

白细胞介素 37 对 Toll 样受体 4 激活人冠状动脉内皮细胞核因子 κ B 和细胞间黏附分子 1 表达的影响

谢康琪¹, 谢燕丹², 林玲¹, 李吉林²

(汕头大学医学院第一附属医院 1.风湿科,2.心血管内科,广东省汕头市 515041)

[关键词] 白细胞介素 37; 人冠状动脉内皮细胞; Toll 样受体 4; 核因子 κ B; 细胞间黏附分子 1; 动脉粥样硬化

[摘要] **目的** 探讨抗炎因子白细胞介素 37(IL-37)对人冠状动脉内皮细胞(HCAEC)中 Toll 样受体 4(TLR4)激活后下游信号核因子 κ B(NF- κ B)及细胞间黏附分子 1(ICAM-1)表达的影响及机制。**方法** 将 HCAEC 培养 3~5 代后进行实验,分为 3 组:对照组、IL-37 干扰组、IL-37 过表达组。利用脂质体转染将 IL-37 干扰序列加入 IL-37 干扰组,IL-37 DNA 过表达质粒加入 IL-37 过表达组;孵育 24 h 后,用实时荧光定量 PCR 检测基因转染效率以确定转染成功。各组给予 TLR4 激活剂脂多糖(200 μ g/L)进行干预。Western blot 检测干预 24 h 后 ICAM-1 蛋白的表达及干预 30、60、120 min 时磷酸化 NF- κ B 蛋白的表达。**结果** 对照组在 TLR4 激活后 ICAM-1 蛋白表达升高,与之相比,IL-37 干扰组在 TLR4 激活后 ICAM-1 蛋白明显升高($P<0.05$),但在 IL-37 过表达组中没有升高($P>0.05$)。与对照组相比,IL-37 干扰组 TLR4 激活后 30、60、120 min 各时间点磷酸化 NF- κ B 的蛋白表达明显升高($P<0.05$),而 IL-37 过表达组磷酸化 NF- κ B 蛋白表达并没有明显升高($P>0.05$)。**结论** IL-37 可以抑制 TLR4 激活 HCAEC 中炎症因子 ICAM-1 的升高,其机制可能是通过抑制 NF- κ B 磷酸化的程度。IL-37 的抗炎作用可以防治动脉粥样硬化。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effect of interleukin-37 on the expressions of nuclear factor- κ B and intercellular adhesion molecule-1 activated by Toll-like receptor-4 in human coronary artery endothelial cells

XIE Kang-Qi¹, XIE Yan-Dan², LIN Ling¹, LI Ji-Lin²

(1.Department of Rheumatology, 2.Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital, Medical College of Shantou University, Shantou, Guangdong 515041, China)

[KEY WORDS] Interleukin-37; Human coronary artery endothelial cell; Toll-like receptor-4; Nuclear factor- κ B; Intercellular adhesion molecule-1; Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effect of anti-inflammation cytokine interleukin-37 (IL-37) on the expressions of nuclear factor- κ B (NF- κ B) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) activated by Toll-like receptor-4 (TLR4) in human coronary artery endothelial cells (HCAECs) and its mechanism. **Methods** After 3-5 generations of HCAECs culture, the experiment was carried out and divided into 3 groups: the control group, the IL-37 interference group and the IL-37 overexpression group. The IL-37 interference sequence was added into the IL-37 interference group and the IL-37 DNA overexpressed plasmid was added to the IL-37 overexpression group by liposome transfection. After incubation of 24 hours, the gene transfection efficiency was detected by real-time fluorescence quantitative PCR to determine the success of transfection. Each group was given TLR4 activator lipopolysaccharide (200 μ g/L) for intervention. Western blot was used to detect the expression of ICAM-1 protein after intervention of 24 hours and the expressions of phosphorylated NF- κ B protein at 30, 60, 120 minutes after intervention. **Results** The expression of ICAM-1 protein increased after TLR4 ac-

[收稿日期] 2017-07-05

[修回日期] 2017-09-11

[基金项目] 国家自然科学基金(81672640);广东省自然科学基金(2015A030313441)

[作者简介] 谢康琪,硕士,研究方向为冠状动脉粥样硬化,E-mail 为 medicoqi@163.com。通讯作者林玲,博士,主任医师,硕士研究生导师,研究方向为肿瘤及自身免疫性疾病,E-mail 为 linc@126.com。通讯作者李吉林,博士,主任医师,硕士研究生导师,研究方向为心血管疾病,E-mail 为 lijilin@126.com。

tivation in the control group. Compared with the control group, the ICAM-1 protein increased significantly after TLR4 activation in the IL-37 interference group ($P < 0.05$), but did not increase in the IL-37 overexpression group ($P > 0.05$). Compared with the control group, the expression of NF- κ B protein was significantly increased at 30, 60 and 120 minutes after TLR4 activation in the IL-37 interference group ($P < 0.05$), but the expression of phosphorylated NF- κ B protein was not significantly elevated in the IL-37 overexpression group ($P > 0.05$). **Conclusion** IL-37 can inhibit the increase of inflammatory factor ICAM-1 by TLR4 activation in HCAECs, and its mechanism may be through the inhibition of the degree of NF- κ B phosphorylation. The anti-inflammatory effect of IL-37 can prevent atherosclerosis.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是一种严重的心血管病理进程。Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)作为膜转运受体,在As中发挥了一定的作用,可识别并结合病原体相关分子模式,激活核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)^[1],激活后的NF- κ B进入细胞核后促进多种炎症因子的转录,其中包括细胞间黏附分子1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)^[2]。血管内皮细胞受到损伤因素刺激时表达ICAM-1等黏附分子增多,促使血液中的中性粒细胞、单核细胞等黏附并迁移至内皮下,加快病变的进展。有研究发现TLR家族中的TLR4在As的发生发展中具有重要的作用^[3]。因此,通过抑制TLR介导的炎症反应有助于防治As。

白细胞介素37(interleukin-37, IL-37)是2000年发现的属于白细胞介素家族的细胞因子^[4-5]。研究已证实IL-37可以抑制多种细胞产生炎症因子,如脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的人外周血单核细胞中肿瘤坏死因子 α 、IL-6、IL-1 β 的表达和树突状细胞中IL-1 β 、IL-12、IL-17等炎症因子的表达。转入人IL-37基因的小鼠可对化学性结肠炎、代谢综合征、心肌缺血及LPS诱导的内毒素血症等疾病模型发挥抗炎及保护作用^[6-9]。因此,IL-37是一种具有抗炎症和免疫抑制作用的细胞因子。我们前期研究证实了IL-37可以抑制TLR2诱导的人冠状动脉内皮细胞(human coronary artery endothelial cell, HCAEC)炎症反应,减少NF- κ B和ICAM-1的表达^[10]。本研究旨在继续探讨抗炎因子IL-37对TLR4激活HCAEC的ICAM-1及磷酸化NF- κ B表达的影响,探讨IL-37拮抗炎症反应的可能机制。

1 材料和方法

1.1 细胞株和主要试剂

原代HCAEC购自美国ScienCell公司。内皮细胞培养基、胎牛血清、内皮细胞生长因子、双抗购自美国ScienCell公司;脂多糖购自美国Sigma公司(L4391);阴性对照(正义链:5'-UUCUCCGAACGU-

GUCACGUTT-3',反义链:5'-ACGUGACACGUUCG-GAGAATT-3')、Silent IL-37 mRNA(正义链:5'-UGC-CCAAAAGGAAUCAGCATT-3',反义链:5'-UGCUGAUUCCUUUUGGGCATT-3')、IL-37b plasmid vector购自上海Genepharma公司;Opti-MEM无血清培养基、Lipofectamine[®] 3000试剂及 β -actin、IL-37引物购自Invitrogen[™] Life Technology公司;总RNA提取试剂RNAiso Plus、反转录试剂盒PrimeScript RT Master Mix、实时定量试剂盒SYBR[®] Premix Ex Taq[™] (Tli RNaseH Plus)均购自TAKARA Bio公司;兔抗人磷酸化NF- κ B p65、兔抗人ICAM-1抗体均购自美国Cell Signaling Technology公司;兔抗人GAPDH抗体购自杭州贤至生物科技公司;羊抗兔IgG-peroxidase标记二抗购自武汉博士德公司。

1.2 细胞培养

HCAEC培养于含5%胎牛血清的内皮细胞培养基中,37℃、5%CO₂下生长。细胞为贴壁生长,2~3天换液,待细胞长至约90%融合时接种于6孔或12孔培养板,24 h内进行细胞转染。转染前使用基础培养基清洗每孔,转染用培养基为无血清Opti-MEM,利用脂质体Lipofectamine[®] 3000对HCAEC进行IL-37干扰或过表达(siIL-37干扰序列终浓度为40 nmol/L, IL-37质粒过表达载体浓度为1.0 mg/L)^[10],结束后放入细胞培养箱孵育24 h,过表达处理组在6 h后更换完全培养基。将细胞分为空白对照组、脂质体对照组、阴性序列对照组、空白质粒对照组、IL-37干扰组、IL-37过表达组。

1.3 实时荧光定量PCR检测IL-37的转染效率

HCAEC进行IL-37干扰或过表达后,使用总RNA提取试剂盒RNAiso Plus按照说明书进行细胞总RNA提取,检测完浓度后按逆转录试剂盒PrimeScript RT Master Mix说明书进行逆转录反应,反应液配制在冰上进行,条件为:37℃ 15 min, 85℃ 5 s。使用SYBR[®] Premix Ex Taq[™]试剂盒进行实时定量PCR扩增,以 β -actin作为内参。 β -actin上游引物:5'-ATTGCCGACAGGATGCAGAA-3',下游引物:5'-GCTGATCCACATCTGCTGGAA-3';IL-37上游引物:

5'-CTTTGTGGGGGAGAACTCAG-3', 下游引物: 5'-CCTTTAGAGACCCCCAGGAG-3'。荧光定量 PCR 反应体系如下: cDNA 模板 1 μL , SYBR 绿色荧光染料实时 PCR 反应液 5 μL , 上、下游引物各 0.2 μL , 灭菌超纯水定容至 10 μL 。扩增的反应条件: 预变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s, 延伸及退火 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 40 个循环, 并于每个循环的延伸阶段采集荧光信号。反应结束后做 95 $^{\circ}\text{C}$ 的溶解曲线分析。每个样品设 3 个复孔。PCR 结果用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 表示相对表达量。

1.4 Western blot 检测 ICAM-1 和磷酸化 NF- κB 蛋白的表达

将 HCAEC 分为 3 组: 空白对照组、IL-37 干扰组、IL-37 过表达组, 利用脂质体转染将 IL-37 干扰序列加入干扰组, IL-37 DNA 过表达质粒加入过表达组, 孵育 24 h 后, 再加入 LPS (200 $\mu\text{g/L}$) 刺激 24 h^[11], 利用 Western blot 检测 3 组细胞 ICAM-1 蛋白的表达, 以及刺激 30、60、120 min 时磷酸化 NF- κB 蛋白的表达。收集细胞, 每孔加 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的 1 mL 磷酸盐缓冲液柔和洗细胞 3 次, 洗去细胞培养液。配置细胞裂解液, 操作按说明书, 均在冰上进行。制备 10% 的聚丙烯酰胺凝胶, 电泳结束后将蛋白转至聚偏二氟乙烯膜上, 结束后使用 10% 的脱脂牛奶室温封闭 1 h, 封闭膜上的非特异性结合位点, 封闭结束后利用 TBST (TBS 液中含 0.1% 的 Tween-20) 温和洗净膜上残留的牛奶, 继之与兔抗人抗体 (GAPDH 1 : 1000、ICAM-1 1 : 1000、磷酸化 NF- κB p65 1 : 1000) 孵育, 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱摇床过夜后洗膜 3 次, 每次 10 min。然后将膜加入山羊抗兔二抗 (1 : 10000) 中并在室温下反应 1 h, 结束后洗膜 3 次, 每次 10 min。使用 ECL 发光液进行化学发光, 灰度值条带采用 Universal Hood II 76S/0608 数码凝胶图像处理系统 (美国 Bio-Rad 公司) 进行分析处理。

1.5 统计学方法

本实验统计采用 SPSS 19.0 软件, 计量资料两两比较用 t 检验, 多组间均数比较采用方差分析, 以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 IL-37 干扰或过表达对 HCAEC 中 IL-37 表达的影响

实时荧光定量 PCR 检测 HCAEC 中 IL-37 的转染效率, 结果显示脂质体、阴性序列和空白质粒对 IL-37 mRNA 的表达无影响。IL-37 干扰组与空白对照组相比 IL-37 的表达下降, 而 IL-37 过表达组 IL-

37 的表达升高 ($P < 0.01$; 图 1)。

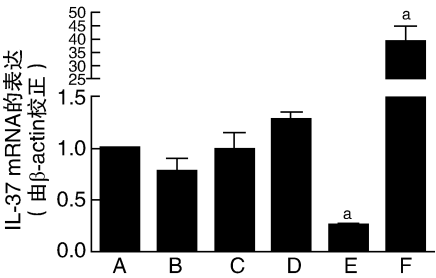


图 1. 不同处理组 HCAEC 中 IL-37 mRNA 表达水平 ($n = 5$) A 为空白对照组, B 为脂质体对照组, C 为阴性序列对照组, D 为空白质粒对照组, E 为 IL-37 干扰组, F 为 IL-37 过表达组。a 为 $P < 0.01$, 与空白对照组比较。

Figure 1. IL-37 mRNA expression level of HCAEC in different treatment groups ($n = 5$)

2.2 LPS 干预后 HCAEC 中 ICAM-1 蛋白表达的变化

在给予 IL-37 干预或过表达之后, 我们给予 LPS 进行干预。与空白对照组相比, LPS 干预后空白对照组、IL-37 干扰组和 IL-37 过表达组细胞 ICAM-1 蛋白表达升高 ($P < 0.05$)。与对照组相比, IL-37 干扰组 ICAM-1 蛋白表达显著增加 ($P < 0.05$), IL-37 过表达组没有明显增加 ($P > 0.05$)。IL-37 过表达组与 IL-37 干扰组相比, ICAM-1 蛋白表达显著减少 ($P < 0.05$; 图 2)。

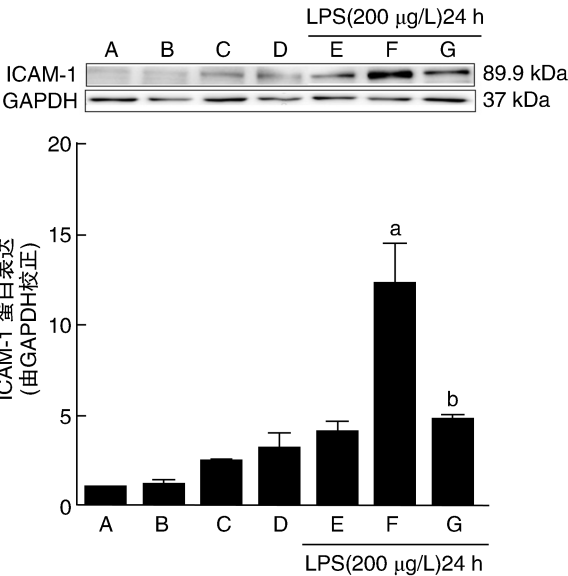


图 2. LPS 处理后各组 ICAM-1 蛋白的表达 ($n = 5$) A 为空白对照组, B 为脂质体对照组, C 为阴性序列对照组, D 为空白质粒对照组, E 为空白对照+LPS 组, F 为 IL-37 干扰+LPS 组, G 为 IL-37 过表达+LPS 组。a 为 $P < 0.05$, 与空白对照+LPS 组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 IL-37 干扰+LPS 组比较。

Figure 2. Expression of ICAM-1 protein after LPS treatment in each group ($n = 5$)

2.3 LPS 干预后 HCAEC 中磷酸化 NF- κ B 蛋白表达的变化

为了解 IL-37 对 ICAM-1 表达影响的机制,我们在 3 组细胞中分别加入 TLR4 的配体 LPS (200 μ g/L)刺激 30、60、120 min,用 Western blot 检测磷酸化 NF- κ B 蛋白的磷酸化程度。结果发现,正常 HCAEC 在 LPS 刺激后磷酸化 NF- κ B 在各个时间点的表达均比空白对照组升高 ($P < 0.05$; 图 3);在 IL-37 干扰后,再予 LPS 刺激 HCAEC,磷酸化 NF- κ B 的表达同样升高明显 ($P < 0.05$; 图 4);而在 IL-37 过表达后,再予 LPS 刺激 HCAEC,磷酸化 NF- κ B 的表达与空白对照组相比无统计学差异 ($P > 0.05$; 图 5)。

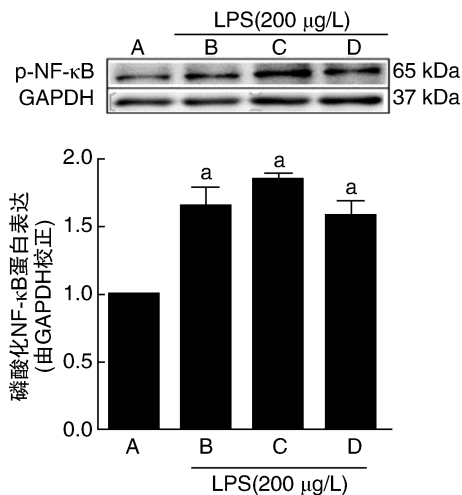


图 3. 正常 HCAEC 在 LPS 刺激后磷酸化 NF- κ B 的表达 ($n=5$) A 为空白对照组, B 为 30 min 组, C 为 60 min 组, D 为 120 min 组。a 为 $P < 0.05$, 与空白对照组比较。

Figure 3. Expression of phosphorylated NF- κ B after LPS stimulation in normal HCAEC ($n=5$)

3 讨论

As 是起源于动脉内膜的疾病,可以累及各处血管,以大中动脉最常见^[12]。研究发现 LPS 可激活人冠状动脉内皮细胞 TLR4,使 NF- κ B 磷酸化,从而促进多种炎症因子的转录,如 IL-6、单核细胞趋化蛋白 1、肿瘤坏死因子 α 、血管细胞黏附分子 1 和 ICAM-1 等^[11,13]。IL-37 属于 IL 家族,是炎症反应和先天性免疫的天然抑制因子^[14]。我们课题组前期研究发现使用肽聚糖活化 HCAEC 中的 TLR2 后,抗炎因子 IL-37 可以抑制 ICAM-1 和磷酸化 NF- κ B 在 mRNA 和蛋白水平的表达^[10]。在本研究中,我们发现沉默 IL-37 可以增加 TLR4 激活 HCAEC 中 NF- κ B 磷酸化程度和 ICAM-1 蛋白水平,而 IL-37 过表达后这两个

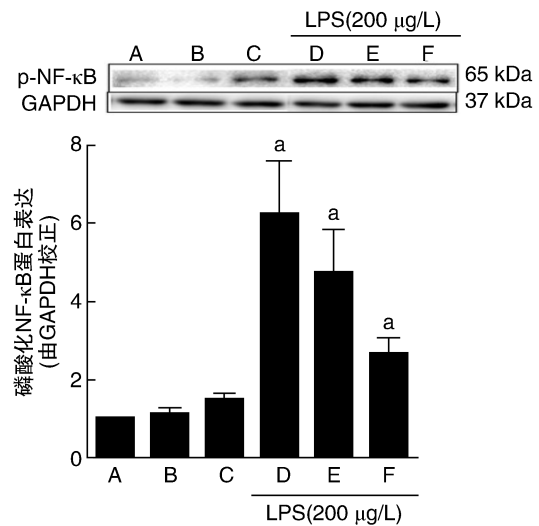


图 4. IL-37 干扰 HCAEC 在 LPS 刺激后磷酸化 NF- κ B 的表达 ($n=5$) A 为空白对照组, B 为脂质体对照组, C 为阴性序列对照组, D 为 30 min 组, E 为 60 min 组, F 为 120 min 组。a 为 $P < 0.05$, 与空白对照组比较。

Figure 4. Expression of phosphorylated NF- κ B after LPS stimulation in IL-37 interfered HCAEC ($n=5$)

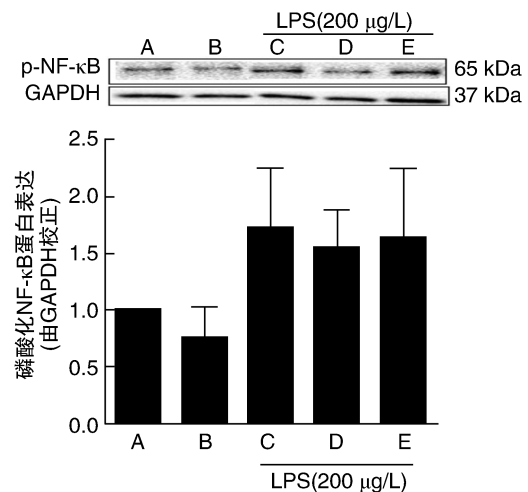


图 5. IL-37 过表达 HCAEC 在 LPS 刺激后磷酸化 NF- κ B 的表达 ($n=5$) A 为空白对照组, B 为空白质粒对照组, C 为 30 min 组, D 为 60 min 组, E 为 120 min 组。

Figure 5. Expression of phosphorylated NF- κ B after LPS stimulation in IL-37 overexpressed HCAEC ($n=5$)

炎症因子的表达却没有升高,说明了 IL-37 也有拮抗 TLR4 激活 HCAEC 的炎症作用。

我们的前期研究和本次研究发现,IL-37 可以抑制 HCAEC 中 TLR2 和 TLR4 激活后 ICAM-1 的表达,这种抑制作用与 NF- κ B 通路有关。在细胞内,IL-37 含有半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶 1 (Caspase-1) 酶切位点,以前体形式存在于细胞质中,当受到炎症刺激时 Caspase-1 激活并将 IL-37 前

体剪切为成熟体。细胞质内一部分 IL-37 成熟体与 Smad3 形成功能性复合体并同时进入细胞核,抑制信号转导蛋白,可以抑制 TLR 诱导的促炎症细胞因子产生和树突状细胞的活化^[15-16]。在细胞外,IL-18 与 IL-18R α 和 IL-18R β 形成复合体,与 Toll/白细胞介素 1 受体 (Toll/interleukin-1 receptor, TIR) 结合,引起 NF- κ B 活化,调节促炎症因子的转录。近年来研究发现,IL-37 与 IL-18R α 结合后,可募集 TIR-8 在细胞表面形成功能性复合体,TIR-8 与传统的 TIR 结构不同,可以干扰传统 TIR 结构域的激活^[17]。因此,TIR-8 可对 TLR 和 IL-1R 活化后引起的下游信号通路的激活起负性调节作用,其中就包括 NF- κ B^[18]。研究发现,敲除人和小鼠细胞中的 TIR-8 后,对 LPS 刺激的反应性增高,并产生大量的促炎症因子^[17]。我们的研究发现 IL-37 可以抑制 HCAEC 中 TLR2 和 TLR4 激活后 NF- κ B 磷酸化程度和 ICAM-1 的表达,主要是通过增加细胞内 IL-37 浓度来实现的,推测应该是通过细胞内途径,也就是与 Smad3 途径相关可能性大。在将来的实验中,可以考虑通过抑制 Smad3 表达的方法来验证这个猜测。

我们在本实验中对 TLR4 激活后的通路做了部分研究,结果显示 HCAEC 在加入 TLR4 的配体 LPS 后,IL-37 干扰组 ICAM-1 和磷酸化 NF- κ B 蛋白的表达较空白对照组明显升高;这与我们之前对 TLR2 的研究结果类似。在 IL-37 过表达组中这 2 种蛋白升高不明显,与空白对照组无显著差异,并没有展示出 IL-37 可以抑制 TLR4 激活 HCAEC 后炎症反应。这可能与 2 个原因有关:(1)我们转染进去的 IL-37 基因需要发挥作用与其表达的 IL-37 成熟体有关,而在实验中 IL-37 成熟体表达量不足,无法对炎症反应产生足够的抑制;(2)TLR4 与 TLR2 炎症通路都具有髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88),但 TLR4 还具有一条不依赖于 MyD88 的信号通路^[1],可能 IL-37 对 MyD88 通路起到抑制作用而减少了 NF- κ B 磷酸化程度,但是对非依赖于 MyD88 的通路可能没有起到足够的抑制作用。因此,在将来的实验中,我们计划使用 IL-37 蛋白并调整不同的浓度,并敲除 MyD88 来进行验证,这还需要更细致和深入的研究。

同时,我们在 IL-37 过表达组中发现,在给予 LPS 30 min 后磷酸化 NF- κ B 表达明显升高,我们推测这与 IL-37 的时效性可能有关系。有研究发现,细胞内 IL-37 在 LPS 刺激后 20 min 开始升高,40 min 时升高

最为显著^[19]。在稳定转染 IL-37 的细胞中,使用 IL-1 β 与细胞共孵育 30 min 即可利用免疫荧光技术在胞核周围检测到大量的 IL-37 及磷酸化 Smad3 的表达,并且利用免疫共沉淀证实了其复合体的形成^[7]。并且,这也与我们在 IL-37 转基因小鼠内皮细胞中的结果一致^[20]。

综上所述,我们初步证实了 IL-37 表达的高低可以改变 TLR4 激活后 ICAM-1 和磷酸化 NF- κ B 的表达,IL-37 抑制 ICAM-1 表达可能与抑制了 NF- κ B 磷酸化程度有关。IL-37 可能具有保护冠状动脉内皮细胞的功能及延缓疾病进展的作用。随着近年来对 IL-37 作用机制研究的深入,研究如何利用 IL-37 抑制炎症反应、减缓疾病的发生发展是我们未来研究的重点。

[参考文献]

- [1] Gay NJ, Symmons MF, Gangloff M, et al. Assembly and localization of Toll-like receptor signalling complexes [J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(8): 546-558.
- [2] 许旭光, 张延斌, 孔刘莎, 等. 辛伐他汀通过抑制 TLR4 信号通路调节血管平滑肌细胞炎症因子的表达 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(12): 1 220-224.
- [3] Howell KW, Meng X, Fullerton DA, et al. Toll-like receptor 4 mediates oxidized LDL-induced macrophage differentiation to foam cells [J]. *J Surg Res*, 2011, 171(1): e27-e31.
- [4] Kumar S, McDonnell PC, Lehr R, et al. Identification and initial characterization of four novel members of the interleukin-1 family [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(14): 10 308-314.
- [5] Dunn E, Sims JE, Nicklin MJH, et al. Annotating genes with potential roles in the immune system: Six new members of the IL-1 family [J]. *Trends Immunol*, 2001, 22(10): 533-536.
- [6] Dinarello CA, Nold-Petry C, Nold M, et al. Suppression of innate inflammation and immunity by interleukin-37 [J]. *Eur J Immunol*, 2016, 46(5): 1 067-081.
- [7] Nold MF, Nold-Petry CA, Zepp JA, et al. IL-37 is a fundamental inhibitor of innate immunity [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(11): 1 014-022.
- [8] McNamee EN, Masterson JC, Jedlicka P, et al. Interleukin 37 expression protects mice from colitis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(40): 16 711-716.
- [9] Ballak DB, van Diepen JA, Moschen AR, et al. IL-37 protects against obesity-induced inflammation and insulin resistance [J]. *Nat Commun*, 2014, 5(3): 4 711.

(下转第 236 页)

[参考文献]

- [1] Li H, Peng W, Zhuang J, et al. Vaspin attenuates high glucose-induced vascular smooth muscle cells proliferation and chemokinesis by inhibiting the MAPK, PI3K/Akt, and NF- κ B signaling pathways [J]. *Atherosclerosis*, 2013, 228 (1): 61-68.
- [2] Shen GX. Oxidative stress and diabetic cardiovascular disorders: roles of mitochondria and NADPH oxidase [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2010, 88(3): 241-248.
- [3] Casella S, Bielli A, Mauriello A, et al. Molecular pathways regulating macrovascular pathology and vascular smooth muscle cells phenotype in type 2 diabetes [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(10): 24 353-368.
- [4] 赵占胜, 王 绵, 梁江燕, 等. 罗格列酮对高糖诱导大鼠血管平滑肌细胞炎症和增殖的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2010, 30(10): 1 371-374.
- [5] Chien Ming-wei, Chien Chin-sung, Hsiao Li-Der, et al. OxLDL induces mitogen-activated protein kinase activation mediated via PI3-kinase/Akt in vascular smooth muscle cells [J]. *J Lipid Res*, 2003, 44 (9): 1 667-675.
- [6] Yang Chuen-mao, Chien Chin-sung, Hsiao Li-Der, et al. Mitogenic effect of oxidized low-density lipoprotein on vascular smooth muscle cells mediated by activation of Ras/Raf/MEK/MAPK pathway [J]. *Br J Pharmacol*, 2001, 132(7): 1 531-541.
- [7] Zhu LH, Wang L, Wang D, et al. Purranin attenuates high-glucose-and diabetes-induced vascular smooth muscle cell proliferation by blocking PKC β 2/Rac1-dependent signaling [J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 48 (4): 471-482.
- [8] Teshima Y, Takahashi N, Nishio S, et al. Production of reactive oxygen species in the diabetic heart. Roles of mitochondria and NADPH oxidase [J]. *Circ J*, 2014, 78(2): 300-306.
- [9] Kuno A, Tanno M, Horio Y. The effects of resveratrol and SIRT1 activation on dystrophic cardiomyopathy [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2015, 1348(1): 46-54.
- [10] Zhang MJ, Zhou Y, Chen L, et al. SIRT1 improves VSMC functions in atherosclerosis [J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2016, 121(1): 11-15.
- [11] Guo R, Li W, Liu B, et al. Resveratrol protects vascular smooth muscle cells against high glucose-induced oxidative stress and cell proliferation in vitro [J]. *Med Sci Monit Basic Res*, 2014, 27(1): 82-92.

(此文编辑 许雪梅)

(上接第 231 页)

- [10] Xie Y, Li Y, Cai X, et al. Interleukin-37 suppresses ICAM-1 expression in parallel with NF-kappaB down-regulation following TLR2 activation of human coronary artery endothelial cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 38: 26-30.
- [11] Li J, Jin C, Cleveland JC Jr, et al. Enhanced inflammatory responses to Toll-like receptor 2/4 stimulation in type 1 diabetic coronary artery endothelial cells: The effect of insulin [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2010, 9(1): 90.
- [12] Taleb S. Inflammation in atherosclerosis [J]. *Arch Cardiovasc Dis*, 2016, 109(12): 708-715.
- [13] 姜 华, 姜玉姬. 阿托伐他汀对脂多糖诱导的人脐静脉内皮细胞 Toll 样受体 4 及炎症因子表达的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(1): 37-41.
- [14] Boraschi D, Lucchesi D, Hainzl S, et al. IL-37: A new anti-inflammatory cytokine of the IL-1 family [J]. *Eur Cytokine Netw*, 2011, 22(3): 127-147.
- [15] Dinarello CA, Bufler P. Interleukin-37 [J]. *Semin Immunol*, 2013, 25(6): 466-468.
- [16] Bulau AM, Nold MF, Li S, et al. Role of caspase-1 in nuclear translocation of IL-37, release of the cytokine, and IL-37 inhibition of innate immune responses [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(7): 2 650-655.
- [17] Li S, Neff CP, Barber K, et al. Extracellular forms of IL-37 inhibit innate inflammation in vitro and in vivo but require the IL-1 family decoy receptor IL-1R8 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(8): 2 497-502.
- [18] Molgora M, Barajon I, Mantovani A, et al. Regulatory role of IL-1R8 in immunity and disease [J]. *Front Immunol*, 2016, 7: 149.
- [19] Sharma S, Kulk N, Nold MF, et al. The IL-1 family member 7b translocates to the nucleus and down-regulates proinflammatory cytokines [J]. *J Immunol*, 2008, 180 (8): 5 477-482.
- [20] Li J, Zhai Y, Ao L, et al. Interleukin-37 suppresses the inflammatory response to protect cardiac function in old endotoxemic mice [J]. *Cytokine*, 2017, 95(9): 55-63.

(此文编辑 曾学清)