

# 血小板因子 4 经 Toll 样受体 4 上调巨噬细胞基质金属蛋白酶 9 表达

赵战芝<sup>1</sup>, 何钊<sup>1,2</sup>, 唐雅玲<sup>1</sup>, 孙慧<sup>1</sup>

(1. 南华大学心血管病研究所暨动脉硬化化学湖南省重点实验室, 湖南省衡阳市 421001;

2. 湖北省宜昌市中心人民医院, 湖北省宜昌市 443000)

[关键词] 血小板因子 4; 基质金属蛋白酶 9; 巨噬细胞; Toll 样受体 4

[摘要] **目的** 观察血小板因子 4(PF4)对 THP-1 单核源性巨噬细胞基质金属蛋白酶 9(MMP-9)表达的影响,并初步探讨其机制。**方法** 佛玻酯诱导 THP-1 细胞分化成巨噬细胞。巨噬细胞经不同浓度 PF4(0~200 μg/L)处理一定时间后,RT-PCR 和 Western blot 检测 MMP-9 和 Toll 样受体 4(TLR4)表达。为了研究 TLR4 在其中的作用,细胞经 TLR4 阻断剂预处理 30 min 后,再与 PF4 孵育特定时间,检测 MMP-9 表达。**结果** 与对照组比较,50 μg/L PF4 即可显著上调巨噬细胞 MMP-9 mRNA 和蛋白水平,至 100 μg/L 时,MMP-9 mRNA 和蛋白表达达到最大效应水平,分别较对照组增高约 3.8 倍( $P<0.001$ )和 1.5( $P<0.01$ )倍。PF4(100 μg/L)也较对照组显著上调 TLR4 mRNA 和蛋白水平。而加入 TLR4 阻断剂后可逆转 PF4 诱导的巨噬细胞 MMP-9 表达上调,其 mRNA 和蛋白水平分别较 PF4 单独孵育组降低约 26% 和 21%( $P$  均  $<0.05$ )。**结论** PF4 可能通过 TLR4 上调巨噬细胞 MMP-9 的表达。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Platelet Factor 4 Up-regulates the Expression of Matrix Metalloproteinase-9 in Macrophages via Toll-like Receptor 4

ZHAO Zhan-Zhi<sup>1</sup>, HE Fan<sup>1,2</sup>, TANG Ya-Ling<sup>1</sup>, and SUN Hui<sup>1</sup>

(1. Institute of Cardiovascular Disease & Key Laboratory for Atherosclerosis of Hunan Province, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Yichang Central People's Hospital of Hubei Province, Yichang, Hubei 443000, China)

[KEY WORDS] Platelet Factor 4; Matrix Metalloproteinase-9; Macrophages; Toll-like Receptor 4

[ABSTRACT] **Aim** To investigate whether platelet factor 4 (PF4) modulates the matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) expression of macrophages. **Methods** THP-1 monocytes were differentiated into monocyte-derived macrophages by phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA). After incubation with PF4 (0~200 μg/L), the MMP-9 expression of macrophages was determined by reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot. To determine the role of toll-like receptor 4 (TLR4) in the regulation of MMP-9 expression, macrophages were pretreated with TLR4 blocker for 30 min, then incubated with PF4. **Results** Macrophages that were untreated showed a relatively low MMP-9 and TLR4 mRNA or protein levels; treatment of macrophages with PF4 increased MMP-9 and TLR4 expression. However, the high levels of MMP-9 and TLR4 expression induced by PF4 were significantly attenuated in the presence of TLR4 blocker. **Conclusions** PF4 may up-regulate MMP-9 expression in macrophages via TLR4.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是一个慢性炎症性疾病<sup>[1]</sup>。业以证明,血小板活化后可释放大量的趋化因子,行使着除了止血以外的强大的炎症和免疫调节作用,促进 As 的发展<sup>[2]</sup>。血小板因子 4

(platelet factor 4, PF4)是血小板活化后释放的最丰富的蛋白之一,不仅存在于 As 的早、晚期病变,且与病变分级、临床症状等临床参数相关,表明 PF4 在 As 的发展中起重要作用<sup>[2]</sup>。已有研究显示 PF4 可

[收稿日期] 2014-04-14

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81100214);南华大学博士启动基金(2012XQD40)

[作者简介] 赵战芝,讲师,主要从事心血管病的基础研究,E-mail 为 zhaozz99@126.com。通讯作者何钊,医师,主要从事心血管病的防治研究,E-mail 为 hongapril@sina.com。唐雅玲,实验师,主要从事心血管病的基础研究,E-mail 为 160408751@qq.com。

诱导炎症型巨噬细胞形成、单核细胞黏附于受损的内皮等炎症过程<sup>[3,4]</sup>。鉴于 PF4 与 As 临床疾病严重程度的相关性,PF4 在 As 中的作用有待更深一步的研究。由血管炎症引发的异常血管重塑在 As 发生发展中起主导作用。基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 作为炎性细胞因子在血管重构、斑块不稳定性及其破裂中起着重要作用<sup>[5]</sup>。在重构的血管, MMP-9 被大量的表达、分泌和活化。巨噬细胞、肥大细胞等炎性细胞是血管组织 MMP-9 的重要来源。而炎性因子如肿瘤坏死因子  $\alpha$  和白细胞介素等可诱导 MMP-9 表达<sup>[6]</sup>。但 PF4 对 MMP-9 表达的影响还未见文献报道。Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4) 是天然免疫中介导细胞跨膜信号传导的 Toll 样受体家族成员。研究显示在人 As 斑块中 TLR4 的表达显著提高;活化的 TLR4 可上调 MMP-9 表达、降解基质蛋白;在大鼠模型中,TLR4 高表达可促进大鼠 As 斑块的形成和血管重构<sup>[7,8]</sup>。因此,本研究观察 PF4 对巨噬细胞 MMP-9 表达的影响及 TLR4 在其中的作用,旨在探讨 PF4 对 As 斑块稳定性的可能影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

重组人血小板因子 4 (PF4) 购自 Peprotech 公司,脂多糖 (LPS) 购自上海捷瑞公司,佛波脂 (PMA) 购自 Sigma 公司,胎牛血清购自杭州四季青生物研究所, RPMI1640 培养基购自美国 GIBCO 公司, TLR4 抗体型阻断剂购自 Biolegend 公司, Trizol Reagent 和引物分别从上海生物工程有限公司购买和合成, cDNA 第一链合成试剂盒购自 Fermentas 公司, Taq PCR MasterMix 以及 DNA Marker 购自北京天根公司, MMP-9 一抗购自北京博奥森生物公司, TLR4 一抗购自 eBioscience 公司。THP-1 单核细胞系购自上海细胞库。

### 1.2 细胞培养

THP-1 单核细胞在含 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基中,静置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。实验前,细胞用 160 nmol/L PMA 孵育 24 h,使其诱导成为巨噬细胞。换无血清的 RPMI1640 培养基培养 12 h,同步化后进行实验。巨噬细胞分别经 PBS (溶剂对照)、不同浓度 PF4 (25 ~ 200  $\mu$ g/L)、脂多糖 (LPS, 100  $\mu$ g/L) 处理 4 h 或 12 h, RT-PCR 和 Western blot 检测 MMP-9 和 TLR4 表达;为进一步研究 TLR4 在其中的作用,细胞经 TLR4 阻断剂 (25

$\mu$ g) 预处理 30 min 后,再与 PF4 孵育特定时间,检测 MMP-9 表达。

### 1.3 RT-PCR 反应

收集细胞, Trizol Reagent 试剂提取总 RNA。各样本取 0.2  $\mu$ g 总 RNA 按 cDNA 第一链合成试剂盒说明书进行逆转录。用 Taq PCR MasterMix 试剂进行 PCR 循环: 95℃ 温育 5 min, 95℃ 变性 45 s, 54℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 1 min, 共 32 个循环, 72℃, 继续延伸 10 min。4℃ 冷却。反应结束后, 取反应产物进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭染色, UVP 型凝胶图象分析系统摄图。TLR4、MMP-9 和 GAPDH 产物大小依次为 507 bp、476 bp 和 240 bp。以各组目的基因与 GAPDH 灰度值比值代表目的基因的 mRNA 相对表达量。每组实验重复 3 次。

### 1.4 Western blot 分析

收集细胞, 提取细胞总蛋白。取 50  $\mu$ g 蛋白质加入 5  $\times$  SDS 凝胶上样缓冲液, 煮沸 100℃ 变性 5 min。取变性蛋白质行 12% SDS-PAGE 电泳, 并转移至 PVDF 膜上。5% 脱脂牛奶室温封闭, 加入一抗 TLR4 抗体、抗 MMP-9 抗体和抗  $\beta$ -actin 抗体, 4℃ 过夜。TBST 洗膜。加入辣根过氧化物酶标记的二抗, 室温孵育 2 h。发光剂激发荧光, 显影、定影后进行图像分析。以目的蛋白和内参蛋白的灰度值比值, 作为各组间蛋白相对表达量。每组实验重复 3 次。

### 1.5 统计学分析

所有数据均用  $\bar{x} \pm s$  表示。用 SPSS 15.0 统计分析软件进行统计处理, 两组间比较用 Student's *t* 检验, 多重比较在 ANOVA 分析后用 Dunnett's-*t* 检验。  $P < 0.05$  为差异有显著性意义。

## 2 结果

### 2.1 PF4 上调 THP-1 源性巨噬细胞 MMP-9 表达

THP-1 源性巨噬细胞未经处理时, 细胞有 MMP-9 mRNA 表达。细胞经不同浓度 PF4 (25 ~ 200  $\mu$ g/L) 处理 4 h 后, RT-PCR 结果显示 (图 1), 与对照组比, 细胞 MMP-9 mRNA 水平随着 PF4 浓度的增加而逐步升高。其中, 最大效应浓度为 100  $\mu$ g/L ( $P < 0.001$ ), 且高于 LPS 组的 MMP-9 mRNA 水平 ( $P < 0.01$ ; 表 1)。与 MMP-9 mRNA 水平一致的是, 经不同浓度 (25 ~ 200  $\mu$ g/L) PF4 处理 12 h 后, THP-1 源性巨噬细胞 MMP-9 的蛋白水平也较对照组显著上调, 当 PF4 浓度为 100  $\mu$ g/L 时, MMP-9 蛋白水平增高最为明显 ( $P < 0.01$ , 图 1 和表 1)。

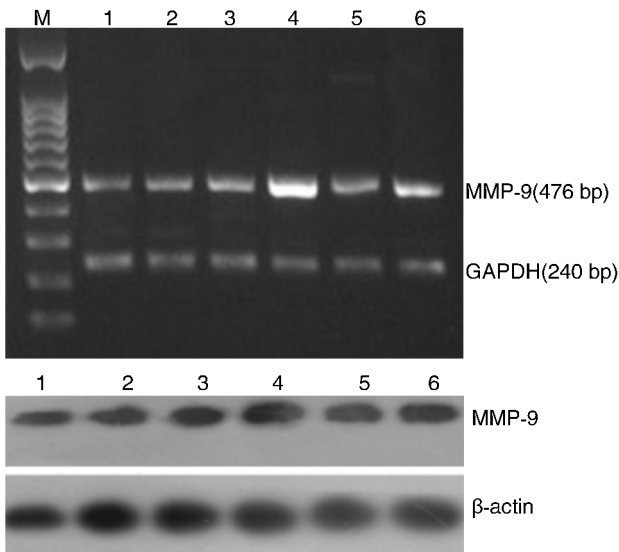


图 1. 不同浓度 PF4 对 THP-1 源性巨噬细胞 MMP-9 mRNA (上图) 和蛋白 (下图) 表达的影响 1 为对照组,2 为 25 μg/L PF4 组,3 为 50 μg/L PF4 组,4 为 100 μg/L PF4 组,5 为 200 μg/L PF4 组,6 为 100 μg/L LPS 组。

Figure 1. Effect of the different concentration of PF4 on mRNA and protein expression of MMP-9 in THP-1-derived macrophages

表 1. 不同浓度 PF4 对 THP-1 源性巨噬细胞 MMP-9 mRNA 和蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 1. Effect of the different concentration of PF4 on mRNA and protein expression of MMP-9 in THP-1-derived macrophages( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

分 组	MMP-9 mRNA	MMP-9 蛋白
对照组	1.088 ± 0.166	0.354 ± 0.092
25 μg/L PF4 组	1.610 ± 0.276	0.449 ± 0.131
50 μg/L PF4 组	1.946 ± 0.333 <sup>a</sup>	0.649 ± 0.113 <sup>a</sup>
100 μg/L PF4 组	5.260 ± 0.601 <sup>b</sup>	0.879 ± 0.176 <sup>b</sup>
200 μg/L PF4 组	2.158 ± 0.375 <sup>ac</sup>	0.670 ± 0.083 <sup>a</sup>
100 μg/L LPS 组	2.968 ± 0.261 <sup>bc</sup>	0.777 ± 0.128 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.05$ , b 为  $P < 0.01$ , 与对照组比较; c 为  $P < 0.01$ , 与 100 μg/L PF4 组比较。

2.2 PF4 上调 THP-1 源性巨噬细胞 TLR4 表达

对照组细胞有 TLR4 mRNA 表达。经不同浓度的 PF4 孵育后,与对照组比较,25 μg/L 和 50 μg/L 的 PF4 对巨噬细胞 TLR4 的 mRNA 表达水平无明显调节作用,然而 100 μg/L PF4 显著上调 TLR4 的 mRNA 表达水平( $P < 0.001$ ),与 LPS 阳性对照组比较,TLR4 的 mRNA 表达水平显著上调( $P < 0.05$ ,图 2 和表 2)。PF4 浓度达 200 μg/L 时,TLR4 mRNA 表达水平略有降低,但仍高于对照组。Western

blot 结果显示,与对照组比较,100 μg/L PF4 显著上调 TLR4 的蛋白表达水平( $P < 0.05$ ;图 2 和表 2),与基因水平的检测结果基本一致。

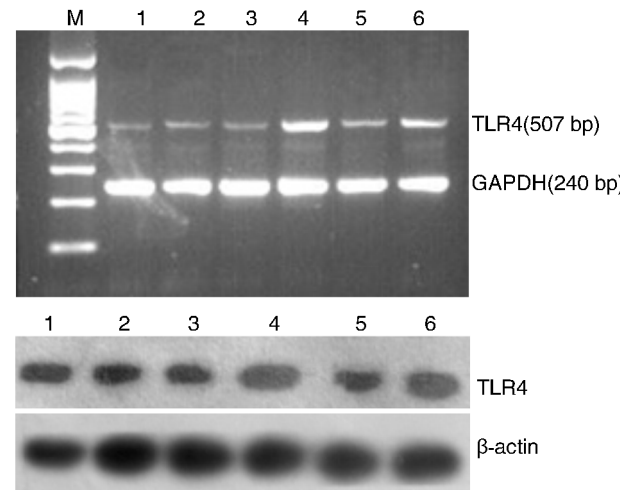


图 2. 不同浓度 PF4 对 THP-1 源性巨噬细胞 TLR4 mRNA (上图) 和蛋白 (下图) 表达的影响 1 为对照组,2 为 25 μg/L PF4 组,3 为 50 μg/L PF4 组,4 为 100 μg/L PF4 组,5 为 200 μg/L PF4 组,6 为 100 μg/L LPS 组。

Figure 2. Effect of the different concentration of PF4 on mRNA and protein expression of TLR4 in THP-1-derived macrophages

表 2. 不同浓度 PF4 对 THP-1 源性巨噬细胞 TLR4 mRNA 和蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 2. Effect of the different concentration of PF4 on mRNA and protein expression of TLR4 in THP-1-derived macrophages( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

分 组	TLR4 mRNA	TLR4 蛋白
对照组	0.291 ± 0.073	0.390 ± 0.059
25 μg/L PF4 组	0.347 ± 0.068	0.393 ± 0.084
50 μg/L PF4 组	0.335 ± 0.110	0.396 ± 0.149
100 μg/L PF4 组	0.767 ± 0.054 <sup>b</sup>	0.716 ± 0.117 <sup>b</sup>
200 μg/L PF4 组	0.444 ± 0.119	0.487 ± 0.104
100 μg/L LPS 组	0.545 ± 0.086 <sup>ac</sup>	0.636 ± 0.068 <sup>a</sup>

a 为  $P < 0.05$ , b 为  $P < 0.01$ , 与对照组比较; c 为  $P < 0.05$ , 与 100 μg/L PF4 组比较。

2.3 TLR4 阻断剂逆转 PF4 上调巨噬细胞 MMP-9 表达

为了探索 PF4 上调巨噬细胞 MMP-9 表达是否通过 TLR4 信号环节,实验采用 TLR4 阻断剂预处理细胞后,观察 PF4 对巨噬细胞 MMP-9 表达的影响,RT-PCR 和 Western blot (图 3) 结果均显示,加入

TLR4 阻断剂后,其 MMP-9 mRNA 和蛋白表达水平均较 PF4 单独孵育组显著降低( $P < 0.05$ )。同时,LPS 和 TLR4 阻断剂共处理组的 MMP-9 mRNA 和蛋白表达水平也较 LPS 单独孵育组低( $P < 0.05$ ),表明 TLR4 是调节巨噬细胞 MMP-9 表达的重要环节(表 3)。

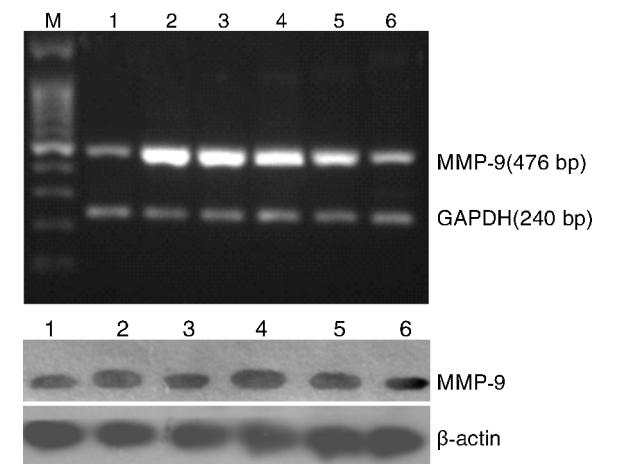


图 3. TLR4 阻断剂对 PF4 上调巨噬细胞 MMP-9 mRNA (上图) 和蛋白 (下图) 表达的影响 1 为对照组,2 为 100  $\mu\text{g/L}$  PF4 组,3 为 PF4 + TLR4 阻断剂组,4 为 100  $\mu\text{g/L}$  LPS 组,5 为 LPS + TLR4 阻断剂组,6 为 TLR4 阻断剂组。

Figure 3. Effect of TLR4 blocker on PF4 up-regulating MMP-9 mRNA expression in THP-1-derived macrophages

表 3. TLR4 阻断剂对 PF4 上调巨噬细胞 MMP-9 mRNA 和蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 3. Effect of the different concentration of PF4 on mRNA and protein expression of MMP-9 in THP-1-derived macrophages( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

分 组	MMP-9 mRNA	MMP-9 蛋白
对照组	1.307 $\pm$ 0.525	0.453 $\pm$ 0.121
100 $\mu\text{g/L}$ PF4 组	5.417 $\pm$ 0.398 <sup>a</sup>	0.826 $\pm$ 0.090 <sup>a</sup>
PF4 + TLR4 阻断剂组	4.027 $\pm$ 0.726 <sup>ab</sup>	0.653 $\pm$ 0.058 <sup>b</sup>
100 $\mu\text{g/L}$ LPS 组	4.283 $\pm$ 0.672 <sup>a</sup>	0.816 $\pm$ 0.073 <sup>a</sup>
LPS + TLR4 阻断剂组	2.987 $\pm$ 0.445 <sup>ac</sup>	0.636 $\pm$ 0.081 <sup>c</sup>
TLR4 阻断剂组	1.927 $\pm$ 0.295	0.466 $\pm$ 0.110

a 为  $P < 0.01$ , 与对照组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与 100  $\mu\text{g/L}$  PF4 组比较; c 为  $P < 0.05$ , 与 100  $\mu\text{g/L}$  LPS 组比较。

### 3 讨 论

血小板作为多功能细胞,不仅在止血过程中起作用,而且在炎症、免疫和 As 等多种病理过程中起重要作用。新近的观点认为,活化的血小板通过释

放多种活性因子影响 As 的发展<sup>[2]</sup>。在众多的活性因子当中,PF4 的含量最丰富,被认为是巨噬细胞成熟和血小板活化的标记物<sup>[2]</sup>。值得注意的是,在 As 性疾病患者血液中 PF4 水平较正常对照者显著增高<sup>[3]</sup>。但 PF4 在 As 的发生发展中起何种作用尚未阐明。

人 PF4 基因位于 4 号染色体长臂,全长 1000 bp,含有 3 个外显子,是小诱导基因(the small inducible gene, SIG)家族中的一员<sup>[3]</sup>。SIG 家族成员的基因组的外显子结构极其相似,且其蛋白质的氨基酸序列有同源性,都含有 4 个保守的半胱氨酸残基。SIG 在凝血、感染、细胞生长方面扮演重要角色。大量研究表明,PF4 在血栓和动脉粥样硬化斑块形成中起重要作用。离体实验发现,PF4 可诱导单核细胞存活、表达细胞因子、形成氧自由基和黏附于受损的内皮<sup>[9]</sup>;诱导炎性巨噬细胞(无 CD163 表达)形成<sup>[4]</sup>;抑制低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)降解、促进 LDL 氧化<sup>[3]</sup>;诱导氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)与血管细胞和巨噬细胞结合等<sup>[10]</sup>。动物实验证实,敲除血小板 PF4 基因,可减少 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠 As 病变面积<sup>[11]</sup>。本实验发现 PF4 可诱导巨噬细胞表达 MMP-9,且 TLR4 参与此过程。结果显示,PF4 可以促进 THP-1 源性巨噬细胞 MMP-9 的表达。THP-1 源性巨噬细胞经不同浓度 PF4(25 ~ 200  $\mu\text{g/L}$ )处理后,MMP-9 的 mRNA 和蛋白水平均随着 PF4 浓度的增加而逐步升高,尤其以浓度为 100  $\mu\text{g/L}$  时升高最为显著。

基质金属蛋白酶类(matrix metalloproteinases, MMP)不仅是一种能分解细胞外基质的糖蛋白酶类,也是连接炎症和血管重构的炎症介质<sup>[5]</sup>。研究证实动脉粥样硬化斑块纤维帽的厚度直接影响斑块的稳定性,纤维帽越薄则斑块越易破裂。纤维帽主要由胶原纤维与平滑肌细胞构成。MMP-9 是降解胶原的主要酶类之一,严重影响斑块的稳定性。实验研究表明,肿瘤坏死因子  $\alpha$  等多种炎性因子可诱导巨噬细胞、中性粒细胞等表达和分泌大量的 MMP-9<sup>[6]</sup>。而局部 MMP-9 含量增多不仅降解细胞外基质、促使平滑肌细胞从中膜迁移入内膜并增殖,还诱导炎症细胞迁移、募集和黏附至血管壁,使血管壁细胞增殖或凋亡<sup>[5]</sup>;在 MMP-9 基因缺失的小鼠,As 斑块内胶原含量增加,而巨噬细胞含量减少、斑块面积缩小<sup>[12]</sup>。临床研究发现,急性脑梗死的患者外周血 MMP-9 的水平明显升高<sup>[13]</sup>,提示 MMP-9 可能参与脑梗死的病理过程。新近研究发现,血清 MMP-9 水平与人颈动脉总斑块分数、斑块不稳定性



独立相关<sup>[14]</sup>。本实验发现 PF4 促进巨噬细胞 MMP-9 表达上调,提示 PF4 可能通过促进 MMP-9 的表达,加剧血管炎症反应及斑块的不稳定性。

TLR 是固有免疫细胞膜上识别系统的重要组成部分。TLR4 是 TLR 家族成员,在内皮细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞及心肌细胞表达。TLR4 可通过识别 LPS、热休克蛋白 60 等,参与免疫调节和炎症反应<sup>[7]</sup>。我们的实验结果显示,PF4 (100  $\mu\text{g/L}$ )显著上调 TLR4 的 mRNA 和蛋白表达水平。文献报道 LPS 可激活 TLR4<sup>[15]</sup>。本实验以 LPS 为阳性对照,结果显示,与 100  $\mu\text{g/L}$  LPS 比较,100  $\mu\text{g/L}$  PF4 能上调巨噬细胞 MMP-9 和 TLR4 表达。TLR4 阻断剂是一种抗体型阻断剂,本研究发现,TLR4 阻断剂可逆转 PF4 上调巨噬细胞 MMP-9 的表达,表明 TLR4 是 PF4 上调巨噬细胞 MMP-9 表达的重要信号环节。然而,50  $\mu\text{g/L}$  PF4 处理组不能显著改变 TLR4 mRNA 和蛋白表达水平,提示 PF4 上调 MMP-9 表达除了依赖 TLR4,可能还受其它的信号环节调节。文献报道,TLR4 介导的信号转导有 MyD88 依赖性和非依赖性途径<sup>[7]</sup>。但调节 MMP-9 表达的 PF4-TLR4 通路的下游是何种信号分子尚需进一步研究证实。

总之,本研究结果表明 PF4 经 TLR4 上调巨噬细胞 MMP-9 表达。PF4 可能通过上调 MMP-9 表达,促进 As 的发生发展。

#### [参考文献]

- [1] Libby P. Inflammation in atherosclerosis [J]. *Nature*, 2002, 420(6917): 868-874.
- [2] Gleissner CA. Platelet-derived chemokines in atherogenesis: what's new[J]? *Curr Vasc Pharmacol*, 2012, 10(5): 563-569.
- [3] Aidoudi S, Bikfalvi A. Interaction of PF4 (CXCL4) with the vasculature: a role in atherosclerosis and angiogenesis [J]. *Thromb Haemost*, 2010, 104(5): 941-948.
- [4] Gleissner CA, Shaked I, Erbel C, et al. CXCL4 downregulates the atheroprotective hemoglobin receptor CD163 in human macrophages [J]. *Circ Res*, 2010, 106(1): 203-211.
- [5] Chen Q, Jin M, Yang F, et al. Matrix metalloproteinases: inflammatory regulators of cell behaviors in vascular formation and remodeling [J]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013: 928315.
- [6] Siasos G, Tousoulis D, Kioufis S, et al. Inflammatory mechanisms in atherosclerosis: the impact of matrix metalloproteinases[J]. *Curr Top Med Chem*, 2012, 12(10): 1 132-148.
- [7] den Dekker WK, Cheng C, Pasterkamp G, et al. Toll like receptor 4 in atherosclerosis and plaque destabilization [J]. *Atherosclerosis*, 2010, 209(2): 314-320.
- [8] Edfeldt K, Swedenborg J, Hansson GK, et al. Expression of toll-like receptor in human atherosclerotic lesions: a possible pathway for plaque activation [J]. *Circulation*, 2002, 105(10): 1 158-161.
- [9] Kasper B, Winoto-Morbach S, Mittelstädt J, et al. CXCL4-induced monocyte survival, cytokine expression, and oxygen radical formation is regulated by sphingosine kinase 1 [J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(4): 1 162-173.
- [10] Nassar T, Sachais BS, Akkawi S, et al. Platelet factor 4 enhances the binding of oxidized low-density lipoprotein to vascular wall cells [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(8): 6 187-193.
- [11] Sachais BS, Turrentine T, Dawicki McKenna JM, et al. Elimination of platelet factor 4 (PF4) from platelets reduces atherosclerosis in C57BL/6 and apoE<sup>-/-</sup> mice [J]. *Thromb Haemost*, 2007, 98(5): 1 108-113.
- [12] Luttun A, Lutgens E, Manderveld A, et al. Loss of matrix metalloproteinase-9 or matrix metalloproteinase-12 protects apolipoprotein E-deficient mice against atherosclerotic media destruction but differentially affects plaque growth [J]. *Circulation*, 2004, 109(11): 1 408-414.
- [13] 岳蕴华,白旭东,张小宁,等. 基质金属蛋白酶 9 血清水平及基因 -1562C>T 多态性与维吾尔族急性缺血性脑卒中临床分型的关系 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(1): 55-60.
- [14] Tan C, Liu Y, Li W, et al. Associations of matrix metalloproteinase-9 and monocyte chemoattractant protein-1 concentrations with carotid atherosclerosis, based on measurements of plaque and intima-media thickness [J]. *Atherosclerosis*, 2014, 232(1): 199-203.
- [15] Guijarro-Muñoz I, Compte M, Álvarez-Cienfuegos A, et al. Lipopolysaccharide activates Toll-like receptor 4 (TLR4)-mediated NF- $\kappa$ B signaling pathway and proinflammatory response in human pericytes [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(4): 2 457-468.

(此文编辑 许雪梅)