

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.02.035

· 生物信息学 ·

基于人类信号网络和表达谱数据挖掘动脉粥样硬化相关模块*

黄昊 杜悠雯 谢瑞强 侯敏 冯陈晨 李琬 陈丽娜[△]

(哈尔滨医科大学生物信息科学与技术学院 黑龙江哈尔滨 150081)

摘要 目的: 动脉粥样硬化是一种高致死率的慢性炎症疾病,其发生和发展的机制尚不明确。本文基于人类信号网络和基因表达谱数据对动脉粥样硬化相关模块进行挖掘,以探究其在疾病发生发展中的作用机制。**方法:** 结合人类信号网络和基因表达谱数据,设计显著差异模块筛选策略,通过功能分析,挖掘动脉粥样硬化相关模块,对动脉粥样硬化的致病机制进行研究。**结果:** 基于网络模块的平均表达值改变量,采用两种随机方法,进行显著差异模块筛选,最终获得8个动脉粥样硬化相关的显著差异模块。**结论:** 应用本文提出的整合筛选策略,能识别与动脉粥样硬化相关的模块,获得潜在的致病基因,并从外周血的基因表达改变来探究动脉粥样硬化致病机制,这对动脉粥样硬化的诊断、治疗以及发生发展机制的研究具有重要意义。

关键词: 动脉粥样硬化; 基因表达谱; 人类信号网络; 模块

中图分类号: R-058; R543.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2015)02-336-07

Mining Atherosclerosis Related Modules Based on Human Singaling Network and Gene Expression Profile Data*

HUANG Hao, DU You-wen, XIE Rui-qiang, HOU Min, FENG Chen-chen, LI Wan, CHEN Li-na[△]

(College of Bioinformatics Science and Technology, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150081, China)

ABSTRACT Objective: Atherosclerosis is a chronic inflammation disease with high mortality rate, but its occurrence and development mechanism are not clear. In this paper, atherosclerosis related modules were mined based on human signaling network and gene expression profile data to explore their roles in the mechanisms of the disease development. **Methods:** Combined with human signaling networks and gene expression data, a strategy was designed to screen significant differential module, mine atherosclerosis related modules through functional analysis, and thus atherosclerosis pathogenic mechanism was studied. **Results:** Based on the change in mean expression value as well as two kinds of stochastic methods for screening, finally eight significant differential modules closely related to atherosclerosis were obtained. **Conclusion:** Our integrated screening strategy could identify modules closely related to atherosclerosis, obtain potentially pathogenic genes, and explore the pathogenesis of atherosclerosis based on the changes in gene expression from peripheral blood, which could have a great significance on the treatment, mechanism and development of atherosclerosis.

Key words: Atherosclerosis; Gene expression profile; Human signaling network; Module

Chinese Library Classification(CLC): R-058; R543.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)02-336-07

前言

随着近年来研究的深入发现动脉粥样硬化不仅仅是由于脂质代谢异常而发生聚集导致的,也是一种慢性的炎症过程。动脉粥样硬化通过炎症、脂质代谢异常、血管细胞生长异常等影响冠状动脉形成斑块从而导致动脉粥样硬化的发生^[1]。动脉粥样硬化的临床并发症主要通过动脉管腔的阻塞而产生,导致心肌组织的氧气供应不足。大多数动脉粥样硬化患者冠状动脉管腔发生阻塞主要有两个发生机制:(1) 斑块生长伴随血管外向型的重塑不充分,导致血管狭窄(2) 不稳定斑块的形成,斑块急性破裂,沉淀形成堵塞冠状动脉的血栓^[1]。

研究表明,动脉粥样硬化的发生和发展与机体细胞信号转导途径出现紊乱密切相关^[2]。细胞信号转导在细胞代谢途径^[3]、基因转录^[4]、基因复制^[5]、细胞分裂^[6]等方面都起着重要的作用。不同的信号转导途径、不同的信号分子之间发生交叉调控(crosstalk),构成了复杂的信号转导网络,任何环节出现紊乱,都可能使相应的信号转导过程受阻,导致细胞信号应答减弱、丧失或反应过度,使得网络功能异常,从而导致疾病的发生。因此,基于人类信号网络和表达谱数据,挖掘动脉粥样硬化相关显著差异模块,通过分析模块表征的机体功能的变化,来揭示冠状动脉粥样硬化相关模块和基因在疾病发生和发展中的机制和作用。

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(61272388); 全国大学生创新创业训练基金(201210226011); 黑龙江省自然科学基金项目(F201237)

作者简介: 黄昊(1991-),男,本科,主要研究方向:生物信息学,电话:18686765510, E-mail: huanghaobio@163.com

△ 通讯作者: 陈丽娜,电话:0451-86674768, E-mail: chenlina@ems.hrbmu.edu.cn

(收稿日期:2014-06-28 接受日期:2014-07-22)

1 材料与方 法

1.1 数据来 源

1.1.1 人类信号网络 人类信号网络是整合了人类信号通路数据库 BioCarta 约含 1100 个基因的人类信号网络、约含 500 个基因的基于文献挖掘的信号网络, 并且从 Cancer Cell Map 数据库中提取互作的基因来拓展人类信号网络, 获得了包含了 1634 个结点和 5089 个互作关系的整合的人类信号网络。其中每个节点表示一个基因, 每条边表示这两个基因之间存在抑制、激活和物理互作的信号转导关系。

1.1.2 表达谱数据 从 GEO 下载的 GPL4133 平台的动脉粥样硬化患者的全血细胞表达谱 GSE20686, 包含 151 个正常样本以及 242 个疾病样本。GPL6104 平台的使用全血研究动脉粥样硬化表达谱 GSE20129 包含 71 个正常样本和 48 个疾病样本, 分为四个人种: 非裔美国人、中国人、西班牙人和非西班牙裔白人。

1.2 方 法

1.2.1 模块挖掘 利用网络模块挖掘工具 Graphweb (<http://bit.cs.ut.ee/graphweb/>), 采用马尔科夫聚类算法对信号网络进行模块挖掘, 要求模块内至少包含 3 个基因, 参数 inflation 设定为 1.8。

1.2.2 显著差异模块筛选 我们提出了基于正常和疾病状态间平均表达值改变量的方法, 获得动脉粥样硬化显著差异模块。对于给定的一个大小为 n (其中包含 n 个基因) 的网络模块 m, 计算这个模块的所有基因分别在正常状态和疾病状态下的平均表达值的改变量 ΔV_m :

$$T_i = \frac{1}{S} \sum_{i=0}^s t_i \quad N_i = \frac{1}{S} \sum_{i=0}^s n_i$$

$$\Delta V_m = \frac{1}{n} \sum_{i=0}^n T_i - \frac{1}{n} \sum_{i=0}^n N_i$$

其中 T_i 表示一个基因在疾病表达谱中样本的平均表达值, N_i 表示一个基因在正常表达谱中样本的平均表达值, s 表

示疾病或者在正常表达谱中的样本数量, t_i 和 n_i 分别表示正常和疾病状态下的某个基因在第 i 个样本中的表达值。然后随机提取一个大小为 n 的网络模块 r, 计算它在正常和疾病状态下的平均表达值改变量 ΔV_r , 采用两种随机方法分别提取网络模块, 模块平均表达值改变量显著高于随机状态的模块定义为显著差异模块。

随机方法:

1. 假设模块中有 n 个基因, 计算每个基因在网络中的度, 然后从网络中选取和模块内每个基因的度相同的 n 个基因, 作为新的模块来计算改变量。

2. 假设模块中有 n 个基因, 从表达谱中随机抽取 n 个基因, 使随机得到的新模块内基因的个数与原模块内基因个数相同, 作为新的模块来计算改变量。

我们设定参数 p, 如果网络模块大于随机模块的改变量 ($abs(\Delta V_m) > abs(\Delta V_r)$), 参数 p 的值加 1。我们做 1000 次随机, 计算模块的显著性 P 值:

$$P_{value} = 1 - \frac{p}{1000}$$

我们选择在两种随机方法中 P 值均小于 0.05 的模块为冠状动脉粥样硬化相关的显著差异模块。

1.2.3 显著差异模块功能富集分析 针对基于人类信号网络挖掘的动脉粥样硬化相关的显著差异模块, 通过 DAVID (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>) 进行功能注释和通路分析。分析这些显著差异模块在 Disease、GO 和 KEGG 数据库中的富集情况以及显著性 ($P < 0.05$)。

2 结 果

2.1 动脉粥样硬化相关的显著差异模块

通过平均表达值改变量以及两种随机的方法, 表达谱 GSE20686 共挖掘出了 8 个显著差异模块, 筛选获得的显著差异模块的详细信息列于表 1。

表 1 GSE20686 显著差异模块

Table 1 GSE20686 significant difference modules

Module	Numbers of Gene	Genes in Module	Random1	Random2
M1	5	ACVRL1 FGF2 CCL3 SDC2 TGFB1	√	√
M2	9	DOK1 ELK4 FES FGR GJA1 HCK PRKCI MAP2K5 PTPRR	√	√
M3	4	GNAT1 GNB2 GNGT2 PDE6A	√	√
M4	13	APC CHKA CSNK1E CTNNA1 GSK3A GSK3B LRP1 PPM1A AXIN1 EIF2S2 FRAT1 ANKRD6 ANAPC1	√	√
M5	10	CLTC FZD2 INPPL1 ROR2 RTKN TFDP2 WNT5A WNT7A FZD5 SNIP1 CD14 CHUK EPHA4 IL1R1 IRAK1 IRF6 MAP3K1 MYD88 EIF2AK2 SLC9A1	√	√
M6	34	TLR1 TLR2 TLR3 TLR4 TLR5 TNF TRAF6 UBA7 MAP3K14 TLR6 MAP3K7IP1 MAP4K5 IRAK3 MAP3K7IP2 LY96 IRAK4 TLR7 ECSIT TLR8 NLK TLR9 TOLLIP TLR10 TIRAP	√	√
M7	7	ARRB2 DVL2 TGFB2 TGFB3 TGFB3 FZD4 GIPC1	√	√
M8	4	CCNB1 MYT1 PLK1 CAP1	√	√

*注: '√' 表示显著差异。

*Note: '√' denotes significant differential.

2.2 动脉粥样硬化相关显著差异模块富集分析

为了分析显著差异模块在疾病发病过程中所起的功能和作用,我们在 DAVID (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>) 中对挖掘到的显著差异模块进行 KEGG 通路富集分析和 Gene Ontology 功能注释 ($P < 0.05$)。我们挖掘到的显著差异模块注释到的生物学过程和分子功能主要包括:磷酸代谢过程、磷酸代谢过程、磷酸化 (phosphorylation)、细胞表面受体链接信号转导 (cell surface

receptor linked signal transduction)、蛋白质激酶活性 (protein kinase activity) 等 GO 功能类,以及 Toll-like receptor signaling pathway、MAPK signaling pathway、Wnt signaling pathway、肌动蛋白细胞骨架调节通路、Apoptosis、磷脂酰肌醇信号系统 (Phosphatidylinositol signaling system) 以及醛固酮 - 调节的钠再吸收 (Aldosterone-regulated sodium reabsorption) 等 KEGG 通路。

表 2 显著差异模块部分富集分析结果

Table 2 Significant difference modules' part of enrichment analysis results

Category	Term	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
GOTERM_BP_FAT	Cell surface receptor linked signal transduction	√			√	√	√	√	
	Cell motion	√							√
	Enzyme linked receptor protein signaling pathway	√					√	√	
	Phosphate metabolic process	√	√		√		√		
	Protein amino acid phosphorylation	√	√				√	√	
	Phosphorylation	√	√				√	√	
	Positive regulation of molecular function						√	√	
	Wnt receptor signaling pathway				√	√			
	regulation of Wnt receptor signaling pathway				√				
	transforming growth factor beta receptor signaling pathway	√						√	√
KEGG_PATHWAY	Toll-like receptor signaling pathway						√		
	MAPK signaling pathway		√				√	√	
	Wnt signaling pathway				√	√			

*注: '√' 表示显著富集。

*Note: '√' denotes significant enrichment.

根据富集分析的结果表明,多个显著差异模块共享相同的 GO 功能类和 KEGG 通路,这些功能与动脉粥样硬化的发生发展密切相关。M1、M4、M5、M6、M7 同时富集到 cell surface receptor linked signal transduction 功能类。细胞膜表面受体主要接收的是不能进入细胞的如趋化因子以及位于临近细胞表面分子的信号如黏附分子等水溶性化学信号。在动脉粥样硬化病变中已经识别出几种趋化因子,其中单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 激活巨噬细胞表面 CCR2 受体,级联激活趋化因子信号通路 (Chemokine signaling pathway),巨噬细胞在趋化作用下发生移行,聚集到冠状动脉血管内膜,使血管内膜纤维化,同时巨噬细胞释放溶酶体酶,产生 IL-1、IL-6 等促炎因子并吞噬脂质形成泡沫细胞而构成了动脉粥样硬化发生发展的重要机制^[79]。M1、M2、M4 及 M6 四个模块都显著富集于磷酸代谢过程这个功能类。Shuichi Jono et al 已经证实较高的磷酸水平可直接导致人类主动脉血管平滑肌细胞更倾向于钙化,从而导致严重的动脉粥样硬化等心血管疾病^[10]。M4、M5 共同富集于 Wnt 信号通路,经典 Wnt 信号通路在不改变粘附分子表达水平的情况下增强单核细胞对血管内皮的粘附作用,这与动脉粥样

硬化形成也密切相关^[11]。

每个模块存在多个与动脉粥样硬化相关的 GO 功能类和 KEGG 通路。如: M1 显著富集于 cell motion、phosphorylation、enzyme linked receptor protein signaling pathway、transforming growth factor beta receptor signaling pathway 等 GO 功能类。转化生长因子 β (TGF- β) 在动脉粥样硬化早期通过刺激血管平滑肌细胞合成细胞外基质和组织修复来防止血管平滑肌细胞在血管内膜过度积累和斑块破裂,但在动脉粥样硬化晚期由于细胞外基质的过度合成导致支架内再狭窄和病理性血管重塑而作为致动脉粥样硬化因素而存在^[12]。含 I 型血小板结合蛋白基序的解聚蛋白样金属蛋白酶-5 (ADAMTS-5) 已经证明有促进炎症和细胞迁移的作用并和斑块的稳定性密切相关^[13]。M1 中的基因成纤维细胞生长因子-2 (FGF-2) 能有效的抑制 ADAMTS-5 的表达因而调控动脉粥样硬化的发展^[14]。M1 中的 ACVRL1 的表达程度被证明和动脉粥样硬化的病变程度相关^[15],并且 ACVRL1 作为转化生长因子 β (TGF- β) 的 I 型受体而存在,能够激活 transforming growth factor beta receptor signaling pathway 而介导动脉粥样硬化的发生发展。同时,我们发现

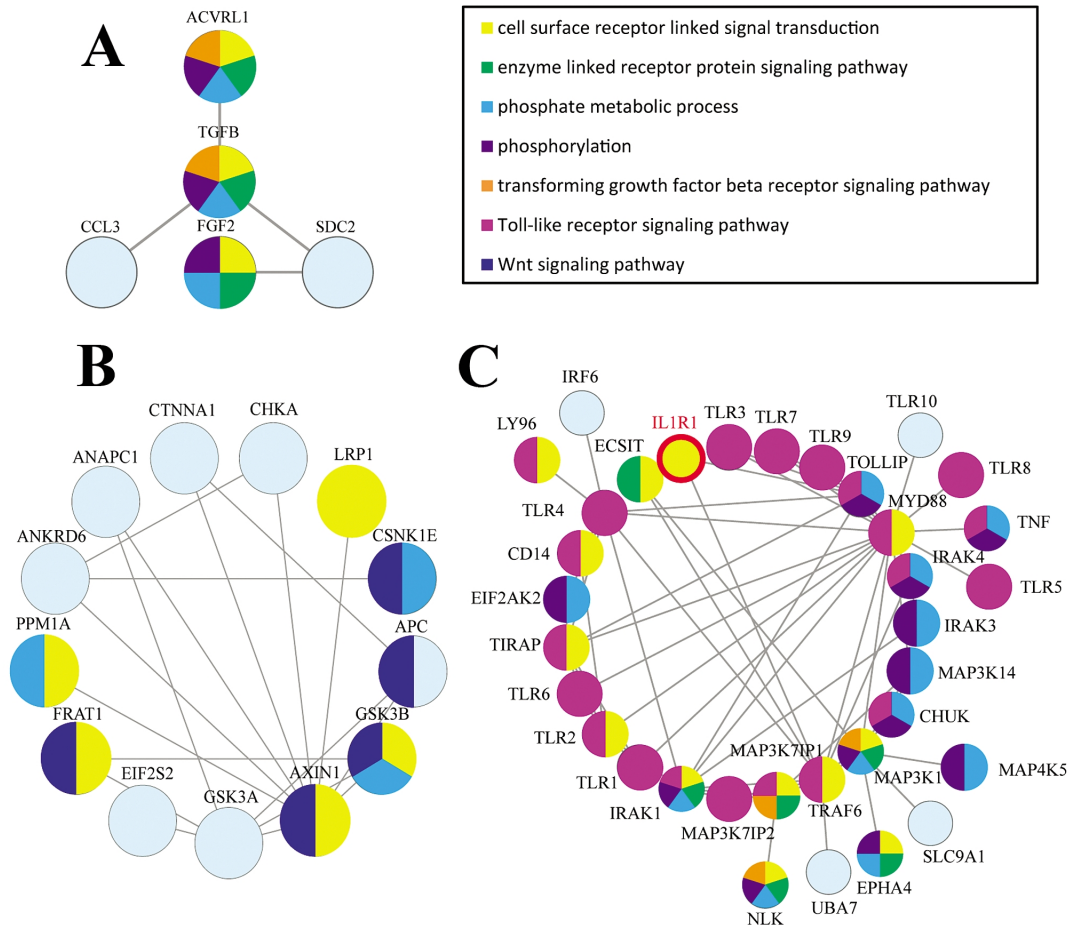


图 1 部分模块的基因显著富集的功能类

Fig.1 Genes of part of modules significantly enriched functional classes

*注:A是 M1 的富集情况,B是 M4 的富集情况,C是 M6 的富集情况。

*Note: A denotes M1's Enrichment, B denotes M4's Enrichment, C denotes M6's Enrichment.

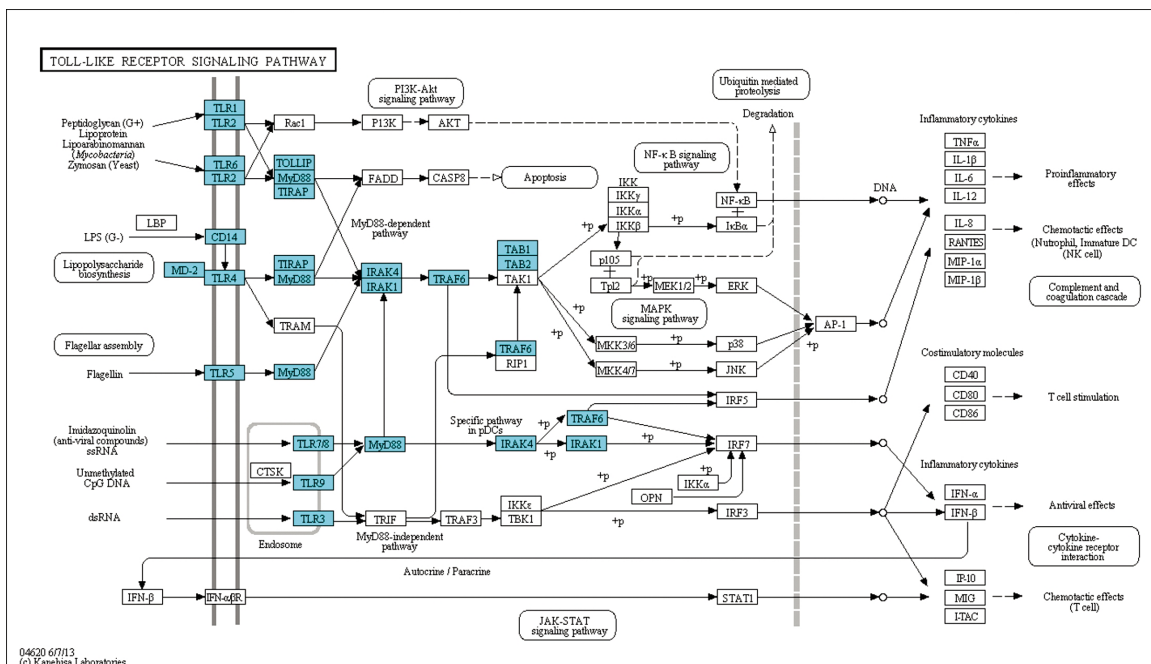


图 2 Toll-Like 受体信号转导通路

Fig.2 Toll-Like receptor signaling pathway

*注:通路中基因标识的颜色代表对应的 M6 内的基因。

*Note: Pathway genes identified colors represent the corresponding module M6.

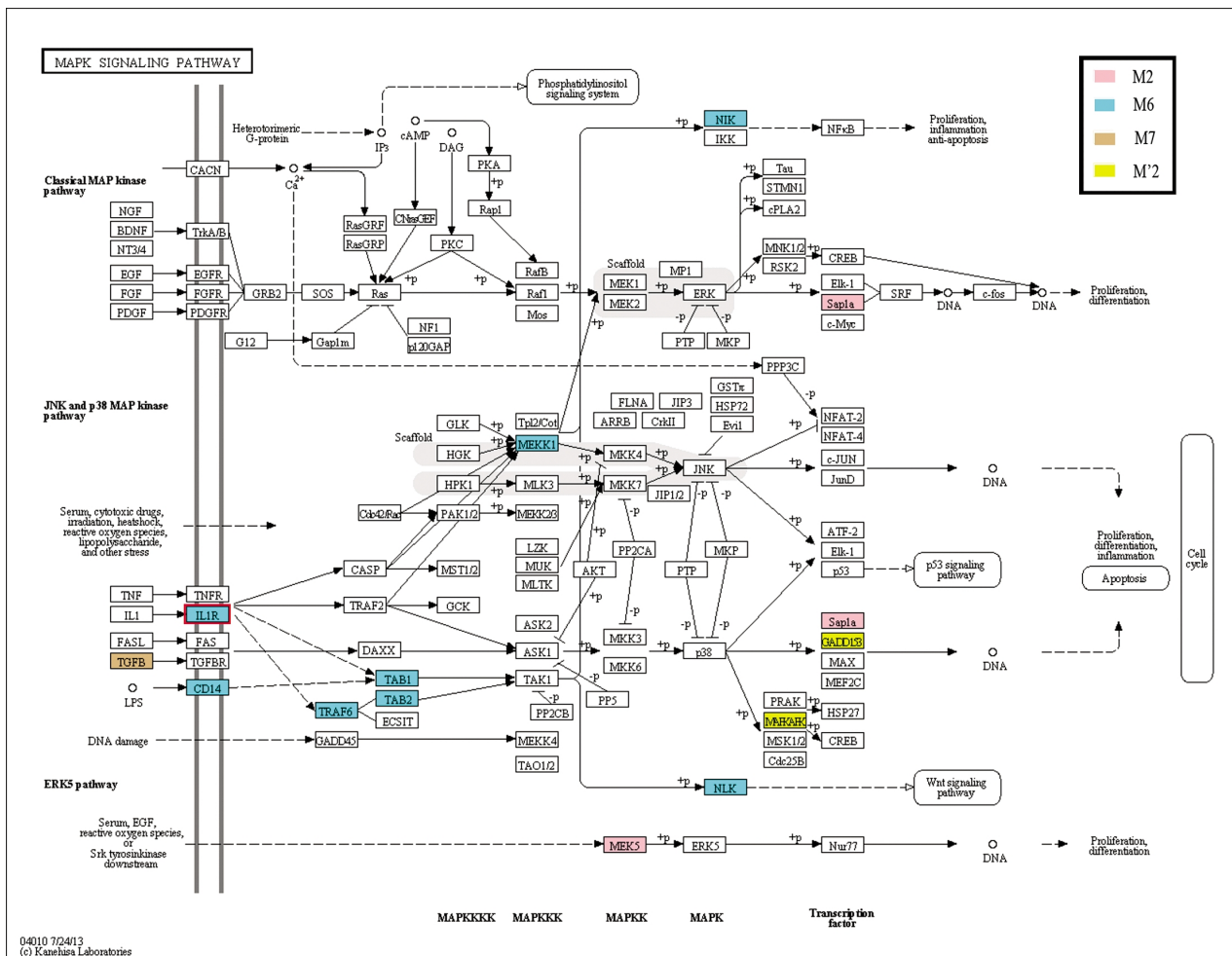


图 3 MAPK 通路

Fig.3 MAPK signaling pathway

注:通路中基因标识的颜色代表对应的模块,其中红色边框的为已知致病基因。

Note: Pathway genes identified colors represent the corresponding module, red border denotes known disease genes.

模块 M6 显著富集于 Toll-like receptor signaling pathway、response to wounding、Toll binding、phosphorylation、phosphorus metabolic process、phosphate metabolic process、protein amino acid phosphorylation 等 GO 功能类。Toll-like 受体通路、外源性损伤、磷酸代谢等功能已经被证实和动脉粥样硬化的发生和发展显著相关^[10,16]。通过查询 OMIM、GAD 以及 DO 数据库中动脉粥样硬化的已知致病基因,我们发现已知动脉粥样硬化致病基因 IL1R1 存在于显著差异模块 M6 中。模块 M6 中包含 TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9 和 TLR10 这 10 个 Toll-like 受体家族成员,并且模块 M6 内基因共有 19 个定位在 Toll-like 受体信号转导通路中。此外, M6 模块内的基因 CD14 是一种单核细胞分化抗原,主要位于单核巨噬细胞膜表面,可通过脂多糖结合蛋白(LBP)与 LPS 特异性结合,通过 Toll-like 受体如 TLR4 向通路下游级联传递活化信号,启动巨噬细胞系统导致多种促炎细胞因子如 IL-1 的合成和释放,参与炎症与血栓形成,从而在动脉粥样硬化的形成的过程中起到重要作用^[17]。

2.3 对动脉粥样硬化相关显著差异模块进行验证

为验证表达谱 GSE20686 挖掘到的动脉粥样硬化相关模

块的有效性,使用全血细胞表达谱 GSE20129 进行区分人种的显著差异模块挖掘(P<0.05),共得到 9 个显著差异模块。使用 DAVID(<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>)中对表达谱 GSE20129 挖掘到的 9 个显著差异模块进行 KEGG 通路富集分析和 Gene Ontology 功能注释(P<0.05)。

M2、M6、M7、M'2 这四个来自两套表达谱的差异显著模块都共同富集于 MAPK 信号通路。目前已经发现有 5 种不同的 MAPK 信号转导通路,其中 ERK1/2 信号转导通路主要调控细胞的生长和分化,JNK 和 p38 MAPK 信号转导通路主要在炎症与细胞凋亡等应激反应中发挥重要作用。通过将四个模块内的基因注释到 KEGG 中的 MAPK 通路,发现这四个模块内的基因主要定位于 JNK/p38 MAP Kinase 通路,许多促炎基因如 IL1、IL6 等的表达均受到此通路的调节。在动脉粥样硬化发生发展中,促炎细胞因子是有害的,在很大程度上是由于促炎细胞因子的作用,增强了白细胞的募集和激活从而促进动脉粥样硬化斑块的形成^[18,19]。基因的失活和药理抑制已知致病基因 IL1R1,使 IL1R1 无法与 IL1 结合从而无法级联激活 JNK/p38 MAP Kinase 信号转导通路已显示出减弱动脉粥样硬化斑块形成的作用^[20-24]。

中国人种显著差异的模块 M3、M7 分别和表达谱 GSE20686 挖掘到的差异显著模块 M6、M4 具有超过 50% 的 overlap 基因。M6 和 M3 的 overlap 基因中的肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TRAF6) 位于 Toll-like 信号转导通路中。TRAF6 会与 Toll-like 通路中的 IRAK 相互作用形成复合物, 级联激活 MAP3K7, 活化核因子 κ B, 诱导单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞等产生免疫炎症细胞分子以及粘附分子等冠状动脉粥样硬化致病因子, 从而在一定程度上介导人类冠状动脉粥样硬化的发生发展^[25, 26]。而 M6 和 M3 的 overlap 基因中的 ECSIT 被证明是 Toll/IL-1 信号转导通路的一个进化上保守的中介蛋白^[27]。中介蛋白 ESCIT 将 TRAF6 与 MAPK 通路联合起来, 激活 JNK/p38 MAPK 通路, 最终导致相关基因如促炎因子基因的转录^[28]。M4 和 M7 的 overlap 基因中, GSK3A 通过促进 beta-catenin 的磷酸化和降解, 调节 LRP6 的磷酸化和激活从而抑制 Wnt 信号。GSK3A 和 casein kinase-1 同是调节 Wnt 共同受体的关键激酶, 并且 GSK3A 能控制 Wnt 这个关键的调控通路的开关两种状态^[29]。Wnt 蛋白是一组富含半胱氨酸的糖基化蛋白, LRP6 (低密度脂蛋白受体蛋白 6) 是 Wnt 信号通路中的一个重要的协同受体, LRP6 发生错义突变, 会使表皮生长因子样结构域中的 L-Cysteine 错译为 Arg 损伤 Wnt 信号, 导致家族性早发冠心病及代谢风险因素^[30]。同时, Wnt 信号能抑制周细胞向脂肪系分化而促使其向软骨系分化, 这可能与动脉粥样硬化和血管钙化有关^[31]。

3 讨论

为了研究与动脉粥样硬化发生发展相关的功能模块和基因, 本文结合人类信号转导网络和基因表达谱, 使用平均表达值改变量来筛选动脉粥样硬化相关的显著差异模块。研究结果得到了动脉粥样硬化相关的 8 个模块, 这些模块显著富集于与动脉粥样硬化相关的磷酸代谢过程、磷酸化、细胞表面受体链接信号转导等 GO 功能类以及 Toll-like receptor signaling pathway、MAPK signaling pathway、Wnt signaling pathway 等 KEGG 通路。

通过文本挖掘对模块内基因与动脉粥样硬化的相关性进行分析, 得到模块内基因与疾病相关性的证实率。8 个模块内共有 86 个基因, 其中与动脉粥样硬化直接功能相关或与动脉粥样硬化相关基因发生互作而相关联的基因共有 69 个, 证实率达到 80.2%。而我们使用 SAM 挖掘表达谱 GSE20686 的差异表达基因, 只得到了三个差异表达基因: ITM2B、PDE4C 和 CACNA1E (Fold Change < 0.5 或 Fold Change > 2.0, FDR < 0.05)。其中只有磷酸二酯酶 4C (PDE4C) 与动脉粥样硬化存在一定的相关性^[32]。因此, 我们通过平均表达值的方法不仅能有效的挖掘到与动脉粥样硬化相关的显著差异模块, 还可以识别潜在的疾病相关基因。

同时, 通过对显著差异模块使用 DAVID 的 Disease 富集分析, 发现模块 M4、M6 显著富集于与动脉粥样硬化相关的疾病 (P < 0.05)。其中 M4 显著富集于静脉血栓形成, M6 显著富集于 C 反应蛋白, 以及感染、免疫相关的疾病。C 反应蛋白是在感染和组织损伤时在血浆中快速升高的一种应激性蛋白。CRP 可以激活补体并且加强吞噬细胞的吞噬而起到调节作用, 从而清

除入侵机体的病原微生物和损伤以及坏死、凋亡的组织细胞, 在机体的天然免疫过程中发挥重要的保护作用。CRP 直接参与了炎症与动脉粥样硬化等心血管疾病, 并且是心血管疾病最有力的预示因子与危险因子。

本文提出的基于人类信号网络和表达谱的动脉粥样硬化相关模块挖掘方法, 能够识别与疾病密切相关的模块, 并且与差异表达基因方法相比, 能挖掘到更多具有研究价值的潜在致病基因。动脉粥样硬化相关显著差异模块的挖掘能够更加准确的分析动脉粥样硬化的发病机制, 并能为动脉粥样硬化发病机理方面的研究提供新的思路和方法。对动脉粥样硬化研究的临床诊断和治疗以及预后都具有重要的意义。

参考文献 (References)

- [1] Peter Libby, Pierre Theroux. Pathophysiology of coronary artery disease[J]. Circulation, 2005, 111(25): 3481-3488
- [2] Marco Reis, Stefan Liebner. Wnt signaling in the vasculature [J]. Experimental cell research, 2013: 1317-1323
- [3] Basselin M, Ramadan E, Rapoport S I. Imaging brain signal transduction and metabolism via arachidonic and docosahexaenoic acid in animals and humans[J]. Brain research bulletin, 2012, 87(2): 154-171
- [4] Sui H, Fan Z Z, Li Q. Signal transduction pathways and transcriptional mechanisms of ABCB1/Pgp-mediated multiple drug resistance in human cancer cells [J]. Journal of International Medical Research, 2012, 40(2): 426-435
- [5] Alba Llopis, Noelia Salvador, Amaia Ercilla, et al. The stress-activated protein kinases p38 α / β and JNK1/2 cooperate with Chk1 to inhibit mitotic entry upon DNA replication arrest[J]. Cell Cycle, 2012, 11(19): 3627-3637
- [6] Christian Jogler, Jost Waldmann, Xiaoluo Huang, et al. Identification of proteins likely to be involved in morphogenesis, cell division, and signal transduction in planctomycetes by comparative genomics [J]. Journal of bacteriology, 2012, 194(23): 6419-6430
- [7] Landin Boring, Jennifa Gosling, Michael Cleary, et al. Decreased lesion formation in CCR2 $^{-/-}$ mice reveals a role for chemokines in the initiation of atherosclerosis[J]. Nature, 1998, 394(6696): 894-897
- [8] Long Gu, Yoshikatsu Okada, Steven K. Clinton, et al. Absence of monocyte chemoattractant protein-1 reduces atherosclerosis in low density lipoprotein receptor-deficient mice[J]. Molecular cell, 1998, 2(2): 275-281
- [9] Tracey C. Dawson, William A. Kuziel, Tene A. Osahar, et al. Absence of CC chemokine receptor-2 reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice[J]. Atherosclerosis, 1999, 143(1): 205-211
- [10] Shuichi Jono, Marc D. McKee, Charles E, et al. Phosphate regulation of vascular smooth muscle cell calcification [J]. Circulation research, 2000, 87(7): e10-e17
- [11] Dong Kun Lee, R. Nathan Grantham, Aaron L. Trachte, et al. Activation of the canonical Wnt/ β -catenin pathway enhances monocyte adhesion to endothelial cells [J]. Biochemical and biophysical research communications, 2006, 347(1): 109-116
- [12] Santiago Redondo, Jorge Navarro-Dorado, Marta Ramajo, et al. The complex regulation of TGF- β in cardiovascular disease [J]. Vascular Health and Risk Management, 2012: 533-539

- [13] Tim G. Ashlin, Alvin P.L. Kwan, Dipak P. Ramji. Regulation of ADAMTS-1, -4 and -5 expression in human macrophages: Differential regulation by key cytokines implicated in atherosclerosis and novel synergism between TL1A and IL-17[J]. *Cytokine*, 2013: 234-242
- [14] Athanasios Didangelos, Ursula Mayr, Claudia Monaco, et al. Novel role of ADAMTS-5 protein in proteoglycan turnover and lipoprotein retention in atherosclerosis[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(23): 19341-19345
- [15] Jana Rathouska, Lenka Vecerova, Zbynek Strasky, et al. Endoglin as a possible marker of atorvastatin treatment benefit in atherosclerosis [J]. *Pharmacological Research*, 2011, 64(1): 53-59
- [16] Jun-ichi Oyama, Charles Blais Jr, Xiaoli Liu, et al. Reduced myocardial ischemia-reperfusion injury in toll-like receptor 4-deficient mice [J]. *Circulation*, 2004, 109(6): 784-789
- [17] Hong Pu, Jiong Yin, Yan Wu, et al. The association between CD14 gene C-260T polymorphism and coronary heart disease risk: a meta-analysis[J]. *Molecular biology reports*, 2013: 1-8
- [18] Alain Tedgui, Ziad Mallat. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways[J]. *Physiological reviews*, 2006, 86(2): 515-581
- [19] Peter Libby, Paul M. Ridker, Göran K. Hansson. Inflammation in Atherosclerosis From Pathophysiology to Practice [J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2009, 54(23): 2129-2138
- [20] Janet Chamberlain, Sheila Francis, Zoe Brookes, et al. Interleukin-1 regulates multiple atherogenic mechanisms in response to fat feeding [J]. *PLoS One*, 2009, 4(4): e5073
- [21] Vinay Bhaskar, Johnny Yin, Amer M. Mirza, et al. Monoclonal antibodies targeting IL-1 beta reduce biomarkers of atherosclerosis in vitro and inhibit atherosclerotic plaque formation in Apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Atherosclerosis*, 2011, 216(2): 313-320
- [22] Hirokazu Kirii, Tamikazu Niwa, Yasuhiro Yamada, et al. Lack of interleukin-1 β decreases the severity of atherosclerosis in ApoE-deficient mice [J]. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2003, 23(4): 656-660
- [23] Yehuda Kamari, Rachel Werman-Venkert, Aviv Shaish, et al. Differential role and tissue specificity of interleukin-1 α gene expression in atherogenesis and lipid metabolism[J]. *Atherosclerosis*, 2007, 195(1): 31-38
- [24] Elhage R, Maret A, Pieraggi M T, et al. Differential effects of interleukin-1 receptor antagonist and tumor necrosis factor binding protein on fatty-streak formation in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Circulation*, 1998, 97(3): 242-244
- [25] Stefan Kiechl, Eva Lorenz, Markus Reindl, et al. Toll-like receptor 4 polymorphisms and atherogenesis [J]. *New England Journal of Medicine*, 2002, 347(3): 185-192
- [26] Pasare C, Medzhitov R. Control of B-cell responses by Toll-like receptors[J]. *Nature*, 2005, 438(7066): 364-368
- [27] Elizabeth Kopp, Ruslan Medzhitov, James Carothers, et al. ECSIT is an evolutionarily conserved intermediate in the Toll/IL-1 signal transduction pathway[J]. *Genes & development*, 1999, 13(16): 2059-2071
- [28] Shizuo Akira, Kiyoshi Takeda. Toll-like receptor signaling [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2004, 4(7): 499-511
- [29] Xin Zeng, Keiko Tamai, Brad Doble, et al. A dual-kinase mechanism for Wnt co-receptor phosphorylation and activation [J]. *Nature*, 2005, 438(7069): 873-877
- [30] Arya Mani, Jayaram Radhakrishnan, He Wang, et al. LRP6 mutation in a family with early coronary disease and metabolic risk factors[J]. *Science*, 2007, 315(5816): 1278-1282
- [31] John Paul Kirton, Nicola J. Crofts, Sarah J, et al. Wnt/ β -Catenin Signaling Stimulates Chondrogenic and Inhibits Adipogenic Differentiation of Pericytes Potential Relevance to Vascular Disease? [J]. *Circulation research*, 2007, 101(6): 581-589
- [32] Srivani P, Usharani D, Jemmis E D, et al. Subtype selectivity in phosphodiesterase 4 (PDE4): a bottleneck in rational drug design[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2008, 14(36): 3854-3872

(上接第 335 页)

- [18] 黄卫东, 吕武清. 冰片的研究进展[J]. *中国药业*, 2008, 17(04): 61-64
Huang Wei-dong, Lv Wu-qing. Research progress of Borneol [J]. *China Pharmaceuticals*, 2008, 17(04): 61-64
- [19] 何琪莹. 局部药用凝胶剂的研究新进展和新应用[J]. *中国药物与临床*, 2006, 6(05): 384-387
He Qi-ying. New research progress and new application of local medicinal gels[J]. *Chinese Remedies & Clinics*, 2006, 6(05): 384-387
- [20] 高正华. 国内外药物凝胶剂研究进展[J]. *中国药房*, 2001, 12(11): 691-692
Gao Zheng-hua. Drug research progress gels [J]. *China Pharmacy*, 2001, 12(11): 691-692
- [21] 张汉明, 许铁峰, 秦路平, 等. 中药鉴别研究的发展和现代鉴别技术介绍[J]. *中成药*, 2000, 22(01): 101-109
Zhan Han-ming, Xu Tie-feng, Qin Lu-ping, et al. The Progress in the Identification Skill of Traditional Chinese Medicine and the Introduction of Modern Identification Technique [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2000, 22(01): 101-109