

本文引用: 张金霞, 王玉涛, 孙 岩. 颈动脉粥样硬化差异基因筛选及小檗碱干预颈动脉粥样硬化机制的生物信息学研究[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(2): 117-124.

[文章编号] 1007-3949(2022)30-02-0117-08

• 实验研究 •

颈动脉粥样硬化差异基因筛选及小檗碱干预颈动脉粥样硬化机制的生物信息学研究

张金霞¹, 王玉涛², 孙 岩³

(1. 滨州市第二人民医院药学部, 山东省滨州市 256600; 2. 济南市中医医院周围血管病科, 山东省济南市 250012;
3. 山东第一医科大学附属省立医院血管外科, 山东省济南市 250021)

[关键词] 颈动脉粥样硬化; 小檗碱; 信号通路; 生物信息学

[摘要] **目的** 以生物信息学方法探讨颈动脉粥样硬化发病新的潜在机制, 挖掘小檗碱干预颈动脉粥样硬化的潜在靶点和途径。**方法** 检索获取美国国家生物技术信息中心基因表达综合数据库并获取颈动脉粥样硬化斑块基因表达芯片 GSE28829 数据集, 筛选样本差异表达基因数据并进行富集分析; 检索获取小檗碱的潜在作用靶点, 与颈动脉粥样硬化差异表达基因取交集, 获得小檗碱干预颈动脉粥样硬化的潜在靶点, 进行富集分析并筛选核心靶点。**结果** 共筛选获得颈动脉粥样硬化差异表达基因 174 个, 涉及趋化因子、核因子 κ B、Toll 样受体、脂肪酸降解等信号通路。筛选获得小檗碱干预颈动脉粥样硬化的潜在靶点 5 个, 涉及流体剪切力与动脉硬化、白细胞介素 17、肿瘤坏死因子等信号通路, 经拓扑及富集分析, CCL2、HMOX1 和 MMP-9 可能是小檗碱干预颈动脉粥样硬化的核心靶点。**结论** 颈动脉粥样硬化差异表达基因主要富集于炎症反应、脂质代谢等信号通路; 小檗碱可能通过介导 CCL2、HMOX1、MMP-9 等靶点调控流体剪切力、白细胞介素 17、肿瘤坏死因子等信号通路而干预颈动脉粥样硬化。

[中图分类号] R363; R5

[文献标识码] A

The bioinformatics research of differentia gene expression in carotid atherosclerosis and potential mechanism of berberine intervening carotid atherosclerosis

ZHANG Jinxia¹, WANG Yutao², SUN Yan³

(1. Department of Pharmacy, the Second People's Hospital of Binzhou, Binzhou, Shandong 256600, China; 2. Department of Peripheral Vascular Disease, Jinan Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jinan, Shandong 250012, China; 3. Department of Vascular Surgery, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong First Medical University, Jinan, Shandong 250021, China)

[KEY WORDS] carotid atherosclerosis; berberine; signaling pathway; bioinformatics

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the new potential mechanisms of carotid atherosclerosis pathogenesis and explore the potential targets and pathways of berberine intervention in carotid atherosclerosis by bioinformatic research. **Methods** The study searched the Gene Expression Omnibus database of the National Center for Biotechnology Information (NCBI) and obtained the GSE28829 datasets of carotid atherosclerosis plaque gene expression microarray, screened the sample differentially expressed gene data for enrichment analysis. The potential targets of berberine were searched and obtained to be intersected with the differentially expressed genes of carotid atherosclerosis in order to obtain the potential targets of berberine intervention in carotid atherosclerosis. Enrichment analysis was performed and the core targets were screened.

Results A total of 174 differentially expressed genes in carotid atherosclerosis were screened, involving chemokines, nuclear factor kappa B, Toll-like receptors, fatty acid degradation and other signaling pathways. Five potential targets of

[收稿日期] 2021-04-07

[修回日期] 2021-09-01

[基金项目] 山东省中医药科技发展计划(2019-0303); 山东省医药卫生科技发展计划(2018WS478, 2018WS273); 济南市第二届优秀卫生计生人才培养项目(济卫科外发[2018]8号); 济南市第三批“薪火传承 231 工程”培养项目(济中医药发[2017]11号); 济南市卫生健康系统青年岗位能手培养项目(济卫发[2019]1号); 济南市卫生健康委员会科技计划项目(2019-1-23)

[作者简介] 张金霞, 主管药师, 主要从事临床药学工作, E-mail 为 medwang@yeah.net。通信作者孙岩, 博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事血管外科疾病诊治工作, E-mail 为 sdxueguan@163.com。

berberine in carotid atherosclerosis were screened, involving fluid shear and atherosclerosis, interleukin-17, tumor necrosis factor and other signaling pathways. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1/CCL2), heme oxygenase 1 (HO-1/HMOX1) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) were identified as the core targets of berberine intervening carotid atherosclerosis by topology and enrichment analysis. **Conclusions** Differentially expressed genes in carotid atherosclerosis are mainly enriched in signaling pathways such as inflammatory response and lipid metabolism; berberine may intervene in carotid atherosclerosis by mediating targets such as CCL2, HMOX1, MMP-9, and regulating fluid shear and atherosclerosis, interleukin-17, and tumor necrosis factor and other signaling pathways.

据统计,美国20岁以上人群中每年约有760万人发生中风^[1],约有20%的中风事件与颈动脉粥样硬化(carotid atherosclerosis, CAS)相关^[2]。CAS通常发生在颈内和颈外动脉的分叉处,部分患者通常没有明显症状,直到发生致残性或致命性中风后才明确CAS发病^[3]。Framingham心脏病研究发现,颈动脉狭窄率超过25%被认为与脑微量出血相关^[4]。CAS危害巨大,但其发病机制尚未完全明确。

在过去的20多年时间里,他汀类、抗血小板、血管紧张素转换酶抑制剂等药物的应用降低了无症状CAS发生中风的风险,但CAS相关的不良事件仍有发生^[5]。能够抑制CAS病情进展的药物有待研发。小檗碱(berberine, BBR)是广泛存在于黄连、黄柏等中药中的一种生物碱,近年来,小檗碱治疗动脉粥样硬化性疾病的研究逐步开展^[6-8],但其具体机制仍有待于进一步挖掘。

本研究利用生物信息学方法探索CAS发生发展新的潜在机制,并利用网络药理学思路预测BBR干预CAS的途径,为CAS的防治提供新的思路。

1 材料和方法

1.1 CAS 差异表达基因筛选

在美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)的基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)中检索获取颈动脉粥样硬化斑块基因表达芯片数据。下载GSE28829数据集,该数据集包含16例晚期颈动脉粥样硬化斑块(advanced carotid atherosclerosis plaque, ACASP)和13例早期颈动脉粥样硬化斑块(early carotid atherosclerosis plaque, ECASP)的基因表达数据,实验平台为Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array(美国昂飞)。利用R语言软件中的“limma”和“pheatmap”对GSE28829数据集进行标准化处理,以 $P < 0.05$ 、 $|\text{fold change}| \geq 2$ 为条件进行差异表达基因筛选和聚类分析。

1.2 CAS 差异表达基因富集分析

以 $P < 0.05$ 为条件,利用R语言“Cluster Profiler”

数据包对筛选得到的CAS差异表达基因进行信号通路富集分析,并将富集结果可视化。

1.3 BBR 作用靶点的筛选

以“berberine”为关键词检索比较遗传毒理学数据库(Comparative Toxicogenomics Database, CTD)和基因卡片(GeneCards)人类基因数据库,合并去重后,获取BBR潜在的作用靶点^[9-10]。

1.4 BBR 干预 CAS 的潜在靶点筛选和蛋白质相互作用网络的构建

将检索获取的BBR潜在作用靶点和CAS差异表达基因取交集,获得的靶点即为BBR干预CAS的潜在靶点筛选,绘制韦恩图。使用STRING数据库(<https://string-db.org>)“Multiple Proteins”功能,设定物种为“智人”(Homo Sapiens),将BBR干预CAS的潜在靶点导入系统检索,设定评分分值 > 0.4 ,构建蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络。以网络节点度值为参考,利用Cytoscape 3.7.2软件(<http://www.cytoscape.org>)中的cytoHubba插件筛选PPI网络中的核心靶点^[11]。

1.5 BBR 干预 CAS 潜在靶点的信号通路富集分析和“成分-靶点-疾病-通路”网络构建

以 $P < 0.05$ 为条件,利用R语言“Cluster Profiler”数据包对BBR干预CAS的潜在靶点进行信号通路富集分析,并将富集结果可视化。使用Cytoscape 3.7.2软件构建BBR干预CAS的“成分-靶点-疾病-通路”网络。网络中的节点代表BBR、CAS、潜在靶点和信号通路;边代表成分-靶点、疾病-靶点、靶点-通路之间的连接。整个网络构建并展示了BBR干预CAS的“成分-靶点-疾病-通路”的联系。

2 结果

2.1 CAS 差异表达基因

经筛选,ACASP和ECASP的基因表达存在显著差异。与ECASP相比,ACASP存在174个差异基因,其中上调基因148个,下调基因26个。经数据标准化和聚类分析,绘制数据标准化后箱线图、差异基因表达火山图和热图(表1和图1)。

表 1. CAS 差异表达基因
Table 1. Differentially expressed genes of CAS

表达水平	基因名称						
上调	ADAP2	VAMP8	CD68	SLAMF8	CTSB	C3AR1	LAIR1
	CTSS	CTSC	LAPTM5	APOE	TYROBP	GMFG	CORO1A
	FCGR2B	GIMAP2	CPVL	BCAT1	IER3	MARCO	CD83
	ARL4C	FCER1G	C15ORF48	CXCR4	LY96	CAPG	IL10RA
	ADRA2A	TNFAIP3	HLA-DPA1	SGK1	NEURL1B	CHI3L2	LXN
	F13A1	SLC18B1	HP	VCAM1	GPR34	RGS1	CXCL14
	FERMT3	CD14	FCGR1B	ITGB2	FCGBP	C1QB	CCR1
	ARL4A	LY86	HLA-DRB1	CCL18	NPL	CRYBG1	HLA-DMA
	HLA-DRB5	VSIG4	SPP1	MS4A4A	MARCKS	LCP1	MS4A6A
	TREM1	GIMAP6	CD86	MS4A7	EVI2A	CXCL16	RNASE6
	MMP9	CYTIP	C4B	HS3ST2	BCL2A1	KCNT2	CCL8
	MRC1	MMP12	POU2AF1	GPR183	CD163	MMRN1	CFI
	IFI30	ACP5	HLA-DRA	MPEG1	IGLL5	SLC31A2	HLA-DMB
	FABP5	CSF1R	RARRES1	HMOX1	HLA-DQA1	ADORA3	THEMIS2
	PLTP	CCL4	PLA2G7	COLEC12	PLCXD3	ABRACL	C1QA
	TMEM176A	CCL19	FBP1	SNX10	ZNF521	C5AR1	RAC2
	RRM2	MXRA5	FPR3	CCL2	CLEC5A	PYCARD	NCF2
	P2RX7	HCK	CSF2RB	ALOX5AP	EVI2B	HTR2B	GIMAP4
	CHI3L1	GIMAP7	AQP9	LYZ	ADAMDEC1	CCL3	EPB41L3
	CD52	TLR2	JCHAIN	MYO1F	TNFSF13B	CYP11B1	IL7R
	LGMN	HCLS1	FCGR3A	C1QC	PLA2G2A	SLC16A6	IRF8
	PLEK						
下调	BTC	TMEM35A	ANGPTL1	CNTN4	SH3BGR	ATP1A2	ACADL
	AMIGO2	CNN1	PCDHB16	TOX2	SYNC	LGR6	PNMA8A
	MYOCD	CCDC146	TIMP4	ITLN1	TPH1	ST6GAL2	BAMBI
	PLD5	CASQ2	NEXN	KCNK17	REEP1		

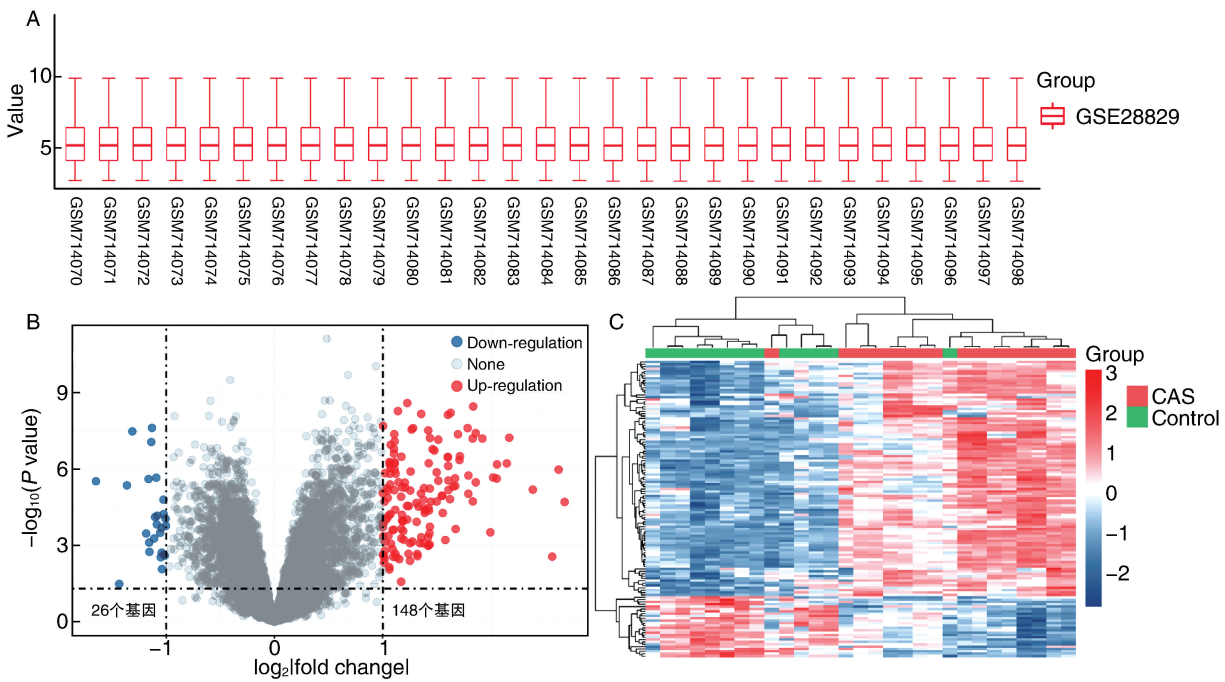


图 1. CAS 基因差异表达

A 为数据标准化后箱线图;B 为使用 Fold change 和校正后 P 值绘制火山图;图中的红点表示显著差异上调的基因, 蓝点表示显著差异下调基因;C 为差异基因表达热图;不同颜色代表在不同组织中的表达趋势,红色代表上调,蓝色代表下调。

Figure 1. Differential expression genes of CAS

2.2 CAS 差异表达基因富集分析

利用 R 语言“Cluster Profiler”数据包对筛选得到的 CAS 差异表达基因进行信号通路富集分析。结果显示,CAS 上调基因显著富集在趋化因子信号

通路、核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路、Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 信号通路等信号通路上;CAS 下调基因显著富集在脂肪酸降解等信号通路上(图 2 和图 3)。

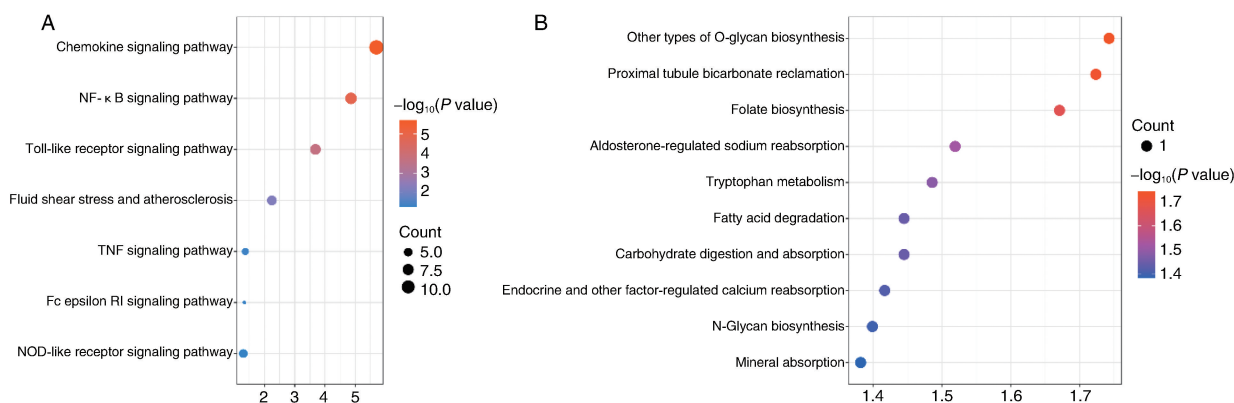


图 2. CAS 差异表达基因信号通路富集分析

A 为 CAS 上调基因,B 为 CAS 下调基因。

Figure 2. Enrichment analysis of CAS differentially expressed gene signal pathway

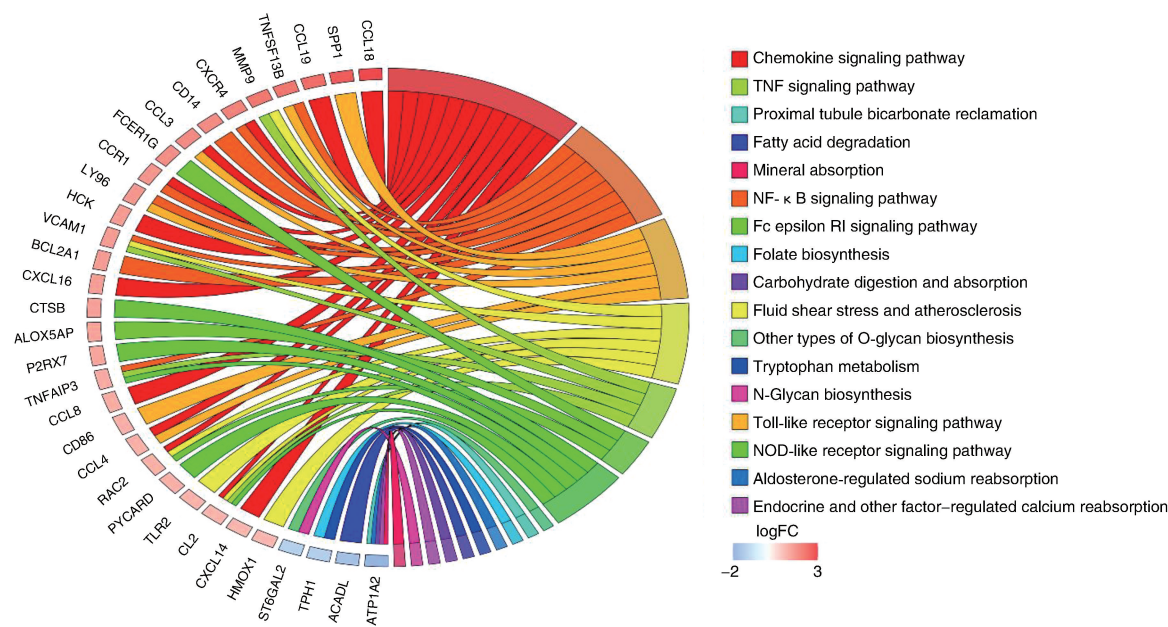


图 3. CAS 差异表达基因信号通路富集弦图

左侧为差异表达基因:按照差异表达倍数由高至低排序,粉色模块为上调表达基因,蓝色模块为下调表达基因;右侧为差异表达基因富集的信号通路。

Figure 3. Chord diagram of signaling pathway enrichment analysis of CAS differentially expressed genes

2.3 BBR 作用靶点的筛选

以“berberine”为关键词检索比较遗传毒理学数据库(Comparative Toxicogenomics Database, CTD)和基因卡片(Genecards)人类基因数据库,合并去重后,获得 BBR 潜在的作用靶点 254 个(表 2)。

2.4 BBR 干预 CAS 的潜在靶点筛选和 PPI 网络的构建

将 BBR 潜在作用靶点和 CAS 差异表达基因取交集,绘制韦恩图,构建 PPI 网络并筛选核心靶点。结果显示,BBR 潜在作用靶点与 CAS 上调差异表达基因存在 5 个共同基因,而与 CAS 下调差异表达基

因无交集,表明 BBR 可能是通过下调相关基因的表达干预 CAS 发病,单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1/CCL2)、血红素加氧酶 1 (heme oxygenase-1, HO-1/HMOX1) 和基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 可能是 BBR 干预 CAS 的核心靶点(图 4)。

表 2. BBR 作用靶点
Table 2. Targets of BBR

数据库	作用靶点							
CTD	HGF	RLN1	NR1I2	COL1A1	HIST1H2AH	HIST1H4B	MIR92A1	SETDB1
	CD36	SI	ODC1	COL2A1	HIST1H2AJ	HIST1H4C	MMP13	SETDB2
	CEBPB	ADIPOQ	PRKCA	CPT1A	HIST1H2AK	HIST1H4H	MPO	
	CEBPA	BBC3	SHC1	CREBBP	HIST1H2AM	HIST1H4I	MTTP	
	CYP2E1	BCL2L11	SLC6A19	CYP17A1	HIST1H2BC	HIST2H2AA3	NSD2	
	CYP3A11	CCNT1	SOD2	DNMT1	HIST1H2BD	HIST2H4A	OMD	
	FABP4	CDK9	TOP2A	DNMT3B	HIST1H2BE	HIST3H2A	PPARA	
	STAR	CYBA	TRAF2	DRD2	HIST1H2BF	HIST3H3	PPARGC1A	
	ABCB1A	EDN1	ACADM	DZIP3	HIST1H2BG	HNF4	PRG4	
	ABCB1B	EDNRA	ACAN	EIF4EBP1	HIST1H2BH	IFNG	PRL	
	DKK1	FASLG	ACOX1	FSHB	HIST1H2BJ	IL2	PRMT1	
	EIF2AK3	FOXO1	ACTA2	GDF5	HIST1H2BK	ITGA1	PRMT2	
Genecards	H2AFX	GJA1	AKT2	GPX1	HIST1H2BL	KAT	PRMT5	UCP2
	CYP2B10	GSR	ALB	H2BFM	HIST1H2BM	KDM1A	PRMT6	VEGFC
	CYP2B9	HDAC9	AURKB	H3F3A	HIST1H2BN	KDM4A	PRMT7	PTGS1
	CYP4A10	HTR1A	AURKC	HAT1	HIST1H2BO	KDM5B	PRMT8	ESR1
	CYP4A14	IGF1R	CCND2	HDAC2	HIST1H3A	KDM6A	RBP4	AR
	GPT	IL23A	CCNE1	HDAC5	HIST1H3B	KDM6B	RPS6	SCN5A
	GSK3B	IL4	CDH2	HDAC8	HIST1H3D	KMT5A	SETD1B	RXRA
	HMOX1	MAPK3	CDKN1B	HIST1H2AB	HIST1H3F	LHB	SETD2	ADRB2
	IL10	MMP14	CDKN1C	HIST1H2AC	HIST1H3G	MAPT	SETD3	PRSS1
	NAMPT	NCF1	CHEK1	HIST1H2AE	HIST1H3H	MCM2	SETD5	NCOA2
	PRKCE	NGF	COL10A1	HIST1H2AG	HIST1H3J	MIR19A	SETD6	PDE10A
	SIRT2	SLC27A5	SMYD3	SOX9	SP7	SPARC	TERT	TRAF1
	UBE2A	UBE2B						
CTD & Genecards	LDLR	BCL2	MMP-2	IL-6	CYBB	NOS3	TLR4	FN1
	BCL2L1	CYCS	PRKAA1	SIRT1	HSPA5	RUNX2	MAP3K5	FOS
	CCND1	TNF	JUN	AHR	DDIT3	SIRT3	P2RX7	FAS
	CDK4	TP53	NFKBIA	CYP1A1	HNF4A	SPP1	SREBF1	CAT
	SLC2A4	AKT1	PPARG	TGFB1	PTGS2	BGLAP	CYP1A2	SETD7
	CASP8	CCL2	MAPK1	BAX	KCNH2	TOP1	DRD1	APP
	CDK6	IL-1B	PARP1	CDKN1A	NFE2L2	ACHE	CHEK2	CYP3A4
	CDK2	CASP3	MMP-9	PTEN	FOXO3	MYC	CTNNB1	
	BIRC5	CXCL8	NOS2	CASP9	EP300	RELA	SOD1	

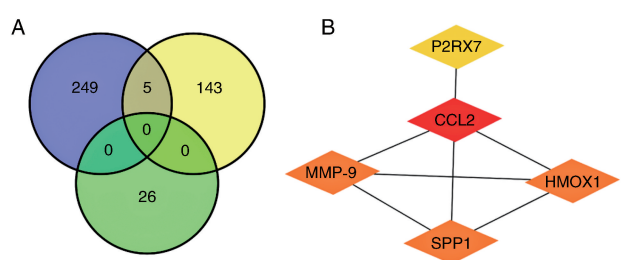


图 4. BBR 干预 CAS 的潜在靶点筛选

A 为 BBR 与 CAS 差异表达基因交集韦恩图;蓝色模块代表 BBR 作用靶点,黄色模块代表差异表达上调基因,绿色模块代表差异表达下调基因;B 为 BBR 干预 CAS 潜在靶点筛选的 PPI 网络:颜色越深,代表网络节点度值越高,在网络中处于核心地位。

Figure 4. Screening of potential targets of BBR intervening CAS

2.5 BBR 干预 CAS 潜在靶点的信号通路富集分析和“成分-靶点-疾病-通路”网络构建

以 $P < 0.05$ 为条件,利用 R 语言“Cluster Profiler”数据包对 BBR 干预 CAS 的潜在靶点进行信号通路富集分析,构建 BBR 干预 CAS 的“成分-靶点-疾病-通路”网络。结果表明,BBR 可能通过介导 CCL2、HMOX1、MMP-9 等基因调控流体剪切力以及白细胞介素 17 (interleukin-17, IL-17)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 等信号通路发挥干预 CAS 的作用(图 5)。

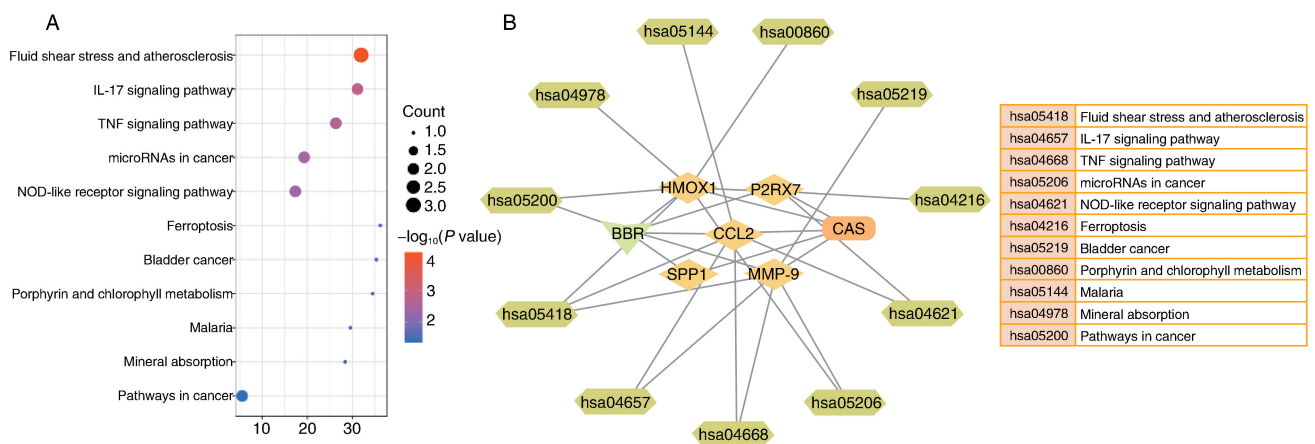


图 5. BBR 干预 CAS 潜在靶点富集的信号通路 (图 A) 和“成分-靶点-疾病-通路”网络 (图 B)

图 A 中点的大小代表富集到该通路的基因数,按照 P 值由小到大的顺序排列;图 B 中菱形代表 BBR 干预 CAS 的潜在靶点,六边形代表富集的信号通路,连线代表成分、靶点、疾病、通路之间的联系。

Figure 5. Signaling pathway enrichment analysis of potential targets of BBR intervening CAS (Figure A) and network of “component-target-disease-pathway” of BBR intervening CAS (Figure B)

3 讨论

3.1 CAS 差异基因表达富集

经筛选,ACASP 和 ECASP 的基因表达存在显著差异。与 ECASP 相比,ACASP 存在 174 个差异基因,其中上调基因 148 个,下调基因 26 个。上调差异基因显著富集于趋化因子信号通路、NF- κ B 信号通路、TLR 信号通路等信号通路上;下调基因显著富集在脂肪酸降解等信号通路上。

血小板黏附参与动脉粥样硬化发病,黏附过程中,血小板释放过多的促炎趋化因子,这些趋化因子吸引循环中的白细胞,有利于白细胞向血管壁募集,活化的血小板释放的炎性介质可诱发血管炎症反应,促进巨噬细胞对氧化型低密度脂蛋白的摄取,诱导泡沫细胞形成和动脉粥样硬化斑块发展^[12]。

NF- κ B 是经典的炎性反应通路,与动脉粥样硬化发病关系密切。Wang 等^[13]研究发现,尼古丁可以调控 nAChRs/ROS/NF- κ B 信号通路,诱导 ApoE 基因敲除小鼠主动脉血管平滑肌细胞自噬,提升其迁移能力,加速动脉粥样硬化进程。Liu 等^[14]研究证实,高脂饮食可显著诱导 ApoE 基因敲除小鼠主动脉粥样硬化斑块形成,模型小鼠 NF- κ B p65、增殖细胞核抗原等蛋白水平升高,提示 NF- κ B 参与动脉粥样硬化发病。刘孟楠等^[15]研究发现,CAS 家兔模型颈动脉组织中磷酸化 NF- κ B、NLRP3 表达显著升高,蛭龙活血通瘀胶囊可以抑制颈动脉病变组织 NF- κ B 的磷酸化和 NLRP3 的表达,表明磷酸化 NF- κ B 和 NLRP3 炎症小体参与了 CAS 的发展过程。目前,NF- κ B 信号通路与 CAS 相关性研究较少,NF-

κ B 信号通路在 CAS 病变过程中的调控作用尚未完全明确,其具体机制有待于进一步探索。

TLR 在人类血管平滑肌中大量表达,诱导动脉粥样硬化斑块中免疫细胞募集^[16]。同时,TLR 在动脉粥样硬化斑块中的表达显著上调,加速动脉管壁的胆固醇沉积和巨噬细胞募集,促进动脉粥样硬化斑块的形成^[17]。研究表明,由 TLR 配体诱导表达的粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子的缺乏可以导致胆固醇积累和泡沫细胞形成^[18]。

脂质代谢与动脉粥样硬化病理过程关系密切。研究发现,Omega-3 脂肪酸可介导炎症的消退,在动脉粥样硬化和血管损伤的炎症反应中,可以通过刺激内源性炎症消融的途径来促进抗动脉粥样硬化的信号传导^[19]。另有研究证实,脂肪酸 β 氧化过程被抑制后,氧化型低密度脂蛋白的吸收增强,加速了泡沫细胞的形成,这表明,巨噬细胞脂肪酸 β 氧化具有动脉粥样硬化保护作用^[20]。

3.2 BBR 干预 CAS 核心靶点和信号通路

BBR 广泛存在于小檗科植物中,具有抗菌、抗炎等多种药理作用,研究表明,BBR 能够逆转氧化型低密度脂蛋白诱导的细胞功能失调,抑制巨噬细胞中基质金属蛋白酶的表达,发挥稳定动脉粥样硬化斑块的作用,是抗动脉粥样硬化的潜在候选药物^[21]。本研究利用生物信息学和网络药理学思路研究表明,BBR 可以通过多靶点、多途径干预 CAS 发病。拓扑分析表明,CCL2、HMOX1 和 MMP-9 是 BBR 干预 CAS 发病的关键靶点;BBR 干预 CAS 的关键靶点富集于流体剪切力与动脉硬化、IL-17、TNF 等信号通路,这些通路可能是 BBR 发挥干预 CAS 作用的关键途径。

CCL2 是重要的炎症趋化因子,广泛参与动脉粥样硬化病理过程。一项纳入 21 401 例患者的荟萃分析发现,较高的 MCP-1 水平与冠心病、非致命性心肌梗死和心血管死亡的风险增加相关,表明循环 MCP-1 水平能够预测远期的心血管事件^[22]。内皮细胞、血管平滑肌细胞和巨噬细胞参与动脉粥样硬化发病^[23]。巨噬细胞摄取氧化型低密度脂蛋白后,可形成富含脂质的泡沫细胞,产生多种促炎细胞因子,如基质金属蛋白酶、MCP-1、TNF- α 等,诱导血管平滑肌细胞迁移到动脉内膜,增殖并产生纤维组织,形成斑块,同时,激活的血管平滑肌细胞还可以产生促炎细胞因子和吞噬脂蛋白,参与动脉粥样硬化斑块形成^[24]。

HMOX1 是血红素分解代谢过程中一种重要的酶。有证据表明,血红素可以直接作用于主动脉平滑肌细胞的内质网,这可能与动脉粥样硬化的发病有关^[25]。此外,血红素易与低密度脂蛋白结合,动脉内皮中的低密度脂蛋白颗粒暴露、氧化,可以募集巨噬细胞,诱导泡沫细胞形成;氧化型低密度脂蛋白可促进血红素的降解,对动脉内皮细胞、血管平滑肌细胞和巨噬细胞等有毒性作用,参与动脉粥样硬化发病^[26]。近年来,铁死亡已被证实参与动脉粥样硬化发病过程^[27-28],HMOX1 是铁死亡进程中的重要调控基因^[29],提示铁死亡可能是 CAS 发病的潜在机制,HMOX1 可能是 CAS 的潜在标志物。

基质金属蛋白酶(MMP)是细胞外基质降解和重构的重要介质。一方面,MMP 可通过降解血管壁基底膜和细胞外基质,诱发斑块破裂,继发血栓形成;另一方面,MMP 促进平滑肌细胞和成纤维细胞的增殖和迁移,影响斑块的稳定性^[30]。MMP 广泛参与动脉粥样硬化病变过程,其中 MMP-9 在颈动脉粥样硬化斑块中的表达最为广泛^[31-32]。

血管内的流体剪切力,即血液流动产生的摩擦力。低剪切应力可下调内皮细胞中抗动脉粥样硬化相关基因的表达,上调 NF- κ B、MCP-1 等炎症基因的表达,促使动脉粥样硬化发生发展^[33]。Zhou 等^[34]应用超声粒子成像测速仪和流体力学测算等方法对三种狭窄程度的斑块模型进行了血流动力学切应力分析,结果表明,管腔狭窄程度对流体剪切力的分布有显著影响,斑块剪切力较强的部位与斑块破裂好发部位相同,提示流体剪切力可影响动脉粥样硬化斑块的稳定性。

IL-17 也称为 IL-17A,是由辅助性 T 细胞 17 产生的,与动脉粥样硬化的关系有待进一步确认。它可促进 NF- κ B 信号通路表达促炎因子,敲除 IL-17A 及其受体,可减轻动脉粥样硬化的病变程度^[35]。

Pietrowski 等^[36]研究发现,IL-17 可以诱导血管平滑肌细胞表达 IL-6、CXCL8 和 CXCL10 等促炎因子,参与动脉粥样硬化的发病。而另有研究证实,IL-17A 可通过抑制血管细胞黏附分子 1 的表达发挥稳定小鼠动脉粥样硬化斑块的作用^[37]。已有研究证实,血清 IL-17 和 IL-18 水平可作为 CAS 诊断的标志物^[38],另有研究表明,CAS 患者和 CAS 模型大鼠血清 IL-17 水平显著高于正常对照组,抑制 IL-17 的表达可降低 CAS 模型大鼠血清总胆固醇和甘油三酯水平^[39]。上述研究证实了 IL-17 与 CAS 的相关性,但 IL-17 信号通路在 CAS 病变过程中具体的调控机制尚不明确,可能是干预 CAS 重要的途径之一。

动脉粥样硬化斑块中 TNF- α 呈高表达^[40]。抑制 TNF- α 的表达可保护内皮细胞^[41]。研究证实,在动脉粥样硬化发展过程中,树突状细胞逐渐成熟,数量急剧增加,参与动脉粥样硬化的整个病理过程^[42-43]。树突状细胞可产生多种促炎细胞因子,包括 TNF- α 、IL-6 和 IL-12 等,TNF- α 可以激活 NF- κ B 信号通路损伤内皮细胞,参与动脉粥样硬化发病^[44]。

综上所述,CAS 发病过程中基因表达存在显著差异,其病理过程与趋化因子信号通路、NF- κ B 信号通路、TLR 信号通路、脂肪酸降解等通路相关。BBR 可能通过干预 CCL2、HMOX1、MMP-9 等关键靶点,调控流体剪切力以及 IL-17、TNF 等信号通路发挥干预 CAS 的作用。

[参考文献]

- [1] VIRANI S S, ALONSO A, APARICIO H J, et al. Heart disease and stroke statistics-2021 update: a report from the American heart association[J]. *Circulation*, 2021, 143(8): e254-e743.
- [2] DIAO Z, JIA G, WU W, et al. Carotid endarterectomy versus carotid angioplasty for stroke prevention: a systematic review and Meta-analysis[J]. *J Cardiothorac Surg*, 2016, 11(1): 142.
- [3] SARDAR P, CHATTERJEE S, ARONOW H D, et al. Carotid artery stenting versus endarterectomy for stroke prevention: a Meta-analysis of clinical trials[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2017, 69(18): 2266-2275.
- [4] ROMERO J R, PREIS S R, BEISER A, et al. Carotid atherosclerosis and cerebral microbleeds: the framingham heart study[J]. *J Am Heart Assoc*, 2016, 5(3): e002377.
- [5] MUSIALEK P, HOPF-JENSEN S. Commentary: carotid artery revascularization for stroke prevention: a new era[J]. *J Endovasc Ther*, 2017, 24(1): 138-148.
- [6] 朱昌国, 李 帅, 孙艳君, 等. 小檗碱调控 PI3K/Akt 信号通路干预糖尿病动脉硬化的实验研究[J]. *河北医学*, 2020, 26(12): 1937-1942.
- [7] 王玉涛, 庞 雪, 李安举. 小檗碱干预下肢动脉硬化闭塞症的网路药理学研究[J]. *现代中西医结合杂志*, 2020, 29(25): 2793-2796, 2823.
- [8] 柴美静, 王 欢, 李 迎, 等. 小檗碱对脑梗死患者颈动脉粥样硬化斑块稳定性及血清基质金属蛋白酶-9 和氧化低密度脂蛋白

- 的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2017, 27(5): 47-53.
- [9] DAVIS A P, WIEGERS T C, WIEGERS J, et al. CTD anatomy: analyzing chemical-induced phenotypes and exposures from an anatomical perspective, with implications for environmental health studies[J]. *Curr Res Toxicol*, 2021, 2: 128-139.
- [10] STELZER G, ROSEN N, PLASCHKES I, et al. The GeneCards suite: from gene data mining to disease genome sequence analyses [J]. *CurrProtoc Bioinformatics*, 2016, 54(30): 1.30.1-1.30.33.
- [11] CHIN C H, CHEN S H, WU H H, et al. cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome[J]. *BMC Syst Biol*, 2014, 8(4): S11.
- [12] BAKOGIANNIS C, SACHSE M, STAMATELOPOULOS K, et al. Platelet-derived chemokines in inflammation and atherosclerosis [J]. *Cytokine*, 2019, 122: 154157.
- [13] WANG Z, LIU B, ZHU J, et al. Nicotine-mediated autophagy of vascular smooth muscle cell accelerates atherosclerosis via nAChRs/ROS/NF- κ B signaling pathway [J]. *Atherosclerosis*, 2019, 284: 1-10.
- [14] LIU H, XIONG W, LUO Y, et al. Adipokine chemerin stimulates progression of atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice [J]. *Biomed Res Int*, 2019: 7157865.
- [15] 刘孟楠, 罗钢, 刘平, 等. 蛭龙活血通瘀胶囊对家兔颈动脉粥样硬化斑块组织 p-NF- κ B、NLRP3 表达的影响[J]. *西部中医药*, 2021, 34(3): 25-29.
- [16] XIE X, SHI X, LIU M. The roles of TLR gene polymorphisms in atherosclerosis: a systematic review and Meta-analysis of 35 317 subjects[J]. *Scand J Immunol*, 2017, 86(1): 50-58.
- [17] MA J, LI H. The role of gut microbiota in atherosclerosis and hypertension[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1082.
- [18] PULAKAZHIVENU V K, ADIJANG A, SEIBERT T, et al. Heat shock protein 27-derived atheroprotection involves reverse cholesterol transport that is dependent on GM-CSF to maintain ABCA1 and ABCG1 expression in ApoE^{-/-} mice [J]. *FASEB J*, 2017, 31(6): 2364-2379.
- [19] CARRACEDO M, ARTIACH G, ARNARDOTTIR H, et al. The resolution of inflammation through omega-3 fatty acids in atherosclerosis, intimal hyperplasia, and vascular calcification [J]. *Semin Immunopathol*, 2019, 41(6): 757-766.
- [20] NOMURA M, LIU J, YU Z X, et al. Macrophage fatty acid oxidation inhibits atherosclerosis progression [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 127: 270-276.
- [21] 马春艳, 徐瑞霞, 姚雨宏, 等. 小檗碱抑制氧化型低密度脂蛋白诱导的人脐静脉内皮细胞增殖及其分子机制[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(2): 144-151.
- [22] GEORGAKIS M K, DE LEMOS J A, AYERS C, et al. Association of circulating monocyte chemoattractant protein-1 levels with cardiovascular mortality: a Meta-analysis of population-based studies[J]. *JAMA Cardiol*, 2021, 6(5): 587-592.
- [23] GLEISSNER C A. Translational atherosclerosis research: From experimental models to coronary artery disease in humans[J]. *Atherosclerosis*, 2016, 248: 110-116.
- [24] HUANG C, HU Y W, ZHAO J J, et al. Long noncoding RNA HOXC-AS1 suppresses ox-LDL-induced cholesterol accumulation through promoting HOXC6 expression in THP-1 macrophages[J]. *DNA Cell Biol*, 2016, 35(11): 722-729.
- [25] GÁLL T, PETHŐ D, NAGY A, et al. Heme induces endoplasmic reticulum stress (HER stress) in human aortic smooth muscle cells[J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1595.
- [26] GÁLL T, BALLA G, BALLA J. Heme, heme oxygenase, and endoplasmic reticulum stress-A new insight into the pathophysiology of vascular diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(15): 3675.
- [27] 刘洋, 孙岳, 杨安宁, 等. 铁死亡参与高脂饮食诱导的 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化及 ox-LDL 诱导的泡沫细胞形成过程[J]. *实用医学杂志*, 2021, 37(5): 585-590.
- [28] 张静, 赵外荣, 施雯婷, 等. 铁死亡及其在心血管疾病中的作用[J]. *国际心血管病杂志*, 2020, 47(6): 339-343.
- [29] HE X, YAO Q, FAN D, et al. Cephalosporin antibiotics specifically and selectively target nasopharyngeal carcinoma through HMOX1-induced ferroptosis[J]. *Life Sci*, 2021, 277: 119457.
- [30] 李朝, 刘亚卫, 王丹丹, 等. 血清炎症标记物与颈动脉不稳定斑块的研究进展[J]. *医学理论与实践*, 2021, 34(1): 20-22.
- [31] 王瑞, 董瑞国. 血清炎症标记物与颈动脉斑块稳定性[J]. *国际脑血管病杂志*, 2019, 27(1): 57-62.
- [32] 夏红利, 刘国利, 吴岸森, 等. 颈动脉斑块与斑块旁组织基因差异表达和信号通路分析[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2019, 27(8): 661-666.
- [33] 谭利兰, 罗勇, 肖晨, 等. 低剪切应力与动脉粥样硬化形成研究新进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2019, 27(5): 432-438.
- [34] ZHOU H, MENG L, ZHOU W, et al. Computational and experimental assessment of influences of hemodynamic shear stress on carotid plaque[J]. *Biomed Eng Online*, 2017, 16(1): 92.
- [35] 李兆钰, 马度芳, 王永成, 等. 免疫细胞亚群平衡在动脉粥样硬化中的机制与中医药调节作用的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(9): 737-741.
- [36] PIETROWSKI E, BENDER B, HUPPERT J, et al. Pro-inflammatory effects of interleukin-17A on vascular smooth muscle cells involve NAD(P)H-oxidase derived reactive oxygen species[J]. *J Vasc Res*, 2011, 48(1): 52-58.
- [37] DANZAKI K, MATSUI Y, IKESUE M, et al. Interleukin-17a deficiency accelerates unstable atherosclerotic plaque formation in apolipoprotein e-deficient mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(2): 273-280.
- [38] SUO F, JIANG F, FANG X, et al. Contrast of diagnostic value between IL-17 combined with IL-18 and CT angiography in carotid atherosclerosis[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(2): 1400-1404.
- [39] WANG B, WANG X, SUN H, et al. The effects of T helper 17 and regulatory T cells on patients with carotid atherosclerosis[J]. *Pak J Pharm Sci*, 2017, 30(5(Supplementary)): 1923-1928.
- [40] LU L, ZHANG R Y, WANG X Q, et al. C1q/TNF-related protein-1: an adipokine marking and promoting atherosclerosis [J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(22): 1762-1771.
- [41] HA S J, LEE J, SONG K M, et al. Ultrasonicated lespedeza cuneata extract prevents TNF- α -induced early atherosclerosis in vitro and in vivo[J]. *Food Funct*, 2018, 9(4): 2090-2101.
- [42] ZERNECKE A. Dendritic cells in atherosclerosis: evidence in mice and humans[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(4): 763-770.
- [43] KOLTSOVA E K, LEY K. How dendritic cells shape atherosclerosis [J]. *Trends Immunol*, 2011, 32(11): 540-547.
- [44] GAO W, LIU H, YUAN J, et al. Exosomes derived from mature dendritic cells increase endothelial inflammation and atherosclerosis via membrane TNF- α mediated NF- κ B pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(12): 2318-2327.