基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003648

沉默 TREM-1 通过调控 NF-κB 信号通路抑制氧化三甲胺介导的血管平滑肌细胞炎症

谭文云[1]，井淑艳[2]，王蕊蕊[1]，王　刚[3]

（1.河北医科大学第一医院急诊科，石家庄　050000；2.河北医科大学第一医院放射与核医学，石家庄　050000；
3.河北医科大学第一医院心血管内科，石家庄　050000）

【摘　要】目的：探讨髓系细胞触发受体-1（triggering receptors expressed on myeloid cells-1，TREM-1）在氧化三甲胺（trimethylamine oxide，TMAO）介导的大鼠血管平滑肌细胞（vascular smooth muscle cells，VSMCs）炎性反应中的作用及其可能机制。**方法：**①采用不同浓度（0、100、300、600、900、1 200、1 500 μmol/L）TMAO 处理 VSMCs 24 h；②将 *TREM-1* 基因 siRNA 干扰质粒（si-*TREM-1*）及其阴性对照干扰质粒（si-NC）转染至 VSMCs 中，采用 600 μmol/L TMAO 诱导 VSMCs 炎性反应，并联合核因子 κB（nuclear factor-kappa B，NF-κB）激活剂佛波酯（phorbol myristate acetate，PMA）干预 24 h。CCK-8 检测细胞增殖活性；ELISA 检测细胞上清中白细胞介素（interleukin，IL）-1β、IL-6 及肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）-α 水平；定量聚合酶链反应（quantitative polymerase chain reaction，qRT-PCR）检测细胞中 TREM-1、环氧化酶-2（cyclooxygenase-2，COX-2）、细胞间黏附分子-1（intercellular adhesion molecule-1，ICAM-1）以及 IL-1β、IL-6、TNF-α mRNA 表达水平；Western blot 检测细胞中 TREM-1、COX-2、ICAM-1 以及 NF-κB p65、p-NF-κB p65（Ser536）蛋白表达水平。**结果：**不同浓度 TMAO 处理对 VSMCs 细胞增殖活性无明显影响（*P*=0.375），但可明显上调细胞上清中 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平以及细胞中 TREM-1、COX-2、ICAM-1 等 mRNA 和蛋白表达水平（均 *P*<0.01），且呈浓度依赖性。沉默 *TREM-1* 基因可明显抑制 TMAO 诱导的 VSMCs 上清液中 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平的增加，以及细胞中 COX-2、ICAM-1、IL-1β、IL-6、TNF-α mRNA 和 p-NF-κB p65/NF-κB p65 蛋白比值的上调（均 *P*<0.01）。然而，PMA 干预可明显逆转沉默 *TREM-1* 基因对 TMAO 诱导 VSMCs 炎性反应的改善作用。**结论：**沉默 *TREM-1* 基因可抑制 TMAO 诱导的 VSMCs 炎性反应，其机制可能与抑制 NF-κB 通路活化有关。

【关键词】氧化三甲胺；血管平滑肌细胞；炎性反应；髓系细胞触发受体-1；核因子 κB 通路

【中图分类号】R322　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2024-06-11

Silencing triggering receptor expressed on myeloid cells-1 inhibits vascular smooth muscle cell inflammation mediated by trimethylamine N-oxide by regulating the nuclear factor-kappa B signaling pathway

Tan Wenyun[1]，*Jing Shuyan*[2]，*Wang Ruirui*[1]，*Wang Gang*[3]

（*1.Department of Emergency，The First Hospital of Hebei Medical University；2. Department of Radiology and Nuclear Medicine，The First Hospital of Hebei Medical University；3. Department of Cardiovascular Medicine，The First Hospital of Hebei Medical University*））

【Abstract】*Objective*：To investigate the role and possible mechanism of triggering receptor expressed on myeloid cells-1（TREM-1）in the inflammatory response of rat vascular smooth muscle cells（VSMCs）mediated by trimethylamine N-oxide（TMAO）. ***Methods*：**VSMCs were treated with TMAO at different concentrations（0，100，300，600，900，1 200，1 500 μmol/L）for 24 hours. VSMCs were transfected with the siRNA interference plasmid targeting the *TREM-1* gene（si-TREM-1）and its negative control interference plasmid（si-NC），and 600 μmol/L TMAO was used to induce inflammatory response in VSMCs，combined with the intervention with the nuclear factor-kappa B（NF-κB）activator phorbol myristate acetate（PMA）for 24 hours. CCK-8 assay was used to measure cell proliferative activity；ELISA was used to measure the levels of interleukin-1β（IL-1β），interleukin-6（IL-6），and tumor necrosis factor-α（TNF-α）in cell supernatant；qRT-PCR was used to measure the mRNA expression levels of TREM-1，cyclooxygenase-2（COX-2），intercellular adhesion molecule-1（ICAM-1），IL-1β，IL-6，and

作者介绍：谭文云，Email：tanwenyun2008@163.com，研究方向：心血管急危重症。

通信作者：王　刚，Email：58502500@hebmu.edu.cn。

基金项目：河北省卫健委医学科学研究课题计划资助项目（编号：20201151）。

优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20241212.1350.006（2024-12-13）

TNF-α in cells, and Western blot was used to measure the protein expression levels of TREM-1, COX-2, ICAM-1, NF-κB p65, and p-NF-κB p65(Ser536) in cells. ***Results***: Treatment with TMAO at different concentrations had no significant impact on the proliferative activity of VSMCs(P=0.375), but it significantly upregulated the levels of IL-1β, IL-6, and TNF-α in supernatant and the mRNA and protein expression levels of TREM-1, COX-2, and ICAM-1 in cells(all P<0.01) in a concentration-dependent manner. Silencing of the *TREM-1* gene significantly inhibited the increases in the levels of IL-1β, IL-6, and TNF-α in the supernatant of VSMCs induced by TMAO, and it also suppressed the upregulation of the mRNA expression levels of COX-2, ICAM-1, IL-1β, IL-6, and TNF-α and the ratio of p-NF-kB p65/NF-kB p65 in VSMCs(all P<0.01). However, PMA intervention significantly reversed the role of silencing the *TREM-1* gene on TMAO-induced inflammatory response in VSMCs. ***Conclusion***: Silencing of the *TREM-1* gene can inhibit TMAO-induced inflammatory response in VSMCs, possibly by inhibiting the activation of the NF-κB pathway.

【Key words】trimethylamine N-oxide; vascular smooth muscle cells; inflammatory response; triggering receptor expressed on myeloid cells-1; nuclear factor-kappa B pathway

心血管疾病（cardiovascular disease, CVD）是全球近十年来引起高死亡率的4种慢性病之一，目前我国CVD患病人数约3.30亿，随着未来人口年龄结构趋于严重老龄化，CVD患病率将呈逐渐上升趋势，严重危害着人类健康，也给公共卫生工作带来严峻挑战[1]。既往研究[2]表明，炎症是CVD的危险因素，白细胞介素（interleukin, IL）-1、IL-6和肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor TNF）-α等炎症因子水平在CVD患者血清中明显升高。当机体受到长期的慢性炎症侵袭时，血管平滑肌细胞（vascular smooth muscle cell, VSMCs）代谢功能受损，导致血管舒缩不畅，随时可能阻塞或破裂，因此炎性反应导致VSMCs非正常代谢是CVD发生的关键因素之一[3-4]。氧化三甲胺（trimethylamine oxide, TMAO）是由人体摄入家禽、鱼和蛋类等富含胆碱、磷脂酰胆碱食物，被肠道菌群代谢为三甲胺（trimethylamine, TMA），然后被黄素单加氧酶3（flavin-containing mono-oxygenase 3, FMO3）氧化后生成的。TMAO水平可预测机体早期心血管疾病发生，且高水平的TMAO与动脉粥样硬化、冠心病、心力衰竭等心血管疾病的严重程度和不良预后有关[5-7]。作为一个新型的血清标志物，深入了解TMAO致病机制并进行干预，有望为CVD的临床靶向治疗提供新思路。然而，目前已被报道的TMAO干预VSMCs作用的研究多集中于表型转化和代谢变化方面，其介导VSMCs炎症损伤的机制研究目前还不够完善[8-9]。髓系细胞触发受体-1（triggering receptors expressed on myeloid cells-1, TREM-1）是先天免疫中的炎症放大器，在血管炎症引发的CVD中发挥关键作用，可作为动脉粥样硬化的重要治疗靶点，提示TREM-1可能在TMAO诱导VSMCs炎症损伤中起调节作用[10]。本研究采用TMAO诱导建立VSMCs炎性损伤体外细胞模型，探讨TREM-1在该过程中的作用及其可能的作用机制，以期为CVD的靶向治疗药物筛选提供依据。

1 材料与方法

1.1 细胞、主要试剂和仪器

大鼠原代主动脉平滑肌细胞、原代平滑肌细胞培养体系（货号：RAT-iCell-c004、PriMed-iCell-004，上海赛百慷生物技术股份有限公司）；*TREM-1*基因siRNA干扰质粒（si-*TREM-1*）及其阴性对照干扰质粒（si-NC）由广州派真生物技术有限公司合成；氧化三甲胺（货号：YS157233，北京索莱宝科技有限公司）；佛波酯（phorbol myristate acetate, PMA）（货号：HY-18739，美国MedChemExpress公司）；Lipofectamine 3000转染试剂（货号L3000015，美国Thermo Fisher公司）；TREM-1抗体、环氧化酶-2（cyclooxygenase-2, COX-2）抗体、细胞间黏附分子-1（intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1）抗体以及核因子κB（nuclear factor kappa-B, NF-κB）p65、p-NF-κB p65（Ser536）抗体（货号：ab214202、ab179800、ab282575、ab16502、ab239882，英国Abcam公司）；CCK-8检测试剂盒（货号：C0038，上海碧云天生物技术股份有限公司）；IL-1β、IL-6、TNF-α ELISA试剂盒（货号：ml037361、ml102828、ml002859，上海酶联生物科技有限公司）；Hifair® Ⅲ One Step RT-qPCR Probe试剂盒（货号：11145ES70，上海翌圣生物科技股份有限公司）。D180二氧化碳培养箱（深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司）；Varioskan LUX多功能酶标仪、QuantStudio™ 5实时荧光定量PCR系统（美国Thermo Fisher公司）；Gel Doc EZ凝胶成像仪系统（美国Bio-Rad公司）。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 使用含10% FBS和1%双抗的大鼠原代平滑肌细胞专用培养体系培养细胞，培养箱环境内温度为37 ℃，二氧化碳浓度5%，按1∶2进行细胞传代，传至第3代

用于实验。

1.2.2 细胞转染及分组处理 将VSMCs接种于6孔培养板中，每孔1×10^5个细胞，待细胞生长至密度为70%时，将细胞分为Blank组、si-NC组和si-TREM-1组，使用Lipofectamine 3000转染试剂将si-TREM-1和si-NC质粒转染至VSMCs中，培养48 h后，采用qRT-PCR和Western blot检测各组细胞中TREM-1 mRNA和蛋白表达水平，验证转染效率。随后根据细胞需求对VSMCs进行以下分组及处理：①不同浓度TMAO组：采用不同浓度（0、100、300、600、900、1 200、1 500 μmol/L）TMAO处理VSMCs 24 h；不同时间TMAO处理组：采用600 μmol/L TMAO处理VSMCs不同时间（0、8、12、24、36、48 h）。②Blank组：VSMCs正常培养24 h不做任何处理；si-NC组：将si-NC质粒转染至VSMCs中；si-*TREM-1*组：将si-TREM-1质粒转染至VSMCs中。③Control组：VSMCs正常培养24 h不做任何处理；TMAO组：VSMCs经600 μmol/L TMAO处理24 h；TMAO+si-NC组：转染si-NC后的VSMCs经600 μmol/L TMAO处理24 h；TMAO+si-TREM-1组：转染si-TREM-1后的VSMCs经600 μmol/L TMAO处理24 h；TMAO+PMA组：VSMCs经600 μmol/L TMAO和10 μmol/L[11] PMA共同处理24 h；TMAO+PMA+si-TREM-1组：转染si-TREM-1后的VSMCs经600 μmol/L TMAO和10 μmol/L PMA共同处理24 h。

1.2.3 CCK-8检测 将细胞接种于每孔100 μL培养基的96孔板中，细胞密度为2×10^4个/孔，在培养箱中预培养24 h，按分组要求采用不同浓度（0、100、300、600、900、1 200、1 500 μmol/L）TMAO处理VSMCs 24 h或采用600 μmol/L TMAO处理VSMCs不同时间（0、8、12、24、36、48 h），干预结束后每孔加入10 μL CCK-8溶液，于培养箱中继续培养4 h，调整酶标仪滤光片为450 nm，检测各孔吸光度（absorbance，A）值。细胞增殖活性（%）=$(A_{加药孔}-A_{调零孔})/(A_{空白孔}-A_{调零孔})\times100\%$。

1.2.4 ELISA检测 按分组处理细胞后，使用无菌管收集细胞，3 000 r/min离心10 min收集上清待测，设置标准孔、空白孔和样本孔，标准孔加入不同浓度的标准品50 μL，空白孔仅加入等量培养基，按照试剂盒说明书操作，终止反应后调整酶标仪滤光片为450 nm，检测各孔A值。使用标准物浓度与A值生成标准曲线，将样品A值代入标准曲线计算各组细胞上清中IL-1β、IL-6、TNF-α水平。

1.2.5 定量聚合酶链反应（quantitative polymerase chain reaction，qRT-PCR）检测 按分组处理细胞后离心，每组收集1×10^6个细胞沉淀，加入1 mL RNA提取液吹打破碎细胞，加入异丙醇混匀离心沉淀RNA，按照试剂盒说明书操作，20 μL体系逆转录合成cDNA。在PCR反应板中配置反应体系（预混液7.5 μL、上下游引物1.5 μL、cDNA 2.0 μL、无酶水4.0 μL），使用荧光定量PCR仪进行PCR扩增，95 ℃预变性30 s，95 ℃变性15 s，60 ℃退火延伸30 s，循环40次。以GAPDH为内参，$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算目的基因TREM-1、COX-2、ICAM-1以及IL-1β、IL-6、TNF-α mRNA相对表达水平。引物信息见表1。

表1 引物序列

基因	引物序列
TREM-1	F:5'-TATGCCAACAGCCAGAAGGC-3'
	R:5'-GGGTTCCTTCCCGTCTGGTA-3'
COX-2	F:5'-TTCAACACACTCTATCACTGGC-3'
	R:5'-AGAAGCGTTTGCGGTACTCAT-3'
ICAM-1	F:5'-CCCACGCTACCTCTGCTC-3'
	R:5'-GATGGATACCTGAGCATCACC-3'
IL-1β	F:5'-TGAAGGGCTGCTTCCAAACCTTTGACC-3'
	R:5'-TGTCCATTGAGGTGGAGAGCTTTCAGC-3'
IL-6	F:5'-TGAACAACGATGATGCACTTGC-3'
	R:5'-CGTAGAGAACAACATAAGTC-3'
TNF-α	F:5'-CCCTCACACTCAGATCATCTTCTCAA-3'
	R:5'-GAATTCGGAAAGCCCATTTGAGTCC-3'
GAPDH	F:5'-AAGTTCAACGGCACAGTCAA-3'
	R:5'-TACTCAGCACCAGCATCACC-3'

1.2.6 Western blot检测 按分组处理细胞后，收集细胞沉淀，加入RIPA裂解液于冰上反复吹打完全裂解细胞，12 000 r/min离心10 min，收集上清测定总蛋白浓度。蛋白溶液经沸水浴变性15 min后-20 ℃保存待测，清洗玻璃板，配置5%浓缩胶，在电泳槽中加入足够电泳液后上样进行SDS-PAGE电泳（恒压200 V），30 min后终止电泳，在300 mA恒流条件下将分离胶转至PVDF膜上，加脱脂牛奶室温封闭10 min。加入1∶1 000稀释后一抗（TREM-1、COX-2、ICAM-1、NF-κB p65、p-NF-κB p65、GAPDH）摇床慢摇过夜，洗膜3次，加入1∶5 000稀释的二抗，摇床慢摇室温孵育30 min，洗膜3次，加入混合好的ECL发光液反应1 min，曝光后分析条带灰度值，目的蛋白相对表达水平=目的蛋白条带灰度值/内参蛋白条带灰度值。

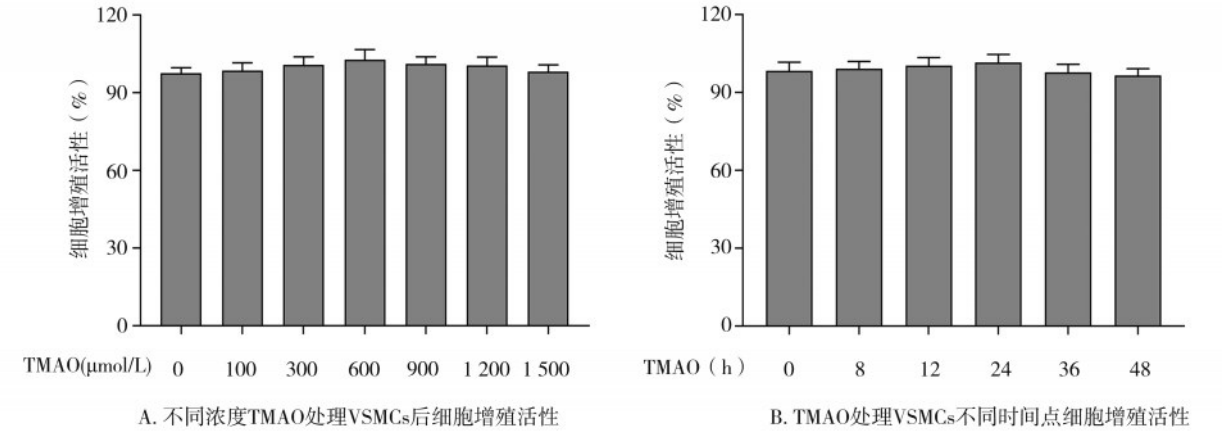
1.3 统计学方法

使用SPSS 25.0软件分析数据，计量资料用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用LSD-*t*法。检验水准α=0.05，以P<0.05表示差异有统计学意义。

2 结 果

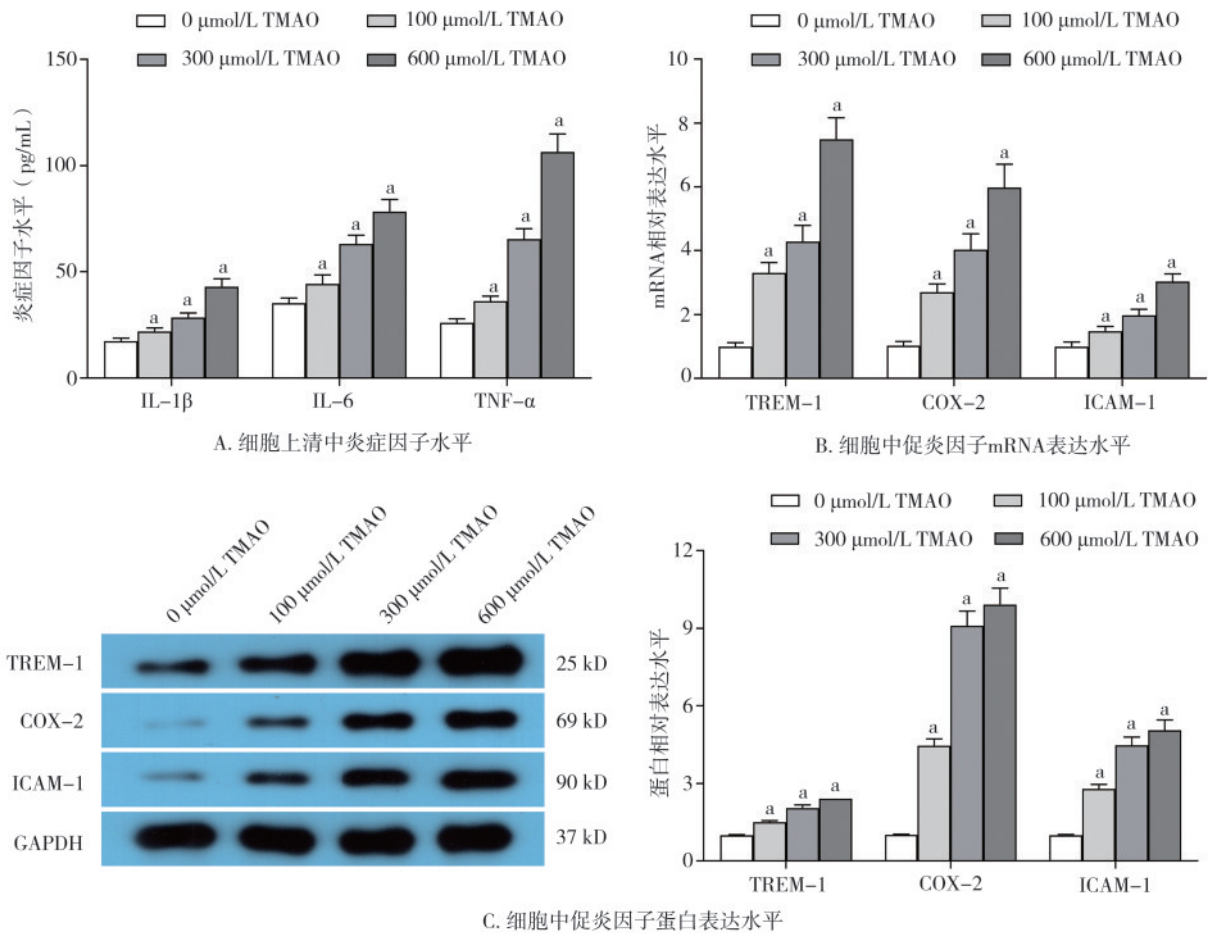
2.1 TMAO诱导VSMCs炎症反应和对TREM-1表达的影响

不同浓度的TMAO处理对VSMCs增殖活性无明显影响（P=0.375，图1A）；采用600 μmol/L TMAO处理VSMCs不同时间（0、8、12、24、36、48 h），各时间点细胞增殖活性无明显变化（P=0.416，图1B）。与0 μmol/L TMAO处理VSMCs比较，100、300、600 μmol/L TMAO处理24 h后，VSMCs细胞上清中IL-1β、IL-6、TNF-α水平（P=0.000、0.000、0.000）以及细胞中TREM-1、COX-2、ICAM-1 mRNA（P=0.000、0.000、0.000）和蛋白（P=0.000、0.000、0.000）表达水平明显升高，且呈浓度依赖性（图2）。



A. 不同浓度TMAO处理VSMCs后细胞增殖活性　　B. TMAO处理VSMCs不同时间点细胞增殖活性

图1　TMAO处理对VSMCs增殖活性的影响（n=3）



A. 细胞上清中炎症因子水平　　B. 细胞中促炎因子mRNA表达水平

C. 细胞中促炎因子蛋白表达水平

注：a，与0 μmol/L TMAO组比较，P<0.05

图2　TMAO诱导VSMCs炎症反应和对TREM-1表达的影响（n=3）

2.2　沉默TREM-1对TMAO介导的VSMCs炎性反应的影响

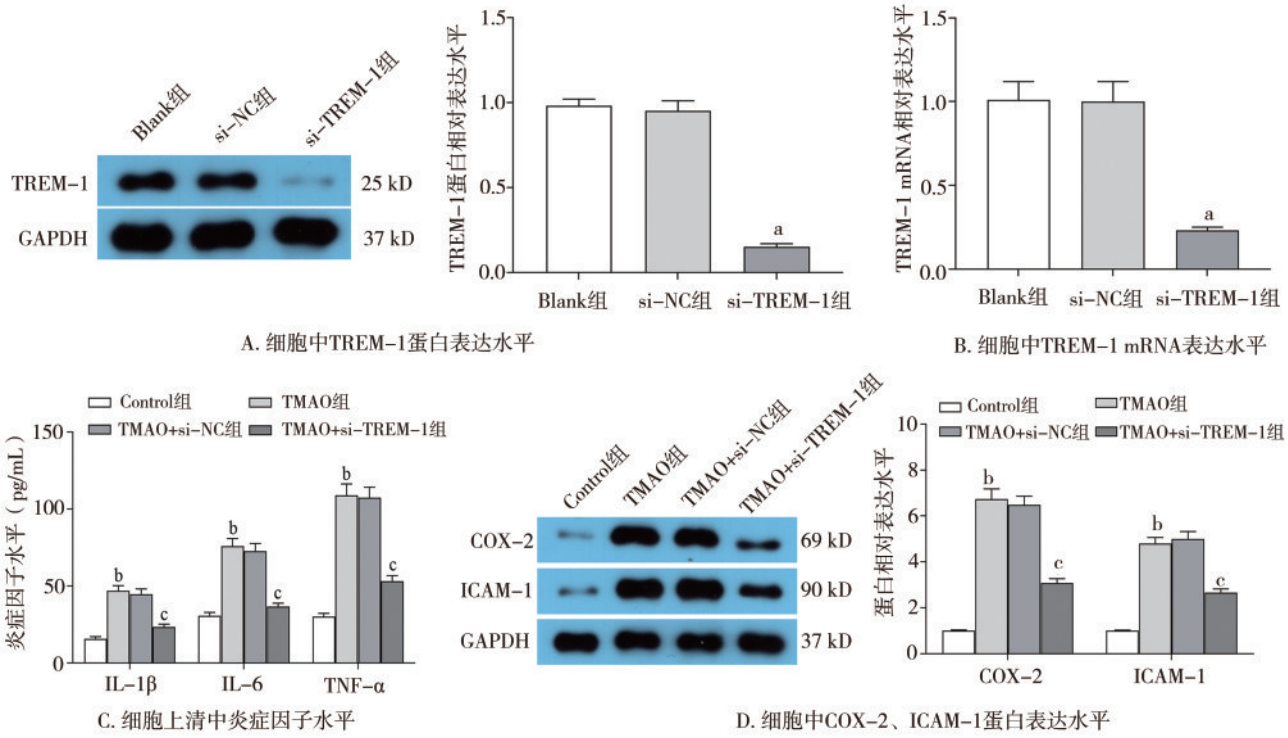
将si-TREM-1和si-NC转染至VSMCs后，与Blank组比较，si-TREM-1组细胞中TREM-1 mRNA和蛋白表达水平明显降低（P=0.000、0.000），si-NC组无明显变化（P=0.966、0.309）（图3A和B）。TMAO干预后，与Control组比较，TMAO组细胞上清中IL-1β、IL-6、TNF-α水平（P=0.000、0.000、0.000）以及细胞中COX-2、ICAM-1蛋白表达水平（P=0.000、0.000）明显升高；与TMAO组比较，TMAO+si-*TREM-1*组细胞上清中IL-1β、IL-6、TNF-α水平（P=0.000、0.000、0.000）以及细胞中COX-2、ICAM-1蛋白表达水平（P=0.000、0.000）明显降低，TMAO+si-NC组以上指标均无明显变化（P=0.308、0.349、0.757、0.369、0.282）（图3C和D）。

2.3 沉默TREM-1对TMAO诱导的VSMCs中NF-κB通路活化的影响

与Control组比较，TMAO组细胞中p-NF-κB p65/NF-κB p65蛋白比值水平明显升高（P=0.000）；与TMAO组比较，TMAO+si-TREM-1组细胞中p-NF-κB p65/NF-κB p65蛋白比值水平明显降低（P=0.000），而TMAO+si-NC组无明显变化（P=0.201）（图4）。

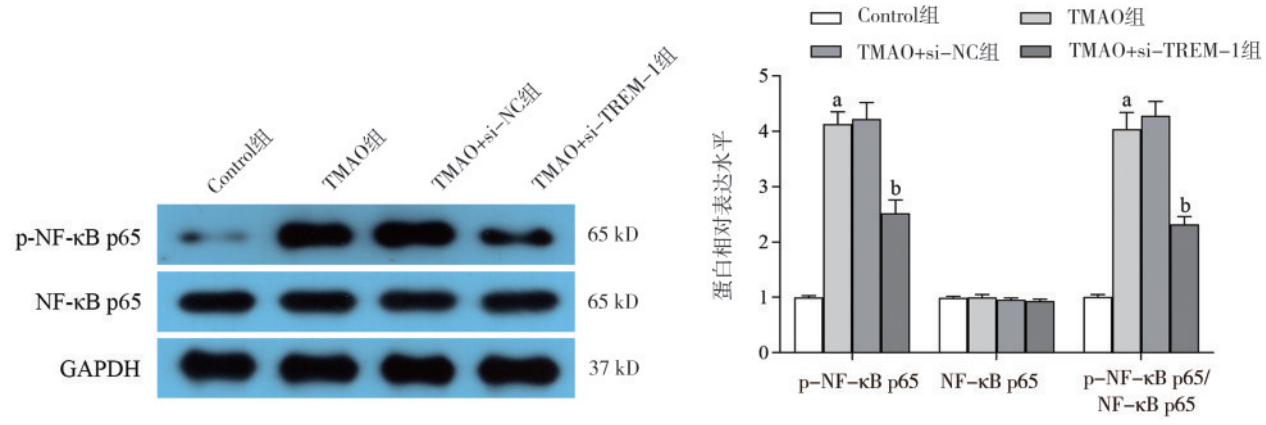
2.4 激活NF-κB通路对TREM-1基因沉默抑制TMAO诱导VSMCs炎症反应的影响

与TMAO组比较，TMAO+PMA组细胞上清中IL-1β、IL-6、TNF-α水平明显升高（P=0.000、0.001、0.001），细胞中p-NF-κB p65/NF-κB p65蛋白比值水平以及COX-2、ICAM-1、IL-1β、IL-6、TNF-α mRNA表达水平明显升高（P=0.000、0.000、0.000、0.000、0.000、0.000）；而TMAO+si-TREM-1组细胞上清中IL-1β、IL-6、TNF-α水平明显降低（P=0.000、0.000、0.000），细胞中p-NF-κB p65/NF-κB p65蛋白比值水平以及COX-2、ICAM-1、IL-1β、IL-6、TNF-α mRNA表达水平明显降低（P=0.000、0.002、0.000、0.000、0.001、0.007）。与TMAO+si-TREM-1组比较，TMAO+PMA+si-TREM-1组细胞上清中IL-1β、IL-6、TNF-α水平明显升高（P=0.000、0.000、0.000），细胞中p-NF-κB p65/NF-κB p65蛋白比值水平以及COX-2、ICAM-1、IL-1β、IL-6、TNF-α mRNA表达水平明显升高（P=0.000、0.000、0.000、0.000、0.000、0.000）（图5）。



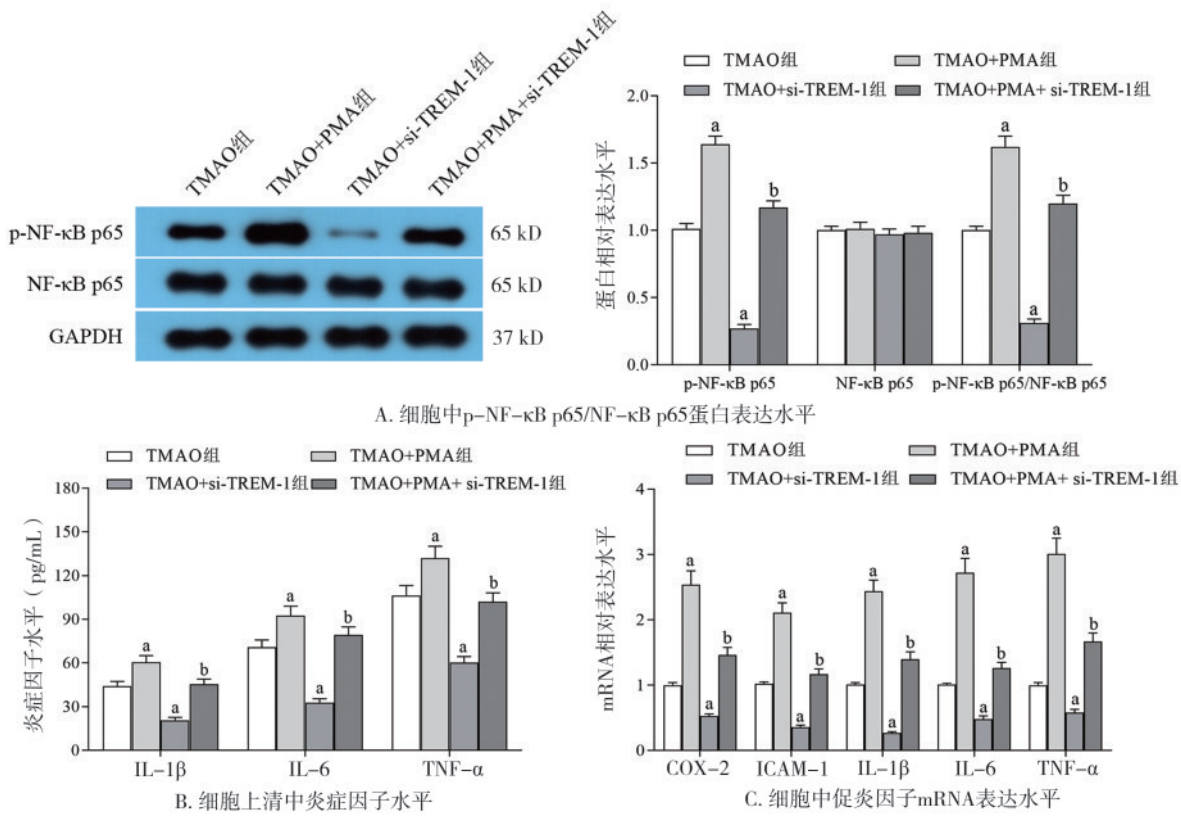
注：a，与Blank组比较，P<0.01；b，与Control组比较，P<0.01；c，与TMAO组比较，P<0.01

图3 沉默TREM-1对TMAO介导的VSMCs炎性反应的影响（n=3）



注：a，与Control组比较，P<0.01；b，与TMAO组比较，P<0.01

图4 沉默TREM-1对TMAO介导的VSMCs中NF-κB通路活化的影响（n=3）



注：a，与TMAO组比较，$P<0.01$；b，与TMAO+si-TREM-1组比较，$P<0.01$

图5　NF-κB通路激活对 *TREM-1* 基因沉默抑制TMAO诱导VSMCs炎症反应的影响（$n=3$）

3　讨　论

一直以来，人们对于危害心血管健康的讨论主要集中在吸烟、肥胖、糖尿病等特定因素上，但相关研究表明，局部或全身炎症已是CVD的独立危险因素，炎症标志物被证明可用来预测心血管相关疾病，并作为CVD的潜在治疗靶点[12]。既往研究[13-14]表明，肠道菌群代谢产物TMAO于体内可促进动脉粥样硬化斑块的形成，于体外可通过促进NLRP3炎症小体活化诱导人脐静脉内皮细胞炎症损伤。Shi GX等[15]研究发现，TMAO可通过激活PI3K/AKT/mTOR通路促进ox-LDL诱导的VSMCs自噬和表型转化。但其介导VSMCs炎症损伤的作用和机制尚不完善。本研究采用不同浓度TMAO干预VSMCs，并对细胞上清中炎症因子水平进行检测，结果显示，不同浓度TMAO对VSMCs增殖活性均无明显影响，而经TMAO诱导后的VSMCs细胞上清液中IL-1β、IL-6、TNF-α水平均明显升高，呈浓度依赖趋势，说明TMAO可介导VSMCs炎症损伤发生，是CVD发生的危险因素。TREM-1是一种新型炎症激发受体，可促进IL-1β、IL-6、TNF-α等炎症因子分泌，参与机体炎性反应的激发和放大过程。相关研究[16]表明，TREM-1在多种心血管疾病中驱动炎症反应，比如，TREM-1通过放大主动脉炎症反应，诱导炎症细胞因子破坏动脉壁，促使单核细胞分化为巨噬细胞并活化形成动脉瘤。Wang F等[17]研究发现，TREM-1在小鼠颈动脉结扎模型诱导的狭窄病变血管内膜分离的VSMCs中高表达，阻断TREM-1可明显抑制细胞炎症。而本研究中TMAO干预VSMCs后，细胞中TREM-1 mRNA表达水平明显升高，于是将 *TREM-1* 基因siRNA干扰质粒转染至VSMCs中，然后再进行TMAO干预继续观察，结果显示，沉默 *TREM-1* 基因后，细胞中炎症因子IL-1β、IL-6、TNF-α水平均明显降低，说明TREM-1在TMAO诱导VSMCs过程中起放大炎症反应作用，其机制可能与激活NF-κB通路有关。

TLR4介导的NF-κB信号通路在多种炎性疾病中发挥作用，受到刺激后的NF-κB p50亚基释放移位信号，与p65亚基上的DNA位点结合，发生核转移，从而诱导IL-1β、IL-6、TNF-α等炎症因子表达加重体积炎症损伤，抑制NF-κB通路可减轻血管炎症[18]。在本研究中，观察到TMAO诱导VSMCs后，

细胞中 p-NF-κB p65/NF-κB p65 蛋白表达水平明显升高，标志着 NF-κB 通路的活化。TREM-1 作为下游正调节因子，可应答内源和外源性危险信号，诱导 TLR 介导的 NF-κB 信号通路激活，而 NF-κB 通过与黏附分子 ICAM-1 和诱导酶 COX-2 结合位点相互结合进一步促进炎症因子释放，同时使炎症细胞与内皮细胞间的黏附作用增强，加重血管炎症损伤[19-20]。这与本研究中沉默 *TREM-1* 基因后，细胞中 p-NF-κB p65/NF-κB p65 蛋白比值下降，COX-2、ICAM-1 等促炎因子和 IL-1β、IL-6、TNF-α 等炎症因子水平下降结果相似。为了进一步证明 TREM-1 与 NF-κB 信号通路间的关系，本研究采用 NF-κB 信号通路激活剂 PMA 联合干预，结果显示 NF-κB 信号通路的激活明显逆转 *TREM-1* 基因沉默对 TMAO 诱导 VSMCs 炎症反应的抑制作用。说明沉默 *TREM-1* 基因减轻 TMAO 诱导的 VSMCs 炎症反应作用可能是通过阻断 NF-κB 信号通路实现的。

综上所述，本研究从体外水平证明了 TREM-1 可能通过激活 NF-κB 信号通路加重 TMAO 诱导的 VSMCs 炎性损伤，说明 TREM-1 是 CVD 治疗的潜在有效靶点。但在该过程中是否还涉及其他途径暂不清楚，后续本课题组将继续完善 TREM-1 在 TMAO 介导 VSMCs 炎性损伤过程中的机制研究，为靶向 TREM-1 治疗 CVD 提供更完整的数据支持。

参 考 文 献

[1] 习婧媛，韩 颖，陈 湘. 2010—2019 年中国居民四类慢性非传染病的死亡趋势及差别分解分析[J]. 现代预防医学，2022，49（12）：2119-2125.

Xi JY，Han Y，Chen X. Trend and differential decomposition analysis of four types of chronic noncommunicable diseases mortality among Chinese residents，2010-2019[J]. Mod Prev Med，2022，49（12）：2119-2125.

[2] 马伟利，蔡 颖，宝凤梅，等. 芪苈强心胶囊联合西药治疗高龄慢性心力衰竭的疗效及对 NT-proBNP、TNF-α、IL-6 水平的影响[J]. 中药材，2020，6（11）：2818-2821.

Ma WL，Cai Y，Bao FM，et al. The efficacy of Qi Li Qiang Xin Capsules combined with Western medicine in the treatment of elderly patients with chronic heart failure and its impact on NT-proBNP，TNF-α，IL-6 levels of influence [J]. Chin Med Mater，2020，6（11）：2818-2821.

[3] Shi J，Yang Y，Cheng AY，et al. Metabolism of vascular smooth muscle cells in vascular diseases[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol，2020，319（3）：H613-H631.

[4] Zhang W，Zhao JJ，Deng L，et al. *INKILN* is a novel long noncoding RNA promoting vascular smooth muscle inflammation via scaffolding MKL1 and USP10[J]. Circulation，2023，148（1）：47-67.

[5] Canyelles M，Borràs C，Rotllan N，et al. Gut microbiota-derived TMAO：a causal factor promoting atherosclerotic cardiovascular disease? [J]. Int J Mol Sci，2023，24（3）：1940.

[6] 李亚梦，崔美泽，孙 婧，等. 肠道菌群及其代谢产物氧化三甲胺：冠心病治疗的新靶点[J]. 生物工程学报，2021，37（11）：3745-3756.

Li YM，Cui MZ，Sun J，et al. Gut microbiota and its metabolite trimethylamine-N-oxide（TMAO）：a novel regulator in coronary artery disease[J]. Chin J Biotechnol，2021，37（11）：3745-3756.

[7] Zhang YX，Wang Y，Ke BB，et al. TMAO：how gut microbiota contributes to heart failure[J]. Transl Res，2021，228：109-125.

[8] Zhang XH，Zheng B，Zhao LD，et al. KLF4-PFKFB3-driven glycolysis is essential for phenotypic switching of vascular smooth muscle cells[J]. Commun Biol，2022，5（1）：1332.

[9] Santiago-Hernandez A，Martinez PJ，Agudiez M，et al. Metabolic alterations identified in urine，plasma and aortic smooth muscle cells reflect cardiovascular risk in patients with programmed coronary artery bypass grafting[J]. Antioxidants，2021，10（9）：1369.

[10] Panagopoulos A，Samant S，Bakhos JJ，et al. Triggering receptor expressed on myeloid cells-1（TREM-1）inhibition in atherosclerosis [J]. Pharmacol Ther，2022，238：108182.

[11] Zhou HX，Wang Y，Zhou QH，et al. Down-regulation of protein kinase C-ε by prolonged incubation with PMA inhibits the proliferation of vascular smooth muscle cells[J]. Cell Physiol Biochem，2016，40（1/2）：379-390.

[12] Henein MY，Vancheri S，Longo G，et al. The role of inflammation in cardiovascular disease[J]. Int J Mol Sci，2022，23（21）：12906.

[13] Ma SR，Tong Q，Lin Y，et al. Berberine treats atherosclerosis via a vitamine-like effect down-regulating Choline-TMA-TMAO production pathway in gut microbiota[J]. Signal Transduct Target Ther，2022，7（1）：207.

[14] Chen ML，Zhu XH，Ran L，et al. Trimethylamine-N-oxide induces vascular inflammation by activating the NLRP3 inflammasome through the SIRT3-SOD2-mtROS signaling pathway[J]. J Am Heart Assoc，2017，6（9）：e006347.

[15] Shi GX，Zeng LX，Shi JL，et al. Trimethylamine N-oxide promotes atherosclerosis by regulating low-density lipoprotein-induced autophagy in vascular smooth muscle cells through PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. Int Heart J，2023，64（3）：462-469.

[16] Vandestienne M，Zhang YJ，Santos-Zas I，et al. TREM-1 orchestrates angiotensin II-induced monocyte trafficking and promotes experimental abdominal aortic aneurysm[J]. J Clin Invest，2021，131（2）：e142468.

[17] Wang F，Li C，Ding FH，et al. Increased serum TREM-1 level is associated with in-stent restenosis，and activation of TREM-1 promotes inflammation，proliferation and migration in vascular smooth muscle cells[J]. Atherosclerosis，2017，267：10-18.

[18] Li C，Zhang YJ，Sun Y，Wang HX，et al The effect of retinoic acid on lipopolysaccharide induced vascular inflammation and oxidative stress through the TLR4/NF-κB pathway Chinese[J]. Journal of Clinical Anatomy，2022，40（3）：303-308.

[19] Rao S，Huang J，Shen Z，et al Inhibition of TREM-1 attenuates inflammation and lipid accumulation in diet-induced nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Cell Biochem*，2019，120（7）：11867-11877.

[20] El Habhab A，Altamimy R，Abbas M，et al. Significance of neutrophil microparticles in ischaemia-reperfusion: pro-inflammatory effectors of endothelial senescence and vascular dysfunction[J]. Cell Mol Med，2020，24（13）：7266-7281.

（责任编辑：周一青）

本文引用格式：
谭文云，井淑艳，王蕊蕊，等. 沉默 TREM-1 通过调控 NF-κB 信号通路抑制氧化三甲胺介导的血管平滑肌细胞炎症[J]. 重庆医科大学学报，2025，50（3）：337-343.