

全反式维甲酸对早期动脉粥样硬化大鼠模型外周调节性 T 细胞与辅助性 T 细胞 17 平衡的影响

李庆¹, 王怡², 周青², 汪渊²

(1. 安徽医科大学附属省立医院中心实验室, 安徽省合肥市 230001;

2. 安徽医科大学分子生物学中心实验室, 安徽省合肥市 230032)

[关键词] 调节性 T 细胞; 辅助性 T 细胞 17; 全反式维甲酸; 动脉粥样硬化; 动物模型

[摘要] **目的** 建立早期动脉粥样硬化大鼠模型, 并探讨其外周 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞(Treg)与辅助性 T 细胞 17(Th17)平衡变化及全反式维甲酸对平衡的影响。**方法** 50 只 8 周龄 SD 大鼠, 随机分为对照组、高脂组、免疫组、免疫高脂组以及全反式维甲酸组, 对照组、免疫组予正常饲料, 其他三组予高脂饲料, 免疫组、免疫高脂组以及全反式维甲酸组注射卵清白蛋白进行初始免疫和强化免疫。全反式维甲酸组同时予以全反式维甲酸灌胃, 16 周后获取血和动脉。检测血清脂质变化, 主动脉 HE 染色以观察动脉病变; 流式细胞术检测各组大鼠外周血 Treg 和 Th17 细胞表达率, 酶联免疫吸附法检测血清相关细胞因子水平。**结果** 成功建立早期动脉粥样硬化大鼠模型。组织形态学显示免疫高脂组内膜增生; 与免疫高脂组比较, 免疫组及全反式维甲酸组程度较轻, 对照组及高脂组动脉完好。高脂组及免疫高脂组血清胆固醇和低密度脂蛋白较对照组、免疫组有显著增加 (均 $P < 0.05$), 而全反式维甲酸组与其他各组比较无统计学差异。与对照组及高脂组相比, 免疫组及免疫高脂组大鼠 Treg 细胞表达及白细胞介素 10(IL-10)、转化生长因子 β 水平显著降低, 而 Th17 细胞表达及 IL-17、IL-6 水平明显增高 (均 $P < 0.05$), 全反式维甲酸组 Treg 表达及相关细胞因子水平与免疫高脂组比较显著升高, 而 Th17 表达及相关因子水平明显降低 (均 $P < 0.05$)。**结论** 免疫损伤结合高脂喂养可形成早期动脉粥样硬化大鼠模型, 该模型存在 Treg 与 Th17 细胞平衡失调, 全反式维甲酸可通过影响 Th17/Treg 平衡发挥抗动脉粥样硬化效应。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Effect of All-Trans-Retinoic Acid on the Balance of Peripheral CD4⁺CD25⁺Regulatory T Cells and T Helper 17 Cells in Early Experimental Arteriosclerosis Rat Model

LI Qing¹, WANG Yi², ZHOU Qing², and WANG Yuan²

(1. The Central Laboratory of Medical Research Center; Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230001, China; 2. The Central Laboratory of Molecular Biology; Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230032, China)

[KEY WORDS] Regulatory T cells; T Helper 17 cells; All-trans-Retinoic Acid; Atherosclerosis; Animal Model

[ABSTRACT] **Aim** To establish early experimental atherosclerosis (As) rat model, and to investigate peripheral CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells (Treg)/T helper 17 cells (Th17) imbalance and the effects of all-trans-retinoic acid (ATRA) on the balance in the model. **Methods** Fifty 8-week-old Sprague Dawley rats were randomly divided into 5 groups: the normal group, cholesterol diet group, immune injury group, cholesterol diet plus immune injury group, and cholesterol diet + immune injury + ATRA group (ATRA group). Rats in normal group and immune injury group were fed with normal diet, and other groups were fed with cholesterol diet. Rats in immune injury group, cholesterol diet plus immune injury group and ATRA group were immunized by ovalbumin. Rats in ATRA group were treated with ATRA.

[收稿日期] 2012-09-04

[基金项目] 安徽省青年自然科学基金项目(11040606Q08)、安徽高校省级自然科学研究重点项目(KJ2011A166)和安徽医科大学校科研基金项目(2010XKJ083)资助

[作者简介] 李庆, 博士, 副主任技师, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化的基础和临床工作, E-mail 为 liqing-2001@163.com。汪渊, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制, E-mail 为 wangyuan@ahmu.edu.cn。王怡, 讲师, 研究方向为动脉粥样硬化基础研究。

For all the 5 groups, the samples of blood and aorta were obtained after 16 weeks. The levels of serum lipids and cytokines were measured by ELISA; Histological changes in aorta were analyzed by HE staining, and the frequencies of Th17 and Treg cells were detected by flow cytometry. **Results** A rat model of early As was established successfully. The results of HE staining showed that there was an edematous thickening in the intima and a mild atrophy in the membrane of cholesterol diet plus immune injury group, and there was also a less extent on pathological changes in immune injury group and ATRA group. Serum total cholesterol (TC) and low density lipoprotein cholesterol (LDLC) concentrations in cholesterol diet group and cholesterol diet plus immune injury group were markedly increased compared with those in normal group and immune injury group (all $P < 0.05$), but the levels of serum lipids in ATRA group had no significant difference compared with those in other groups. Expression of Treg and relative cytokines (interleukin-10 (IL-10), transforming growth factor beta (TGF- β)) was significantly lower while expression of Th17 and relative cytokines (IL-17, IL-6) was obviously higher in immune injury group and cholesterol diet plus immune injury group than those in normal group and cholesterol diet group (all $P < 0.05$). The levels of Treg and relative cytokines were significantly increased while the levels of Th17 and relative cytokines in ATRA group were markedly decreased than those in cholesterol diet plus immune injury group (all $P < 0.05$). **Conclusions** An early As rat model was successfully established by immune injury and cholesterol diet. The shift of the Th17/Treg balance from Treg cells towards Th17 cells exists in rat model, and ATRA may play an important role in inhibiting As development by influencing the peripheral Th17/Treg balance.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是心脑血管病的主要病理学基础,目前确切病因尚未完全阐明。As形成涉及众多的免疫细胞,尤其是 $CD4^+$ T淋巴细胞^[1-3]。 $CD4^+$ $CD25^+$ 调节性T细胞($CD4^+$ $CD25^+$ regulatory T cells, Treg)和辅助性T细胞17(T helper cell 17, Th17)是近年来新发现的 $CD4^+$ T细胞亚群。Treg细胞可通过细胞间直接接触和分泌多种细胞因子来发挥免疫抑制效应^[4,5];而Th17细胞可分泌促炎细胞因子,如白细胞介素17(interleukin-17, IL-17)和IL-6等,具有很强的促炎症功能^[6,7]。业已证明, Th17/Treg平衡失调在自身免疫性疾病、移植排斥反应等疾病的发生发展中发挥重要作用^[8,9],然而,在As发生中的作用目前仍少有报道。全反式维甲酸(all-trans-retinoic acid, ATRA)是维生素A主要衍生物,有介导细胞分化、增殖、凋亡及调节免疫等功能^[10,11]。本研究拟采用高脂饮食和免疫损伤相结合,复制大鼠早期As模型,并分析ATRA对Th17/Treg平衡的影响和在As发生中的作用,进而为今后进一步开发治疗As药物提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

异硫氰酸荧光素(isothiocyanate, FITC)标记的抗大鼠CD4单抗(克隆号OX35),藻红蛋白(phycoerythrin, PE)标记的抗大鼠IL-17A单抗(克隆号eBio17B7)和抗大鼠核转录因子Foxp3单抗(克隆号FJK-16s),别藻青蛋白(allophycocyanin, APC)标记

的CD25单抗(克隆号OX39),固定和改变细胞膜渗透性试剂盒(FIX&PERM Cell Permeabilization Kit)均购自美国eBioscience公司;总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(total triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDLC)和低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDLC)检测试剂盒购自北京中生北控生物科技股份有限公司;大鼠细胞因子IL-10、IL-17、IL-6、转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)检测试剂盒购自美国R&D公司,佛波醇乙酯(phorbol myristate acetate, PMA)、离子霉素、莫能霉素购自美国Alexis公司;大鼠淋巴细胞分离液购自天津通宝达生物技术公司;卵清白蛋白粉、完全弗氏佐剂、ATRA均购自美国Sigma公司。

1.2 动物模型的建立

健康清洁级Sprague-Dawley(SD)雄性大鼠50只,体重(145 ± 20)g,由安徽医科大学实验动物中心提供(皖医实动准字第01号)。8周龄SD大鼠适应性饲养1周后,随机分为5组:对照组、高脂组、免疫组、免疫高脂组以及ATRA组。高脂组、免疫高脂组及ATRA组大鼠普通饲料中加入含2%胆固醇及10%猪油的高脂饲料喂食,对照组及免疫组喂食普通饲料。免疫组、免疫高脂组、ATRA组自第4周开始皮下注射卵清白蛋白(2.5 mg/kg)进行初始免疫,初始免疫后3周开始腹腔注射卵清白蛋白(2.5 mg/kg)加强免疫,每周一次连续5周,方法参考文献[12]。ATRA组从第3周开始予ATRA处理[10 mg/(kg·d)],每日一次直接灌胃给药,16周后处死动物取血和动脉标本进行分析。

1.3 血脂测定

大鼠麻醉后摘除眼球取血,采用全自动生化仪(AU2700, Olympus, 日本)检测血清中 TC、TG、HDLc 和 LDLc 含量。

1.4 主动脉组织 HE 染色

解剖大鼠分离出主动脉;清除动脉外围组织。石蜡包埋,冰冻切片(LEICA CM 1800, 上海莱卡仪器有限公司)进行连续切片,切片厚度 4 μm 。HE 染色,普通光学显微镜下观察动脉病理组织学变化。

1.5 流式细胞术检测大鼠 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞和 CD4⁺IL-17⁺Th17 细胞表型

1.5.1 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞表型检测 用大鼠淋巴细胞分离液分离单个核细胞,并用 PBS 调整细胞浓度为 $10^{10}/\text{L}$;取 2 支试管分别加入细胞悬液 100 μL ,其中一管加入 FITC-CD4、APC-CD25 各 10 μL ,另一管则作为对照管,加各单抗相对应的同型对照各 10 μL ,混匀后室温下避光反应 15 min;PBS 洗涤后弃上清;两管分别加入细胞破膜剂试剂 A 200 μL ,混匀后室温下避光反应 15 min;离心、洗涤后重悬细胞,在测定管中加入试剂 B 200 μL 和 PE-Foxp3 10 μL ,在对照管中则加试剂 B 200 μL 和同型对照-PE 10 μL ,混匀后室温下避光孵育 15 min;PBS 洗涤后上流式细胞仪(EPICS ALTRA HyPerSortTM, 美国 Beckman-Coulter 公司)检测。

1.5.2 CD4⁺IL-17⁺Th17 细胞的表型检测

Th17 细胞检测参考文献[13],用 RPMI1640 培养基调整细胞浓度至 $2 \times 10^9/\text{L}$,接种于 24 孔培养板后加入刺激剂 PMA 25 $\mu\text{g}/\text{L}$,离子霉素 1 mg/L 和莫能霉素 1.7 mg/L ,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 细胞培养箱培养 4~6 h 后,离心收集细胞。取 2 支试管分别加入单个核细胞悬液 100 μL 和 FITC-CD4 10 μL ,混匀后室温下避光反应 15 min;固定、破膜方法同上。在测定管中加入 PE-IL-17A 10 μL ,在对照管中则加相应同型对照-PE 10 μL ,混匀后室温下避光孵育 15 min;PBS 洗涤后上机检测。

表 1. 各组大鼠血脂水平($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1. Serum lipids concentration in different group rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分 组	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDLc (mmol/L)	LDLc (mmol/L)
对照组	0.81 \pm 0.23	2.37 \pm 0.57	0.65 \pm 0.14	0.46 \pm 0.17
高脂组	0.94 \pm 0.31	3.06 \pm 0.42 ^a	0.47 \pm 0.11	1.02 \pm 0.28 ^a
免疫组	0.88 \pm 0.20	2.29 \pm 0.41	0.61 \pm 0.18	0.54 \pm 0.20
免疫高脂组	0.84 \pm 0.26	2.97 \pm 0.24 ^a	0.44 \pm 0.13	1.09 \pm 0.32 ^a
ATRA 组	0.86 \pm 0.24	2.68 \pm 0.39	0.53 \pm 0.15	0.77 \pm 0.21

a 为 $P < 0.05$,与对照组及免疫组比较。

检测前常规对流式细胞仪进行光流路质量调控和荧光补偿,使仪器各项指标在质量控制允许值范围。检测时对淋巴细胞群和 CD4⁺T 淋巴细胞进行顺序设门,每份标本获取设门内细胞在 10 000 个以上,数据分析使用 EXPO32 系统软件。

1.6 酶联免疫吸附法检测大鼠血清 IL-10、TGF- β 、IL-17 和 IL-6 含量

细胞因子检测步骤严格按照酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒说明书进行操作,使用全自动酶标仪(型号 HT-1,奥地利)读取波长 450 nm 处 OD 值,再以建立的标准曲线换算出检测指标的含量。

1.7 统计学处理

采用 SPSS16.0 软件包进行统计学处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,行正态性及方差齐性检验,组内多样本计量资料比较采用单因素方差分析,方差齐时采用 LSD 方法进行两两比较,方差不齐时采用 Tamhane's T2 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠血脂变化情况

与对照组及免疫组比较,高脂组及免疫高脂组的 TC 和 LDLc 浓度显著增高($P < 0.05$);ATRA 组 TC 和 LDLc 与其他各组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。TG、HDLc 水平各组间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$;表 1)。

2.2 主动脉组织 HE 染色结果

HE 染色可见,对照组和高脂组大鼠动脉内膜完好,染色均匀,内皮间隙未见明显增宽,内皮细胞排列整齐,细胞之间结合紧密。免疫组大鼠内膜轻度增生,内皮间隙增宽;免疫高脂组内膜增厚较免疫组更为明显,中膜轻度萎缩;ATRA 组内膜增生程度较免疫高脂组明显减轻,动脉病变程度与免疫组相似(图 1)。

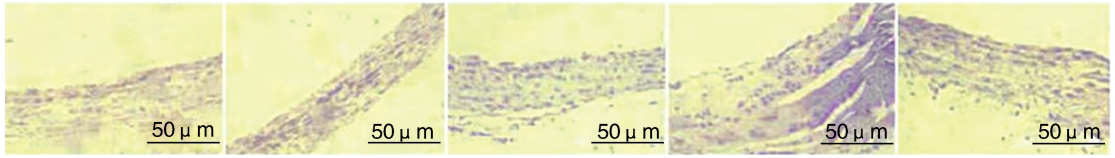


图 1. 大鼠动脉壁 HE 染色结果 (HE, $\times 400$) 从左到右依次为对照组、高脂组、免疫组、免疫高脂组和 ATRA 组。

Figure 1. HE staining results of rat aorta in different group rats ($\times 400$)

2.3 大鼠 Treg 细胞和 Th17 细胞表达情况

高脂组 Treg 和 Th17 细胞表达水平与对照组比差异无显著性意义 (均 $P > 0.05$); 免疫组 Treg 细胞表达水平较对照组和高脂组显著降低, 而 Th17 细胞表达水平较对照组和高脂组明显升高 ($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$); 各组中免疫高脂组 Treg 细胞表达最低, Th17 表达最高; 与免疫高脂组相比, ATRA 组 Treg 细胞表达显著升高, Th17 细胞表达明显降低 (均 $P < 0.05$; 表 2 和图 2)。

2.4 大鼠血清 Treg 和 Th17 相关细胞因子表达水平

与对照组比较, 高脂组 Treg 相关细胞因子 IL-10、TGF- β 表达略为降低, 而 Th17 细胞因子 IL-17、IL-6 表达略为升高, 但差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$); 免疫组 IL-10、TGF- β 表达水平较对照组和高脂组明显降低, 而 IL-17、IL-6 表达水平较对照组和高脂组显著升高 (均 $P < 0.05$); 免疫高脂组血清 IL-10、TGF- β 表达水平较免疫组进一步降低, 为各组中

最低水平, 而 IL-17、IL-6 表达水平较免疫组进一步升高, 达各组中最高; 与免疫高脂组比较, ATRA 组 IL-10、TGF- β 表达水平明显升高, 而 IL-17、IL-6 表达水平显著降低 ($P < 0.05$; 表 3)。

表 2. 大鼠 Treg 和 Th17 细胞表达情况 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2. Expression of Treg and Th17 cells in different group of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分 组	CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺	CD4 ⁺ IL-17 ⁺
对照组	4.69% \pm 0.57%	0.62% \pm 0.20%
高脂组	4.47% \pm 0.64%	0.86% \pm 0.22%
免疫组	3.78% \pm 0.52% ^a	1.67% \pm 0.48% ^b
免疫高脂组	2.94% \pm 0.49% ^{bc}	2.28% \pm 0.67% ^{bc}
ATRA 组	3.96% \pm 0.58% ^d	1.43% \pm 0.25% ^d

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; c 为 $P < 0.01$, 与高脂组比较; d 为 $P < 0.05$, 与免疫高脂组比较。

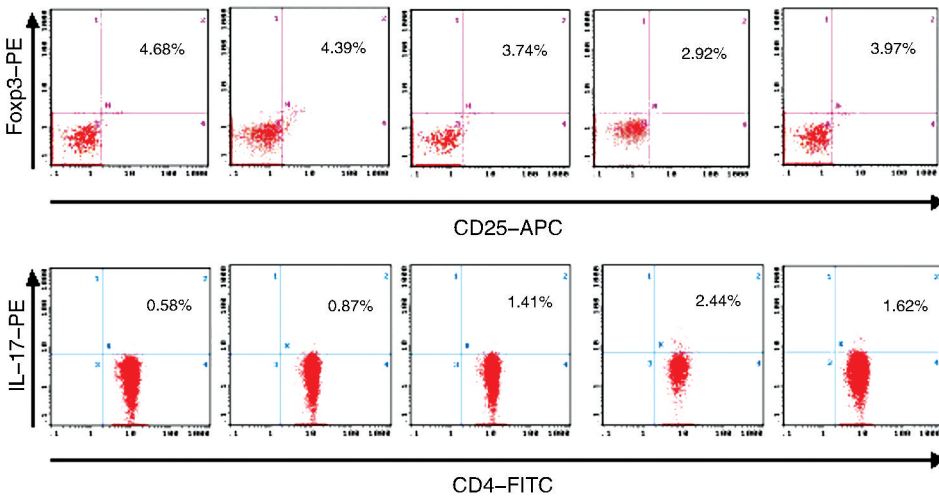


图 2. 各组大鼠 Treg (上图) 和 Th17 (下图) 细胞流式检测图 从左到右依次为对照组、高脂组、免疫组、免疫高脂组和 ATRA 组。

Figure 2. The dot plots show Treg and Th17 frequencies in different group of rats

3 讨 论

建立 As 动物模型是研究 As 发病机制和药物治疗的重要手段, 大鼠具有饲养方便、抵抗力强、食性与人相近等优点, 是较为理想的 As 动物模型。由于

大鼠无胆囊, 对胆固醇等脂质吸收少, 单纯的高脂饲料很难诱导大鼠 As 的形成。Castellanos 等^[12] 通过免疫损伤法使大鼠主动脉产生 As 斑块。本实验采用反复注射卵清白蛋白造成免疫损伤与高脂饮食诱导相结合的方法造模, HE 染色显示单纯高脂

表 3. 大鼠细胞因子表达水平 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 3. Serum levels of cytokines in different group of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分 组	IL-10 (ng/L)	TGF- β (ng/L)	IL-17 (ng/L)	IL-6 (ng/L)
对照组	37.61 \pm 6.15	41.74 \pm 8.26	23.28 \pm 4.26	72.85 \pm 13.74
高脂组	34.29 \pm 6.76	39.86 \pm 9.02	25.94 \pm 4.92	76.17 \pm 15.83
免疫组	26.45 \pm 4.63 ^a	32.53 \pm 7.24 ^a	30.67 \pm 5.48 ^a	85.75 \pm 17.12 ^a
免疫高脂组	19.27 \pm 5.12 ^{bc}	23.14 \pm 5.62 ^{bc}	42.39 \pm 6.57 ^{bc}	101.51 \pm 19.21 ^{bc}
ATRA 组	29.34 \pm 5.85 ^d	35.28 \pm 7.43 ^e	28.92 \pm 5.75 ^e	83.19 \pm 14.56 ^d

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; c 为 $P < 0.01$, 与高脂组比较; d 为 $P < 0.05$, e 为 $P < 0.01$, 与免疫高脂组比较。

饮食并未造成动脉壁损伤, 而免疫组、免疫高脂组都有内膜不同程度增厚, 以免疫高脂组病变最严重, 内膜增生明显, 说明免疫损伤结合高脂饮食喂养 16 周可诱发早期大鼠 As 病变。免疫损伤可导致动脉损伤, 而在此基础上结合高脂饮食可能导致高胆固醇血症而加重 As 病变。因此, 本实验成功建立了早期 As 大鼠模型, 为进一步研究 Th17/Treg 平衡和 ATRA 对 As 影响提供了可靠的病理模型。

有研究显示, As 小鼠模型中 Treg 数量减少, 而输注 Treg 细胞能使斑块明显变小^[14,15]。Treg 细胞可通过分泌抗炎细胞因子, 如 IL-10 等, 抑制促 As 免疫反应, 斑块中 Treg 细胞数量减少和功能降低, 是 As 发生发展的重要原因之一^[16]。小鼠 As 模型中, IL-17 水平升高可促进早期 As 斑块形成, 其水平降低可使斑块减小^[17]。IL-17 还可促进单核细胞分泌炎症因子肿瘤坏死因子 (TNF- α) 和 IL-1 β , 并与其发挥协同作用, 进一步加强炎症反应^[18]。另有报道, Th17 参与 As 患者斑块破裂和急性冠状动脉综合征 (ACS) 形成的炎症过程^[19]。

动物实验 HE 染色显示, 单纯高脂饮食仅引起 TC 和 LDLC 升高, 并未造成动脉壁损伤, 而在免疫组、免疫高脂组内膜都有不同程度增厚, 以免疫高脂组病变最为严重, 说明免疫损伤结合高脂饮食可诱发大鼠早期 As 斑块形成; 同时, 流式细胞术和 ELISA 检测结果发现免疫组和免疫高脂组 Treg 细胞表达水平、相关细胞因子水平较对照组和高脂组显著降低; 与文献报道小鼠模型结果一致, 也进一步验证 Treg 细胞发挥抗 As 的保护性作用。大鼠早期 As 斑块最严重的免疫高脂组, 其 Th17 表达率和相关细胞因子水平最高, 出现 As 斑块的免疫组和免疫高脂组其 Th17 及相关细胞因子水平也显著高于动脉内膜无损伤的对照组和高脂组。结果表明在免疫性因素损伤下形成的 As 病变中, Th17 水平上调, 可能参与 As 的发生发展过程。由此我们推测

Th17 可能通过 IL-17 等的促炎效应, 加重机体的病理性免疫应答反应, 创造促炎微环境, 参与并促进 As 的发生发展。

Treg 细胞和 Th17 细胞均参与 As 发生过程, 两者可能处于一种平衡状态。本研究结果显示, 在大鼠早期 As 模型免疫组和免疫高脂组出现 Th17/Treg 平衡向 Th17 偏移; 而 Th17 细胞比例和功能增强或者 Treg 细胞比例和功能减弱, 很可能是导致 As 发生的重要原因之一。

ATRA 能通过细胞核上多种受体产生广泛的生物学效应。有文献报道, 维甲酸可诱导 Treg 细胞特异性的转录因子 Foxp3 的表达^[20]。另有研究证实, 维甲酸可抑制 Th17 细胞的增殖, 从而使 T 细胞转化为 Treg, 其作用机制是通过直接减少 Th17 特异性的转录调控因子 ROR γ t^[21]。本实验结果证实, ATRA 组较免疫高脂组 Treg 细胞表达显著升高, Th17 细胞表达明显降低, ATRA 可很好地改变 Th17/Treg 平衡失调, 恢复 Th17/Treg 平衡状态, 对抑制 As 发生发展具有重要意义。血脂检测结果发现高脂组及免疫高脂组 TC 和 LDLC 较对照组有显著升高, 但免疫组 TC 和 LDLC 水平与对照组比较无明显差异, 提示免疫因素可能没有升高血脂的作用; ATRA 组 TC 和 LDLC 水平与其他组差异无统计学意义, 说明 ATRA 对血脂水平无明显影响。

由此可见, Th17/Treg 失衡与 As 形成密切相关, ATRA 可通过影响 Th17/Treg 平衡, 抑制 As 形成, 发挥抗 As 效应, 从而为预防和治疗 As 提供新的思路。

[参考文献]

- [1] Campbell KA, Lipinski MJ, Doran AC, et al. Lymphocytes and the adventitial immune response in atherosclerosis[J]. Circ Res, 2012, 110(6): 889-900.
- [2] Chen GX, Liao YH, Ge HX, et al. Th1/Th2 functional

- imbalance after acute myocardial infarction; coronary arterial inflammation or myocardial inflammation[J]. *J Clin Immunol*, 2005, 25(3): 246-253.
- [3] Ammirati E, Cianflone D, Vecchio V, et al. Effector memory T cells are associated with atherosclerosis in humans and animal models[J]. *J Am Heart Assoc*, 2012, 1(1): 27-41.
- [4] Shigematsu Y, Hanagiri T, Shiota H, et al. Immunosuppressive effect of regulatory T lymphocytes in lung cancer, with special reference to their effects on the induction of autologous tumor-specific cytotoxic T lymphocytes[J]. *Oncol Lett*, 2012, 4(4): 625-630.
- [5] Hrdý J, Kocourková I, Prokešová L. Impaired function of regulatory T cells in cord blood of children of allergic mothers[J]. *Clin Exp Immunol*, 2012, 170(1): 10-17.
- [6] Lubberts E, Koenders M I, van den Berg WB. The role of T-cell interleukin 17 in conducting destructive arthritis; lessons from animal models[J]. *Arthritis Res Ther*, 2005, 7(1): 29-37.
- [7] Kim J, Kang S, Kim J, et al. Elevated levels of T helper 17 cells are associated with disease activity in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Ann Lab Med*, 2013, 33(1): 52-59.
- [8] Wang W, Shao S, Jiao Z, et al. The Th17/Treg imbalance and cytokine environment in peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatol Int*, 2012, 32(4): 887-893.
- [9] Li Y, Shi Y, Huang Z, et al. CNI induced Th17/Treg imbalance and susceptibility to renal dysfunction in renal transplantation[J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11(12): 2 033-038.
- [10] Miao R, Xu T, Liu L, et al. Rosiglitazone and retinoic acid inhibit proliferation and induce apoptosis in the HCT-15 human colorectal cancer cell line[J]. *Exp Ther Med*, 2011, 2(3): 413-417.
- [11] Ross AC, Chen Q, Ma Y. Vitamin A and retinoic acid in the regulation of B-cell development and antibody production[J]. *Vitam Horm*, 2011, 86: 103-126.
- [12] Castellanos E, Sueishi K, Tanaka K, et al. Ultrastructural studies of rat arteriosclerosis induced by stimulation of the immune system with ovalbumin[J]. *Acta Pathol JPN*, 1991, 41(2): 113-121.
- [13] Qing Li, Yi Wang, Ke Chen, et al. The role of oxidized low-density lipoprotein in breaking peripheral Th17/Treg balance in patients with acute coronary syndrome[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 394(3): 836-842.
- [14] Mor A, Planer D, Luboshits G, et al. Role of naturally occurring CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in experimental atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(4): 893-900.
- [15] 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 细胞对动脉粥样硬化斑块的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009, 17(11): 882-884.
- [16] Gotsman I, Grabie N, Gupta R, et al. Impaired regulatory T-cell response and enhanced atherosclerosis in the absence of inducible costimulatory molecule[J]. *Circulation*, 2006, 114: 2 047-055.
- [17] Gao Q, Jiang Y, Ma T, et al. A critical function of Th17 proinflammatory cells in the development of atherosclerotic plaque in mice[J]. *J Immunol*, 2010, 185(10): 5 820-827.
- [18] Sutton C, Brereton C, Keogh B, et al. A crucial role for interleukin (IL)-1 in the induction of IL-17-producing T cells that mediate autoimmune encephalomyelitis[J]. *J Exp Med*, 2006, 203(7): 1 685-691.
- [19] Hashmi S, Zeng QT. Role of interleukin-17 and interleukin-17-induced cytokines interleukin-6 and interleukin-8 in unstable coronary artery disease[J]. *Coron Artery Dis*, 2006, 17(8): 699-706.
- [20] Nozaki Y, Tamaki C, Yamagata T, et al. All-trans-retinoic acid suppresses interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha; a possible therapeutic agent for rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatol Int*, 2006, 26(9): 810-817.
- [21] Mucida D, Park Y, Kim G, et al. Reciprocal TH17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid[J]. *Science*, 2007, 317(5835): 256-260.

(此文编辑 许雪梅)