

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.04.008

巨噬细胞 LSD1 抑制 H3K9Me2 水平增强动脉粥样硬化中血清炎症因子的表达 *

王淑贞¹ 范伟伟² 陈劲松² 阮发晖² 陈 华² 林庚海^{2Δ}

(1 漳州卫生职业学院 福建 漳州 363000; 2 厦门大学附属东南医院(福建省漳州中国人民解放军第 175 医院) 福建 漳州 363000)

摘要 目的:检测动脉粥样硬化患者巨噬细胞中组蛋白第 9 位赖氨酸的二甲基化(histone H3 lysine 9 dimethylation, H3K9Me2)的表达并探究其对炎症因子表达的影响及其机制。**方法:**选择厦门大学附属东南医院收治的动脉粥样硬化患者(n=20)与健康对照人群(n=22)作为研究对象,采用蛋白免疫印迹方法检测巨噬细胞中 H3K9Me2 的表达,并通过酶联免疫吸附的方法检测其血清炎症因子表达。随后,通过小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)敲减赖氨酸特异去甲基化酶 1A(lysine-specific demethylase 1A, LSD1)后,在氧化低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoproteins, ox-LDL)诱导的巨噬细胞中结合白免疫印迹和染色质免疫共沉淀的方法检测细胞整体 H3K9Me2 的表达及炎症因子启动子区 H3K9Me2 水平。同时,分析巨噬细胞中血清炎症因子表达变化。**结果:**动脉粥样硬化病人巨噬细胞中 H3K9Me2 水平显著下调,并与血清中炎症因子表达呈负相关。在敲减 LSD1 后,ox-LDL 诱导的巨噬细胞中 H3K9Me2 整体水平以及炎症因子启动子区 H3K9Me2 水平下调均被抑制。同时,核因子- κ B(NF- κ B)结合启动子区介导的炎症因子表达增强也被抑制。**结论:**巨噬细胞中 H3K9Me2 的表达与动脉粥样硬化病人血清中炎症因子的表达成负相关,而组蛋白去甲基化酶 LSD1 很可能在其中参与 H3K9Me2 水平调控,并通过影响 NF- κ B 与启动子区结合调节炎症因子表达。

关键词:巨噬细胞;炎症;H3K9 二甲基化;组蛋白去甲基化酶 LSD1;动脉粥样硬化

中图分类号:R-33; R543.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)04-639-05

Down-regulation of H3K9Me2 Level by LSD1 in Macrophage Enhances the Cytokines Expressions in Atherosclerosis*

WANG Shu-zhen¹, FAN Wei-wei², CHEN Jin-song², RUAN Fa-hui², CHEN Hua², LING Geng-ha^{2Δ}

(1 Zhang Zhou Health Vocational College, Fujian, Zhangzhou, 363000, China;

2 The Affiliated Dongnan Hospital of Xiamen University (PLA 175th Hospital), Fujian, Zhangzhou, 363000, China)

ABSTRACT Objective: This study is to measure the expression of H3K9Me2 in the macrophages of the atherosclerosis patients and investigate the effect and mechanism of H3K9Me2 level on macrophage tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , and interleukin-6 production in the serum of atherosclerosis patients. **Methods:** The blood samples were obtained from the atherosclerosis patients (n=20) and healthy controls (n=22) in the Affiliated Dongnan Hospital of Xiamen University (PLA 175th Hospital). The expression of H3K9Me2 in the macrophages of the atherosclerosis patients was analyzed by western blotting and the tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , and interleukin-6 production in the serum was measured by enzyme-linked immunosorbent assay. Sequentially, the expression of H3K9Me2 in the macrophages and in the promoters of tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , and interleukin-6 was analyzed by western blotting or chromatin immunoprecipitation in ox-LDL treated macrophages after knocking down LSD1 by siRNA transfection. Additionally, the production of tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , and interleukin-6 was also detected in supernatant of LSD1 knock-down macrophages. **Results:** the expression of H3K9Me2 in the macrophages of the atherosclerosis patients was greatly down-regulated and inversely correlated with the tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , and interleukin-6 production in the serum. Moreover, the reduction of H3K9Me2 levels in the macrophages and in the promoters of tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , and interleukin-6 was prevented by LSD1 knock-down in ox-LDL treated macrophages. Meanwhile, the binding of NF- κ B in the tumor promoters of necrosis factor- α , interleukin-1 β , and interleukin-6 and their production induced by ox-LDL were both inhibited in LSD1 knock-down macrophages. **Conclusion:** The expression of H3K9Me2 in the macrophages is inversely correlated with the tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , and interleukin-6 production in the serum of the atherosclerosis patients and LSD1 probably contributes to the regulation of H3K9Me2 level and further enhances the tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , and interleukin-6 production via inhibition of the binding between NF- κ B and the promoters.

Key words: Macrophage; Inflammation; H3K9Me2; LSD1; Atherosclerosis

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R543.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)04-639-05

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81601223)

作者简介:王淑贞(1982-),讲师,研究方向:妊娠期合并心血管疾病治疗, E-mail: wsz2211518@126.com

Δ 通讯作者:林庚海(1978-),副主任医师,研究方向:心血管疾病和冠心病介入, E-mail: 183961581@qq.com, 电话: 18959602928

(收稿日期:2017-06-15 接受日期:2017-07-10)

前言

在动脉粥样硬化(atherosclerosis)发展过程中,血液单核细胞分化成巨噬细胞(macrophage)并大量吞噬沉积的脂蛋白^[1-3],最终形成泡沫细胞^[4,5],加重了炎症反应,并促进斑块的形成和发展^[6]。因此,抑制巨噬细胞过度的炎症反应,从而减小斑块体积对于治疗动脉粥样硬化具有重要意义。

组蛋白的甲基化修饰在调基因表达中扮演重要角色^[7]。赖氨酸特异去甲基化酶 1A(lysine-specific demethylase 1A, LSD1)通过介导组蛋白 3(histone 3, H3)的第 9 个赖氨酸残基(histone H3 lysine 9, H3K9)和 H3K4 (histone H3 lysine 4, H3K4)的赖氨酸脱甲基化,参与了免疫相关基因表达的调节^[8,9]。然而,在动脉粥样硬化过程中,组蛋白甲基化水平是否影响巨噬细胞的炎症表达目前还未深入研究。本研究结果显示在动脉硬化病人的巨噬细胞中, H3K9 的二甲基化(H3K9Me2)水平显著下调,并与血清中炎症因子的表达呈负相关。另外,巨噬细胞中 H3K9Me2 的下调被发现可以增强核因子- κ B(NF- κ B)与炎症因子启动子区结合,进而促进炎症因子的大量产生,而通过敲减 LSD1 则可显著抑制炎症因子的表达。

1 材料和方法

1.1 材料

RPMI1640 培养液、盐酸缓冲溶液(phosphate buffer saline, PBS) 购于美国 Gibco 公司;淋巴细胞提取液购于美国 MP Biomedicals 公司;人源氧化低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoproteins, ox-LDL) 和裂解缓冲液购于翊圣生物科技有限公司;si-LSD11、si-LSD12 (sc-60970) 及 p65 抗体购于美国 Santa Cruz, sc-372; H3K4Me2 (ab7766)、H3K9Me2 (ab1220)、H3K27Me2 (ab24684)、H3(ab18521)以及 LSD1 抗体(ab37165) 购于 Abcam 公司;瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)和白介素-6(IL-6)酶联免疫吸附试剂盒购于美国 R&D 公司;siIMPORTER 购于 Millipore 公司;甲醛、甘氨酸购于 Sigma 公司;SYBR Green mix 购于 Takara 公司。

1.2 方法

1.2.1 人源巨噬细胞分离和培养 研究中,动脉粥样硬化的病人(n=20)与健康对照(n=22)的肝素抗凝外周血液采集于厦门大学附属东南医院,所采集的血液获得中国人民解放军第 175 医院伦理委员会的批准及受试者同意。巨噬细胞通过淋巴细胞提取液提取并离心获得。进行巨噬细胞培养时,首先将离心富集的细胞重悬于 RPMI1640 培养液中并铺板,置于 37℃ 二氧化碳培养箱中进行附壁纯化。培养 1-2 h 后,吸去培养上清,去除未贴壁细胞再加入新鲜的 RPMI1640 培养液继续培养。

1.2.2 ox-LDL 处理和 siRNA 转染实验 人源氧化低密度脂蛋白处理巨噬细胞浓度为 10 μ g/mL。在检测炎症因子表达的实验中,ox-LDL 处理时间为 16 h。在检测基因启动子区 H3K9Me2 水平及 NF- κ B 结合能力的实验中,ox-LDL 处理时间为 6 h。在小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)实验中,通过 siIMPORTER 将 si-LSD11、si-LSD12 及对照 siRNA(100 nM)导入巨噬细胞,转染 60 h 后进行 ox-LDL 处理实验。

1.2.3 蛋白质印迹实验 巨噬细胞的细胞总蛋白通过裂解缓冲液提取获得。总蛋白经过 8%或 12% SDS-PAGE 分离电泳后,4℃ 转移至醋酸纤维素膜上。H3K4Me2、H3K9Me2、H3K27Me2、H3 以及 LSD1 抗体的稀释比例均为 1:800,4℃ 转于孵育过夜。第二天经过 PBS 洗涤后,在室温下孵育二抗(比例为 1:10000)2 h。最后再次 PBS 洗涤后进行底物显色反应。

1.2.4 酶联免疫吸附实验 病人及正常对照血清和培养巨噬细胞上清中的 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平分别由 TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6 酶联免疫吸附试剂盒检测,并根据对应炎症因子标准曲线计算得出实际蛋白质量。

1.2.5 染色质免疫共沉淀实验 巨噬细胞在 ox-LDL 处理 6 h 后,进行甲醛交联反应。在甘氨酸终止后,加入裂解液并超声打断基因组。冰上裂解 0.5 h 后,再加入 2 μ g 的 H3K9Me2 或者 p65 抗体,4℃ 孵育 6 h。随后加入 protein A/G 的磁珠,置于 4℃ 继续孵育 2 h。最后,将蛋白和核酸复合物从磁珠上洗脱下来,并解除交联,加入蛋白酶 K 消化蛋白。DNA 在经氯仿抽提后,通过实时荧光定量 PCR 分析。

1.2.6 实时荧光定量 PCR 实验 染色质免疫共沉淀产物通过 SYBR Green 法进行荧光实时定量,反应程序为 95℃ 预变性 2 min,再 95℃ 变性 15 s,60℃ 退火并延伸 30 s,反复 40 个循环。TNF- α 的引物为:正向 5'-TTCTGAAGCCCTCCCAGTTC-TAG-3';反向 5'-CTGGAGGCTGAACCCCGTCC-3'。IL-1 β 的引物为:正向 5'-TCCACACATGGGCTGGGCATG-3';反向 5'-GATGGGAGTCTCACTATGTTGCCC-3';IL-6 的引物为:正向 5'-GGGCCAGGAGAGGAAGGAGAC-3';反向 5'-CTGAGT-GACACAATACAACACACAG-3'。

1.3 数据统计

数据以 $\pm$ SEM 形式展示,通过 GraphPad Prism 5.0 进行统计学分析。病人巨噬细胞中 H3K9Me2 水平与炎症因子表达相关性通过线性回归进行分析。两组之间的差异比较采用学生 t 检验(student's t test)。多组之间的差异比较进行单因素方差分析(one-way ANOVA)或者双因素方差分析(two-way ANOVA)。*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 被认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动脉硬化患者巨噬细胞中 H3K9Me2 的表达显著下调

为了探究组蛋白甲基化对于动脉硬化过程中炎症表达的影响,我们首先检测了正常人群和病人的巨噬细胞中组蛋白甲基化水平。实验结果显示,相对于正常对照,动脉硬化病人的巨噬细胞中 H3K9Me2 的水平有显著降低, H3K27Me2 的水平有降低趋势,而 H3K4Me2 的水平则无显著变化(图 1A-B)。

2.2 血清 H3K9Me2 的表达与血清中炎症因子的表达呈负相关

为了进一步研究下调的 H3K9Me2 的水平与巨噬细胞炎症表达的关系,我们检测了动脉硬化病人血清中的 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平。通过将巨噬细胞中 H3K9Me2 的水平分别和病人血清中 TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6 含量进行线性拟合,我们发现随着 H3K9Me2 水平的降低,血清中 TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6 表达逐渐上升(图 1C-E),提示巨噬细胞中 H3K9Me2 的水平与血清中炎症因子的表达呈负相关。

2.3 ox-LDL 诱导巨噬细胞中 H3K9Me2 水平的下调并促进炎

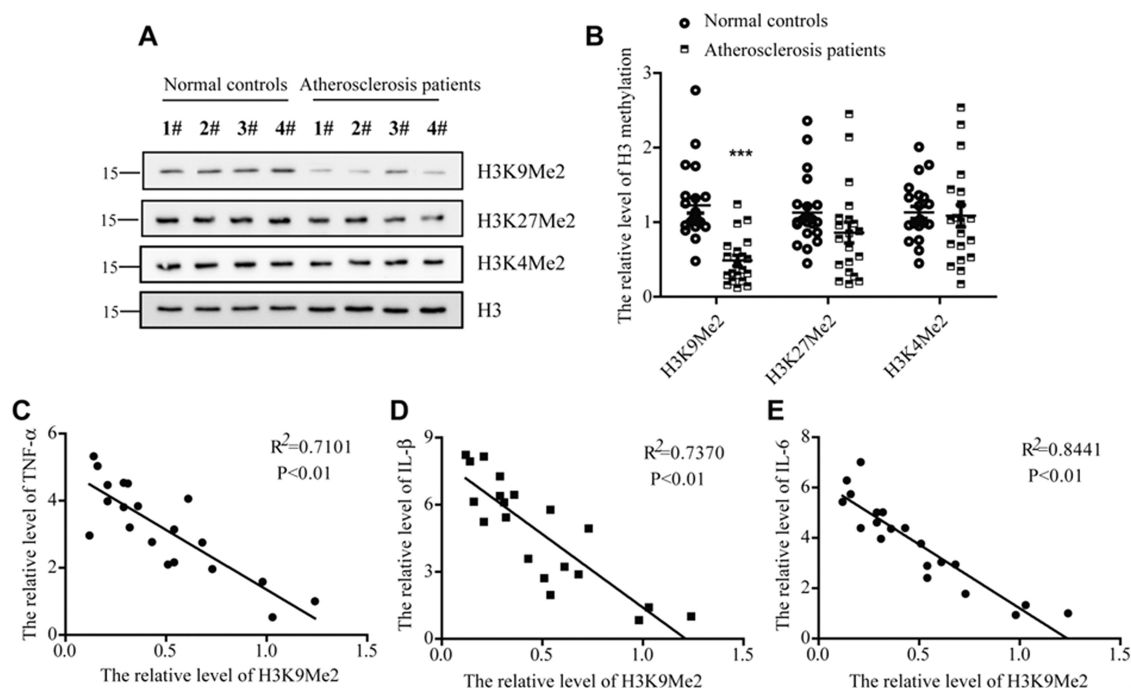


图 1 H3K9Me2 的水平在动脉硬化病人的巨噬细胞中下调并与血清中炎症因子表达成负相关

Fig. 1 The level of H3K9Me2 in macrophage of atherosclerosis patients was down-regulated and inversely correlated with the cytokines

Note: *** P < 0.001 compared with normal controls.

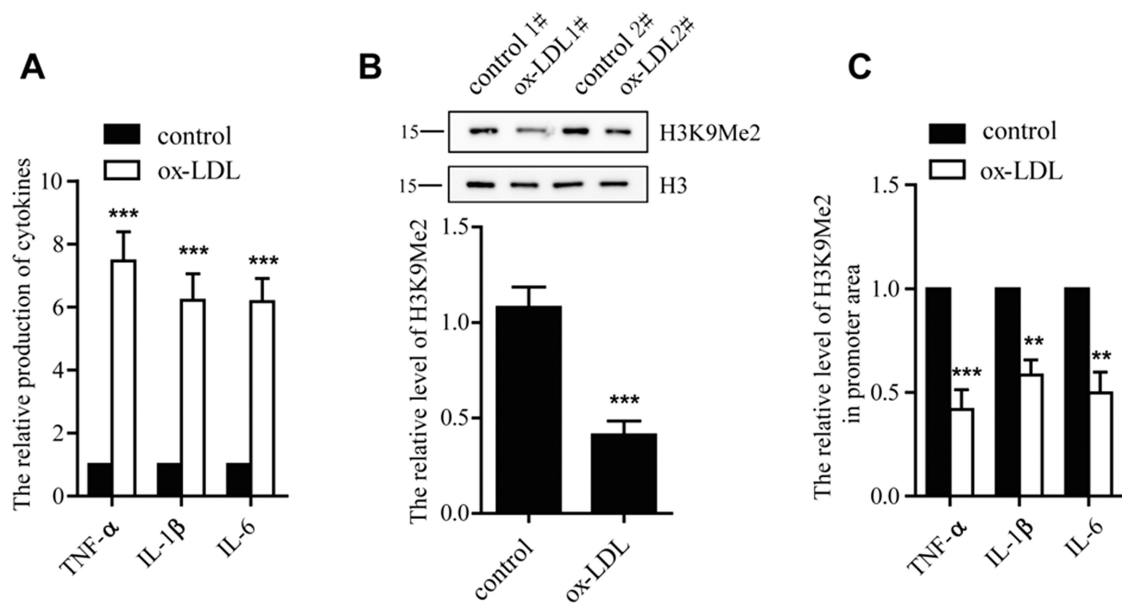


图 2 ox-LDL 诱导巨噬细胞中 H3K9Me2 水平的下调并促进炎症因子表达

Fig. 2 ox-LDL reduces H3K9Me2 level in the macrophage and down-regulated the production of cytokines

Note: **P < 0.01, *** P < 0.001 compared with control group.

炎症因子表达

为探究 H3K9Me2 的水平下调介导炎症因子表达增加的机制,我们使用 ox-LDL 模拟动脉粥样硬化过程中修饰的脂蛋白的沉积去处理巨噬细胞。与文献报道一致^[10],ox-LDL 的处理可以诱导巨噬细胞中炎症因子的表达(图 2A)。另外,我们发现巨噬细胞中整体的 H3K9Me2 水平被 ox-LDL 显著下调(图 2B)。同时,染色质免疫共沉淀的结果进一步显示,ox-LDL 的处理也降低了 TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6 启动子区的 H3K9Me2 水平(图 2C)。

2.4 敲减 LSD1 抑制 ox-LDL 诱导的 H3K9Me2 的下调并降低 NF- κ B 介导的炎症因子的表达

赖氨酸去甲基化酶 LSD1 对于基因组上 H3K9Me2 的水平调控有重要作用^[11]。为了验证 LSD1 是否参与 ox-LDL 诱导的巨噬细胞中 H3K9Me2 的下调,我们使用 siRNA 敲减 LSD1 的水平。在转染 si-LSD11 和 si-LSD12 的 60 h 后,巨噬细胞中 LSD1 的蛋白水平有显著降低(图 3A 和 C)。另外,我们发现在敲减 LSD1 后,ox-LDL 处理导致细胞整体水平的 H3K9Me2 以及 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 启动子区的 H3K9Me2 的下调均被显

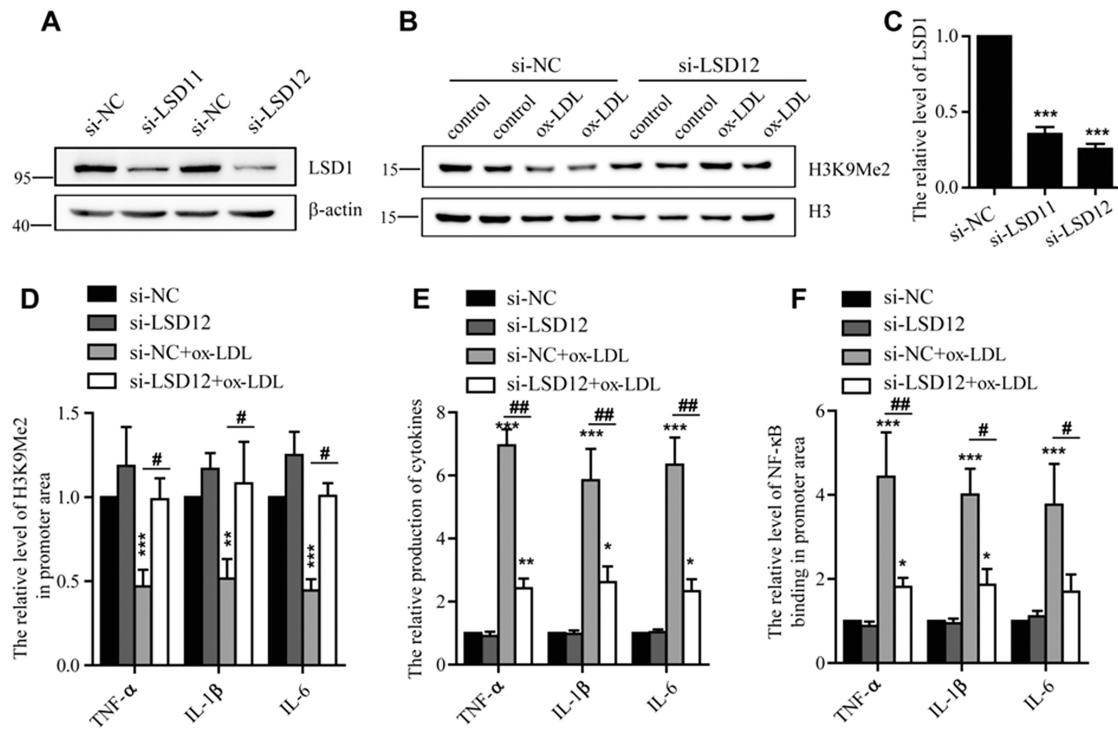


图3 敲减 LSD1 抑制 H3K9Me2 的下调并降低炎症因子的表达水平

Fig.3 The down-regulation of H3K9Me2 level and cytokine production was inhibited by LSD1 knock-down

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ compared with siNC group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ compared with siNC + ox-LDL group.

著抑制 (图 3B 和 D)。同时, ox-LDL 处理诱导的 TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6 表达增强也在 LSD1 敲减后被抑制 (图 3E)。此外, NF- κ B 是调节参与免疫反应的基因的主要转录因子, 其对于巨噬细胞的炎症表达具有重要的调控作用^[12,13]。而染色质免疫共沉淀结果显示 LSD1 的敲减同时降低了 NF- κ B 与 TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6 启动子的结合能力 (图 3F)。以上结果提示 LSD1 参与了 ox-LDL 处理介导的炎症因子启动子区 H3K9Me2 的下调, 进而通过增强 NF- κ B 与 TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6 启动子的结合促进炎症因子的表达。

3 讨论

动脉粥样硬化的主要特征在于动脉内膜中修饰的血清脂质和脂蛋白的累积^[1]。在疾病发展过程中, 血液单核细胞通过对内皮下脂质沉积物做出响应, 穿透内皮进入内膜, 分化成巨噬细胞并尝试清除修饰的脂蛋白^[1-3]。巨噬细胞在大量吞噬修饰的脂蛋白后形成泡沫细胞, 促进过度的炎症反应, 并加重病情发展^[2,4]。在巨噬细胞的炎症表达过程中, 许多标志物如炎症因子 (TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6)、C 反应蛋白 (C-reaction protein, CRP)、粘附分子 (细胞间粘附分子-1) 在血浆中增加。这些炎症因子的大量产生会进一步促进斑块形成, 并介导细胞的氧化应激反应, 最终导致斑块破裂, 提高了急性心血管事件发生的风险^[5]。但对于此过程中, 炎症因子在巨噬细胞中表达增强的调控机制目前还未研究清楚。

基因组 H3K9 的甲基化对于炎症因子以及免疫相关基因表达的具有调节作用^[8,9]。根据文献报道, II 型糖尿病小鼠 (diabetes mouse, db/db mouse) 的血管平滑肌细胞 (VSMC) 在体外培养后可以表现出持续的致动脉粥样硬化和炎症表型。染色质免

疫共沉淀的结果显示, 相对于对照 db/+ 细胞, 培养的 db/db VSMC 中关键炎症基因启动子上的 H3K9Me3 水平显著降低。同时, 蛋白质免疫印迹显示在 db/db VSMC 中, H3K9Me3 甲基转移酶 Suv39h1 的蛋白质水平也降低。此外, db/db VSMC 对 TNF- α 炎症刺激过敏, 引起启动子 H3K9Me3 和 Suv39h1 占位的显著持续降低。这些结果表明 H3K9Me3 可能通过抑制炎症反应进而对糖尿病 VSMC 的预活化状态具有保护作用。因此, 通过探究组蛋白的甲基化水平是否在动脉粥样硬化中以类似的机制参与巨噬细胞的炎症表达, 对于缓解动脉硬化发生发展过程中的炎症表达, 减小斑块体积并缓解病情具有重要意义。在本实验中, 我们发现 H3K9Me2 的水平在动脉硬化病人的巨噬细胞中有显著下调, 并且 H3K9Me2 的水平与血清中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的表达成负相关。另外, 巨噬细胞中 H3K9Me2 的下调被发现可以增强 NF- κ B 与 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 启动子区结合, 进而促进炎症因子的大量产生, 而 LSD1 的敲减则可显著抑制 H3K9Me2 的下调以及炎症因子的表达水平。

LSD1 是第一个被鉴定为使组蛋白 H3K4 和 H3K9 脱甲基化的组蛋白去甲基化酶, 对于细胞功能和动物发育至关重要。此外, LSD1 的过表达已经在许多类型的慢性疾病中发现, 并且已经被实验证明是慢性疾病发展的关键参与者^[8,9]。因此, 通过调控 LSD1 活性进而改变组蛋白的甲基化水平可能是延缓慢性疾病的一种有效策略。而目前对于 LSD1 的活性调节的研究主要集中于其蛋白水平的修饰, 其中 LSD1 的磷酸化调控被认为对于其组蛋白去甲基化功能具有重要作用^[14]。文献报道, α 型蛋白激酶 C (protein kinase C α , PKC α) 可通过节律性的调节 LSD1 的磷酸化水平影响其活性, 进而改变基因表达并调控小

鼠的昼夜节律^[15]。而 ox-LDL 处理细胞后,可以影响包括有丝分裂原活化蛋白激酶、磷脂酰肌醇激酶和 PKC 等信号途径进而调节细胞中蛋白的磷酸化水平^[16-18]。这些结果提示 ox-LDL 可能通过调节 LSD1 的磷酸化进而改变巨噬细胞中 H3K9Me2 的水平。

在动脉硬化病人的巨噬细胞中,我们发现 H3K27Me2 的整体水平虽然没有显著改变,但是有表达降低的趋势,提示 H3K27Me2 的变化可能存在于某些特定基因的启动子区。作为 H3 组蛋白甲基化修饰的一种,H3K27 的甲基化水平对于炎症表达也有重要调控作用。根据报道,H3K27 的甲基化水平在人和小鼠中受到组蛋白去甲基酶 jumonji(JMJ)的特异性调节,并参与了细菌脂多糖诱导巨噬细胞的炎症表达^[19]。另外,在 IEC-6 细胞中,通过 shRNA 敲减 Suz12 蛋白可以显著降低细胞中 H3K27 的甲基化水平,进而抑制了 IL-1 β 介导的炎症相关基因表达^[20]。因此,探究特定炎症相关基因的 H3K27 甲基化水平是否在动脉硬化过程中被特异调节,对于理解巨噬细胞的炎症表达调控机制具有重要意义。

NF- κ B 是调节参与免疫反应的基因的主要转录因子,其对于巨噬细胞的炎症表达具有重要的调控作用^[12,21,22]。单核细胞在募集到感染部位或者病灶区域后,受到局部细胞因子环境影响并分化为巨噬细胞。巨噬细胞在 NF- κ B 的转录调控下产生 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 以及其他炎症因子,由此动员嗜中性粒细胞并帮助启动先天免疫应答^[23]。同时,NF- κ B 促进巨噬细胞产生的炎症因子也激活淋巴细胞并将感染传递给适应性免疫系统,并进一步驱动巨噬细胞的分化,募集更多的淋巴细胞和启动适应性免疫应答^[24]。另外,NF- κ B 被报道参与了动脉粥样硬化过程中的炎症表达^[25,26]。在动脉粥样硬化斑块中可以检测到活化形式的 NF- κ B,而抑制 NF- κ B 的进入细胞核则显著下调炎症表达,并延缓小鼠动脉粥样硬化样病情的进展^[13]。但是,目前对于 NF- κ B 是如何被调控并长时程参与动脉粥样硬化中大量炎症表达仍然不是清楚。在本次实验中,炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 启动子区的 H3K27Me2 水平被发现可以直接调控 NF- κ B 的转录活性,其机制可能是通过抑制 NF- κ B 与启动子序列结合,进而降低靶基因的转录,为转录因子及基因表达调控机制的认识和理解提供了新的实验依据。

本研究首次发现组蛋白 H3K9Me2 的表达水平在动脉硬化病人的巨噬细胞中有显著下降,并与血清中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的表达成负相关性。此外,实验在动脉硬化的巨噬细胞模型中鉴定出了一条 ox-LDL-LSD1-H3K9Me2 信号通路。该信号通路通过调节巨噬细胞的组蛋白甲基化水平,并影响转录因子 NF- κ B 与下游基因启动子区域的结合,进而参与炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的表达调控,为临床靶向炎症治疗动脉硬化疾病提供了理论基础。

参考文献(References)

- [1] Rafeian-Kopaei M, Setorki M, Doudi M, et al. Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes [J]. *Int J Prev Med*, 2014, 5(8): 927-946
- [2] Schulz C, Massberg S. Atherosclerosis--multiple pathways to lesional macrophages[J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(239): 232-239
- [3] Ley K, Miller YI, Hedrick CC. Monocyte and macrophage dynamics during atherogenesis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(7): 1506-1516
- [4] Yu XH, Fu YC, Zhang DW, et al. Foam cells in atherosclerosis[J]. *Clin Chim Acta*, 2013, 424(1): 245-252
- [5] Bobryshev YV. Monocyte recruitment and foam cell formation in atherosclerosis[J]. *Micron*, 2006, 37(3): 208-222
- [6] Moore KJ, Sheedy FJ, Fisher EA. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance[J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(10): 709-721
- [7] Cheng X. Structural and functional coordination of DNA and histone methylation[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2014, 6(8): 1084-1087
- [8] Sacconi S, Natoli G. Dynamic changes in histone H3 Lys 9 methylation occurring at tightly regulated inducible inflammatory genes[J]. *Genes Dev*, 2002, 16(17): 2219-2224
- [9] Villeneuve LM, Reddy MA, Lanting LL, et al. Epigenetic histone H3 lysine 9 methylation in metabolic memory and inflammatory phenotype of vascular smooth muscle cells in diabetes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(26): 9047-9052
- [10] Wang XH, Wang F, You SJ, et al. Dysregulation of cystathionine gamma-lyase (CSE)/hydrogen sulfide pathway contributes to ox-LDL-induced inflammation in macrophage [J]. *Cell Signal*, 2013, 25(11): 2255-2262
- [11] Laurent B, Ruitu L, Murn J, et al. A specific LSD1/KDM1A isoform regulates neuronal differentiation through H3K9 demethylation [J]. *Mol Cell*, 2015, 57(6): 957-970
- [12] Lowe JM, Menendez D, Bushel PR, et al. p53 and NF-kappaB coregulate proinflammatory gene responses in human macrophages [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(8): 2182-2192
- [13] Mallavia B, Recio C, Oguiza A, et al. Peptide inhibitor of NF-kappaB translocation ameliorates experimental atherosclerosis [J]. *Am J Pathol*, 2013, 182(5): 1910-1921
- [14] Feng J, Xu G, Liu J, et al. Phosphorylation of LSD1 at Ser112 is crucial for its function in induction of EMT and metastasis in breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2016, 159(3): 443-456
- [15] Nam HJ, Boo K, Kim D, et al. Phosphorylation of LSD1 by PKCalpha is crucial for circadian rhythmicity and phase resetting[J]. *Mol Cell*, 2014, 53(5): 791-805
- [16] Li YB, Zhang QH, Chen Z, et al. Oxidized low-density lipoprotein attenuated desmoglein 1 and desmocollin 2 expression via LOX-1/Ca (2+)/PKC-beta signal in human umbilical vein endothelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 468(12): 380-386
- [17] Ming GF, Tang YJ, Hu K, et al. Visfatin attenuates the ox-LDL-induced senescence of endothelial progenitor cells by upregulating SIRT1 expression through the PI3K/Akt/ERK pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(2): 643-649
- [18] Lin J, Zhou S, Zhao T, et al. TRPM7 channel regulates ox-LDL-induced proliferation and migration of vascular smooth muscle cells via MEK-ERK pathways[J]. *FEBS Lett*, 2016, 590(4): 520-532
- [19] Kruidenier L, Chung CW, Cheng Z, et al. A selective jumonji H3K27 demethylase inhibitor modulates the proinflammatory macrophage response[J]. *Nature*, 2012, 488(7411): 404-408

- dry-heat environment and observed organ damage [J]. *Am J Emerg Med*, 2014, 32(6): 573-579
- [9] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻($\Delta\Delta C_T$) Method[J]. *Methods*, 2001, 25 (4):402-408
- [10] Zhang F, Yang F, Zhao H, et al. Curcumin alleviates lung injury in diabetic rats by inhibiting NF- κ B pathway [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2015, Jun 26. doi: 10.1111/1440-1681.12438
- [11] Fan Z, Yao J, Li Y, et al. Anti-inflammatory and antioxidant effects of curcumin on acute lung injury in a rodent model of intestinal ischemia reperfusion by inhibiting the pathway of NF-Kb [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(4): 3451-3459
- [12] Xu Y, Liu L. Curcumin alleviates macrophage activation and lung inflammation induced by influenza virus infection through inhibiting the NF- κ B signaling pathway [J]. *Influenza Other Respir Viruses*, 2017, Jun 24. doi: 10.1111/irv
- [13] Peng Y, Pu J, Tang C, et al. Curcumin Inhibits Heat-Induced Apoptosis by Suppressing NADPH Oxidase 2 and Activating the Akt/mTOR Signaling Pathway in Bronchial Epithelial Cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(5): 2091-2103
- [14] Nehra S, Bhardwaj V, Bansal A, et al. Nanocurcumin accords protection against acute hypobaric hypoxia induced lung injury in rats [J]. *J Physiol Biochem*, 2016, 72(4): 763-779
- [15] Kim J, Jeong SW, Quan H, et al. Effect of curcumin (Curcuma longa extract) on LPS-induced acute lung injury is mediated by the activation of AMPK [J]. *J Anesth*, 2016, 30(1): 100-108
- [16] Li H, Liu B, Li P, et al. Inhibitory effects of curcumin on inflammatory cytokines in rats with paraquat poisoning [J]. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*, 2015, 33(9): 689-692
- [17] Kumari A, Tyagi N, Dash D, et al. Intranasal curcumin ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice [J]. *Inflammation*, 2015, 38(3): 1103-1112
- [18] Liu YF, Yang CW, Liu H, et al. Efficacy and Therapeutic Potential of Curcumin Against Sepsis-Induced Chronic Lung Injury in Male Albino Rats [J]. *J Nutr Health Aging*, 2017, 21(3): 307-313
- [19] Seo KH, Choi JW, Jung HS, et al. The Effects of Remifentanyl on Expression of High Mobility Group Box 1 in Septic Rats [J]. *J Korean Med Sci*, 2017, 32(3): 542-551
- [20] Li G, Zhou CL, Zhou QS, et al. Galantamine protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2016, 49(2): e5008
- [21] Wang X, Liu C, Wang G. Propofol Protects Rats and Human Alveolar Epithelial Cells Against Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury via Inhibiting HMGB-1 Expression [J]. *Inflammation*, 2016, 39 (3): 1004-1016
- [22] Lin CC, Yang CC, Cho RL, et al. Sphingosine 1-Phosphate-Induced ICAM-1 Expression via NADPH Oxidase/ROS-Dependent NF- κ B Cascade on Human Pulmonary Alveolar Epithelial Cells [J]. *Front Pharmacol*, 2016, 7: 80. doi: 10.3389/fphar
- [23] Meng L, Lv Z, Yu ZZ, et al. Protective effect of quercetin on acute lung injury in rats with sepsis and its influence on ICAM-1 and MIP-2 expression [J]. *Genet Mol Res*, 2016, 15(3). doi: 10.4238/gmr
- [24] Wang YX, Ji ML, Jiang CY, et al. Upregulation of ICAM-1 and IL-1 β protein expression promotes lung injury in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Genet Mol Res*, 2016, 15(3). doi: 10.4238/gmr
- [25] Rancan L, Paredes SD, Huerta L, et al. Chemokine Involvement in Lung Injury Secondary to Ischaemia/Reperfusion [J]. *Lung*, 2017, 195 (3): 333-340
- [26] Karsch-Bluman A, Amoyav B, Friedman N, et al. High mobility group box 1 antagonist limits metastatic seeding in the lungs via reduction of cell-cell adhesion [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(20): 32706-32721

(上接第 643 页)

- [20] Turgeon N, Blais M, Delabre JF, et al. The histone H3K27 methylation mark regulates intestinal epithelial cell density-dependent proliferation and the inflammatory response [J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(5): 1203-1215
- [21] Ryan AE, Colleran A, O'gorman A, et al. Targeting colon cancer cell NF- κ B promotes an anti-tumour M1-like macrophage phenotype and inhibits peritoneal metastasis [J]. *Oncogene*, 2015, 34(12): 1563-1574
- [22] Muxel SM, Laranjeira MF, Carvalho CE, et al. The RelA/cRel nuclear factor- κ B (NF- κ B) dimer, crucial for inflammation resolution, mediates the transcription of the key enzyme in melatonin synthesis in RAW 264.7 macrophages [J]. *Journal of pineal research*, 2016, 60(4): 394-404
- [23] Jiang Q, Yi M, Guo Q, et al. Protective effects of polydatin on lipopolysaccharide-induced acute lung injury through TLR4-MyD88-NF- κ B pathway [J]. *International immunopharmacology*, 2015, 29(2): 370-376
- [24] Rebecca GB, Matthew SH, Sankar G. NF-kappaB, inflammation and metabolic disease [J]. *Cell Metab*, 2011, 13(1): 11-22
- [25] Ji L, Du Q, Li Y, et al. Puerarin inhibits the inflammatory response in atherosclerosis via modulation of the NF- κ B pathway in a rabbit model [J]. *Pharmacological Reports*, 2016, 68(5): 1054-1059
- [26] Gargiulo S, Gamba P, Testa G, et al. Relation between TLR4/NF- κ B signaling pathway activation by 27-hydroxycholesterol and 4-hydroxynonenal, and atherosclerotic plaque instability [J]. *Aging cell*, 2016, 14(4): 569-581