

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.09.001

文章编号: 1005-8982(2016)09-0001-06

论著

siRNA 沉默热休克蛋白 27 对雌激素 心血管保护作用的影响*

周琴¹, 邓华菲¹, 谭玉林¹, 曾新艳², 颜复生², 罗桐秀¹, 易光辉³

(1. 湘南学院 病理生理学教研室, 湖南 郴州 423000; 2. 湘南学院第一附属医院, 湖南 郴州 423000; 3. 南华大学 心血管疾病研究所, 湖南 衡阳 421001)

摘要:目的 通过基因沉默技术,研究热休克蛋白 27(HSP27)对雌激素介导的心血管保护作用的影响。**方法** 人脐静脉内皮细胞(HUVEC)转染 HSP27 siRNA,免疫荧光法检测 siRNA 转染效率,Western blot 和逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测 HUVEC 中 HSP27 蛋白和 mRNA 表达水平; 1×10^{-7} mol/L 雌二醇(E2)处理转染 HSP27 siRNA 的 HUVEC,24 h 后采用硝酸还原酶法检测培养基中一氧化氮(NO)的含量,酶联免疫吸附法(ELISA)检测细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、内皮素-1(ET-1)的含量。**结果** HSP27 siRNA 能降低 HSP27 蛋白和 mRNA 表达。 1×10^{-7} mol/L E2 可促进 HUVEC 分泌 NO,同时降低 ICAM-1 和 ET-1 水平。转染 HSP27 siRNA 后,E2 介导内皮细胞分泌 NO 和 ICAM-1 受到抑制。但沉默 HSP27 对 E2 抑制内皮细胞分泌 ET-1 无明显影响。**结论** HSP27 可能通过雌激素来影响内皮细胞分泌 NO 和 ICAM-1,参与心血管的保护。

关键词: 雌激素;人脐静脉内皮细胞;热休克蛋白 27;小干扰 RNA;一氧化氮;内皮素-1;细胞间黏附分子-1

中图分类号: R363

文献标识码: A

Influence of siRNA-mediated HSP27 knockdown on estrogen-mediated cardiovascular protection*

Qin Zhou¹, Hua-fei Deng¹, Yu-lin Tan¹, Xin-yan Zeng²,
Fu-sheng Yan², Tong-xiu Luo¹, Guang-hui Yi³

(1. Department of Pathophysiology, Xiangnan University, Chenzhou, Hunan 423000, China;

2. The First Affiliated Hospital, Xiangnan University, Chenzhou, Hunan 423000, China;

3. Institute of Cardiovascular Diseases, University of South China,
Hengyang, Hunan 421001, China)

Abstract: Objective To investigate the influence of HSP27 on the cardiovascular protection of estrogen by gene silencing technique. **Methods** HSP27 siRNA was transfected to human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). The transfection efficiency was assessed by immunofluorescence technique. The expressions of HSP27 mRNA and protein in HUVECs were determined by RT-PCR and Western blot, respectively. HUVECs transfected with HSP27 siRNA were incubated with 1×10^{-7} mol/L estradiol (E2) for 24 hours. The level of nitric oxide (NO) in medium was determined by nitrite/nitrate colorimetric method, and the levels of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and endothelin-1 (ET-1) in the supernatant were determined by ELISA. **Results** HSP27 siRNA sequence significantly reduced the expression of HSP27 in protein and mRNA levels. E2 at the level of 1×10^{-7} mol/L could obviously promote the secretion of NO from HUVECs, and decrease the

收稿日期:2015-07-01

* 基金项目:国家自然科学基金(No:81270360);湖南省科技厅科技计划重点项目(2014FJ2012);湖南省教育厅项目(No:11C1179);湖南省郴州市科技局项目(No:[2011]29);湖南省重点建设学科(No:2011-76)

[通信作者] 易光辉.E-mail: ghyi6108@163.com

ICAM-1 and ET-1 levels. After transfection with HSP27 siRNA, E2-mediated secretion of NO and ICAM-1 by HUVECs was inhibited. However, the level of ET-1 had no significant change. **Conclusions** HSP27 may influence the role of E2 on the secretion of NO and ICAM-1 in HUVECs, and protect the cardiovascular system.

Keywords: estrogen; human umbilical vein endothelial cell; heat shock protein 27; small interfere RNA; nitric oxide; endothelin-1; intercellular adhesion molecule-1

动脉粥样硬化是多种心血管疾病的发病基础,其病变早期主要损伤血管内皮细胞。雌激素能调节内皮细胞分泌血管活性物质,维持血管张力,还能通过雌激素受体(estrogen receptor, ER)促进内皮细胞增殖,调节内皮细胞功能,从而起到血管保护作用。有研究发现热休克蛋白 27(heat shock protein 27, HSP27)具有抗动脉粥样硬化的作用,动脉粥样硬化斑块较正常血管壁组织分泌 HSP27 减少,提示 HSP27 通过保护血管壁来对抗动脉粥样硬化的发展^[1-2]。雌激素在雌激素受体的参与下,可诱导多种细胞产生 HSP27^[2-3]。本研究的前期细胞实验也证实生理浓度($1 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-7}$ mol/L)的雌二醇(Estradiol, E2)能诱导人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)中 HSP27 表达上调,其中以 1×10^{-7} mol/L E2 作用最为明显^[4]。研究表明, HSP27 的血管壁保护作用与雌激素相关^[5],那么 HSP27 的这种抗动脉粥样硬化作用是否是通过增强雌激素的内皮保护作用实现的呢?本研究采用小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)技术阻断 HUVEC 内 HSP27 的表达,以一氧化氮 NO、内皮素-1(endothelin-1, ET-1)和细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)作为观察内皮细胞功能的指标,观察 HSP27 对雌激素诱导的内皮保护作用的影响,以期从内皮细胞角度说明 HSP27 在对抗动脉粥样硬化过程中与雌激素的相关性,为进一步探讨雌激素保护心血管系统的机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

HUVEC 细胞株购于中国科学院上海细胞生物学研究所,达尔伯克必需基本培养基(dulbecco's minimum essential medium, DMEM)购于美国 Gibco 公司,胎牛血清购于杭州四季青生物研究所,雌二醇购于美国 Sigma 公司, Lipofectamine 2000、HSP27 siRNA、Mock RNA 购于美国 Invitrogen 公司,兔抗人 HSP27 抗体购于美国 Abzoom 公司, HSP27、GAPDH

引物购于长沙艾杰生物技术有限公司, NO 检测试剂盒购于南京建成生物工程研究所,人 ET-1 酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒购于武汉华美生物工程有限公司,人 ICAM-1 ELISA 试剂盒购于武汉博士德生物工程有限公司,其他相关试剂均为进口或国产分析纯。

1.2 细胞培养及分组

HUVEC 贴壁生长于含 10%胎牛血清的 DMEM 双抗培养基中,将细胞静置在 37℃、5%二氧化碳 CO₂ 培养箱中进行培养。每 2~3 天更换培养基,使用胰蛋白酶对生长融合的细胞进行消化传代,取对数生长期的细胞用于实验。实验分为 5 组:①对照组:使用 DMEM 培养基常规孵育;②MOCK 组:转染 Mock RNA(对基因无 RNA 干扰作用的双链 RNA);③E2 组:加入 1×10^{-7} mol/L E2(E2 用 DMEM 溶解稀释)处理细胞;④HSP27 siRNA 组:细胞转染 HSP27 siRNA;⑤HSP27 siRNA+E2 组: 1×10^{-7} mol/L E2 与转染 HSP27 siRNA 的细胞共同孵育。各组作用时间为 24 h。

1.3 HSP27 siRNA 的设计合成

经筛靶验证,确定后续干扰实验所用的 HSP27 siRNA 模板如下:正向引物 5'-ACGGUCAAGACCAA GGAUGdTdT-3';反向引物 5'-CAUCCUUGGUCUUG ACCGUdTdT-3'。对基因无 RNA 干扰作用的 Mock RNA 序列为:正向引物 5'-UUCUCCGAACGUGUCA CGUdTdT-3';反向引物 5'-ACGUGACACGUUCGGA GAAdTdT-3'。以上 siRNA 均由美国 Invitrogen 公司设计合成。

1.4 细胞转染

转染前 24 h 消化细胞,将细胞传代于 6 孔板,第 2 天按 Lipofectamine 2000 转染试剂说明书配制 RNA-Lipofectamine 2000 混合液,按照浓度梯度加入 Cy3 荧光标记的 siRNA,在室温下放置 15 min。吸去 6 孔培养板中的培养基,用磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffer saline, PBS)清洗 1 次,加入配制好的转染混合液和培养基,再将细胞放入培养箱中培养。24 h 后弃去培养基, PBS 洗涤,倒置荧光显微镜观察,

只有成功转染的细胞才能看到 Cy3 红色荧光。

1.5 转染细胞鉴定

转染 48 h 后提取细胞总蛋白和 RNA, 分别用 Western blot 和逆转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) 检测 HSP27 蛋白和 mRNA 的表达。

1.5.1 Western blot 检测细胞内 HSP27 蛋白表达
收集并裂解上述培养 24 h HUVEC, 提取蛋白并测定浓度[用二喹啉甲酸法定量蛋白]。以等量蛋白上样进行 12% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺电泳。电泳结束后转移至聚偏二氟乙烯膜, 5% 脱脂牛奶 4℃ 封闭过夜, 按抗体说明书稀释后加入兔抗人 HSP27 一抗, 4℃ 孵育过夜, 加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 二抗(1:5 000 稀释), 4℃ 孵育 2 h, 三羟甲基氨基甲烷缓冲盐溶液洗涤后显色, 胶片曝光, Lab Works 3.0 软件分析结果, 以标准浓度的 β -actin 作为内参照。

1.5.2 RT-PCR 检测细胞内 HSP27 mRNA 水平
细胞总 RNA 按 Trizol 试剂盒说明书提取。取总 RNA 2 μ g, 逆转录试剂盒逆转录合成 cDNA, 再取逆转录产物 1.0 μ l 进行 HSP27 和 GAPDH 的 PCR 循环, 引物序列见表 1。PCR 循环条件为: 94℃ 预变性 5 min, 95℃ 变性 30 s, 65℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 40 s, 共 35 个循环, 72℃ 继续延伸 10 min。反应完成后, 在 1.2% 的琼脂糖凝胶中电泳, UVP 型凝胶图像分析系统对电泳条带进行积分吸光度测定和分析。

1.6 硝酸还原酶法检测 NO 水平

将细胞接种于 6 孔培养板, 每孔 2 ml, 细胞贴壁后弃去旧培养液, 用 PBS 冲洗 3 遍, 加入新鲜无血清培养液和各种处理因素继续培养, 相应时间后收集细胞培养液, 离心取上清液, 硝酸还原酶法检测 NO 水平, 按照 NO 检测试剂盒说明书操作, 分光光度计于 550 nm 处检测。

1.7 ELISA 法检测 ICAM-1 及 ET-1 水平

细胞处理完后, 收集培养液, 采用 ELISA 法检测 ICAM-1 及 ET-1 含量, 具体步骤参照 ELISA 检测

试剂盒说明书, 每个样本复 3 孔, 待反应结束后, 酶标仪 450 nm 处测吸光度值, 重复测 3 次, 取平均值进行统计学分析。

1.8 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析, 计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较用方差分析及 SNK-*q* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞转染鉴定

HUVEC 转染 24 h 后, 用荧光倒置显微镜鉴定转染效率。结果显示, 内皮细胞在荧光显微镜下呈现红色荧光, 表明大部分细胞已成功转染 siRNA。见图 1。

2.2 HUVEC 中 HSP27 mRNA 及蛋白表达

空白对照、Mock RNA 转染和 HSP27 siRNA 转染 3 个实验组培养 48 h 后, 分别采用 RT-PCR 法和 Western blot 法检测 HSP27 mRNA 和蛋白的表达水平, 进一步检测转染效率。HSP27 mRNA 水平比较发现, HSP27 siRNA 转染能降低内皮细胞中 HSP27 mRNA 表达水平(见图 2)。RNA 干扰对 HSP27 蛋白的影响与 HSP27 mRNA 表达的改变相似(见图 3)。

2.3 HSP27 siRNA 对雌激素介导的 HUVEC 分泌 NO、ET-1 和 ICAM-1 的影响

采用硝酸还原酶法和 ELISA 法检测 HUVEC 分泌 NO、ET-1 和 ICAM-1 的水平。1 $\times 10^{-7}$ mol/L E2 可明显促进内皮细胞分泌 NO(与对照组比较, $P = 0.006$), 同时降低 ICAM-1 和 ET-1 水平(与对照组比较, $P = 0.000$ 和 0.023)。HSP27 siRNA+E2 组与对照组培养基中 NO 含量比较, 差异无统计学意义($P = 0.447$), 但与 E2 组比较 NO 分泌明显减少($P = 0.000$), 说明沉默 HSP27 可抑制 E2 对内皮细胞分泌 NO 的调节作用。HSP27 siRNA+E2 组与 HSP27 siRNA 组的 NO 水平比较差异无统计学意义($P = 0.189$), 也提

表 1 PCR 引物序列及反应条件

组别	引物序列	扩增长度 /bp	退火温度 /℃
HSP27	正向引物: 5'-CCAGAGCAGAGTCAGCCAGCAT-3'	576	59
	反向引物: 5'-CGAAGGTGACTGGGATGGTGA-3'		
GAPDH	正向引物: 5'-CAAGGTCATCCATGACAACCTTTG-3'	496	58
	反向引物: 5'-GTCCACCACCTGTTGCTGTAG-3'		

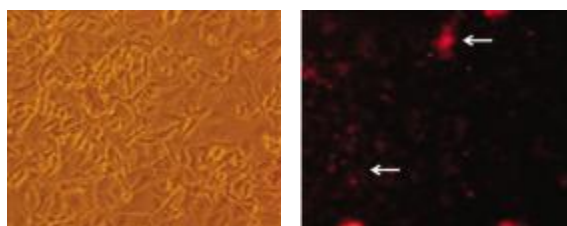


图 1 荧光显微镜鉴定 siRNA 转染效率 ($\times 20$)

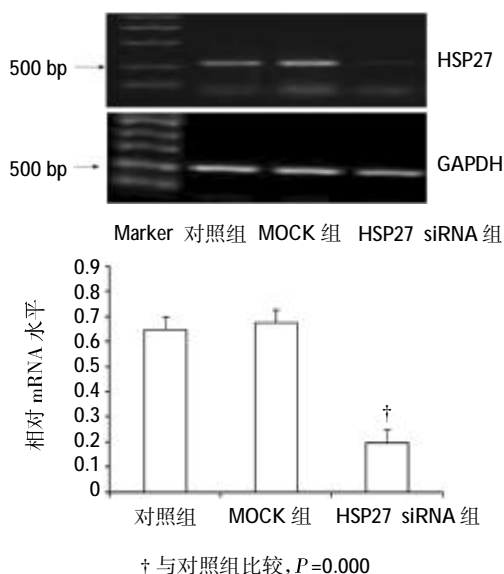


图 2 HUVEC 中 HSP27 mRNA 表达

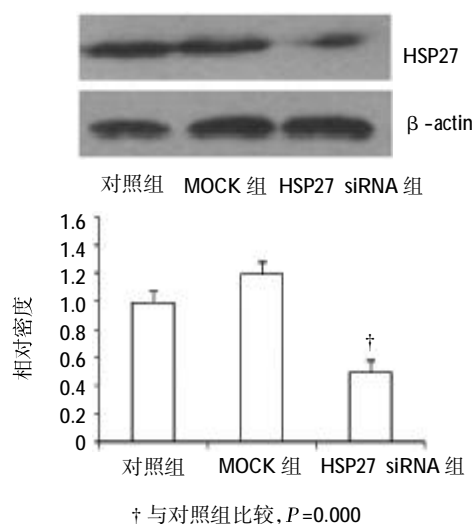


图 3 HUVEC 中 HSP27 蛋白表达水平

示 E2 对内皮细胞分泌 NO 的调节作用与 HSP27 有关。值得注意的是单独沉默 HSP27, 内皮细胞分泌 NO 相对对照组明显减少 ($P=0.003$), 说明 HSP27 对内皮细胞分泌 NO 可能有直接作用。见表 2。

HSP27 siRNA+E2 组内皮细胞分泌 ICAM-1 水平相对对照组明显降低 ($P=0.024$), 与 E2 组比较却显著升高 ($P=0.010$), 与 HSP27 siRNA 组比较差异无统计学意义 ($P=0.052$), 提示 HSP27 siRNA 可明显干扰 E2 介导内皮细胞分泌 ICAM-1。另外, HSP27 siRNA 组与对照组比较 ICAM-1 水平差异无统计学意义 ($P=0.118$), 提示 HSP27 siRNA 对内皮细胞分泌 ICAM-1 没有直接影响。

HSP27 siRNA+E2 组内皮细胞分泌 ET-1 较对

照组明显降低 ($P=0.028$), 与 E2 组比较差异无统计学意义 ($P=0.056$), 说明沉默 HSP27 对 E2 抑制内皮

表 2 siRNA 沉默 HSP27 基因对 E2 诱导 HUVEC 分泌 NO、ICAM-1、ET-1 的影响 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	NO/ (μ mol/L)	ICAM-1/ (pg/ml)	ET-1/ (pg/ml)
对照组	71.6 ± 8.2	1 021.9 ± 114.5	448.5 ± 45.2
MOCK 组	79.7 ± 9.1	968.9 ± 89.5	422.0 ± 65.6
E2 组	98.8 ± 9.8	677.4 ± 72.7	333.2 ± 51.1
HSP27 siRNA 组	58.3 ± 8.0	901.6 ± 78.0	425.6 ± 59.8
HSP27 siRNA+E2 组	67.0 ± 7.6	803.4 ± 81.8	357.5 ± 54.2
F 值	22.341	16.814	5.498
P 值	0.000	0.000	0.002

细胞分泌 ET-1 无明显影响。

3 讨论

近年来, 心脑血管疾病一直高居威胁人类健康的疾病榜首, 维持血管内皮细胞的完整性和防止内皮功能障碍是阻碍心血管疾病发生发展的重要环节。NO、ET-1 和 ICAM-1 都由内皮细胞合成、分泌。其中 NO、ET-1 作用于血管平滑肌细胞, 调节平滑肌细胞增殖和血管活性。ICAM-1 则可调节细胞间的黏附作用。此外, NO、ET-1 和 ICAM-1 都属于炎症介质, NO 和 ET-1 分泌失衡, ICAM-1 表达增多, 可导致内皮细胞损伤, 促进动脉粥样硬化发生、发展。雌激素可抑制内皮细胞表达 ICAM-1, 以及单核细胞趋化蛋白, 减少单核细胞的黏附和迁移, 同时还能通过激活 PI3K/Akt 途径来调节 NO、前列腺素 I2 和 ET-1 的表达^[6], 调节血管活性, 起到血管保护作用, 是一种冠状动脉粥样硬化性心脏病的保护因素。然而, 随机临床试验, 如妇女健康研究和心脏与雌激素 / 黄体酮替代治疗研究显示, 激素替代疗法对血管益处少, 绝经后激素治疗甚至导致乳腺和子宫的不良事件^[7-9]。尽管如此, 最近仍有临床试验支持卵巢类固醇激素在血管系统中的有利影响的观点^[9]。这可能与雌激素开始替代治疗的时间^[10]、剂量以及给药途径^[11]有关。激素替代疗法的不稳定性使人们开始将雌激素防治心血管疾病作用的研究转向新的方向。

HSP27 是一种重要的分子伴侣, 具有抗炎、抗氧化应激以及抑制细胞凋亡等作用。有研究表明, HSP27 能保护血管壁, 动脉粥样硬化患者血清 HSP27 水平较正常人低^[1-2], 增加血清 HSP27 水平既

能减少新动脉粥样硬化病变的形成,又可增强斑块的稳定性^[12]。HSP27 siRNA 能明显抑制纤溶酶诱导的血管平滑肌细胞凋亡。有动物实验指出,动脉粥样硬化早期过表达 HSP27 可明显减小病变区域,但只发生在雌性鼠,性别比较差异有统计学意义^[13]。然而,慢性动脉粥样硬化持续过表达 HSP27,可明显减少胆固醇蓄积,从而减少泡沫细胞数量,使病变区域缩小^[14],并且与性别无关^[15]。这说明 HSP27 可能对慢性动脉损伤有潜在的保护作用,性别比较差异无统计学意义。此外,HSP27 还可减少纤溶酶诱导的血管平滑肌细胞凋亡,有利于防治不稳定斑块破裂^[16]。有研究表明,HSP27 重组体 (recombinant HSP27, rHSP27) 能降低血清胆固醇^[17] 和清道夫受体 -A (scavenger receptor-A, SR-A)^[18] 水平,使泡沫细胞形成减少,提示 rHSP27 可作为治疗动脉粥样硬化的新靶点。SEIBERT 等^[19] 也认为 HSP27 是动脉粥样硬化的生物学标志和治疗靶点。

雌激素可诱导多种细胞表达 HSP27,其相互作用与 ER 有关^[2-3]。其中作用于血管壁的主要是 ER β , ER β 激活可上调 HSP27 表达,并促进雌激素的血管保护作用,同时对女性生殖系统没有影响^[19]。雌激素可诱导 HSP27 短暂磷酸化^[20]。磷酸化的 HSP27 可通过稳定内皮细胞和平滑肌细胞肌动蛋白细胞骨架来防止血管病变^[21]。而动脉粥样硬化的危险因素——低密度脂蛋白可使血管平滑肌细胞中 HSP27 去磷酸化^[22]。雌激素还可促进巨噬细胞分泌释放 HSP27^[5,15],并通过与 SR-A 的相互作用抑制胆固醇的摄取^[23]。有动物实验证实 HSP27 的动脉保护作用与雌激素有关^[9]。本实验研究 siRNA 阻断 HSP27 基因表达对 E2 介导的内皮保护作用的影响,结果显示,E2 可促进 HUVEC 分泌 NO,同时降低 ICAM-1 和 ET-1 水平,这与国内外的一些研究一致。HUVEC 转染 HSP27 siRNA 后,E2 明显抑制内皮细胞分泌 NO 和 ICAM-1。但沉默 HSP27 基因后内皮细胞分泌 ET-1 水平没有明显改变。由此推测 HSP27 可能通过雌激素来调节内皮细胞分泌 NO 和 ICAM-1,参与心血管的保护,从而对抗动脉粥样硬化的发生、发展。至于 HSP27 是否参与雌激素对其他心血管的保护,以及 HSP27 与雌激素之间的具体作用机制,仍需要进一步的研究。

参 考 文 献:

- [1] MARTIN-VENTURA J L, DURAN M C, BLANCO-COLIO L M, et al. Identification by a differential proteomic approach of heat shock protein 27 as a potential marker of atherosclerosis[J]. *Circulation*, 2004, 110(15): 2216-2219.
- [2] MILLER H, POON S, HIBBERT B, et al. Modulation of estrogen signaling by the novel interaction of heat shock protein 27, a biomarker for atherosclerosis, and estrogen receptor β [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(3): 10-14.
- [3] AL-MADHOUN A S, CHEN Y X, HAIDARI L, et al. The interaction and cellular localization of HSP27 and ER β are modulated by 17 β -estradiol and HSP27 phosphorylation[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2007, 270(1/2): 33-42.
- [4] 周琴,张青海,邓华菲,等. 雌激素对人脐静脉内皮细胞 HSP27 表达的影响[J]. *临床与病理杂志*, 2014, 34(5): 520-523.
- [5] RAYNER K, SUN J F, CHEN Y X, et al. Heat Shock protein 27 protects against atherogenesis via an estrogen-dependent mechanism: role of selective estrogen receptor beta modulation[J]. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 2009, 29(11): 1751-1756.
- [6] YUAN P, WU W H, GAO L, et al. Oestradiol ameliorates monocrotaline pulmonary hypertension via NO, prostacyclin and endothelin-1 pathways[J]. *Eur Respir J*, 2013, 41(5): 1116-1125.
- [7] WATERS D D, GORDON D, ROSSOUW J E, et al. Women's ischemic syndrome evaluation: current status and future research directions. report of the national heart, lung and blood institute workshop: lessons from hormone replacement trials[J]. *Circulation*, 2004, 109(6): 53-55.
- [8] WILD R A, WU C, CURB J D, et al. Coronary heart disease events in the women's health initiative hormone trials: effect modification by metabolic syndrome: a nested case-control study within the Women, Health Initiative randomized clinical trials[J]. *Menopause*, 2013, 20(3): 254-260.
- [9] LIND S L, LARS L, LANDBO T C, et al. Effect of hormone replacement therapy on cardiovascular events in recently postmenopausal women: randomised trial [J]. *BMJ*, 2012, 345 (14): e6409.
- [10] MAKI P M, HENDERSON V W. Hormone therapy, dementia, and cognition: the Women's Health Initiative 10 years on [J]. *Climacteric*, 2012, 15(3): 256-262.
- [11] KHALIL R A. Estrogen, vascular estrogen receptor and hormone therapy in postmenopausal vascular disease[J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 86(12): 1627-1642.
- [12] SEIBERT T A, HIBBERT B, CHEN Y X, et al. Serum heat shock protein 27 levels represent a potential therapeutic target for atherosclerosis: observations from a human cohort and treatment of female mice[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62(16): 1446-1454.
- [13] RAYNER K, CHEN Y X, MCNULTY M, et al. Extracellular release of the atheroprotective heat shock protein 27 is mediated by estrogen and competitively inhibits acLDL binding to scavenger receptor-a[J]. *Circ Res*, 2008, 103(2): 133-141.
- [14] CUERRIER C M, CHEN Y X, DOMINIQUE T, et al. Chronic over-expression of heat shock protein 27 attenuates atherogene-

- sis and enhances plaque remodeling: a combined histological and mechanical assessment of aortic lesions[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2). DOI: 10.1371/journal.pone.0055867.
- [15] CHEN Y X, RAYNER K, DEB-RINKER P, et al. Over-expression of HSP27 provides chronic atheroprotection: reductions in foam cell content and inflammatory responses[J]. *Circulation*, 2008, 118: 410.
- [16] MARTIN-VENTURA J L, NICOLAS V, HOUARD X, et al. Biological significance of decreased HSP27 in human atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(6): 1337-1343.
- [17] CHEN Y X, ZHAO X L, MCNULTY M, et al. Recombinant HSP27 therapy reduces serum cholesterol levels and experimental atherogenesis[J]. *Circulation*, 2009, 120: 1153.
- [18] RAIZMAN J E, CHEN Y X, SEIBERT T, et al. Heat shock protein-27 attenuates foam cell formation and atherogenesis by down-regulating scavenger receptor-A expression via NF- κ B signaling[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 8(12): 1721-1728.
- [19] SUN J, MA X, RAYNER K, et al. Selective activation of estrogen receptor β attenuates atherogenesis and represses cholesterol-associated immune-inflammatory responses [J]. *Circulation*, 2008, 118: 482.
- [20] STICE J P, MBAI F N, CHEN L, et al. Rapid activation of nuclear factor κ B by 17 β -estradiol and selective estrogen receptor modulators: pathways mediating cellular protection [J]. *Shock*, 2012, 38(2): 128-136.
- [21] ROBINSON A A, DUNN M J, MCCORMACK A, et al. Protective effect of phosphorylated Hsp27 in coronary arteries through actin stabilization[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2010, 49(3): 370-379.
- [22] GARCÍA-ARGUINZONIS M, PADRÓ T, LUGANO R, et al. Low-density lipoproteins induce heat shock protein 27 dephosphorylation, oligomerization, and subcellular relocalization in human vascular smooth muscle cells[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(6): 1212-1219.
- [23] MOORE K J, FREEMAN M W. Scavenger receptors in atherosclerosis: beyond lipid uptake[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(8): 1702-1711.

(申海菊 编辑)