

本文引用: 王建钧, 汤银娟, 王思雨, 等. 瞬时受体电位香草酸亚型 1 通过调节  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性转录调节因子参与促大鼠血管平滑肌细胞增殖[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(7): 575-579, 644. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2022.07.004.

[文章编号] 1007-3949(2022)30-07-0575-05

• 实验研究 •

## 瞬时受体电位香草酸亚型 1 通过调节 $\text{Ca}^{2+}$ 依赖性转录调节因子参与促大鼠血管平滑肌细胞增殖

王建钧<sup>1,2</sup>, 汤银娟<sup>3</sup>, 王思雨<sup>4</sup>, 张颖暄<sup>4</sup>, 李进<sup>5</sup>, 范艳<sup>4</sup>, 罗明英<sup>4</sup>

(湘南学院 1. 附属医院肝胆外科, 2. 临床学院, 3. 基础医学院组织胚胎学教研室, 湖南省郴州市 423000; 昆明医科大学 4. 基础医学院人体解剖与组织胚胎学系, 5. 临床学院, 云南省昆明市 650500)

[关键词] 瞬时受体电位香草酸亚型 1;  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性转录调节因子; 大鼠血管平滑肌细胞; 辣椒素; 辣椒卓平

[摘要] [目的] 探讨瞬时受体电位香草酸亚型 1 (TRPV1) 对  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性转录调节因子表达的影响以及大鼠血管平滑肌细胞 (RVSMC) 增殖的作用。[方法] 体外培养 RVSMC, 利用 TRPV1 特异性激动剂辣椒素 (CAP) 或抑制剂辣椒卓平 (CPZ) 促进或抑制 TRPV1 的表达。免疫细胞化学染色技术检测 TRPV1 的表达; 噻唑蓝法检测细胞增殖活性; Western blot 检测增殖细胞核抗原 (PCNA) 蛋白表达; Western blot 和实时荧光定量 PCR 检测  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性转录调节因子活化 T 细胞核因子 c1 (NFATc1)、钙衰蛋白 (CSEN) 和肌细胞增强因子 2C (MEF2C) 的蛋白表达和 mRNA 水平。[结果] 免疫细胞化学染色显示 TRPV1 主要表达在 RVSMC 的胞膜和胞质, CAP 或 CPZ 能激活或抑制 TRPV1 的表达。与对照组相比, CAP 可明显刺激 RVSMC 增殖活性和上调 PCNA 蛋白的表达 ( $P < 0.01$ ), 同时, NFATc1、MEF2C 的蛋白和 mRNA 水平显著上调 ( $P < 0.01$ ); CSEN 蛋白表达显著增高 ( $P < 0.01$ ), CSEN mRNA 水平无明显变化 ( $P > 0.05$ )。CPZ 作用后, 与对照组比较, RVSMC 增殖活性、PCNA 蛋白表达降低 ( $P < 0.01$ ), NFATc1、MEF2C 的蛋白和 mRNA 水平显著下调 ( $P < 0.01$ ); CSEN 蛋白表达显著降低 ( $P < 0.01$ ), CSEN mRNA 水平无明显变化 ( $P > 0.05$ )。[结论] TRPV1 可能通过上调  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性转录调节因子的表达参与促 RVSMC 增殖。

[中图分类号] R54

[文献标识码] A

### Transient receptor potential vanilloid subtype 1 participates in promoting the proliferation of rat vascular smooth muscle cells by regulating $\text{Ca}^{2+}$ -dependent transcriptional regulator

WANG Jianjun<sup>1,2</sup>, TANG Yinjuan<sup>3</sup>, WANG Siyu<sup>4</sup>, ZHANG Yingxuan<sup>4</sup>, LI Jin<sup>5</sup>, FAN Yan<sup>4</sup>, LUO Mingying<sup>4</sup>

(1. Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital, 2. Clinical College, 3. Department of Histology and Embryology, School of Basic Medicine, University of Xiangnan, Chenzhou, Hunan 423000, China; 4. Department of Human Anatomy and Histo-Embryology, School of Basic Medicine, 5. Clinical College, Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650500, China)

[KEY WORDS] transient receptor potential vanilloid subtype 1;  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent transcriptional regulator; rat vascular smooth muscle cell; capsaicin; capsazepine

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of transient receptor potential vanilloid subtype 1 (TRPV1) on the expression of  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent transcriptional regulator and the proliferation of rat vascular smooth muscle cell (RVSMC).

**Methods** RVSMCs were cultured *in vitro*, and TRPV1-specific agonist capsaicin (CAP) or inhibitor capsazepine (CPZ) was used to promote or inhibit the expression of TRPV1. TRPV1 expression was detected by immunocytochemical staining

[收稿日期] 2021-06-24

[修回日期] 2021-11-01

[基金项目] 国家自然科学基金(81500377); 云南省科技厅-昆明医科大学联合专项面上项目(202101AY070001-042); 湖南省卫生健康委科研项目(湘卫函[2021]7号); 湘南学院科研项目(湘南学院校发[2018]112号-2018XJ50)

[作者简介] 王建钧, 副教授, 研究方向为血管生物学, E-mail: 6365294@qq.com。通信作者范艳, 副教授, 研究方向为血管生物学, E-mail: fykm607@163.com。通信作者罗明英, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为侧支血管机制研究, E-mail: luomingying0403@163.com。

technique. Cell proliferation activity was detected by methyl thiazolyl tetrazolium method. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) protein expression was detected by Western blot. Western blot and quantitative real-time PCR were used to detect the protein expression and mRNA level of  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent transcriptional regulator such as nuclear factor of activated T cell c1 (NFATc1), calsenilin (CSEN) and myocyte enhancer factor 2C (MEF2C). **Results** Immunocytochemical staining showed that TRPV1 was mainly expressed in the membrane and cytoplasm of RVSMC, and CAP or CPZ could activate or inhibit the expression of TRPV1. Compared with the control group, CAP could significantly stimulate the proliferation activity of RVSMCs and up-regulate the expression of PCNA protein ( $P < 0.01$ ). Meanwhile, the protein and mRNA levels of NFATc1 and MEF2C were significantly up-regulated ( $P < 0.01$ ); The protein expression of CSEN was significantly increased ( $P < 0.01$ ), and there was no significant change in CSEN mRNA level ( $P > 0.05$ ). After CPZ treatment, compared with the control group, the proliferation activity of RVSMC and the expression of PCNA protein were decreased ( $P < 0.01$ ), the protein and mRNA levels of NFATc1 and MEF2C were significantly down-regulated ( $P < 0.01$ ); The protein expression of CSEN was significantly decreased ( $P < 0.01$ ), and there was no significant change in CSEN mRNA level ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** TRPV1 may be involved in promoting RVSMC proliferation by up-regulating the expression of  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent transcriptional regulator.

血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 是构成血管壁中膜的主要成分, VSMC 的增殖和表型转变在侧支血管发育中起着重要的作用<sup>[1]</sup>, 这是一个多因素参与并依赖于钙信号活化的过程<sup>[2]</sup>。研究表明,  $\text{Ca}^{2+}$  聚集可导致细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  脉冲进入平滑肌细胞, 伴随着  $\text{Ca}^{2+}$  通道的激活<sup>[3]</sup>。瞬时受体电位香草酸亚型 1 (transient receptor potential vanilloid subtype 1, TRPV1) 是一种非选择性通透性的阳离子通道, 在心血管系统的初级感觉神经元表达丰富<sup>[4]</sup>。在某些机械因素的刺激下被辣椒素 (capsaicin, CAP) 激活后, TRPV1 可将这些机械刺激信号转变为细胞内的分子信号, 诱导神经肽等从外周神经末梢释放, 从而发挥作用于心血管的功能<sup>[5]</sup>。近年来, TRPV1 在血管生物学领域的作用越来越受到重视。TRPV1 可通过刺激肺动脉 VSMC 的增殖和迁移, 在血管重塑中发挥重要作用<sup>[6]</sup>。Shanshan 等<sup>[7]</sup> 报道, 上调 TRPV1 引起 CAP 介导  $\text{Ca}^{2+}$  信号的增强, 可能是肺动脉 VSMC 过度增殖导致肺动脉高压的重要致病机制。但 TRPV1 对 VSMC 增殖的具体作用机制尚不清楚。本研究采用体外培养的大鼠血管平滑肌细胞 (rat vascular smooth muscle cell, RVSMC), 利用 TRPV1 特异性激动剂 CAP 或抑制剂辣椒卓平 (capsazepine, CPZ) 促进或抑制 TRPV1 的表达, 观察 RVSMC 增殖和活性变化, 及增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、 $\text{Ca}^{2+}$  依赖性转录调节因子活化 T 细胞核因子 c1 (nuclear factor of activated T cell c1, NFATc1)、钙衰蛋白 (calsenilin, CSEN) 和肌细胞增强因子 2C (myocyte enhancer factor 2C, MEF2C) 的表达变化, 探讨 TRPV1 对 RVSMC 的作用及可能机制, 为侧支血管生长过程中平滑肌细胞增殖和表型

转变的机制研究提供一定的实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

RVSMC (ATCC, 美国); DMEM 培养基以及胎牛血清 (Gibco 公司, 美国); 二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 法蛋白定量试剂盒和增强化学发光法发光液 (Thermo 公司, 美国); 二氟化树脂膜 (博士德生物公司); TRIzol 试剂 (Invitrogen 公司, 美国); SYBR 绿色荧光定量 PCR 试剂 (Roche 公司, 美国); Prime Script 反转录试剂 (TaKaRa 公司, 日本); 兔抗 TRPV1 抗体、兔抗 CSEN 抗体 (Abcam 公司, 美国); 兔抗 NFATc1 抗体、鼠抗 MEF2C 抗体 (Santa Cruz 公司, 美国); 兔抗 PCNA 抗体 (Millipore 公司, 美国); 噻唑蓝 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT) 试剂盒 (Promega 公司, 美国)。

### 1.2 细胞培养与分组

将 RVSMC 培养于含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液中, 置于 37 °C、5%  $\text{CO}_2$  的培养箱中培养, 将 CAP 和 CPZ 溶解于二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO), 随机将细胞分成对照 (control) 组 (Con 组)、1  $\mu\text{mol/L}$  CAP 组、10  $\mu\text{mol/L}$  CAP 组和 CPZ 组, 培养 24 h 进行后续实验。

### 1.3 免疫细胞化学染色

取出盖玻片, 置于 6 孔培养板, 吸去培养液, 4% 多聚甲醛固定 15 min, 5% 牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 室温下封闭后加入 TRPV1 (1 : 200) 一抗, 湿盒 4 °C 冰箱过夜。然后与生物素化抗兔的二抗 (1 : 200) 室温孵育 1 h, 再加入链霉亲和素偶联的 Cy2 (1 : 500) 室温孵育 50 min, 最后加入

DAPI(4',6-二脒基-2-苯基吡啶)(1:500)孵育 20 min。其中除 5% BSA 孵育 30 min 之外,其余各步均需 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)洗 3 次,每次 10 min。防荧光淬灭剂封片, Nikon 激光共聚焦显微镜下拍片。摄片后,采用 EZ-C1 3.70 FreeViewer 图像分析软件对 TRPV1 的免疫荧光强度进行测量,单位以每平方米 Arbitrary Unit(AU/ $\mu\text{m}^2$ )表示。用 PBS 代替一抗作为阴性对照,其余各步骤操作均相同,排除非特异性染色。

#### 1.4 MTT 检测细胞增殖活性

取对数生长期的 A7r5 细胞制成单细胞悬液,接种于 96 孔培养板中,每孔接种 100  $\mu\text{L}$ ,约含  $5 \times 10^3$  个细胞。将细胞分为 5 组:Con 组、1  $\mu\text{mol/L}$  CAP 组、10  $\mu\text{mol/L}$  CAP 组、1  $\mu\text{mol/L}$  CPZ 组、10  $\mu\text{mol/L}$  CPZ 组,每孔设 3 个复孔。培养 24 h 后,每孔再加入 5 g/L MTT 20  $\mu\text{L}$ ,置培养箱继续培养 4 h,终止培养后吸去每孔上清液,加入 DMSO,于酶标仪 490 nm 波长处测定各孔光密度值(OD 值)。实验重复 3 次。

#### 1.5 Western blot 检测蛋白表达

收集各组细胞,提取细胞总蛋白,采用 BCA 法测定蛋白浓度,并进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳,然后转移至硝酸纤维素膜上,经 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h 后分别加入 PCNA(1:500)、NFATc1(1:400)、CSEN(1:200)和 MEF2C(1:200)一抗,4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱过夜,次日 PBS 漂洗 3 次,每次 10 min。再分别加入抗兔或抗鼠的辣根过氧化物酶标记的二抗(1:1000),室温孵育 2 h,洗膜后在成

像系统中滴加化学发光液进行显影,然后使用凝胶图像分析系统摄片,采用 Image J 软件进行灰度值分析。

#### 1.6 实时荧光定量 PCR 检测 mRNA 表达水平

按照试剂盒说明书提取细胞总 RNA,利用 RNA 反转录试剂盒将总 RNA 逆转录成 cDNA,采用实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR)检测目的基因表达,使用  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  法对目的基因 mRNA 表达水平进行测定。引物序列:NFATc1 为 F:5'-ACGATCTGGAGGTGGAAGAC-3', R:5'-GGACGCCTCAGAGTTACAG-3';CSEN 为 F:5'-ACAGGCCCCAAACCAAGTTCA-3', R:5'-ATAGGTGGTGGCATCTCCCT-3';MEF2C 为 F:5'-CACCAGTGCAGGGAATGGAT-3', R:5'-GCATTGTGTTCTTGCTGCCA-3'; $\beta$ -actin 为 F:5'-AGTCAAGGCTGAGAATGGGAAG-3', R:5'-GCCAGTAGACTCCACGACATAC-3'。

#### 1.7 统计学分析

以上所有实验数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 GraphPad Prism 7.0 软件进行统计学分析,对各组数据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 TRPV1 的免疫细胞化学染色

免疫细胞化学染色可见 TRPV1 主要表达在 RVSMC 的胞膜和胞质,1  $\mu\text{mol/L}$  CAP 或 1  $\mu\text{mol/L}$  CPZ 作用后,TRPV1 发生了激活或抑制的变化。与 Con 组相比,免疫荧光强度差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ;图 1)。

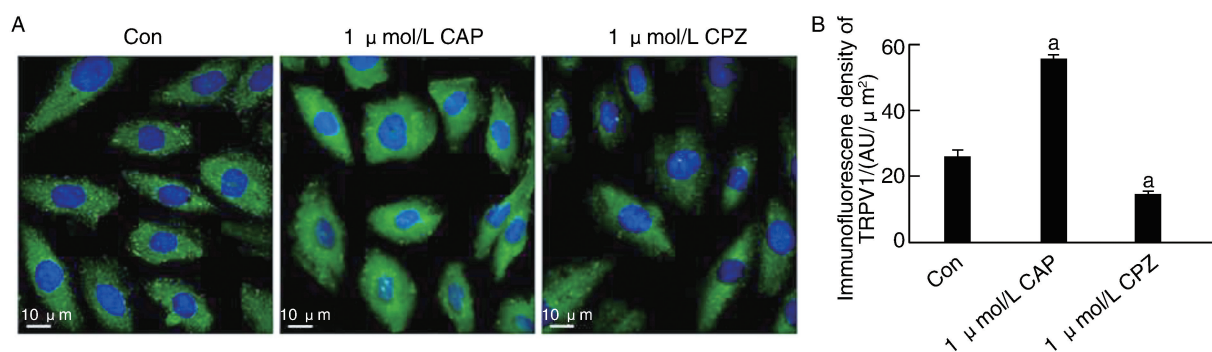


图 1. TRPV1 免疫细胞化学染色

A 为 TRPV1 在 RVSMC 表达的显微镜图,绿色表示 TRPV1,蓝色表示细胞核;B 为 TRPV1 免疫荧光强度的统计图。

a 为  $P < 0.01$ ,与 Con 组比较。

Figure 1. Immunocytochemical staining for TRPV1

## 2.2 TRPV1 对 RVSMC 增殖活性的影响

应用 MTT 法检测 RVSMC 增殖活性,结果显示,与 Con 组比较,不同浓度 CAP 组 RVSMC 的增殖活性均增强,其中以 1  $\mu\text{mol/L}$  CAP 作用最为显著 ( $P < 0.001$ ),而不同浓度 CPZ 均能明显抑制细胞增殖活性 ( $P < 0.001$ ;图 2)。进一步用 Western blot 检测作为评估细胞增殖活性的 PCNA,结果显示,与 Con 组相比,不同浓度 CAP 组 PCNA 蛋白表达显著增加 ( $P < 0.001$ ),而 CPZ 组 PCNA 蛋白表达明显降低 ( $P < 0.001$ ;图 3)。上述结果提示,激活 TRPV1 可刺激 RVSMC 细胞增殖活性。

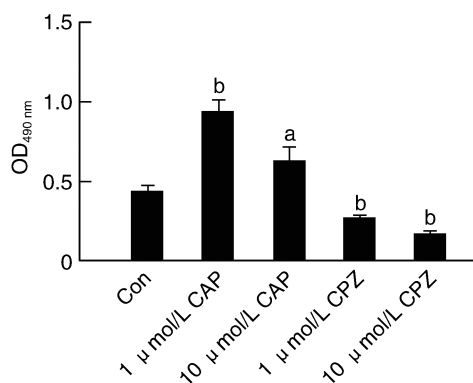


图 2. TRPV1 对 RVSMC 增殖活性的影响

a 为  $P < 0.01$ , b 为  $P < 0.001$ , 与 Con 组比较。

Figure 2. Effect of TRPV1 on RVSMC proliferative activity

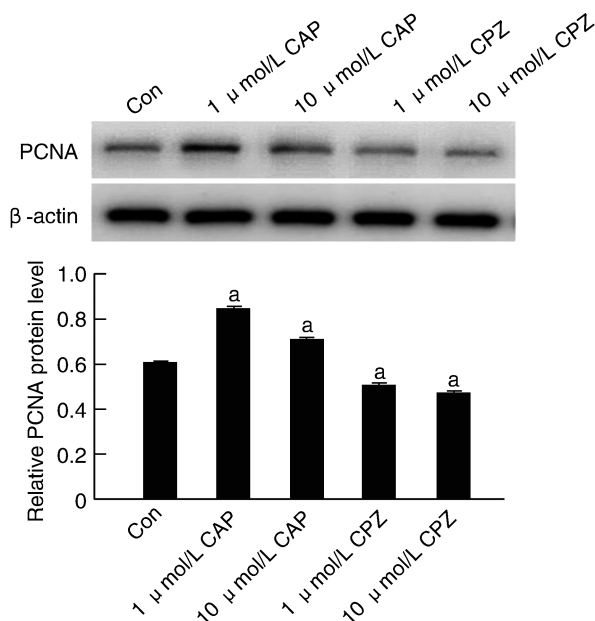


图 3. TRPV1 对 RVSMC 中 PCNA 蛋白表达的影响

a 为  $P < 0.001$ , 与 Con 组比较。

Figure 3. Effect of TRPV1 on PCNA protein expression in RVSMC

## 2.3 TRPV1 对 RVSMC 中 NFATc1、CSEN 和 MEF2C 表达的影响

采用不同浓度 CAP 和 CPZ 作用后,用 Western blot 和 qRT-PCR 检测 RVSMC 中  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性转录调节因子 NFATc1、CSEN 和 MEF2C 蛋白和 mRNA 的表达。Western blot 结果显示,与 Con 组比较,不同浓度 CAP 组 NFATc1 蛋白表达均明显升高 ( $P < 0.01$ ),不同浓度 CPZ 组 NFATc1 蛋白表达均明显降低 ( $P < 0.001$ );与 Con 组比较,不同浓度 CAP 组 CSEN 和 MEF2C 蛋白表达均显著上调 ( $P < 0.001$ ),不同浓度 CPZ 组 CSEN 和 MEF2C 蛋白表达均显著下调 ( $P < 0.01$ ) (图 4)。

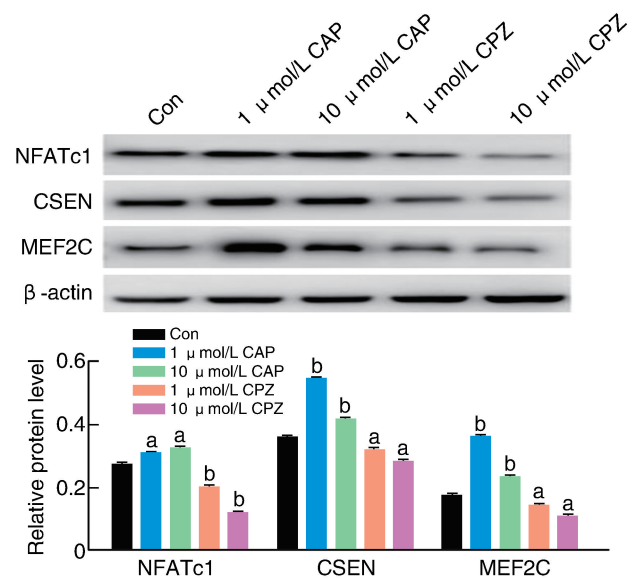


图 4. TRPV1 对 RVSMC 中 NFATc1、CSEN 和 MEF2C 蛋白表达的影响

a 为  $P < 0.01$ , b 为  $P < 0.001$ , 与 Con 组比较。

Figure 4. Effect of TRPV1 on protein expressions of NFATc1, CSEN and MEF2C in RVSMC

qRT-PCR 结果显示,与 Con 组比较,不同浓度 CAP 组 NFATc1 mRNA 水平明显增高 ( $P < 0.01$ ),不同浓度 CPZ 组 NFATc1 mRNA 水平明显降低 ( $P < 0.001$ );与 Con 组比较,不同浓度 CAP 组 MEF2C mRNA 水平明显上调 ( $P < 0.001$ ),不同浓度 CPZ 组 MEF2C mRNA 水平明显下调 ( $P < 0.01$ );不同浓度 CAP 和 CPZ 作用后,与 Con 组比较,CSEN mRNA 水平无明显变化 ( $P > 0.05$ ) (图 5)。

## 3 讨论

TRPV1 是化学和物理刺激的整合器,参与调控



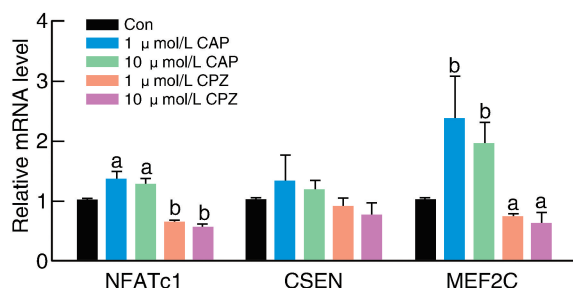


图 5. TRPV1 对 RVSMC 中 NFATc1、CSEN 和 MEF2C mRNA 水平的影响

a 为  $P < 0.01$ , b 为  $P < 0.001$ , 与 Con 组比较。

Figure 5. Effect of TRPV1 on NFATc1, CSEN and MEF2C mRNA levels in RVSMC

多条信号通路及细胞骨架的重塑、细胞移动和增殖。机体组织中 TRPV1 分布广泛,在血管组织,TRPV1 主要分布于内皮细胞和平滑肌细胞。另外,外周血管、感觉神经也有 TRPV1 通道蛋白的表达<sup>[8]</sup>。本实验我们通过免疫细胞化学染色证实了 TRPV1 在 RVSMC 的胞膜和胞质表达,这与之前的研究报道<sup>[9]</sup>是一致的。在小侧支动脉发育成为具有导血功能的较大动脉的侧支血管生长过程中,VSMC 承担着主要任务,主要表现为 VSMC 增殖且由收缩表型向合成表型转变,同时迁移至新内膜从而使侧支血管的体积增大<sup>[10]</sup>。许多因素参与了这个过程,其中,TRPV1 对 VSMC 增殖的调控作用越来越受到关注。文献报道<sup>[11-12]</sup> TRPV1 参与了慢性缺氧诱导的人和大鼠肺动脉平滑肌细胞增殖。Zhao 等<sup>[13]</sup>报道 TRPV1 通道参与哮喘大鼠气道平滑肌细胞增殖和凋亡的调控。在本实验中我们同样也观察到,激活 TRPV1 明显使 RVSMC 增殖活性增加。这说明 TRPV1 的激活可能导致细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的改变,从而介导 RVSMC 增殖。

Troidl 等<sup>[14]</sup>报道,钙内流通过激活  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性转录调节因子,对猪后肢缺血诱导的侧支血管生长起着重要作用。随后,Dewenter 等<sup>[15]</sup>报道, $\text{Ca}^{2+}$  依赖性转录通道的激活和蛋白的改变参与心肌细胞重塑。有研究表明,NFAT 的激活参与了缺氧诱导的人肺动脉平滑肌细胞增殖<sup>[16]</sup>。miR-137 可通过调节钙调神经磷酸酶/NFAT 通路调节大鼠脑血管平滑肌细胞的去分化和增殖<sup>[17]</sup>。CSEN 是主要的和直接的  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性转录调节因子<sup>[18]</sup>。MEF2C 既可调节参与增殖和迁移的早期基因,也可调节参与收缩表型的平滑肌标志物,在 VSMC 的增殖和表型转变中发挥重要作用<sup>[19]</sup>。Xu 等<sup>[20]</sup>报道 miR-135b-5P 和 miR-499a-3P 通过直接靶向作用于 MEF2C 促进

动脉粥样硬化 VSMC 和内皮细胞的增殖。我们的实验观察到 TRPV1 激活后,NFATc1 和 MEF2C 蛋白及 mRNA 的表达明显上调,这说明 CAP 与 TRPV1 结合后导致  $\text{Ca}^{2+}$  信号增强,上调了  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性转录调节因子的表达,从而直接作用于 RVSMC,使其发生增殖活性的明显改变。虽然 CSEN 在 mRNA 水平没有明显改变,但蛋白表达增加,说明 CSEN 的上调也可能是 TRPV1 刺激 RVSMC 增殖中整体信号机制的一部分。尽管没有进行细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  的测量,结合前期的文献报道,我们推测 TRPV1 调节的钙内流激活了  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性转录调节因子,可能是 TRPV1 刺激 RVSMC 增殖的潜在作用机制。

综上所述,本研究报道 TRPV1 可通过上调  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性转录调节因子的表达,从而发挥刺激 RVSMC 增殖的作用。本研究不仅丰实了 TRPV1 调控血管壁细胞增殖的相关机制,同时也为 TRPV1 通道可作为动脉粥样硬化引起的缺血性疾病诱导侧支血管生长的干预靶标提供了依据。

#### [参考文献]

- [1] CAI W J, KOCSIS E, WU X, et al. Remodeling of the vascular tunica media is essential for development of collateral vessels in the canine heart[J]. Mol Cell Biochem, 2004, 264(1-2): 201-210.
- [2] HOUSE S J, POTIER M, BISAILLON J, et al. The non-excitable smooth muscle: calcium signaling and phenotypic switching during vascular disease[J]. Pflugers Arch, 2008, 456(5): 769-785.
- [3] GUIBERT C, DUCRET T, SAVINEAU J P. Voltage-independent calcium influx in smooth muscle[J]. Prog Biophys Mol Biol, 2008, 98(1): 10-23.
- [4] YUAN P. Structural biology of thermoTRPV channels[J]. Cell Calcium, 2019, 84: 102106.
- [5] RANDHAWA P K, JAGGI A S. TRPV 1 channels in cardiovascular system: a double edged sword[J]. Int J Cardiol, 2017, 228: 103-113.
- [6] ALONSO-CARBAJO L, KECSKES M, JACOBS G, et al. Muscling in on TRP channels in vascular smooth muscle cells and cardiomyocytes[J]. Cell Calcium, 2017, 66: 48-61.
- [7] SHANSHAN S, RAMON J A, AYA Y, et al. Capsaicin-induced  $\text{Ca}^{2+}$  signaling is enhanced via upregulated TRPV1 channels in pulmonary artery smooth muscle cells from patients with idiopathic PAH[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2017, 312(3): L309-L325.
- [8] NEGRI S, FARIS P, BERRA-ROMANI R, et al. Endothelial transient receptor potential channels and vascular remodeling: extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  entry for angiogenesis, arteriogenesis and vasculogenesis[J]. Front Physiol, 2020, 10: 1618.
- [9] YANG X R, LIN M J, MCINTOSH L S, et al. Functional expression of transient receptor potential melastatin and vanilloid-related channels in pulmonary arterial and aortic smooth muscle[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2006, 290(6): L1267-L1276.

(下转第 644 页)

- to development of hypertension in normotensive subjects [J]. *Am J Hypertens*, 2013, 26(6): 793-798.
- [16] ARMITAGE J A, BURKE S L, PRIOR L J, et al. Rapid onset of renal sympathetic nerve activation in rabbits fed a high-fat diet[J]. *Hypertension*, 2012, 60(1): 163-171.
- [17] VOGT B, BOCHUD M, BURNIER M. The association of aldosterone with obesity-related hypertension and the metabolic syndrome [J]. *Semin Nephrol*, 2007, 27(5): 529-537.
- [18] BRIONES A M, CAT A N, CALLERA G E, et al. Adipocytes produce aldosterone through Calcineurin-dependent signaling pathways implications in diabetes mellitus-associated obesity and vascular dysfunction [J]. *Hypertension*, 2012, 59(5): 1069.
- [19] XU J, QU P, DU X, et al. Change in postprandial level of remnant cholesterol after a daily breakfast in Chinese patients with hypertension [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 685385.
- [20] FUNADA J, SEKIYA M, HAMADA M, et al. Postprandial elevation of remnant lipoprotein leads to endothelial dysfunction [J]. *Circ J*, 2002, 66(2): 127-132.
- [21] DOI H, KUGIYAMA K, OHGUSHI M, et al. Membrane active lipids in remnant lipoproteins cause impairment of endothelium-dependent vasorelaxation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, 19(8): 1918-1924.
- [22] WANG L, GILL R, PEDERSEN T L, et al. Triglyceride-rich lipoprotein lipolysis releases neutral and oxidized FFAs that induce endothelial cell inflammation [J]. *J Lipid Res*, 2009, 50(2): 204-213.
- [23] NAKAMURA T, HIRANO M, KITTA Y, et al. A comparison of the efficacy of combined ezetimibe and statin therapy with doubling of statin dose in patients with remnant lipoproteinemia on previous statin therapy [J]. *J Cardiol*, 2012, 60(1): 12-17.
- [24] BHATT D L, STEG P G, MILLER M, et al. Cardiovascular risk reduction with icosapent ethyl for hypertriglyceridemia [J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(1): 11-22.
- [25] ROSENSEN R S, DAVIGLUS M L, HANDELSMAN Y, et al. Efficacy and safety of evolocumab in individuals with type 2 diabetes mellitus: primary results of the randomised controlled BANTING study [J]. *Diabetologia*, 2019, 62(6): 948-958.
- (此文编辑 秦旭平)

(上接第 579 页)

- [10] 舒刘芳, 姜希娟, 杨琳, 等. 血管平滑肌细胞表型转换对动脉粥样硬化的作用研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(1): 99-102.
- SHU L F, JIANG X J, YANG L, et al. Phenotypic transformation of vascular smooth muscle cells in atherosclerosis [J]. *Chin J Arterioscler*, 2018, 26(1): 99-102.
- [11] WANG Y X, WANG J, WANG C, et al. Functional expression of transient receptor potential vanilloid related channels in chronically hypoxic human pulmonary arterial smooth muscle cells [J]. *J Membr Biol*, 2008, 223(3): 151-159.
- [12] PARPAITE T, CARDOUAT G, MAUROUX M, et al. Effect of hypoxia on TRPV1 and TRPV4 channels in rat pulmonary arterial smooth muscle cells [J]. *Pflugers Arch*, 2016, 468(1): 111-130.
- [13] ZHAO L, ZHANG X, KUANG H, et al. Effect of TRPV1 channel on the proliferation and apoptosis in asthmatic rat airway smooth muscle cells [J]. *Exp Lung Res*, 2013, 39(7): 283-294.
- [14] TROIDL C, NEF H, VOSS S, et al. Calcium-dependent signalling is essential during collateral growth in the pig hind limb-ischemia model [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2010, 49(1): 142-151.
- [15] DEWENTER M, VON DER LEITH A, KATUS H A, et al. Calcium signaling and transcriptional regulation in cardiomyocytes [J]. *Circ Res*, 2017, 121(8): 1000-1020.
- [16] WANG C, LI J F, ZHAO L, et al. Inhibition of SOC/Ca<sup>2+</sup>/NFAT pathway is involved in the anti-proliferative effect of sildenafil on pulmonary artery smooth muscle cells [J]. *Respir Res*, 2009, 10(1): 123.
- [17] ZHANG B, CHEN L, BAI Y G, et al. miR-137 and its target T-type CaV3.1 channel modulate dedifferentiation and proliferation of cerebrovascular smooth muscle cells in simulated microgravity rats by regulating calcineurin/NFAT pathway [J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(3): e12774.
- [18] GRILLO M A, GRILLO S L, GERDES B C, et al. Control of neuronal ryanodine receptor-mediated calcium signaling by calsenilin [J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(1): 525-534.
- [19] PAGIATAKIS C, GORDON J W, EHYAI S, et al. A novel RhoA/ROCK-CPI-17-MEF2C signaling pathway regulates vascular smooth muscle cell gene expression [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(11): 8361-8370.
- [20] XU Z L, HAN Y M, LIU J Y, et al. miR-135b-5p and miR-499a-3p promote cell proliferation and migration in atherosclerosis by directly targeting MEF2C [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 12276.
- (此文编辑 曾学清)