

载脂蛋白 E 基因敲除小鼠动脉粥样硬化病变进展过程中循环单核细胞亚群和斑块内增殖巨噬细胞的动态变化

李宵^{1,2}, 周欣², 姬文婕², 李玉秀², 赵季红², 李玉明²

(1. 甘肃中医学院, 甘肃省兰州市 730000; 2. 武警后勤学院附属医院心脏中心 武警部队心血管病研究所 天津市血管重塑与靶器官损伤重点实验室, 天津市 300162)

[关键词] 动脉粥样硬化; 单核细胞亚群; 增殖巨噬细胞; 载脂蛋白 E 基因敲除小鼠

[摘要] **目的** 观察载脂蛋白 E 基因敲除(ApoE^{-/-})小鼠动脉粥样硬化病变进展过程中循环单核细胞亚群(Ly6G⁻CD11b⁺LyC^{hi}和 Ly6G⁻CD11b⁺Ly6C^{lo})比例和斑块内局部增殖巨噬细胞密度的动态变化。**方法** 40 只 ApoE^{-/-}小鼠随机分为正常饮食组和高脂饮食组,分别于饮食干预后第 2 周末、第 4 周末、第 6 周末和第 8 周末处死部分动物,油红 O 染色检测主动脉根部动脉粥样硬化斑块面积,免疫荧光染色和共聚焦显微镜成像检测斑块内的巨噬细胞和增殖巨噬细胞(F4/80 和 Ki67 双阳性细胞),流式细胞术分析循环单核细胞亚群比例。**结果** 随着高脂饮食时间的增加主动脉粥样硬化病变逐渐加重;动脉斑块中总巨噬细胞和增殖巨噬细胞密度在高脂饮食后进行性升高,并于第 4 周末达到高峰;巨噬细胞与增殖巨噬细胞密度百分比在高脂饮食后进行性升高,并于第 6 周末达到高峰;随着高脂饮食时间的增加 Ly6G⁻CD11b⁺LyC^{hi}单核细胞亚群比例逐渐增大。**结论** 在 ApoE^{-/-}动脉粥样硬化模型发展过程中,循环 Ly6G⁻CD11b⁺LyC^{hi}单核细胞呈递增趋势,增殖巨噬细胞密度在第 4 周末达到平台期。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Dynamic Profile of Circulating Monocyte Subsets and Intraplaque Proliferating Macrophages During the Development of Atherosclerotic Lesion in ApoE Knockout Mice

LI Xiao^{1,2}, ZHOU Xin², JI Wen-Jie², LI Yu-Xiu², ZHAO Ji-Hong², and LI Yu-Ming²

(1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou, Gansu 730000, China; 2. Pingjin Hospital, Logistics University of Chinese People's Armed Police Force & Institute of Cardiovascular Disease and Heart Center & Tianjin Key Laboratory of Cardiovascular Remodeling and Target Organ Injury, Tianjin 300162, China)

[KEY WORDS] Atherosclerosis; Monocyte Subsets; Proliferating Macrophage; ApoE Knockout Mice

[ABSTRACT] **Aim** To detect the development of monocytes (Ly6G⁻CD11b⁺LyC^{hi} and Ly6G⁻CD11b⁺Ly6C^{lo}) and proliferating macrophage in atherosclerosis of ApoE^{-/-} mice. **Methods** We randomly assigned 40 ApoE^{-/-} mice into high-fat diet or normal chow diet group, which were sacrificed at the end of weeks 2, 4, 6 and 8. Lipids of aortic sinus were stained with oil red O. The macrophage and proliferating macrophage (F4/80 and Ki67 double positive cells) in plaque were detected by immunofluorescence staining and confocal microscopy. Flow cytometry methods were used to analyze the proportions of circulating monocyte subsets. **Results** In the formation progress of atherosclerosis, aortic atherosclerosis gradually aggravated with high-fat diet over time. The total macrophages and proliferation macrophage density showed an increasing trend before the first four weeks with high-fat diet, which reached a peak at the fourth week. Before the first six weeks with high-fat diet, the percentage of proliferating macrophage and macrophages density were gradually increased and reached a peak at the sixth week. The proportions of cycle Ly6G^{hi} monocyte was increased with high-fat diet time passing. **Conclusions** In the development progress of atherosclerosis model, the proportions of circulating

[收稿日期] 2014-09-02

[修回日期] 2014-11-06

[基金项目] 国家自然科学基金(81170238);武警后勤学院院级课题(FYM201104,WHM201218)

[作者简介] 李宵,硕士,研究方向为动脉粥样硬化,E-mail 为 lixiao130406@163.com。周欣,副教授,副主任医师,硕士研究生导师,研究方向为高血压和冠心病,E-mail 为 xzhou@live.com。通讯作者赵季红,主任医师,教授,硕士研究生导师,研究方向为冠心病和高血压诊治,E-mail 为 zjhwj@126.com。

Ly6G⁻ CD11b⁺ Ly6C^{hi} monocyte subsets gradually aggravated with high-fat diet time passing and the increasing is consistent. Proliferating macrophage density reached a plateau at the first four weeks.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是许多心脑血管疾病的病理基础,由于As斑块进行性进展和破裂导致的组织慢性和急性缺血,是全世界致残、致死的重要原因之一。单核/巨噬细胞是免疫细胞的基础细胞^[1],研究表明,单核/巨噬细胞系在As的发生发展过程中有至关重要的作用^[2]。早期认为斑块内巨噬细胞主要来自循环中的单核细胞^[3],随着对巨噬细胞的深入研究,近期有报道显示在主动脉根部的斑块内存在巨噬细胞自我更新的现象^[4]。但是,在As斑块进行性进展过程中斑块局部增殖巨噬细胞的动态变化以及与循环单核细胞亚群的关系尚未见报道,因此本研究采用高脂饮食诱导ApoE基因敲除(ApoE knockout, ApoE^{-/-})小鼠形成As,动态检测斑块内增殖巨噬细胞(F4/80和Ki67双阳性细胞)密度以及循环单核细胞亚群(Ly6G⁻ CD11b⁺ Ly6C^{hi}和Ly6G⁻ CD11b⁺ Ly6C^{lo})比例的动态变化,从而进一步探讨单核/巨噬细胞在As发生发展过程中的作用。

1 材料和方法

1.1 主要仪器和试剂

流式细胞仪(Cytomics FC 500, Beckman Coulter, USA); 荧光显微镜(ECLIPSE 80i, Nikon, Japan); 激光扫描共聚焦显微镜(TCS SP8, Leica, Germany); 冰冻切片机(CM7500, Leica, Germany)。抗CD11b-PE、抗Ly6G-PerCP/Cy5.5和抗Ly6C-FITC购自Biolegend公司; 抗F4/80、抗Ki67购自Abcam公司; FITC标记山羊抗小鼠二抗、TRITC标记山羊抗兔二抗购自ImmunoReagents公司; Mounting medium with DAPI购自中杉金桥公司; 油红O购自Sigma公司; 其余试剂均为国产分析纯; 高脂饮食配方见参考文献^[5]。

1.2 实验动物

40只ApoE^{-/-}小鼠, 雄性, 体重22~25g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号为SCXK(京)2102-0001, 实验前均经DNA检测为纯合子。

1.3 动物模型的制备、标本的采集和处理

随机将小鼠分为正常饮食组和高脂饮食组, 分别于第2、4、6和8周取材。麻醉后摘眼球放血致死, PBS心脏灌注, 主动脉根部上2mm处留取心脏, 沿左右心耳下缘连线平行向下2mm处去掉心

尖部, 留取心底部分在PBS液浸洗2~3次, 浸在30%的蔗糖溶液中至下沉, OCT包埋, 冰冻切片机切片, 厚度为5μm, -20℃储存。

1.4 油红O染色

按照常规方法进行油红O染色^[6], 在光学显微镜下观察斑块面积和动脉狭窄程度(图1A)。采用图像分析软件(Image Pro Plus, IPP)计算斑块面积和血管横断面面积, 斑块狭窄程度=斑块面积/血管横断面面积×100%^[7]。

1.5 免疫荧光染色

切片恢复至室温, 1% Triton X-100 破膜 20 min, 山羊血清封闭 20 min, 加入大鼠抗小鼠单抗 F4/80 (1:100) 和兔抗小鼠多抗 Ki67 (1:300), 4℃ 孵育过夜, 次日加入山羊抗兔 IgG, TRITC 和山羊抗大鼠 IgG, FITC, 室温孵育 1 h, 含 DAPI 的防淬灭封片剂封片(图 1B 和 1C)。采用图像分析软件计算荧光显微镜拍摄视野内巨噬细胞和增殖巨噬细胞个数和斑块面积, 巨噬细胞或增殖巨噬细胞密度=巨噬细胞或增殖巨噬细胞个数/斑块面积(mm²)。

1.6 流式细胞术检测循环 Ly6G⁻ CD11b⁺ LyC^{hi} 单核细胞亚群比例

参照本实验室前期建立的方法进行检测^[8], 取 100 μL 抗凝全血加入 Ly6G⁻ PerCP/Cy5.5、Ly6C-FITC、CD11b-PE, 细胞染色缓冲液吹打混匀, 室温避光孵育 15 min, 加入 600 μL 红细胞裂解液, 上机检测(图 2B), FlowJo 7.6.1 软件分析流式细胞术结果。Ly6G⁻ CD11b⁺ LyC^{hi} 单核细胞亚群比值 = Ly6G⁻ CD11b⁺ LyC^{hi} 单核细胞亚群/单核细胞数 × 100%, 设门策略见图 2A。

1.7 统计学分析

采用 Graph Pad Prism 6 进行统计学分析, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组间比较用 Two-Way ANOVA 分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高脂饮食干预期间主动脉根部 As 病变进展

正常饮食组第 2 周至第 8 周动脉狭窄程度分别为 0.3% ± 0.1%、0.6% ± 0.2%、1.3% ± 0.7% 和 2.3% ± 0.7%, 可见随着年龄的增加 ApoE^{-/-} 小鼠可自发形成 As 斑块; 高脂饮食组第 2 周至第 8 周动脉狭窄程度分别为 3.8% ± 0.5%、11.3% ± 2.9%、

33.2% ± 2.0% 和 48.4% ± 2.4%, 可见随着高脂饮食时间的增加狭窄程度呈上升趋势。高脂饮食组与正常饮食组相比动脉狭窄程度于第4周开始有统计学意义 ($P < 0.001$); 高脂饮食组动脉狭窄程度第4周与第2周以及第6周、第8周与第2周、第4周相比均有统计学意义 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$; 图1D)。

2.2 高脂饮食干预期间主动脉根部 As 斑块内巨噬细胞密度的动态变化

正常饮食组第2周至第8周巨噬细胞密度分别为 4297.9 ± 182.8 个/ mm^2 、 4951.9 ± 244.4 个/ mm^2 、 5537.9 ± 383.3 个/ mm^2 和 6337.9 ± 248.4 个/ mm^2 , 可见随着年龄的增加斑块内巨噬细胞密度逐渐增加; 高脂饮食组第2周至第8周斑块内巨噬细胞密度分别为 5768.6 ± 376.4 个/ mm^2 、 9465.8 ± 307.6 个/ mm^2 、 7355.5 ± 522.7 个/ mm^2 和 8813.1 ± 973.5 个/ mm^2 , 可见斑块内巨噬细胞密度在高脂饮食第4周达到顶峰。高脂饮食组斑块内巨噬细胞密度与正常饮食组各时间点相比均有统计学意义 ($P < 0.001$); 高脂饮食组斑块内巨噬细胞密度第6周、第8周与第2周相比, 第8周与第4周相比均有统计学意义 ($P < 0.001$; 图1D)。

2.3 高脂饮食干预期间主动脉根部 As 斑块内增殖巨噬细胞密度的动态变化

激光扫描共聚焦显微镜结果显示, 蓝色为 DAPI 标记细胞核所激发荧光, 绿色为 FITC 标记 F4/80 所激发荧光, 红色为 TRITC 标记 Ki67 所激发荧光, 三色标记同时在一个细胞则证明为增殖巨噬细胞(图1B)。正常饮食组第2周到第8周增殖巨噬细胞密度分别为 222.4 ± 37.2 个/ mm^2 、 306.0 ± 55.5 个/ mm^2 、 387.4 ± 41.2 个/ mm^2 和 477.2 ± 34.5 个/ mm^2 , 可见随着年龄的增加斑块内巨噬细胞逐渐增多; 高脂饮食组第2周到第8周增殖巨噬细胞密度分别为 425.2 ± 64.8 个/ mm^2 、 922.6 ± 26.7 个/ mm^2 、 815.6 ± 40.1 个/ mm^2 和 830.0 ± 61.6 个/ mm^2 , 其中高脂饮食组于第4周到达顶峰。高脂饮食组增殖巨噬细胞密度与正常饮食组各时间点相比均有统计学意义 ($P < 0.001$); 高脂饮食组增殖巨噬细胞密度第4周、第6周、第8周与第2周相比, 第6周、第8周与第4周相比有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$; 图1D)。

2.4 高脂饮食干预期间主动脉根部 As 斑块内增殖巨噬细胞密度与巨噬细胞密度百分比的动态变化

正常饮食组第2周至第8周增殖巨噬细胞密度与巨噬细胞密度百分比分别为 $5.2\% \pm 1.0\%$ 、

$6.2\% \pm 1.2\%$ 、 $7.0\% \pm 0.8\%$ 和 $7.5\% \pm 0.7\%$, 可见随着年龄的增加斑块内巨噬细胞密度与增殖巨噬细胞密度百分比逐渐增加; 高脂饮食组第2周至第8周增殖巨噬细胞密度与巨噬细胞密度百分比分别为 $7.30\% \pm 0.8\%$ 、 $9.80\% \pm 0.3\%$ 、 $11.1\% \pm 0.9\%$ 和 $9.5\% \pm 0.8\%$, 其中高脂饮食组于第6周最高。高脂饮食组增殖巨噬细胞密度与巨噬细胞密度百分比与正常饮食组相比均有统计学意义 ($P < 0.01$); 高脂饮食组增殖巨噬细胞密度与巨噬细胞密度百分比第4周、第6周、第8周与第2周相比有统计学意义 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$; 图1D)。

2.5 高脂饮食干预期间循环 $\text{Ly6G}^- \text{CD11b}^+ \text{LyC}^{\text{hi}}$ 单核细胞亚群比值的动态变化

正常饮食组第2周至第8周单核细胞亚群比值分别为 $50.2\% \pm 3.4\%$ 、 $50.0\% \pm 3.2\%$ 、 $52.0\% \pm 4.6\%$ 和 $53.2\% \pm 3.7\%$; 高脂饮食组第2周至第8周单核细胞亚群比值分别为 $62.6\% \pm 3.9\%$ 、 $67.6\% \pm 4.7\%$ 、 $71.5\% \pm 5.5\%$ 和 $76.4\% \pm 6.5\%$, 可见随着高脂饮食时间的增加 $\text{Ly6G}^- \text{CD11b}^+ \text{LyC}^{\text{hi}}$ 单核细胞亚群比值逐渐增大。高脂饮食组 $\text{Ly6G}^- \text{CD11b}^+ \text{LyC}^{\text{hi}}$ 单核细胞亚群比值与正常饮食组相比均有统计学意义 ($P < 0.001$); 高脂饮食组 $\text{Ly6G}^- \text{CD11b}^+ \text{LyC}^{\text{hi}}$ 单核细胞亚群比值第6周与第2周相比, 第8周与第2周、第4周相比有统计学意义 ($P < 0.001$ 或 $P < 0.05$; 图2)。

3 讨论

新近的研究显示, As 的形成过程中内皮的损伤和脂质的浸润可诱导单核细胞迁移和局部巨噬细胞的自我增殖, 引起斑块内巨噬细胞数增加, 进一步吞噬脂质形成泡沫细胞^[9], 这一由单核/巨噬细胞介导的炎症反应贯穿整个病变过程^[10], 可见单核/巨噬细胞在 As 的发生发展过程中有至关重要的作用^[11]。本研究采用高脂饮食饲养的 ApoE^{-/-} 小鼠建立 As 模型, 通过对主动脉根部的病理学和循环单核细胞亚群的动态观察, 发现高脂饮食4周后局部总巨噬细胞数和增殖巨噬细胞数达到峰值, 并与循环单核细胞之间无明显关系, 本研究结果对于后续以巨噬细胞增殖为靶点的相关研究具有借鉴价值。

小鼠循环单核细胞可分为两个亚群: 经典型单核细胞 ($\text{Ly6G}^- \text{CD11b}^+ \text{LyC}^{\text{hi}}$ 单核细胞) 和非经典型单核细胞 ($\text{Ly6G}^- \text{CD11b}^+ \text{LyC}^{\text{lo}}$ 单核细胞)^[12], 其中 $\text{Ly6G}^- \text{CD11b}^+ \text{LyC}^{\text{hi}}$ 单核细胞亚群起促炎反应作用, 经促炎因子刺激后高表达炎性介质, 分化为促炎型

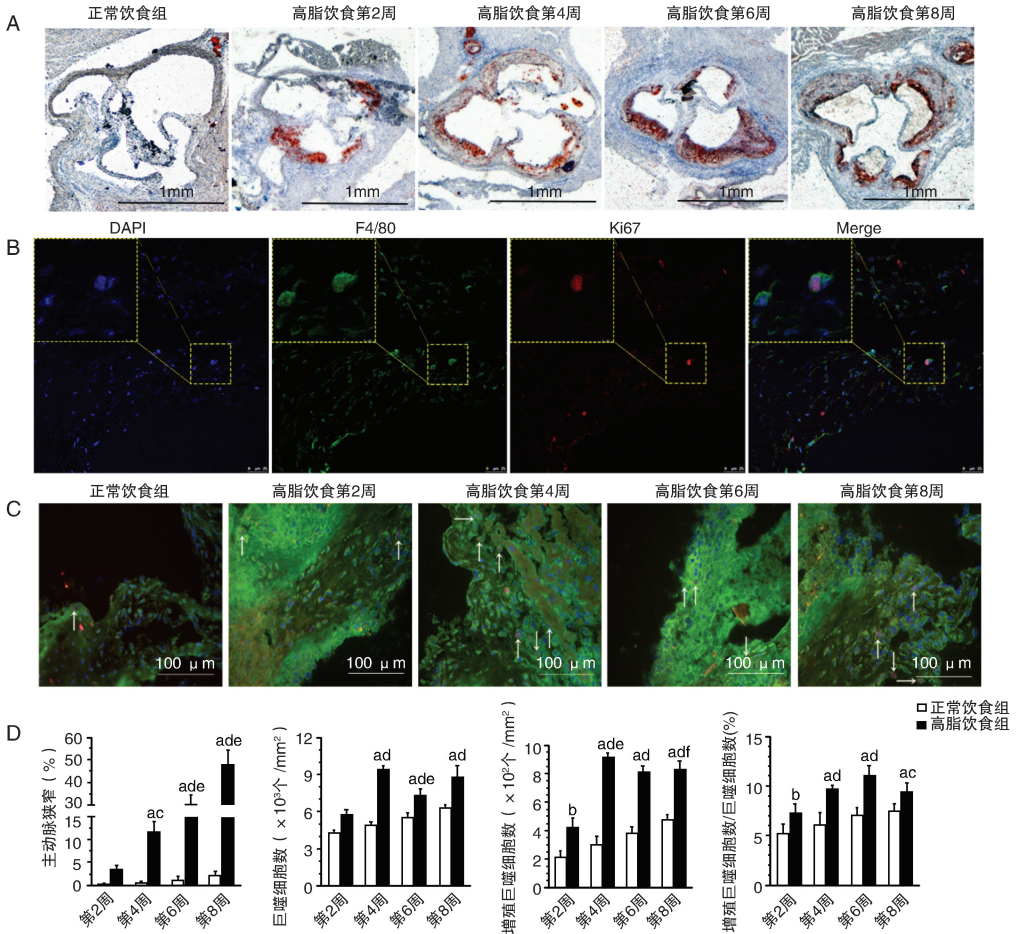


图 1. 主动脉窦病理染色 图 1A 为主动脉窦油红 O 染色,图 1B 为激光扫描共聚焦显微镜检测免疫荧光染色结果 (绿色为 F4/80,红色为 Ki67,蓝色为细胞核),图 1C 为荧光显微镜检测免疫荧光结果,图 1D 为实验分析结果。a 为 $P < 0.05$,b 为 $P < 0.01$,与正常饮食组相应时间点比较;c 为 $P < 0.01$,d 为 $P < 0.001$,与高脂饮食组第 2 周比较;e 为 $P < 0.01$,f 为 $P < 0.001$,与高脂饮食组第 4 周比较。

Figure 1. Pathological staining in mice aortic sinus

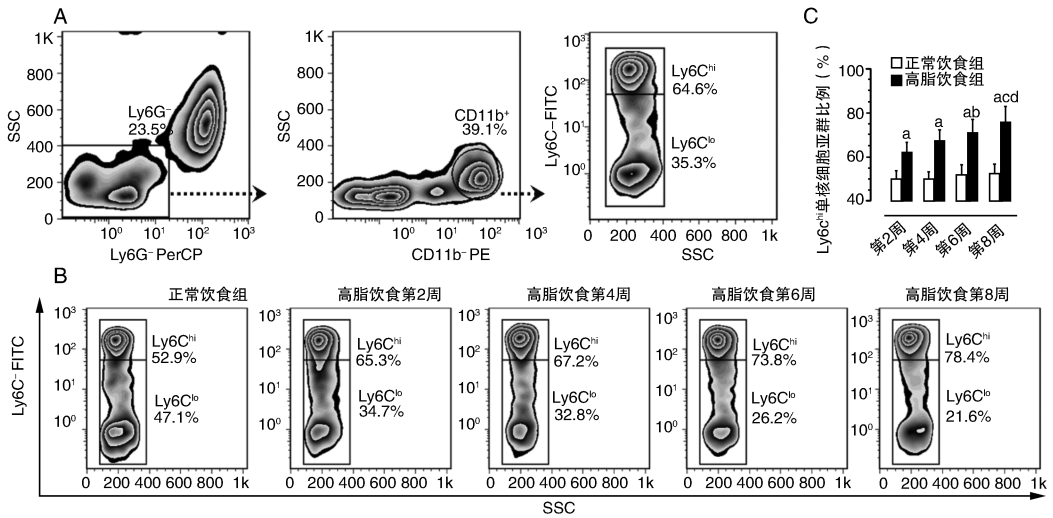


图 2. 流式细胞术检测单核细胞亚群比例 图 2A 为设门策略,图 2B 为各时间点单核细胞亚群比值,图 2C 为流式分析结果。a 为 $P < 0.001$,与正常饮食组相应时间点比较;b 为 $P < 0.05$,c 为 $P < 0.001$,与高脂饮食组第 2 周比较;d 为 $P < 0.05$,与高脂饮食组第 4 周比较。

Figure 2. Peripheral blood monocytes subsets proportion was detected by flow cytometry

巨噬细胞参与炎症反应^[13]; 机体生理状态下, 骨髓、外周血和脾脏中 Ly6C^{lo} 细胞的产生和生存周期主要由 Ly6G⁻ CD11b⁺ LyC^{hi} 这一前体细胞调节^[14]。在 As 形成过程中由于脂质浸润和内皮损伤等刺激, 诱导单核细胞从骨髓和脾脏中移出, 循环中 Ly6G⁻ CD11b⁺ LyC^{hi} 单核细胞亚群比例升高。新近研究发现, 降低 Ly6C^{hi} 单核细胞亚群的比例可以抑制 As 的形成且改善疾病的预后^[15]。本研究进一步证实在 As 形成过程中高脂饮食组 Ly6G⁻ CD11b⁺ LyC^{hi} 单核细胞亚群比例均有明显升高, 与动脉狭窄程度均随高脂饮食时间的增加而递增, 两者的变化趋势基本一致。

斑块内巨噬细胞可摄取氧化型低密度脂蛋白, 释放不同的酶、抑制剂和生物活性介质, 在 As 的发生、发展过程中具有重要作用。早期研究认为斑块内巨噬细胞主要由单核细胞分化而来, 随着对其研究的深入, Robbins 等^[16] 利用 CD45.1 和 CD45.2 小鼠异种共生技术证实在稳定的斑块内巨噬细胞源性泡沫细胞主要来自局部增殖巨噬细胞。新近的报道显示抑制局部巨噬细胞的增殖可降低斑块内巨噬细胞的聚集, 是治疗 As 的潜在靶点^[17]。本研究利用 ApoE^{-/-} 小鼠高脂饮食的 As 模型, 分别观察高脂饮食第 2 周、第 4 周、第 6 周和第 8 周 4 个时间点巨噬细胞和增殖巨噬细胞密度的变化, 发现高脂饮食第 4 周之前巨噬细胞和增殖巨噬细胞的密度呈递增趋势, 之后到达平台期呈动态变化, 巨噬细胞和增殖巨噬细胞的变化局势基本一致。

早期的研究认为组织内的巨噬细胞均由循环单核细胞浸润分化而来, 本实验直接否定了循环单核细胞是所有巨噬细胞的前体细胞, 证实了组织内的巨噬细胞在特定的情况下存在自我增殖的现象, 进一步丰富了单核细胞和巨噬细胞的关联性。

本实验的主要局限性在于两个观察点间期长, 更窄的观察周期, 能更精确地帮助了解 Ly6G⁻ CD11b⁺ LyC^{hi} 单核细胞亚群比例和增殖巨噬细胞密度在 As 斑块形成过程中的动态变化。其次, 巨噬细胞的异质性将其分为经典型活化的巨噬细胞 M1 型和替代型活化的巨噬细胞 M2 型两个亚型, M1 型主要起促炎作用, M2 型主要起抗炎作用^[15], 本研究未能将斑块内巨噬细胞区分为 M1 还是 M2 表型。

单核/巨噬细胞系在 As 疾病中有至关重要的作用, 已有证据显示调节单核/巨噬细胞亚群的比例和功能是治疗 As 的潜在靶点^[15]。本研究揭示 As 病变进展过程中循环单核细胞亚群和斑块内局部增殖巨噬细胞的动态变化规律, 对 As 相关的基础研究具有借鉴价值, 尤其是以增殖巨噬细胞的增殖活

性为靶点的新型干预研究。

[参考文献]

- [1] 陈灿, 刘江华, 祖旭宇, 等. 胰岛素信号通路与 As[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2013, 33 (1): 62-66.
- [2] Swirski FK, Nahrendorf M. Leukocyte behavior in atherosclerosis, myocardial infarction, and heart failure [J]. Science, 2013, 339 (6116): 161-166.
- [3] Allahverdiyan S, Pannu PS, Francis GA. Contribution of monocyte-derived macrophages and smooth muscle cells to arterial foam cell formation [J]. Cardiovasc Res, 2012, 95 (2): 165-172.
- [4] Robbins CS, Chudnovskiy A, Rauch PJ, et al. Extramedullary hematopoiesis generates Ly-6C(high) monocytes that infiltrate atherosclerotic lesions [J]. Circulation, 2012, 125 (2): 364-374.
- [5] Jawien J. The role of an experimental model of atherosclerosis: apoE-knockout mice in developing new drugs against atherogenesis [J]. Curr Pharm Biotechnol, 2012, 13 (13): 2 435-439.
- [6] Kyaw T, Winship A, Tay C, et al. Cytotoxic and proinflammatory CD8⁺ T lymphocytes promote development of vulnerable atherosclerotic plaques in apoE-deficient mice [J]. Circulation, 2013, 127 (9): 1 028-039.
- [7] Venegas-Pino DE, Banko N, Khan MI, et al. Quantitative analysis and characterization of atherosclerotic lesions in the murine aortic sinus [J]. J Vis Exp, 2013, 82: 50933.
- [8] Ji WJ, Ma YQ, Zhou X, et al. Temporal and spatial characterization of mononuclear phagocytes in circulating, lung alveolar and interstitial compartments in a mouse model of bleomycin-induced pulmonary injury [J]. J Immunol Methods, 2014, 403 (1): 7-16.
- [9] Libby P, Sukhova G, Lee RT, et al. Molecular biology of atherosclerosis [J]. Int J Cardiol, 2013, 62: S 23-29.
- [10] 赵季红, 梁国庆, 周邵玮, 等. 同型半胱氨酸联合踝臂指数及 C 反应蛋白在下肢外周动脉疾病患者中的临床意义 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2012, 20 (10): 931-933.
- [11] Moore KJ, Tabas I. Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis [J]. Cell, 2011, 145 (3): 341-355.
- [12] Hilgendorf I, Swirski FK. Making a difference: monocyte heterogeneity in cardiovascular disease [J]. Curr Ather Rep, 2012, 14 (5): 450-459.
- [13] Epelman S, Lavine KJ, Randolph GJ. Origin and functions of tissue macrophages [J]. Immunity, 2014, 41 (1): 21-35.
- [14] Yona S, Kim KW, Wolf Y, et al. Fate mapping reveals origins and dynamics of monocytes and tissue macrophages under homeostasis [J]. Immunity, 2013, 38 (1): 79-91.
- [15] Williams HJ, Fisher EA, Greaves DR. Macrophage differentiation and function in atherosclerosis: opportunities for therapeutic intervention [J]? J Innate Immun, 2012, 4 (5-6): 498-508.
- [16] Robbins CS, Hilgendorf I, Weber GF, et al. Local proliferation dominates lesional macrophage accumulation in atherosclerosis [J]. Nat Med, 2013, 19 (9): 1 166-172.
- [17] Phimister EG, Parks BW, Lusis AJ. Macrophage accumulation in atherosclerosis [J]. New Engl J Med, 2013, 369 (24): 2 352-353.

(此文编辑 文玉珊)