

论 著 基础研究

钙卫蛋白、TLR-4 及 MAPK 信号转导途径在动脉血栓形成过程中与 COX-2 的关系

陈晓南¹, 王红艳¹, 赵洪宇¹, 曹久妹¹, 陆 林², 吴 方¹

上海交通大学 医学院附属瑞金医院 1. 老年病科; 2. 心血管科, 上海 200025

[摘要] **目的** 探索钙卫蛋白(S100A8/A9)、Toll 样受体 4(TLR-4)及丝裂原活性的蛋白激酶(MAPK)信号转导途径在动脉血栓中的表达及与环氧化酶-2(COX-2)的关系。**方法** 24 只 SD 大鼠分为实验组和对照组,实验组利用 FeCl₃ 溶液建立颈动脉血栓大鼠模型,对照组注射等量生理盐水。分别于造模后第 1、3、7、14 日分批处死 2 组大鼠,每组 3 只。利用 ELISA 检测大鼠外周血 S100A8/A9 水平。采用 Western blotting 对 SD 大鼠外周血白细胞中 COX-2、p-p38 MAPK、TLR-4 水平进行检测,并分析各因子水平之间的相关性。利用 MAPK 抑制剂 SB203580 对模型大鼠进行干预,观察对 COX-2 蛋白水平的影响。**结果** 实验组大鼠外周血 S100A8/A9 水平在造模后第 7 日达到最高值,第 14 日回落,且均显著高于对照组相应时间点水平($P < 0.05$)。外周血白细胞中 TLR-4、p-p38 MAPK、COX-2 的表达水平随造模后时间的推移逐渐升高,第 14 日达到最高值。其中 TLR-4 与 COX-2 之间相关性较好($r = 0.831, P = 0.012$)。模型大鼠经 MAPK 抑制剂干预后,COX-2 蛋白水平显著降低。**结论** S100A8/A9 可能主要参与动脉形成早期炎症反应过程,COX-2 与 TLR-4 在蛋白水平的表达具有一定相关性。动脉血栓形成初期 COX-2 表达升高可能与体内高水平 S100A8/A9 激活 TLR-4/p38 MAPK 信号途径调节有关。

[关键词] 血栓性疾病;环氧化酶 2;钙卫蛋白;Toll 样受体;丝裂原活性的蛋白激酶

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2016.04.003 **[中图分类号]** R543 **[文献标志码]** A

Correlation between calprotectin, TLR-4, and MAPK signal transduction pathways and COX-2 in the process of arterial thrombosis

CHEN Xiao-nan¹, WANG Hong-yan¹, ZHAO Hong-yu¹, CAO Jiu-mei¹, LU Lin², WU Fang¹

1. Department of Geriatric, 2. Department of Cardiology, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

[Abstract] **Objective** To investigate calprotectin (S100A8/A9), Toll-like receptor 4 (TLR-4), and mitogen-activity of protein kinase (MAPK) signaling pathways in the arteries thrombosis and their correlation with cyclooxygenase-2 (COX-2). **Methods** Twenty-four SD rats were assigned to the experiment group and the control group. A rat model of carotid artery thrombosis was constructed in the experiment group by using FeCl₃ solution. The same volume of normal saline was injected in the control group. Rats were sacrificed at the 1st, 3rd, 7th, and 14th day after the model was constructed and 3 rats per group were sacrificed each time. S100A8/A9 level in peripheral blood was measured by ELISA. Western blotting was used to detect COX-2, p-p38 MAPK, and TLR-4 levels in peripheral blood leukocytes. Then the correlation between these factors was analyzed. MAPK inhibitor SB203580 was used to intervene the rat model and the effects on COX-2 protein level was observed. **Results** For the experiment group, the S100A8/A9 level in rat peripheral blood reached the peak at the 7th day after the model was constructed, fell at the 14th day, and was significantly higher as

[基金项目] 上海市科委基金(124119a6800);上海市公共卫生重点学科建设计划(12GWZX1002)(Foundation of Science and Technology Committee of Shanghai Municipality, 124119a6800; Key Discipline Construction of Public Health in Shanghai, 12GWZX1002)。

[作者简介] 陈晓南(1987—),女,住院医师,硕士;电子信箱: yinqing_e_cxn@163.com。

[通信作者] 吴 方,电子信箱: wufangrjh@163.com。

compared with the control group at corresponding time points ($P < 0.05$). The expressions of TLR-4, p-p38 MAPK, and COX-2 in peripheral blood leukocytes increased with time after the model was constructed and reached peak at the 14th day. The correlation between TLR-4 and COX-2 was close ($r = 0.831$, $P = 0.012$). After intervention with MAPK inhibitors, the protein level of COX-2 significantly reduced. **Conclusion** S100A8/A9 may mainly participate in the early inflammation response process in arteriogenesis. COX-2 has a certain correlation with TLR-4 in terms of protein expression. At the early stage of arterial thrombosis, elevated COX-2 expression may be associated with TLR-4/p38 MAPK signaling pathway activated by high level of S100A8/A9.

[Key words] thrombotic diseases; cyclooxygenase-2; calprotectin; Toll-like receptors; mitogen-activated protein kinase

动脉血栓性疾病如冠状动脉粥样硬化性心脏病、动脉粥样硬化、缺血性脑血管病等,是威胁人类健康的主要疾病之一。研究^[1]表明,炎症是脑卒中和动脉粥样硬化的危险因素,炎症细胞的浸润和炎症介质是脑卒中损伤的主要原因,其中钙卫蛋白(calprotectin, S100A8/A9)作为急性炎症细胞活化的标志物,可激活 Toll 样受体 4 (Toll like receptor 4, TLR-4)及其下游炎症信号转导通路,在多种疾病中影响病程发展^[2-3]。为进一步探讨动脉血栓形成过程中相关炎症因子上游信号转导途径,本实验对血栓形成后大鼠血清 S100A8/A9 水平与外周血单核-巨噬细胞中 TLR-4、环氧化酶 2 (cyclooxygenase-2, COX-2)、磷酸化 p38 丝裂原活性的蛋白激酶(p-p38 mitogen-activated protein kinase, p-p38 MAPK)信号通路关键酶的表达和关系进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 清洁级 8~12 周雄性 SD 大鼠 36 只,体质量 200~250 g,购自中科院上海动物所[使用许可证号:SYXK(沪)2014-0004]。

1.1.2 主要试剂和仪器 无水 FeCl_3 粉剂(100 g,购自美国 Sigma-Aldrich 公司)。Western blotting 中使用的一抗(兔抗大鼠多克隆抗体)和抗兔二抗均购自美国 Cell Signaling Technology 公司。RIPA 裂解缓冲液、苯甲基磺酰氟(PMSF)购自上海申能博彩生物科技有限公司。聚偏氟乙烯(PVDF)膜购自美国 Millipore 公司。p38 MAPK 抑制剂 SB203580 及二甲亚砜(DMSO)购自上海碧云天公司。Model 68 型酶标仪 Microplate Reader 购自美国 Bio-Rad 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 大鼠颈动脉血栓模型的建立与分组 将大鼠随机分为实验组和对照组。其中实验组大鼠按相应

处死时间点再分为 D1、D3、D7、D14 共 4 个亚组,每组 3 只;标准饲料喂养 1 周后,按照 Surin 等^[4]的文献利用 FeCl_3 溶液建立颈动脉血栓动物模型。在建立模型后第 1、3、7、14 日将 D1、D3、D7、D14 亚组大鼠分别处死,并取其全血及形成血栓的局部血管段备用。对照组大鼠为假手术组,用生理盐水代替 FeCl_3 溶液,亦分成 D1、D3、D7、D14 亚组,每组 3 只,余处理方法与实验组相同。

1.2.2 组织蜡块制备及切片 将局部血管段置于 4% 甲醇溶液内固定 48 h 后,再行梯度乙醇脱水、透明、石蜡包埋,蜡块标本以 5 μm 厚度连续切片,充分烤片备用。

1.2.3 免疫组织化学染色 免疫组织化学链霉亲和素-过氧化物酶(SP)法实验步骤按试剂盒说明书进行。一抗为羊抗大鼠 CD68 多克隆抗体,用于标记单核-巨噬细胞,浓度为 1:800。染色液为二氨基联苯胺(DAB),用苏木精进行核复染,再次脱水、透明后中性树胶封片,待切片风干后,光学显微镜(光镜)下观察并拍照。

1.2.4 大鼠贫血小板血浆分离及全血白细胞蛋白抽提 取大鼠抗凝全血 3 000 $\times g$ 离心 15 min,分为贫血小板血浆层、白膜层、红细胞层,取 1 mL 血浆分装 5 管(200 μL /管)置 -80 $^{\circ}\text{C}$ 备用。将白细胞分离后,抽提其总蛋白,每只大鼠全血白细胞加入 RIPA 1 mL 和 PMSF 20 μL ,吹打混匀后静置 10 min,以上反应均在冰上进行,4 $^{\circ}\text{C}$ 环境下 12 000 $\times g$ 离心 10 min 后取上清,并用 BCA 法测定各样品蛋白浓度。

1.2.5 ELISA 和 Western blotting 分析 采用 ELISA 检测大鼠外周血 S100A8/A9 水平,具体步骤参照试剂盒说明书。取 100 μL 待测白细胞蛋白样品 SDS-PAGE 电泳并转膜,常温下封闭 2 h,分别加入 TLR-4、p-p38 MAPK、COX-2 兔抗大鼠一抗(1:800),内参 GAPDH 一抗 1:3 000 稀释,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,第 2 日滴加二抗,约 1 h 后显色。随后 p-p38 MAPK 部分用 Western blotting 一抗、二抗去除液反应 1 h 后,用 TBST 清洗

3次,在原条带部分加入 p38 MAPK 兔抗大鼠一抗(1:800),其余步骤同前。利用 Image J 进行灰度分析。

1.2.6 MAPK 抑制剂 SB203580 干预实验 对在血栓形成过程中激活的炎症通路进行进一步的抑制剂干预实验。将大鼠随机分为干预组、非干预组和对照组,每组 4 只,标准饲料喂养 1 周。p38 MAPK 抑制剂 SB203580 用 DMSO 稀释至 100 $\mu\text{g/mL}$ 。干预组大鼠于建模前 2 h 腹腔注射 SB203580 10 mg/kg,建模后第 1 日开始,腹腔注射 1 mg/kg SB203580 维持药效,每日 1 次。非干预组于建模前不作任何处理,颈动脉血栓模型建立方法同前述。对照组不作任何处理。于建模后第 7 日将 3 组大鼠处死,取血,分离白细胞,Western blotting 分析外周血白细胞中 COX-2 蛋白水平。

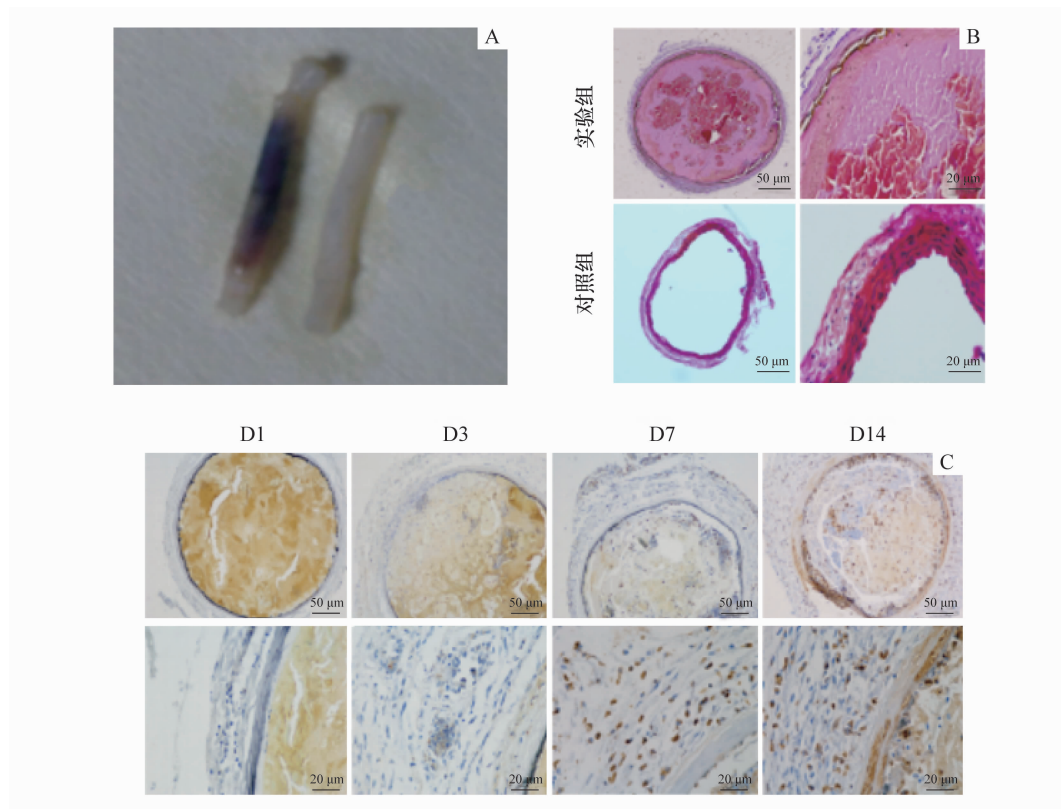
1.3 统计学分析

应用 SPSS 16.0 软件,2 组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,并对有关指标行 Pearson 相关分析。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。定量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示。

2 结果

2.1 动脉血栓形成后血管结构及局部炎症细胞水平的变化

实验组大鼠左颈总动脉局部血管大体观如图 1A 所示:可见局部血管腔内有暗红色血栓组织填充(左),而生理盐水处理后血管管腔通畅,未见有血栓出现(右)。经 H-E 染色后结果如图 1B 所示,可见经 FeCl_3 处理后的实验组血管,镜下可见管腔内有血栓形成,并且以血小板成分为主,血栓内可见有炎症细胞浸润,内皮细胞走向紊乱,连续性被破坏,出现不同程度的分离和剥脱现象,内皮下胶原暴露,弹性膜出现不同程度的僵硬拉直现象。而对照组表现为正常动脉血管结构,管腔呈圆形,各层分界明显;内皮细胞完整,连续分布;弹性膜呈波浪状,管腔内未见其他异常内容物。进一步对血管进行免疫组织化学染色后,图 1C 所示阳性染色处即为 CD68 标记的单核-巨噬细胞。结果提示,实验组血管内在血栓生成后,随时间推移,趋化迁移至受损部位的单核巨噬细胞数逐渐增多。



注: A. FeCl_3 处理后 1 d 大鼠左颈总动脉(左为实验组,右为对照组); B. H-E 染色; C. 实验组不同亚组免疫组织化学染色。

图 1 血管结构及局部炎症细胞浸润情况

Fig 1 Vascular structures and local inflammatory cell infiltration

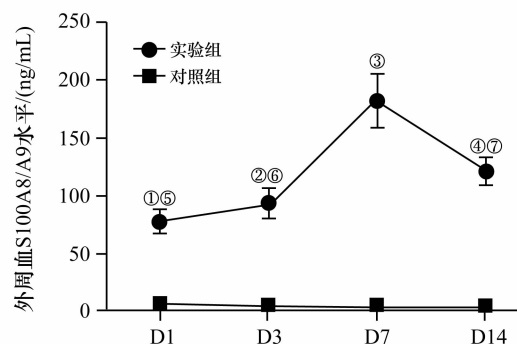
2.2 各组大鼠外周血中 S100A8/A9 水平

各组大鼠外周血 S100A8/A9 水平如图 2 所示。S100A8/A9 含量自颈动脉血栓生成后逐日升高,到第 7 日达到最高值,随后开始下降,实验组各亚组均显著高于相应的对照组 ($P < 0.05$)。而对照组 S100A8/A9 含量保持在较低水平,随天数推移未见明显变化。

2.3 Western blotting 结果

大鼠颈动脉血栓形成后,随着时间的推移,外周血白细胞 TLR-4、COX-2、p-p38 MAPK 蛋白表达情况如图 3A 所示。血栓形成后的 TLR-4、COX-2、p-p38 MAPK 蛋白水平较对照组明显升高。各实验亚组蛋白相对表达量的变化趋势如图 3B 所示:大鼠建模后,

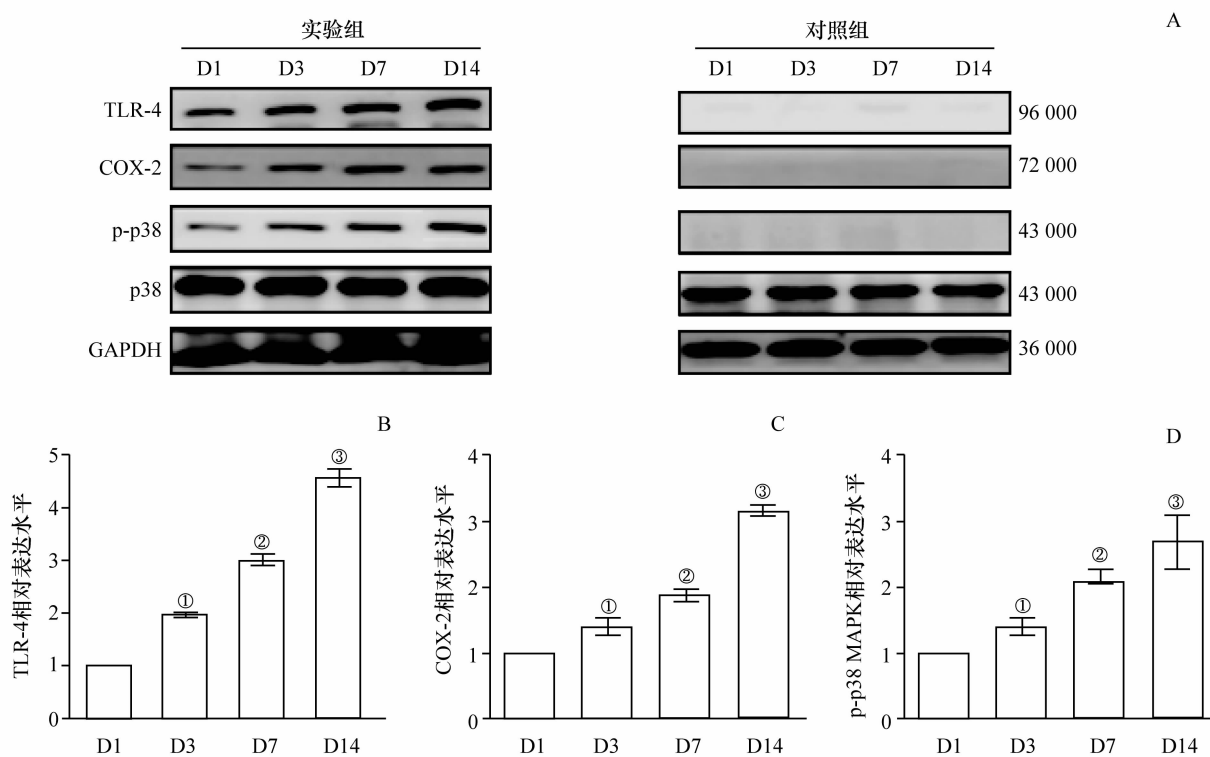
TLR-4、COX-2、p-p38 MAPK 蛋白水平随着时间的推移而逐渐上升 ($P < 0.05$)。



注: ① $P = 0.011$, ② $P = 0.009$, ③ $P = 0.002$, ④ $P = 0.006$, 与对照组比较; ⑤ $P = 0.011$, ⑥ $P = 0.014$, ⑦ $P = 0.021$, 与实验组 D7 亚组比较。

图 2 各组大鼠外周血中 S100A8/A9 水平

Fig 2 S100A8/A9 levels in rat peripheral blood in all groups



注: A. 蛋白电泳条带; B. ① $P = 0.022$, ② $P = 0.016$, ③ $P = 0.008$, 与 D1 亚组比较; C. ① $P = 0.042$, ② $P = 0.027$, ③ $P = 0.010$, 与 D1 亚组比较; D. ① $P = 0.031$, ② $P = 0.020$, ③ $P = 0.011$, 与 D1 亚组比较。

图 3 各组大鼠白细胞中 TLR-4、COX-2、p-p38 MAPK 的表达水平

Fig 3 Expression levels of TLR-4, COX-2, and p-p38 MAPK in leukocytes in all groups

2.4 TLR-4、p-p38 MAPK、COX-2 蛋白间的相互关系

上述研究发现血栓形成过程中,大鼠外周血 S100A8/A9 水平及白细胞内 TLR-4、p-p38 MAPK、COX-2 水平出现了明显升高,相关性分析结果也显示,TLR-4、p-p38 MAPK、COX-2 三者间有一定程度

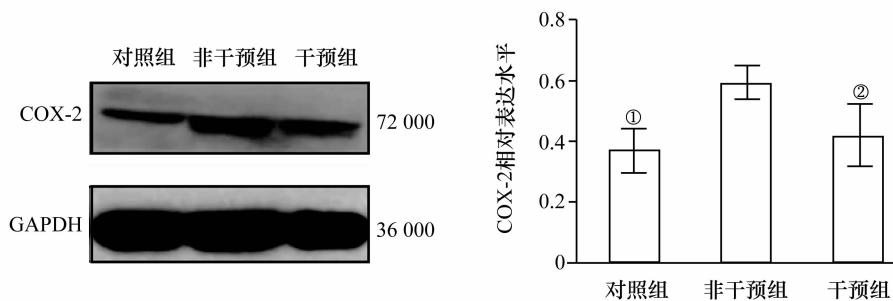
的相关性(表 1)。

为了进一步明确 MAPK 炎症通路 COX-2 表达水平变化的关系,本研究通过抑制剂 SB203580 阻断 MAPK 通路后,观察对 COX-2 蛋白表达的影响。如图 4 所示,与非干预组比较,干预组 COX-2 表达水平升高趋势受到明显抑制。

表 1 TLR-4、p-p38 MAPK、COX-2 间水平变化趋势相关性分析结果

Tab 1 Analysis of the correlation among TLR-4, p-p38 MAPK, and COX-2 levels

项目	TLR-4	p-p38 MAPK	COX-2
TLR-4	—	$r = 0.516, P = 0.001$	$r = 0.831, P = 0.012$
p-p38 MAPK	$r = 0.516, P = 0.001$	—	$r = 0.282, P = 0.009$
COX-2	$r = 0.831, P = 0.012$	$r = 0.282, P = 0.009$	—



注: ① $P = 0.034$, ② $P = 0.029$, 与非干预组比较。

图 4 阻断 MAPK 炎症通路对 COX-2 表达水平的影响

Fig 4 Effects of blocking MAPK inflammatory pathway on the COX-2 expression

3 讨论

近年来有研究提出炎症贯穿疾病整个过程,血管炎症反应在动脉栓塞性疾病的进程中起着重要的作用^[5-7]。本实验结果也显示,血栓形成后,随着时间推移实验组大鼠体内趋化至血栓局部炎症细胞数也在增多,对照组血管内未见炎症细胞浸润,进一步支持了这一观点。炎症反应同时伴有炎症因子水平的升高。当炎症因子大量表达、在体内过度蓄积可对组织造成损伤,引起细胞变性、坏死。S100A8/A9 于中性粒细胞的细胞质和单核细胞膜上表达,在细胞外由激活的中性粒细胞和单核细胞分泌,或者由破裂和死亡的细胞释放。S100A8/A9 作为一种早期急性炎症标志物,已被证实多种炎症疾病如溃疡性结肠炎、类风湿性关节炎等中高度表达,可用于评估疾病分期及预后。近年来有研究提出 S100A8/A9 与不稳定斑块的炎症状态密切相关,与心血管疾病发病风险有一定关系,并可作为心肌梗死相关的炎症标志物^[8-12]。本实验结果示大鼠外周血中 S100A8/A9 水平在动脉血栓形成后 7 d 内随时间推移逐渐升高,并明显高于对照组,虽然目前尚不能证明它可作为血栓性疾病发病的独立诊断因素及长期预后的预测指标^[10-11],然而外周血 S100A8/A9 水平可在一定程度上反映血栓性疾病的进程及严重程度。

动脉粥样硬化形成依赖于先天免疫反应,包括 Toll 样受体的激活和炎症蛋白的表达。TLR-4 是一种跨膜信号受体,多表达在内皮细胞、心肌细胞、巨

噬细胞、中性粒细胞等细胞上,通过识别病原相关的分子模式,启动非特异免疫反应。Yin 等^[13]发现,氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)刺激可以激活 TLR-4/MyD88/NF- κ B 在血管平滑肌细胞上的炎症信号通路,从而促进平滑肌细胞泡沫细胞的形成,影响动脉粥样硬化的进程。有研究^[14-15]发现,TLR-4 参与了炎症反应,当动脉斑块不稳定时局部血管段 TLR-4 水平明显升高,在动脉粥样硬化和病理性心肌重塑中发挥重要作用,并能预示急性心血管事件的发生。本研究检测血栓形成后大鼠外周血白细胞内 TLR-4 含量,发现造模 1 d 后 TLR-4 的表达量开始升高并一直持续到造模后 14 d,TLR-4 蛋白水平仍保持上升趋势,而无血栓形成的对照组大鼠外周血白细胞 TLR-4 含量均处于低水平。这些结果进一步支持了 TLR-4 在血管病变过程中促进炎症反应,参与血栓形成和发展的观点。

COX-2 是花生四烯酸代谢途径的重要限速酶,由于花生四烯酸存在跨细胞代谢,血小板以外的细胞如血管内皮细胞、单核-巨噬细胞等通过 COX-2 途径生成的前列腺素 H₂ (PGH₂) 可被血小板利用,继续生成血栓素 A₂ (TXA₂),使血小板聚集^[16],从而影响疾病的发展和预后。有研究^[17]表明,刺激内皮细胞、单核-巨噬细胞和平滑肌细胞后均可诱导 COX-2 表达水平明显上升,当抑制单核细胞内 COX-2 基因表达时,单核-巨噬细胞趋化至缺血受损的血管部位功能受抑,同时其介导的促凝血机制也不能被充分激活,从而可减轻局部血管的炎症反应,继而

降低冠脉事件的发生率^[18-20]。本研究检测建模后外周血白细胞内 COX-2 的含量变化,发现造模 1 d 后 COX-2 的表达升高趋势一直持续到造模后 14 d,各实验组的蛋白含量均高于对照组大鼠。这些结果提示,颈动脉血栓形成以及后续病程发展涉及全身性的炎症反应。COX-2 水平的变化与炎症反应的严重程度有关,是参与血栓性疾病进展的重要因素之一。

COX-2 为诱导型环氧化酶,在生理状态下不表达或低水平表达,炎症时表达上调,通过催化产物前列腺素、血栓素、细胞间黏附分子等炎症介质参与动脉血栓形成。而与血栓栓塞性疾病形成、发展过程有密切关系的众多促炎症反应介质,包括 IL-1、IL-6、TNF- α 、ox-LDL 等均可诱导 COX-2 表达。已知 TLR-4 可在多种疾病中通过其下游细胞信号通路诱导 COX-2 表达上升。Kovarík 等^[21]发现,短链脂肪酸等类花生酸介质刺激单核细胞后,单核细胞上 TLR-4、TLR-2 活化,随后 COX-2 表达上升;Bomfim 等^[22]在高血压鼠模型研究中发现,TLR-4 参与了炎症反应,其激活可导致模型鼠血管收缩、血压升高,在使用抗 TLR-4 抗体后,COX-2 表达下降、血浆 TXA₂、IL-6 水平下降。S100A8/A9 是 Toll 样受体 4 的内源性配体之一,在关节炎、急性冠脉综合征等疾病中影响疾病发展。有研究^[23]利用 S100A8/A9 蛋白刺激巨噬细胞后发现,刺激后可诱导巨噬细胞 TLR-4 表达增多;S100A8/A9 可通过 MAPK 途径激活中性粒细胞并导致其脱颗粒^[24-25],而 S100A8/A9 介导的促细胞因子产生能够明显地被 p38 丝裂原活化蛋白激酶抑制剂所抑制,提示由活化的组织外炎性细胞分泌的 S100A8/A9 能放大炎症中的细胞因子级联反应,可通过 p38 MARK 途径实现^[26]。而在多种心血管疾病中 COX-2 的表达可受 TLR-4 及其下游细胞信号通路 MAPK 调节^[22,27],因此笔者猜测在血栓形成过程中 S100A8/A9 及 TLR-4 可能通过 p38 MAPK 途径参与了调节 COX-2 表达。动物实验结果显示,实验组大鼠在血栓形成后,各时间组大鼠 TLR-4、p-p38 MAPK、COX-2 蛋白水平随血栓形成后时间的推移而升高,并持续到造模后第 14 日;进一步对 TLR-4、p-p38 MAPK、COX-2 水平变化进行相关性分析,结果提示 TLR-4 水平与 p38 MAPK 磷酸化水平、COX-2 水平间均有一定的相关性,通过抑制剂 SB203580 阻断 MAPK 通路后,COX-2 表达水平升高趋势受到明显抑制;这表明动脉血管损伤后的炎症反应可能是通过 TLR-4 介导的依赖 COX-2 的途径,并可能与

p38 MAPK 信号通路激活相关。而大鼠外周血中 S100A8/A9 水平在动脉血栓形成后早期随时间推移逐渐升高,并在第 7 日升至最高值,随后在第 14 日回落;S100A8/A9 水平在 2 周内回落,而 TLR-4、p38 MAPK 磷酸化水平和 COX-2 表达并不完全同步,可能与 S100A8/A9 主要参与炎症反应的早期炎症反应过程,且涉及多个促炎因子通过多条途径持续刺激下游因子表达升高有关。

综上所述,血栓形成后 TLR-4、p38 MAPK 信号通路被激活参与 COX-2 表达的调节,S100A8/A9 可能主要参与炎症反应的早期过程,从而影响下游炎症因子表达。

[参考文献]

- [1] Elkind MS, Luna JM, Moon YP, et al. Infectious burden and carotid plaque thickness: the northern Manhattan study[J]. *Stroke*, 2010, 41(3): 797-798.
- [2] Grevers LC, Vries TJ, Vogl T, et al. S100A8 enhances osteoclastic bone resorption *in vitro* through activation of Toll-like receptor 4: implications for bone destruction in murine antigen-induced arthritis [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2011, 63(5): 1365-1375.
- [3] Yonekawa K, Neidhart M, Altwegg LA, et al. Myeloid related proteins activate Toll-like receptor 4 in human acute coronary syndromes[J]. *Atherosclerosis*, 2011, 218(2): 486-492.
- [4] Surin WR, Prakash P, Barthwal MK, et al. Optimization of ferric chloride induced thrombosis model in rats: effect of anti-platelet and anti-coagulant drugs[J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2010, 61(3): 287-291.
- [5] Moreira DM, Silva RL, Vieira JL, et al. Role of vascular inflammation in coronary artery disease: potential of anti-inflammatory drugs in the prevention of atherothrombosis[J]. *Am J Cardiovasc Drug*, 2014, 15(1): 1-11.
- [6] Lu WJ, Lin SC, Lan CC, et al. Effect of *Antrodia camphorata* on inflammatory arterial thrombosis-mediated platelet activation: the pivotal role of protein kinase C[J]. *Sci World J*, 2014, 2014: 745802.
- [7] Dong J, Lin J, Wang B, et al. Inflammatory cytokine TSLP stimulates platelet secretion and potentiates platelet aggregation via a TSLPR-dependent PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35(1): 160-174.
- [8] Upadhyay RK. Emerging risk biomarkers in cardiovascular diseases and disorders[J]. *J Lipids*, 2015, 2015: 971453.
- [9] Cotoi OS, Dunér P, Ko N, et al. Plasma S100A8/A9 correlates with blood neutrophil counts, traditional risk factors, and cardiovascular disease in middle-aged healthy individuals [J]. *Arterioscl Thromb Vas*, 2014, 34(1): 202-210.
- [10] Tydén H, Lood C, Gullstrand B, et al. Increased serum levels of S100A8/A9 and S100A12 are associated with cardiovascular disease in patients with inactive systemic lupus erythematosus[J]. *Rheumatology*, 2013, 52(11): 2048-2055.
- [11] Mjelva ØR, Brügger-Andersen T, Pönitz V, et al. Long-term prognostic utility of PAPP-A and calprotectin in suspected acute coronary syndrome[J]. *Scand Cardiovasc J*, 2013, 47(2): 88-97.
- [12] Vora AN, Bonaca MP, Ruff CT, et al. Diagnostic evaluation of the MRP-8/14 for the emergency assessment of chest pain[J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2012, 34(2): 229-234.
- [13] Yin YW, Liao SQ, Zhang MJ, et al. TLR-4 mediated inflammation

- promotes foam cell formation of vascular smooth muscle cell by upregulating ACAT1 expression[J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1574.
- [14] Satoh S, Yada R, Inoue H, et al. Toll-like receptor-4 is upregulated in plaque debris of patients with acute coronary syndrome more than Toll-like receptor-2[J]. *Heart Vessels*, 2014: 1–5.
- [15] Singh MV, Swaminathan PD, Luczak ED, et al. MyD88 mediated inflammatory signaling leads to CaMK II oxidation, cardiac hypertrophy and death after myocardial infarction[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2012, 52(5): 1135–1144.
- [16] Oshima H, Oshima M. The inflammatory network in the gastrointestinal tumor microenvironment: lessons from mouse models[J]. *J Gastroenterol*, 2012, 47(2): 97–106.
- [17] Connor AJ, Chen LC, Joseph LB, et al. Distinct responses of lung and liver macrophages to acute endotoxemia: role of Toll-like receptor 4[J]. *Exp Mol Pathol*, 2012, 94(1): 216–227.
- [18] Audigier C, Cochain C, Rossi E, et al. Thrombin receptor PAR-1 activation on endothelial progenitor cells enhances chemotaxis-associated genes expression and leukocyte recruitment by a COX-2-dependent mechanism[J]. *Angiogenesis*, 2015, 18(3): 347–359.
- [19] Scoditti E, Nestola A, Massaro M, et al. Hydroxytyrosol suppresses MMP-9 and COX-2 activity and expression in activated human monocytes via PKC α and PKC β 1 inhibition[J]. *Atherosclerosis*, 2014, 232(1): 17–24.
- [20] Tang J, Xiao W, Li Q, et al. A cyclooxygenase-2 inhibitor reduces vascular wall thickness and ameliorates cognitive impairment in a cerebral small vessel diseases rat model[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2015, 12(7): 704–710.
- [21] Kovarik JJ, Hölzl MA, Hofer J, et al. Eicosanoid modulation by the short-chain fatty acid n-butyrate in human monocytes[J]. *Immunology*, 2013, 139(3): 395–405.
- [22] Bomfim GF, Dos Santos RA, Oliveira MA, et al. Toll-like receptor 4 contributes to blood pressure regulation and vascular contraction in spontaneously hypertensive rats[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2012, 122(11): 535–543.
- [23] Pepper RJ, Hamour S, Chavele KM, et al. Calprotectin has a pathogenic pro-inflammatory role in anti-neutrophil cytoplasmic antibody associated vasculitis and glomerulonephritis[J]. *Lancet*, 2013, 381(Suppl 1): S86.
- [24] Schenten V, Melchior C, Steinckwich N, et al. Sphingosine kinases regulate NOX2 activity via p38 MAPK-dependent translocation of S100A8/A9[J]. *J Leukoc Biol*, 2011, 89(4): 587–596.
- [25] Simard JC, Girard D, Tessier PA. Induction of neutrophil degranulation by S100A9 via a MAPK-dependent mechanism[J]. *J Leukoc Biol*, 2010, 87(5): 905–914.
- [26] Szekecz Z, Koch AE. Analysis of inflammatory leukocyte and endothelial chemotactic activity[J]. *Methods Mol Med*, 2007, 135(4): 359–364.
- [27] Jenke A, Wilk S, Poller W, et al. Adiponectin protects against Toll-like receptor 4-mediated cardiac inflammation and injury[J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 99(3): 422–431.
- [收稿日期] 2015-06-22 [本文编辑] 瞿麟平

(上接第 473 页)

- [8] van der Horst A, Vromans MJ, Bouwman K, et al. Inter-domain cooperation in INCENP promotes Aurora B relocation from centrosomes to microtubules[J]. *Cell Rep*, 2015, 12(3): 380–387.
- [9] Nabzdyk CS, Lancero H, Nguyen KP, et al. RNA interference-mediated survivin gene knockdown induces growth arrest and induced migration of vascular smooth muscle cells[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 301(5): H1841–H1849.
- [10] McCrann DJ, Yang D, Chen H, et al. Upregulation of Nox 4 in the adding vasculature and its association with smooth muscle cell polyploidy[J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(6): 902–908.
- [11] Chen J, Jin S, Tahir SK, et al. Survivin enhances Aurora B kinase activity and localizes Aurora B in human cells[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(1): 486–490.
- [12] Kanda A, Kawai H, Suto S, et al. Aurora B/AIM-1 kinase activity is involved in Ras-mediated cell transformation[J]. *Oncogene*, 2006, 24(49): 7266–7272.
- [13] Kang J, Cheeseman IM, Kallstrom G, et al. Functional cooperation of Dam1, Ipl1, and the inner centromere protein (INCENP)-related protein Sli15 during chromosome segregation[J]. *Cell Biol*, 2001, 155(5): 763–774.
- [收稿日期] 2015-10-14 [本文编辑] 瞿麟平