

## 驱动蛋白 16B 在姜黄素影响 HepG2 细胞脂质摄取中的作用

张彩平<sup>1</sup>, 袁育林<sup>1</sup>, 李博洁<sup>1,2</sup>, 蒋素素<sup>1</sup>, 王楚瑶<sup>1</sup>, 邵惊琦<sup>1</sup>, 袁凌志<sup>1</sup>, 赵倩<sup>1</sup>, 龙石银<sup>1</sup>

(1. 南华大学衡阳医学院生物化学与分子生物学教研室, 湖南省衡阳市 421001;

2. 岳阳市一人民医院检验中心, 湖南省岳阳市 414000)

[关键词] 驱动蛋白 16B; 姜黄素; HepG2 细胞; 低密度脂蛋白胆固醇; 低密度脂蛋白受体

[摘要] **目的** 观察姜黄素对人肝癌细胞 HepG2 脂质摄取的影响是否与驱动蛋白 16B(KIF16B)有关,探索姜黄素的降脂机制。**方法** (1)将体外培养的 HepG2 细胞分为对照组(姜黄素浓度为 0)和 20、30、40  $\mu\text{mol/L}$  姜黄素处理组,CCK8 法检测细胞活性,以确定合适的姜黄素药物作用浓度。(2)将体外培养的 HepG2 细胞分为空白对照组、阴性对照组、瑞舒伐他汀(阳性药物)组和姜黄素组。胆固醇检测试剂盒检测 HepG2 细胞内胆固醇含量;荧光显微镜观察细胞对 DiI 标记的低密度脂蛋白(DiI-LDL)的摄取情况;Western blot 检测细胞内 KIF16B 和低密度脂蛋白受体(LDLR)的蛋白表达;激光共聚焦显微镜观察细胞内 KIF16B 与 LDLR 荧光共定位情况。**结果** 25  $\mu\text{mol/L}$  姜黄素不影响 HepG2 细胞生长。与阴性对照组相比,姜黄素组 HepG2 细胞内总胆固醇和游离胆固醇水平明显增高,细胞摄取 DiI-LDL 明显增加,细胞内 KIF16B、LDLR 蛋白表达显著升高,细胞内 KIF16B 和 LDLR 蛋白的荧光共定位显著增加( $P < 0.05$ )。**结论** 姜黄素作用于 HepG2 细胞导致的 LDL 脂质摄取、LDLR 表达增加与 KIF16B 和 LDLR 的相互作用有关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### Role of kinesin family member 16B in the effect of curcumin on lipid uptake of HepG2 cells

ZHANG Caiping<sup>1</sup>, YUAN Yulin<sup>1</sup>, LI Bojie<sup>1,2</sup>, JIANG Susu<sup>1</sup>, WANG Chuyao<sup>1</sup>, SHAO Jinqi<sup>1</sup>, YUAN Lingzhi<sup>1</sup>, ZHAO Qian<sup>1</sup>, LONG Shiyin<sup>1</sup>

(1. Department of Biochemistry & Molecular Biology, Hengyang Medical College, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Medical Laboratory Center, the First People's Hospital of Yueyang, Yueyang, Hunan 414000, China)

[KEY WORDS] kinesin family member 16B; curcumin; HepG2 cell; low density lipoprotein cholesterol; low density lipoprotein receptor

[ABSTRACT] **Aim** To observe whether the effect of curcumin on lipid uptake of human hepatoma cell line HepG2 is related to kinesin family member 16B (KIF16B), and to explore the lipid-lowering mechanism of curcumin. **Methods**

(1)The HepG2 cells cultured in vitro were divided into control group (curcumin concentration was 0) and 20, 30, 40  $\mu\text{mol/L}$  curcumin treatment groups, and CCK8 method was used to detect cell viability to determine the appropriate concentration of curcumin. (2)The HepG2 cells cultured in vitro were divided into blank control group, negative control group, rosuvastatin (positive drug) group and curcumin group. Cholesterol detection kit was used to detect the content of cholesterol in HepG2 cells; The uptake of DiI-labeled low density lipoprotein (DiI-LDL) was observed by fluorescence microscope; The protein expressions of KIF16B and low density lipoprotein receptor (LDLR) were detected by Western blot; The fluorescence co-localization of KIF16B and LDLR was observed by laser confocal microscope. **Results** 25  $\mu\text{mol/L}$  curcumin did not affect the growth of HepG2 cells. Compared with the negative control group, the levels of total cholesterol and free cholesterol in HepG2 cells were significantly increased, the uptake of DiI-LDL by cells was significantly increased, the expressions of KIF16B and LDLR proteins in the cells were significantly increased, and the fluorescence co-lo-

[收稿日期] 2021-04-01

[修回日期] 2021-07-06

[基金项目] 国家自然科学基金(81600291,31871169);湖南省自然科学基金(2018JJ2348,2018JJ2346)

[作者简介] 张彩平,博士,副教授,研究方向为脂蛋白与动脉粥样硬化,E-mail为 zhangcpin@163.com。通信作者龙石银,博士,教授,研究方向为脂蛋白与动脉粥样硬化,E-mail为 shiyinlong@126.com。

calization of KIF16B and LDLR proteins in the cells was significantly increased in the curcumin group ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion** The increase of LDL lipid uptake and LDLR expression caused by curcumin acting on HepG2 cells is related to the interaction between KIF16B and LDLR.

血浆高水平的低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)直接参与动脉粥样硬化性心血管疾病(atherosclerotic cardiovascular disease, ASCVD)的发展<sup>[1-3]</sup>。姜黄素被认为通过调节肝低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)表达和促进 LDLC 摄取,有着调节血脂代谢的潜在的药物治疗前景<sup>[4-5]</sup>,然而其机制尚未完全明确。现已明确介导肝细胞 LDLR 向质膜转运可缓解动脉硬化<sup>[6]</sup>,驱动蛋白 16B(kinesin family member 16B, KIF16B)在促进含有受体蛋白的细胞内向质膜转运过程中发挥重要作用<sup>[7]</sup>。为探究姜黄素作用后肝 LDLR 升高和 LDLC 摄取增多与 KIF16B 的关系,本研究通过姜黄素处理人肝癌细胞 HepG2 后进行脂质摄取和 LDLR、KIF16B 蛋白表达和共定位的检测,为姜黄素降脂机制开拓新视角。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要材料

HepG2 细胞购于中国科学院生物化学与细胞生物学研究所上海细胞库。伯克改良伊格尔培养基(Dulbecco modified Eagle medium, DMEM)购于 GIBCO BRL 公司(Grand Island, NY)。阳性药物(瑞舒伐他汀)及姜黄素购于 Sigma-Aldrich 公司(St. Louis, MO)。LDL 和 DiI 标记的 LDL(DiI labeled LDL, DiI-LDL)购于广州奕元生物技术有限公司。细胞增殖及毒性检测试剂盒(cell counting kit 8, CCK8)购于东仁化学科技(上海)有限公司。胆固醇检测试剂盒购于 Cell Biolabs 公司(CA, USA)。BCA 试剂盒购于上海碧云天生物技术有限公司。抗人 LDLR 抗体、抗人  $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体购于 Abcam 公司(Cambridge, MA, USA)。抗人 KIF16B 抗体购于 Santa Cruz Biotechnology 公司(Santa Cruz, CA, USA)。所有的荧光二抗购于 Jackson ImmunoResearch Laboratories 公司(West Grove, PA)。

### 1.2 细胞培养与分组

将 HepG2 细胞培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中, 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的条件下培养, 当细胞处于对数生长期时(接种于培养瓶 24 h 后)进行实验。(1) CCK8 检测: 将对数生长期的

HepG2 细胞制成均匀悬液后按  $4 \times 10^3$  个/孔的接种量接种于 96 孔板中培养 24 h, 然后分别用姜黄素浓度为 10、20、30、40  $\mu\text{mol/L}$  的培养基孵育, 对照组不加姜黄素。对照组和每个浓度的姜黄素组均设置 3 个平行对照孔。(2) 胆固醇含量检测、DiI-LDL 摄取实验、Western blot 及免疫荧光共定位实验: 按  $1 \times 10^5$  个/孔的接种量, 将对数生长期的细胞制成均匀悬液后接种于 6 孔板中培养 24 h, 然后按以下分组处理 24 h, 每组设置 3 个平行对照孔: ①空白对照组: 新鲜培养基处理; ②阴性对照组: 含有 25 mg/L LDL 的新鲜培养基处理; ③瑞舒伐他汀(阳性药物)组: 含有 25 mg/L LDL+10  $\mu\text{mol/L}$  瑞舒伐他汀的新鲜培养基处理; ④姜黄素组: 含有 25 mg/L LDL+25  $\mu\text{mol/L}$  姜黄素的新鲜培养基处理。

### 1.3 CCK8 法检测姜黄素对 HepG2 细胞活性的影响

按实验分组处理 24 h 后, 吸弃培养基, 向每孔加入 10  $\mu\text{L}$  CCK8 溶液+490  $\mu\text{L}$  新鲜培养基, 置于培养箱孵育 2 h, 用酶标仪检测 450 nm 处吸光度值, 根据记录的数据绘制标准曲线, 计算出每孔细胞存活率。

### 1.4 胆固醇检测试剂盒检测姜黄素对 HepG2 细胞胆固醇含量的影响

按实验分组处理 24 h 后, 根据胆固醇检测试剂盒说明书处理待测样品, 用酶标仪检测 555 nm 处的吸光度值, 绘制标准曲线, 计算出每孔细胞内总胆固醇、游离胆固醇含量; 根据二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量试剂盒说明书处理待测样品, 用酶标仪检测 562 nm 处的吸光度值, 绘制标准曲线, 计算出每孔总蛋白含量。最终结果用总胆固醇含量或游离胆固醇含量除以总蛋白含量进行标化。

### 1.5 荧光显微镜检测姜黄素对 HepG2 细胞摄取 DiI-LDL 的影响

按实验分组处理 24 h 后, 吸弃培养基, 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)清洗 3 次, 每孔加入 490  $\mu\text{L}$  含 2% 无脂蛋白血清的 DMEM 高糖培养基+10  $\mu\text{L}$  DiI-LDL(空白对照组不加)避光孵育 4 h, PBS 洗 3 次, 加入含 4% 多聚甲醛的 PBS 固定液室温避光固定 20 min, PBS 洗 3 次, 加入 Hoechst 33342 染色液室温避光染色 20 min, 吸弃余液后滴加 1 滴抗荧光淬灭液, 于荧光显微镜下观察并拍照。

## 1.6 Western blot 检测姜黄素对 HepG2 细胞 LDLR、KIF16B 蛋白表达

按实验分组处理 24 h 后,收集消化下来的细胞,加细胞裂解液于冰上裂解 30 min,4 ℃、13 000 r/min 离心 15 min,用 BCA 试剂盒检测上清液内总蛋白浓度,每孔 30 μg 蛋白量用于聚丙烯酰胺凝胶电泳,电泳后通过电转仪将分离的蛋白转到硝酸纤维素膜上,5% 脱脂牛奶封闭 2 h,加入对应一抗于 4 ℃ 孵育过夜, TBST 洗 3 次,加入对应二抗于室温孵育 45 min, TBST 洗 3 次,加入显色剂后在凝胶成像系统中进行显影,分别计算 LDLR、KIF16B 与内参蛋白 β-actin 的比值。

## 1.7 激光共聚焦显微镜检测姜黄素对 HepG2 细胞内 LDLR 和 KIF16B 荧光共定位的影响

按实验分组处理 24 h 后,吸弃培养基,加入 PBS 清洗 3 次,加入含 4% 多聚甲醛的 PBS 固定液固定 20 min,吸弃固定液,加入含 1% 牛血清白蛋白的 PBS 封闭 1 h, PBS 洗 3 次,加入对应一抗 4 ℃ 孵育过夜, PBS 洗 3 次,加入对应荧光二抗室温避光孵育 2 h, PBS 洗 3 次,加入 DAPI 染液室温避光孵育 15 min,吸弃余液后滴加 1 滴抗荧光淬灭液,于尼康激光共聚焦显微镜下观察并拍照。

## 1.8 统计学分析

通过 SPSS 21.0 统计学软件对实验数据进行分析,计量资料均以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间数据比较采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  表示为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 姜黄素对 HepG2 细胞活性的影响

参考文献<sup>[4]</sup>指出,姜黄素浓度在 25 μmol/L 的情况下不影响 HepG2 细胞活性。我们 CCK8 检测结果显示,与对照组(姜黄素浓度为 0)相比,10 μmol/L 姜黄素组的 HepG2 细胞活性显著提高( $P < 0.05$ ),而 20、30、40 μmol/L 姜黄素组对细胞活性无显著影响(图 1)。结合参考文献<sup>[4]</sup>以及该实验结果,依然选择 25 μmol/L 姜黄素用于后续实验。

### 2.2 姜黄素增加 HepG2 细胞内胆固醇含量

通过酶法检测胆固醇,结果显示,与空白对照组相比,阴性对照组的 HepG2 细胞内总胆固醇和游离胆固醇水平显著增高( $P < 0.05$ );与阴性对照组相比,瑞舒伐他汀组和姜黄素组的 HepG2 细胞内总胆固醇和游离胆固醇水平明显增高( $P < 0.05$ ;图 2)。

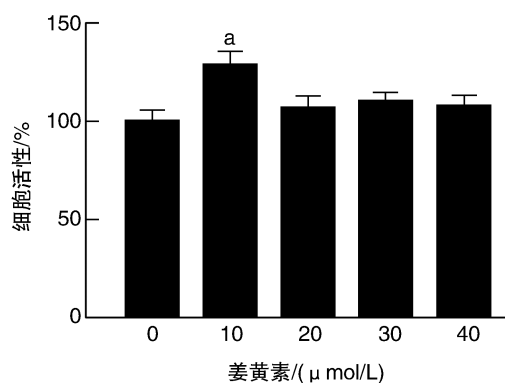


图 1. 姜黄素对 HepG2 细胞活性的影响( $n=3$ )  
a 为  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

Figure 1. Effect of curcumin on HepG2 cell activity ( $n=3$ )

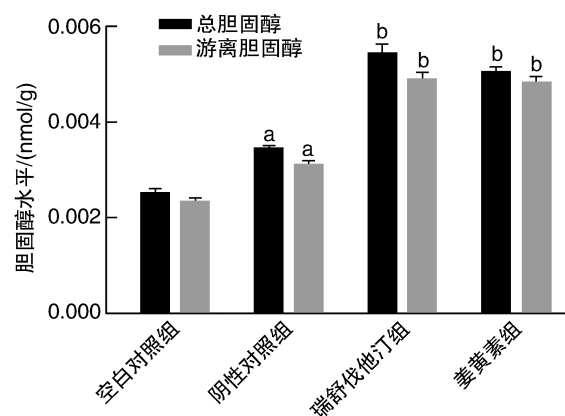


图 2. 姜黄素对 HepG2 细胞内胆固醇含量的影响( $n=3$ )  
a 为  $P < 0.05$ , 与空白对照组比较;  
b 为  $P < 0.05$ , 与阴性对照组比较。

Figure 2. Effect of curcumin on cholesterol content in HepG2 cells ( $n=3$ )

### 2.3 姜黄素增加 HepG2 细胞对 LDL 摄取

利用 DiI-LDL 与细胞共孵育,经荧光显微镜观察姜黄素作用后的 HepG2 细胞内胆固醇增加与 LDL 摄取增多的相关性,结果显示,与空白对照组相比,阴性对照组的细胞内红色荧光强度明显增加( $P < 0.05$ );与阴性对照组相比,瑞舒伐他汀组和姜黄素组的细胞内红色荧光强度明显增加( $P < 0.05$ ;图 3)。

### 2.4 姜黄素增加 HepG2 细胞内 LDLR 及 KIF16B 蛋白表达

Western blot 检测姜黄素作用后 HepG2 细胞内 LDLR、KIF16B 蛋白水平,结果显示,与空白对照组相比,阴性对照组的细胞内 LDLR 表达升高( $P <$

0.05);与阴性对照组相比,瑞舒伐他汀组和姜黄素组的细胞内 LDLR、KIF16B 表达显著升高( $P < 0.05$ ;

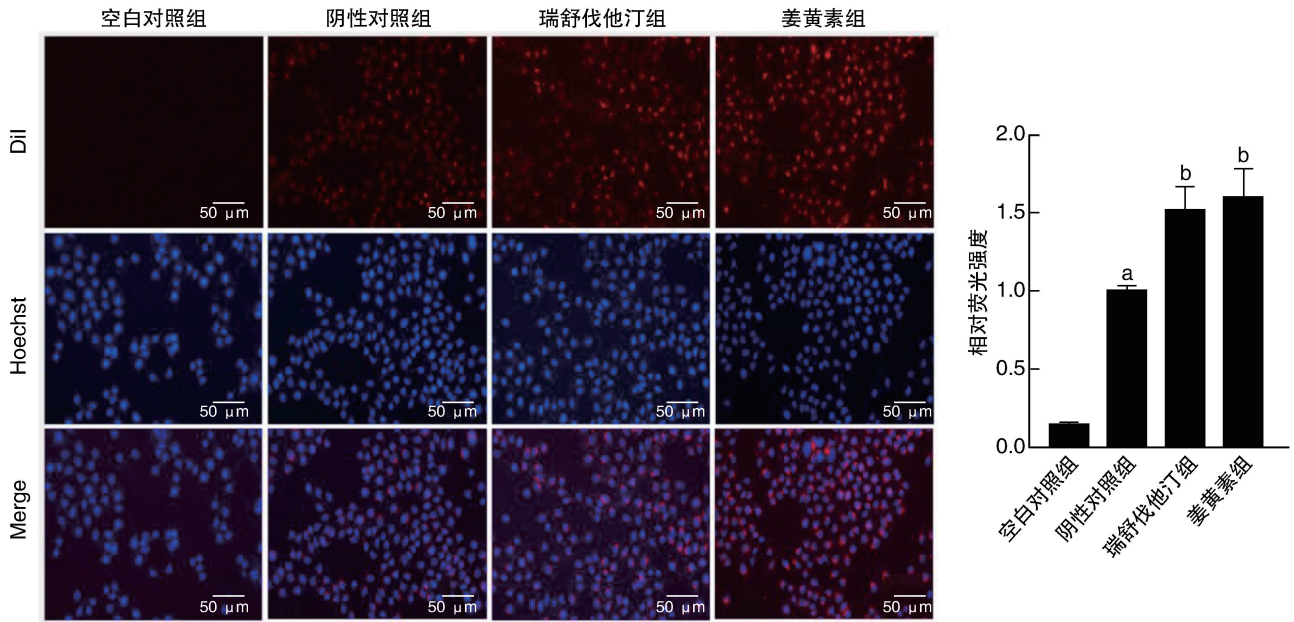


图 3. 姜黄素对 HepG2 细胞摄取 DiI-LDL 的影响( $n = 3$ )

a 为  $P < 0.05$ , 与空白对照组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与阴性对照组比较。

Figure 3. Effect of curcumin on DiI-LDL uptake in HepG2 cells ( $n = 3$ )

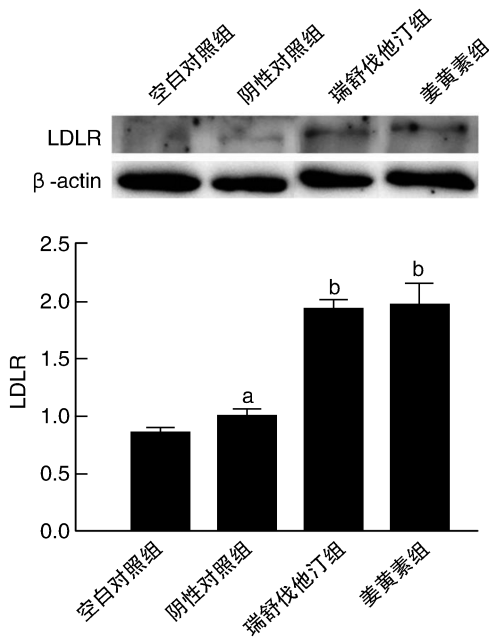


图 4. 姜黄素对 HepG2 细胞内 LDLR 蛋白表达的影响( $n = 3$ )

a 为  $P < 0.05$ , 与空白对照组比较;  
b 为  $P < 0.05$ , 与阴性对照组比较。

Figure 4. Effect of curcumin on the expression of LDLR protein in HepG2 cells ( $n = 3$ )

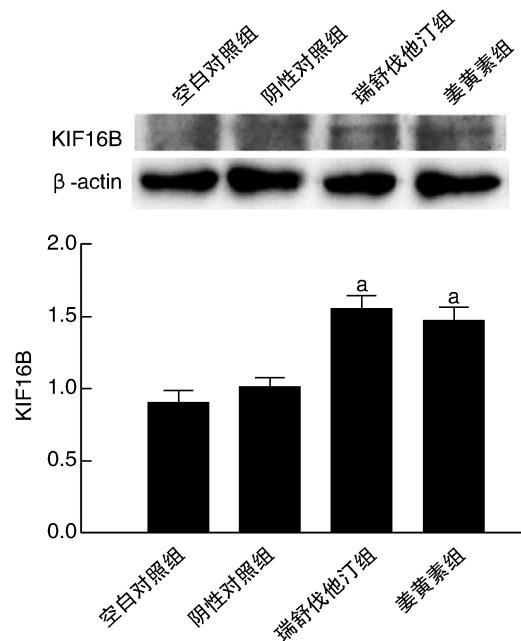


图 5. 姜黄素对 HepG2 细胞内 KIF16B 蛋白表达的影响( $n = 3$ )

a 为  $P < 0.05$ , 与阴性对照组比较。

Figure 5. Effect of curcumin on the expression of KIF16B protein in HepG2 cells ( $n = 3$ )

## 2.5 姜黄素增强 HepG2 细胞内 KIF16B 与 LDLR 共定位

利用激光共聚焦显微镜观察 HepG2 细胞内红色荧光标记的 KIF16B 和绿色荧光标记的 LDLR 的

共定位情况,结果显示,与阴性对照组相比,姜黄素组两种蛋白的荧光共定位(显示为黄色)系数显著升高( $P<0.05$ ;图 6),瑞舒伐他汀组无显著差异。

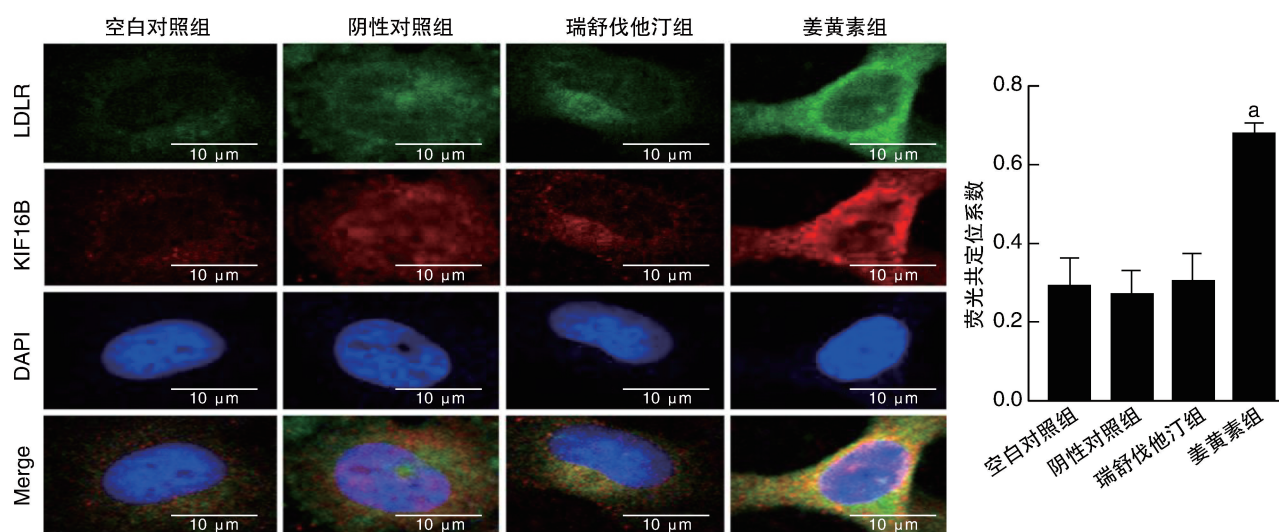


图 6. 姜黄素对 HepG2 细胞内 KIF16B 和 LDLR 荧光共定位的影响( $n=3$ )

a 为  $P<0.05$ , 与阴性对照组比较。

Figure 6. Effect of curcumin on KIF16B and LDLR fluorescence co-localization in HepG2 cells ( $n=3$ )

## 3 讨论

ASCVD 在全世界范围内具有高发病率和死亡率高死亡率,血浆 LDLC 的升高直接加速了疾病进程<sup>[8]</sup>。他汀类药物是控制 LDLC 升高的临床推荐药物,其通过促进肝脏对血浆 LDLC 的清除从而有效降低心血管疾病风险<sup>[9-10]</sup>。但由于有些患者无法耐受大剂量的他汀类药物所带来的不良反应(如肌肉相关病症和认知功能下降等)<sup>[11-12]</sup>,因此寻找新的降脂药物依然是防治 ASCVD 的研究重点之一。

源自于姜黄根茎的姜黄素(二氟甲酰甲烷)是一种多酚类化合物,研究表明姜黄素可降低血浆 LDLC 水平,并被认为是与促进 LDLR 表达有关,从而使得其成为抗动脉粥样硬化的潜在药物<sup>[13-15]</sup>。肝细胞表面的 LDLR 是介导肝外 LDLC 脂质摄取的主要受体,文献<sup>[6]</sup>表明肝细胞膜表面的 LDLR 表达量降低导致血浆 LDLC 水平升高和动脉粥样硬化加剧。KIF16B 作为微管相关的运动蛋白,担负着细胞内体(含有受体蛋白等货物分子)沿着微管网络从微管负端(靠近细胞核处)到微管正端(靠近细胞质膜)运输的作用<sup>[16-17]</sup>。那么,姜黄素促进肝细胞摄取 LDLC 的作用,是否与 KIF16B 与 LDLR 相互作用

的增强有关呢?

在本研究中,我们选用培养的 HepG2 细胞作为体外实验的细胞模型。采用 CCK8 法确定姜黄素在 25  $\mu\text{mol/L}$  的浓度下不会影响 HepG2 细胞生长。胆固醇含量检测结果表明,姜黄素作用下的细胞内总胆固醇和游离胆固醇含量增高。DiI-LDL 的摄取情况检测发现,姜黄素处理造成的肝细胞脂质含量增高与脂质摄取增多有关。肝细胞介导 LDLC 摄取的主要受体是 LDLR,而 KIF16B 被认为与膜受体蛋白的质膜靶向有关<sup>[6]</sup>。Western blot 检测显示,姜黄素作用后 HepG2 细胞内 LDLR 和 KIF16B 的蛋白表达升高。细胞免疫荧光实验结果显示,姜黄素作用后 KIF16B 与 LDLR 共定位增加,提示两种蛋白相互作用可能增强。以后,本课题组将进一步用过表达或敲除实验来验证 KIF16B 与 LDLR 的关系以及 KIF16B 在姜黄素影响肝细胞脂质代谢中的作用。

以上研究结果提示姜黄素可能通过升高 KIF16B 的蛋白表达,使肝细胞膜表面的 LDLR 分布增多,促进了肝细胞摄取 LDLC,为我们认识姜黄素降血脂的机制提供了新的见解。

### [参考文献]

[1] FERENC B A, GINSBERG H N, GRAHAM I, et al. Low-density

- lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel[J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(32): 2459-2472.
- [2] DESCAMPS O S, VERHAEGEN A, DEMEURE F, et al. Evolving concepts on the management of dyslipidaemia[J]. *Acta Clin Belg*, 2020, 75(1): 80-90.
- [3] 安宁, 邹德玲. 小而密低密度脂蛋白与冠心病的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2019, 27(7): 639-644.
- [4] ANTONELLA A, GAETANO-FELICE C, DOMENICO N, et al. NAFLD and atherosclerosis are prevented by a natural dietary supplement containing curcumin, silymarin, guggul, chlorogenic acid and inulin in mice fed a high-fat diet[J]. *Nutrients*, 2017, 9(5): 492.
- [5] 欧露, 张彩平, 刘英, 等. PCSK9 及 IDOL 在姜黄素促进 HepG2 细胞摄取 LDL-C 中的作用[J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(9): 1286-1291.
- [6] FEDOSEIENKO A, WIJERS M, WOLTERS J C, et al. The COMMD family regulates plasma LDL levels and attenuates atherosclerosis through stabilizing the CCC complex in endosomal LDLR trafficking [J]. *Circ Res*, 2018, 122(12): 1648-1660.
- [7] LI B J, CHEN H, JIANG S S, et al. PX domain-containing kinesin KIF16B and microtubule-dependent intracellular movements [J]. *J Membr Biol*, 2020, 253(2): 101-108.
- [8] WILKINS J T, GIDDING S S, ROBINSON J G. Can atherosclerosis be cured? [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2019, 30(6): 477-484.
- [9] ROSENBLIT P D. Lowering targeted atherogenic lipoprotein cholesterol goals for patients at "extreme" ASCVD risk[J]. *Curr Diabetes Rep*, 2019, 19(12): 146.
- [10] 王楚瑶, 蒋素素, 向德彪, 等. 姜黄素通过调节 PCSK9 促进肝细胞摄取血浆 LDL-C[J]. *中国药理学通报*, 2020, 36(10): 1415-1421.
- [11] SALEH Y, HERZALLAH K, HASSANEIN M, et al. Statin-induced necrotizing autoimmune myopathy: an uncommon complication of a commonly used medication [J]. *J Saudi Heart Assoc*, 2019, 31(4): 269-272.
- [12] VRABLIK M, CATAPANO A L, WIKLUND O, et al. Understanding the patient perception of statin experience: a qualitative study[J]. *Adv Ther*, 2019, 36(10): 2723-2743.
- [13] 刘艳, 罗培, 吴剑波. 具有 PCSK9 调控作用的天然产物研究进展[J]. *中草药*, 2019, 50(9): 2229-2234.
- [14] AHMED S, KHAN H, MIRZAEI H. Mechanisms insights of curcumin in myocardial ischemia: where are we standing? [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 183: 111658.
- [15] 黄科, 周瑶瑶. 姜黄素通过影响巨噬细胞的极性延缓动脉粥样硬化进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2019, 27(5): 386-390.
- [16] ATENA F, SHINSUKE N, YOSUKE T, et al. Characterizing KIF16B in neurons reveals a novel intramolecular "stalk inhibition" mechanism that regulates its capacity to potentiate the selective somatodendritic localization of early endosomes[J]. *J Neurosci*, 2015, 35(12): 5067-5086.
- [17] HOEPFNER S, SEVERIN F, CABEZAS A, et al. Modulation of receptor recycling and degradation by the endosomal kinesin KIF16B[J]. *Cell*, 2005, 121(3): 437-450.
- (此文编辑 曾学清)

(上接第 933 页)

- [70] LI C, LIU Z, XU Q, et al. PXDN reduces autophagic flux in insulin-resistant cardiomyocytes via modulating FoxO1[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(5): 418.
- [71] SHOU Z, ZHAO Y, ZHANG Y, et al. Risk factors for peripheral arterial disease in elderly patients with type-2 diabetes mellitus: a clinical study[J]. *Pak J Med Sci*, 2020, 36(6): 1344-1348.
- [72] COSTAS L, HERZ C T, HÖBAUS C, et al. Vascular peroxidase 1 is independently associated with worse kidney function in patients with peripheral artery disease[J]. *J Nephrol*, 2021, 34(1): 165-172.
- [73] SAKALIHASAN N, LIMET R, DEFAWE O D. Abdominal aortic aneurysm[J]. *Lancet*, 2005, 365(9470): 1577-1589.
- [74] PENG H, ZHANG K, LIU Z, et al. VPO1 modulates vascular smooth muscle cell phenotypic switch by activating extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2) in abdominal aortic aneurysms[J]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(17): e010069.
- [75] HANMER K L, MAVRI-DAMELIN D. Peroxidase is a novel target of the redox-sensitive transcription factor Nrf2 [J]. *Gene*, 2018, 674: 104-114.
- [76] SITOLE B N, MAVRI-DAMELIN D. Peroxidase is regulated by the epithelial-mesenchymal transition master transcription factor Snail [J]. *Gene*, 2018, 646: 195-202.
- [77] DOUGAN J, HAWSAWI O, BURTON L J, et al. Proteomics-Metabolomics combined approach identifies peroxidase as a protector against metabolic and oxidative stress in prostate cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(12): 3046.
- [78] ZHENG Y Z, LIANG L. High expression of PXDN is associated with poor prognosis and promotes proliferation, invasion as well as migration in ovarian cancer [J]. *Ann Diagn Pathol*, 2018, 34: 161-165.
- [79] BRIEM E, BUDKOVA Z, SIGURDARDOTTIR A K, et al. miR-203a is differentially expressed during branching morphogenesis and EMT in breast progenitor cells and is a repressor of peroxidase [J]. *Mech Dev*, 2019, 155: 34-47.
- [80] LI Y, JIAO Y, LUO Z, et al. High peroxidase-like expression is a potential and independent prognostic biomarker in breast cancer [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(44): e17703.
- [81] LLOYD M M, VAN REYK D M, DAVIES M J, et al. Hypothiocyanous acid is a more potent inducer of apoptosis and protein thiol depletion in murine macrophage cells than hypochlorous acid or hypobromous acid[J]. *Biochem J*, 2008, 414(2): 271-280.
- [82] LOVE D T, GUO C, NIKELSHPARG E I, et al. The role of the myeloperoxidase-derived oxidant hypothiocyanous acid (HOSCN) in the induction of mitochondrial dysfunction in macrophages [J]. *Redox Biol*, 2020, 36: 101602.
- (此文编辑 文玉珊)