

[文章编号] 1007-3949(2011)19-01-0061-05

• 临床研究 •

# 高浓度胰岛素对急性冠状动脉综合征患者外周单核细胞源树突状细胞分化成熟及免疫功能的影响

叶双樱<sup>1</sup>, 陈礼平<sup>2</sup>, 武蓉珍<sup>2</sup>, 陈东红<sup>2</sup>, 胡武明<sup>2</sup>, 陈俊冲<sup>2</sup>

(1. 丽水市第二人民医院内科, 浙江省丽水市 323000 2. 丽水市中心医院心内科, 浙江省丽水市 323000)

[关键词] 高浓度胰岛素; 树突状细胞; 免疫反应; 急性冠状动脉综合征

**[摘要]** **目的** 研究高浓度胰岛素对急性冠状动脉综合征患者外周单核细胞源树突状细胞分化、成熟及免疫功能的影响。**方法** 采用贴壁法分离急性冠状动脉综合征患者(ACS组)和正常人(正常组)外周血单核细胞,在含粒-巨噬细胞集落刺激因子(100 μg/L)和白细胞介素 4(100 μg/L)的 RPMI 1640 完全培养基中培养。5 天后收集细胞,作为未成熟树突状细胞,重新铺板后继续在胰岛素浓度分别为 1、10 nmol/L 和 100 nmol/L 的 RPMI 1640 完全培养基中培养 48 h 后,收集细胞和上清液,此时细胞作为成熟树突状细胞,采用流式细胞术检测成熟树突状细胞表面 CD40、CD80 和 CD83 的表达;用酶联免疫吸附法测定检测上清液中细胞因子白细胞介素 12、白细胞介素 10 和肿瘤坏死因子 α 的浓度;用倒置显微镜动态观察树突状细胞形态变化。**结果** 树突状细胞表型 CD40、CD80 和 CD83 随着胰岛素浓度升高而升高 ( $P < 0.05$ ),培养上清液中细胞因子白细胞介素 12、肿瘤坏死因子 α 的浓度也随着胰岛素浓度升高而升高 ( $P < 0.05$ ),而细胞因子白细胞介素 10 的浓度则随着胰岛素浓度升高而降低 ( $P < 0.05$ )。同等胰岛素浓度下,急性冠状动脉综合征患者较正常组的树突状细胞表面 CD40、CD80 和 CD83 的阳性表达率升高 ( $P < 0.05$ ),培养上清液中细胞因子白细胞介素 12、肿瘤坏死因子 α 的浓度升高 ( $P < 0.05$ ),而细胞因子白细胞介素 10 的浓度则降低 ( $P < 0.05$ )。**结论** 高浓度胰岛素促进了急性冠状动脉综合征患者的树突状细胞表面标志物 CD40、CD80 和 CD83 的表达;促进了树突状细胞对细胞因子白细胞介素 12 和肿瘤坏死因子 α 的分泌;对白细胞介素 10 的分泌则起抑制作用。高浓度胰岛素通过促进树突状细胞免疫功能成熟,参与动脉粥样硬化免疫炎症反应的发生和发展,是急性冠状动脉综合征发生的可能机制之一。

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

## Effects of Hyperinsulin on Development and Maturation and Immune Function of Human Monocyte-derived Dendritic Cells in the Acute Coronary Syndrome Patients

YE Shuang-Ying<sup>1</sup>, CHEN Li-Ping<sup>2</sup>, WU Rong-Zhen<sup>2</sup>, CHEN Dong-Hong<sup>2</sup>, HU Wu-Ming<sup>2</sup>, and CHEN Jun-Chong<sup>2</sup>

(1. The Second People's Hospital of Lishui, Lishui, Zhejiang 323000 China; 2. Lishui Central Hospital, Lishui, Zhejiang 323000 China)

[KEY WORDS] Hyperinsulin; Dendritic Cells; Immunity; Acute Coronary Syndrome

**[ABSTRACT]** **Aim** To explore the effect of hyperinsulin on the maturation of monocyte-derived dendritic cells in the Acute Coronary Syndrome (ACS) patients. **Methods** Human monocytes of ACS were purified using successive adherence method, recombinant human granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF, 100 μg/L) and interleukin-4 (IL-4, 100 μg/L) after 5 days culture in RPMI 1640 medium containing. Immature DC (iDC) were collected, then added RPMI 1640 medium containing with insulin of various concentrations (1 nmol/L, 10 nmol/L, 100 nmol/L) for 48 hours, mature DC (mDC) were derived. Immunophenotypic expression of CD40, CD80 and CD83 were monitored by flow cytometry, and expression of IL-12, IL-10 and TNF-α were measured by ELISA, and the morphological features of dendritic cells were observed with invert optical microscope. **Results** Hyperinsulin promoted the expression of CD40, CD80 and

[收稿日期] 2010-11-17

[基金项目] 浙江省丽水市科技计划项目 (2008)

[作者简介] 叶双樱, 硕士, 主治医师, 主要从事心内科工作, Email 为 ysy469590675@yahoo.cn 通讯作者陈礼平, 硕士, 主任医师, 主要从事心内科工作, Email 为 clp0124@yahoo.com.cn 武蓉珍, 硕士, 主任检验师, 主要从事检验科工作, Email 为 wrz999@126.com.

CD83 and enhanced the expression of IL-12 and TNF- $\alpha$  significantly and repressed the expression of IL-10 in the acute coronary syndrome patients. **Conclusions** Hyperinsulin contributed to the development of atherosclerosis via stimulating immune maturation of DC, which may be one of its mechanisms in the development of ACS.

越来越多的研究表明胰岛素抵抗是动脉粥样硬化的一个重要环节,炎症反应是动脉粥样硬化和胰岛素抵抗的共同发病基础。急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)是一组由急性心肌缺血引起的临床综合症,其病理基础是不稳定的动脉粥样硬化斑块发生变化,斑块中炎症反应强烈从而导致斑块破裂。而 ACS 发生的患者中有相当部分出现不同程度的糖耐量受损,这往往成为导致 ACS 发生的一个重要的原因<sup>[1]</sup>。免疫炎症反应的发生和放大需要抗原递呈,而树突状细胞(dendritic cells, DC)是机体功能最强的专职抗原递呈细胞。早年研究<sup>[2]</sup>已发现 DC 存在于粥样硬化斑块中。近年研究<sup>[3]</sup>发现人的易损斑块的破裂边缘存在大量 DC, ACS 的发生与 DC 密切相关。研究<sup>[4]</sup>还发现高浓度的胰岛素能诱导 DC 的免疫过程,从而参与动脉粥样硬化的形成。但是,目前尚未见高浓度胰岛素对 ACS 患者 DC 分化、成熟及免疫功能影响的报道。本实验旨在通过分离培养正常人和 ACS 患者 DC,使用高浓度胰岛素加以干预,通过测定 DC 表型 CD40、CD80 和 CD83 的表达,并检测 DC 分泌的细胞因子白细胞介素 12(Interleukin-12, IL-12)、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 10(interleukin-10, IL-10),探讨高浓度胰岛素对 ACS 患者 DC 分化、成熟及免疫功能影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 标本来源

采集正常人(正常组)和急性冠状动脉综合征患者(ACS 组)各 3 名的新鲜外周血 40 mL。研究得到丽水市中心医院伦理委员会的批准,正常人和患者均签订知情同意书。患者选自 2009 年我院住院病人。急性冠状动脉综合征诊断符合中华医学会心血管分会制定的标准,冠状动脉造影显示至少一支血管狭窄 50% 以上。所有对象均排除急慢性炎症性疾病,未用激素及免疫抑制剂。

### 1.2 主要试剂

RPMI 1640 培养基购自美国 GIBCO 公司;磷酸盐缓冲液(购自天津市 TBD 生物技术有限公司;胰岛素购自 Sigma 公司;细胞因子粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte macrophage colony-stimula-

ting factor, GM-CSF)、白细胞介素 4(Interleukin-4, IL-4)购自 PEPRO Tech 公司;单克隆抗体 CD83、CD40 单抗、CD40 二抗和 CD80 购自 BD 公司;IL-12、IL-10 和 TNF- $\alpha$  的 ELISA 法检测试剂盒购自 Biosource 公司。

### 1.3 细胞培养

采集正常人和急性冠状动脉综合征患者各 3 名的新鲜外周血 40 mL,抗凝后置于无菌试管中。用磷酸盐缓冲液将抗凝血稀释 1 倍后,轻轻加在淋巴细胞分离液面上成界面。离心后收集白膜层,即单个核细胞。加入 RPMI 1640 完全培养基培养, 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 孵箱中孵育后收集贴壁的细胞,即为单核细胞,进行台盼蓝染色。单核细胞置于六孔板中,每孔加入 RPMI 1640 完全培养基 2 mL,按 GM-CSF (100  $\mu$ g/L) IL-4 (100  $\mu$ g/L) 终浓度加入细胞因子,置 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 孵箱培养,第 3 日加液 2 mL 一次,同时补加 2 mL 相应细胞因子 GM-CSF (100  $\mu$ g/L)、IL-4 (100  $\mu$ g/L)。细胞培养方法详见文献<sup>[5]</sup>,第 5 日收集细胞,此时的细胞作为未成熟 DC, (1 500 r/分离心 5 min),调整细胞浓度  $1.0 \times 10^9$  /L,置于 24 孔板中,将正常人和 ACS 各分成 3 组,分别加入培养液 1 mL 及胰岛素 1、10 nmol/L 和 100 nmol/L 继续置 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 孵箱培养 48 h 后,收集细胞和上清液,此时的细胞作为成熟的 DC,细胞流式细胞仪检测 DC 表型,上清液 -70℃ 冰箱保存,留作 ELISA 法检测分泌的细胞因子 IL-12、IL-10 和 TNF- $\alpha$ 。

### 1.4 流式细胞仪检测树突状细胞细胞免疫表型

采用直接免疫荧光染色法,在流式细胞仪上检测分析。收集 DC,用磷酸盐缓冲液清洗 2 次,将细胞转移至流式管,用 200  $\mu$ L 的磷酸盐缓冲液重悬,调整细胞浓度  $1 \times 10^6$ ,各管分别加入 CD45-异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC) CD45-FITC, CD83-FITC, CD80-FITC, MHC II-PE, CD40 单抗各 2  $\mu$ L,各管加入 50  $\mu$ L 悬液,设立空白对照组 2  $\mu$ L,4℃ 避光孵育 20 分钟。CD40 单抗管加入 CD40 二抗 - FITC, 4℃ 避光孵育 20 分钟。用磷酸盐缓冲液洗细胞 2 次,去除未结合的抗体,最后用 500  $\mu$ L 磷酸盐缓冲液重悬。至少分析  $2 \times 10^4$  个细胞。

### 1.5 细胞因子检测

用 ELISA 法检测细胞培养上清液中 IL-12、IL-

10和 TNF- $\alpha$ 。

## 1.6 统计学分析

采用 SPSS 15.0 统计软件分析数据, 所有数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用方差分析,  $P < 0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 镜下树突状细胞的形态

细胞培养第 2 天即可观察到细胞胞质有毛刺, 以后成簇聚集成集落生长, 疏松贴壁, 呈半悬浮生长 (图 1)。第 5 天, 状态最佳, 集落逐渐增大, 之后有部分衰老坏死, 悬浮到培养基的表层。成熟树突状细胞形态见图 2。

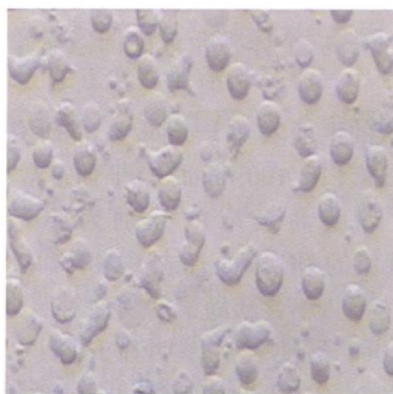


图 1 培养第 3 天的树突状细胞 ( $\times 400$ )

Figure 1. Cultured dendritic cells after three days ( $\times 400$ )

### 2.2 流式细胞术检测 DC 的表型

正常组 DC 随着胰岛素浓度升高, CD40、CD80、

CD83 的表达率随着升高 ( $P < 0.05$  表 1)。ACS 组随着胰岛素浓度升高, DC 表面 CD40、CD80、CD83 的表达率随着升高 ( $P < 0.05$  表 1)。同等胰岛素浓度下, ACS 组较对照组的 DC 表面 CD40、CD80 和 CD83 的阳性表达率升高 ( $P < 0.05$  表 1)。

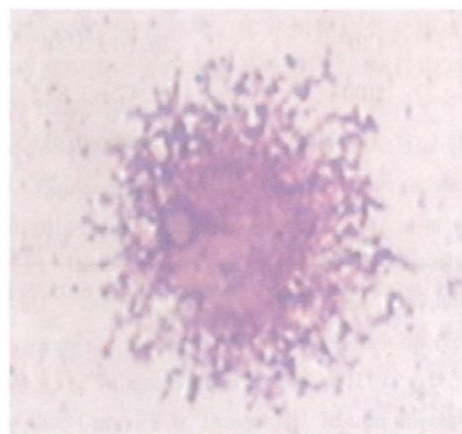


图 2 成熟的树突状细胞 ( $\times 1000$ )

Figure 2. Mature dendritic Cells ( $\times 1000$ )

### 2.3 ELISA 法检测细胞因子 IL-12、IL-10 和 TNF- $\alpha$

正常组 DC 随着胰岛素浓度升高, 细胞因子 IL-12 的浓度、TNF- $\alpha$  的浓度随之升高 ( $P < 0.05$ ), 而抑炎因子 IL-10 的浓度随之降低 ( $P < 0.05$  表 2)。ACS 组 DC 随着胰岛素浓度升高, 细胞因子 IL-12 的浓度、TNF- $\alpha$  的浓度随之升高 ( $P < 0.05$ ), 而抑炎因子 IL-10 的浓度随之降低 ( $P < 0.05$  表 2)。同等胰岛素浓度下, 培养上清液中细胞因子 IL-12、TNF- $\alpha$  的浓度升高 ( $P < 0.05$ ), 而细胞因子 IL-10 的浓度则降低 ( $P < 0.05$  表 2)。

表 1 不同浓度胰岛素对正常组及 ACS 组患者树突状细胞表面 CD40、CD80 和 CD83 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Effects of insulin of various concentrations on expression of CD40, CD80 and CD83 in dendritic cells of normal group and the acute coronarg syndrome group ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	胰岛素浓度 (mmol/L)	CD40	CD80	CD83
正常组	1	34.12% $\pm$ 2.25%	34.41% $\pm$ 9.11%	20.59% $\pm$ 1.58
	10	44.97% $\pm$ 3.69% <sup>a</sup>	44.96% $\pm$ 7.66% <sup>a</sup>	37.07% $\pm$ 3.89% <sup>a</sup>
	100	54.77% $\pm$ 4.09% <sup>ab</sup>	65.23% $\pm$ 4.01% <sup>ab</sup>	52.15% $\pm$ 4.62% <sup>ab</sup>
ACS 组	1	45.12% $\pm$ 2.25% <sup>c</sup>	46.77% $\pm$ 6.40% <sup>c</sup>	42.31% $\pm$ 3.44% <sup>c</sup>
	10	61.97% $\pm$ 6.52% <sup>ac</sup>	65.21% $\pm$ 3.47% <sup>a</sup>	66.23% $\pm$ 6.39% <sup>ac</sup>
	100	85.28% $\pm$ 6.33% <sup>abc</sup>	81.74% $\pm$ 4.68% <sup>abc</sup>	85.83% $\pm$ 5.69% <sup>abc</sup>

a 为  $P < 0.05$  与胰岛素 1 mmol/L 组比较; b 为  $P < 0.05$  与胰岛素 10 mmol/L 组比较; C 为  $P < 0.05$  与同等胰岛素浓度下正常组比较。

表 2 不同浓度胰岛素对正常组及 ACS 患者组树突状细胞细胞因子的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )Table 2 Effects of insulin of various concentrations on cytokines of IL-12 IL-10 and TNF- $\alpha$  in dendritic cells of normal group and acute coronary syndrome group ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	胰岛素浓度 (nmol/L)	IL-12( ng/L)	IL-10 ( ng/L)	TNF- $\alpha$ ( ng/L)
正常组	1	10.31 $\pm$ 0.73	13.43 $\pm$ 2.46	16.30 $\pm$ 1.81
	10	26.70 $\pm$ 3.80 <sup>a</sup>	8.92 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>	28.11 $\pm$ 3.08
	100	38.47 $\pm$ 3.87 <sup>ab</sup>	6.76 $\pm$ 1.14 <sup>ab</sup>	39.57 $\pm$ 5.29 <sup>ab</sup>
ACS组	1	14.44 $\pm$ 0.92 <sup>c</sup>	11.63 $\pm$ 2.13 <sup>c</sup>	18.92 $\pm$ 1.66 <sup>c</sup>
	10	37.04 $\pm$ 1.06 <sup>ac</sup>	7.90 $\pm$ 0.65 <sup>ac</sup>	30.59 $\pm$ 3.72 <sup>ac</sup>
	100	43.07 $\pm$ 5.74 <sup>ab</sup>	5.92 $\pm$ 1.06 <sup>ab</sup>	41.08 $\pm$ 5.33 <sup>abc</sup>

a为  $P < 0.05$  与胰岛素 1 nmol/L组比较; b为  $P < 0.05$  与胰岛素 10 nmol/L组比较; c为  $P < 0.05$  与同等胰岛素浓度下正常组比较。

### 3 讨 论

DC广泛分布于外周淋巴组织,最大限度地捕捉抗原,是启动、调控和维持机体免疫的重要环节,决定着免疫反应的最终走向。人外周循环存在着两种不同的DC亚型,即髓样DC和淋巴样DC。DC从前体到不成熟再到成熟的发育过程中,其形态和表型也不断发生变化,这使得鉴定DC非常困难。我们认为要结合其形态、表型及功能三方面来鉴定DC。首先,每天在倒置显微镜下观察细胞的形态,典型的DC细胞具有树突状突起外型。其次,从表型上鉴定,DC表达丰富的免疫分子,特别是高表达MHC-II分子、CD1a共刺激分子(CD80、CD86、CD40)和细胞间黏附分子。目前国内外鉴定DC通常采用CD1a和CD83并以后者作为成熟的标记,但是目前尚未找到一种适合所有DC特异性的表面标志物。本实验通过联合检测CD40、CD80和CD83的表达,能充分说明成熟DC的免疫状况。再次,从细胞功能上鉴定,成熟DC可以产生许多促炎因子,我们选择检测炎症因子IL-12和TNF- $\alpha$ 以及抑炎因子IL-10的分泌。

胰岛素抵抗及高胰岛素血症是动脉粥样硬化发生的重要影响因素,但其机制尚不明确。很多研究发现胰岛素抵抗引起的高胰岛素血症是动脉粥样硬化的独立危险因素<sup>[6-7]</sup>,并且发现高浓度胰岛素促进平滑肌细胞的增生及迁移<sup>[8]</sup>。蔡琳等<sup>[9]</sup>对97例冠状动脉造影的患者进行血胰岛素抵抗测定,同时进行冠状动脉狭窄评定,结果显示胰岛素抵抗与冠状动脉病变严重程度呈正相关。张月安等<sup>[10]</sup>对近1000自然人群进行

研究,结果显示:胰岛素抵抗与心血管危险因素个体聚集呈剂量-反应关系,随着胰岛素水平的升高,个体发生危险因素聚集的风险性逐渐升高。

胰岛素的生理浓度1 nmol/L,本研究予以超生理浓度胰岛素(10、100 nmol/L)干预正常人,ACS患者DC,发现胰岛素浓度分别为10 nmol/L和100 nmol/L组的DC表面标志CD40、CD80和CD83的阳性表达率较不含胰岛素的阴性对照组的CD40、CD80和CD83阳性表达率明显升高( $P < 0.05$ ),CD40、CD80和CD83等共刺激分子是激活T淋巴细胞的基础,三者的明显升高表明高浓度胰岛素可以促进DC的分化成熟,进而发挥其激活T细胞的免疫功能。本研究显示,培养的上清液中细胞因子IL-12、TNF- $\alpha$ 的浓度较阴性对照组的升高显著( $P < 0.05$ ),提示DC本身可释放炎症因子促进并放大炎症免疫反应。然而,高浓度胰岛素组DC分泌IL-10的浓度较阴性对照组显著降低( $P < 0.05$ )。IL-10对DC的成熟和功能产生负性作用<sup>[11]</sup>,是一种抑炎因子,IL-10的降低表明成熟的DC分泌抑炎因子减少。以上结果表明:高浓度胰岛素可以诱导体外培养的外周单核细胞源DC的免疫成熟,对未知抗原或激活物的呈递,使得T淋巴细胞增殖,导致进一步炎症反应。这可能是高浓度胰岛素血症促进动脉粥样硬化的免疫机制。

本实验还发现,胰岛素对DC表面标志物CD40、CD80和CD83的表达、细胞因子IL-12和TNF- $\alpha$ 分泌的促进作用随着胰岛素浓度的升高而升高( $P < 0.05$ );而DC分泌的IL-10则随着胰岛素浓度的升高而下降( $P < 0.05$ )。说明越高浓度的胰岛素水平越能激活DC细胞的免疫功能,进而促进炎



症免疫反应过程。

ACS为一炎症相关性疾病,但是,其炎症反应的激活机制尚不清楚。DC作为体内功能最强的抗原递呈细胞,在启动与调节T淋巴细胞免疫反应中起关键性作用。所以,明确ACS时DC的功能状态有助于阐明ACS的炎症机制。目前DC在ACS时的具体功能状态报道较少。有研究发现,与正常对照组相比,不稳定型心绞痛患者As斑块内DC细胞表面共刺激分子CD86表达上调,其激活T淋巴细胞增殖并分泌细胞因子的功能亦显著增强<sup>[12]</sup>;在ACS患者As斑块中,DC数量显著增加,并高表达HLA-DR,簇集在As斑块的易破裂部位与T及NK细胞作用<sup>[3]</sup>,而As支架植入术后再次狭窄斑块中DC亦显著多于初始As斑块内DC<sup>[13]</sup>。本组资料显示,ACS组的共刺激分子CD40、CD80和CD83表达增加( $P < 0.05$ );培养的上清液中细胞因子IL-12、TNF- $\alpha$ 的浓度较正常对照组升高( $P < 0.05$ );检测IL-10的浓度较阴性对照组降低( $P < 0.05$ )。以上结果表明:ACS患者的DC功能亢进,处于较强的炎症免疫反应过程之中。DC功能亢进可能是ACS发病的原因之一。

作为体内功能最强的抗原递呈细胞,DC介导的免疫机制参与了ACS的发病,而高浓度胰岛素对DC功能的促进作用可能是ACS发病的机制之一。但高浓度胰岛素在体内状况下对DC的影响及其机制等尚需深入研究。

#### [参考文献]

[1] Hashimoto K, Ikewaki K, Yagi H, et al. Glucose intolerance is common in Japanese patients with acute coronary syndrome who were not previously diagnosed with diabetes [J]. *Diabetes Care* 2005, 28(5): 1182-1186.

[2] Bobryshev YV, Lord RS. Ultrastructural recognition of cells with dendritic cell morphology in human aortic intima. Contacting interactions of vascular dendritic cells in atherosclerotic and athero-prone areas of the normal aorta [J]. *Arch Histol Cytol* 1995, 58(3): 307-322.

[3] Yilmaz A, Lochner M, Traeg F, et al. Emergence of dendritic cells in rupture-prone regions of vulnerable carotid plaques [J]. *Atherosclerosis* 2004, 176(1): 101-110.

[4] FookK, Cooper J, Deaner A, et al. A single serum glucose measurement predicts adverse outcomes across the whole range of acute coronary syndromes [J]. *Heart* 2003, 89(5): 512-516.

[5] 叶双樱,陈礼平,武蓉珍.体外诱导培养健康成人外周血单核细胞源树突状细胞及鉴定 [J]. *浙江中西医结合杂志*. 2009, 19(12): 740-742.

[6] Kmszehnicka-Kwiatkowska O, Surdacki A, Goklsztajn P, et al. Relationship between hyperinsulinemia and angiographically defined coronary atherosclerosis in non-diabetic men [J]. *Diabetes Metab* 2002, 28(4 Pt 1): 305-309.

[7] Muir M J, Bots ML, Bilo H J, et al. High cumulative insulin exposure: a risk factor of atherosclerosis in type 1 diabetes? [J]. *Atherosclerosis* 2005, 181(1): 185-192.

[8] Wang CC, Gurevich I, Draznin B. Insulin affects vascular smooth muscle cell phenotype and migration via distinct signaling pathway [J]. *Diabetes* 2003, 52(10): 2562-2569.

[9] 蔡琳,刘汉雄,燕纯伯,等.胰岛素抵抗与冠状动脉狭窄严重程度的关系 [J]. *中华心血管病杂志*, 2001, 29(9): 538-541.

[10] 张月安,武阳丰,李莹,等.胰岛素抵抗与心血管病危险因素个体聚集性的剂量-反应关系 [J]. *中华心血管病杂志*, 2002, 30(5): 294-297.

[11] Allavena P, Pileri T, Longoni D, et al. IL-10 prevents the differentiation of monocytes to dendritic cells but promotes their maturation to macrophage [J]. *Eur J Immunol* 1998, 28(1): 359-369.

[12] Ranjit S, Dazhu L, Zeng Qutang, et al. Differentiation of dendritic cells in monocyte cultures isolated from patients with unstable angina [J]. *Int J Cardiol* 2004, 97: 551-555.

[13] Skowasch D, Jabs A, Andrie R, et al. Presence of bone-marrow- and neural-crest-derived cells in intimal hyperplasia at the time of clinical instant restenosis [J]. *Cardiovasc Res* 2003, 60(3): 684-691.

(此文编辑 李小玲)