

负向调控调节性 T 细胞对小鼠动脉粥样硬化形成的影响

王治校, 周建华, 毛 山, 詹中群, 何朝荣, 王崇全

(湖北医药学院附属医院 湖北省十堰市太和医院心内科, 湖北省十堰市 442000)

[关键词] 天然调节性 T 细胞; 动脉粥样硬化; FOXP3-sRNA 慢病毒载体

[摘要] 目的 通过干扰 FOXP3 基因来研究负向调控天然调节性 T 细胞对 ApoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化的影响。方法 构建 FOXP3-sRNA 慢病毒载体和获取 Foxp3^{high+} CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞分别通过尾静脉注入不同组小鼠体内; 利用流式细胞仪检测小鼠体内 CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞数目; 利用 ELISA 法检测各组脾细胞炎症因子浓度; 取小鼠升主动脉动脉行病理分析其粥样斑块大小。结果 注入 FOXP3-sRNA 慢病毒载体的小鼠 CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞数目减少, 动脉粥样斑块面积显著增大。而注入 Foxp3^{high+} + CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞则相反, 小鼠 CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞数目增加, 动脉粥样斑块面积减小。结论 负向调控天然调节性 T 细胞能促进动脉粥样硬化的形成。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Roles of Naturally Regulatory T Cells Regulated Negatively in Experimental Atherosclerosis of ApoE^{-/-} Mice

WANG Zhi-Xiao, ZHOU Jian-Hua, MAO Shang, ZAN Zhong-Qun, HE Chao-Rong and WANG Cong-Quan

(Taishan Hospital, Hubei Medical University, Shiyan, Hubei 44200, China)

[KEY WORDS] Naturally Regulatory T Cells Atherosclerosis sRNA

[ABSTRACT] **Aim** The aim of this study was to examine the effect of naturally regulatory T cells on atherosclerosis plaque in apolipoprotein (apo) E^{-/-} mice through negative regulating FOXP3 gene. **Methods** Lentivirus mediated (sRNA) was used and Foxp3^{high+} CD4⁺ CD25⁺ Treg cells adoptive transfer assays in high fat diet ApoE^{-/-} mice were done. Its number was identified by FACS. Inflammatory cytokines were determined by ELISA and the area of atherosclerosis plaque was analyzed. **Result** We found that the number and function of Foxp3^{high+} CD4⁺ CD25⁺ Treg cells in mice injected with Foxp3^{high+} CD4⁺ CD25⁺ Treg cells was significantly high compared with those of mice injected with FOXP3-sRNA lentivirus. **Conclusion** Naturally regulatory T cells regulated negatively can promote significantly the progression of atherosclerosis plaque in ApoE^{-/-} mice.

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 是动脉血管壁内膜的一种慢性炎症性疾病, 其发生发展与免疫炎症反应关系密切, 有研究认为 CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞 (regulatory T cell, Treg) 能抑制 As 中的免疫炎症反应^[1,2]。而 Treg 细胞是体内一群抑制功能强大的 T 细胞亚群, 在维持自身免疫和免疫耐受中发挥重要作用。许多研究表明自身免疫性疾病和 As 中 Tregs 数目下降^[3,4], 而在肿瘤患者循环血中 Treg 细胞数量增加^[5]。FOXP3 属于 Fox 转录因子家族的一员, 作为 Treg 细胞的特异性转录因子和关键调控基因, 对该细胞分化发育和功能维持起很重要作用,

人们认为 FOXP3 可能是 Treg 细胞的一个特异性标志。因此, 如能调控 FOXP3 转录水平, 就可以调控 Treg 细胞的数目和功能。目前通过 FOXP3 基因转染上调 Treg 细胞来研究机体免疫功能的研究较多, 但通过负向调控 FOXP3 基因来研究 Treg 细胞以及对相关的免疫性疾病发生发展的研究甚少, 国内外尚未见报道。本实验通过构建 FOXP3-sRNA 慢病毒载体和过继性转移 Foxp3^{high+} CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞, 从负向调控机制来研究调节性 T 细胞对小鼠 As 形成的影响, 为 As 和其它免疫性疾病炎症机制的研究和干预提供新视角。

[收稿日期] 2010-10-12

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (C03030201) 资助

[作者简介] 王治校, 硕士, 主治医师, 主要从事冠心病基础研究, Email 为 dywzx@sina.com。周建华, 副主任医师, 主要从事心电生理研究。毛山, 主治医师, 主要从事冠状动脉介入研究, Email 为 maomao850@sina.com。

1 材料与方法

1.1 材料

ApoE^{-/-} C57BL/6J小鼠购自北京维通利华公司, PEGFP-C1载体购于 Clontech公司。克隆用大肠杆菌 DH-5 α 、293T细胞和慢病毒载体系统购自深圳晶美生物工程有限公司。Xho I Hpa I Hind III, Kpn I T4 DNA ligase 购于 NEB 公司。Lipofectamine2000购于 Invitrogen公司。兔抗鼠 FOXP3单克隆抗体和 ELISA 试剂盒购于 ABCAM 公司。ECL-PLUS试剂盒购于 Amersham 公司。PE 标记 antiCD25, FITC 标记 antiCD4 和 Foxp3⁺ CD4⁺ CD25⁺ Treg细胞免疫磁珠(MACS)分选试剂盒购自德国美天旎生物技术公司。上海枫岭生物技术有限公司 FTC-200Q 德国离心机 HERAERUS。

1.2 小鼠分组及喂养

32只 8周龄雄性 C57BL/6J ApoE^{-/-}小鼠随机分成 4组, 每组 8只, 分别为阴性对照组(negative, Neg)、阳性对照组(positive, Pos)、FOXP3-sRNA慢病毒干扰组(sRNA)和 Foxp3⁺ CD4⁺ CD25⁺ Treg细胞输注组(Treg)。实验小鼠均给予高脂饮食, 其成分主要包括 3%胆固醇、15.75%脂肪、1%脱氧胆酸盐、1%丙基硫氧嘧啶, 存放于华中科技大学同济医学院动物实验中心喂养 12周。另外阳性对照组、sRNA组和 Treg组分别从尾静脉注射 FOXP3-sLUC慢病毒(对照病毒)、FOXP3-sRNA慢病毒和 Foxp3^{high} CD4⁺ CD25⁺ T细胞。

1.3 FOXP3-sRNA慢病毒载体的构建

根据 GenBank 提供的 FOXP3基因 cDNA 序列, 所选择的靶序列通过基因 Blast分析以排除 sRNA非特异性的抑制其基因的可能, 挑选长为 19 bp的 4段 FOXP3特异性寡核苷酸, 按照 RNA 干扰序列设计原则, 设计 4条 RNA 干扰靶点序列和一条对照序列, 分别命名为 sFoxp3-1, sFoxp3-2, sFoxp3-3, sFoxp3-4和 sLUC。合成含干扰序列的双链 DNA oligo, 其两端含 Hpa I及 Xho I酶切位点粘端, 直接连入酶切后的 RNA 干扰载体上。将合成互补的两条寡核苷酸各取 5 μ L(1 μ g/ μ L), 加入 20 μ L的退火缓冲液, 加双蒸水 70 μ L至总体积为 100 μ L, 90 $^{\circ}$ C孵育 4 min, 70 $^{\circ}$ C孵育 10 min, 缓慢冷却至室温, 得到退火产物, 12% PAEG 非变性 PAGE凝胶检测双链形成效率。使用 Hpa I和 Xho I进行酶切 pGCL-GFP载体使其线性化。后加入 0.5 mol/L EDTA (pH8.0)使终浓度达 10 mmol/L, 终止反应。将上

述混合的反应物置于 37 $^{\circ}$ C, 1 h。先构建 vshRNA载体。将双链 DNA oligo与 vshRNA载体连接, 于 4 $^{\circ}$ C 12 h连接反应制备克隆连接液, 转化感受态细胞 DH-5 α , 铺于氨苄青霉素抗性的培养皿, 37 $^{\circ}$ C过夜, 挑取重组质粒菌落进行鉴定。选择敲减效应高的靶点, 本实验设计的四个靶点中 sFoxp3-2敲减效应最高达 95%, 因此选其行病毒包装。在 293T细胞中测定病毒滴度为 2×10^{11} TU/L。再感染靶细胞 Foxp3⁺ CD4⁺ CD25⁺ Treg细胞。利用 Western blot方法验证其对该细胞 Foxp3蛋白的敲减效应。结果显示慢病毒介导基因转移 CD4⁺ CD25⁺ Treg中的高效性和持久性并对靶细胞 CD4⁺ CD25⁺ Treg有显著敲减效应。

1.4 免疫磁珠(MASC)分选 Foxp3^{high} CD4⁺ CD25⁺ Treg细胞

常规制备小鼠脾细胞悬液, 检测小鼠脾脏 CD4⁺ CD25⁺ T细胞比例。取 5×10^6 个脾细胞, 加入丝裂霉素(MMC), 调整丝裂霉素终质量浓度为 30 mg/L, 37 $^{\circ}$ C水浴 30 min后洗涤 3次, 调整细胞数至 1×10^{10} 个/L; 调整余细胞数至 1×10^{10} 个/L。离心脾细胞悬液, 弃上清液, 在离心管内加入足量淋巴细胞分离液, 反复吹打悬浮沉淀细胞, 使红细胞充分溶解, 再次离心。弃上清液, 磁珠分离缓冲液(含 5 g/L BSA, 2 mol/L EDTA 的 PBS)洗涤 3次后计数。弃上清液, 悬浮细胞, 加入适量的 Biotin标记的抗体混合物(包括生物素标记的抗小鼠 CD8, CD14, CD16, CD19, CD36, CD56, CD123, TCR 以及血型糖蛋白 A), 混匀, 4 $^{\circ}$ C避光孵育 10 min。随后加入抗 Biotin磁珠以及 PE标记的抗 CD25抗体, 混匀 4 $^{\circ}$ C避光孵育 15 min, 洗涤 1次后悬浮细胞, 用 LD柱(Midi分离器)分离出没有标记的 CD4⁺ T细胞群。悬浮所得细胞, 加入抗 PE磁珠, 混匀, 4 $^{\circ}$ C避光孵育 15 min后洗涤细胞, 用 MS柱(Mini分离器)分离出 CD4⁺ CD25⁻ T细胞和 CD4⁺ CD25⁺ T细胞。取 CD4⁺ CD25⁺ T细胞悬液加入 FITC-Foxp3抗体, 利用荧光激活细胞分选术(FACS)测定其纯度 > 90%。

1.5 体内过继性转移研究设计

为选择合适的细胞浓度, 先进行预实验: 分别用 10^4 、 10^5 、 10^6 调节性 T细胞通过尾静脉注入小鼠, 每4周 1次, 共 12周后处死小鼠。取小鼠主动脉根部血管进行斑块分析, 结果注射 10^4 、 10^5 Treg细胞组斑块面积无明显变化; 而给与 10^6 Treg细胞组斑块面积减小 30%。因此用 10^6 Treg细胞进行后续实验, 每组 8只小鼠确保在分析斑块时有统计学意义。实验小鼠中阳性对照组、sRNA组和 Treg组分别通过

尾静脉注入 300 μ L control 慢病毒、300 μ L sRNA 慢病毒和 106F Foxp3^{hi} CD4^+ CD25^+ T 细胞 450 μ L。每 3 周注射一次相同剂量,共 12 周。处死小鼠取主动脉根部血管和主动脉窦进行斑块面积分析及免疫组织化学。小鼠脾脏、斑块和外周血用于分析 CD4^+ CD25^+ T 细胞和 Foxp3^+ CD25^+ T 细胞数目。

1.6 流式细胞仪检测 CD4^+ CD25^+ T 细胞和 Foxp3^+ CD25^+ T 细胞数目

利用 FACS 检测各组小鼠脾脏、淋巴结和胸腺中 CD4^+ CD25^+ T 细胞和 Foxp3^+ CD25^+ T 细胞占 CD4 细胞的比例。

1.7 混合淋巴细胞反应

取同系 $\text{ApoE}^{-/-}$ 鼠脾脏匀浆过滤后,去除红细胞,培养 2~3 h 后取悬浮细胞,尼龙棉柱分离得 T 淋巴细胞作为反应细胞。调整 T 细胞为 1×10^9 个/L。

1.8 细胞增殖试验检测 Treg 功能

对照组、sRNA 组和 Treg 细胞注射组分选的 CD4^+ CD25^+ T 细胞作为效应性 T 细胞,调整浓度为 5×10^4 个/L,并均加入 HSP60 作为抗原 0.5 μ g (5 mg/L); 4 组分别加入不同比例从各组提出组的 CD4^+ CD25^+ T 细胞和 (Treg 细胞与 Te 细胞比例设为 0:1、1:1、1:2 和 1:4); 去除红细胞的同系 $\text{ApoE}^{-/-}$ 鼠脾细胞作为抗原提呈细胞 (APC),调整浓度为 2×10^4 个/L,于 96 孔培养板中 37°C , 5% CO_2 孵育。5 天后收集上清并检测 IFN- γ 、TGF- β 和 IL-10 的浓度 (ELISA 法)。再于每孔中加入 MTT 20 μ L,混匀, 37°C , 5% CO_2 孵育 4 h 再加入 DMSO 溶解后,在 560 nm 波长测吸光度值后计算其 A 值。

1.9 主动脉根部斑块面积分析

8 周龄 C57BL/6 $\text{ApoE}^{-/-}$ 喂养 12 周后,于 20 周龄时 10% 乌拉坦麻醉断颈处死小鼠,立即取出主动脉窦至升主动脉部分,行冰冻切片,间隔 10 μ m,每张切片厚度 8 μ m。HE 染色:切片至水,放入苏木素水溶液中染色数分钟;酸水及氨水中分色,各数分钟;流水冲洗数分钟后入蒸馏水片刻;后入 70% 和 90% 酒精中脱水各 10 min,再入酒精伊红染色液染色 2~3 min,脱水透明;中性树脂胶封固。内弹性膜内层组织定为病变面积,在 40 倍显微镜下观察斑块形态;JVC 公司 Tonx-432 图像分析系统计算斑块与官腔面积、比例及管壁厚度。取每只小鼠 8 张连续切片面积均值作为该小鼠斑块面积值。

1.10 统计分析

使用 SPSS 12.0 统计软件统计分析。数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组比较用 t 检验,多组间比较采用单因

素方差分析。 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 各组 CD4^+ CD25^+ T 细胞和 Foxp3^+ CD25^+ T 细胞数目比较

sRNA 组脾细胞 CD4^+ CD25^+ / CD4 较阴性对照组、阳性对照组和 Treg 组显著降低 ($P < 0.05$ 表 1)。主动脉和腹股沟区淋巴结中 CD4^+ CD25^+ / CD4 sRNA 组较阴性对照组、阳性对照组和 Treg 组减少 ($P < 0.05$)。Foxp3 $^+$ CD25^+ T 细胞,在脾脏组织中其数目 sRNA 组较阴性对照组、阳性对照组和 Treg 组减少 ($P < 0.05$ 表 1)。Treg 组中各组织 CD4^+ CD25^+ / CD4 和 Foxp3 $^+$ CD25^+ T 细胞数目最高 ($P < 0.05$)。而阳性对照组与阴性对照组比较差异无显著性。

表 1 各组小鼠脾细胞中 CD4^+ CD25^+ / CD4 % 和 Foxp3 $^+$ CD25^+ / CD4 % 比较

Table 1 spleen cells of mice in each group in the CD4^+ CD25^+ / CD4 and Foxp3 $^+$ CD25^+ / CD4 compared

分 组	n	CD4^+ CD25^+ / CD4	Foxp3 $^+$ CD25^+ / CD4
Neg	8	17.4% \pm 1.6%	7.2% \pm 0.5%
Pos	8	15.8% \pm 1.3%	6.8% \pm 0.49%
sRNA	8	11.9% \pm 1.0% ^a	5.3% \pm 0.36% ^a
Treg	8	33.3% \pm 2.8% ^b	12.2% \pm 0.7% ^b

a 为 $P < 0.05$ b 为 $P < 0.01$ 与其它组比较。

2.2 细胞增殖试验测吸光度值

sRNA 组中 Treg/Te 为 1:1 和 1:2 时的 A 值较其它比例组的 A 值大 ($P < 0.05$), sRNA 组中 Treg/Te 为 1:1 和 1:2 时的 A 值较其它组的 A 值大 ($P < 0.05$), Treg 组 A 值最低 ($P < 0.001$)。阴性对照组和阳性比较 A 值差异无显著性 ($P > 0.05$ 表 2)。

表 2 各组细胞增殖吸光度值 A 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of value A in different groups in lymphocyte proliferation assay ($\bar{x} \pm s$)

分 组	n	Treg/Te			
		1:1	1:2	1:3	1:4
Neg	8	3.8 \pm 1.1	3.9 \pm 1.0	3.3 \pm 1.2	3.2 \pm 1.3
Pos	8	4.0 \pm 1.4	3.8 \pm 1.0	3.5 \pm 1.2	3.4 \pm 1.3
sRNA	8	8.8 \pm 1.6 ^{ac}	8.9 \pm 1.4 ^{ac}	4.3 \pm 1.2	4.2 \pm 1.0
Treg	8	1.2 \pm 0.4 ^b	2.8 \pm 0.8 ^b	6.2 \pm 0.9	6.6 \pm 1.8

a 为 $P < 0.05$ b 为 $P < 0.001$ 与其他组比较; c 为 $P < 0.05$ 与同组其它比例比较。

2.3 上清液细胞因子

Treg组上清液中 TGF- β 和 IL-10浓度显著高于对照组和 sRNA 组; 给予 FOXP3-RNA i慢病毒敲除 FOXP3表达后 Treg细胞功能减弱分泌抑炎因子的功能减弱, 因此 sRNA 组中 TGF- β 和 IL-10浓度显著降低。而促炎因子 IFN- γ 分泌状况相反, 输入 Foxp3⁺ CD25⁺ T细胞后脾细胞分泌 IFN- γ 的能力显著低于对照组。而敲除 FOXP3表达后脾细胞分泌 IFN- γ 显著增强 (表 3)。

表 3 上清中各组脾细胞分泌细胞因子浓度 (ng/L)

Table 3 Cytokine levels in supernatant of splenocyte (ng/L)

分 组	n	IFN- γ	TGF- β	IL-10
Neg	8	84.6 \pm 28.4	71.5 \pm 22.4	113.7 \pm 18.6
Pos	8	85.6 \pm 28.6	74.5 \pm 24.4	108.7 \pm 19.6 ^c
sRNA	8	193.4 \pm 31.9 ^a	31.5 \pm 8.4 ^a	64.7 \pm 12.6 ^a
Treg	8	32.6 \pm 16.4 ^b	236.4 \pm 31.7 ^b	194.5 \pm 38.5 ^b

a为 $P < 0.05$ b为 $P < 0.001$, 与其他组比较。

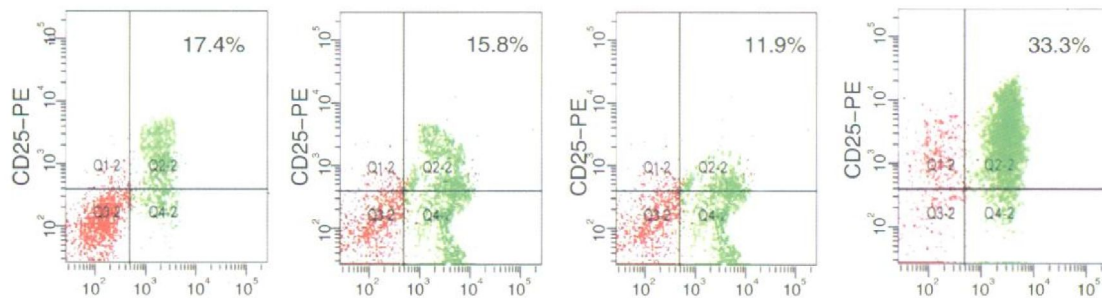


图 1 各组小鼠脾脏中的 CD4⁺ CD25⁺ T细胞流式图

A 为 Neg组, B 为 Pos组, C 为 sRNA 组, D 为 Treg组。

Figure 1. Representative FACS sheets of CD4⁺ CD25⁺ Treg in splenocyte of Neg Pos sRNA and Treg

2.4 动脉粥样硬化斑块面积比较

sRNA 组小鼠斑块面积、斑块面积与血管径比值最高 ($P < 0.05$), 调节性 T 细胞输注组其斑块面

积、斑块面积与血管径比值最小 ($P < 0.05$)。而阴性对照组其值与阳性对照组比较无统计学意义 ($P > 0.05$, 图 2)。

表 4 各组小鼠斑块面积、管腔面积及两者比值

Table 4 The area of plaque and caliber among groups of mice and the ratio between plaque and caliber in every group

分 组	n	plaque (μm^2)	caliber (μm^2)	Ratio (plaque/caliber)
Neg	8	20605.52 \pm 5920.42	65005.36 \pm 14177.02	36.82% \pm 4.82%
Pos	8	25044.32 \pm 4920.42	68595.36 \pm 15177.02	34.82% \pm 4.02%
sRNA	8	38396.35 \pm 12473.88 ^a	73489.56 \pm 15965.85 ^a	58.81% \pm 9.51% ^a
Treg	8	15292.78 \pm 3309.10 ^a	67956.89 \pm 14909.02 ^a	22.66% \pm 3.06% ^a

a为 $P < 0.05$ b为 $P < 0.001$, 与其它组比较。

3 讨 论

As是动脉血管壁的一种慢性疾病, 其发生发展与免疫炎症反应密切相关^[1], 近年来许多研究认为其炎症的发生与 T 淋巴细胞密切相关。一些研究表明效应性 T 细胞能识别修饰的自身抗原如 ox-LDL、HSP60等, 这些抗原通过抗原呈递细胞如巨噬细胞和树突状细胞呈递给效应性 T 细胞, 从而导致动脉血管壁炎性细胞聚集引起细胞因子、白介素和蛋白激酶等炎性因子分泌。进而引起动脉血管壁单核细胞核和淋巴细胞的聚集, 因而促使 As 斑块以及其并发症的发生。但调节性 T 细胞在 As 中的作用

则相反^[2]。

CD4⁺ CD25⁺ Treg细胞是机体的专职和功能强大的抑制性 T 细胞, 在机体免疫耐受和免疫稳态维持中起重要作用。对小鼠过继性转移淋巴细胞能加速动脉粥样硬化^[6]; 调节性 T 细胞分泌的细胞因子如 IL-10等能延缓动脉粥样硬化的形成; 通过口服 hsp60 诱导产生抗原特异性调节性 T 细胞能抑制动脉粥样斑块的形成^[7]; 而且本实验前期研究显示: 向小鼠体内过继转输抗原特异性调节性 T 细胞可抑制 As 发展^[8]; 这些研究直接或间接说明调节性 T 细胞能抑制粥样硬化时的炎症反应, 具有抗 As 的作用。ACS 患者循环 Treg 数量 (Treg 占循环 CD4⁺ T 细胞的比例为 2.5%) 显著低于正常人 (11.4%), 同

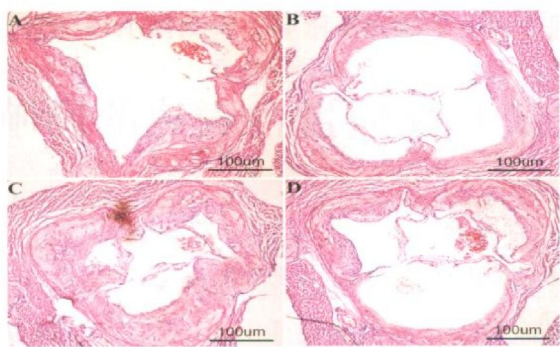


图 2 各组斑块 HE 染色图 (×40) A、B、C、D 分别代表 Neg 组、Pos 组、sRNA 组和 Treg 组。

Figure 2. Representative photomicrographs from aortic sinus sections of Neg (A), Pos (B), sRNA (C) and Treg (D) transferred ApoE-KO mice stained with Haematoxylin-Eosin (×40).

时本实验发现 ACS 者 Treg 存在明显的功能的障碍, 即抑制效应 T 细胞增值的能力显著下降^[3-4]。

调节性 T 细胞在胸腺中发育、成熟, 其表型有 $CD4^+ CD5^+ Foxp3^+$ 和 $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$ 两种。Foxp3 属于 Fox 转录因子家族的一员, 是迄今所发现的 Treg 的最关键的和特异性的转录因子, Foxp3 决定并代表着 Treg 的发育和免疫调节功能。目前认为: 至少在小鼠, 转录因子 FOXP3 为 $CD4^+ CD25^+$ Treg 细胞的较特异性标志。同样是动脉粥样硬化患者, 不同个体其炎症反应强度相差甚远, 有的斑块一直稳定, 而有些斑块开始就不稳定, 提示 AS 患者存在内源性免疫调节机制紊乱, 目前通过上调 Treg 细胞研究其与 AS 炎症关系的实验较多, 而负向调控 Treg 细胞研究 AS 的甚少。本实验通过构建 FOXP3-sRNA 慢病毒载体和分选 $Foxp3^+ CD4^+ CD25^+$ Treg 细胞, 体内转输后表明 Foxp3 与 $CD4^+ CD25^+$ Treg 细胞的数目和功能密切相关。调节性 T 细胞数目和功能缺陷时, 免疫炎症因子如促炎因子如 IFN- γ 分泌增加, 而抑炎因子如 TGF- β 、IL-10 等水平下降, 因此调节性 T 细胞可能通过抑制免疫炎症反应干预 AS 的发生发展。

本实验通过利用 FOXP3-sRNA 慢病毒载体负向调控 Foxp3 的功能和 $Foxp3^+ CD4^+ CD25^+$ Treg 细胞共同研究其与 AS 的关系。研究表明天然调节性 T 细胞可能通过调控体内炎症反应而具有抗动脉粥样硬化的作用。这点可望为 AS 和其它免疫性疾病的炎症机制提供了新的理论基础和干预手段。

[参考文献]

- [1] Hansson GK, Robertson AK, Söderberg-Naucler C, et al. Inflammation and atherosclerosis [J]. *Annu Rev Pathol* 2006, 1: 297-329.
- [2] Adimor David, Planer Galia, Luboshits et al. Role of Naturally Occurring $CD4^+ CD25^+$ Regulatory T Cells in Experimental Atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007, 27(4): 893-900.
- [3] 李大主, 胡英锋, 杨克平, 等. 急性冠状动脉综合征患者调节性 T 细胞变化与炎症反应的关系 [J]. *中国循环杂志*, 2006, 21(5): 337-339.
- [4] Hu Z, Li D, Hu Y, et al. Changes of $CD4^+ CD25^+$ regulatory T Cells in patients with acute coronary syndrome and the effect of atorvastatin [J]. *J Huazhong University of science and technology Med Sci* 2007, 27(5): 524-527.
- [5] Yasunori Ishibashi, Shigebumi Tanaka, Kohei Tajima et al. Expression of Foxp3 in non-small cell lung cancer patients significantly higher in tumor tissues than in normal tissues especially in tumors smaller than 30mm [J]. *Oncology reports* [R]. Japan, 2006, 15: 315-319.
- [6] George J Harats D, Gilburd B, et al. Adoptive transfer of $\beta 2$ -glycoprotein I reactive lymphocytes promotes early atherosclerosis in LDL-receptor deficient mice [J]. *Circulation* 2000, 102: 822-827.
- [7] 王治校, 陈彬, 王崇全, 等. 热休克蛋白 60 口服耐受诱导特异性调节 T 细胞诱导及其对动脉粥样硬化斑块的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009, 17(108): 883-884.
- [8] Yang K, Li D, Luo M, et al. Generation of HSP60-Specific Regulatory T cells and Effect on Atherosclerosis [J]. *Cell Immunol* 2006, 2(43): 90-95.

(此文编辑 李小玲)