

[文章编号] 1007-3949(2008)16-03-0185-04

• 实验研究 •

## γ 干扰素对鼠源性平滑肌细胞内源性 CXC 配体 16 表达及细胞内脂质蓄积的影响

杨 婷, 全智华

(南华大学附属第一医院心血管内科, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 病理学与病理生理学; 动脉粥样硬化; γ 干扰素; CXC 配体 16; 氧化型低密度脂蛋白; 脂质蓄积

[摘要] 目的 观察重组大鼠细胞因子 γ 干扰素对鼠源性平滑肌细胞内源性 CXC 配体 16 的表达及对细胞内脂质蓄积的影响。探讨重组大鼠 γ 干扰素对 CXC 配体 16 的改变与细胞内脂质蓄积是否有关。方法 原代培养大鼠胸主动脉平滑肌细胞, 用重组大鼠 γ 干扰素作用于平滑肌细胞, 通过逆转录聚合酶链反应检测细胞内 CXC 配体 16 mRNA 的表达; 用重组大鼠 γ 干扰素和氧化型低密度脂蛋白先后作用于平滑肌细胞, 高效液相色谱分析法检测细胞内胆固醇蓄积情况。结果 γ 干扰素可诱导鼠源性平滑肌细胞内源性 CXC 配体 16 mRNA 的表达增加; 与仅有氧化型低密度脂蛋白孵育组相比, 经 γ 干扰素和氧化型低密度脂蛋白共同孵育组的细胞内胆固醇酯与总胆固醇的比值显著增高。结论 γ 干扰素可能通过上调鼠源性平滑肌细胞内 CXC 配体 16 的表达, 从而进一步促进细胞内脂质蓄积。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

### Effect of Interferon-γ on the CXC Ligand 16 Expression and the Lipid Accumulation in the Rat Aortic Smooth Muscle Cells

YANG Ting, and QUAN ZhǐHua

(Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang 421001, China)

[KEY WORDS] Atherosclerosis; Interferon-γ; CXC Ligand 16; Oxidize Low Density Lipoprotein; Lipid Accumulation

[ABSTRACT] **Aim** To investigate whether CXC ligand 16 (CXCL16) expressions were controlled by interferon-γ (IFN-γ) secreted by the activated T cells and the effect on lipid accumulation in the rat aortic smooth muscle cells (SMC).

**Methods** The cells were grown to confluence and then incubated with different concentration of IFN-γ. The CXCL16 expression was identified by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR); The effect of IFN-γ on oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) uptake was identified by high performance liquid chromatography (HPLC) analysis.

**Results** The CXCL16 mRNA expression was significantly increased after IFN-γ treatment; The rat aortic SMC lipid accumulation after IFN-γ treatment was increased in treated cells compared with untreated cells.

**Conclusion** The T cell cytokine IFN-γ induces CXCL16 mRNA expression in rat aortic SMC and then leads to lipid accumulation in rat aortic SMC.

近年发现<sup>[1]</sup>, 趋化因子 CXC 配体 16 (CXC chemokine ligand 16, CXCL16) 与结合磷脂酸丝氨酸和氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 的清道夫受体 (scavenger receptor that binds phosphatidylserine and oxidized lipoprotein, SR-PSOX) 是同一种蛋白。Hofnagel 等<sup>[2]</sup>证实在体外培养的人和猪主动脉平滑肌细胞中有 CXCL16 表达, 而且 CXCL16 对 ox-LDL 有较强的结合和内含能力, 参与细胞内脂质聚集过程, 促进动脉粥样硬化 (atherosclerosis) 形成。

γ 干扰素 (interferon-γ, IFN-γ) 是由 T 淋巴细胞<sup>[3]</sup>分泌产生的一种细胞因子。研究表明, γ 干扰素可诱导人和小鼠的巨噬细胞表达 CXCL16<sup>[4]</sup>。本实验主要观察重组大鼠细胞因子 γ 干扰素对原代培养的大鼠胸主动脉血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 内源性 CXCL16 表达及对细胞内脂质蓄积的影响, 了解 γ 干扰素是否通过上调 CXCL16 的表达促进细胞内脂质蓄积, 进而促进 As 的形成与发展。

[收稿日期] 2007-10-24 [修回日期] 2008-02-25

[基金项目] 湖南省自然科学基金 (05JJ30040)

[作者简介] 杨婷, 硕士研究生, 医师, 主要研究方向为动脉粥样硬化的发病机制与防治, E-mail 为 yangting1982.1010@163.com。全智华, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 主要研究方向为动脉粥样硬化的发病机制与防治。

### 1 材料和方法

#### 1.1 细胞培养

贴块法行大鼠胸主动脉 VSMC 原代培养, 倒置

相差显微镜下观察,细胞为梭形,具有典型峰谷生长状态。待细胞长满后用 0.25% 的胰蛋白酶传代。取 3~10 代细胞进行实验。细胞用含有 10% 优级胎牛血清 DMEM 培养基, 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中静置培养,培养基中加 100 kU/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素,待细胞长到 80% 满的时候做相应处理。

## 1.2 逆转录聚合酶链反应检测 CXC 配体 16 mRNA 的表达

实验分不同浓度  $\gamma$  干扰素 (0、0.1、1、10 和 100  $\mu\text{g/L}$ ) 分别与平滑肌细胞共同孵育 48 h 组和 10  $\mu\text{g/L}$   $\gamma$  干扰素处理细胞不同时间 (0、6、24、48 和 72 h) 组。按 Trizol 试剂盒 (上海生工生物工程有限公司) 操作说明,分别提取各组细胞总 RNA,按 AMV 第一链 cDNA 合成试剂盒 (上海生工生物工程有限公司) 说明书逆转录成 cDNA, -80℃ 保存备用 (所加总 RNA 量均调整至 2  $\mu\text{g}$ )。然后分别用自行设计并由上海生工生物工程有限公司合成的大鼠 CXCL16 基因扩增引物 (上游为 5'-CCG CCA CTG GGA AAC AAC TA-3', 下游为 5'-TGC CAC GAG GAA GAA GAC GA-3', 扩增长度为 172 bp) 和内参照  $\beta$ -actin (上游为 5'-TCA GGT CAT CAC TAT CGG CAA-3', 下游为 5'-AAA GAA AGG GTG TAA AAC GCA -3', 扩增长度为 432 bp) 行聚合酶链反应。反应条件为 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 30 s  $\rightarrow$  60℃ ( $\beta$ -actin 为 58℃) 退火 30 s  $\rightarrow$  72℃ 延伸 30 s, 共 35 个循环 ( $\beta$ -actin 为 30 个循环), 最后 72℃ 延伸 5 min。扩增结束后各取 PCR 产物 4  $\mu\text{L}$  点样, 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, EB 染色并摄片。

## 1.3 高效液相色谱仪分析细胞内总胆固醇、游离胆固醇和胆固醇酯含量

待细胞处理结束后,弃去培养基, PBS 洗 3 遍后,用细胞刮刀将贴壁细胞刮落,加入 1 mL 生理盐水混匀后用移液管吸取细胞至 1.5 EP 管, 4℃ 1 500 r/min 离心 15 min, 弃上清,加入 300  $\mu\text{L}$  细胞裂解液裂解细胞, 4℃ 3 000 r/min 离心 10 min, BCA 试剂定量蛋白后,取上清 200  $\mu\text{L}$ ,加入 200  $\mu\text{L}$  豆甾醇内标液,另加入乙醇 600  $\mu\text{L}$ ,混匀,取 500  $\mu\text{L}$  上清液,加 1 mol/L 氢氧化钾醇溶液 100  $\mu\text{L}$  [游离胆固醇 (free cholesterol, FC)]; 取 500  $\mu\text{L}$  上清液,加入 8.9 mol/L 氢氧化钾醇溶液 100  $\mu\text{L}$ , 50℃ 水浴中静置 2 h [总胆固醇 (total cholesterol, TC)]。加正己烷 1 mL,混匀 15 min,取上层有机相 600  $\mu\text{L}$ , 50℃ 挥干,加 400  $\mu\text{L}$  丙酮, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: CrO<sub>3</sub> (2:1) 40  $\mu\text{L}$ , 反应 5 min,加 500  $\mu\text{L}$  正己烷终止反应,混匀,加 500  $\mu\text{L}$  双蒸水,混匀 15 min,取上层有机相 300  $\mu\text{L}$ , 50℃ 挥干,加流动相异丙醇:

乙晴 (20:80) 400  $\mu\text{L}$  溶解,色谱进样,监测波长 250 nm。采用 C-18 柱,柱温 4℃,流速 1 mL/min, 250 nm 紫外光检测,胆固醇以峰面积定量,内标校准,以 mg/g 细胞蛋白为单位。细胞内胆固醇酯 (cholesterol ester, CE) 含量为 TC 与 FC 的差值,并计算 CE 在 TC 中所占的百分比。

## 1.4 统计学分析

各数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间处理采用 student' *t* 检验,各组间均数比较采用单因素方差分析。以上实验均重复 3 次,以  $P < 0.05$  判定差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 $\gamma$ 干扰素对鼠源性平滑肌细胞内源性 CXC 配体 16 mRNA 表达的影响

2.1.1 鼠源性平滑肌细胞总 RNA 的提取 用 Trizol 提取鼠源性平滑肌细胞的总 RNA,取 OD 值 (A260/A280) 为 1.8~2.0 之间的样本。琼脂糖电泳 (图 1) 发现, 28S 条带亮度约为 18S 条带的 2 倍,条带清晰,无杂带, 5S 条带模糊。提示提取的总 RNA 降解极少,无 DNA 污染。可用于逆转录合成 cDNA。

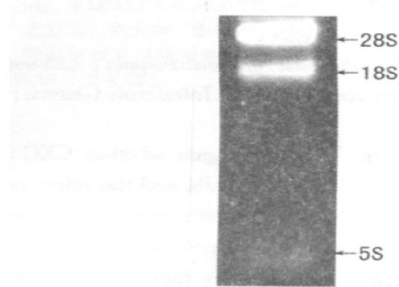


图 1. 大鼠胸主动脉平滑肌细胞的总 RNA

### 2.1.2 不同浓度 $\gamma$ 干扰素对 CXC 配体 16 mRNA 表达的影响

与 0  $\mu\text{g/L}$  (空白对照组) 和 0.1  $\mu\text{g/L}$   $\gamma$  干扰素组比较,较高浓度的  $\gamma$  干扰素 (1、10 和 100  $\mu\text{g/L}$ ) 诱导平滑肌细胞 CXCL16 mRNA 表达明显增高 (表 1 和图 2,  $P < 0.05$ ), 较高浓度的  $\gamma$  干扰素诱导平滑肌细胞 CXCL16 mRNA 的表达约是空白对照组的 1.5~3 倍。

### 2.1.3 $\gamma$ 干扰素作用不同时间对 CXC 配体 16 mRNA 表达的影响

与 0 h 和 6 h 组比较,  $\gamma$  干扰素 (10  $\mu\text{g/L}$ ) 作用 24、48 和 72 h 诱导平滑肌细胞 CXCL16 mRNA 表达明显增高 (表 2 和图 3,  $P < 0.05$ )。

## 2.2 $\gamma$ 干扰素对鼠源性平滑肌细胞内脂质蓄积的影响

2.2.1  $\gamma$  干扰素促进鼠源性平滑肌细胞内脂质蓄积 用  $\gamma$  干扰素 (10  $\mu\text{g/L}$  作用 48 h) 和 ox-LDL (20

mg/L 作用 6 h) 共同孵育组细胞内胆固醇酯与总胆固醇比值(37.22% ± 0.62%) 较仅用 ox-LDL(20 mg/L 作用 6 h) 孵育组(14.22% ± 0.62%) 和正常平滑肌细胞组(3.04% ± 1.47%) 明显增高。

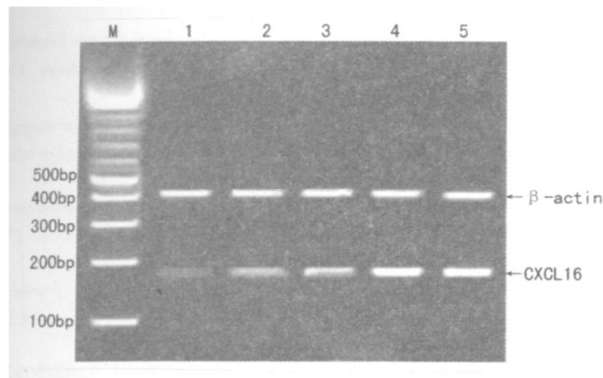


图 2. 不同浓度  $\gamma$  干扰素对 CXC 配体 16 mRNA 表达的影响

M 为相对分子质量, 1 为对照组, 2~5 分别为 0.1、1、10 和 100  $\mu\text{g/L}$   $\gamma$  干扰素组。

2.2.2 不同浓度  $\gamma$  干扰素对细胞内脂质蓄积的影响 用 0、0.1、1、10 和 100  $\mu\text{g/L}$   $\gamma$  干扰素与平滑肌细胞共同孵育 48 h 后, 再用同一浓度 ox-LDL(20 mg/L) 和含 5% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基孵育不同浓度组 6 h, 发现随着  $\gamma$  干扰素浓度增加, CE 含量百分比逐渐升高( $P < 0.05$ , 表 1)。

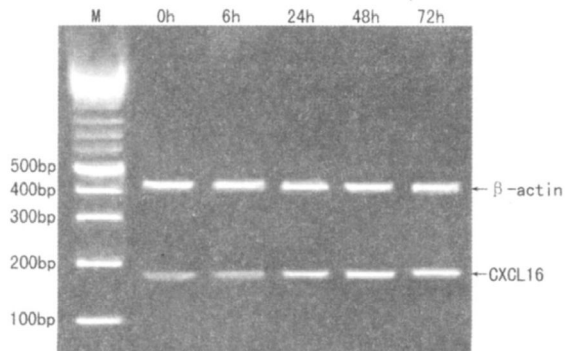


图 3.  $\gamma$  干扰素作用不同时间对 CXC 配体 16 mRNA 表达的影响

表 1. 不同浓度  $\gamma$  干扰素对 CXC 配体 16 表达及细胞内脂质蓄积的影响( $n = 3$ )

$\gamma$ 干扰素浓度 ( $\mu\text{g/L}$ )	CXCL16 mRNA 表达	CE 含量 百分比	TC (mmol/L)
0(对照组)	0.25 ± 0.01	14.22% ± 0.35%	27.13 ± 1.01
0.1	0.30 ± 0.02	16.19% ± 1.05%	28.24 ± 0.46
1	0.35 ± 0.02 <sup>a</sup>	25.89% ± 0.73% <sup>a</sup>	36.13 ± 0.37 <sup>a</sup>
10	0.70 ± 0.55 <sup>ab</sup>	37.22% ± 0.62% <sup>ab</sup>	36.67 ± 0.72 <sup>ab</sup>
100	0.80 ± 0.02 <sup>ac</sup>	40.12% ± 1.72% <sup>ac</sup>	38.14 ± 0.48 <sup>ac</sup>

a 为  $P < 0.05$ , 与对照组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与 1  $\mu\text{g/L}$  组比较; c 为  $P < 0.05$ , 与 10  $\mu\text{g/L}$  组比较。

2.2.3  $\gamma$  干扰素作用不同时间对细胞内脂质蓄积的影响 以同一浓度  $\gamma$  干扰素(10  $\mu\text{g/L}$ ) 与平滑肌细胞共同孵育不同时间(0、6、24、48 和 72 h) 后, 再用同一浓度 ox-LDL(20 mg/L) 和含 5% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基孵育不同时间组 6 h, 发现随作用时间延长 CE/TC 值逐渐升高( $P < 0.05$ , 表 2)。

表 2.  $\gamma$  干扰素作用不同时间对 CXC 配体 16 表达及细胞内脂质蓄积的影响( $n = 3$ )

作用时间 (h)	CXCL16 mRNA 表达	CE 含量 百分比	总胆固醇 (mmol/L)
0(对照组)	0.15 ± 0.01	12.72% ± 1.75%	21.21 ± 1.93
6	0.29 ± 0.04 <sup>a</sup>	12.98% ± 0.46%	21.42 ± 1.56
24	0.35 ± 0.02 <sup>b</sup>	20.73% ± 1.32% <sup>a</sup>	30.15 ± 0.47 <sup>a</sup>
48	0.67 ± 0.03 <sup>bc</sup>	36.15% ± 0.45% <sup>ac</sup>	35.34 ± 0.25 <sup>ac</sup>
72	0.78 ± 0.05 <sup>bd</sup>	38.75% ± 1.04% <sup>ad</sup>	37.27 ± 0.67 <sup>ad</sup>

a 为  $P < 0.05$ , b 为  $P < 0.01$  与对照组比较; c 为  $P < 0.05$ , 与 24 h 组比较; d 为  $P < 0.05$ , 与 48 h 组比较。

### 3 讨论

动脉粥样硬化(As) 是一种以脂质紊乱为特征的特殊的慢性炎症反应。As 的损伤处存在大量免疫细胞, 特别是单核细胞、巨噬细胞和 T 淋巴细胞。单核细胞一旦驻留在损伤的动脉内膜处, 可转变成表达清道夫受体的巨噬细胞, 从而摄入 ox-LDL, 形成脂滴, 发展成泡沫细胞。同时, 巨噬细胞释放促炎症细胞因子, 进一步募集白细胞, 从而促进 As 的发展。在斑块损伤处的 T 细胞大部分是辅助性 T 淋巴细胞, 它们分泌  $\gamma$  干扰素、白细胞介素 2(interleukin-2, IL-2) 和肿瘤坏死因子  $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )<sup>[5]</sup> 等促炎症因子, 从而进一步促进 As 的发展。

CXCL16 是一个最近发现的 CXC 家族的细胞因子。人和鼠的 CXCL16 分子的氨基酸同源率为 49%, 而在趋化结构域部分的相似性达 70%<sup>[6]</sup>。CXCL16 以跨膜结合型和分泌型两种形式存在。可溶性 CXCL16 可诱导 T 淋巴细胞的趋化性<sup>[7]</sup>, 可能在炎症反应中吸引激活的淋巴细胞亚型, 并通过细胞间接触促进免疫反应。跨膜结合型的 CXCL16 表达于抗原呈递细胞如单核-巨噬细胞、B 细胞、淋巴结 T 细胞区的树突状细胞和脾红髓窦状隙中。Hofnagel 等<sup>[2]</sup> 首先证实人主动脉平滑肌细胞中 CXCL16 参与了细胞内脂质聚集过程, 促进 As 形成。但在 Aslanian 等<sup>[8]</sup> 的研究中, 对小鼠行双基因敲除(CXCL16<sup>-/-</sup>/LDLR<sup>-/-</sup>) 发现 CXCL16 是一种血管保护因子, 具有抗 As 功能。最新的研究<sup>[9]</sup> 又证实, CX-

CL16 表达在 As 损伤处, 介导内吞 ox-LDL 和磷脂酸丝氨酸包裹颗粒如凋亡小体。因此, CXCL16 在 As 中的确切功能有待进一步研究。Abel 等<sup>[10]</sup> 发现, 平滑肌细胞表面的 CXCL16 可经基质金属蛋白酶 10 水解从细胞表面脱落, 而且 CXCL16 蛋白可由  $\gamma$  干扰素和 TNF- $\alpha$  诱导产生。

动物实验发现, IL-18/ 载脂蛋白 E 双基因敲除小鼠的粥样斑块减小, 而直接注射重组 IL-18 可加重 As 损伤<sup>[11, 12]</sup>。当  $\gamma$  干扰素不存在时, IL-18 的促粥样硬化作用也消失<sup>[11]</sup>, 提示 IL-18 的促 As 作用可能完全取决于  $\gamma$  干扰素。 $\gamma$  干扰素可下调胆固醇 27-羟化酶表达<sup>[13]</sup>, 抑制 ATP 结合盒转运体 1<sup>[14]</sup>, 从而影响动脉粥样斑块的脂质蓄积。最近有研究表明, 给载脂蛋白 E<sup>-/-</sup> 小鼠腹腔内注射  $\gamma$  干扰素后, 动脉粥样斑块损伤处的 CXCL16 mRNA 表达显著增加<sup>[4]</sup>。而且, 在激活的 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞中 CXCL16 表达细胞可以刺激  $\gamma$  干扰素产生<sup>[15]</sup>。

在本研究中, 用重组大鼠  $\gamma$  干扰素直接作用于体外培养的鼠源性主动脉 VSMC, 在相同时间内, 当  $\gamma$  干扰素的浓度增加到 1  $\mu\text{g/L}$  时, 细胞内源性 CXCL16 mRNA 的表达显著增加, 10  $\mu\text{g/L}$  和 100  $\mu\text{g/L}$   $\gamma$  干扰素组 CXCL16 mRNA 表达量是对照组的 1.5~3 倍; 用相同剂量  $\gamma$  干扰素 (10  $\mu\text{g/L}$ ) 作用细胞 24 h 后, 内源性 CXCL16 mRNA 的表达显著增加, 并可持续至 72 h。与此同时, 与仅有 ox-LDL 孵育组相比, 经  $\gamma$  干扰素和 ox-LDL 共同孵育组的细胞内 CE/TC 值显著增高, 提高约 50%。提示  $\gamma$  干扰素可能通过增加细胞内 CXCL16 的表达, 促进细胞吞噬脂质, 从而使细胞内脂质蓄积增加。这与 Hofnagel 等<sup>[2, 10]</sup> 的研究相符合。

T 细胞源性细胞因子  $\gamma$  干扰素可上调平滑肌细胞 CXCL16 表达, 而 CXCL16 又可促进 T 细胞的募集, 吞噬脂质, 从而形成一个毒性循环, 进一步促进 As 的免疫炎症反应。本实验提示, 我们是否可通过寻找  $\gamma$  干扰素的拮抗剂或阻断剂来对抗  $\gamma$  干扰素的

作用, 使 CXCL16 表达减少, 从而减轻细胞吞噬脂质的程度, 减少 T 细胞聚集, 进一步减轻 As 的发展, 尚待进一步探索。

#### [参考文献]

- [1] Shimaoka T, Kume N, Minami M, et al. Molecular cloning of a novel scavenger receptor for oxidized low density lipoprotein, SR-PSOX, on macrophages [J]. *J Biol Chem*, 2000, **275** (52): 40 663-666.
- [2] Hofnagel O, Luechtenborg B, Plenz G, et al. Expression of the novel scavenger receptor SR-PSOX in cultured aortic smooth muscle cells and umbilical endothelial cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22**: 710-711.
- [3] Sercan L, Hammerling GJ, Arnold B, et al. Innate immune cells contribute to the IFN- $\gamma$ -dependent regulation of antigen-specific CD8<sup>+</sup> T cell homeostasis [J]. *J Immunol*, 2006, **176**: 735-739.
- [4] Wuttge DM, Zhou X, Sheikine Y, et al. CXCL16/SRPSOX is an interferon-gamma-regulated chemokine and scavenger receptor expressed in atherosclerotic lesions [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24**: 750-755.
- [5] 任满意, 隋树建. 肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体及其受体与动脉粥样硬化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, **15** (8): 648-654.
- [6] 徐焕宾, 熊思东. 新发现的 CXCL16 趋化因子及其受体[J]. *生命的化学*, 2003, **23** (1): 8-10.
- [7] 曹春辉, 全智华. 趋化因子 CXC 配体 16 的生物学效应研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, **15** (2): 155-157.
- [8] Aslanian AM, Charo IF. Targeted disruption of the scavenger receptor and chemokine CXCL16 accelerates atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2006, **114** (6): 583-590.
- [9] Quan Z, Yang H, Yang Y, et al. Construction and functional analysis of a lentiviral expression vector containing a scavenger receptor (SR-PSOX) that binds uniquely phosphatidylserine and oxidized lipoprotein [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2007, **39** (3): 208-216.
- [10] Abel S, Hundhausen C, Mentlein R, et al. The transmembrane CXC-chemokine ligand 16 is induced by IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  and shed by the activity of the disintegrin-like metalloproteinase ADAM10 [J]. *J Immunol*, 2004, **172**: 6 362-372.
- [11] Whitman SC, Ravisankar P, Daugherty A. Interleukin 18 enhances atherosclerosis in apolipoprotein E(-/-) mice through release of interferon-gamma [J]. *Circ Res*, 2002, **90**: e34-e38.
- [12] Elhage R, Jawien J, Rudling M, et al. Reduced atherosclerosis in interleukin 18 deficient apolipoprotein E-knockout mice [J]. *Cardio Vasc Res*, 2003, **59** (1): 234-240.
- [13] Reiss AB, Awadallah NW, Malhotra S, et al. Immune complexes and IFN- $\gamma$  decrease cholesterol 27-hydroxylase in human arterial endothelium and macrophages [J]. *J Lipid Res*, 2001, **42**: 1 913-922.
- [14] Panousis CG, Zuckerman SH. Interferon-gamma induces downregulation of tangier disease gene (ATP-binding cassette transporter 1) in macrophage-derived foam cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20**: 1 565-571.
- [15] Yamauchi R, Tanaka M, Kume N, et al. Upregulation of SR-PSOX/CXCL16 and recruitment of CD8<sup>+</sup> T cells in cardiac valves during inflammatory valvular heart disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24**: 282-287.

(此文编辑 许雪梅)