

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.19.006

MAPK/JNK 信号通路介导血管紧张素 II 促进成骨细胞凋亡的研究*

李广悦

重庆医科大学附属口腔医院修复科/口腔疾病与生物医学重庆市重点实验室/
重庆市高校市级口腔生物医学工程重点实验室,重庆 401147

摘要:目的 研究血管紧张素 II (Ang II) 调控小鼠成骨细胞凋亡的分子机制。方法 用 10^{-6} mol/L Ang II 刺激小鼠成骨细胞 24 h, 利用原位末端转移酶标记技术检测成骨细胞凋亡情况。并将成骨细胞分为 4 组, 对照组(α -MEM 培养基处理细胞 1 h); Ang II 组(10^{-6} mol/L Ang II 处理细胞 1 h); Ang II + SP600125 组 [使用 c-Jun 氨基末端激酶(JNK) 通路抑制剂(SP600125) 预处理细胞 1 h, 再用 Ang II 处理 1h]; Ang II + vehicle 组(加入对应量的二甲基亚砷预处理 1 h, 再用 Ang II 处理细胞 1 h)。利用免疫印迹法检测凋亡信号通路相关蛋白(Bax、Bcl-2、细胞色素 C) 及应激活化蛋白激酶(SAPK)/JNK 信号通路的表达, 同时使用试剂盒检测 Caspase-3 活性。**结果** 10^{-6} mol/L Ang II 处理后, 成骨细胞凋亡数目增加 2 倍, 同时细胞内 SAPK/JNK 通路活化, Bcl-2 表达明显降低, Bax 表达明显增加, 细胞色素 C 从细胞核内向细胞质内转移增加, Caspase-3 活性明显增加, 而使用 SP600125 后可明显抑制上述改变。**结论** Ang II 可促进小鼠成骨细胞凋亡, 凋亡效应可由 SAPK/JNK 通路所介导。

关键词:血管紧张素 II; 成骨细胞; 凋亡; 信号通路

中图法分类号:R544.1; Q731

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)19-2768-05

MAPK/JNK signaling pathway mediates Angiotensin II to promote osteoblast apoptosis*

LI Guangyue

Department of Prosthodontics, Stomatological Hospital of Chongqing Medical University/
Chongqing Key Laboratory of Oral Disease and Biomedical Sciences/Chongqing Municipal
Key Laboratory of Oral Biomedical Engineering of Higher Education, Chongqing 401147, China

Abstract: **Objective** To analyze the effects of Angiotensin (Ang) II on osteoblast apoptosis and underlying molecular mechanism. **Methods** The mouse osteoblasts were cultured in vitro, and treated with or without 10^{-6} mol/L Ang II for 24 h, cell apoptosis was detected by TUNEL. Osteoblasts were divided into four groups, control group (α -MEM medium treatment for 1 h); Ang II group (10^{-6} mol/L Ang II treatment for 1 h); Ang II + SP600125 group [c-Jun N-terminal kinase (JNK) inhibitor SP600125 pre-treatment for 1 h, then 10^{-6} mol/L Ang II treatment for 1 h]; Ang II + vehicle group (corresponding amount of dimethyl sulfoxide pre-treatment for 1 h, then 10^{-6} mol/L Ang II treatment for 1 h). Bax, Bcl-2, cytochrome C expressions and stress-activated protein kinase (SAPK)/JNK activation were evaluated by Western blot, and Caspase-3 activity was measured. **Results** After being stimulated with 10^{-6} mol/L Ang II, number of apoptotic cells were increased by 2-time. Expression of Bcl-2 was decreased, while the expression of Bax and translocation of cytochrome C from mitochondria to cytosol were highly increased. And Caspase-3 activity was enormously elevated. However, these above changes could be alleviated by pre-treatment of SP600125. **Conclusion** Ang II promote apoptosis in osteoblast through SAPK/JNK signaling pathway, which could provide insights into potential links between hypertension and bone loss-related diseases.

Key words: Angiotensin II; osteoblast; apoptosis; signaling pathway

血管紧张素 II (Ang II) 属于肾素-血管紧张素系统核心效应分子, 参与调节血流动力, 影响细胞生长、分化和凋亡, 促进炎症细胞因子分泌^[1-2]。研究表明, Ang II 参与调控高血压的发生、发展, 其机制主要是通过刺激细胞活性氧簇的产生, 改变细胞内氧化还原状

态, 从而激活下游相关细胞信号通路^[1-3]。临床研究表明, Ang II 除在心血管和泌尿系统中发挥重要作用, 其也能参与到骨平衡的调节中, 血管紧张素转换酶抑制剂能明显降低骨折的发生率并提高骨矿物质密度^[4-5]。同时, Ang II 能抑制碱性磷酸酶的活性, 促进

* 基金项目: 国家自然科学基金青年项目(81800938)。

作者简介: 李广悦, 女, 主治医师, 主要从事口腔修复和骨代谢疾病相关研究。

小鼠成骨细胞分泌白细胞介素-6,从而促进骨吸收^[6-7]。

细胞凋亡由凋亡信号通路所介导,包括外源性凋亡通路,即依赖凋亡受体所形成的复合物,直接活化 Caspase 通路导致细胞凋亡,以及内源性凋亡通路,即由线粒体所介导的途径激活 Caspase 相关蛋白,发生级联放大反应,使细胞内相应底物被降解,导致细胞凋亡。同时作为细胞内重要信号通路,丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)蛋白家族参与调控细胞内多种基因转录和蛋白表达,并可影响细胞增殖、分化及凋亡等过程^[8-9]。

为了探讨 Ang II 对小鼠成骨细胞凋亡的影响及调控机制,本研究体外培养小鼠成骨细胞,经过 24 h 10^{-6} mol/L Ang II 处理,用原位末端转移酶标记技术(TUNEL)检测小鼠成骨细胞的凋亡状态,同时对 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)信号通路进行检测,以确定 Ang II 参与小鼠成骨细胞凋亡的调控机制。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 II 型胶原酶、JNK 通路的抑制剂(SP600125)、抗 β -actin 抗体购自美国 Sigma 公司;胰蛋白酶、胎牛血清、HRP 标记的抗免疫球蛋白(Ig)G 抗体购自美国 Invitrogen 公司;抗 phospho-应激活蛋白激酶(SAPK)/JNK 抗体、抗 SAPK/JNK 抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司;抗细胞色素 C 抗体购自美国 BD 公司;抗 Bcl-2 抗体、抗 Bax 抗体、抗 Cox IV 抗体等均购自美国 Santa Cruz 公司;TUNEL 原位检测细胞凋亡试剂盒、Caspase-3 活性测量试剂盒购自美国 Roche 公司;Tris 碱、甘氨酸(电泳级)、十二烷基硫酸钠(SDS)、丙烯酰胺、N,N-亚甲双丙烯酰胺、N,N,N,N-四甲基乙二胺(电泳级)、过硫酸铵、二硫苏糖醇(DTT)、甲醇、溴酚蓝、Tween-20、牛血清蛋白、脱脂奶粉、甘油、氯化钠、多聚甲醛、聚乙二醇辛基苯基醚、浓盐酸、枸橼酸钠等均购自上海生物工程有限公司。

1.2 方法

1.2.1 小鼠成骨细胞体外培养及处理 取乳鼠(由重庆医科大学动物实验中心提供),断头处死后,无菌条件下分离取出头颅骨,用 Hank 液反复清洗,将组织块移入盛有 0.2% II 型胶原酶及 0.05% 胰蛋白酶的培养瓶中在 37 ℃、5% CO₂ 孵箱中静置消化 4 次,每次 15 min,收集后 3 次的消化液,300 r/min 离心 5 min,弃除上清液,加入含 10% 胎牛血清的完全培养液,于 37 ℃、5% CO₂ 的培养箱中培养。每 3 d 换 1 次液,至细胞铺满培养瓶底时,用 0.25% 胰蛋白酶及 1% 胰酶消化传代^[7]。本研究符合作者所在单位实验动物伦理委员会所制订的伦理学标准。

1.2.2 TUNEL 染色 根据原位检测细胞凋亡试剂盒的说明书操作,将细胞接种于 8 孔培养板中,用不含或含有 10^{-6} mol/L Ang II 处理细胞 24 h^[7,10],记为

对照组和 Ang II 组。加入 4% 多聚甲醛在室温固定细胞 1 h,加入 TUNEL 反应混合液 50 μ L,在 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 60 min。在激光共聚焦显微镜下观察染色情况(激发波长 510 nm,发射波长 580 nm)。本实验重复 3 次,每组细胞设置 3 个复孔。两组细胞均在相同的设置条件下完成拍摄,图片后期使用 NIH Image J 软件进行 TUNEL 阳性细胞计数分析。

1.2.3 对 JNK 信号通路相关蛋白的检测 实验分为 4 组,1 组(简称对照组): α -MEM 培养基处理细胞 1 h;2 组(简称 Ang II 组):含 10^{-6} mol/L Ang II 的 α -MEM 培养基处理细胞 1 h;3 组(简称 Ang II + SP600125 组):使用 10 μ mol/L SP600125 预处理细胞 1 h 后,再用含 10^{-6} mol/L Ang II 的 α -MEM 培养基处理细胞 1 h;4 组(简称 Ang II + vehicle 组):加入与第 3 组配制抑制剂相对应量的二甲基亚砜,预处理细胞 1 h 后,再用含 10^{-6} mol/L Ang II 的 α -MEM 培养基处理细胞 1 h。

根据实验分组,收集各组蛋白样品,检测 SAPK/JNK 信号通路相关蛋白表达。根据欲分离的蛋白质相对分子质量大小选择适合的凝胶浓度。本实验选配分离胶浓度为 10%,浓缩胶浓度为 5%,利用聚丙烯酰胺凝胶电泳,分离样品蛋白质,90 V 恒压 20 min,120 V 恒压 1 h 左右,至蛋白指示剂分开,停止电泳;采用湿转的方法,使蛋白质转移到硝酸纤维素膜上;将硝酸纤维素膜室温封闭 1 h,分别加入抗 phospho-SAPK/JNK 抗体(或抗 SAPK/JNK 抗体、抗 β -actin 抗体),4 ℃ 过夜;TBST 缓冲液漂洗 3 次,加入 HRP 标记的抗 IgG 抗体,室温孵育 1 h;TBST 缓冲液漂洗 3 次,将 ECL 试剂 A 液和 B 液等体积混合,均匀滴加于膜上,室温孵育 1.5 min;在机器内进行曝光,保存图片;后期对所得图片用 NIH Image J 软件进行分析,同时对相应的磷酸化 JNK 蛋白、总 JNK 蛋白及 β -actin 蛋白条带灰度值进行比较,得到各标本的灰度比值。

1.2.4 对凋亡信号通路相关蛋白的检测 根据实验分组,分别收集各组细胞总蛋白、线粒体蛋白、细胞质蛋白样品,检测凋亡信号通路相关蛋白表达。实验方法基本同 1.2.3。对细胞总蛋白样品,使用抗 Bcl-2 抗体检测各组 Bcl-2 蛋白表达量;对线粒体和细胞质蛋白样品,使用抗 Bax 抗体和抗细胞色素 C 抗体检测。后期对所得图片用 NIH Image J 软件进行分析,同时对凋亡信号通路相关蛋白与 β -actin 和 Cox IV 蛋白条带灰度值进行比较,得到各标本的灰度比值。

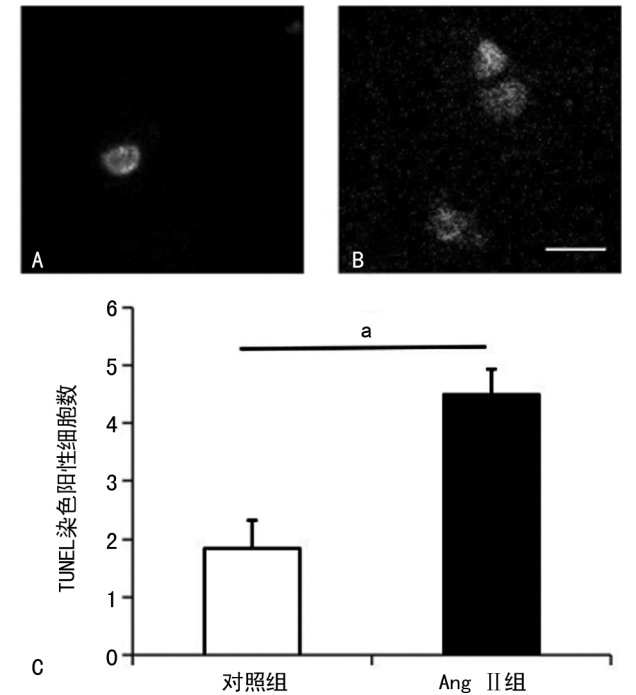
1.2.5 Caspase-3 活性测定 实验分组同 1.2.3。按照 Caspase-3 活性试剂盒说明书,提前配制工作浓度的铺板缓冲液、抗 Caspase-3 抗体、孵育缓冲液、DTT、反应底物溶液等。在孔板每孔中加入 100 μ L 含有抗 Caspase-3 的铺板溶液,4 ℃ 过夜;去除铺板溶液,加入封闭液以避免非特异性的结合,置于室温 30 min;去

除封闭液,用孵育缓冲液清洗孔板 3 次。在孔板内加入样品(包括待测样品及阳性对照样品),37℃孵育 1 h;加入 200 μL 孵育缓冲液,清洗孔板 3 次;每孔加入 100 μL 反应底物溶液,在荧光分光光度计内读数 T_0 (荧光激发波长为 400 nm,发射波长为 505 nm);将孔板用薄膜严密封闭,放置于 37℃孵育 2 h,再次用荧光分光光度计在相同设置条件下读数 T_1 ;对各孔的荧光值进行校正,即用样品(包括标准品)的荧光值减去空白孔的荧光值,计算各孔的荧光变化值($\Delta FU = T_0 - T_1$);根据标准曲线及各样品的荧光变化值,计算相应样品中 Caspase-3 的活性;计算公式为: $\text{Caspase 活性} = \Delta FU / (120 \text{ min} \times \text{标准曲线斜率})$ 。

1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计分析软件进行处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,组间比较采用 q 检验,检验水平 $\alpha = 0.05$ 。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

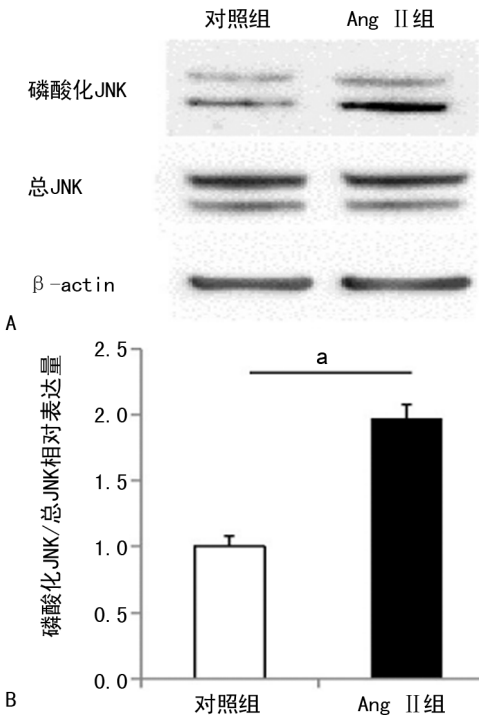
2.1 Ang II 对小鼠成骨细胞凋亡的影响 在激光共聚焦显微镜下观察,小鼠成骨细胞在经过 10^{-6} mol/L Ang II 处理 24 h 后,TUNEL 染色阳性细胞占有细胞的比例明显增多。与对照组比较,Ang II 组阳性细胞数差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1。



注:A表示对照组 TUNEL 染色阳性细胞;B表示 Ang II 组 TUNEL 染色阳性细胞(标尺长度 30 μm);C表示两组 TUNEL 染色阳性细胞数统计值,与对照组比较,^a $P < 0.05$ 。

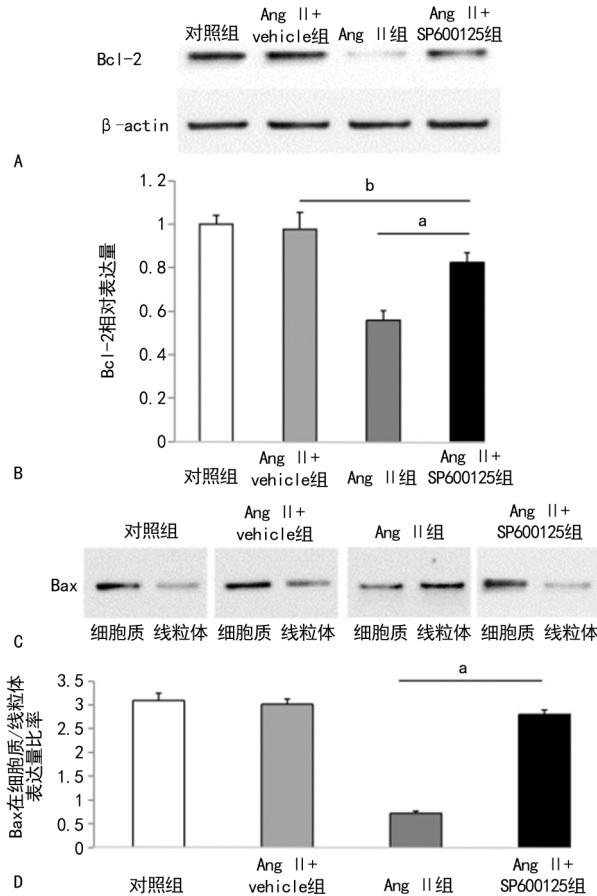
图 1 Ang II 对小鼠成骨细胞凋亡的影响

2.2 Ang II 对 JNK 信号通路的影响 在 10^{-6} mol/L Ang II 组处理小鼠成骨细胞 1 h 后,Ang II 组磷酸化 JNK 蛋白表达量较对照组升高,约为对照组表达量的 2 倍,总 JNK 蛋白及内参 β -actin 表达量无明显改变。见图 2。



注:A表示免疫印迹法测定相关蛋白的相对表达量;B表示免疫印迹法测定相关蛋白相对表达量的统计值,与对照组比较,^a $P < 0.05$ 。

图 2 Ang II 对小鼠成骨细胞 JNK 信号通路的影响

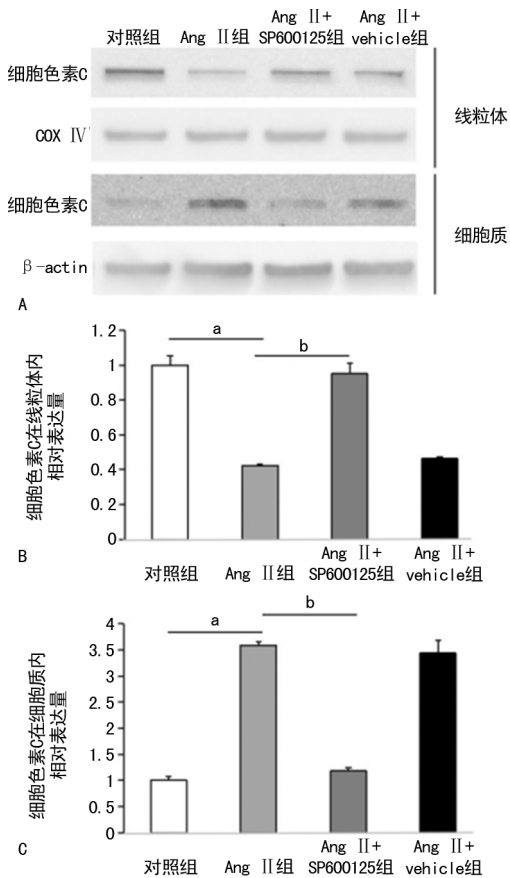


注:A表示免疫印迹法测定 Bcl-2 的相对表达量;B表示免疫印迹法测定 Bcl-2 相对表达量的统计值,Ang II+SP600125 组与 Ang II组比较,^a $P < 0.05$,与 Ang II+vehicle 组比较,^b $P < 0.05$;C表示免疫印迹法测定 Bax 分别在细胞质及线粒体内的相对表达量;D表示免疫印迹法测定 Bax 分别在细胞质及线粒体内相对表达量的统计值,与 Ang II组比较,^a $P < 0.05$ 。

图 3 Ang II 对小鼠成骨细胞凋亡 Bcl 家族蛋白的影响

2.3 Ang II 处理对成骨细胞凋亡 Bcl 家族蛋白的影响 结果显示 10^{-6} mol/L Ang II 处理成骨细胞 1 h 后, Ang II 组 Bcl-2 蛋白表达量较对照组下降约 52%, 而使用 SP600125 预处理细胞 1 h 后再加入 10^{-6} mol/L Ang II 的刺激, Ang II + SP600125 组 Bcl-2 蛋白表达量较对照组仅改变了 7%, 与 Ang II 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。同样, 10^{-6} mol/L Ang II 处理成骨细胞可致 Ang II 组 Bax 蛋白在细胞质与线粒体内表达量的比率明显较对照组降低。而 SP600125 预处理可部分抑制该改变, Ang II + SP600125 组与 Ang II 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 3。

2.4 Ang II 处理对成骨细胞色素 C 释放的影响 结果显示 10^{-6} mol/L Ang II 处理成骨细胞 1 h 后, Ang II 组线粒体内细胞色素 C 表达量相对于对照组明显下降, 而细胞质内表达量上升。而用 SP600125 预处理细胞后, 可抑制细胞色素 C 在线粒体和细胞质中表达量的改变, Ang II + SP600125 组与 Ang II 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 4。

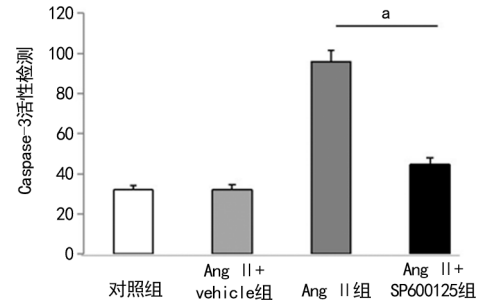


注: A 表示免疫印迹法测定细胞色素 C 分别在线粒体及细胞质内的相对表达量; B 表示免疫印迹法测定细胞色素 C 在线粒体内相对表达量的统计值, Ang II 组与对照组比较, $^a P < 0.05$, 与 Ang II + SP600125 组比较, $^b P < 0.05$; C 表示免疫印迹法测定细胞色素 C 在细胞质内相对表达量的统计值, Ang II 组与对照组比较, $^a P < 0.05$, 与 Ang II + SP600125 组比较, $^b P < 0.05$ 。

图 4 Ang II 对小鼠成骨细胞细胞色素 C 释放的影响

2.5 Ang II 处理对成骨细胞 Caspase-3 活性的影响

结果发现 10^{-6} mol/L Ang II 处理成骨细胞 1 h 后, Ang II 组 Caspase-3 的活性较对照组明显升高约 2 倍, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。而在加入 SP600125 预处理后 Ang II + SP600125 组中其活性改变并不明显。见图 5。



注: Ang II 组与 Ang II + SP600125 组比较, $^a P < 0.05$ 。

图 5 Ang II 对小鼠成骨细胞 Caspase-3 活性的影响

3 讨论

MAPK 蛋白家族是细胞内重要信号通路之一, 通过调控细胞内多种基因转录和蛋白表达, 可影响细胞增殖、分化及凋亡等多种生理活动。同时细胞受到异常刺激时, 该通路也可被激活, 介导细胞发生一系列改变^[8-9]。至今普遍认为该蛋白家族包括 4 种成员: 细胞外信号调节激酶 (ERK)、SAPK/JNK、p38 及 ERK5/大丝裂素活化蛋白激酶^[11]。

研究表明多种细胞因子或生长因子, 如内皮生长因子、神经生长因子和血小板衍生生长因子等, 可激活 ERK1/2 信号通路, 参与调节细胞增殖、分化等活动^[12-14]。而 p38 和 SAPK/JNK 信号通路多由炎症介质或某些应激因素所活化, 与细胞凋亡的调控密切相关^[15-17]。本课题组之前研究发现, Ang II 可通过激活 ERK1/2 信号通路, 刺激小鼠成骨细胞合成分泌炎症细胞因子白细胞介素-6, 从而可能参与到骨代谢调节中^[7]。本实验发现使用 10^{-6} mol/L Ang II 处理成骨细胞后, Ang II 组凋亡细胞较对照组增多, 为了进一步探讨 Ang II 对小鼠成骨细胞凋亡过程的调控机制, 本课题组对相关可能信号通路进行了检测。SAPK/JNK 信号通路被 Ang II 刺激活化, 磷酸化 JNK 蛋白相对表达量较对照组明显升高, 且 JNK 通路可能参与到细胞凋亡调控中。在 Ang II 组中, 成骨细胞内凋亡抑制蛋白 Bcl-2 相对表达量明显降低, 说明 Ang II 引起 Bcl-2 蛋白表达的改变是通过 JNK 通路所介导的, 且促凋亡蛋白 Bax 从细胞质中转入到线粒体内。以上凋亡相关蛋白的表达改变均可在一定程度上被 SP600125 所阻断, 说明 Ang II 可以通过 SAPK/JNK 途径对细胞凋亡过程进行调控。

细胞色素 C 在正常情况下位于线粒体膜间隙内, 由于其具有亚铁血红素基团, 可以在呼吸链复合酶 III (细胞色素还原酶) 及 IV (细胞色素氧化酶) 之间传递电子, 参与线粒体氧化磷酸化过程。而当线粒体内外膜结构、通透性或细胞色素 C 本身构型发生改变, 细

胞色素 C 可以释放到细胞质内,从而与细胞质内前凋亡蛋白酶-9 (procaspase-9) 及凋亡蛋白酶活化因子-1 (Apaf-1) 结合,形成 Cyt c-Apaf-1-procaspase-9 多聚体,也称为凋亡体,进而形成成熟的 caspase-9,再诱导其下游的 Caspase (主要是 Caspase-3, Caspase-6, Caspase-7) 的活化,产生级联放大效应。活化的 Caspase-3 是凋亡过程的主要执行者,其由 2 个大亚基和 2 个小亚基组成,可裂解相应的细胞质、细胞核底物,最终导致细胞凋亡^[14]。

本研究证实, 10^{-6} mol/L Ang II 的刺激可导致成骨细胞内的细胞色素 C 从线粒体内释放到细胞质中,同时细胞内 Caspase-3 的活性较无 Ang II 刺激的对照组明显升高。而 SP600125 在一定程度上可以抑制细胞色素 C 的释放及 Caspase-3 的活化。以上结果说明, SAPK/JNK 信号通路可参与调控由 Ang II 刺激导致的小鼠成骨细胞凋亡过程,为进一步探讨 Ang II 的作用及原发性高血压与骨吸收相关性的可能机制打下基础。而对于 p38、ERK 或其他信号通路是否也参与调控 Ang II 导致的细胞凋亡,尚需更多的研究进行证实。

参考文献

- [1] CAMPBELL D J. Clinical relevance of local renin angiotensin systems[J]. *Front Endocrinol*, 2014, 5(1):113.
- [2] SANTOS R A S, SAMPAIO W O, ALZAMORA A C, et al. The ACE2/Angiotensin-(1-7)/MAS axis of the renin-angiotensin system: focus on angiotensin-(1-7)[J]. *Physiol Rev*, 2018, 98(1):505-553.
- [3] VAN-DER-POL A, VAN-GILST W H, VOORS A A, et al. Treating oxidative stress in heart failure: past, present and future[J]. *Eur J Heart Fail*, 2019, 21(4):425-435.
- [4] KHOSLA S, DRAKE M T, VOLKMAN T L, et al. Sympathetic β 1-adrenergic signaling contributes to regulation of human bone metabolism[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(11):4832-4842.
- [5] KUNUTSOR S K, BLOM A W, WHITEHOUSE M R, et al. Renin-angiotensin system inhibitors and risk of fractures: a prospective cohort study and meta-analysis of published observational cohort studies[J]. *Eur J Epidemiol*, 2017, 32(11):947-959.
- [6] NAKAGAMI H, OSAKO M K, MORISHITA R. Potential effect of Angiotensin II receptor blockade in adipose tissue and bone[J]. *Curr Pharm Des*, 2013, 19(17):3049-3053.
- [7] GUO L, WANG M, ZHANG Z Y, et al. Angiotensin II induces interleukin-6 synthesis in osteoblasts through ERK1/2 pathway via AT1 receptor[J]. *Arch Oral Biol*, 2011, 56(3):205-211.
- [8] SETERNES O M, KIDGER A M, KEYSE S M. Dual-specificity MAP kinase phosphatases in health and disease[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2019, 1866(1):124-143.
- [9] FERGUSON B S, NAM H, MORRISON R F. Dual-specificity phosphatases regulate mitogen-activated protein kinase signaling in adipocytes in response to inflammatory stress[J]. *Cell Signal*, 2019, 53(1):234-245.
- [10] ABUOHASHISH H M, AHMED M M, SABRY D, et al. Angiotensin (1-7) ameliorates the structural and biochemical alterations of ovariectomy-induced osteoporosis in rats via activation of ACE-2/Mas receptor axis[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):2293.
- [11] YU J, YIN P, YIN J, et al. Involvement of ERK1/2 signalling and growth-related molecules' expression in response to heat stress-induced damage in rat jejunum and IEC-6 cells[J]. *Int J Hyperthermia*, 2010, 26(6):538-555.
- [12] HOSSEINI R, MOOSAVI F, SILVA T, et al. Modulation of ERK1/2 and Akt pathways involved in the neurotrophic action of caffeic acid alkyl esters[J]. *Molecules*, 2018, 23(12):3340.
- [13] JIA L, WANG L, WEI F, et al. Effects of Caveolin-1-ERK1/2 pathway on endothelial cells and smooth muscle cells under shear stress[J]. *Exp Biol Med*, 2020, 245(1):21-33.
- [14] PARRISH A, FREEL C, KORNBLUTH S. Cellular mechanisms controlling caspase activation and function[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5(6):a008672.
- [15] PANG X, SI J, XU S, et al. Simvastatin inhibits homocysteine-induced CRP generation via interfering with the ROS-p38/ERK1/2 signal pathway in rat vascular smooth muscle cells[J]. *Vascul Pharmacol*, 2017, 88(1):42-47.
- [16] KIM H S, ASMIS R. Mitogen-activated protein kinase phosphatase 1 (MKP-1) in macrophage biology and cardiovascular disease. A redox-regulated master controller of monocyte function and macrophage phenotype[J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 109(1):75-83.
- [17] CAO M, CHEN F, XIE N, et al. C-Jun N-terminal kinases differentially regulate TNF- and TLRs-mediated necroptosis through their kinase-dependent and-independent activities[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(12):1140.

(收稿日期:2020-01-10 修回日期:2020-05-02)