

PI3K/Akt 在肺炎衣原体感染诱导血管平滑肌细胞迁移中的作用

张腾腾¹, 张利军¹, 王蓓蓓¹, 李宪奎², 张俊霞¹, 魏俊燕¹, 张丽君¹

(天津医科大学基础医学院 1. 病理生理学教研室, 2. 分子生物化学教研室, 天津市 300070)

[关键词] PI3K/Akt; 肺炎衣原体; 血管平滑肌细胞; 细胞迁移

[摘要] **目的** 研究 PI3K/Akt 在肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*, *C. pn*) 感染诱导血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 迁移中的作用。**方法** 利用透射电镜鉴定 *C. pn* 成功感染 VSMC; 采用 PI3K 特异性抑制剂 LY294002 预处理 VSMC 后, wound-healing 实验和 Transwell 实验分别观察 VSMC 迁移能力的改变; Western blot 实验检测 VSMC 内 Akt 的磷酸化水平。**结果** 透射电镜可观察到感染的 VSMC 内出现典型的 *C. pn* 原体; *C. pn* 感染 VSMC 24 h 后, 细胞迁移实验结果显示 *C. pn* 感染组 VSMC 的迁移能力增强且明显高于正常对照组 ($P < 0.05$); Western blot 结果显示 *C. pn* 感染组 Akt 的磷酸化表达水平明显上调且高于正常对照组 ($P < 0.05$); PI3K 特异性抑制剂 LY294002 可有效抑制 *C. pn* 感染诱导的 VSMC 迁移及 Akt 的磷酸化。**结论** *C. pn* 感染通过激活 PI3K/Akt 促进 VSMC 迁移。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Role of PI3K/Akt in Chlamydia Pneumoniae Infection-induced Vascular Smooth Muscle Cell Migration

ZHANG Teng-Teng¹, ZHANG Li-Jun¹, WANG Bei-Bei¹, LI Xian-Kui², ZHANG Jun-Xia¹, WEI Jun-Yan¹, and ZHANG Li-Jun¹

(1. Department of Pathophysiology, 2. Department of Biochemistry and Molecule Biology, Basic Medical College, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

[KEY WORDS] PI3K/Akt; Chlamydia Pneumoniae; Vascular Smooth Muscle Cell; Cell Migration

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the role of PI3K/Akt in vascular smooth muscle cell (VSMC) migration induced by Chlamydia pneumoniae (*C. pn*) infection. **Methods** The successful infection of rat VSMCs with *C. pn* was identified by transmission electron microscope; After VSMCs were pretreated with the specific PI3K inhibitor LY294002, wound-healing assay and Transwell assay were performed to observe the changes in the migration ability of VSMCs; The phosphorylation level of Akt was detected by Western blot. **Results** The typical *C. pn* elementary bodies were observed in the infected VSMCs under the transmission electron microscope; The migration ability of VSMCs infected with *C. pn* was enhanced and significantly higher than that of control group at 24 h postinfection in the cell migration assay ($P < 0.05$); Western blot results showed that the phosphorylation level of Akt was up-regulated and also higher than that of control group at 24 h after infection ($P < 0.05$). The effects of *C. pn* infection on the VSMC migration and the phosphorylation level of Akt in the VSMCs were significantly inhibited by the specific PI3K inhibitor LY294002. **Conclusion** *C. pn* infection may promote VSMC migration via activation of PI3K/Akt.

心脑血管疾病的发病率居高不下,但作为其病变基础的动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的发病

机制至今仍不明确。随着 Ross^[1]炎症反应学说的提出,肺炎衣原体(*Chlamydia pneumoniae*, *C. pn*)感

[收稿日期] 2011-07-03

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30971225);教育部科学技术研究重点项目(206008);教育部留学回国人员科研启动基金(2005年)

[作者简介] 张腾腾,硕士研究生,研究方向为动脉粥样硬化发病的分子机制,E-mail 为 babyseldy@163.com,联系电话为 022-23542745。张利军,博士,讲师,研究方向为心血管疾病分子生物学,E-mail 为 hnzzxyzlj@yahoo.com.cn,联系电话为 022-23542745。通讯作者张丽君,博士,教授,博士研究生导师,研究方向为动脉粥样硬化发病的分子机制,E-mail 为 lijunwz@hotmail.com,联系电话为 022-23542708。

染在参与 As 形成和进展中的作用日益受到关注^[2]。血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 由血管中膜向内膜迁移在 As 形成过程中的作用至关重要。新近研究表明, *C. pn* 感染可促进 VSMC 迁移^[3], 但具体机制不清。磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K) 是具有催化活性的胞内信号蛋白, 可调控下游的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (serine/threonine kinase, Akt) 的磷酸化水平, 共同构成 PI3K/Akt 信号转导通路^[4,5], 在多种类型细胞迁移过程中发挥调控作用^[6-10]。但 *C. pn* 感染能否通过 PI3K 调控 Akt 的磷酸化水平, 进而诱导 VSMC 迁移, 目前国内外尚未见报道。因此, 本研究利用 *C. pn* 体外感染原代大鼠 VSMC 模型, 观察 PI3K/Akt 在 *C. pn* 感染诱导 VSMC 迁移中的作用, 为探讨 As 发病机制提供新思路。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

原代 SD 大鼠主动脉 VSMC 为本课题组分离、培养并鉴定^[3]; *C. pn* AR-39 株 (美国标准菌库 ATCC, 53592); 细胞培养基 (DMEM) (Gibco 公司); 胎牛血清 (FBS) (Gibco 公司); 羟基脲和 DEAE (Sigma 公司); 放线菌酮 (北京索来宝生物科技有限公司); 透射电镜 (Hitachi); Transwell 小室 (Corning); LY294002 (Promega); 兔抗大鼠 Akt 抗体和 Phospho-Akt 抗体 (Cell Signaling Technology); 小鼠抗大鼠 β -actin 抗体 (北京中杉金桥生物技术有限公司); 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 和羊抗小鼠 IgG (Jackson); BCA 蛋白定量试剂盒 (江苏碧云天生物技术研究所); ECL 显影剂 (Thermo); 蛋白酶抑制剂 (Amresco)。

1.2 VSMC 的培养和实验分组

VSMC 用含有 10% FBS 的 DMEM 在 37 °C、5% CO₂ 恒温孵箱中培养, 细胞生长至 90% 单层融合后, 0.25% 胰蛋白酶消化液消化、传代, 选择生长良好的 3~8 代细胞用于实验。实验分 4 组: ①正常对照组; ②*C. pn* 感染组; ③LY294002 组; ④LY294002 + *C. pn* 感染组。其中, LY294002 组和 LY294002 + *C. pn* 感染组的 VSMC 用 25 μ mol/L LY294002 37 °C 孵育 1 h, 进行预处理。

1.3 *C. pn* 感染 VSMC 及鉴定

将 VSMC 接种至 6 孔板, 待细胞生长至 90% 融合后, 将 MOI 为 0.5 的 *C. pn* 悬液接种于 VSMC, 2500 r/min 离心 50 min, 于 37 °C、5% CO₂ 恒温孵箱

内孵育 2 h, 弃离心液, 加入 *C. pn* 生长液 (DMEM + 10% FBS + 0.002 μ g/L 放线菌酮 + 0.01 μ g/L 庆大霉素 + 0.025 μ g/L 万古霉素), 37 °C、5% CO₂ 恒温孵箱继续培养。72 h 后弃 *C. pn* 生长液, 每孔加入 1 mL PBS, 无菌细胞刮刀将 VSMC 从细胞培养板上剥离, 2000 r/min 离心 15 min, 弃上清, 加入 1 mL 2.5% 戊二醛 4 °C 固定过夜, 2000 r/min 离心 10 min, 弃上清, PBS 漂洗, 加入 1% 四氧化锇, 吹打为细胞悬液后继续固定 1 h, 2000 r/min 离心 10 min, 弃上清, PBS 漂洗, 样本经乙醇梯度脱水、环氧树脂包埋、修块后, 制备半薄切片, 显微镜下观察细胞图像, 确定预作超薄切片的部位并作标记后制备超薄切片, 醋酸铀和柠檬酸铅染色, 透射电镜观察细胞超微结构和 VSMC 内 *C. pn* 感染状态, 将细胞超薄切片置于数字化电镜摄影系统摄片。

1.4 Wound-healing 实验

将 VSMC 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。*C. pn* 感染组和 LY294002 + *C. pn* 感染组 VSMC 接种 *C. pn* 并孵育 24 h, 显微镜下观察 VSMC 从划痕处向中央爬行的面积, 其面积大小表示 VSMC 迁移能力强弱, 随机取 5 个视野进行观察并拍摄, 应用图像分析软件 Image-J 测量细胞迁移面积, 计算平均值, 行 3 次独立实验。

1.5 Transwell 实验

将 VSMC 接种至 6 孔板, 待细胞生长至 90% 融合后, 同步化处理 24 h, 加入 0.8 mmol/L 羟基脲作用 12 h, 将 MOI 为 0.5 的 *C. pn* 悬液接种于 VSMC, 感染 14 h 后制备细胞浓度为 1.5×10^8 个/L 的 VSMC 悬液, 取 100 μ L 细胞悬液加入 Transwell 上室中, 下室加入含 50% FBS 的 DMEM, 10 h 后室温下甲醇固定, 结晶紫染色。倒置相差显微镜下随机选取 5 个视野进行拍摄, 记录每个视野的穿膜细胞数, 取平均值, 行 3 次独立实验。

1.6 Western blot 实验

将 VSMC 进行预处理后行 *C. pn* 感染, 24 h 后用含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的裂解液于冰上裂解 30 min, 细胞刮刀刮取细胞, 4 °C 12000 r/min 离心 5 min, 取上清, 用 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量。以适当比例与上样缓冲液混合均匀, 95 °C 煮沸 10 min 后上样, 行 10% SDS-PAGE、转膜、封闭, 分别加入 Phospho-Akt (1:1000) 和 β -actin (1:20000), 4 °C 孵育过夜, TBST 漂洗后, 用羊抗兔 IgG 和羊抗小鼠 IgG 分别室温孵育 1 h, TBST 漂洗, 加入

ECL 试剂后,显影、定影、拍照,用 Image-J 软件进行条带灰度分析。

1.7 统计学分析

采用 SPSS11.5 统计软件进行数据分析,3 组以上样本均数比较采用单因素方差分析,均数间两两比较采用 q 检验,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 透射电镜确认 *C. pn* 成功感染 VSMC

透射电镜下观察,正常的 VSMC 呈梭形结构,核较大,核内无核仁(图 1A)。*C. pn* 感染后的 VSMC,胞浆内可见典型 *C. pn* 原体(图 1B)。

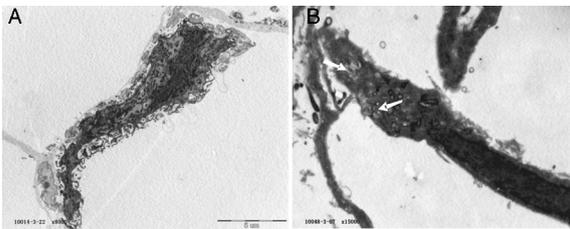


图 1. 透射电镜观察 VSMC 感染状态 A 为正常对照组 ($\times 8000$),B 为 *C. pn* 感染组 ($\times 15000$)。白色箭头所示为 *C. pn* 原体。

Figure 1. *C. pn* elementary bodies in the infected VSMC under transmission electron microscope

2.2 *C. pn* 感染诱导 VSMC 迁移

C. pn 感染 VSMC 24 h 后,Wound-healing 实验观察到,VSMC 以出芽方式从细胞划痕两侧边缘向中央移动,*C. pn* 感染组 VSMC 向划痕中央迁移的面积明显大于正常对照组(图 2A 和表 1)。Transwell 实验观察到,VSMC 经结晶紫染色后细胞核清晰可见,为深蓝色,小室的底膜呈淡蓝色,*C. pn* 感染组穿膜的细胞数明显高于正常对照组(图 2B 和表 1)。

2.3 PI3K 促进 *C. pn* 感染诱导 Akt 的磷酸化

C. pn 感染 VSMC 24 h 后,Western blot 实验结果显示 *C. pn* 感染组 VSMC p-Akt 的表达水平明显升高,约是正常对照组的 2 倍;LY294002 + *C. pn* 感染组 VSMC p-Akt 的表达水平显著下调且低于 *C. pn* 感染组(图 3)。

2.4 PI3K/Akt 在 *C. pn* 感染诱导 VSMC 迁移中的促进作用

C. pn 感染 VSMC 24 h 后,Wound-healing 实验中,*C. pn* 感染组 VSMC 向划痕中央迁移的面积明显大于正常对照组,LY294002 + *C. pn* 感染组 VSMC 向划痕中央迁移的面积小于 *C. pn* 感染组(图 4A 和

表 2);Transwell 实验中,*C. pn* 感染组穿膜的细胞数明显高于正常对照组,LY294002 + *C. pn* 感染组穿膜的细胞数低于 *C. pn* 感染组(图 4B 和表 2)。

表 1. *C. pn* 感染对 VSMC 迁移能力的影响

Tab 1. Effect of *C. pn* infection on VSMC migration

分 组	迁移面积(mm^2)	迁移细胞数(个/视野)
正常对照组	0.55 \pm 0.07	19.60 \pm 2.01
<i>C. pn</i> 感染组	0.76 \pm 0.03 ^a	53.30 \pm 13.34 ^a

a 为 $P < 0.05$,与正常对照组比较。

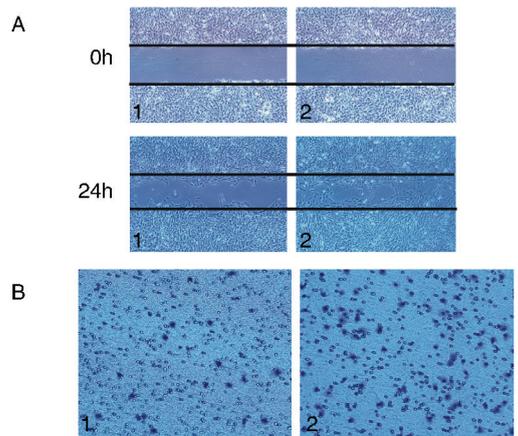


图 2. 细胞迁移实验观察 *C. pn* 感染对 VSMC 迁移能力的影响 A 为 Wound-healing 实验观察 *C. pn* 感染对 VSMC 迁移能力影响 ($\times 100$),B 为 Transwell 实验观察 *C. pn* 感染对 VSMC 迁移能力影响 ($\times 200$)。1 为正常对照组,2 为 *C. pn* 感染组。

Figure 2. Effect of *C. pn* infection on VSMC migration in cell migration assays

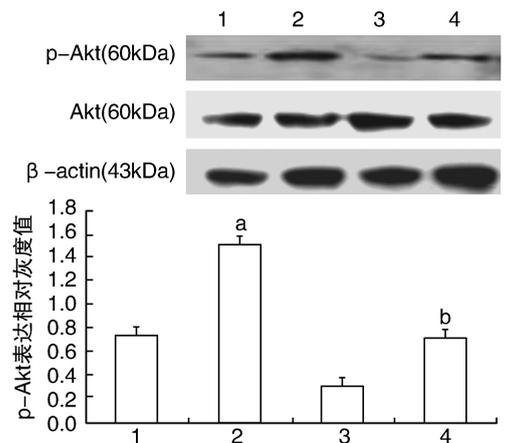


图 3. Western blot 实验检测 PI3K 在 *C. pn* 感染诱导 Akt 磷酸化中的作用 1 为正常对照组,2 为 *C. pn* 感染组,3 为 LY294002 组,4 为 LY294002 + *C. pn* 感染组。a 为 $P < 0.05$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与 *C. pn* 感染组比较。

Figure 3. Western blot analysis detects the effect of PI3K on Akt phosphorylation activated by *C. pn* infection

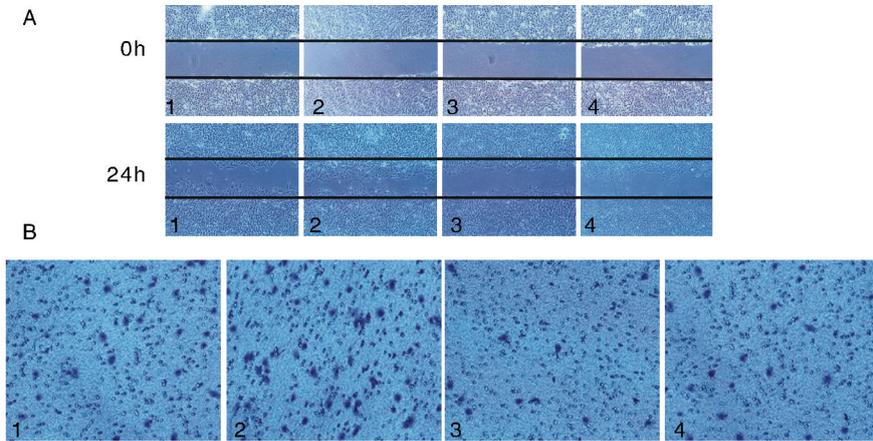


图 4. 细胞迁移实验观察 PI3K/Akt 在 *C. pn* 感染诱导 VSMC 迁移中的作用 A 为 Wound-healing 实验 ($\times 100$), B 为 Transwell 实验 ($\times 200$)。1 为正常对照组, 2 为 *C. pn* 感染组, 3 为 LY294002 组, 4 为 LY294002 + *C. pn* 感染组。

Figure 4. Effect of PI3K/Akt on *C. pn* infection-induced VSMC migration in cell migration assays

表 2. PI3K/Akt 在 *C. pn* 感染诱导 VSMC 迁移中的作用

Table 2. Effect of PI3K/Akt on *C. pn* infection-induced VSMC migration

分 组	迁移面积(mm^2)	迁移细胞数(个/视野)
正常对照组	0.56 ± 0.05	22.85 ± 6.42
<i>C. pn</i> 感染组	0.78 ± 0.03^a	55.70 ± 10.17^a
LY294002 组	0.37 ± 0.04	14.87 ± 3.78
LY294002 + <i>C. pn</i> 感染组	0.55 ± 0.06^b	20.28 ± 5.22^b

a 为 $P < 0.05$, 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 *C. pn* 感染组比较。

3 讨 论

C. pn 是一种严格细胞内寄生的病原体, 通常引起上呼吸道和肺部感染^[11]。近年来 *C. pn* 感染因成为 As 新的危险因素而倍受关注。*C. pn* 经呼吸道侵入机体后被单核巨噬细胞吞噬, 随血液循环侵入血管壁, 可感染内皮细胞及 VSMC, 进一步参与 As 的发病^[2]。本实验通过透射电镜观察到 *C. pn* 感染 VSMC 后, 胞浆中可见典型的 *C. pn* 原体, 这与 Dumrese 等^[12] 的研究结果相一致, 提示 *C. pn* 成功感染 VSMC。

VSMC 从血管中膜迁入内膜是 As 形成过程中的关键环节。研究表明, *C. pn* 感染可以通过多种途径影响细胞迁移。一方面, *C. pn* 可刺激细胞分泌释放大量细胞因子、炎症介质, 间接促进细胞迁移。Högdahl 等^[13] 发现人冠状动脉内皮细胞被 *C. pn* 感染后, 可分泌白细胞介素 8、干扰素诱导蛋白 10 等多种促炎因子, 从而促进白细胞跨内皮迁移。同时,

有报道, *C. pn* 感染可直接促进包括 VSMC 在内的细胞迁移^[3,14]。本实验通过 wound-healing 实验和 Transwell 实验分别从二维和三维水平上观察 *C. pn* 感染对 VSMC 迁移的影响, 结果显示 *C. pn* 感染 VSMC 后其迁移能力明显增强。但 *C. pn* 感染调控 VSMC 迁移的具体机制尚不清楚。

PI3K 作为胞内具有催化活性的信号蛋白, 其活化后产生的 3 位磷酸化的磷脂酰肌醇 (PI), 特别是 PI(3,4,5)P₃, 作为第二信使, 与细胞内含有 PH 区结构域的信号蛋白 Akt 结合导致 Akt 发生磷酸化, 构成 PI3K/Akt 信号转导通路^[4,5]。研究发现, PI3K/Akt 信号通路的激活与 As 的发病密切相关^[15]。Miyachi 等^[16] 指出在 As 斑块中可以检测到 p-Akt。Caglayan 等^[17] 发现肌动蛋白抑制蛋白-1 在 As 斑块中的高表达是通过激活 PI3K/Akt 信号转导通路实现的。此外, PI3K/Akt 信号通路在细胞迁移过程中也发挥重要作用^[6-10]。研究表明, PI3K/Akt 信号转导通路被激活后通过诱导细胞骨架蛋白重组, 使 VSMC 中 F-actin 表达上调, 促进 VSMC 的迁移^[18]。研究发现瘦素诱导的 VSMC 迁移也同样依赖于 PI3K/Akt 途径的激活^[19]。本实验结果显示, *C. pn* 感染 VSMC 24 h 后, *C. pn* 感染组 p-Akt 表达水平较正常对照组明显增高, 各组 VSMC 中总 Akt 蛋白表达水平无显著差异, 提示 *C. pn* 感染可能通过促进 Akt 磷酸化诱导 VSMC 迁移。

有文献^[5] 报道, PI3K 可以调控 Akt 的磷酸化水平, 但 *C. pn* 感染诱导 Akt 发生磷酸化是否与 PI3K 有关目前尚不清楚。因此, 我们使用 PI3K 特异性抑制剂 LY294002 预处理 VSMC 后, LY294002 + *C. pn* 感染组 p-Akt 表达水平较 *C. pn* 感染组明显降

低,提示 PI3K 特异性抑制剂 LY294002 可有效抑制 *C. pn* 感染诱导的 p-Akt 表达水平,进而说明 *C. pn* 感染可能通过 PI3K 调控 Akt 的磷酸化。

为进一步证实 PI3K/Akt 信号转导通路在 *C. pn* 感染诱导 VSMC 迁移过程中的作用,本实验应用 LY294002 预处理 VSMC 后,*C. pn* 感染诱导的 VSMC 迁移明显被抑制。在人体晶状体上皮细胞中,LY294002 可通过降低 PI3K/Akt 信号通路中 Akt 的磷酸化水平抑制血小板源性生长因子诱导的细胞迁移^[6]。本课题组前期研究结果也已经证实 PI3K 在 *C. pn* 感染诱导的血管内皮细胞迁移过程中发挥重要作用^[12],这在一定程度上支持了本研究结果。

综上,我们推测 *C. pn* 感染诱导的 VSMC 迁移的机制可能与 PI3K/Akt 信号转导通路的激活有关。研究表明,Toll 样受体 2 (Toll like receptor 2, TLR2) 在 *C. pn* 感染 VSMC 过程中起配体识别的作用^[20]。TLR2-PI3K 信号转导通路可调控细胞伸展和细胞极化^[21],进而调控细胞迁移。作为 PI3K 的上游信号蛋白,TLR2 在 *C. pn* 感染诱导的 VSMC 迁移中的作用需要进一步研究,两者的联系以及相互作用机制的阐明将为探索 As 的有效防治途径提供新线索。

[参考文献]

[1] Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease [J]. *N Engl J Med*, 1999, 340(24): 115-126.

[2] Sessa R, Nicoletti M, Di Pietro M, et al. Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis; current state and future prospectives [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2009, 22 (1): 9-14.

[3] 王蓓蓓, 张利军, 权伟, 等. 肺炎衣原体感染对血管平滑肌细胞黏附和迁移的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2010, 26(12): 2 289-294.

[4] Williams R, Berndt A, Miller S, et al. Form and exibility in phosphoinositide 3-kinases [J]. *Biochem Soc Tran*, 2009, 37: 615-626.

[5] Shukla S, Maclennan GT, Hartman DJ, et al. Activation of PI3K/Akt signaling pathway promotes prostate cancer cell invasion [J]. *Int J Cancer*, 2007, 121(7): 1 424-432.

[6] Xiong W, Cheng BH, Jia SB, et al. Involvement of the PI3K/Akt signaling pathway in platelet-derived growth factor-induced migration of human lens epithelial cells [J]. *Curr Eye Res*, 2010, 35 (5): 389-401.

[7] Dasari VR, Kaur K, Velpula KK, et al. Upregulation of PTEN in glioma cells by cord blood mesenchymal stem cells inhibits migration via downregulation of the PI3K/Akt pathway [J]. *PLoS One*, 2010, 5(4): e10 350.

[8] Saudemont A, Colucci F. PI3K signaling in lymphocyte migration [J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(20): 3 307-310.

[9] 樊敏, 刘伏友, 段绍斌, 等. PI3K/AKT 信号通路在 TGF β 1 致人腹膜间皮细胞转分化中的作用 [J]. *中国现代医学杂志*, 2010, 20(5): 672-675.

[10] 周琳, 高小平, 胡美伦. PI3K/Akt 信号转导通路对脑微血管内皮细胞生物学行为的影响 [J]. *中国现代医学杂志*, 2010, 20(15): 2 272-278.

[11] Salin O, Alakurti S, Pohjala L, et al. Inhibitory effect of the natural product betulin and its derivatives against the intracellular bacterium *Chlamydia pneumoniae* [J]. *Biochem Pharmacol*, 2010, 80 (8): 1 141-151.

[12] Dumrese C, Maurus CF, Gygi D, et al. *Chlamydia pneumoniae* induces apoptosis in human aortic smooth muscle cells [J]. *BMC Microbiol*, 2005, 21(5): 2-16.

[13] Högdahl M, Söderlund G, Kihlström E, et al. Expression of chemokines and adhesion molecules in human coronary artery endothelial cells infected with *Chlamydia (Chlamydia) pneumoniae* [J]. *APMIS*, 2008, 116(12): 1 082-088.

[14] 权伟, 张利军, 陈宁, 等. 黄连素通过 PI3K 抑制肺炎衣原体感染诱导的血管内皮细胞迁移 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009, 17(11): 877-881.

[15] Montecucco F, Steffens S, Burger F, et al. Tumor necrosis factor- α (TNF- α) induces integrin CD11b/CD18 (Mac-1) up-regulation and migration to the CC chemokine CCL3 (MIP-1 α) on human neutrophils through defined signaling pathways [J]. *Cell signal*, 2008, 20(3): 557-568.

[16] Miyachi H, Minamino T, Tateno K, et al. Akt negatively regulates the in vitro lifespan of human endothelial cells via a p53/p21-dependent pathway [J]. *EMBO J*, 2004, 23(1): 212-220.

[17] Caglayan E, Romeo GR, Kappert K, et al. Profilin-1 is expressed in human atherosclerotic plaque and induces atherogenic effects on vascular smooth muscle cells [J]. *PLoS One*, 2010, 25, 5 (10): e13 608.

[18] Brachmann SM, Yballe CM, Innocenti M, et al. Role of phosphoinositide 3-kinase regulatory isoforms in development and actin rearrangement [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(7): 2 593-606.

[19] 王丽, 唐澜, 赵勇, 等. 瘦素对大鼠主动脉平滑肌细胞迁移和增殖的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006, 14 (11): 937-939.

[20] Yang X, Coriolan D, Schultz K, et al. Toll-like receptor 2 mediates persistent chemokine release by *Chlamydia pneumoniae* - infected vascular smooth muscle cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(11): 2 308-314.

[21] Lasunskaja EB, Campos MN, de Andrade MR, et al. Mycobacteria directly induce cytoskeletal rearrangements for macrophage spreading and polarization through TLR2-dependent PI3K signaling [J]. *Leukoc Biol*, 2006, 80(6): 1 480-490.

(此文编辑 李小玲)