

[文章编号] 1007-3949(2016)24-03-0229-05

· 实验研究 ·

姜黄素对脂质运载蛋白 2 诱导人脐静脉内皮细胞损伤的影响

万 强, 刘中勇

(江西中医药大学附属医院心内科, 江西省南昌市 330006)

[关键词] 姜黄素; 脂质运载蛋白 2; p38 丝裂原活化蛋白激酶; 单核细胞趋化蛋白 1; 白细胞介素 6

[摘要] 目的 研究姜黄素对脂质运载蛋白 2 (LCN-2) 诱导人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 损伤的保护作用及与 p38 MAPK 通路的关系。方法 以 LCN-2 不同质量浓度 (0, 5, 10, 20 $\mu\text{mol/L}$) 及不同时间 (0, 24, 48, 72 h) 作用 HUVEC, CCK-8 法测细胞增殖, 流式细胞仪测细胞凋亡, ELISA 测细胞上清液中单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) 及白细胞介素 6 (IL-6) 含量, 比色法测乳酸脱氢酶 (LDH) 活性, Western blot 测 HUVEC 中 p-p38 MAPK、Bax、Bcl-2 蛋白表达; 分别加入 10 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素和 25 $\mu\text{mol/L}$ SB203580 观察姜黄素的干预作用。结果 与对照组比较, LCN-2 可显著抑制 HUVEC 增殖, 上调 HUVEC 内 Bax/Bcl-2 蛋白比率而促进细胞凋亡, 诱导 HUVEC 分泌 MCP-1 及 IL-6, 增加 LDH 活性 ($P < 0.05$); 与 LCN-2 组比较, 姜黄素及 SB203580 均可显著减轻 LCN-2 诱导的 HUVEC 增殖抑制, 下调 Bax/Bcl-2 蛋白比率而抑制 HUVEC 凋亡, 减少 LCN-2 诱导的 HUVEC 分泌 MCP-1 及 IL-6, 降低 LDH 活性 ($P < 0.05$)。结论 姜黄素可通过抑制 p38 MAPK 通路, 减轻 LCN-2 诱导的 HUVEC 损伤。

[中图分类号] R96

[文献标识码] A

Effect of Curcumin on Human Umbilical Vein Endothelial Cell Injury Induced by Lipocalin-2

WAN Qiang, and LIU Zhong-Yong

(The Affiliated Hospital of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

[KEY WORDS] Curcumin; Lipocalin-2; p38 MAPK; Monocyte Chemoattractant Protein-1; Interleukin-6

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of curcumin in reducing human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) injury induced by lipocalin-2 and the possible mechanism. **Methods** Lipocalin-2 at different concentration (0, 5, 10, 20 $\mu\text{mol/L}$) and different time gradient (0, 24, 48 and 72 h) were added in HUVEC, CCK-8 assay and flow cytometry were used to detect proliferation and apoptosis of HUVEC, the contents of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and interleukin-6 (IL-6) in HUVEC supernatant were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), lactic dehydrogenase (LDH) activities were determined by colorimetry, the expressions of p-p38 MAPK, Bax and Bcl-2 in HUVEC supernatant were determined by Western blot. 10 $\mu\text{mol/L}$ curcumin and 25 $\mu\text{mol/L}$ SB203580 were added into HUVEC to detect the effect of curcumin. **Results** Compared with the control group, lipocalin-2 could significantly restrain the proliferation of HUVEC, increased the apoptosis of HUVEC, the MCP-1, IL-6 contents and LDH activities in HUVEC supernatant and Bax/Bcl-2 rate ($P < 0.05$). Compared with lipocalin-2 group, curcumin and SB203580 could increase the proliferation of HUVEC, restrained the apoptosis of HUVEC, the MCP-1, IL-6 contents and LDH activities in HUVEC supernatant and Bax/Bcl-2 rate ($P < 0.05$). **Conclusions** Our findings indicated that curcumin could reduce HUVEC injury induced by lipocalin-2, the protective mechanism is related to the inhibition of p38 MAPK pathway.

脂质运载蛋白 2 (lipocalin-2, LCN-2) 又名中性粒细胞明胶酶脂质运载蛋白 (neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL), 是一种脂肪因子。内皮

细胞损伤、凋亡是动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 形成的起始阶段^[1]。研究表明 LCN-2 可引起内皮细胞损伤促进 As 形成^[2]。姜黄素 (Curcumin) 属生

[收稿日期] 2015-06-04

[修回日期] 2015-08-12

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (81460680); 江西省科技计划项目 (20135BBG70002)

[作者简介] 万强, 博士, 医师, 研究方向为心血管病的实验及临床研究, E-mail 为 wanqiang109559140@163.com。通讯作者刘中勇, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为中西医结合诊治心血管疾病, E-mail 为 liuzhongyong2014@163.com。

物多酚化合物,可从姜黄等姜科植物中提取,研究证实姜黄素可从抗炎、抗氧化应激、抗血小板聚集、降血脂等多途径显著发挥抗 As 效应^[3-5],但其机制尚未完全阐明。本研究以人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)为模型,观察姜黄素对 LCN-2 诱导的 HUVEC 损伤的影响,并探讨其抗 As 可能机制。

1 材料和方法

1.1 主要试剂与仪器

HUVEC 细胞株购自 Cascade Biologics 公司,姜黄素(纯度 $\geq 98\%$)、DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司,胎牛血清购自杭州四季青生物公司,重组人 LCN-2 细胞因子购自美国 Acrobiosystems 公司,Bcl-2 抗体、Bax 抗体、p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)抗体购自美国 Cell Signal Technology 公司,单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6) ELISA 试剂盒购自美国 eBioscience 公司,乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)试剂盒购自南京建成生物工程研究所,SB203580 购自美国 Tocris Bioscience 公司,CCK-8 试剂购自上海碧云天生物公司,Annexin V-FITC 试剂盒购自美国 Bio Vision 公司,全自动生化仪购自美国 Beckman 公司,恒温细胞培养箱、超净台、低温高速离心机、酶标仪购自美国 Thermo 公司,荧光倒置显微镜购自日本奥林巴斯公司,电泳仪购自美国 Bio-Rad 公司,流式细胞仪购自美国 ACEA Biosciences 公司。

1.2 细胞分组及处理

LCN-2 不同质量浓度组:分别以 0、5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ LCN-2 作用 HUVEC 48 h^[6]。LCN-2 不同作用时间组:以 10 $\mu\text{mol/L}$ LCN-2 分别作用 HUVEC 0、24、48 和 72 h。药物干预组:①对照组;②LCN-2 组:LCN-2 10 $\mu\text{mol/L}$ 刺激 48 h;③LCN-2+姜黄素组:10 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素^[7]预处理 1 h 后再加 10 $\mu\text{mol/L}$ LCN-2 刺激 48 h;④LCN-2+SB203580 组:SB203580(终浓度 25 $\mu\text{mol/L}$ ^[7])预处理 30 min 后再加 10 $\mu\text{mol/L}$ LCN-2 刺激 48 h。

1.3 CCK-8 法测细胞增殖

细胞以 5×10^3 /孔接种于 96 孔板,每孔 200 μL ,每组设 6 复孔,同时设空白对照组(仅加培养基)。24 h 后加 20 μL CCK-8 溶液于 37℃、5%CO₂ 培养箱中孵育 2 h,酶标仪测 450 nm 处光密度值(OD)。

1.4 流式细胞术测细胞凋亡

细胞以 2×10^5 /孔接种于 12 孔板 24 h,换无血清培养液培养 24 h,每组设 6 复孔。收集细胞,加 Annexin V-FITC 及 PI 双染,流式细胞仪测细胞凋亡率。

1.5 细胞上清液 MCP-1、IL-6 含量及 LDH 活性测定

取对数生长期的细胞以 1×10^8 /L 接种于培养皿。收集培养上清,ELISA 测上清液 MCP-1 及 IL-6 含量,比色法测 LDH 活性,操作步骤参照说明书。

1.6 细胞中 p-p38 MAPK、Bax 和 Bcl-2 蛋白表达的测定

提取 HUVEC 总蛋白,BCA 法测蛋白浓度,每孔取上清 20 μL 加上样缓冲液,100℃加热 5 min。凝胶电泳转膜至 PVDF 膜,5%脱脂奶粉室温封闭 1 h,一抗(1:1000)4℃过夜,二抗(1:2000)室温孵育 1 h,ECL 系统显色,Image Tool 3.0 扫描条带灰度,以 β -actin 做内参分析条带吸光度值(IA)。

1.7 统计学分析

以 SPSS 13.0 软件分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LCN-2 不同质量浓度及不同作用时间对 HUVEC 的影响

2.1.1 对 HUVEC 增殖的影响 与对照组比较,10、20 $\mu\text{mol/L}$ LCN-2 作用 48 h 均可显著抑制 HUVEC 增殖($P < 0.05$;表 1)。与对照组比较,10 $\mu\text{mol/L}$ LCN-2 作用 48 h、72 h 均可显著抑制 HUVEC 增殖($P < 0.05$;表 2)。

2.1.2 对 HUVEC 凋亡的影响 与对照组比较,10、20 $\mu\text{mol/L}$ LCN-2 作用 48 h 均可显著诱导 HUVEC 凋亡($P < 0.05$;表 1);10 $\mu\text{mol/L}$ LCN-2 作用 48 h、72 h 均能显著诱导 HUVEC 凋亡($P < 0.05$;表 2)。

2.1.3 对诱导 HUVEC 分泌 MCP-1、IL-6 及 LDH 活性的影响 与对照组比较,10、20 $\mu\text{mol/L}$ LCN-2 作用 48 h 均可显著诱导 HUVEC 分泌 MCP-1、IL-6 及增加 LDH 活性($P < 0.05$;表 1);10 $\mu\text{mol/L}$ LCN-2 作用 24 h 便可显著诱导 HUVEC 分泌 MCP-1 及增加 LDH 活性($P < 0.05$),作用 48 h 便可诱导 HUVEC 分泌 IL-6 增多($P < 0.05$;表 2)。

表 1. 不同质量浓度 LCN-2 对 HUVEC 增殖、凋亡及分泌 MCP-1、IL-6 以及 LDH 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 1. Effects of LCN-2 at different concentration on proliferation, apoptosis, MCP-1 and IL-6 contents, LDH activity in HUVEC ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

分 组	细胞增殖	细胞凋亡率	MCP-1/(mg/L)	IL-6/(ng/L)	LDH/(U/L)
对照组	1.29±0.09	11.32%±3.15%	213.92±14.13	262.27±5.63	648.32±47.87
5 μmol/L LCN-2 组	1.21±0.07	15.67%±3.28%	220.32±16.57	273.56±5.72	762.16±52.63 ^a
10 μmol/L LCN-2 组	0.95±0.08 ^{ab}	44.72%±3.27% ^{ab}	328.43±19.17 ^{ab}	428.23±6.28 ^{ab}	1467.25±67.24 ^{ab}
20 μmol/L LCN-2 组	0.91±0.06 ^{ab}	47.31%±4.03% ^{ab}	309.37±18.42 ^{abc}	411.27±6.41 ^{abc}	1533.86±77.28 ^{abc}

a 为 $P<0.05$, 与对照组比较; b 为 $P<0.05$, 与 5 μmol/L LCN-2 组比较; c 为 $P<0.05$, 与 10 μmol/L LCN-2 组比较。

表 2. LCN-2 作用不同时间对 HUVEC 增殖、凋亡及分泌 MCP-1、IL-6 以及 LDH 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 2. Effects of LCN-2 in different time on proliferation, apoptosis, MCP-1 and IL-6 contents, LDH activity in HUVEC ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

分 组	细胞增殖	细胞凋亡率	MCP-1/(mg/L)	IL-6/(ng/L)	LDH/(U/L)
对照组	1.27±0.08	10.12%±3.28%	216.48±14.69	259.34±5.29	656.27±42.26
LCN-2 24 h 组	1.22±0.07	13.67%±3.43%	259.17±17.48 ^a	271.33±6.17	871.33±63.74 ^a
LCN-2 48 h 组	0.93±0.08 ^{ab}	46.49%±3.86% ^{ab}	330.48±19.37 ^{ab}	421.38±7.43 ^{ab}	1483.37±72.36 ^{ab}
LCN-2 72 h 组	0.89±0.07 ^{ab}	49.36%±4.21% ^{ab}	323.28±18.42 ^{ab}	437.58±6.39 ^{abc}	1639.36±62.31 ^{abc}

a 为 $P<0.05$, 与对照组比较; b 为 $P<0.05$, 与 24 h 组比较; c 为 $P<0.05$, 与 48 h 组比较。

2.1.4 对 HUVEC 中 p-p38 MAPK、Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响 与对照组比较, 10 μmol/L LCN-2 作用 48 h 可显著增加 HUVEC 中 p-p38 MAPK 和 Bax 蛋白表达 ($P<0.05$), 并显著减少 Bcl-2 蛋白表达 ($P<0.05$; 图 1)。不同作用时间组结果显示, 与

对照组比较, 10 μmol/L LCN-2 作用 48 h 便可显著增加 HUVEC 中 p-p38 MAPK、Bax 蛋白表达 ($P<0.05$), 并显著减少 HUVEC 中 Bcl-2 蛋白表达 ($P<0.05$; 图 2)。

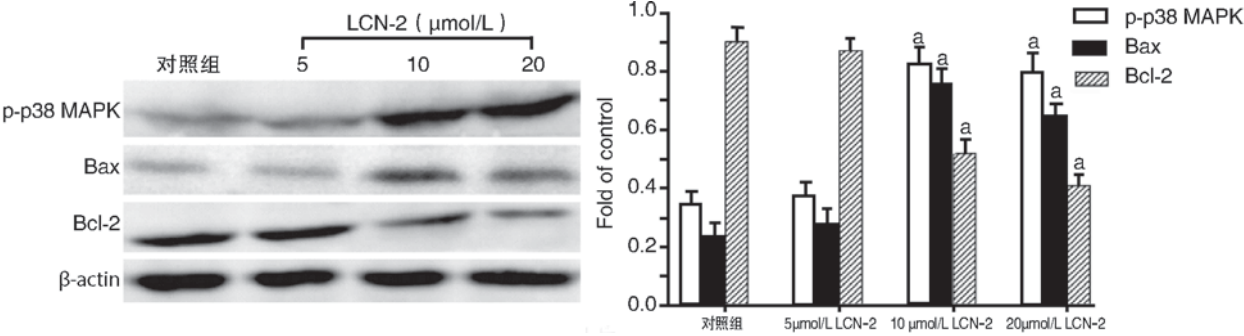


图 1. 不同质量浓度 LCN-2 对 HUVEC 中 p-p38 MAPK、Bax、Bcl-2 相对表达的影响 a 为 $P<0.05$, 与对照组比较。

Figure 1. Effects of LCN-2 at different concentration on p-p38 MAPK, Bax and Bcl-2 expression in HUVEC

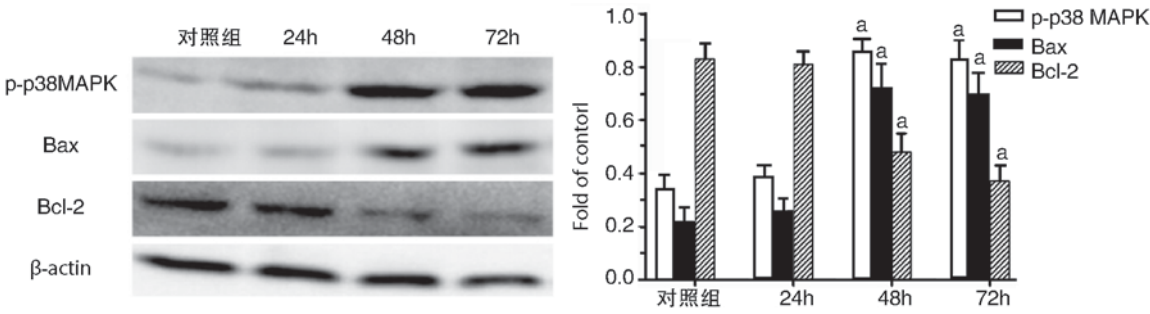


图 2. LCN-2 不同作用时间对 HUVEC 中 p-p38 MAPK、Bax、Bcl-2 相对表达的影响 a 为 $P<0.05$, 与对照组比较。

Figure 2. Effects of LCN-2 in different time on p-p38 MAPK, Bax and Bcl-2 expression in HUVEC

2.2 姜黄素的干预作用

2.2.1 对 LCN-2 抑制 HUVEC 增殖的影响 与 LCN-2 组比较,姜黄素及 SB203580 均可显著减轻 LCN-2 对 HUVEC 增殖的抑制($P<0.05$;表 3)。

2.2.2 对 LCN-2 诱导 HUVEC 凋亡的影响 与 LCN-2 组比较,姜黄素及 SB203580 均可显著减少由 LCN-2 诱导的 HUVEC 凋亡($P<0.05$;表 3)。

2.2.3 对 LCN-2 诱导 HUVEC 分泌 MCP-1、IL-6 及

LDH 活性的影响 与 LCN-2 组比较,姜黄素及 SB203580 均可显著降低 LCN-2 诱导 HUVEC 分泌 MCP-1、IL-6 水平及 LDH 活性的增高($P<0.05$;表 3)。

2.2.4 对 LCN-2 调节 HUVEC 中 p-p38 MAPK、Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响 与 LCN-2 组比较,姜黄素及 SB203580 均可显著降低 HUVEC 中 p-p38 MAPK、Bax 蛋白表达,并显著增加 HUVEC 中 Bcl-2 蛋白表达($P<0.05$;图 3)。

表 3. 姜黄素及 SB203580 对 LCN-2 诱导的 HUVEC 增殖、凋亡及 MCP-1、IL-6 分泌和 LDH 活性的影响($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Table 3. Effects of Curcumin and SB203580 on proliferation, apoptosis, MCP-1 and IL-6 contents, LDH activity in HUVEC ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

分 组	细胞增殖	细胞凋亡率	MCP-1/(mg/L)	IL-6/(ng/L)	LDH/(U/L)
对照组	1.24±0.08	11.32%±3.37%	211.29±15.28	252.77±6.48	662.25±43.29
LCN-2 组	0.92±0.07 ^a	44.33%±3.28% ^a	332.53±17.27 ^a	426.58±7.21 ^a	1473.22±64.47 ^a
LCN-2+姜黄素组	1.09±0.06 ^{ab}	22.67%±3.27% ^{ab}	259.23±16.22 ^{ab}	336.21±8.39 ^{ab}	964.45±55.73 ^{ab}
LCN-2+ SB203580 组	1.05±0.07 ^{ab}	28.12%±3.35% ^{ab}	289.31±17.45 ^{ab}	366.43±7.41 ^{ab}	1087.31±69.37 ^{ab}

a 为 $P<0.05$,与对照组比较;b 为 $P<0.05$,与 LCN-2 组比较。

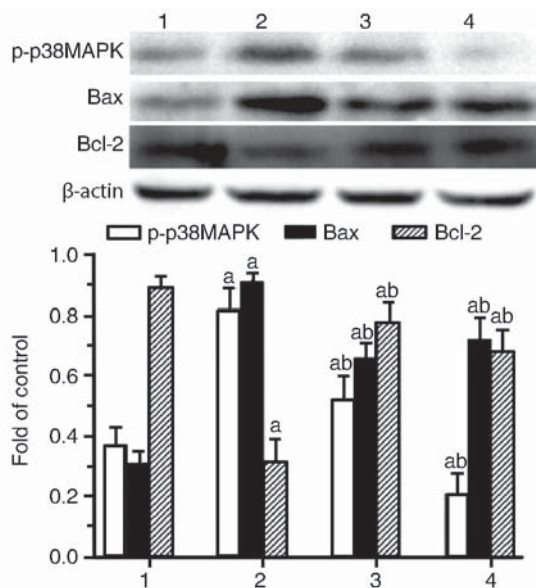


图 3. 姜黄素及 SB203580 对 LCN-2 调节 HUVEC 中 p-p38 MAPK、Bax、Bcl-2 相对表达的影响 1 为对照组,2 为 LCN-2 组,3 为 LCN-2+姜黄素组,4 为 LCN-2+SB203580 组。a 为 $P<0.05$,与对照组比较;b 为 $P<0.05$,与 LCN-2 组比较。

Figure 3. Effects of Curcumin and SB203580 on p-p38 MAPK, Bax and Bcl-2 expression in HUVEC

3 讨 论

LCN-2 于中性粒细胞中被发现并分离,是脂质运载蛋白 Lipocalin 家族的 2 号成员,相对分子质量约 25 kDa,广泛分布于肾脏、肝、肺及小肠等多种组

织器官中,具有多种生物学功能,在细胞凋亡、增殖、炎症反应过程中起了调节作用^[8]。既往对 LCN-2 的研究主要集中在肾脏病、肿瘤、感染性疾病等方面,近来研究证实 LCN-2 可作为心血管疾病生物标记物,独立预测心血管事件的发生^[9]。As 患者血清 LCN-2 水平显著升高,且与 As 严重程度呈正相关^[10],LCN-2 在 As 患者不稳定性粥样斑块中亦高度表达^[11],均提示 LCN-2 与 As 形成密切相关。内皮细胞损伤后释放炎症因子可致单核细胞黏附迁移、中膜平滑肌细胞增殖、泡沫细胞堆积形成脂质斑块,最终促进 As 形成^[1]。MCP-1 及 IL-6 在 As 的慢性炎症中扮演了重要角色,对巨噬细胞、单核细胞的迁移、激活起调控作用,并可促进血管平滑肌细胞增殖,从而参与 As 形成过程^[12]。LDH 是存在于内皮细胞的一种酶,细胞受损时细胞质内氧依赖性酶和细胞膜结构受到影响,细胞通透性增加,细胞内 LDH 产生增加,细胞外漏出也相应增加,LDH 含量的多少可反映内皮细胞损伤程度,因此 LDH 是细胞损伤的重要指标之一。Bcl-2 基因家族蛋白中的促凋亡蛋白 Bax 和抑凋亡蛋白 Bcl-2,其比率对细胞凋亡起直接调控作用^[13]。本研究显示 LCN-2 可抑制 HUVEC 增殖,上调 HUVEC 内 Bax/Bcl-2 蛋白比率而促进 HUVEC 凋亡,诱导分泌 MCP-1 及 IL-6 等加重 HUVEC 损伤。

p38 MAPK 信号通路是 MAPK 家族分支之一,介导调控炎症、细胞应激、生长、发育、凋亡等多种

生理、病理进程^[11]。该通路的激活可通过上调肌球蛋白轻链激酶的表达促进血管平滑肌细胞的异常增殖、吞噬脂质形成泡沫细胞等促进 As 形成^[14-15]。本研究显示 LCN-2 可显著增加 HUVEC 中 p-p38 MAPK 蛋白表达,证实其促进 HUVEC 凋亡并诱导分泌炎症因子 MCP-1 及 IL-6,加重 HUVEC 损伤的作用,可能与激活 p38 MAPK 通路有关。

姜黄素能通过抑制细胞外信号调节蛋白激酶(extracellular signal-regulated protein kinase, ERK)信号通路降低黏附因子、肿瘤坏死因子 α 及基质金属蛋白酶表达;抑制 c-Jun 氨基端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)信号通路减少巨噬细胞内胆固醇外流而降低血脂;抑制活性氧的产生而抗氧化应激;阻断钙信号通路,抑制环氧化酶通路,阻碍血栓素 A_2 形成而抗血小板聚集等多途径发挥抗 As 效应^[3-5]。姜黄素的抗 As 机制还与抑制 p38 MAPK 通路密切相关,其能通过抑制 p38 MAPK 通路,下调 MCP-1 的表达减轻血管平滑肌损伤,延缓 As 进程^[16]。SB203580 是应用最广泛的 p38 MAPK 通路抑制剂,作为一种吡啶咪唑类化合物,SB203580 占据催化位点但不阻碍上游激酶,不抑制 p38 MAPK 自身磷酸化作用,仅抑制 p38 MAPK 下游磷酸化过程,可特异性阻断 p38 MAPK 信号通路。本研究显示姜黄素及 SB203580 均可显著减轻 LCN-2 诱导的 HUVEC 增殖抑制、下调 Bax/Bcl-2 蛋白比率而抑制 HUVEC 凋亡,减少 LCN-2 诱导的 HUVEC 分泌 MCP-1 及 IL-6,降低 HUVEC 上清液 LDH 活性,证实姜黄素的抗 As 机制之一可能是通过抑制 p38 MAPK 通路,减轻 LCN-2 诱导的 HUVEC 损伤得以实现。姜黄素的抗 As 作用机制及临床应用仍需大量基础及临床试验研究以进一步明确。

[参考文献]

- [1] Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: the first step toward coronary arteriosclerosis [J]. *Circ J*, 2009, 73(4): 595-601.
- [2] Liu JT, Song E, Xu A, et al. Lipocalin-2 deficiency prevents endothelial dysfunction associated with dietary obesity: role of cytochrome P450 2C inhibition [J]. *Br J Pharmacol*, 2012, 165(2): 520-531.
- [3] Hao Q, Chen X, Wang X, et al. Curcumin attenuates angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm by inhibition of inflammatory response and erk signaling pathways [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014: 270 930.
- [4] Liu T, Li C, Sun H, et al. Curcumin inhibits monocyte chemoattractant protein-1 expression and enhances cholesterol efflux by suppressing the c-Jun N-terminal kinase pathway in macrophage [J]. *Inflamm Res*, 2014, 63(10): 841-850.
- [5] Um MY, Hwang KH, Choi WH, et al. Curcumin attenuates adhesion molecules and matrix metalloproteinase expression in hypercholesterolemic rabbits [J]. *Nutr Res*, 2014, 34(10): 886-893.
- [6] Lin HH, Liao CJ, Lee YC, et al. Lipocalin-2-induced cytokine production enhances endometrial carcinoma cell survival and migration [J]. *Int J Biol Sci*, 2011, 7(1): 74-86.
- [7] Wang J, Dong S. ICAM-1 and IL-8 are expressed by DEHP and suppressed by curcumin through ERK and p38 MAPK in human umbilical vein endothelial cells [J]. *Inflammation*, 2012, 35(3): 859-870.
- [8] Bolignano D, Coppolino G, Lacquaniti A, et al. From kidney to cardiovascular diseases: NGAL as a biomarker beyond the confines of nephrology [J]. *Eur J Clin Invest*, 2010, 40(3): 273-276.
- [9] Wu G, Li H, Fang Q, et al. Elevated circulating lipocalin-2 levels independently predict incident cardiovascular events in men in a population-based cohort [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(11): 2 457-464.
- [10] Lee YH, Lee SH, Jung ES, et al. Visceral adiposity and the severity of coronary artery disease in middle-aged subjects with normal waist circumference and its relation with lipocalin-2 and MCP-1 [J]. *Atherosclerosis*, 2010, 213(2): 592-597.
- [11] Te BBC, Bovens SM, Hellings WE, et al. Molecular MRI of murine atherosclerotic plaque targeting NGAL: a protein associated with unstable human plaque characteristics [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 89(3): 680-688.
- [12] 张安邦, 高杰, 李令根, 等. 相关炎症因子与动脉粥样硬化的关系[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2014, 20(5): 563-566.
- [13] Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival [J]. *Science*, 1998, 281(5381): 1 322-326.
- [14] Cheng X, Wan Y, Xu Y, et al. Melatonin alleviates myosin light chain kinase expression and activity via the mitogen-activated protein kinase pathway during atherosclerosis in rabbits [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(1): 99-104.
- [15] Yang HY, Bian YF, Xiao CS, et al. Angiotensin(17) stimulates cholesterol efflux from angiotensin II treated cholesterolloaded THP1 macrophages through the suppression of p38 and c Jun N-terminal kinase signaling [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(1): 1 387-392.
- [16] Zhong Y, Liu T, Guo Z. Curcumin inhibits ox-LDL-induced MCP-1 expression by suppressing the p38MAPK and NF-kappaB pathways in rat vascular smooth muscle cells [J]. *Inflamm Res*, 2012, 61(1): 61-67.

(此文编辑 许雪梅)