

平肝潜阳方含药血清对血管紧张素 II 诱导血管平滑肌细胞增殖、迁移及 DNA 甲基化水平的影响

钟广伟^{1,2} 万玲¹ 王东生¹ 方霞² 陈琼² 谢明萱² 唐涛¹

摘要 **目的** 观察平肝潜阳方对血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 诱导血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 增殖和迁移的抑制作用及 DNA 甲基化水平的影响。**方法** 采用组织贴块法培养 VSMCs, 制备平肝潜阳方含药血清。将培养细胞分为正常组 (原代培育的 VSMCs)、模型组、叶酸组及平肝潜阳方组 (下称中药组)。以 Ang II 作为诱导复制 VSMCs 增殖及迁移模型, 在 Ang II 诱导 VSMCs 培育 24 h 后, 叶酸组加入 40 $\mu\text{g/mL}$ 叶酸干预 48 h, 中药组加入 5% 中药血清干预 48 h。采用 CCK-8 (Cell Counting Kit) 试剂盒绘制 VSMCs 生长曲线, MTT 法测定 VSMCs 增殖活性, 体外细胞划痕实验检测细胞迁移情况, 以抗 5-甲基胞嘧啶 (5-mC) 抗体进行免疫荧光检测细胞核中胞嘧啶甲基化水平; Real-time q-PCR 方法检测 DNA 甲基转移酶 1 (DNA methyltransferase 1, DNMT1) mRNA 表达水平。**结果** Ang II 在 10^{-6} mol/L 浓度下诱导 24 h 后可促进 VSMCs 生长。与正常组比较, 模型组细胞增殖活性及迁移数量明显增加, DNA 甲基化水平明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与模型组比较, 叶酸组及中药组 VSMCs 生长、细胞增殖活性及迁移数量均明显降低, DNA 甲基化水平升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与正常组比较, 模型组 VSMCs DNMT1 mRNA 表达水平降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 叶酸组及中药组 VSMCs DNMT1 mRNA 表达明显增强 ($P < 0.01$)。**结论** 平肝潜阳方可抑制 Ang II 诱导的 VSMCs 增殖和迁移, 可导致基因组 DNA 高甲基化, 其 DNA 甲基化水平改变可能与 DNMT1 表达有关。

关键词 血管平滑肌细胞; 增殖与迁移; DNA 甲基化; 平肝潜阳方; DNA 甲基转移酶 1

Effect of Pinggan Qianyang Recipe Containing Serum on Angiotensin II Induced Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration and DNA Methylation ZHONG Guang-wei^{1,2}, WAN Ling¹, WANG Dong-sheng¹, FANG Xia², CHEN Qiong², XIE Ming-xuan², and TANG Tao¹ 1 Institute of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha (410008); 2 Department of Geriatrics, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha (410008)

ABSTRACT **Objective** To observe the effect of Pinggan Qianyang Recipe (PQR) on inhibiting angiotensin II (Ang II) induced proliferation and migration of vascular smooth muscle cells (VSMCs) and changes of DNA methylation. **Methods** VSMCs were cultured using tissue explant method, and PQR containing serum was prepared. Primarily cultured VSMCs were divided into four groups, the normal group, the model group, the folate group (folic acid intervention), and the PQR group. The proliferation and migration of VSMCs was duplicated by Ang II. After 24-h Ang II induced culture, 40 $\mu\text{g/mL}$ folic acid was added to the folate group for 48 h, while 5% PQR containing serum was added to the PQR group for 48 h. The cell growth curve of VSMCs was drawn by using Cell Counting Kit (CCK-8). The proliferative activity of VSMC was determined by MTT assay. The migration of VSMCs was measured by Millicell chamber. The general level of cytosine methylation in cell nucleus was detected via 5-mC antibodies immuno-

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 30500644); 中南大学贵重仪器设备开放共享基金资助项目 (No. CSUZC2012014); 湖南省中医药科研计划项目 (No. 201245)

作者单位: 1. 中南大学湘雅医院中西医结合研究所 (长沙 410008); 2. 中南大学湘雅医院国际医疗部 (长沙 410008)

通讯作者: 陈琼, Tel: 0731-89753056, E-mail: qiongch@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.05.0580

fluorescence, and mRNA expression levels of DNA methyltransferase 1 (DNMT1) were measured by Real-time q-polymerase chain reaction (q-PCR). Results VSMCs were promoted by Ang II at 10^{-6} mol/L for 24 h. Compared with the normal group, the proliferative activity and migration quantity of VSMCs obviously increased, and DNA methylation level obviously decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, the cell growth, proliferative activity and migration quantity of VSMCs obviously decreased and the general DNA methylation level increased in the folate group and the PQR group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the normal group, the mRNA expression of DNMT1 decreased in the model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, mRNA expression of DNMT1 in Ang II induced VSMCs was obviously enhanced in the folate group and the PQR group ($P < 0.01$). Conclusions PQR could inhibit Ang II induced proliferation and migration of VSMCs, and cause high genomic DNA methylation level. Changes of DNA methylation might be associated with DNMT1 expression.

KEYWORDS vascular smooth muscle cell; proliferation and migration; DNA methylation; Pinggan Qianyang Recipe; DNA methyltransferase 1

血管重构(vascular remodeling, VR)是高血压病并发的心、脑、肾等靶器官损害的共同病理生理学基础,而血管中膜平滑肌细胞的异常增殖及向内膜下迁移是血管重构的主要病理过程之一^[1]。平肝潜阳法是中医临床上治疗高血压病早、中期的主要治则之一^[2]。动物实验结果显示平肝潜阳方具有逆转实验性大鼠血管重构的作用^[3]。本研究以体外培养大鼠主动脉血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)为研究对象,应用血清药理学方法,观察平肝潜阳方含药血清对血管紧张素 II (anti-angiotensin II, Ang II)诱导的 VSMCs 增殖、迁移及 DNA 甲基化水平的影响,探讨平肝潜阳方逆转血管重构的作用环节,为该药在临床进一步应用提供依据。

材料与方法

1 动物 清洁级雄性 SD 大鼠 30 只,8 周龄,体重(200 ± 20) g。由中南大学实验动物中心提供,许可证编号: S(湘) 2002 - 0005。所有大鼠在实验前 1 周均在室温 $22 \sim 24$ °C、湿度 $< 50\%$ 、噪音 < 60 dB 环境中由专人饲养,保持 12 h: 12 h 昼夜交替,每笼 3 只,正常饮水、摄食。术前禁食 12 h。

2 药物 平肝潜阳方组成:天麻 10 g 钩藤 20 g 石决明 30 g 牡蛎 30 g 牛膝 20 g,由中南大学湘雅医院药剂科制剂中心提供,药物混匀,浸泡 1 h,多功能提取罐煎煮两次(加水量分别为药材量的 10、8 倍,煎煮 1.5、1 h),合并两次滤液,减压浓缩至稠浸膏,真空干燥,粉碎、获得干浸膏粉,分装(每毫升含中药生药 4.0 g)。

3 试剂与仪器 羟基脲、Ang II (Sigma 公司, SLBC0951V)、二乙烯四乙酸二钠(EDTA)购自上海

华壹生物科技有限公司(批号: HQ0031); 噻唑盐 (MTT) 购自 Amresco 公司(批号: XY-100896); CCK-8 试剂盒 (Dojindo 公司,批号: CK04-3000T); Trizol 试剂 (Invitrogen, 批号: 15596-026); Prime Script RT reagent Kit、SYBR Premix Ex TaqTM (Perfect Real Time) 购自 TaKaRa (批号: DRR081A); 抗 5-甲基胞嘧啶 (anti-5-methylcytosine, anti-5mC) 抗体 (Calbiochem 公司,批号: E16304); 鼠单克隆 DNA 甲基转移酶 1 (DNMT1) 抗体 (Santa Cruz 公司,美国,批号: sc-271729); FITC 标记的 Goat anti-mouse IgG (Santa Cruz, 批号: SC-2010)。倒置荧光相差显微镜 (Olympus IX71 型),自动酶标仪 (Bio-TEK ELX800 型),计算机图像分析系统 (Olympus BX51 型多功能显微镜; IMAGE-PRO PLUS510 图像分析软件),Rotor-Gene3000 荧光实时定量 PCR 仪 (Corbett Research, 澳大利亚)。

4 药物血清制备 将 20 只 SD 大鼠随机分为空白组和平肝潜阳方组(中药组),每组 10 只。中药组大鼠按照人和动物体表面积折算的等效剂量比率表^[4]给予平肝潜阳方浸膏 4.0 g 生药/mL,给药容量为 10 mL/(kg · d)灌胃,空白组每日灌胃等体积饮用水,每日 1 次,连续 7 日。末次给药 2 h 后耳中动脉采血,分离血清,56 °C 灭活 30 min,分装后放置 -20 °C 保存备用。

5 大鼠 VSMCs 培养、鉴定及分组 选用 8 周龄雄性 SD 大鼠 10 只,取胸腹主动脉中膜,参照参考文献^[5]按贴块法分离,培养 VSMCs。以 0.25% 胰酶消化传代,经 α -actin 免疫组化鉴定为 VSMCs,取 3~5 代细胞用于实验。将培养细胞分为正常组、模型组、叶酸组及平肝潜阳方组(下称中药组)。正常组为原

代培育的 VSMCs; 模型组采用 Ang II 诱导, 具体方法如下: 细胞在含 10% 新生小牛血清 (newborn calf serum, NCS) 的 M199 培养基中生长至 100% 密度时, 加入 Ang II 至终浓度为 10^{-6} mol/L, 继续培养 24 h 后收集细胞。在 Ang II 诱导 VSMCs 培养 24 h 后, 叶酸组加入 40 μ g/mL 叶酸干预 48 h; 中药组加入 5% 中药血清干预 48 h。

6 VSMCs 生长曲线绘制 Ang II 诱导后以 5% 中药血清和 40 μ g/mL 叶酸分别处理细胞 48 h, 采用 CCK-8 试剂盒检测 VSMCs 7 天内的增殖程度。步骤如下: 每孔加入 20 μ L CCK-8 溶液, 在细胞培养箱内继续培养孵育 2 h 后, 在 450 nm 处检测每孔吸光度 (每组设定 6 个复孔)。同时设置相应量细胞培养液、含药血清和 CCK-8 溶液但未加入细胞的复孔作为空白对照。在酶联免疫检测仪上测定各孔波长吸光度 (A) 值的差值, 以时间为横轴, A 值为纵轴绘制生长曲线。

7 细胞增殖活性检测 采用 MTT 法。每组设 6 个平行孔, 细胞加药后置培养箱孵育 48 h。每孔加入 MTT 溶液 20 μ L (5 g/L), 置培养箱孵育 4 h, 吸弃培养液, 每孔加入二甲基亚砜 100 μ L, 振荡器振荡 10 min, 采用酶联免疫检测仪在 490 nm 波长条件下测定各孔 A 值, 检测 5 个孔的 A 值, 取其平均值。

8 细胞迁移能力测定 采用细胞划痕迁移实验测定。将 VSMCs 接种至 6 孔板, 90% 融合后, 同步化处理 24 h, 加入 0.8 mmol/L 羟基脲作用 12 h, 用无菌移液管尖在培养板单层细胞的相同位置划直线, 造成“伤口”, PBS 洗去脱落细胞。叶酸组和中药组分别加入 40 μ g/mL 叶酸和 5% 中药血清孵育 48 h, 显微镜下观察 VSMCs 从划痕处向中央爬行的细胞数目, 细胞数量提示 VSMCs 迁移能力强弱, 随机取 6 个视野进行观察并拍摄, 应用图像分析软件 ImageTool 计数细胞迁移数目, 行 3 次独立实验, 计算平均值。

9 VSMCs 甲基化水平测定 采用 5-mC 免疫荧光法检测。以中药含药血清及 40 μ g/mL 叶酸处理直接接种于盖玻片上的 VSMCs 24 h 后, 室温下加体积分数为 4% 的甲醛固定 20 min, -20°C 甲醇固定 5 min, 水洗后以 2 mol/L HCl 37°C 下孵育 30 min, 水洗后用 TBE 作用 5 min, 加体积分数为 3% 的 PBST-BSA 封闭 60 min, 一抗孵育 1 h, PBS 洗 3 次, FITC 标记二抗 (1:400) 37°C 孵育 45 min, PBS 洗 3 次, 甘油封片, 荧光显微镜下观察与摄片 (Olympus IX71 型); 采用 5-mC 抗体进行细胞免疫

荧光检测, 各组细胞的荧光强度值为荧光分析软件 Sdiapp 2010 分析后所得的荧光强度值。

10 Real-time q-PCR 方法检测 DNMT1 mRNA 表达 应用 Trizol 试剂提取细胞总 RNA, Prime Script RT reagent Kit 反转录合成 cDNA, 荧光定量 PCR 采用 SYBR Premix Ex TaqTM 试剂。每次荧光定量 PCR 检测设 3 个平行样, 实验重复 3 次。目的基因引物序列如下: DNMT1: 上游: 5'-ACGACCCTGACCTCAAATAT-3', 下游: 5'-CCATTAAACACACCTTCAAGA-3', 226 bp; 内参 β -actin: 上游: 5'-TGGCACCCAGCACAATGAA-3', 下游: 5'-CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA-3', 142 bp。反应结束后建立 RT-PCR 溶解曲线证实扩增的特异性, 读取 Ct 值, 以管家基因 β -actin 为内参, 校正每个样品的 Ct 值得出 ΔCt 值, 表达差异以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 表示, $\Delta\text{Ct} = \text{Ct}_{\text{target}} - \text{Ct}_{\beta\text{-actin}}$, $\Delta\Delta\text{Ct} = \Delta\text{Ct}_{\text{treat}} - \Delta\text{Ct}_{\text{control}}$ 。

11 统计学方法 采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用配对样本 *t* 检验, 多组样本均数比较采用单因素方差分析; 方差齐性组间比较采用 LSD-*t* 检验, 方差不齐组间比较采用 Dunnett's 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 大鼠 VSMCs 鉴定 (图 1) 在倒置显微镜下可见, 常氧条件下培养的 VSMCs 传代 3~5 次后, 细胞贴壁形态较好, 为收缩表型, 大小不等, 多呈梭形或不规则形, 部分重叠生长至多层而部分较稀疏, 有明显的平滑肌细胞生长所特有的“峰—谷”状。

2 各组 VSMCs 生长曲线比较 (图 2) 与正常组比较, 经 Ang II 诱导细胞增殖和迁移后, 模型组 VSMCs 生长速度明显增快。与模型组比较, 中药组和

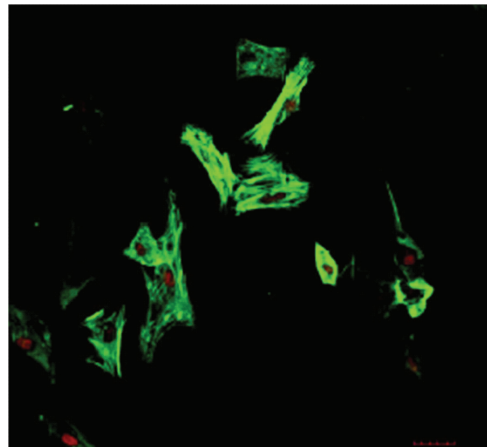


图 1 大鼠 VSMCs 鉴定 (α -actin, $\times 400$)

叶酸组干预 1 天后,再加入正常培养基培养 1~7 天,两组 VSMCs 生长速度明显减慢,尤以第 3 天后细胞生长速度减慢明显($P < 0.05$)。

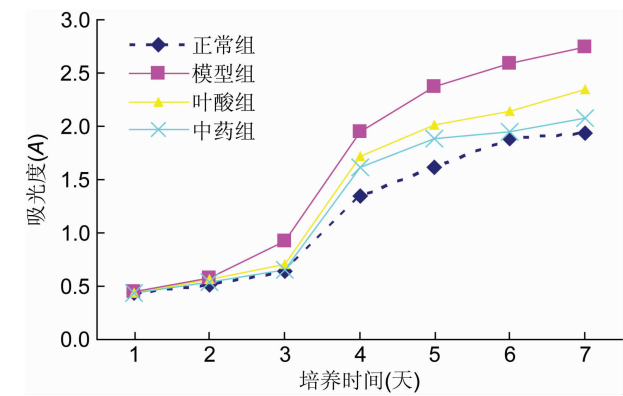


图 2 各组 VSMCs 生长曲线图

3 各组 VSMCs 增殖活性比较(表 1) 与正常组比较,模型组 VSMCs 增殖活性增高($P < 0.01$);与模型组比较,叶酸组及中药组 VSMCs 增殖活性均降低,其中中药组降低更明显($P < 0.05$, $P < 0.01$);叶酸组与中药组 VSMCs 增殖活性比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 各组 VSMCs 增殖活性比较 ($\bar{x} \pm s$)		
组别	<i>n</i>	增殖活性(A 值)
正常	6	0.554 ± 0.112
模型	6	0.943 ± 0.185 *
叶酸	6	0.719 ± 0.145 [△]
中药	6	0.635 ± 0.128 ^{△△}

注:与正常组比较, * $P < 0.01$;与模型组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$

4 各组 VSMCs 迁移数目比较(图 3,表 2) 与正常组比较,模型组 VSMCs 迁移数量明显增多($P < 0.01$);与模型组比较,叶酸组及中药组 VSMCs 迁移数量均明显减少($P < 0.01$)。

表 2 各组 VSMCs 迁移数目比较 ($\bar{x} \pm s$)		
组别	<i>n</i>	VSMCs 迁移数目
正常	6	100.0
模型	6	178.6 ± 18.9 *
叶酸	6	123.7 ± 17.5 [△]
中药	6	128.9 ± 16.8 [△]

注:与正常组比较, * $P < 0.01$;与模型组比较, [△] $P < 0.01$;
表 3、4 同

5 各组 VSMCs DNA 甲基化水平比较(图 4,表 3) 与正常组比较,模型组 5-mC 荧光强度值明显降低($P < 0.01$);与模型组比较,叶酸组及中药组 5-mC 荧光强度值明显升高($P < 0.01$),但两组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 3 各组 VSMCs DNA 甲基化水平比较 ($\bar{x} \pm s$)		
组别	<i>n</i>	DNA 甲基化水平(平均荧光强度值)
正常	6	158.2 ± 21.2
模型	6	84.5 ± 28.3 *
叶酸	6	136.7 ± 26.7 [△]
中药	6	128.8 ± 25.3 [△]

6 各组 DNMT1 mRNA 表达水平比较(表 4) 与正常组比较, Ang II 诱导 VSMCs 增殖和迁移的过程中,模型组 DNMT1 mRNA 相对表达水平明显降低($P < 0.01$);与模型组比较,叶酸组和中药组 DNMT1 mRNA 表达均增强($P < 0.01$),但叶酸组与中药组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 4 各组 DNMT1 mRNA 表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)		
组别	<i>n</i>	DNMT1 相对表达量(DNMT1/β-actin)
正常	6	0.92 ± 0.18
模型	6	0.48 ± 0.09 *
叶酸	6	0.83 ± 0.15 [△]
中药	6	0.79 ± 0.18 [△]

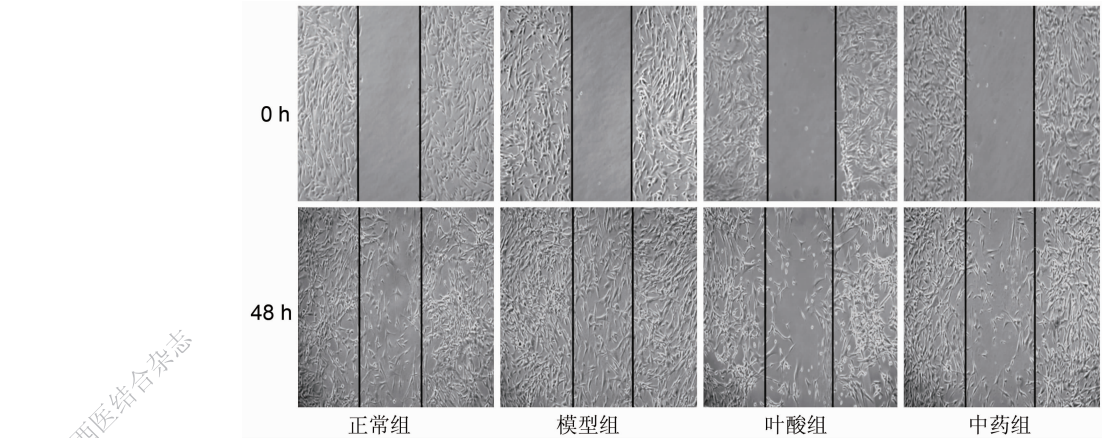
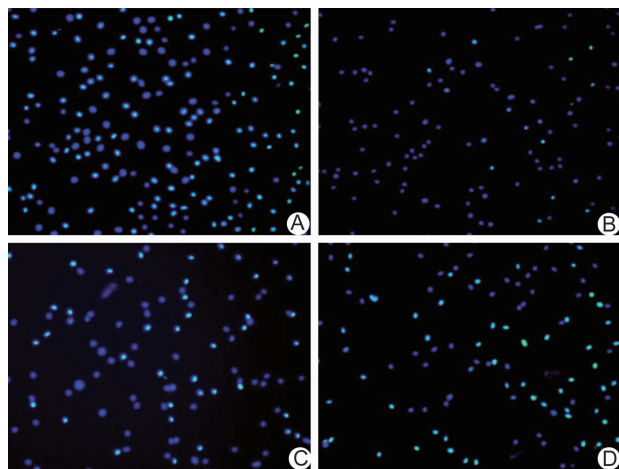


图 3 各组 VSMCs 迁移情况比较 (×100)



注:A 为正常组;B 为模型组;C 为叶酸组;D 为中药组

图 4 各组 VSMCs 5-mC 免疫荧光强度图 (×200)

讨 论

高血压病的发病机制和病变过程比较复杂,与交感神经系统活性增强、肾脏水钠潴留、肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (renin-angiotensin-aldosterone-system, RAAS) 激活等相关^[6]。研究发现,异常的 DNA 甲基化修饰可能参与调控某些高血压病候选基因的表达,最终导致高血压的发生与发展^[7]。DNA 甲基化是一种重要的表型遗传修饰,基因组 DNA 的低甲基化可导致染色体的不稳定性 (非整倍体、转座子的活化及基因上调) 增加,而高甲基化会抑制基因的表达^[8]。研究表明,在心血管疾病的发生、发展过程中普遍存在甲基化失衡的情况^[9],主要包括局部 CpG 岛的高甲基化和基因组的广泛低甲基化,其中异常高甲基化引起的增殖抑制基因失活尤为重要,但其原因尚不清楚。Friso S 等^[10]研究显示 11b-HSD-2 基因启动子区高甲基化与血压水平成正相关,Bogdarina I 等^[11]进一步证实 AT 1b 受体基因的低甲基化很可能是高血压病的潜在病因;动脉中膜平滑肌细胞的迁移和增殖都伴有基因组 CpG 岛发生低甲基化^[12]。因此,基因的 DNA 甲基化修饰模型可以成为高血压病相关机制研究的遗传标志物,具有重要意义。

本课题组前期研究表明,平肝潜阳方可调节自发性高血压模型大鼠多个 miRNAs 表达,提示可能参与高血压病的表观遗传学调控机制,但是否参与调节 DNA 甲基化尚不明确。本研究结果显示,Ang II 诱导 VSMCs 增殖和迁移模型的 DNA 甲基化水平明显下降,呈低甲基化状态,与相关报道一致^[13]。DNA 甲基转移酶在调节 DNA 甲基化中起重要作用。目前发现的 DNA 甲基转移酶主要有 3 类:DNMT1、DNMT2 及

DNMT3。与 DNMTs 具有高强结合力的 DNA 甲基转移酶抑制剂的作用机制是在体内通过代谢形成三磷酸脱氧核苷,在 DNA 复制过程中代替胞嘧啶。本研究结果显示,Ang II 诱导 VSMCs 增殖、迁移模型中 DNMT1 基因 mRNA 表达呈降低趋势,提示细胞中 DNA 甲基转移酶表达减少,可能是导致 DNA 总甲基化水平降低的因素之一。Liu Z 等^[14]通过将姜黄素和 DNMT1 的相互作用分子对接发现,姜黄素可通过与 DNMT1 发生共价结合而发挥抑制 DNMT 的作用。贾镭^[15]研究了可及其产物对血脂调节的影响,发现可以通过影响低密度脂蛋白诱导 DNMT3 的表达来改变动脉粥样硬化进程,提示中药可以通过靶向调节 DNMTs 的表达来实现治疗目标。北美通过食物强化叶酸政策,在降低高同型半胱氨酸血症的同时,心血管疾病和卒中发病率亦呈加速下降趋势^[16]。但关于叶酸是否可以预防高血压和动脉粥样硬化相关疾病目前尚存在争议。本研究发现,叶酸可以提高 VSMCs 基因组甲基化水平,提示叶酸可能成为逆转血管重构基因治疗的新手段。而叶酸和平肝潜阳方均能明显提高其的 DNA 甲基化水平,增强 DNMT1 基因 mRNA 表达,表明平肝潜阳方抑制 VSMCs 增殖和迁移与提高 DNA 甲基化水平,增强 DNMT1 基因表达有关,提示平肝潜阳方可在转录前影响细胞增殖和迁移相关基因的表达,而导致 VSMCs 的增殖和迁移能力减弱,从而达到逆转血管重构的病理生理过程。

因此,表观遗传学作用机制 (DNA 甲基化) 可能在平肝潜阳方抑制 VSMCs 的增殖和迁移作用机制中起着重要作用。超甲基化和低甲基化区域可以同时存在于基因组中,总 DNA 甲基化状态可能与某特定染色体区域的甲基化状态并不相符^[17]。因此,单基因甲基化及其表达的研究有可能进一步加深平肝潜阳方逆转血管重构作用机制的理解。

参 考 文 献

- [1] Lacolley P, Regnault V, Nicoletti A, et al. The vascular smooth muscle cell in arterial pathology: a cell that can take on multiple roles[J]. Cardiovasc Res, 2012, 95(2): 194-204.
- [2] 徐文娟,李运伦. 平肝潜阳法治疗高血压病肝阳上亢证临床依据的系统评价[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(3): 736-739.
- [3] 钟广伟,李炜,陈民敬,等. 天麻、钩藤、石决明、牡蛎、牛膝混合剂对高血压大鼠血管重构的影响[J]. 中华高血压杂志, 2008, 16(9): 812-816.
- [4] 吴婷婷,屈会化,胡丽娜,等. 基于树鼯体表面积

- 嗣与人类及其他实验动物等效剂量换算系数的测算 [J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(1): 203-205.
- [5] 路广林, 董建勋, 郝钰, 等. 血管紧张素 II 诱导血管平滑肌细胞增殖迁移及温经活血中药的干预作用 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(7): 1556-1559.
- [6] Lifton RP, Gharavi AG, Geller DS. Molecular mechanisms of human hypertension [J]. Cell, 2001, 104(4): 545-556.
- [7] Friso S, Carvajal CA, Fardella CE, et al. Epigenetics and arterial hypertension: the challenge of emerging evidence [J]. Transl Res, 2015, 165(1): 154-165.
- [8] Goldberg AD, Allis CD, Bernstein E. Epigenetics: a landscape takes shape [J]. Cell, 2007, 128(4): 635-638.
- [9] Udali S, Guarini P, Moruzzi S, et al. Cardiovascular epigenetics: from DNA methylation to microRNAs [J]. Mol Aspects Med, 2013, 34(4): 883-901.
- [10] Friso S, Pizzolo F, Choi SW, et al. Epigenetic control of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2 gene promoter is related to human hypertension [J]. Atherosclerosis, 2008, 199(2): 323-327.
- [11] Bogdarina I, Welham S, King PJ, et al. Epigenetic modification of the renin-angiotensin system in the fetal programming of hypertension [J]. Circ Res, 2007, 100(4): 520-526.
- [12] Hiltunen MO, Yl-Herttuala S. DNA methylation, smooth muscle cells, and atherogenesis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23(10): 1750-1753.
- [13] Wang X, Falkner B, Zhu H, et al. A genome-wide methylation study on essential hypertension in young African American males [J]. PLoS One, 2013, 8(1): e53938.
- [14] Liu Z, Xie Z, Jones W, et al. Curcumin is a potent DNA hypomethylation agent [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2009, 19(3): 706-709.
- [15] 贾镭. 可可影响血脂谱的荟萃分析及 FOXP3 基因甲基化修饰与动脉粥样硬化的相关性研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2011.
- [16] Antoiades C, Antonopoulos AS, Tousoulis D, et al. Homocysteine and coronary atherosclerosis: from folate fortification to the recent clinical trials [J]. Eur Heart J, 2009, 30(1): 6-15.
- [17] Kim M, Long TI, Arakawa K, et al. DNA methylation as a biomarker for cardiovascular disease risk [J]. PLoS One, 2010, 5(3): e9692.

(收稿: 2014-01-27 修回: 2015-05-14)

第十四次全国中西医结合影像学术研讨会征文通知

中国中西医结合学会医学影像专业委员会定于 2016 年 7 月上旬在长沙市召开第十四次全国中西医结合影像学术研讨会。现将征文要求通知如下。

征文内容 (1) 影像学中西医结合基础与临床研究; (2) 影像学新技术临床应用; (3) 其他与影像学有关的实验研究、临床研究、经验分享、病例报道等; (4) 影像学新进展。

征文要求 (1) 篇幅尽量控制在 3 000 字左右, 并附摘要; (2) 论文请附作者简介, 包括姓名、性别、出生年月、职称、学历、工作单位、地址、联系电话和邮箱; (3) 本次会议一律采用电子文档投稿, 不接收纸质稿件。稿件请发至 lj75832003@aliyun.com, 邮件标题请注明“中西医结合影像学术会议”。(4) 联系人: 中南大学湘雅二院放射科 刘军, 电话: 13787085002。

投稿须知 所投论文未在公开发行人物上发表, 署名无争议, 不涉密。图片分辨率不低于 300 dpi, 自留底稿。

截稿日期 2016 年 6 月 20 日。