

本文引用: 吴丽丽, 沈宇. 扰动流调控内皮细胞组蛋白去甲基化酶 KDM5B 和 H3K4me3 对颈动脉斑块形成的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2025, 33(2): 117-124. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2025.02.004.

[文章编号] 1007-3949(2025)33-02-0117-08

· 实验研究 ·

## 扰动流调控内皮细胞组蛋白去甲基化酶 KDM5B 和 H3K4me3 对颈动脉斑块形成的影响

吴丽丽, 沈宇

苏州大学附属苏州九院, 江苏省苏州市 215200

**[摘要]** **[目的]** 探讨扰动流是否通过调控组蛋白去甲基化酶 KDM5B 和表观遗传修饰影响内皮细胞功能和动脉粥样硬化斑块形成。**[方法]** 通过部分颈动脉结扎术(PCL), 利用单细胞数据分析和免疫荧光染色观察扰动流作用下野生型小鼠颈动脉内皮细胞组蛋白甲基化水平和组蛋白去甲基化酶的表达变化; 利用 qPCR 和 Western blot 检测暴露于扰动流诱导的内皮细胞 KDM5B 和 H3K4me3 的表达; 利用普通转录组测序分析 KDM5B 敲降对内皮细胞功能的影响; 内皮细胞成环实验验证 KDM5B 对血管生成的影响; PCL 结合高脂饲料喂食 2 周构建颈动脉斑块模型分析 KDM5B 敲降对斑块形成的影响。**[结果]** 血管内皮细胞上存在大量 H3K4me3 甲基化修饰。扰动流使内皮细胞 H3K4me3 水平下降 ( $P < 0.01$ ), 并上调组蛋白去甲基化酶 KDM5B 表达 ( $P < 0.05$ )。与对照组相比, 抑制 KDM5B 活性或敲降 KDM5B 表达后可以提高内皮细胞 H3K4me3 水平 ( $P < 0.05$ )。与 Con313 对照组相比, KDM5B 敲降可以抑制内皮细胞血管生成, 并使 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠颈动脉斑块面积减少 41.45% (Con313 对照组: 42.17% ± 1.90%, shKDM5B 敲降组: 24.69% ± 1.60%,  $P < 0.01$ )。**[结论]** 血液扰动流通过促进 KDM5B 表达, 降低 H3K4me3 修饰, 促进血管生成和动脉粥样硬化斑块形成, 靶向 KDM5B-H3K4me3 轴可作为心血管疾病相关的候选治疗靶点。

**[关键词]** 扰动流; H3K4me3; KDM5B; 内皮细胞; 颈动脉斑块形成

**[中图分类号]** R5; R363

**[文献标识码]** A

### The effect of disturbed flow regulation on endothelial histone demethylase KDM5B and H3K4me3 on carotid plaque formation

WU Lili, SHEN Yu

The Ninth Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215200, China

**[ABSTRACT]** **Aim** To investigate whether disturbed flow affects endothelial cell function and atherosclerotic plaque formation by regulating histone demethylase KDM5B and epigenetic modification. **Methods** After partial carotid artery ligation (PCL), single-cell data analysis and immunofluorescence staining were used to investigate the changes of histone methylation level and histone demethylase expression in carotid endothelial cells of wild type mice under perturbed flow. qPCR and Western blot were used to detect the expression of KDM5B and H3K4me3 in endothelial cells exposed to disturbed flow. Transcriptome sequencing was used to analyze the effect of KDM5B knockdown on endothelial cell function. Endothelial cell ring formation assay was used to verify the effect of KDM5B on angiogenesis. PCL combined with high-fat diet for 2 weeks was used to establish a carotid artery plaque model to analyze the effect of KDM5B knockdown on plaque formation. **Results** There was a large amount of H3K4me3 methylation in vascular endothelial cells. Blood disturbed flow reduced the methylation of H3K4me3 ( $P < 0.01$ ) and promoted the expression of histone demethylases KDM5B in endothelial cells ( $P < 0.05$ ). Compared with control group, inhibition of KDM5B activity or knockdown of KDM5B increased H3K4me3 level in endothelial cells ( $P < 0.05$ ). Compared with Con313 control group, KDM5B knockdown reduced atherosclerotic plaque formation by 41.45% (Con313 control group: 42.17% ± 1.90%, shKDM5B knock-

[收稿日期] 2024-10-26

[修回日期] 2025-01-21

[基金项目] 江苏省研究生科研创新计划项目 (KYCX22\_3216)

[作者简介] 吴丽丽, 博士, 研究方向为动脉粥样硬化与血管生物学, E-mail: wlljsd@sina.com。通信作者沈宇, 副主任医师, 擅长肝胆胰脾及疝方面的诊治和微创治疗, E-mail: 1055709235@qq.com。

down group:  $24.69\% \pm 1.60\%$ ,  $P < 0.01$ ) by inhibiting angiogenesis. **Conclusions** Blood disturbed flow promotes KDM5B expression, reduces H3K4me3 modification, and promotes angiogenesis and atherosclerotic plaque formation. Targeting the KDM5B-H3K4me3 axis can be used as a candidate therapeutic target related to cardiovascular diseases.

[**KEY WORDS**] disturbed flow; H3K4me3; KDM5B; endothelial cell; carotid plaque formation

血管内皮细胞(endothelial cell, EC)是血管壁与血流之间的一道具有选择通透性的屏障,对于维持血管内环境稳态有重要作用<sup>[1]</sup>。研究表明,内皮细胞表面多种机械力感受器可以感知血流并通过机械敏感的信号传导途径将机械信号传递至受体分子并转化为细胞内的生物化学信号,导致内皮细胞表型和功能的改变<sup>[2]</sup>。当内皮细胞受到持续或过度的机械刺激时,血管内皮屏障的完整性可能会受到破坏,血液中的有害物质如脂质和炎症因子易渗透至血管壁,进而引发一系列病理生理过程<sup>[3]</sup>。表观遗传学是指在 DNA 序列不变的情况下基因表达的可遗传变化,主要包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰和非编码 RNA 的调控<sup>[4-5]</sup>。组蛋白甲基化与去甲基化是一种重要的翻译后修饰,通常在组蛋白 H3 的赖氨酸残基上添加或去除甲基。这个过程由组蛋白赖氨酸甲基转移酶和组蛋白赖氨酸去甲基化酶(histone lysine demethylase, KDM)的动态改变催化完成<sup>[6]</sup>。在染色质上, H3K4 和 H3K36 被视为活跃转录基因区域的活性标记, H3K9 和 H3K27 则被视为抑制性标记,与基因表达的沉默相关<sup>[7]</sup>。组蛋白去甲基化酶 KDM5B 可以调控 H3K4me2/3 位点去甲基,与胚胎生长发育、肿瘤发生和耐药性相关<sup>[8-11]</sup>。近年的研究表明, KDM5B 缺乏可以通过促进 ATF3 转录激活,减少心肌纤维化并改善心功能<sup>[12]</sup>。研究发现, KDM5B 敲降对内皮细胞迁移、血管出芽和管形成方面有明显的抑制作用<sup>[13]</sup>。尽管组蛋白甲基化修饰在血管平滑肌细胞自噬、增殖迁移及表型分化等过程中发挥了关键的调控作用<sup>[14]</sup>,但组蛋白甲基化水平在血管内皮细胞中的表达模式还不是很清楚。本研究利用扰动流模型,探究组蛋白甲基化修饰在血管内皮细胞中的表达、KDM5B 对内皮细胞的影响及其在动脉粥样硬化中的作用,为深入理解表观遗传修饰如何调控血管细胞功能及动脉粥样硬化的发生发展提供新的实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

6~8 周龄野生型小鼠(C57BL/6J 背景)和 ApoE<sup>-/-</sup>

小鼠购自集萃药康生物科技股份有限公司,饲养于苏州大学实验动物中心。适应环境 1~2 周,随机分为实验组和对照组(每组  $n \geq 6$  只小鼠)。所有动物实验获得苏州大学动物福利与伦理委员会批准。

### 1.2 细胞培养和慢病毒感染

人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)购自 ATCC 细胞库,于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。shKDM5B 和 Con313 对照病毒购自吉凯公司,细胞培养密度为 80% 时进行转染。按照感染复数(multiplicity of infection, MOI)为 50 的比例,用无血清培养基稀释,同时每孔加入 20 μL 转染试剂 HiTransG,混合后加入 HUVEC 中,4~6 h 后将培养基更换为新鲜完全培养基(含 10% FBS 的 ECM),并持续观察细胞状态。

### 1.3 小鼠部分颈动脉结扎手术和动脉粥样硬化模型的建立

用异氟烷气体麻醉小鼠,剪开小鼠左侧皮肤,钝性分离组织,结扎颈外动脉、颈内动脉和枕动脉,确保甲状腺上动脉保持血液流通状态。缝合皮肤,用碘伏进行消炎处理,24 h 后,利用小动物超声设备监测小鼠颈动脉血流。将 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠高脂喂养结合扰动流模型,诱导小鼠颈动脉粥样硬化斑块形成。高脂饲料购自戴茨生物科技有限公司。

### 1.4 免疫荧光染色

小鼠经麻醉灌流,镜下取颈动脉血管,经过脱水、包埋、切片等处理后置于 -20 °C 保存。将切片的样本进行干燥、固定、封闭、孵育一抗过夜,并在 PBS 洗涤后孵育二抗,室温 1 h 后进行封片和激光共聚焦显微镜拍摄。

### 1.5 体外扰动流实验

使用改良的体外锥板扰流装置,通过产生  $15 \pm 5$  dyn/cm<sup>2</sup> 振荡剪切应力(oscillatory shear stress, OS)以模拟体内血管弯曲处血流的紊乱状态,或产生 15 dyn/cm<sup>2</sup> 层状剪切应力(laminar shear stress, LS)以模拟血管平直部位的血流状态<sup>[15]</sup>,对培养皿中的 HUVEC 处理 24 h。

### 1.6 内皮细胞血管环实验

使用 Matrigel 基质胶铺板,每孔加入适量的 Ma-

trigel, 37 °C 孵育 30 min 使其凝固。将敲降 KDM5B 的 HUVEC 和对照组细胞分别消化、计数, 以适当密度接种于 Matrigel 包被的孔板中。在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中继续培养细胞。使用倒置显微镜观察细胞成环情况, 记录成环的数目、形态及完整性。

### 1.7 qPCR 检测

根据总 RNA 提取试剂盒说明书提取 RNA, 并通过 5X-All-In-One 试剂反转录成 cDNA。利用 SYBRGreen 染料结合实时荧光定量 PCR 仪进行扩增, 使用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 方法统计结果。引物序列见表 1。

表 1. 引物序列

Table 1. Primer sequences

基因	正义链	反义链
鼠 KDM5A	5'-TGCAAATGAGACAACGGAAAGG-3'	5'-CTGTCATCGCACCCATCACA-3'
鼠 KDM5B	5'-CTGTGGGCTCACATATCAGGG-3'	5'-TGGGGTTTGTACTCCTTGTCC-3'
鼠 KDM5C	5'-GACCCATCGCCGAGAAGTC-3'	5'-TCGGGGAGTAAACCTGAAGTT-3'
鼠 KDM5D	5'-ATGAAGCCAGGATCTGACGAC-3'	5'-GCCAAGAGGATCGCGGAAT-3'
鼠 GAPDH	5'-AGGTCGGTGTGAACGGATTTG-3'	5'-GGGGTCGTTGATGGCAACA-3'
人 KDM5B	5'-AGTGGGCTCACATATCAGAGG-3'	5'-CAAACACCTTAGGCTGTCTCC-3'
人 C1QTNF6	5'-TGCCTGAGATCAGACCCTACA-3'	5'-GCCCACTGAGAAGGCGAAG-3'
人 GAPDH	5'-ACAACCTTTGGTATCGTGAAGG-3'	5'-GCCATCACGCCACAGTTTC-3'

### 1.8 Western blot 检测

使用 RIPA 裂解液进行总蛋白提取, 并采用 BCA 法进行测定。高温变性后进行 SDS-PAGE 电泳, 转印至 PVDF 膜后, 用脱脂牛奶封闭 1 h, 后续进行目的蛋白一抗孵育过夜, 第二天进行荧光二抗孵育, 最后通过双色红外成像系统拍照和 Image J 软件统计分析。

### 1.9 统计学分析

数据用 GraphPad Prism 8 软件进行统计, 以  $\bar{x} \pm s$  表示。两组之间采用非配对的双侧双尾 *t* 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 组蛋白 H3K4me3 甲基化修饰在血管内皮细胞中高表达

为了研究血管内皮细胞组蛋白甲基化状态, 用免疫荧光染色检测了最为广泛的组蛋白 H3 甲基化修饰: H3K4me3 (与转录激活相关)、H3K9me3、H3K27me3 (与基因沉默相关) 和 H3K36me3 (与转录延伸相关) 水平。结果发现, H3K4me3 在血管内皮细胞中的表达比在非内皮细胞中的表达高 5.56 倍 ( $P < 0.01$ ), 而 H3K9me3、H3K27me3 及 H3K36me3 在内皮细胞与非内皮细胞中的表达差异无显著性 (图 1)。

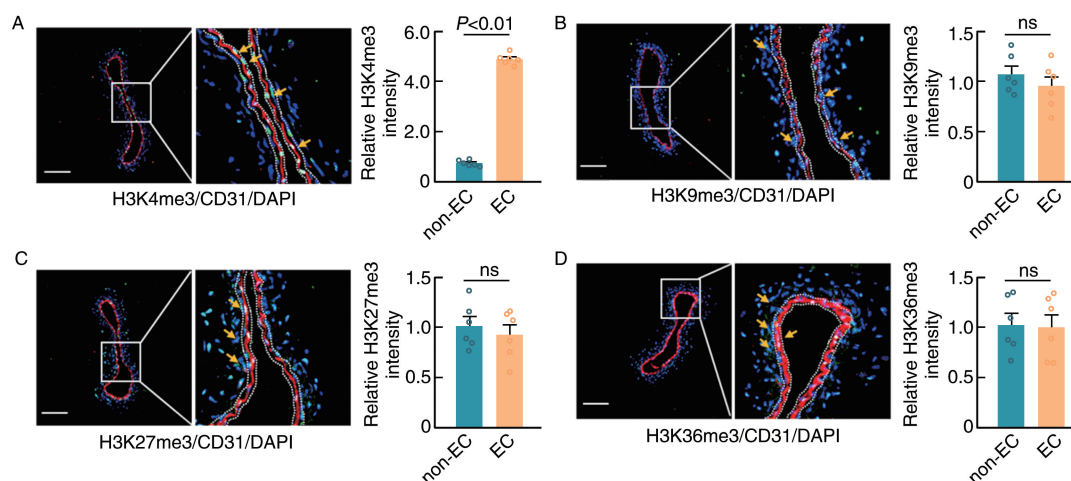


图 1. H3K4me3、H3K9me3、H3K27me3 和 H3K36me3 在颈动脉内皮细胞中的表达

小鼠颈动脉的代表性横切面免疫荧光图, 分别用 CD31 (红)、H3K4me3 (绿) (A)、H3K9me3 (绿) (B)、H3K27me3 (绿) (C)、H3K36me3 (绿) (D) 和细胞核 DAPI (蓝) 染色。n=6, 比例尺为 100 μm。

Figure 1. Expression of H3K4me3, H3K9me3, H3K27me3 and H3K36me3 in carotid endothelial cells

## 2.2 扰动流抑制内皮细胞 H3K4me3 甲基化修饰

为了探究血管内皮细胞中相对高表达的 H3K4me3 修饰对基因表达调控的影响,利用部分颈动脉结扎 (partial carotid ligation, PCL) 模型,诱导小鼠颈动脉血流紊乱<sup>[16]</sup>。结果显示,血流紊乱的颈动脉血管内皮细胞中 H3K4me1 的蛋白表达下调 47% ( $P < 0.05$ ), H3K4me3 的蛋白表达下调 83% ( $P <$

0.01), 而 H3K4me2 的蛋白表达差异没有显著性。为了进一步验证该结果,利用体外锥板扰动流装置处理内皮细胞。结果显示,与层流 LS 条件相比,暴露于扰动流 OS 的内皮细胞中 H3K4me3 的蛋白表达显著降低,下调 49% ( $P < 0.01$ ), 而 H3K4me1/2 蛋白表达差异没有显著性 (图 2)。

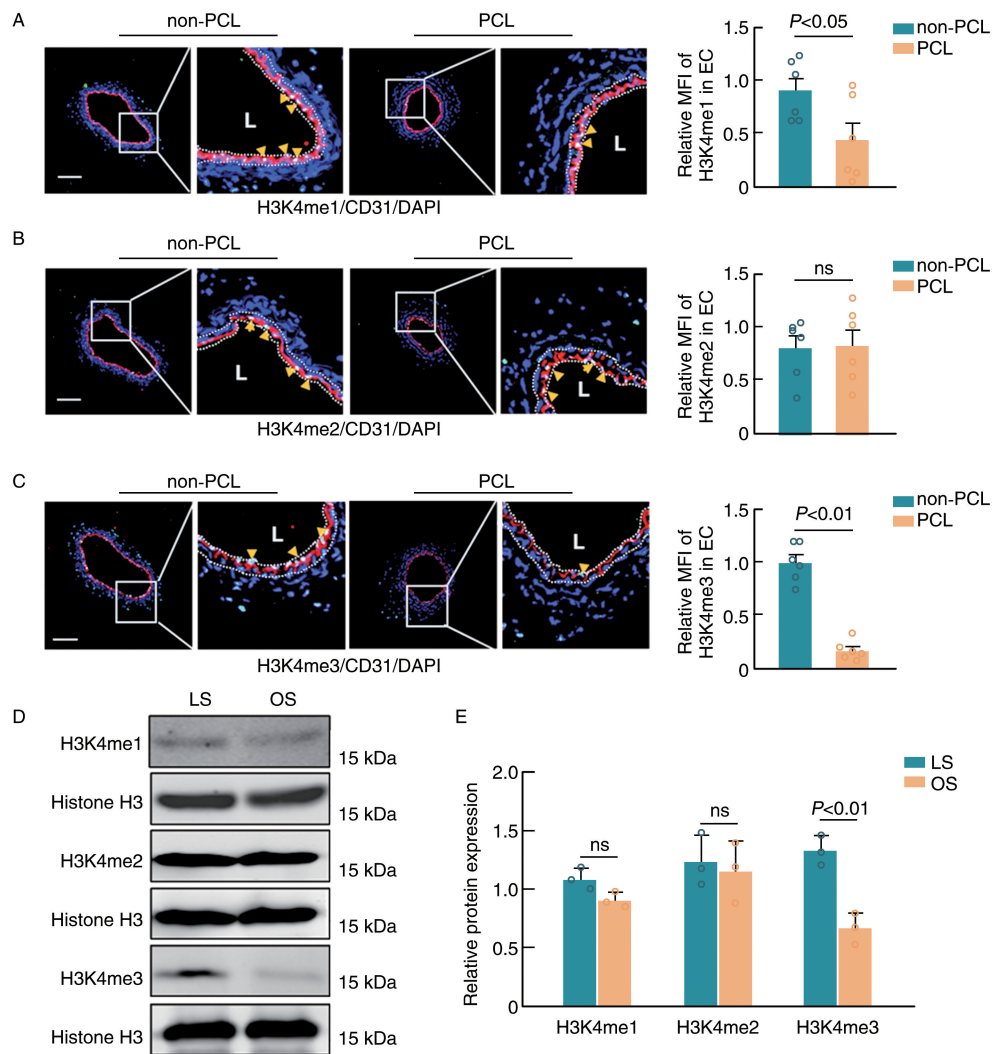


图 2. 扰动流对内皮细胞 H3K4me1/2/3 甲基化修饰的影响

小鼠颈动脉的代表性横切面免疫荧光图,分别用 CD31(红)、H3K4me1(绿)(A)、H3K4me2(绿)(B)、H3K4me3(绿)(C)和细胞核 DAPI(蓝)染色;Western blot 检测暴露于层流和振荡流刺激下 H3K4me1/2/3 的表达变化(D 和 E)。n=6,比例尺为 100  $\mu\text{m}$ 。

Figure 2. Effect of disturbed flow on H3K4me1/2/3 methylation in endothelial cells

## 2.3 扰动流促进内皮细胞 H3K4 位点组蛋白去甲基化酶 KDM1A 和 KDM5B 的表达

为了探究扰动流是否能够调控 H3K4 位点的组蛋白去甲基化酶,通过分析 PCL 小鼠模型单细胞 RNA 测序的数据,检索了所有调控 H3 组蛋白 4 位赖氨酸去甲基化酶在扰动流诱导的内皮细胞亚群中的表达<sup>[17]</sup>。结果显示,KDM1A、KDM5A、KDM5B

三个基因可以被检索到,并且这三个基因在扰动流诱导的内皮细胞亚群中表达,尤其是 KDM5B。为了进一步验证扰动流诱导的内皮细胞组蛋白去甲基化酶的表达,对野生型小鼠左颈动脉进行 PCL 手术,1 周后取左颈动脉 (PCL 组) 和右颈动脉 (non-PCL 组),qPCR 检测结果显示,与 non-PCL 组相比, PCL 组中 KDM1A 和 KDM5B 的 mRNA 表达显著增

加,前者增加 39.4% ( $P<0.01$ ),后者增加 1.36 倍 ( $P<0.05$ ;图 3)。

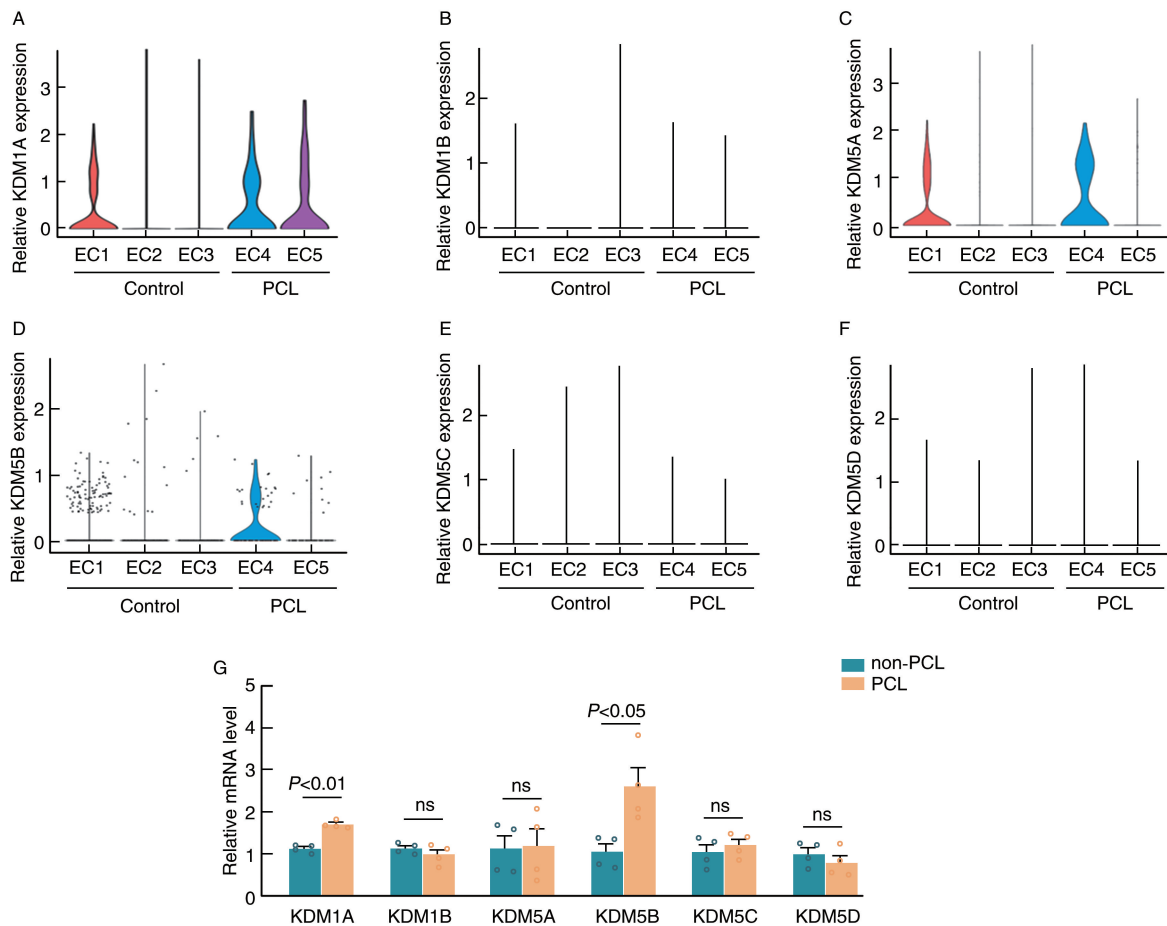


图 3. 单细胞转录谱和 qPCR 检测 H3K4 位点的组蛋白去甲基化酶在血管内皮细胞亚群中的表达

组蛋白去甲基化酶在五个内皮细胞亚群中的表达的小提琴图(A-F);PCL 或 non-PCL 后颈动脉 KDM1A、KDM1B、KDM5A、KDM5B、KDM5C 和 KDM5D 的 mRNA 表达水平,以 GAPDH 标准化,相对于基线(non-PCL)的相对倍数变化,小鼠 12 只,3 只小鼠合并一组提取 RNA(G)。

Figure 3. Single-cell transcriptional profiling and qPCR detected the expression of histone demethylase at H3K4 site in vascular endothelial cell subsets

#### 2.4 KDM5B 对抗动流诱导的内皮细胞 H3K4me3 甲基化的影响

为了验证内皮细胞 KDM5B 对抗动流诱导的 H3K4me3 表达变化,将 KDM5 抑制剂 KDM5B-IN-1 通过灌胃的方式在野生型小鼠体内抑制 KDM5B 的活性。免疫荧光染色结果显示,与溶剂对照组相比,抑制 KDM5B 活性后,内皮细胞中 H3K4me3 的表达增加 6.8 倍 ( $P<0.01$ )。将携带 shKDM5B 或 Con313 慢病毒滴注到野生型小鼠的左侧颈总动脉,进行原位 KDM5B 敲降。结果显示,与 Con313 对照相比,KDM5B 敲降组内皮细胞中 H3K4me3 的表达增加 1.9 倍 ( $P<0.01$ )。此外,KDM5B 抑制剂 GSK467 可以显著增加内皮细胞 H3K4me3 的甲基化修饰( $P<0.05$ )。用慢病毒构建 KDM5B 敲降的

内皮细胞(shKDM5B)后,Western blot 结果显示,与转染 Con313 的细胞相比,敲降的内皮细胞中 KDM5B 的表达降低 45.7% ( $P<0.05$ ),并且在 shKDM5B 转染的内皮细胞中,H3K4me3 修饰水平显著上调( $P<0.05$ ;图 4)。

#### 2.5 KDM5B 敲降抑制内皮细胞血管生成和斑块形成

为了探究 KDM5B 对内皮细胞功能的影响,对 KDM5B 敲降的内皮细胞进行血管成环实验,将转染 Con313 的细胞和转染 KDM5B 的敲降细胞同时消化后置于基质胶中培养 6 h,观察细胞形态。结果显示,与 Con313 对照组相比,KDM5B 敲降的内皮细胞在基质胶上的成环能力明显减弱,表现为成环数目减少 57.1% ( $P<0.01$ )、长度降低 55.8% ( $P<0.01$ ),且已形成的环状结构较为松散、不完整。动脉粥样

硬化斑块多形成于血流紊乱的部位,于是验证了 KDM5B 敲降对扰动流诱导的动脉粥样硬化斑块形成的影响。结果显示,与 Con313 转染 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠

相比,shKDM5B 转染 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠的颈动脉斑块面积降低 41.45% (42.17% ± 1.90% 比 24.69% ± 1.60%,  $P < 0.01$ ; 图 5)。

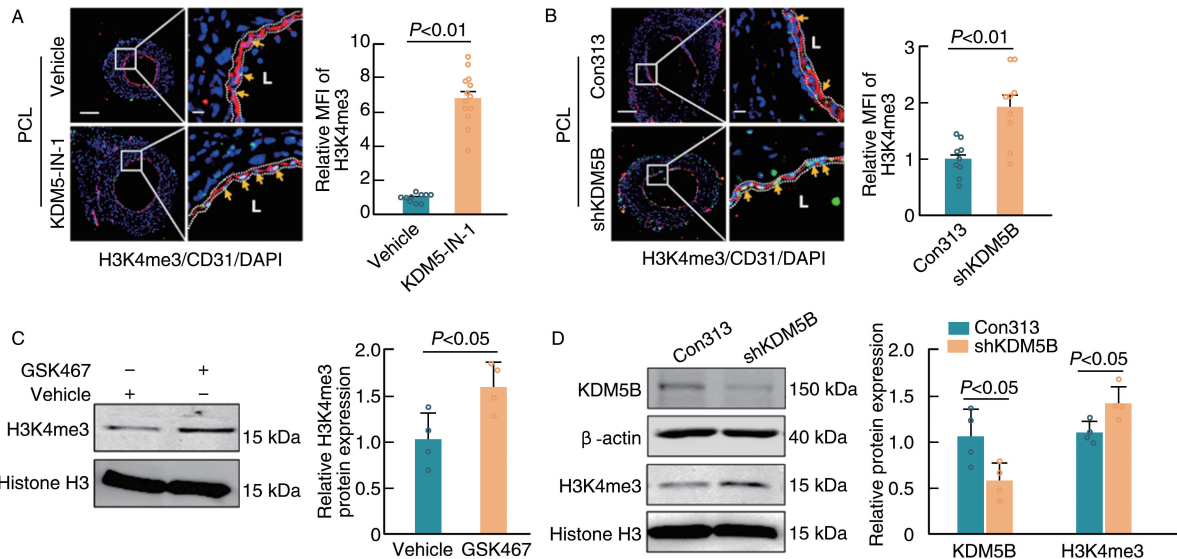


图 4. KDM5B 敲降或活性抑制对内皮细胞 H3K4me3 甲基化修饰的影响

抑制 KDM5B 后,内皮细胞中 H3K4me3 的表达,小鼠颈动脉的代表性横切面免疫荧光图,分别用内皮细胞标志物 CD31(红)、H3K4me3(绿)和细胞核 DAPI(蓝)染色(A和B);抑制 KDM5B 后,HUVEC 中 H3K4me3 的表达(C和D)。n ≥ 8,比例尺为 100 μm。

Figure 4. Effect of KDM5B knockdown or activity inhibition on endothelial H3K4me3 methylation modification

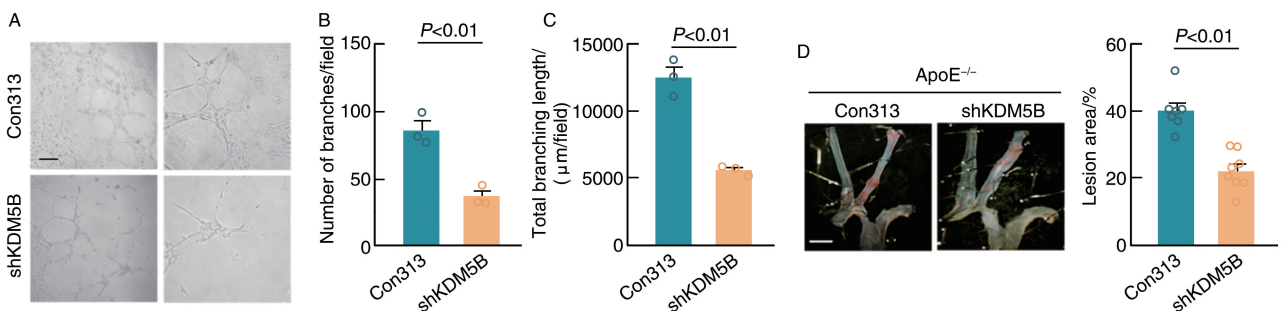


图 5. KDM5B 敲降抑制内皮细胞血管生成和斑块形成

内皮细胞血管成环实验和统计(A-C);KDM5B 敲降后,颈动脉斑块的统计(D)。n ≥ 6,A 图中左侧比例尺为 250 μm,右侧比例尺为 500 μm。

Figure 5. Knockdown of KDM5B inhibited angiogenesis and plaque formation

## 2.6 KDM5B 敲降上调内皮细胞抗血管生成分子 C1QTNF6 表达

为了进一步探究 KDM5B 对内皮细胞血管生成的分子机制,将 KDM5B 敲降的内皮细胞进行普通转录组测序。结果显示,在 KDM5B 敲降之后,有 329 个基因上调,有 189 个基因下调。对差异基因进行信号通路分析后,发现差异基因主要集中在病毒感染、炎症和动脉粥样硬化等信号通路。在分析差异基因火山图时,发现 C1QTNF6 高表达。检索该基因的研究进展,发现 C1QTNF6 被报道可抑制血小

板源性生长因子 BB (platelet-derived growth factor-BB, PDGF-BB) 诱导的血管内皮细胞增殖和迁移,从而减缓动脉粥样硬化的进展<sup>[18]</sup>。于是检测了 C1QTNF6 在 KDM5B 敲降之后的表达,qPCR 和 Western blot 结果显示,KDM5B 敲降促进 C1QTNF6 的表达( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ;图 6)。

## 3 讨论

本研究解析了组蛋白的甲基化水平在血管中

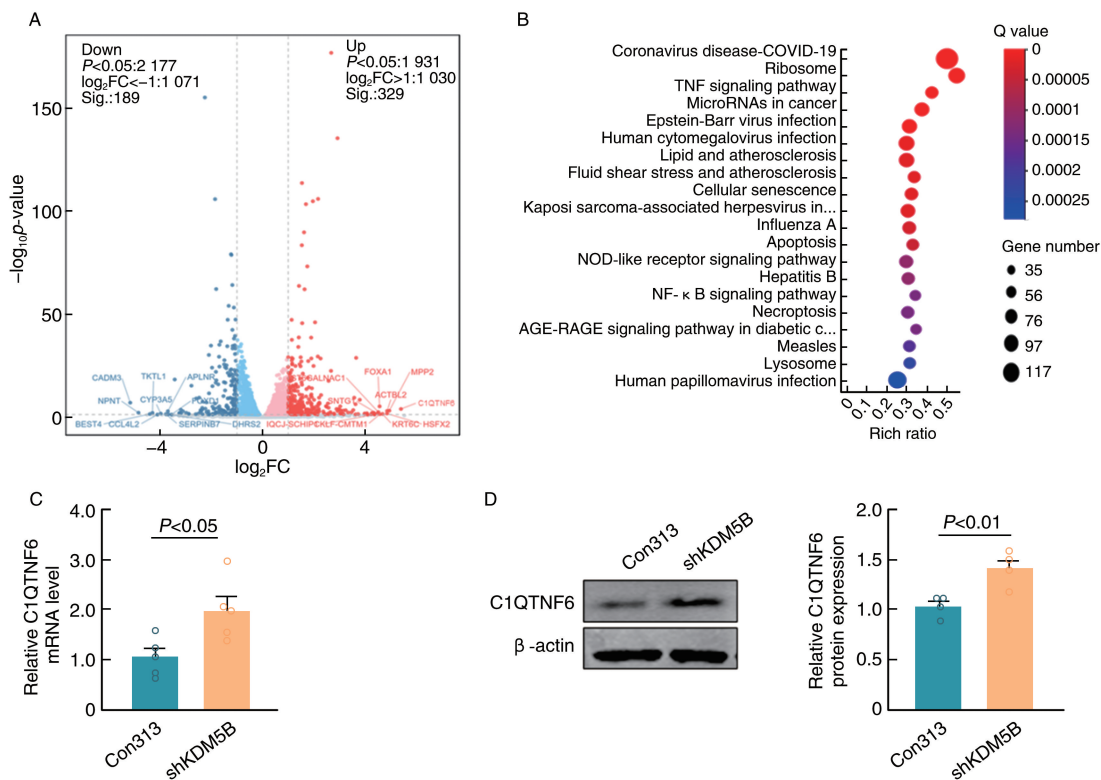


图 6. KDM5B 敲降上调 C1QTNF6 表达

KDM5B 敲降的内皮细胞进行普通转录组测序分析(A-B), Western blot 和 qPCR 验证 C1QTNF6 的表达(C-D)。

Figure 6. KDM5B knockdown upregulated C1QTNF6 expression

的表达模式,证明 H3K4me3 水平在血管内皮细胞中特异性高表达,且扰动流诱导其去甲基化酶 KDM5B 表达上调,从而降低 H3K4me3 修饰。此外,利用普通转录组测序分析,推测 KDM5B 缺失可能是通过影响 C1QTNF6 的表达,抑制血管新生,降低颈动脉斑块形成。本研究结果揭示了 KDM5B 在动脉粥样硬化发生发展中的新作用,为动脉粥样硬化的临床防治提供新的思路。

动脉粥样硬化斑块多发生在血流紊乱的动脉弯曲处和分支点,较少发生在动脉粥样硬化保护性生理层流区域<sup>[19]</sup>。在本研究中,内皮细胞 KDM5B 敲降后,差异表达基因富集在流体剪切应力和动脉粥样硬化这一重要通路,揭示了在扰动流条件下内皮细胞 KDM5B 敲降可能与动脉粥样硬化斑块生成相关。此外,Manea 等<sup>[20]</sup>提供的证据表明,在人颈动脉粥样硬化中,KDM5B 和其他 KDM 亚型(KDM2A、KDM3A、KDM4A 和 KDM5A)的 mRNA 表达显著增加。动脉粥样硬化样本的蛋白质组学分析显示组蛋白去甲基化酶 KDM5 家族成员(尤其是 KDM5D)能直接去除表观遗传调节因子组蛋白标记 H3K4me3 上的甲基,利用 KDM5 抑制剂处理可以抑

制内皮细胞增殖、迁移和血管生成<sup>[21]</sup>。同样,在内皮细胞中敲降 KDM5B,通过降低 HOXA5 启动子上的组蛋白 3 赖氨酸 4 甲基化水平减弱细胞迁移、血管生成以及芽和管的形成<sup>[13]</sup>。本研究发现,在 KDM5B 敲低的内皮细胞中有多个基因上调,其中 C1QTNF6 属于高度保守的脂联素类似物家族,过表达 C1QTNF6 后可降低血浆中 CRP 水平,促进一氧化氮增加,维持血管稳态<sup>[22]</sup>。此外,C1QTNF6 通过正向调节 ERK1/2 信号通路的激活和 PPAR $\gamma$  的表达以实现对抗血管内皮炎症的调节。

尽管取得了关于 KDM5B 在动脉粥样硬化中作用的初步发现,但并未深入研究内皮细胞 KDM5B 的具体影响。内皮细胞作为血管壁的重要组成部分,其功能异常在动脉粥样硬化的发展中扮演着关键角色<sup>[23]</sup>。因此,在未来的研究中,需要探讨 KDM5B 如何调控内皮细胞的各项功能,包括其增殖、迁移、炎症反应以及血管通透性等方面。此外,扰动流导致内皮细胞 KDM5B 表达上调的分子机制仍然需要更深入的研究来进行解答。组蛋白甲基化水平与基因的转录表达相关,KDM5B 作为组蛋白去甲基化酶,是近年来药物治疗的热门靶点。多项

研究表明, KDM5B 与肿瘤免疫治疗和心脏重塑相关, 抑制剂 AS-8351 可以显著抑制肿瘤生长<sup>[24]</sup>, 抑制剂 GSK467 可以明显改善心肌纤维化现象<sup>[12]</sup>。本研究结果发现, GSK467 可以明显增加 H3K4me3 的水平, 靶向 KDM5B 的抑制剂是否能抑制动脉粥样硬化斑块的形成仍是一个值得研究的方向。

综上, 本研究发现血液扰动流能够诱导内皮细胞 H3K4me3 甲基化水平降低, 促进组蛋白去甲基化酶 KDM5B 高表达。当 KDM5B 缺失后, 通过影响内皮细胞血管成环, 明显抑制动脉粥样硬化斑块形成, 提示血管内皮细胞 KDM5B 与动脉粥样硬化的发生发展密切相关。本研究揭示了组蛋白甲基化修饰及其相关的去甲基化酶在血管内皮细胞中的作用, 为开发与治疗心血管相关疾病提供理论依据和实验基础。

#### [参考文献]

- [1] KRUGER-GENGE A, BLOCKI A, FRANKE R P, et al. Vascular endothelial cell biology: an update[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18): 4411.
- [2] LEHOUX S, CASTIER Y, TEDGUI A. Molecular mechanisms of the vascular responses to haemodynamic forces[J]. *J Intern Med*, 2006, 259(4): 381-392.
- [3] 吴丽丽, 朱力. Semaphorin 家族在动脉粥样硬化中的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(8): 645-651.  
WU L L, ZHU L. The role of semaphorin family in atherosclerosis [J]. *Chin J Arterioscler*, 2021, 29(8): 645-651.
- [4] TEO A Y Y, SQUAIR J W, COURTINE G, et al. Best practices for differential accessibility analysis in single-cell epigenomics[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 8805.
- [5] 张晓璐, 耿妙颖, 王云, 等. N<sup>6</sup>-甲基腺苷修饰在动脉粥样硬化中的作用及药物干预的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2024, 32(4): 277-284.  
ZHANG X L, GENG M Y, WANG Y, et al. Research progress on the role of N<sup>6</sup>-methyladenosine modification in atherosclerosis and drug intervention[J]. *Chin J Arterioscler*, 2024, 32(4): 277-284.
- [6] BLACK J C, VAN RECHEM C, WHETSTINE J R. Histone lysine methylation dynamics: establishment, regulation, and biological impact[J]. *Mol Cell*, 2012, 48(4): 491-507.
- [7] MARTIN C, ZHANG Y. The diverse functions of histone lysine methylation[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6(11): 838-849.
- [8] LIU B, KUMAR R, CHAO H P, et al. Evidence for context-dependent functions of KDM5B in prostate development and prostate cancer[J]. *Oncotarget*, 2020, 11(46): 4243-4252.
- [9] ALBERT M, SCHMITZ S U, KOOISTRA S M, et al. The histone demethylase Jarid1b ensures faithful mouse development by protecting developmental genes from aberrant H3K4me3[J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(4): e1003461.
- [10] ZHANG S M, CAI W L, LIU X, et al. KDM5B promotes immune evasion by recruiting SETDB1 to silence retroelements[J]. *Nature*, 2021, 598(7882): 682-687.
- [11] HINOHARA K, WU H J, SEBASTIEN V, et al. KDM5 histone demethylase activity links cellular transcriptomic heterogeneity to therapeutic resistance[J]. *Cancer Cell*, 2019, 35(2): 330-332.
- [12] WANG B, TAN Y, ZHANG Y, et al. Loss of KDM5B ameliorates pathological cardiac fibrosis and dysfunction by epigenetically enhancing ATF3 expression[J]. *Exp Mol Med*, 2022, 54(12): 2175-2187.
- [13] FORK C, GU L, HITZEL J, et al. Epigenetic regulation of angiogenesis by JARID1B-induced repression of HOXA5[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(7): 1645-1652.
- [14] CAO Y C, SHAN S K, GUO B, et al. Histone lysine methylation modification and its role in vascular calcification[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 863708.
- [15] REZVAN A, NI C W, ALBERTS-GRILL N, et al. Animal, *in vitro*, and *ex vivo* models of flow-dependent atherosclerosis; role of oxidative stress[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 15(5): 1433-1448.
- [16] TANG C, CHEN G, WU F, et al. Endothelial CCRL2 induced by disturbed flow promotes atherosclerosis via chemerin-dependent  $\beta$ 2 integrin activation in monocytes[J]. *Cardiovasc Res*, 2023, 119(9): 1811-1824.
- [17] LI F, YAN K, WU L, et al. Single-cell RNA-seq reveals cellular heterogeneity of mouse carotid artery under disturbed flow[J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 180.
- [18] DONG X, HU H, FANG Z, et al. CTRP6 inhibits PDGF-BB-induced vascular smooth muscle cell proliferation and migration[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 103: 844-850.
- [19] CHIU J J, CHIEN S. Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives[J]. *Physiol Rev*, 2011, 91(1): 327-387.
- [20] MANEA S A, VLAD M L, LAZAR A G, et al. Pharmacological inhibition of lysine-specific demethylase 1A reduces atherosclerotic lesion formation in apolipoprotein E-deficient mice by a mechanism involving decreased oxidative stress and inflammation; potential implications in human atherosclerosis [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(12): 2382.
- [21] BLAIR L P, CAO J, ZOU M R, et al. Epigenetic regulation by lysine demethylase 5 (KDM5) enzymes in cancer[J]. *Cancers (Basel)*, 2011, 3(1): 1383-1404.
- [22] WANG S, MIAO J, QU M, et al. Adiponectin modulates the function of endothelial progenitor cells via AMPK/eNOS signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 493(1): 64-70.
- [23] 雷雪丽, 王震. 中药天然产物调控内皮细胞防治动脉粥样硬化的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2023, 31(1): 70-79.  
LEI X L, WANG Z. Research progress on the regulation of endothelial cells by natural products of traditional Chinese medicine in the prevention and treatment of atherosclerosis [J]. *Chin J Arterioscler*, 2023, 31(1): 70-79.
- [24] LI C Y, WANG W, LEUNG C H, et al. Kdm5 family as therapeutic targets in breast cancer: pathogenesis and therapeutic opportunities and challenges[J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 109.

(此文编辑 文玉珊)