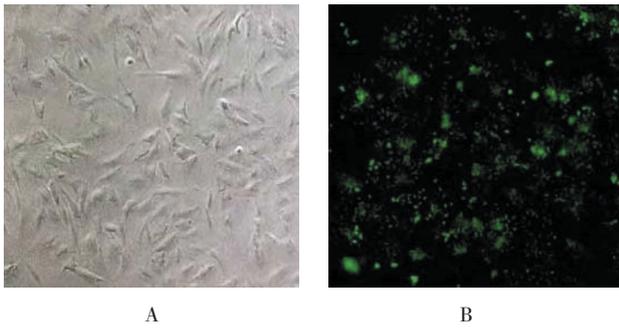


图 1 小鼠 ASMC 培养及慢病毒感染检测结果

组 Chemerin mRNA 相对表达量均增高 ($t=31.173$ 和 29.351 , 均 $P=0.000$), Chemerin 沉默组 Chemerin mRNA 相对表达量降低 ($t=16.817$, $P=0.000$)。与对照序列组和 PDGF 组相比, Chemerin 沉默组 Chemerin mRNA 相对表达量均降低 ($t=45.183$ 和 42.953 , 均 $P=0.000$), 见图 2。

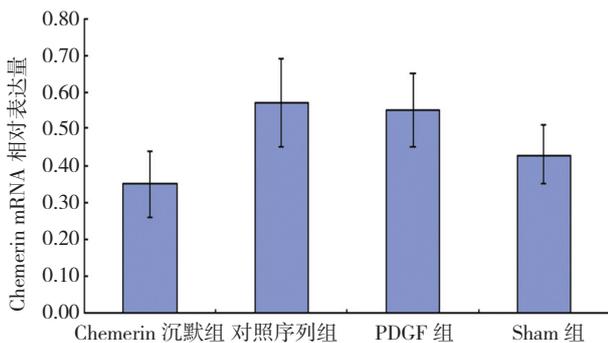


图 2 各组细胞中 Chemerin 基因表达

2.3 各组细胞增殖能力比较

细胞计数实验显示, Chemerin 沉默组、对照序列组、PDGF 组和 Sham 组细胞数分别为 $(34.27 \pm 3.08) \times 10^3$ 个/cm²、 $(58.62 \pm 3.71) \times 10^3$ 个/cm²、 $(61.35 \pm 4.16) \times 10^3$ 个/cm² 和 $(46.14 \pm 2.95) \times 10^3$ 个/cm², 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F=208.318$, $P=0.000$), 各组细胞数有差别; 进一步两两比较显示, 与 Sham 组相比, 对照序列组和 PDGF 组细胞数均增加 ($t=46.826$ 和 48.617 , 均 $P=0.000$), 而 Chemerin 沉默组细胞数降低 ($t=19.381$, $P=0.000$); 与对照序列组和 PDGF 组相比, Chemerin 沉默组细胞数均降低 ($t=61.291$ 和 64.064 , 均 $P=0.000$)。

BrdU 掺入法结果显示, Chemerin 沉默组、对照序列组、PDGF 组和 Sham 组吸光度 A 值分别为 (1.26 ± 0.07) 、 (1.58 ± 0.09) 、 (1.57 ± 0.10) 和 (1.43 ± 0.08) , 经单因素方差分析, 差异有统计学意义

($F=49.164$, $P=0.000$), 各组细胞吸光度 A 值有差别; 进一步两两比较显示, 与 Sham 组相比, 对照序列组和 PDGF 组吸光度 A 值均增加 ($t=10.517$ 和 10.483 , 均 $P=0.000$), 而 Chemerin 沉默组吸光度 A 值降低 ($t=13.067$, $P=0.000$); 与对照序列组和 PDGF 组相比, Chemerin 沉默组吸光度 A 值均降低 ($t=16.862$ 和 16.798 , 均 $P=0.000$)。

2.4 各组细胞中 Chemerin、ERK1/2、p-ERK1/2、JNK 和 p-JNK 蛋白表达比较

Western blot 检测各组细胞中 Chemerin、ERK1/2、p-ERK1/2、JNK 和 p-JNK 蛋白表达水平, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F=39.167$ 、 48.375 、 31.272 、 56.759 和 40.391 , 均 $P=0.000$), 各组细胞中 Chemerin、ERK1/2、p-ERK1/2、JNK 和 p-JNK 蛋白表达水平有差别; 进一步两两比较显示, 与 Sham 组相比, 对照序列组和 PDGF 组 Chemerin、p-ERK1/2、p-JNK 灰度均增高 ($t=26.842$ 、 27.167 、 20.572 、 19.883 、 11.057 和 10.837 , 均 $P=0.000$), 而 ERK1/2、JNK 灰度均降低 ($t=29.382$ 、 29.168 、 32.672 和 32.405 , 均 $P=0.000$); 与 Sham 组相比, Chemerin 沉默组 Chemerin、ERK1/2、p-ERK1/2、JNK、p-JNK 灰度均降低 ($t=13.286$ 、 12.195 、 7.235 、 11.836 和 10.672 , $P=0.000$ 、 0.000 、 0.001 、 0.000 和 0.000); 与对照序列组和 PDGF 组相比, Chemerin 沉默组 Chemerin、p-ERK1/2、p-JNK 灰度均降低 ($t=37.268$ 、 38.173 、 11.971 、 11.684 、 31.824 和 32.174 , 均 $P=0.000$), 而 ERK1/2、JNK 灰度均增加 ($t=13.082$ 、 13.574 、 13.582 和 14.015 , 均 $P=0.000$), 见图 3 和附表。

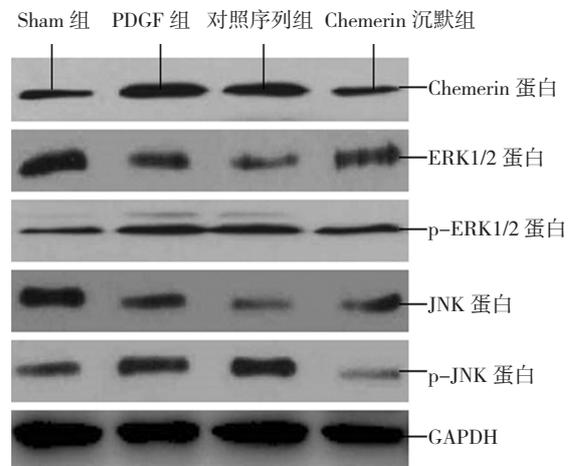


图 3 各组细胞中 Chemerin、ERK1/2、p-ERK1/2、JNK 和 p-JNK 蛋白表达

附表 各组细胞中 Chemerin、ERK1/2、p-ERK1/2、JNK 和 p-JNK 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Chemerin 蛋白	ERK1/2 蛋白	p-ERK1/2 蛋白	JNK 蛋白	p-JNK 蛋白
Sham 组	0.48 ± 0.06	0.63 ± 0.08	0.48 ± 0.09	0.69 ± 0.11	0.54 ± 0.07
PDGF 组	0.69 ± 0.10 ¹⁾	0.36 ± 0.10 ¹⁾	0.62 ± 0.11 ¹⁾	0.40 ± 0.09 ¹⁾	0.66 ± 0.09 ¹⁾
对照序列组	0.71 ± 0.12 ¹⁾²⁾	0.37 ± 0.11 ¹⁾²⁾	0.64 ± 0.14 ¹⁾²⁾	0.42 ± 0.12 ¹⁾²⁾	0.65 ± 0.10 ¹⁾²⁾
Chemerin 沉默组	0.32 ± 0.09 ¹⁾²⁾³⁾	0.49 ± 0.09 ¹⁾²⁾³⁾	0.39 ± 0.10 ¹⁾²⁾³⁾	0.57 ± 0.10 ¹⁾²⁾³⁾	0.43 ± 0.08 ¹⁾²⁾³⁾
F 值	39.167	48.375	31.272	56.759	40.391
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: 1) 与 Sham 组相比, $P < 0.05$; 2) 与 PDGF 组相比, $P < 0.05$; 3) 与对照序列组相比, $P < 0.05$

3 讨论

冠状动脉粥样硬化作为冠心病和冠心病介入治疗后再狭窄发生的共同病理基础, 对患者生命健康造成严重影响^[7]。该病发生机制较为复杂, 目前尚未完全清楚。Chemerin 作为新近发现的脂肪因子, 广泛存在于机体组织中, 与肥胖相关疾病发生及糖脂代谢失衡密切相关^[8]。有研究指出^[9], 冠心病患者血浆 Chemerin 水平升高, 且与病情严重程度呈正相关。研究表明^[10], Chemerin 与存在于人血管内皮细胞上的特异性 CMKLR1 结合可诱导血管内皮细胞增殖及血管新生。而血管平滑肌细胞异常增殖在冠状动脉粥样硬化发生及血管重构中发挥关键性作用^[11]。亦有研究指出^[12], 动脉粥样斑块增殖中 Chemerin 呈高表达。这些研究表明 Chemerin 可能参与了动脉粥样硬化发生及进展过程, 但具体机制尚不明确。

本研究利用 RNA 干扰技术, 构建 Chemerin 基因缺陷慢病毒载体, 并转染小鼠 ASMC, 结果显示, 小鼠 ASMC 被成功分离培养, 转染培养 48 h 后, 荧光显微镜观察可见绿色荧光达 90% 以上, 提示 ASMC 细胞慢病毒感染成功。本研究利用 PDGF-BB 对小鼠 ASMC 进行诱导, 结果显示, PDGF-BB 可促进小鼠 ASMC 增殖。本研究结果显示, Chemerin 沉默组细胞中 Chemerin 基因和蛋白相对表达量均低于对照序列组、PDGF 组和 Sham 组, 进一步说明 Chemerin 沉默组细胞中 Chemerin 基因被抑制。细胞计数实验和 BrdU 掺入法结果均显示, Chemerin 沉默组细胞数和吸光度 A 值均降低, 表明 Chemerin 与小鼠 ASMC 增殖密切相关, 抑制 Chemerin 基因表达可抑制 ASMC 增殖能力。

研究表明^[13], 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路在细胞增殖、凋亡、分化、迁移等多种细胞生物学过程中发挥重要作用。MAPK 信号活化可促进自

发性高血压大鼠血管平滑肌细胞增殖^[14], 阻断 MAPK 信号通路可抑制动脉损伤后血管平滑肌细胞增殖^[15]。ERK1/2 和 JNK 通路是 MAPK 信号通路中重要组成部分, 与细胞增殖、分化和凋亡过程密切相关^[16]。本研究显示, Chemerin 沉默组细胞中 ERK1/2 和 JNK 蛋白相对表达量均高于对照序列组和 PDGF 组, 而低于 Sham 组, Chemerin 沉默组细胞中 p-ERK1/2 和 p-JNK 蛋白相对表达量均低于对照序列组、PDGF 组和 Sham 组, 而对照序列组和 PDGF 组均高于 Sham 组, 说明 Chemerin 沉默组细胞中 ERK1/2 和 JNK 信号通路被抑制, 提示沉默 Chemerin 基因阻止小鼠 ASMC 增殖可能与抑制 ERK1/2 和 JNK 信号通路有关。

综上所述, 特异性沉默 Chemerin 基因可阻止 ASMC 的增殖作用, 其机制可能与抑制 ERK1/2 和 JNK 信号通路有关, 为冠状动脉粥样硬化发病机制研究提供了一定理论基础, 同时为该病基因防治提供了潜在靶点。

参 考 文 献:

- [1] WONG M C, ZHANG D X, WANG H H. Rapid emergence of atherosclerosis in Asia: a systematic review of coronary atherosclerotic heart disease epidemiology and implications for prevention and control strategies[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2015, 26(4): 257-269.
- [2] ORG E, MEHRABIAN M, LUSIS A J. Unraveling the environmental and genetic interactions in atherosclerosis: central role of the gut microbiota[J]. *Atherosclerosis*, 2015, 241(2): 387-399.
- [3] ZHANG Y N, XIE B D, SUN L, et al. Phenotypic switching of vascular smooth muscle cells in the 'normal region' of aorta from atherosclerosis patients is regulated by miR-145[J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(6): 1049-1061.
- [4] ZABEL B A, KWITNIEWSKI M, BANAS M, et al. Chemerin regulation and role in host defense[J]. *Am J Clin Exp Immunol*,

- 2014, 3(1): 1-19.
- [5] 吴孟水, 宁翠利. Chemerin 的研究进展 [J]. 医学综述, 2016, 22(11): 2102-2106.
- [6] KOSTOPOULOS C G, SPIROGLOU S G, VARAKIS J N, et al. Chemerin and CMKLR1 expression in human arteries and periadventitial fat: a possible role for local chemerin in atherosclerosis?[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2014, 14(3): 56-61.
- [7] 王欣琛. 冠心病的危险因素及二级预防策略 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2016, 14(11): 1303-1304.
- [8] 韩晓菲, 田慧. 脂肪因子 chemerin 的研究进展 [J]. 解放军医学杂志, 2016, 41(5): 430-436.
- [9] AKSAN G, İNCI S, NAR G, et al. Association of serum chemerin levels with the severity of coronary artery disease in patients with metabolic syndrome[J]. Int J Clin Exp Med, 2014, 7(12): 5461-5468.
- [10] AKAMATA K, ASANO Y, TANIGUCHI T, et al. Increased expression of chemerin in endothelial cells due to Fli1 deficiency may contribute to the development of digital ulcers in systemic sclerosis[J]. Rheumatology (Oxford), 2015, 54(7): 1308-1316.
- [11] YU X, LI Z, CHEN G, et al. MicroRNA-10b induces vascular muscle cell proliferation through Akt pathway by targeting TIP30[J]. Curr Vas Pharmacol, 2015, 13(5): 679-686.
- [12] GASBARRINO K, MANTZOROS C, GORGUI J, et al. Circulating chemerin is associated with carotid plaque instability, whereas resistin is related to cerebrovascular symptomatology[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2016, 36(8): 1670-1678.
- [13] ZHANG Y, PIZZUTE T, PEI M. A review of crosstalk between MAPK and Wnt signals and its impact on cartilage regeneration[J]. Cell Tissue Res, 2014, 358(3): 633-649.
- [14] BOU DAOU G, LI Y, ANAND-SRIVASTAVA M B. Enhanced expression of G α proteins contributes to the hyperproliferation of vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats via MAP kinase- and PI3 kinase-independent pathways[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2016, 94(1): 49-58.
- [15] ZHANG M, WANG X, BAI B, et al. Oxymatrine protects against sepsis-induced myocardial injury via inhibition of the TNF- α /p38-MAPK/caspase-3 signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2016, 14(1): 551-559.
- [16] 王兆林, 王盖昊, 于晓辉. MAPK 信号通路在肝细胞癌发生发展中的作用 [J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(2): 326-330.

(张蕾 编辑)