

补体 C5a 及受体对人肾间质成纤维细胞增殖的影响及机制研究

朱娜^a, 冯婷^b, 冯杨萌^c, 封青^c, 李静艳^a

(陕西省人民医院 a. 科研处; b. 肾内科; c. 中心实验室, 西安 710068)

摘要: 目的 探讨补体 C5a 及受体 (C5aR) 对人肾间质成纤维细胞 (human renal interstitial fibroblasts, hRIFs) 增殖及纤维化相关因子表达的影响。方法 原代培养 hRIFs 细胞, 对细胞进行鉴定后, 检测 C5aR 表达情况; 同用 C5a 和 C5aR 拮抗剂分别对 hRIFs 处理后检测细胞增殖、细胞外基质蛋白 (fibronectin, Collagen-I) 以及转化生长因子- β 1 (TGF- β 1) 的蛋白表达情况。结果 hRIFs 细胞 vimentin 蛋白表达阳性, desmin 蛋白表达阴性, C5aR 表达于 hRIFs 细胞表面。MTS 实验结果显示: 与对照组相比, C5a 纯品 (浓度分别为 10, 15, 20nmol/L) 刺激后第 2h, 8h 的 *A* 值差异无统计学意义 ($P>0.05$), 刺激后第 24h 的 *A* 值 (0.217 ± 0.037 vs 0.613 ± 0.016 , 0.793 ± 0.041 , 0.887 ± 0.039) 显著升高, 差异有统计学意义 ($t=4.891$, 4.211 , 8.408 , 均 $P<0.05$)。与 C5a 纯品组相比, C5a 纯品+C5aR 拮抗剂组的 *A* 值明显降低 (0.887 ± 0.039 vs 0.424 ± 0.016), 差异有统计学意义 ($t=8.657$, $P<0.05$)。Western-Blot 结果显示, 与对照组相比, 补体 C5a (20nmol/L) 刺激后第 24h, fibronectin ($26\ 091 \pm 128$ vs $15\ 400 \pm 105$), Collagen-I ($31\ 229 \pm 129$ vs $24\ 823 \pm 136$) 以及 TGF- β 1 ($27\ 855 \pm 161$ vs $20\ 326 \pm 152$) 蛋白表达水平都有明显增加, 差异具有统计学意义 ($t=4.891$, 5.820 , 2.311 , 均 $P<0.05$)。与 C5a 纯品组相比, C5a 纯品+C5aR 拮抗剂组 fibronectin ($22\ 188 \pm 132$ vs $26\ 091 \pm 128$), Collagen-I ($27\ 181 \pm 113$ vs $31\ 229 \pm 129$) 以及 TGF- β 1 ($25\ 013 \pm 139$ vs $27\ 855 \pm 161$) 蛋白表达水平显著降低, 差异具有统计学意义 ($t=2.349$, 1.618 , 3.774 , 均 $P<0.05$)。结论 补体 C5a-C5aR 相互作用可导致 hRIFs 细胞增殖、促纤维因子 TGF- β 1 表达升高及细胞外基质蛋白生成增加, 对肾间质纤维化具有重要意义。

关键词: 补体 C5a; C5a 受体; 人肾间质成纤维细胞; 肾间质纤维化

中图分类号: R692.9; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2022) 06-065-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.06.012

Effect of Complement C5a on the Proliferation of Human Renal Mesenchymal Fibroblasts and Expression of Fibrosis-related Factors

ZHU Na^a, FENG Ting^b, FENG Yang-meng^c, FENG Qing^c, LI Jing-yan^c(a. Department of Research;

b. Department of Nephrology; c. Central Laboratory, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of complement C5a-C5aR on the proliferation and expression of fibrosis-related factors in human renal mesenchymal fibroblasts (HhRIFs) cells. **Methods** After primary culture of hRIFs cells, the cells were identified and C5aR expression was detected. HRIFs were treated with C5a and C5aR antagonists to detect cell proliferation, extracellular matrix protein (fibronectin, Collagen-I) and transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) protein expression, respectively. **Results** The results of the MTS experiment showed that the *A* values of C5a pure (10, 15, 20nmol/L) were not statistically significant ($P>0.05$) at the 2h and 8h after stimulation compared with the control group. The *A* values at the 24h after stimulation (0.217 ± 0.037 vs 0.613 ± 0.016 , 0.793 ± 0.041 , 0.887 ± 0.039) were significantly higher, the differences were statistically significant ($t=4.891$, 4.211 , 8.408 , all $P<0.05$). The *A* values of C5a pure + C5aR antagonist group at 24h after stimulation (0.887 ± 0.039 vs 0.424 ± 0.016) were significantly lower compared to C5a pure group, and the difference was statistically significant ($t=8.657$, $P<0.05$). Western-Blot results showed that compared to the control group, at the 24h after stimulation with complement C5a (20nmol/L) fibronectin ($26\ 091 \pm 128$ vs $15\ 400 \pm 105$), Collagen-I ($31\ 229 \pm 129$ vs $24\ 823 \pm 136$) and TGF- β 1 ($27\ 855 \pm 161$ vs $20\ 326 \pm 152$) protein expression levels were significantly increased compared with the control group, and the results were statistically significant ($t=4.891$, 5.820 , 2.311 , all $P<0.05$). Compared with the C5a-only group, the C5a-only + C5aR antagonist groups fibronectin ($22\ 188 \pm 132$ vs $26\ 091 \pm 128$), Collagen-I ($27\ 181 \pm 113$ vs

基金项目: 陕西省科技厅一般项目-社会发展领域项目: 编号 2019SF-130。

作者简介: 朱娜 (1982-), 女, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为免疫学检验与肾脏病的研究, E-mail: happybabyegg@163.com。

通讯作者: 李静艳 (1965-), 女, 大专, 副主任护师, 主要研究方向为康复护理, E-mail: ljy2346@163.com。

31 229 ± 129), and TGF- β 1 (25 013 ± 139 vs 27 855 ± 161) protein expression levels were significantly reduced and the results were statistically significant ($t=2.349, 1.618, 3.774$, all $P < 0.05$). **Conclusion** Complement C5a-C5aR interaction could leads to proliferation of hRIFs cells, elevated expression of pro-fibrotic factor TGF- β 1 and increased production of extracellular matrix proteins, which are important for renal interstitial fibrosis.

Keywords: complement C5a; C5aR; hRIF; renal interstitial fibrosis

肾间质纤维化是各种肾脏疾病进展到终末期共有的病理损伤过程,其发病机制复杂,主要由肾脏固有细胞转化成肌纤维母细胞(EMT)并在肾间质中聚集、细胞外基质(extracellular matrix,ECM)合成增多及降解减少、促纤维化细胞因子表达上调、单核巨噬细胞等炎症细胞浸润、氧自由基生成过多及肾间质细胞凋亡等多因素导致^[1]。近年研究发现,慢性炎症刺激可诱导成纤维细胞的激活、EMT发生、细胞外基质蛋白,包括胶原蛋白I(Collagen-I)和纤连蛋白(fibronectin)的过度沉积,进一步导致肾间质纤维化^[2]。补体C5a(过敏毒素)是补体激活过程中产生的一种强效的炎症介质,其通过与细胞表面特异性受体(C5aR,一种G蛋白耦联受体)结合后诱发多种炎症反应^[3],研究表明,C5a通过上调C5aR mRNA的表达及激活转化生长因子(TGF- β 1/CTGF)信号途径介导肾小管上皮细胞转分化为肌成纤维细胞^[4],从而诱导肾间质纤维化,但C5a-C5aR的相互作用是否直接刺激人肾间质成纤维细胞(hRIFs)增殖、活化并生成细胞外基质尚不明确。本研究通过体外培养人肾间质纤维细胞,观察补体C5a-C5aR对细胞增殖及纤维化相关因子表达的影响,进一步探讨补体C5a的促肾纤维化作用的分子机制。

1 材料和方法

1.1 细胞来源 原代细胞培养的肾脏组织取自2019年2~6月经陕西省人民医院确诊的肾肿瘤患者,共收集4例(男性3例,女性1例),其中2例用于预实验,2例用于验证实验。本研究经我院医学伦理委员会审核批准。

1.2 试剂和仪器 RPMI-1640培养液(MRC公司),I型胶原酶(Sigma-vetec公司),抗vimentin抗体、抗desmin抗体、抗fibronectin抗体、抗Collagen-I抗体及抗TGF- β 1抗体(abcam公司),C5a纯品(hycult公司),C5aR拮抗剂(金斯瑞生物科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 hRIFs原代培养:选择肾肿瘤患者切除的肾脏组织,在远离肿瘤部分沿皮髓交界处切取髓质部分,行0.5mg/ml I型胶原酶溶解(30min, 37℃)经200 μ m过滤后,收集滤液于离心管中,1 000r/min离心10min。用RPMI-1640培养液洗涤1次,洗涤完后加入含0.1ml/ml灭活新生小牛血清的

RPMI-1640培养液,悬浮细胞。37℃ CO₂ 孵箱培育3天后换液,待细胞生成单层后,行1:2扩增传代。

1.3.2 hRIFs细胞鉴定:体外培养第3代细胞铺满玻片,Tris缓冲液漂洗3次,丙酮室温下固定玻片10~20min;滴加1滴Triton X-100覆盖玻片表面,室温下静置1.0~2.0h;加vimentin蛋白一抗抗体或desmin蛋白一抗抗体,室温下孵育1.0~2.0h;加入异硫氰酸荧光素(FITC)标记的二抗,37℃孵育60min;激光共聚焦显微镜下观察并拍照,分辨率512×512,阳性信号为绿色荧光。

1.3.3 hRIFs细胞C5aR受体检测:hRIFs细胞以1×10⁵/瓶接种于培养瓶,无血清培养液孵育24h,收集细胞,多聚甲醛固定,滴加Triton X-100,孵育20min;PBS清洗3次,3%H₂O₂孵育20min,PBS清洗后封闭血清孵育60min。加入鼠抗人C5aR蛋白(1:200)单克隆一抗抗体,4℃过夜。加入二抗,37℃孵育60min;DAB显色,苏木素复染10min,封片。细胞质或者细胞核中出现棕黄色或浅黄色染色即为阳性。

1.3.4 hRIFs细胞增殖实验:取第3代hRIFs细胞接种于96孔板培养24h,加入C5a纯品,结合课题组前期研究结果,浓度分别设为:0(空白对照),10,15,20nmol/L刺激2,8,24h后收集细胞,每浓度设3个复孔。分别于培养结束前6h加入MTS 10 μ l/孔,终止反应后加入二甲亚砜100 μ l/每孔,于560nm处测量A值,选择最佳刺激浓度和处理时间。

1.3.5 C5a纯品和C5aR拮抗剂处理后细胞外基质蛋白(fibronectin, Collagen-I)及TGF- β 1检测:取第3代hRIFs细胞接种于细胞培养板中,密度为3×10³ cells/L,培养24h后分别用C5a纯品和C5aR拮抗剂处理细胞(处理方法同1.3.4),提取细胞总蛋白,BCA蛋白定量试剂盒检测蛋白浓度,SDS-PAGE分离蛋白,半干法转移至硝酸纤维素膜上,脱脂牛奶封闭2h,加入一抗,fibronectin(1:250),Collagen-I(1:250),TGF- β 1(1:500),GAPDH作为内参,4℃过夜,加入相应二抗(辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔1:2 000),1h后进行DAB显色、扫描并使用image J软件进行灰度值分析、计算蛋白相对表达水平。

1.4 统计学分析 采用SPSS17.0统计软件进行数据处理与统计分析,样本计量资料以均值±标准

差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 hRIFs 细胞形态学观察 经第1代培养的细胞在倒置相差显微镜下可见贴壁的组织块中有两种形态细胞长出, 即立方形或多边形细胞和长梭形细胞, 换液后, 后者的生长速度明显大于前者, 15 天左

右以长梭形细胞为主的细胞铺满瓶底, 转种。此后每3天转种1次, 转种2次后在即可获得均匀生长的含单个核的纯长梭形细胞。随后, 运用细胞免疫荧光方法对该细胞进行鉴定, 结果显示: hRIFs 细胞 vimentin 蛋白表达阳性, desmin 蛋白表达阴性, 提示该细胞为 hRIFs 细胞, 细胞形态和鉴定结果见图1。

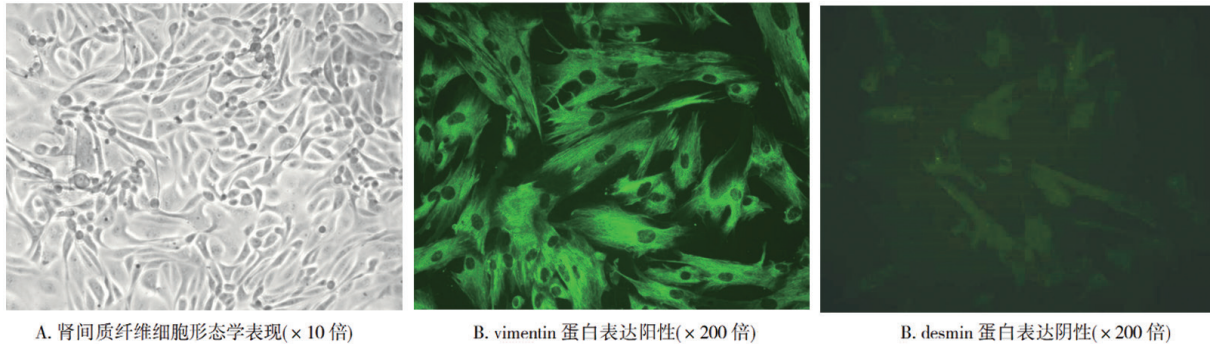


图1 第3代肾间质成纤维细胞形态及免疫荧光鉴定结果

2.2 hRIFs 细胞表达 C5aR 见图2。因补体 C5a 必须与其受体 C5aR 结合后方可产生功能应答,

hRIFs 细胞是否表达 C5aR 尤为重要, 本研究免疫组织化学结果显示 hRIFs 细胞表达 C5aR。

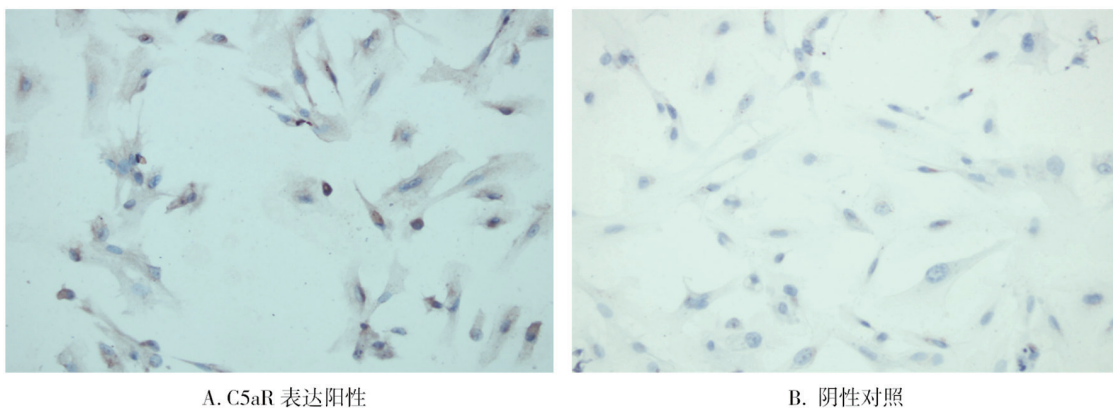


图2 C5aR 在 hRIFs 细胞上的表达 (激光共聚焦显微镜, $\times 200$)

2.3 C5a 纯品及 C5aR 拮抗剂刺激对 hRIFs 细胞增殖的影响 见表1。MTS 实验结果显示: 与对照组相比, C5a 纯品 (浓度分别为 10, 15, 20nmol/L) 刺激后第2, 8h 的 A 值差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 刺激后第24h 的 A 值显著升高 ($t=4.891, 4.211, 8.408$,

均 $P < 0.05$)。故选择 C5a 浓度为 20nmol/L 判断 24h 进行后续实验, 与 C5a 纯品组相比, C5a 纯品 + C5aR 拮抗剂组的 A 值明显降低, 差异有统计学意义 ($t=8.657, P < 0.05$)。

表1 C5a 对人肾间质纤维细胞增殖的影响 (A 值, $\bar{x} \pm s$)

项目	空白对照	10 nmol/L 组	15 nmol/L 组	20 nmol/L 组
C5a 刺激 2h	0.210 \pm 0.032	0.250 \pm 0.022	0.270 \pm 0.028	0.280 \pm 0.021
C5a 刺激 8h	0.223 \pm 0.0420	0.310 \pm 0.028	0.380 \pm 0.033	0.395 \pm 0.017
C5a 刺激 24h	0.217 \pm 0.037	0.613 \pm 0.016	0.793 \pm 0.041	0.887 \pm 0.039
C5a+C5aR 拮抗剂刺激 24h	0.210 \pm 0.03	-	-	0.424 \pm 0.016

2.4 C5a 纯品及 C5aR 拮抗剂刺激后对细胞外基质蛋白 (fibronectin, CollagenI) 以及 TGF- β 1 表达的影响 见表2。Western-Blot 结果显示, 与对照组相比, 补体 C5a (20nmol/L) 刺激后第24h,

fibronectin, Collagen-I 以及 TGF- β 1 蛋白表达水平都有明显增加, 其结果具有统计学意义 ($t=4.891, 5.820, 2.311$, 均 $P < 0.05$)。与 C5a 纯品组相比, C5a 纯品 + C5aR 拮抗剂组 fibronectin, Collagen-I 以

及 TGF- β 1 蛋白表达水平显著降低, 结果具有统计学意义 ($t=2.349, 1.618, 3.774$, 均 $P < 0.05$)。

表2 C5a 及 C5aR 拮抗剂刺激后 fibronectin, Collagen-I 及 TGF- β 1 蛋白表达水平 (灰度值)

项目	对照	C5a	C5a+C5aR 拮抗剂
fibronectin	15 400 \pm 105	26 091 \pm 128	22 188 \pm 132
Collagen-I	24 823 \pm 136	31 229 \pm 129	27 181 \pm 113
TGF- β 1	20 326 \pm 152	27 855 \pm 161	25 013 \pm 139

3 讨论

肾脏疾病是继心脑血管病、糖尿病、肿瘤之后的又一严重威胁人类健康的疾病, 而肾脏纤维化则是各种肾脏疾病进展到终末期肾衰竭共有的病理损伤过程, 因此深入认识肾脏纤维化的发病机制并找出对纤维化过程中起调节作用的关键途径具有重要的临床意义。补体活化产物 C5a 是炎症反应趋化因子, 具有过敏毒素样作用和强趋化作用, 在炎症反应过程中起着重要的作用。C5a 的作用主要通过 C5a 受体的结合后激活 C5aR 的信号传导途径, 引发级联反应, 产生相应的功能应答, 不同的靶细胞决定不同的应答途径, 产生不同的生物学活性^[4]。课题组前期发现补体活化在感染中对机体起有害作用, 补体活化产生的片段 C5a 与其受体作用激活下游信号参与炎症调控^[5]。慢性炎症反应可导致组织损伤和肾脏功能紊乱, 最终导致肾间质纤维化^[6]。

补体系统通过经典途径、MBL 途径、旁路途径三条途径激活, 传统观点认为补体激活途径是以 C3 激活为起点, 进一步激活 C5 后诱发补体级联反应。研究通过 C3 基因敲除小鼠发现, 免疫复合物在 C3 基因敲除小鼠中依然能够激活级联反应, 使 C5 为一条新的补体激活途径^[7]。C5a 是肾脏疾病中新型的促纤维化因子, 是肾小管间质纤维化新的治疗靶点, 激活过程中会产生促炎的补体成分 C3a, C5a, 参与多种肾脏疾病的发病过程。在阿霉素肾病中, 肾脏局部可产生 C3, 经 C3 裂解形成 C3a, C5a 等补体成分, 共同参与肾小球和肾小管的损伤^[8]。LIU 等^[9]研究发现, 在 C5a 小鼠处理组中 α -SMA, E-cadherin, Col-I, TGF- β 1 和 CTGF 的表达明显高于对照组, 而 C5aR 拮抗剂抑制了 α -SMA, E-cadherin, Col-I, TGF- β 1 和 CTGF 的表达, 即 C5a-C5aR 的相互作用激活 TGF- β 1 和 CTGF 信号途径介导肾小管上皮细胞转分化为肌成纤维细胞。大鼠 UUO 模型中提示肾脏组织中 C5aR 的表达在早期随着梗阻时间延长而上调, 晚期则增多缓慢, 其基因水平表达情况同蛋白基本一致, 提示 C5aR 可能在肾脏局部通过与循环系统中的 C5a 结合在肾间质纤维化早期起作用^[10]。研究显示, C5a-

C5aR 直接作用于 HK2 细胞可诱导 IL-17 的产生, 在肾移植后的排斥反应中起重要作用^[11]。同时, 在系统性红斑狼疮的发病机制中, 补体也扮演着非常重要的角色, C3, C4 通常被作为 SLE 的诊断和活动度的判别指标之一^[12]。

目前关于 C5a-C5aR 信号转导通路有一定的研究, 主要通过 3 种信号通路传递信号: ①具有调节丝裂素激活的蛋白激酶 (MAPK) 信号通路; ②肌醇磷脂-磷脂酶 C (PI-PLC) 信号通路; ③环磷酸腺苷 (cAMP) 信号通路。HU 等^[13]的研究表明, 补体抑制剂通过激活磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT) 信号改善肾缺血-再灌注损伤。CHEN 等^[14]的研究提示, 单侧输尿管梗阻小鼠肾纤维化过程中可溶性 IL-6 受体水平升高, 用 Fc-gp130 阻断 IL-6 反式信号可降低肾组织的炎症水平、免疫细胞浸润和促纤维化细胞因子的表达, 降低信号转导及转录激活蛋白 3 (STAT3) 的磷酸化, 减少肾组织中成纤维细胞的积聚。LIU 等^[15]研究表明 C5aR 能与 Gai 和 Ga16 偶联, 激活 Ras-Raf-MEK-ERK 信号途径。用 C5aR 抗体封闭 C5aR, 阻断了 C5aR 相联系的 MAP 激酶信号 PKC-8MEK-1 和 p44/p42 MAPK 等级联反应, 表明 C5aR 通过 PKC 相联系的 MAPK 信号通路起作用。本研究通过体外培养 hRIFs, 证实了 hRIFs 表达 C5a 受体, 同时, 发现 C5a 刺激后, hRIFs 细胞增殖显著, 促纤维因子 TGF- β 1 和细胞外基质蛋白 fibronectin, Collagen-I 明显增加, 而加入 C5aR 拮抗剂后, 以上蛋白表达则明显抑制, 进一步证实 C5a-C5aR 相互作用可直接刺激肾间质纤维细胞增殖, 从而诱导肾间质纤维化, 但研究具有一定的局限性, 未能探讨补体 C5a 通过何种信号通路调控细胞增殖及促纤维因子的释放, 今后将进一步的完善体内和体外实验。

综上所述, 本研究为肾间质纤维化的发病机制提供了崭新视角, 以补体 C5a 受体为靶点的药物研究日益受到重视, C5aR 拮抗剂可望成为一种肾脏疾病防治的新手段和干预靶点。

参考文献:

- [1] ZHAO Hailin, ALAM A, SOO A P, et al. Ischemia-reperfusion injury reduces long term renal graft survival: mechanism and beyond[J]. EBio Medicine, 2018, 28:31-42.
- [2] DUFFIELD J S. Cellular and molecular mechanisms in kidney fibrosis[J]. J Clin Invest, 2014, 124(6):2299-2306.
- [3] FENG Ye, REN Jiafa, GUI Yuan, et al. Wnt/ β -catenin-promoted macrophage alternative activation contributes to kidney fibrosis[J]. J Am Soc Nephrol, 2018, 29(1):182-193.

- [4] CERNOCH M, VIKLICKY O. Complement in kidney transplantation[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2017, 4:66.
- [5] CHOUDHRY N, LI Ke, ZHANG Ting, et al. The complement factor 5a receptor 1 has a pathogenic role in chronic inflammation and renal fibrosis in a murine model of chronic pyelonephritis[J]. *Kidney Int*, 2016, 90(3):540-554.
- [6] BAO Xue, BORNE Y, MUHAMMAD I F, et al. Complement C3 and incident hospitalization due to chronic kidney disease: a population-based cohort study[J]. *BMC Nephrol*, 2019, 20(1):61.
- [7] LAURA R, ALBERTO O. Timing of eculizumab therapy for C3 glomerulonephritis[J]. *Clinical Kidney Journal*, 2015, 8(4): 449-452.
- [8] 饶斯逸, 张晶, 崔炯, 等. 补体 C3 参与小鼠缺血再灌注急性肾损伤后肾脏炎症及慢性纤维化 [J]. *中华高血压杂志*, 2022, 30(2):145-152.
- RAO Siyi, ZHANG Jing, CUI Jiong, et al. Complement C3 participates in inflammation and post-injury fibrosis in mice with ischemia-reperfusion induced acute kidney injury[J]. *Chinese Journal of Hypertension*, 2022, 30(2):145-152.
- [9] LIU Fang, GOU Rong, HUANG Jun. et al Effect of anaphylatoxin C3a, C5a on the tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation in vitro[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2011, 124(23):4039-4045.
- [10] PENG Qi, WU Weiju, WU Kunyi, et al. The C5a/C5aR1 axis promotes progression of renal tubulointerstitial fibrosis in a mouse model of renal ischemia/reperfusion injury[J]. *Kidney Int*, 2019, 96(1):117-128.
- [11] CHMILEWSKY F, ABOUT I, CHUNG S H. Pulp fibroblasts control nerve regeneration through complement activation[J]. *J Dent Res*, 2016, 95(8):913-922.
- [12] 肖广智, 高旋, 丁进. 血清补体 C3, C4 水平正常的活动性狼疮性肾炎患者的临床特征与实验室相关指标分析 [J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37(5): 39-43.
- XIAO Guangzhi, GAO Xuan, DING Jin. Analysis of clinical and laboratory characteristics of the patients of active lupus nephritis with normal levels of serum complement C3 and C4[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2022, 37(5): 39-43.
- [13] HU Chao, LI Long, DING Peipei, et al. Complement inhibitor CR1g/FH ameliorates renal ischemia reperfusion injury via activation of PI3K/AKT signaling[J]. *J Immunol*, 2018, 201(12):3717-3730.
- [14] CHEN Wei, YUAN Hui, CAO Wenmin, et al. Blocking interleukin-6 trans-signaling protects against renal fibrosis by suppressing STAT3 activation[J]. *Theranostics*, 2019, 9(14):3980-3991.
- [15] LIU Ziming, ZHU Shiming, QIN Xiangjing, et al. Silencing of C5a receptor gene with siRNA for protection from Gram-negative bacterial lipopolysaccharide-induced vascular permeability[J]. *Mol Immunol*, 2010, 47(6):1325-1333.

收稿日期: 2022-10-04

修回日期: 2022-11-10

(上接第23页)

- [7] MONISHA K G, PRABU P, CHOKKALINGAM M, et al. Clinical utility of brain-derived neurotrophic factor as a biomarker with left ventricular echocardiographic indices for potential diagnosis of coronary artery disease[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 16359.
- [8] JIN Hong, CHEN Yifei, WANG Bilei, et al. Association between brain-derived neurotrophic factor and von Willebrand factor levels in patients with stable coronary artery disease[J]. *BMC Cardiovascular Disorders*, 2018, 18(1): 23.
- [9] ESMAEILI F, MANSOURI E, EMAMI M A, et al. Association of serum level and DNA methylation status of brain-derived neurotrophic factor with the severity of coronary artery disease[J]. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2022, 37(2): 159-168.
- [10] ASLAN G, POLAT V, BOZCALI E, et al. Evaluation of serum platelet-derived growth factor receptor-β and brain-derived neurotrophic factor levels in microvascular angina[J]. *Anatolian Journal of Cardiology*, 2020, 24(6): 397-404.
- [11] JIN Hong, JI Jingjing, ZHU Yi, et al. Brain-derived neurotrophic factor, a new predictor of coronary artery calcification[J]. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 2021, 27: 1076029621989813.
- [12] KAESS B M, PREIS S R, LIEB W, et al. Circulating brain-derived neurotrophic factor concentrations and the risk of cardiovascular disease in the community[J]. *Journal of the American Heart Association*, 2015, 4 (3): e001544.
- [13] KONG Deping, YU Ying. Prostaglandin D(2) signaling and cardiovascular homeostasis[J]. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2022, 167: 97-105.
- [14] PAWELZIK S C, AVIGNON A, IDBORG H, et al. Urinary prostaglandin D(2) and E(2) metabolites associate with abdominal obesity, glucose metabolism, and triglycerides in obese subjects[J]. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 2019, 145: 106361.
- [15] LEE H S, YUN S J, HA J M, et al. Prostaglandin D(2) stimulates phenotypic changes in vascular smooth muscle cells[J]. *Experimental & Molecular Medicine*, 2019, 51(11): 1-10.

收稿日期: 2022-03-29

修回日期: 2022-07-20