

本文引用: 何 慧, 董豆豆, 丁 萌, 等. 柚皮素通过调控平滑肌细胞 TIMP-3 表达促进动脉粥样硬化斑块稳定[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(7): 567-572, 582. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.07.003.

[文章编号] 1007-3949(2024)32-07-0567-07

• 实验研究 •

柚皮素通过调控平滑肌细胞 TIMP-3 表达促进 动脉粥样硬化斑块稳定

何 慧, 董豆豆, 丁 萌, 朱 沅, 姜天宇, 许晓婷, 欧海龙

贵州医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 贵州省贵阳市 561113

[摘 要] **[目的]** 探究柚皮素对动脉粥样硬化斑块胞外基质重构和斑块稳定性的影响。**[方法]** 分离原代小鼠血管平滑肌细胞, 进行不同剂量的柚皮素处理。对高脂诱导的 ApoE^{-/-}小鼠进行柚皮素灌胃 16 周, 天狼星红-苏木精染色分析主动脉根部斑块坏死核面积、斑块内胶原含量和纤维帽厚度, Van Gieson 染色检测弹力蛋白降解, 明胶酶谱法和荧光标记明胶法检测斑块内基质金属蛋白酶(MMP)活性。**[结果]** 柚皮素(50 μmol/L)促进平滑肌细胞信号转导及转录活化因子 6(STAT6)磷酸化和组织型基质金属蛋白酶抑制剂 3(TIMP-3)的转录活性, TIMP-3 的表达升高 3.1 倍($P<0.001$)。柚皮素(80 mg/kg)处理后, 与对照组相比, 主动脉根部斑块坏死核面积降低 53% ($P<0.01$)、纤维帽厚度提高近 50% ($P<0.05$), 弹力纤维降解程度降低。同时, 柚皮素促进斑块内 TIMP-3 的表达, 斑块内 MMP 活性也相应降低。慢病毒介导的体内抑制 TIMP-3 表达可降低柚皮素对斑块稳定的保护作用。**[结论]** 柚皮素通过提高平滑肌细胞内 TIMP-3 表达, 改善细胞外基质成分, 促进动脉粥样硬化斑块稳定。**[关键词]** 柚皮素; 信号转导及转录活化因子 6; 组织型基质金属蛋白酶抑制剂 3; 动脉粥样硬化; 斑块稳定性**[中图分类号]** R5; R363 **[文献标识码]** A

Naringenin promotes atherosclerotic plaque stability by regulating the expression of TIMP-3 in smooth muscle cells

HE Hui, DONG Doudou, DING Meng, ZHU Yuan, JIANG Tianyu, XU Xiaoting, OU Hailong

Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 561113, China

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of naringenin on atherosclerotic plaque extracellular matrix remodeling and plaque stability. **Methods** Murine vascular smooth muscle cells were isolated and treated with various doses of naringenin. ApoE^{-/-} mice were fed with high-fat diet and received naringenin by lavage for 16 weeks. Intraplaque necrotic core, contents of collagen and fibrous cap thickness were measured by Sirius red-Haematoxylin staining. Elastin was detected by Van Gieson staining. Matrix metalloproteinase (MMP) activity was determined by gelatin zymography and fluorescence-gelatin staining. **Results** Naringenin (50 μmol/L) increased signal transducer and activator of transcription 6 (STAT6) phosphorylation and promoted tissue inhibitor of metalloproteinase-3 (TIMP-3) expression by 3.1-fold ($P<0.001$). After naringenin (80 mg/kg) treatment, compared with the control group, the area of plaque necrotic core in aortic root decreased by 53% ($P<0.01$), the thickness of fibrous caps increased by nearly 50% ($P<0.05$), and the degree of elastic fiber degradation decreased. At the same time, naringenin promoted the expression of TIMP-3 in plaques, and correspondingly reduced the activity of MMP in plaques. Lentivirus mediated inhibition of TIMP-3 expression *in vivo* could reduce the protective effect of naringenin on plaque stability. **Conclusion** Naringin can increase the expression of TIMP-3 in smooth muscle cells, improve the composition of extracellular matrix, and promote the stability of atherosclerotic plaque. **[KEY WORDS]** naringenin; signal transducer and activator of transcription 6; tissue inhibitor of metalloproteinase-3; atherosclerosis; plaque stability

[收稿日期] 2023-12-19

[修回日期] 2024-02-27

[基金项目] 国家自然科学基金项目(32260232, 32060219); 贵州省科技基金项目(黔科合基础-ZK[2022]重点 038)

[作者简介] 何慧, 硕士, 研究方向为脂代谢与动脉粥样硬化, E-mail: xiaohui97903@163.com。通信作者欧海龙, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为血脂血管生物学, E-mail: ouhailong@hotmail.com。

易损斑块主要表现为坏死核增大、纤维帽变薄,平滑肌细胞数量减少和胶原含量降低。斑块中细胞外基质成份的改变对斑块的稳定具有重要作用。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)水解胶原蛋白,使纤维帽变薄,而组织型基质金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)是 MMP 的内源性抑制剂,可抑制 MMP 对胶原等基质的降解。TIMP-3 是 TIMP 家族成员,与其他成员如 TIMP-1、TIMP-2 或 TIMP-4 相比, TIMP-3 不是扩散在基质中,而是直接与基质相结合^[1-2];另外 TIMP-3 具有更广的基质蛋白酶底物,可以抑制几乎所有的 MMP。这些特点使 TIMP-3 成为血管重塑、动脉粥样硬化病变过程中的一个重要因子^[3-4]。研究表明,抑制 TIMP-3 降低斑块内的胶原含量、提高弹力蛋白的降解,促进斑块的不稳定^[5]。柚皮素是一类天然二氢黄酮类化合物,广泛存在于柑橘属植物如柠檬、橘子、胡柚的果皮和果肉中,可以改善血脂,降低肝脏脂质积累,减少动脉粥样硬化斑块形成^[6-8]。本研究将分析柚皮素是否可以在动脉粥样硬化的发展过程中通过改善细胞外基质成份稳定斑块。

1 材料和方法

1.1 主要仪器和试剂

体视显微镜(南京江南永新光学有限公司),正置显微镜(TS100F, Nikon 公司),冰冻切片机(德国 MEV)。柚皮素购自麦克林公司;天狼星红-苏木精染色试剂盒、Verhoeff 弹性纤维染色试剂盒购自南京森贝伽生物科技有限公司;猪皮明胶、BCA 蛋白定量试剂盒、ChIP Assay Kit 试剂盒购自碧云天生物公司;荧光标记明胶染料购自美国 ThermoFisher 公司;ECL 发光液购自武汉三鹰生物公司; α -SMA、信号转导及转录活化因子 6(signal transducer and activator of transcription 6, STAT6)及 p-STAT6 抗体购自美国 Abcam 公司, TIMP-3 购自艾菲生物科技有限公司。其余生物试剂均为国产分析纯。

1.2 原代小鼠血管平滑肌细胞的提取及培养

使用组织贴壁法提取原代小鼠血管平滑肌细胞。取两只 8 周龄以上的小鼠,眼球取血后经颈椎脱臼处死,于 75% 乙醇中浸泡 2~5 min。再解剖腹腔,暴露心脏,完整分离出主动脉。无菌 PBS 缓冲液冲洗血管残余血块,体式显微镜下去除血管周边多余组织,获得白色透明血管。用眼科剪将血管剪成 1 mm×1 mm 的组织块,将组织块转移到另一个

培养皿中,置于 5% CO₂、37 °C 的培养箱孵育 2~4 h,待组织块牢固贴附在培养皿底部后,再缓慢加入含 10% FBS 的 DMEM/F12 培养液。3~4 天后换液,待细胞爬出达到培养皿面积 80% 时可进行传代。5~12 代细胞用于实验, α -SMA 免疫荧光染色鉴定平滑肌细胞。

1.3 小鼠处理

ApoE^{-/-}小鼠购自南京大学模式动物研究所,饲养于(20±2) °C、相对湿度为 40%~70%、12 h 光照/12 h 黑暗的环境中。挑取 6~8 周龄、体质量为 18~20 g 的小鼠进行高脂肪饲料(含 21% 脂肪和 0.15% 胆固醇)喂养,其中一组进行 80 mg/kg 柚皮素灌胃 16 周;另外一组在高脂处理及柚皮素诱导的过程中,尾静脉注射慢病毒介导的 sh-TIMP-3 载体。

1.4 Western blot 检测

细胞或主动脉根部组织冰上裂解,BCA 法进行蛋白定量。取等量蛋白于 10% SDS-PAGE 蛋白电泳,电泳完毕,将蛋白转移至 PVDF 膜上。封闭液室温封闭 2 h,4 °C 一抗过夜孵育,二抗室温孵育 2 h,最后将膜用 1×TBST 充分洗涤,擦净膜上水分并滴加 ECL 发光液,在天能多功能成像分析系统获取图像。

1.5 RT-qPCR 检测

获取原代小鼠平滑肌细胞,用 Trizol 试剂盒提取细胞总 RNA,取 1 μ g 总 RNA 反转录合成 cDNA 第一条链,以此为模板进行 PCR。以 β -actin 作为内参照,计算各目的基因相对于内参的表达量。

1.6 明胶酶谱法

获取血管组织,研磨裂解,收集蛋白上清进行定量,取定量样品于 10% SDS-PAGE(分离胶中添加 0.1% 明胶)蛋白电泳,电泳结束,将凝胶置于洗脱液中充分洗涤,之后置于孵育液中于 37 °C 孵育 42 h。再经过考马斯亮蓝染色 3 h,于脱色液中洗脱,观察到蓝色背景上透明条带,用凝胶图像分析系统分析读取条带面积。

1.7 原位明胶荧光染色

取恢复室温的冰冻切片于 ddH₂O 中润洗,擦净残余水分,避光滴加明胶荧光染料于 37 °C 中孵育 12 h。PBS 涮洗,滴加含 DAPI 染料的封片剂,封片后在载玻片周边滴加指甲油。晾干,于奥利巴斯激光共聚焦显微镜镜下观察,采集图像。用 Image-Pro Plus 6.0 软件对斑块面积进行定量分析。

1.8 主动脉根部病理分析

获取小鼠主动脉根部冰冻切片,厚度为 8 μ m,

油红 O 染色检测斑块内脂质沉积情况;天狼星红-苏木精染色观察斑块内坏死核大小、纤维帽厚度,胶原含量的病理变化;弹力纤维染色观察血管弹力板排布情况。操作根据说明书进行,最后于正置显微镜下观察,采集图像。用 Image-Pro Plus 6.0 软件对斑块面积进行定量分析。

1.9 染色质免疫共沉淀实验

平滑肌细胞经柚皮素或柚皮素 + AS1517499 (STAT6 抑制剂)处理后,收集细胞进行染色质免疫共沉淀 (chromatin immunoprecipitation, ChIP) 实验,操作步骤根据碧云天说明书进行。样品经甲醛交联、裂解,置于冰上使用超声均质机进行超声处理,得到 400 ~ 800 bp 的染色质片段,再加入 STAT6 抗体或 IgG 抗体孵育,加入 60 μ L 蛋白 A+G 琼脂糖和鲑鱼精 DNA,于 4 $^{\circ}$ C 缓慢转动 1 h,以沉淀 DNA。沉淀下来的 DNA 经纯化后,进行定量 PCR 或琼脂糖凝胶电泳检测。

1.10 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 Graph-PadPrism 9 软件进行统计学分析,两组间的比较采用 *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 柚皮素上调平滑肌细胞 TIMP-3 的表达

分离的小鼠主动脉平滑肌细胞进行体外培养,镜下观察到细胞从血管内爬出 (图 1A),通过免疫荧光对分离的平滑肌细胞进行鉴定,镜下观察到平滑肌细胞的肌丝纤维 (图 1B)。不同剂量 (25 和 50 μ mol/L) 的柚皮素对平滑肌细胞处理后,TIMP-3 的表达随柚皮素处理的剂量提高而增加 (图 1C)。50 μ mol/L 柚皮素促进 TIMP-3 mRNA 的转录近 2.7 倍 ($P < 0.05$;图 1D)。

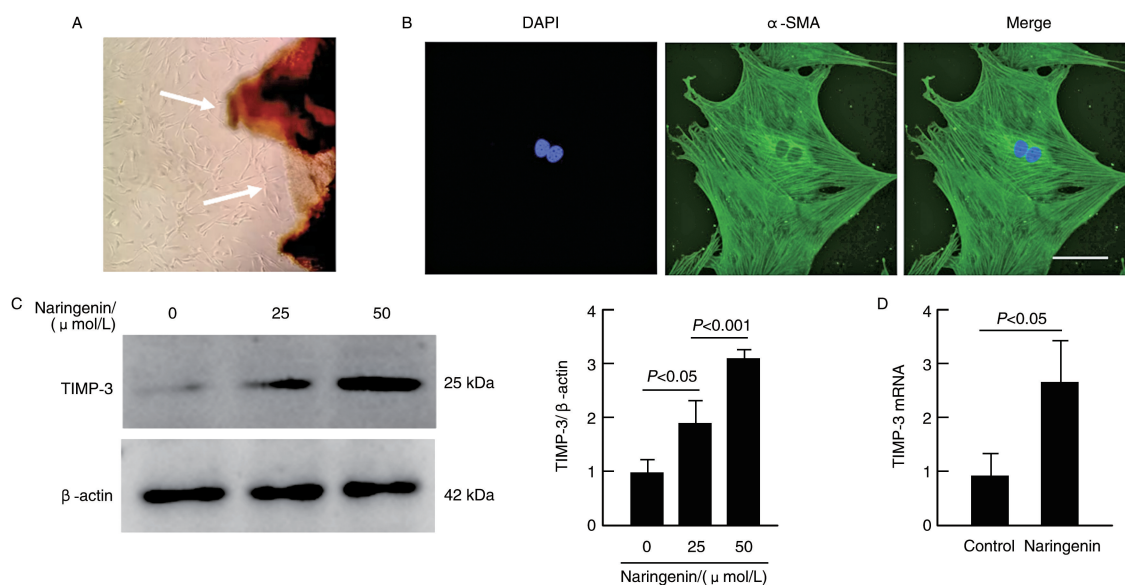


图 1. 不同剂量的柚皮素处理后原代平滑肌细胞 TIMP-3 的表达 ($n = 6$)

A 为原代小鼠平滑肌细胞,白色箭头所指为细胞从血管内爬出;B 为 α -SMA 荧光染色鉴定平滑肌细胞,标尺为 50 μ m;

C 为 Western blot 检测柚皮素对 TIMP-3 表达的影响;D 为 RT-qPCR 检测柚皮素对 TIMP-3 mRNA 的表达情况。

Figure 1. Expression of TIMP-3 in primary smooth muscle cells after treatment with different doses of naringenin ($n = 6$)

2.2 柚皮素提高平滑肌细胞 STAT6 对 TIMP-3 的转录活性

50 μ mol/L 柚皮素提高平滑肌细胞 STAT6 的磷酸化水平 (图 2A)。ChIP 实验进一步证实,在柚皮素的作用下,细胞内 STAT6 与 TIMP-3 启动子的结合更为明显 (图 2B)。STAT6 抑制剂 AS1517499 处理平滑肌细胞 1 h 后,p-STAT6 水平降低 (图 2C),作用 24 h 后,TIMP-3 的蛋白表达降低了 40.6%

($P < 0.05$;图 2D)。该结果提示柚皮素通过 STAT6 促进 TIMP-3 的表达。

2.3 柚皮素提高动脉粥样硬化斑块的稳定性

ApoE^{-/-}小鼠进行高脂饮食诱导 16 周 (图 3A),对主动脉根部切片分别进行油红 O、CD68 或 α -SMA 染色,结果发现,与对照组相比,柚皮素处理降低斑块内巨噬细胞和脂质含量,平滑肌细胞含量增加 (图 3B 和 3C)。同时,天狼星红-苏木精染色结果显

示,斑块坏死核大小降低了 53% ($P<0.01$)、纤维帽厚度提高 50% ($P<0.05$; 图 3D), 而且与对照组相

比, 柚皮素显著抑制斑块内弹力纤维的降解 ($P<0.01$; 图 3E)。这些结果表明柚皮素促进斑块稳定。

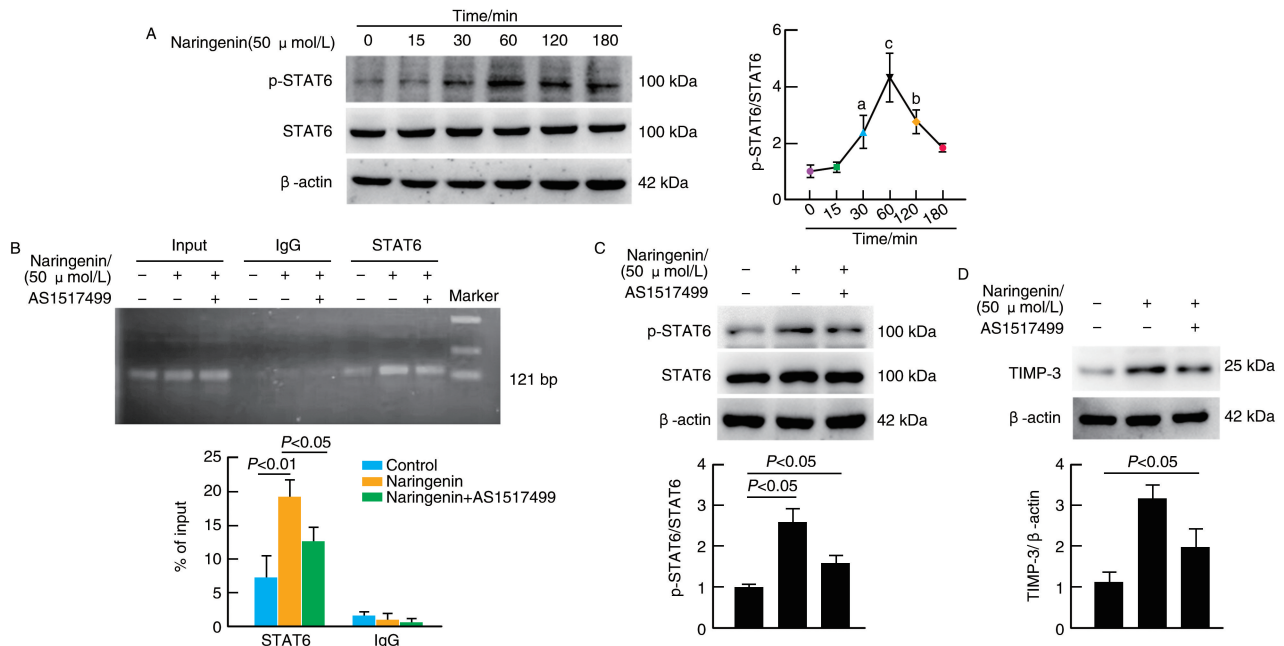


图 2. 柚皮素激活原代平滑肌细胞 STAT6 及上调 TIMP-3 的表达 ($n=6$)

A 为 Western blot 检测不同时间的柚皮素处理对原代平滑肌细胞 STAT6 磷酸化水平的影响, a 为 $P<0.05$, b 为 $P<0.01$, c 为 $P<0.001$, 与对照组比较; B 为 ChIP 检测原代平滑肌细胞中 STAT6 与 TIMP-3 启动子的结合; C 为 Western blot 检测 STAT6 抑制剂 AS1517499 处理原代平滑肌细胞 1 h 对 p-STAT6 表达的影响; D 为 Western blot 检测 STAT6 抑制剂 AS1517499 对原代平滑肌细胞 TIMP-3 表达的影响。

Figure 2. Naringenin activated STAT6 and up-regulated TIMP-3 expression in primary smooth muscle cells ($n=6$)

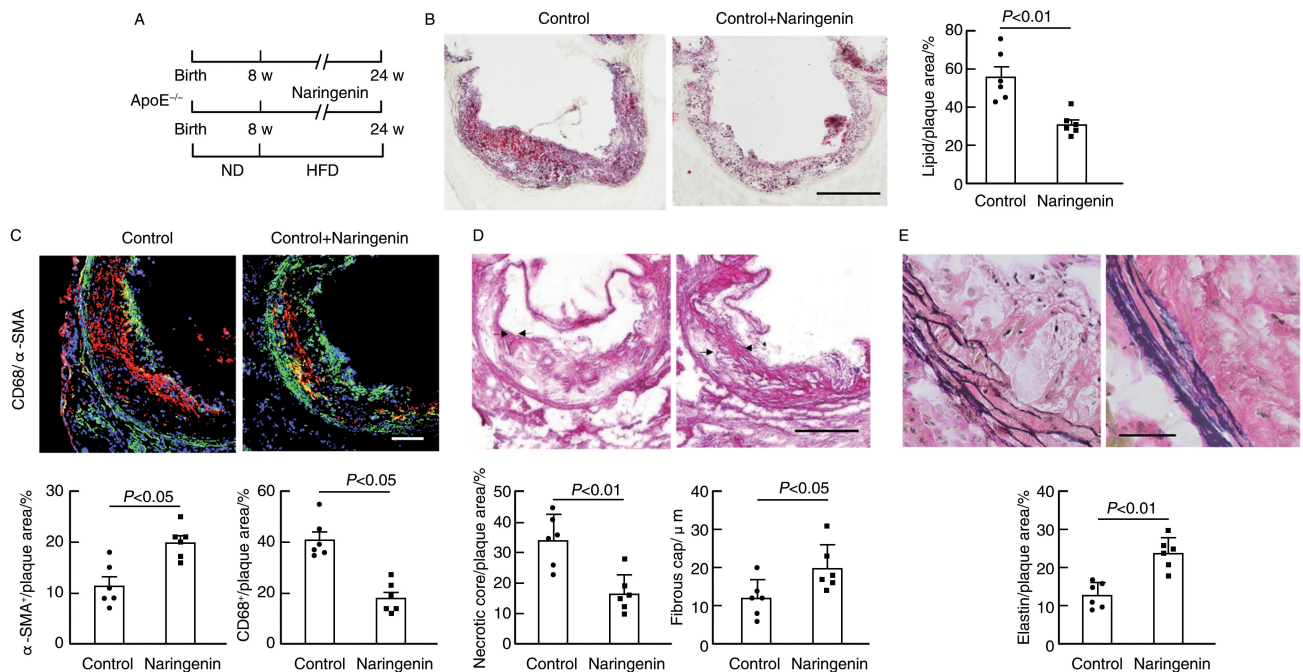


图 3. 柚皮素对斑块表型及弹力纤维的影响 ($n=6$)

A 为 ApoE^{-/-} 小鼠实验处理流程示意图; B 为油红 O 染色检测主动脉根部的脂质沉积, 标尺为 200 μm ; C 为免疫荧光染色检测斑块内 CD68 (红色)、 α -SMA (绿色) 表达情况, 标尺为 100 μm ; D 为天狼星红-苏木精染色检测斑块内坏死核大小、纤维帽厚度, 标尺为 200 μm ; E 为 VVG 检测血管弹力纤维, 标尺为 50 μm 。

Figure 3. The effects of naringenin on plaque phenotype and elastic fibers ($n=6$)

2.4 柚皮素抑制斑块内 MMP 活性

在柚皮素干预的高脂饮食诱导 16 周的 ApoE^{-/-}小鼠中,斑块内明胶酶活性与对照组相比显著降低(图 4A)。明胶酶谱分析结果显示,主动脉根部斑块内 MMP-2、MMP-9 活性也显著降低(图 4B)。

Western blot 检测斑块内 STAT6、p-STAT6 和 TIMP-3 的表达情况,发现与体外平滑肌细胞中的结果相似,柚皮素处理使 TIMP-3 的表达升高了 2.9 倍($P<0.01$;图 4C)。

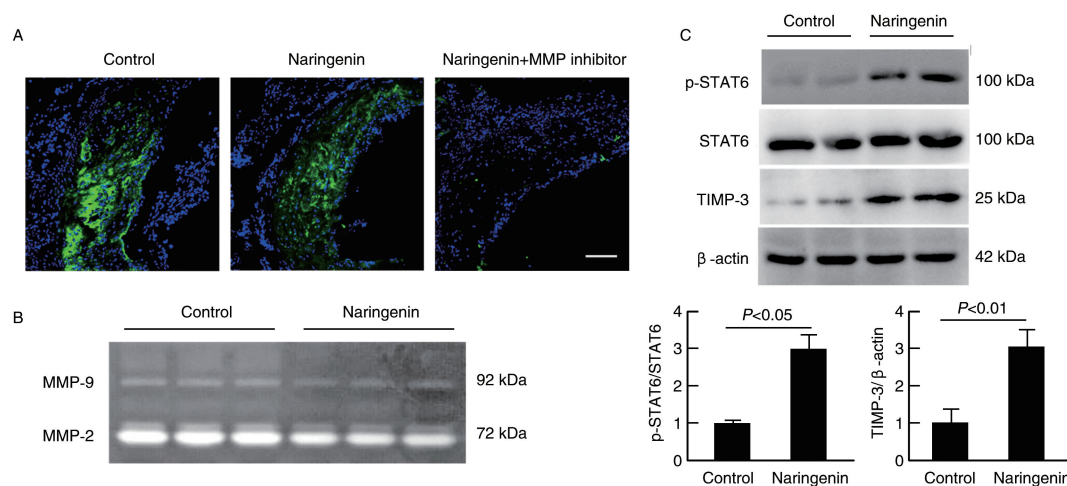


图 4. 主动脉根部斑块内 MMP 活性和 TIMP-3 的表达($n=6$)

A 为原位荧光明胶酶谱检测斑块内 MMP 的表达,标尺为 100 μm ;B 为明胶酶谱实验检测主动脉根部 MMP 活性;

C 为 Western blot 检测根部斑块内 STAT6、p-STAT6 和 TIMP3 的表达。

Figure 4. MMP activity and TIMP-3 expression in aortic root plaques($n=6$)

2.5 体内抑制 TIMP-3 降低柚皮素对斑块稳定的作用

对高脂饮食诱导和柚皮素处理的 ApoE^{-/-}小鼠(图 1A)通过注射慢病毒介导 shRNA 的方法抑制 TIMP-3 的表达,结果发现小鼠主动脉根部 TIMP-3

表达显著降低(图 5B)。天狼星红-苏木精染色结果显示,抑制 TIMP-3 后,斑块内胶原含量降低 37.9% ($P<0.05$),MMP 活性升高 1.6 倍($P<0.001$),斑块趋于不稳定(图 5C 和 5D)。该结果进一步证明,柚皮素通过上调 TIMP-3 的表达改善斑块表型。

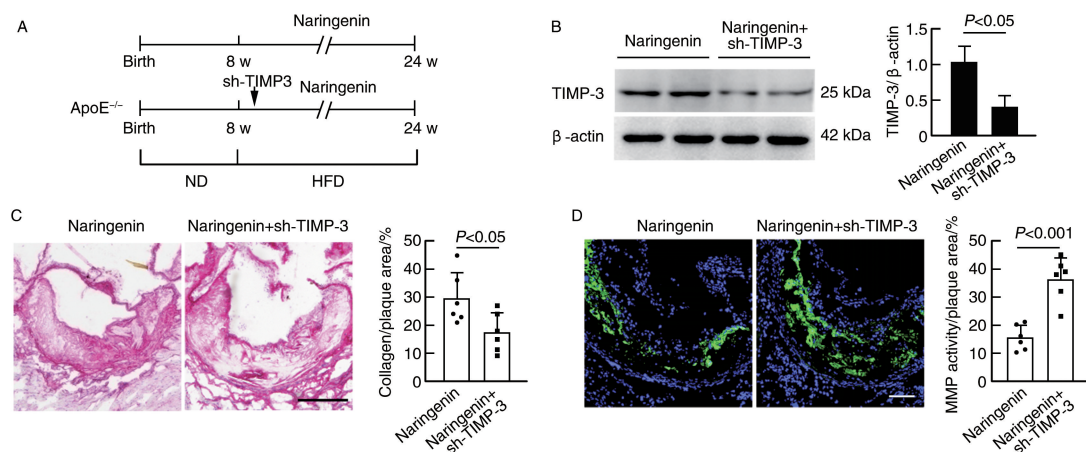


图 5. TIMP-3 抑制后主动脉根部斑块的病理变化($n=6$)

A 为 ApoE^{-/-}小鼠实验处理流程图;B 为 Western blot 检测主动脉根部 TIMP-3 的表达;C 为天狼星红-苏木精染色检测斑块内胶原含量,标尺为 200 μm ;D 为原位荧光明胶检测斑块内 MMP 活性,标尺为 100 μm 。

Figure 5. Pathological changes in aortic root plaque after TIMP-3 inhibition($n=6$)

3 讨论

动脉粥样硬化斑块破裂和随后的血栓生成可引发缺血性心脏病、中风等。改善斑块组成和提高斑块稳定性是减少急性冠脉综合征的有效策略。易损斑块的特点是巨噬细胞和脂质含量高,平滑肌细胞和胶原蛋白含量低^[9-10]。减少脂质沉积和内膜的炎症细胞浸润可明显抑制动脉粥样硬化的发展、降低斑块脆性^[11]。高含量的平滑肌细胞和形成厚纤维帽的胶原蛋白也有助于斑块的稳定。本研究发现,柚皮素通过激活平滑肌细胞 STAT6,上调动脉斑块内 TIMP-3 的表达、降低 MMP 活性,从而改善 TIMP/MMP 平衡,并提高胶原含量、保持弹力纤维的完整性,促进斑块稳定。

之前的报道表明,TIMP-3 可被多种细胞因子诱导表达。在大鼠软骨细胞中,TGF- β 1 通过 ERK1/2/Smad2/3 信号途径促进 TIMP-3 的表达^[12]。IL-6 家族成员抑瘤素 M 可激活 MAPK (ERK、p38、JNK) 和 JAK1/STAT1 磷酸化,诱导 TIMP-3 的表达^[13]。本研究发现,天然产物柚皮素通过激活平滑肌细胞 STAT6,上调动脉斑块内 TIMP-3 的表达、降低 MMP 活性,从而改善 TIMP/MMP 平衡。

维持细胞外基质的动态平衡影响血管功能,动脉的细胞外基质重构,特别是胶原、弹力蛋白等成分的改变直接导致血管重构和血管疾病,如腹主动脉瘤(abdominal aortic aneurysm, AAA)和高血压的发生。TIMP-3 是一种内源性细胞外 MMP 抑制剂,在维持血管稳态中具有重要的作用。已知抑制 TIMP-3 促进血管紧张素 II 诱导的小鼠 AAA 和高血压,降低存活率^[3-5,14]。而且,柚皮素可以通过降低炎症和氧化应激抑制高血压^[15-18],活化巨噬细胞抑制 AAA^[19]。本研究证明柚皮素通过上调 TIMP-3 参与细胞外基质重构,提示柚皮素可能通过调控 TIMP-3,影响 AAA 和高血压。

TIMP-3 可抑制 TACE/ADAM17 活性,降低 TNF- α 与膜结合,减少可溶性 TNF- α 诱导的炎症反应,包括诱导巨噬细胞中炎症因子的产生和 NF- κ B 激活^[20-21],这说明 TIMP-3 具有一定的抗炎作用。炎症和脂质积累增加斑块的脆性。那么柚皮素对斑块的稳定作用是否与其通过 TIMP-3 抑制炎症的作用有关还需要进一步研究。

综上所述,柚皮素可通过激活转录因子 STAT6 活性,促进 TIMP-3 表达,进而抑制斑块内胶原和弹

力纤维的降解,提高斑块的稳定性。该研究结果提高了柚皮素对动脉粥样硬化病变防治作用的认识。

[参考文献]

- [1] WANG X, KHALIL R A. Matrix metalloproteinases, vascular remodeling, and vascular disease [J]. *Adv Pharmacol*, 2018, 81: 241-330.
- [2] FAN D, KASSIRI Z. Biology of tissue inhibitor of metalloproteinase 3 (TIMP3), and its therapeutic implications in cardiovascular pathology [J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 661.
- [3] BASU R, LEE J, MORTON J S, et al. TIMP3 is the primary TIMP to regulate agonist-induced vascular remodelling and hypertension [J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 98(3): 360-371.
- [4] HWANG J S, KIM H J, KIM G, et al. PPAR δ reduces abdominal aortic aneurysm formation in angiotensin II-infused apolipoprotein E-deficient mice by regulating extracellular matrix homeostasis and inflammatory responses [J]. *Int J Cardiol*, 2014, 174(1): 43-50.
- [5] DI GREGOLI K, MOHAMAD ANUAR N N, BIANCO R, et al. MicroRNA-181b controls atherosclerosis and aneurysms through regulation of TIMP-3 and elastin [J]. *Circ Res*, 2017, 120(1): 49-65.
- [6] MULVIHILL E E, ASSINI J M, SUTHERLAND B G, et al. Naringenin decreases progression of atherosclerosis by improving dyslipidemia in high-fat-fed low-density lipoprotein receptor-null mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(4): 742-748.
- [7] 曾梦雅, 王燕, 李伍夫. 柚皮素与代谢综合征的研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2016, 24(10): 1055-1058.
ZENG M Y, WANG Y, LI W F. Research progress of naringenin on metabolic syndrome [J]. *Chin J Arterioscler*, 2016, 24(10): 1055-1058.
- [8] LI R L, WANG L Y, DUAN H X, et al. Natural flavonoids derived from herbal medicines are potential anti-atherogenic agents by inhibiting oxidative stress in endothelial cells [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1141180.
- [9] 宋博策, 谢蓓莉, 刘明旺, 等. 基于数据挖掘的动脉粥样硬化易损斑块动物模型分析 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2022, 30(11): 974-981.
SONG B C, XIE B L, LIU M W, et al. Analysis of animal model of atherosclerotic vulnerable plaque based on data mining [J]. *Chin J Arterioscler*, 2022, 30(11): 974-981.
- [10] YAN A, GOTLIEB A I. The microenvironment of the atheroma expresses phenotypes of plaque instability [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2023, 67: 107572.
- [11] ASARE Y, CAMPBELL-JAMES T A, BOKOV Y, et al. Histone deacetylase 9 activates IKK to regulate atherosclerotic plaque vulnerability [J]. *Circ Res*, 2020, 127(6): 811-823.
- [12] WANG X, ZHU Y H, TAO H R, et al. Interaction of ERK1/2 and Smad2/3 signaling pathways in TGF- β 1-induced TIMP-3 expression in rat chondrocytes [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2014, 564: 229-236.

(下转第 582 页)

- muscle cells induced by advanced glycation end products[J]. *Chin J Arterioscler*, 2021, 29(10): 845-850.
- [15] LAUDENSLAGER M, LAZO M, WANG D, et al. Association between the soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) and NAFLD in participants in the Atherosclerosis Risk in Communities Study[J]. *Dig Liver Dis*, 2021, 53(7): 873-878.
- [16] PRIKEN K, TAPIA G, CADAGAN C, et al. Higher hepatic advanced glycation end products and liver damage markers are associated with nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Nutr Res*, 2022, 104: 71-81.
- [17] NJAU F, HALLER H. Calcium dobesilate modulates PKC δ -NADPH oxidase-MAPK-NF- κ B signaling pathway to reduce CD14, TLR4, and MMP9 expression during monocyte-to-macrophage differentiation: potential therapeutic implications for atherosclerosis[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(11): 1798.
- [18] LIU Q L, PAN J L, BAO L R, et al. Major vault protein prevents atherosclerotic plaque destabilization by suppressing macrophage ASK1-JNK signaling[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2022, 42(5): 580-596.
- [19] CASELLI C, DI GIORGI N, RAGUSA R, et al. Association of MMP9 with adverse features of plaque progression and residual inflammatory risk in patients with chronic coronary syndrome (CCS)[J]. *Vascul Pharmacol*, 2022, 146: 107098.
- [20] KIM K E, LEE J, SHIN H J, et al. Lipocalin-2 activates hepatic stellate cells and promotes nonalcoholic steatohepatitis in high-fat diet-fed Ob/Ob mice[J]. *Hepatology*, 2023, 77(3): 888-901.
- [21] WAGNER J, KUMAR Y, LAUTENBACH A, et al. Fatty acid-binding protein-4 (FABP4) and matrix metalloproteinase-9 (MMP9) as predictive values for nonalcoholic steatohepatitis (NASH)[J]. *Lipids Health Dis*, 2023, 22(1): 1.
- [22] LU Y L, ZHOU M, PENG J, et al. DEL-1 suppression attenuates atherosclerosis by modulating macrophagic GSK-3 β /CEBP- β signaling pathway[J]. *Int J Cardiol*, 2023, 376: 115-124.
- [23] KUMAWAT A K, ZEGEYE M M, PARAMEL G V, et al. Inhibition of IL17A using an affibody molecule attenuates inflammation in ApoE-deficient mice[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 831039.
- [24] DE JAGER S C A, BOT I, KRAAIJEVELD A O, et al. Leukocyte-specific CCL3 deficiency inhibits atherosclerotic lesion development by affecting neutrophil accumulation[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(3): e75-e83.
- [25] KAZEMIAN S, AHMADI R, FERNS G A, et al. Correlation of miR-24-3p and miR-595 expression with CCL3, CCL4, IL1- β , TNF α IP3, and NF- κ B genes in PBMCs of patients with coronary artery disease[J]. *EXCLI J*, 2022, 21: 1184-1195.
- [26] PROFUMO E, BUTTARI B, TOSTI M E, et al. Increased circulating levels of MIP-1 α and CD14 are associated with the presence of severe stenosis and hypoechoic plaques in patients with carotid atherosclerosis[J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2023, 37: 3946320231160411.
- [27] XU L, CHEN Y P, NAGASHIMADA M Y I, et al. CC chemokine ligand 3 deficiency ameliorates diet-induced steatohepatitis by regulating liver macrophage recruitment and M1/M2 status in mice[J]. *Metabolism*, 2021, 125: 154914.
- (此文编辑 文玉珊)

(上接第 572 页)

- [13] LI W Q, DEHNADE F, ZAFARULLAH M. Oncostatin M-induced matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase-3 genes expression in chondrocytes requires Janus kinase/STAT signaling pathway[J]. *J Immunol*, 2001, 166(5): 3491-3498.
- [14] BASU R, FAN D, KANDALAM V, et al. Loss of Timp3 gene leads to abdominal aortic aneurysm formation in response to angiotensin II[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(53): 44083-44096.
- [15] 李军芳, 来利红. 柚皮素对高糖诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡及 Nrf2/ARE 信号通路的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2022, 30(12): 1040-1044.
- LI J F, LAI L H. Effects of naringenin on apoptosis and Nrf2/ARE signaling pathway of H9c2 cardiomyocytes induced by high glucose[J]. *Chin J Arterioscler*, 2022, 30(12): 1040-1044.
- [16] LIU H, ZHAO H, CHE J, et al. Naringenin protects against hypertension by regulating lipid disorder and oxidative stress in a rat model[J]. *Kidney Blood Press Res*, 2022, 47(6): 423-432.
- [17] ZHANG L, YANG Z H, LI X Y, et al. Anti-atherosclerotic effects of naringenin and quercetin from *Folium Artemisiae argyi* by attenuating Interleukin-1 β (IL-1 β)/matrix metalloproteinase 9 (MMP9): network pharmacology-based analysis and validation[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2023, 23(1): 378.
- [18] ADETUNJI J A, FASAE K D, AWE A I, et al. The protective roles of citrus flavonoids, naringenin, and naringin on endothelial cell dysfunction in diseases[J]. *Heliyon*, 2023, 9(6): e17166.
- [19] JIA Y T, ZHANG L, LIU Z Y, et al. Targeting macrophage TFEB-14-3-3 epsilon interface by naringenin inhibits abdominal aortic aneurysm[J]. *Cell Discov*, 2022, 8(1): 21.
- [20] BORLAND G, MURPHY G, AGER A. Tissue inhibitor of metalloproteinases-3 inhibits shedding of L-selectin from leukocytes[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(5): 2810-2815.
- [21] AMOUR A, SLOCOMBE P M, WEBSTER A, et al. TNF- α converting enzyme (TACE) is inhibited by TIMP-3[J]. *FEBS Lett*, 1998, 435(1): 39-44.
- (此文编辑 文玉珊)