

· 药理 ·

黄连素通过 ERK1/2 通路降低内脏脂肪素诱导 HUVEC 分泌 TNF- α 和 IL-6 的研究

万强¹, 崔小冰¹, 贾钰华^{1*}, 周凤华¹, 赵晓山¹, 孙学刚², 杨静华³

(1. 南方医科大学中医药学院, 广州 510515; 2. 南方医科大学中医分子生物实验室, 广州 510515;
3. 南方医科大学南方医院, 广州 510515)

[摘要] 目的: 观察细胞外调节蛋白激酶(ERK1/2)通路在内脏脂肪素(visfatin)诱导人脐静脉内皮细胞(HUVEC)分泌肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及白介素-6(IL-6)中的作用及黄连素(berberine, Ber)的干预作用。方法: 体外培养 HUVEC, 用 visfatin 不同质量浓度(0, 50, 100, 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、不同时间(0, 6, 12, 24, 48 h)作用 HUVEC, MTT 法测 HUVEC 增殖, ELISA 法测 HUVEC 上清液中 TNF- α 及 IL-6 含量; Western blotting 法测 HUVEC 中 p-ERK1/2 蛋白表达; 并用 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ber 及 ERK1/2 通路特异性抑制剂 PD98059 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 干预 HUVEC, 检测 Ber 的干预作用。结果: 与对照组相比, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ visfatin 能显著抑制 HUVEC 增殖, 升高 HUVEC 上清液中 TNF- α 及 IL-6 含量并能上调 p-ERK1/2 蛋白表达; 与 visfatin 组比, Ber 及 PD98059 均能显著减轻 visfatin 对 HUVEC 增殖的抑制, 减少 visfatin 诱导 HUVEC 上清液中 TNF- α 及 IL-6 的含量并能下调 HUVEC 中 p-ERK1/2 蛋白的表达。结论: Ber 可通过抑制炎症因子 TNF- α 及 IL-6 的分泌, 减轻 visfatin 诱导的 HUVEC 损伤, 其机制可能与抑制 ERK1/2 通路的激活有关。

[关键词] 内脏脂肪素; 细胞外调节蛋白激酶; 黄连素; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-6

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)14-0125-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014140125

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000061.html>

[网络出版时间] 2014-02-25 13:42

Berberine Reduce TNF- α and IL-6 Secreted in HUVEC Induced by Visfatin through ERK1/2 Signal Pathway

WAN Qiang¹, CUI Xiao-bing¹, JIA Yu-hua^{1*}, ZHOU Feng-hua¹,
ZHAO Xiao-shan¹, SUN Xue-gang², YANG Jing-hua³

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;
2. The Key Laboratory of Molecular Biology of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;
3. Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To study the role of extra cellular regulated protein kinases (ERK1/2) pathway in tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) secreted in human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) induced by visfatin and the interventive effect of berberine. **Method:** HUVEC were cultured for the experiment, added concentration gradient group of visfatin (0, 50, 100, 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) and time gradient group of visfatin (0, 6, 12, 24, 48 h) in HUVEC, MTT assay was used to detect the proliferation of HUVEC,

[收稿日期] 20131228(237)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81072776);广州市海珠区科技计划项目(2013-cg-35)

[第一作者] 万强,在读博士,从事心血管病证的中医诊断与防治研究, Tel:15521119606, E-mail: wanqiang109559140@163.com

[通讯作者] * 贾钰华,教授,主任医师,博士生导师,从事心血管疾病的中西医结合诊治研究, Tel:18520041049, E-mail: jyh@smu.edu.cn

the contents of TNF- α and IL-6 in HUVEC supernatant were determined by ELISA assay, the expression of p-ERK1/2 in HUVEC lysate were determined by Western blotting. Berberine (50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) and PD98059 (20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), the specific inhibitor of ERK1/2 pathway, were added into HUVEC to detected the interventive effect of berberine. **Result:** Compared with the control group, visfatin (100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) can significantly decrease the proliferation of HUVEC and increase the TNF- α and IL-6 contents in HUVEC supernatant. Meanwhile, it can increase p-ERK1/2 expression at 24 hours. Compared with the visfatin group, berberine and PD98059 could increase the proliferation of HUVEC and decrease the TNF- α and IL-6 contents in HUVEC supernatant, at the same time, it could restrain p-ERK1/2 expression in HUVEC. **Conclusion:** Berberine can decrease the contents of TNF- α and IL-6 in HUVEC cultural supernatant and the injury induced by visfatin, the protective mechanism is related to the inhibition of ERK1/2 signal pathway activation.

[**Key words**] visfatin; ERK1/2; berberine; tumor necrosis factor- α ; interleukin-6

内脏脂肪素(visfatin)是一种新发现的脂肪细胞因子^[1],既往研究表明 visfatin 与动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)密切相关,并可诱导与 AS 有关的炎症因子的分泌^[2-4]。本课题组最近研究发现 visfatin 可通过调节清道夫受体(SR-A)及 CD-36 的表达,诱导胆固醇的堆积并促进 AS 的发生^[5]。黄连素又名小檗碱,是自毛茛科黄连属植物黄连的根状茎中提取的主要有效成分,研究表明其可通过调节血脂、调节细胞能量代谢、抑制氧化应激、减少细胞凋亡等发挥抗 AS 作用^[6-7]。细胞外调节蛋白激酶(extra cellular regulated protein kinases, ERK1/2)通路的激活可通过促进血管内皮细胞的增生,增加炎症细胞的浸润等参与 AS 的发生和发展^[8]。内皮细胞损伤是 AS 的重要发病机制之一, Ber 能否通过调控 ERK1/2 通路,减少炎症因子的分泌从而降低由 visfatin 诱导的内皮细胞损伤,还不得而知。本研究应用 visfatin 诱导人脐静脉内皮细胞(HUVEC)损伤,加以 Ber 干预,检测上清液中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6(IL-6)的含量及 p-ERK1/2 蛋白的表达,探讨 Ber 抗 AS 作用机制是否通过激活 ERK1/2 通路,减轻 visfatin 诱导的 HUVEC 损伤来实现。

1 材料

1.1 试剂 DMEM 高糖培养基(批号 09/2011, 美国 Gibco 公司),胎牛血清(FBS,批号 121006,杭州四季青生物公司),MTT 干粉、二甲基亚砷(DMSO,批号 200-664-3,美国 Sigma 公司),p-ERK1/2 抗体(批号 09/2012,美国 Cell Signal Technology 公司),IL-6, TNF- α ELISA 试剂盒(批号 80278020, 80011055,美国 Bioscience 公司),盐酸小檗碱(批号 211-195-9,上海信域生物技术有限公司,20 mg 溶解于 1 000 μL DMSO 中),重组人 visfatin 细胞因子(批号 0910M365Rb,美国 Peprotech 公司,5 μg 加入 0.5

mL 超纯水中充分溶解),PD98059(批号 167869-21-8,美国 Tocris Bioscience 公司,5 mg 溶解于 935 μL DMSO 配成浓度 20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

1.2 仪器 HS-840-U 型超净台(苏净集团安泰公司),Macromax 型低温高速离心机(美国 Thermo Electron 公司),241-220 型恒温细胞培养箱(德国 Heraeus 公司),MK3 型酶标定量测定仪(德国 Thermo 公司),ECHO-PLUS 型全自动生化仪(意大利爱康公司),TS100-F 型 Eclipse Ti 荧光倒置显微镜(日本尼康公司),JY-SCZ2 型 SDS 电泳系统(北京君意东方电泳设备有限公司),1703940 型半干转膜仪(美国 Bio-rad 公司),2000MM 型 Kodak Image Station 成像系统(美国 KODAK 公司)。

2 方法

2.1 实验分组及处理 visfatin 不同质量浓度组:分别以 0,50,100,200 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ visfatin 作用 HUVEC 24 h。visfatin 作用不同时间组:以 100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ visfatin 分别作用 HUVEC 0,6,12,24,48 h。药物干预组的细胞分为 5 组:①对照组;②Ber 组:加入 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ber 孵育 24 h;③visfatin + Ber 组:加入 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ber 预孵育 1 h 后再加入 visfatin 100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 刺激 24 h;④ visfatin + PD98059 组:加入 PD98059(终浓度为 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 预处理细胞 30 min,再给予 visfatin 100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 刺激 24 h;⑤ visfatin 组:加入 visfatin 100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 刺激 24 h。

2.2 MTT 法检测细胞增殖 将 HUVEC 以每孔 1×10^4 接种于 96 孔板,24 h 后撤除血清,细胞分组同 2.1,每组设 6 个复孔。干预结束后,加入 20 μL MTT (5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 4 h,每孔再加 150 μL DMSO 摇床上低速振荡 10 min,使形成的结晶物完全溶解,在酶联检测仪 570 nm 处测量各孔的吸光度(A)。

2.3 HUVEC 培养上清液 TNF- α , IL-6 含量测定 取

对数生长的 HUVEC 以 1×10^5 /mL 的密度接种于培养皿,细胞分组及处理同 2.1。收集细胞培养上清,ELISA 法测定上清液 TNF- α 及 IL-6 含量,具体操作参照试剂盒说明书。

2.4 HUVEC 中 p-ERK1/2 蛋白表达的测定 细胞分组及处理同 2.1,提取细胞总蛋白,BCA 法检测蛋白含量,每个孔上样量为 20 μ L,加入上样缓冲液,PCR 仪 99.9 $^{\circ}$ C 变性 5 min。制备 12% 分离胶和 5% 浓缩胶,上样电泳,100 mA 转膜 1 h,5% 脱脂奶粉封闭 1 h,TBST 洗膜后以 1:1 000 比例稀释的一抗 4 $^{\circ}$ C 过夜。次日 TBST 洗膜后以 1:2 000 比例稀释的二抗室温孵育 1 h,ECL 法显色成像,获得图像用 Image Tool 3.0 测定并分析条带积分吸光度(IA),以 β -actin 为内参。

2.5 统计学分析 应用 SPSS 13.0 统计软件进行统计处理,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间采用 *t* 检验,多组间采用单因素方差分析检验和 Bonferroni 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 Visfatin 不同浓度及作用不同时间对 HUVEC 的作用

3.1.1 对 HUVEC 增殖的影响 与对照组相比,50

$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ visfatin 作用 24 h 对 HUVEC 增殖无显著抑制作用,100,200 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ visfatin 作用 24 h 均可显著抑制 HUVEC 增殖($P < 0.01$),见表 1。100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ visfatin 作用 12 h 可明显抑制 HUVEC 增殖($P < 0.05$),作用 24 h 抑制 HUVEC 增殖作用达到峰值($P < 0.01$),见表 2。

3.1.2 对 HUVEC 分泌 TNF- α 及 IL-6 的影响 与对照组相比,50 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ visfatin 作用 24 h 无明显诱导 HUVEC 分泌 TNF- α 及 IL-6 的作用,100,200 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ visfatin 作用 24 h 均可明显诱导 HUVEC 分泌 TNF- α 及 IL-6($P < 0.01$),两组间差异无显著性,见表 1。100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ visfatin 作用 12 h 后可明显诱导 HUVEC 分泌 TNF- α 及 IL-6($P < 0.05$),作用 24 h 后达到峰值($P < 0.01$),作用 48 h 后分泌 IL-6 水平较 24 h 明显下降,见表 2。

3.1.3 对 HUVEC 中 p-ERK1/2 蛋白表达的影响 与对照组相比,100,200 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ visfatin 作用 24 h 均能显著增高 HUVEC 中 p-ERK1/2 蛋白的表达($P < 0.01$),见表 1 及图 1。与对照组相比,100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ visfatin 作用 24,48 h 均可显著增高 HUVEC 中 p-ERK1/2 蛋白的表达($P < 0.01$),见表 2 与图 1~2。

表 1 visfatin 不同质量浓度对 HUVEC 增殖,分泌 TNF- α 及 IL-6,p-ERK1/2 蛋白相对表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	终质量浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	细胞增殖/A	TNF- α /ng $\cdot\text{L}^{-1}$	IL-6/ng $\cdot\text{L}^{-1}$	p-ERK1/2/ β -actin
对照	-	0.83 \pm 0.12	170.47 \pm 4.54	351.21 \pm 13.78	0.38 \pm 0.03
visfatin	50	0.80 \pm 0.16	177.25 \pm 4.43	359.32 \pm 15.36	0.42 \pm 0.01
	100	0.41 \pm 0.18 ¹⁾	421.73 \pm 8.12 ¹⁾	587.89 \pm 11.45 ¹⁾	0.96 \pm 0.03 ¹⁾
	200	0.49 \pm 0.17 ¹⁾	387.24 \pm 7.22 ¹⁾	521.39 \pm 10.72 ¹⁾	0.70 \pm 0.02 ¹⁾

注:与对照组相比¹⁾ $P < 0.01$ 。

表 2 100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ visfatin 不同作用时间对 HUVEC 增殖,分泌 TNF- α 及 IL-6,p-ERK1/2 蛋白相对表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

时间/h	细胞增殖/A	TNF- α /ng $\cdot\text{L}^{-1}$	IL-6/ng $\cdot\text{L}^{-1}$	p-ERK1/2/ β -actin
0	0.79 \pm 0.10	165.43 \pm 7.12	343.23 \pm 11.32	0.52 \pm 0.03
6	0.77 \pm 0.12	167.24 \pm 9.32	350.47 \pm 9.62	0.53 \pm 0.01
12	0.65 \pm 0.16 ¹⁾	194.32 \pm 11.21 ¹⁾	395.43 \pm 8.25 ¹⁾	0.52 \pm 0.02
24	0.42 \pm 0.15 ²⁾	395.48 \pm 10.52 ²⁾	592.79 \pm 10.62 ²⁾	0.84 \pm 0.01 ²⁾
48	0.48 \pm 0.13 ²⁾	378.27 \pm 9.43 ²⁾	533.36 \pm 9.08 ²⁾	0.80 \pm 0.15 ²⁾

注:与 0 h 组相比¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 Ber 的干预作用

3.2.1 对 visfatin 抑制 HUVEC 增殖的干预作用 与 visfatin 组相比,50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ber 和 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PD98059 作用 24 h 均明显减轻 visfatin 对 HUVEC 增殖的抑制($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),见表 3。

3.2.2 对 visfatin 诱导 HUVEC 分泌 TNF- α 及 IL-6 的干预作用 与 visfatin 组相比,50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ber 和 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PD98059 作用 24 h 均可明显降低

visfatin 诱导 HUVEC 分泌 TNF- α 及 IL-6 水平($P < 0.01$),见表 3。

3.2.3 对 visfatin 上调 HUVEC 中 p-ERK1/2 蛋白表达的干预作用 与 visfatin 组相比,50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ber 和 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PD98059 作用 24 h 均可明显降低 HUVEC 中 p-ERK1/2 蛋白的表达($P < 0.01$),见表 3 及图 3。

表 3 Ber 对 visfatin 抑制 HUVEC 增殖分泌 TNF- α 及 IL-6, p-ERK1/2 蛋白相对表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	细胞增殖/A	TNF- α /ng $\cdot\text{L}^{-1}$	IL-6/ng $\cdot\text{L}^{-1}$	p-ERK1/2/ β -actin
对照	-	0.64 \pm 0.10	176.96 \pm 3.43	357.08 \pm 12.80	1.13 \pm 0.26
Ber	50	0.59 \pm 0.10	173.93 \pm 6.38	374.51 \pm 18.23	1.29 \pm 0.12
visfatin ⁴⁾ + Ber	50	0.58 \pm 0.07 ³⁾	224.18 \pm 9.34 ³⁾	398.22 \pm 4.98 ³⁾	1.03 \pm 0.09 ³⁾
visfatin ⁴⁾ + PD98059	20	0.51 \pm 0.08 ²⁾	233.05 \pm 6.55 ³⁾	377.07 \pm 7.77 ³⁾	0.87 \pm 0.06 ³⁾
visfatin ⁴⁾	-	0.39 \pm 0.04 ¹⁾	405.73 \pm 6.10 ¹⁾	586.43 \pm 10.87 ¹⁾	2.74 \pm 0.12 ¹⁾

注:与对照组比¹⁾ $P < 0.01$; 与 visfatin 组比²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$; ⁴⁾ visfatin 质量浓度为 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

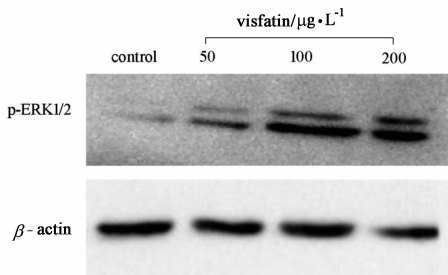


图 1 Visfatin 不同质量浓度对 HUVEC 中 p-ERK1/2 表达的影响

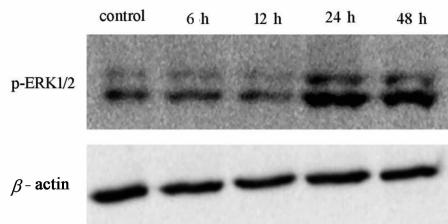


图 2 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ visfatin 作用不同时间对 HUVEC 中 p-ERK1/2 表达的影响

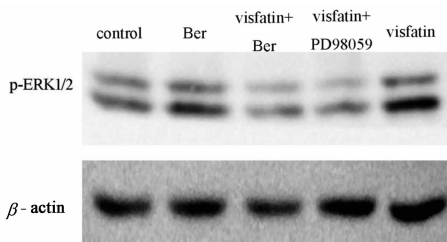


图 3 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ber 及 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PD98059 预处理 1 h 后加入 visfatin 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 刺激 24 h 对 HUVEC 中 p-ERK1/2 表达的影响

4 讨论

AS 是与多种心脑血管病危险因素相关的慢性疾病,关于 AS 的发病机制至今尚未完全明确,目前已可知引起 AS 的危险因素包括性别、年龄、糖尿病、高血压、代谢紊乱、高血脂、胰岛素抵抗、不良饮食嗜好等多方面。visfatin 是一种近几年新发现的,由内脏脂肪组织内包含的白色脂肪细胞衍生出的巨噬细胞所产生的与炎症有关的脂肪细胞因子^[1]。研究证实 visfatin 具有广泛的生物学功能,如增加胰岛素敏感性、模拟胰岛素样作用、延缓中性粒细胞凋亡、调节脂质代谢、参与炎症应答等^[9]。近年来研

究发现 visfatin 与 AS 的发生及发展过程有关,在 AS 患者斑块内,visfatin 含量显著增加^[10],伴有颈动脉 AS 斑块患者血清 visfatin 含量也显著高于正常人群^[11],在慢性肾病患者中,血浆 visfatin 水平显著升高并与 E-选择素水平正相关,可明显促进 AS 的发生^[12]。巨噬细胞中 visfatin 的调节与包括低氧、TNF- α 、氧化低密度脂蛋白 (ox-LDL) 等在内的促进 AS 发生的刺激因素密切相关。作为一种 visfatin 阻滞剂,FK866 能显著减少 AS 小鼠斑块内的趋化因子联接因子 1 (CXCL1) 的产生和中性粒细胞的浸润^[13]。本研究结果表明,100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 剂量的 visfatin 作用 24 h 能显著抑制 HUVEC 的增殖,并可诱导 HUVEC 分泌 TNF- α 及 IL-6 含量显著增高,并能增强 p-ERK1/2 蛋白表达,证实 visfatin 可通过促进炎症因子 TNF- α 及 IL-6 的释放参与 AS 的形成过程,与以往研究结果相符。

ERK1/2 是由 Boulton 等人于 1990 年分离鉴定出的一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶^[14],是 ERK 家族中第一个被克隆,表达最多的成员。ERK1/2 途径由相对分子质量分别为 44 kDa 和 42 kDa 的 2 个分子组成,两者约有 90% 的高度同源性,主要参与调节细胞的增殖与分化、细胞形态的维持、细胞骨架的构建、细胞凋亡与恶化等一系列的生物学反应。研究表明 ERK1/2 通路的激活可诱发炎症反应参与 AS 的形成过程。AS 斑块内的巨噬细胞,经基质金属蛋白酶 (MMPs) 诱导因子 CD147 刺激后可经 ERK1/2 途径诱导 MMP-9 的高度表达,说明 ERK1/2 可通过介导 AS 斑块中炎症反应参与 AS 的发生及发展^[15]。Fractalkine (FKN) 是一种在 AS 斑块中过度表达的趋化因子,与 AS 的形成过程的炎症反应密切相关,因其可诱导冠脉血管平滑肌细胞 (VSMC) 与单核细胞的异常黏附及可致内皮细胞损伤作用,在 AS 的进展过程中发挥了重要作用^[16-17]。研究证实 FKN 可通过 ERK1/2 途径诱导单个核细胞内 TNF- α 的高表达而促进 AS 的形成^[18]。

近年来研究发现, Ber 能通过减少炎症因子分泌、调节血脂、调节细胞能量代谢、抑制氧化应激、减

少细胞凋亡、抑制甲戊二酸单酰辅酶 A (HMG-COA) 还原酶活性等多个环节发挥抗 AS 作用^[6-7]。环氧合酶-2(COX-2)可降低 AS 斑块内细胞凋亡、抑制正常血管的重构、促进 VSMC 的增殖、诱导血管内皮生长因子(VEGF)合成并促进新生血管生成而促进 AS 斑块的发展,还可加快稳定性 AS 斑块转化为不稳定性 AS 斑块,其表达水平的增高是 AS 发生、发展的一个重要环节^[19],单核细胞是 AS 斑块的主要成分,研究证实 Ber 可通过 ERK1/2 途径抑制人外周血单核细胞中 COX-2 mRNA 和蛋白的表达,从而起到抗 AS 的作用^[20]。本研究结果显示:Ber 可增加 HUVEC 活性,抑制由 visfatin 诱导的 HUVEC 损伤,Ber 能通过抑制 ERK1/2 通路,降低 HUVEC 上清液 TNF- α 及 IL-6 的含量,并能减弱 p-ERK1/2 蛋白的表达,说明 Ber 能通过抑制炎症因子的分泌发挥抗 AS 作用,其机制可能与抑制 ERK1/2 通路的激活有关。笔者的研究表明,visfatin 可通过诱导 HUVEC 分泌炎症因子 TNF- α 及 IL-6 参与 AS 的形成;Ber 能抑制 TNF- α 及 IL-6 分泌,减轻由 visfatin 诱导的 HUVEC 的损伤从而发挥抗 AS 作用,其机制与抑制 ERK1/2 通路的激活有关。

[参考文献]

[1] Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin[J]. *Science*, 2005, 307(5708):426.

[2] Filippatos T D, Randeve H S, Derdemezis C S, et al. Visfatin/PBEF and atherosclerosis-related diseases[J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2010, 8(1):12.

[3] Adaya R, Tan B K, Chen J, et al. Nuclear factor-kappaB induction by visfatin in human vascular endothelial cells; its role in MMP-2/9 production and activation[J]. *Diabetes Care*, 2008, 31(4):758.

[4] Liu S W, Qiao S B, Yuan J S, et al. Visfatin stimulates production of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-6 in human vein umbilical endothelial cells [J]. *Horm Metab Res*, 2009, 41(4):281.

[5] Zhou F, Pan Y, Huang Z, et al. Visfatin induces cholesterol accumulation in macrophages through up-regulation of scavenger receptor-A and CD36[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2013, 18(5):643.

[6] 杨贞,沃兴德,卢德赵,等. 小檗碱对巨噬细胞源性泡沫细胞蛋白质组影响的研究[J]. *求医问药:学术版*, 2012, 10(1):359.

[7] 石军飞,闫超. 小檗碱对改善大鼠动脉粥样硬化的影响及作用机制[J]. *北方药学*, 2012(11):27.

[8] Li N, McLaren J E, Michael D R, et al. ERK is integral to the IFN-gamma-mediated activation of STAT1, the expression of key genes implicated in atherosclerosis,

and the uptake of modified lipoproteins by human macrophages[J]. *J Immunol*, 2010, 185(5):3041.

[9] Pilz S, Mangge H, Obermayer-Pietsch B, et al. Visfatin/pre-B-cell colony-enhancing factor: a protein with various suggested functions [J]. *J Endocrinol Invest*, 2007, 30(2):138.

[10] Dahl T B, Yndestad A, Skjelland M, et al. Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization [J]. *Circulation*, 2007, 115(8):972.

[11] Zhong M, Tan H W, Gong H P, et al. Increased serum visfatin in patients with metabolic syndrome and carotid atherosclerosis[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2008, 69(6):878.

[12] Lu Y C, Hsu C C, Yu T H, et al. Association between visfatin levels and coronary artery disease in patients with chronic kidney disease [J]. *Iran J Kidney Dis*, 2013, 7(6):446.

[13] Nencioni A, Da S R, Fraga-Silva R A, et al. Nicotinamide phosphoribosyltransferase inhibition reduces intraplaque CXCL1 production and associated neutrophil infiltration in atherosclerotic mice [J]. *Thromb Haemost*, 2013, 111(2):322.

[14] Boulton T G, Yancopoulos G D, Gregory J S, et al. An insulin-stimulated protein kinase similar to yeast kinases involved in cell cycle control[J]. *Science*, 1990, 249(4964):64.

[15] Kim J Y, Kim W J, Kim H, et al. The stimulation of CD147 induces MMP-9 expression through ERK and NF-kappa B in macrophages: implication for atherosclerosis[J]. *Immune Netw*, 2009, 9(3):90.

[16] Barlic J, Zhang Y, Murphy P M. Atherogenic lipids induce adhesion of human coronary artery smooth muscle cells to macrophages by up-regulating chemokine CX3CL1 on smooth muscle cells in a TNF alpha-NF kappa B-dependent manner [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(26):19167.

[17] Yoneda O, Imai T, Goda S, et al. Fractalkine-mediated endothelial cell injury by NK cells [J]. *J Immunol*, 2000, 164(8):4055.

[18] 张学颖,雷明明,孙健,等. 趋化因子 FKN 对单个核细胞 TNF- α 和 MMP-2 表达的影响及 ERK 在其中的作用[J]. *中国实验诊断学*, 2009, 13(3):309.

[19] Cipollone F, Rocca B, Patrono C. Cyclooxygenase-2 expression and inhibition in atherothrombosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(2):246.

[20] 王启章,郭毅,韩利民,等. ERK 信号转导途径在小檗碱抑制脂多糖诱导的 COX-2 表达中的作用[J]. *中国实用医药*, 2010, 5(3):10.

[责任编辑 聂淑琴]