

NOD1/RIP2 信号通路对巨噬细胞炎性活化的作用

侯亮¹, 路英进¹, 陈伟¹, 王俐达², 丁彦春²

(1.大连医科大学 2013 级研究生,辽宁省大连市 116044;2.大连医科大学附属二院心内五科,辽宁省大连市 116027)

[关键词] NOD1; RIP2; 动脉粥样硬化; 巨噬细胞

[摘要] 目的 以人单核细胞株 THP-1 为基础,探讨 NOD1/受体相互作用蛋白 2(RIP2)信号通路对巨噬细胞炎性活化及表型的影响。方法 用 160 nmol/L 的佛波酯(PMA)将 THP-1 单核细胞诱导分化成巨噬细胞,分别用 10、25 和 50 mg/L 浓度的氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)刺激 THP-1 源性巨噬细胞 24 h,以空白组为对照组。应用 RT-PCR 法检测 NOD1 和 RIP2 的 mRNA 表达情况;应用 Western blot 法检测 NOD1 和 RIP2 的蛋白表达情况;应用 ELISA 法检测细胞培养液中单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)和巨噬细胞移动抑制因子(MIF)的分泌;应用流式细胞学检测巨噬细胞表面抗原 CD16、CD68 表达。结果 ox-LDL 能以剂量依赖的方式激活 THP-1 源性巨噬细胞中 NOD1/RIP2 信号通路,随着 ox-LDL 刺激浓度的增加,NOD1、RIP2 的 mRNA 和蛋白表达水平升高($P < 0.05$)。NOD1/RIP2 信号通路激活后能使细胞培养物上清液中炎症因子 MIF 和 MCP-1 的表达增加,随着 ox-LDL 刺激浓度的增加,MCP-1 和 MIF 的分泌增多($P < 0.05$)。NOD1/RIP2 信号通路激活后能改变巨噬细胞表面抗原 CD16、CD68 的表达,随着 ox-LDL 刺激浓度的变化,巨噬细胞表面抗原 CD16/CD68 的平均荧光强度发生变化,其中 50 mg/L 组能显著下调 CD16/CD68 的表达($P < 0.01$)。结论 巨噬细胞中 NOD1/RIP2 信号通路能被 ox-LDL 以剂量依赖的方式激活,NOD1/RIP2 信号通路激活后能导致巨噬细胞的炎性活化及其表型变化,这可能是其参与动脉粥样硬化形成和发展过程的主要机制。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effects of NOD1/RIP2 Signal Pathway on Macrophage Inflammatory Activation

HOU Liang¹, LU Ying-Jin¹, CHEN WEI¹, WANG Li-Da², and DING Yan-Chun²

(1. 2013 Graduate Students of Dalian Medical University, Dalian, Liaoning 116044, China; 2. Department of Cardiology V, the Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian, Liaoning 116027, China)

[KEY WORDS] NOD1; RIP2; Atherosclerosis; Macrophage

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effects of NOD1/receptor-interacting protein 2(RIP2) signal pathway on macrophage inflammatory activation and phenotype by human monocytic cell line THP-1. **Methods** Human THP-1 cells were differentiated into macrophages by addition of 160 nmol/l phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) for 24 h. Macrophages were incubated with different concentrations of ox-LDL (10, 25, 50 mg/L) for 24 h. The expression of NOD1 and RIP2 was detected by RT-PCR and Western blot. ELISA was used to detect the secretion of monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1) and macrophage migration inhibition factor (MIF). FACS was used to detect membrane molecule CD16/CD68. **Results** ox-LDL could up-regulate the expression of NOD1/RIP2 signal pathway as a dose-dependent manner in THP-1 derived macrophages. The expression of NOD1, RIP2 mRNA and protein was up-regulated followed the increasing concentrations of ox-LDL. Activation of NOD1/RIP2 signaling pathway increased the expression of MCP-1 and MIF from the cell culture supernatants. With the increasing concentrations of ox-LDL, the secretion of MCP-1 and MIF increased($P < 0.05$). The activation of NOD1/RIP2 signaling pathway could change the expression of membrane molecule CD16/CD68. With the different ox-LDL concentrations, the mean fluorescence intensity of CD16/CD68 varied. 50 mg/L group could significantly reduce the expression of CD16/CD68($P < 0.01$). **Conclusion** ox-LDL can up-regulate the expression of NOD1/RIP2 signal pathway in a dose-dependent manner in macrophages. NOD1/RIP2 signal pathway ena-

[收稿日期] 2015-07-24

[修回日期] 2015-11-18

[基金项目] 大连市科学技术基金资助(2013J21DW021)

[作者简介] 侯亮,硕士研究生,主要从事高血压、冠心病基础和临床研究,E-mail 为 870317779@qq.com。通讯作者丁彦春,主任医师,教授,硕士研究生导师,主要从事高血压、冠心病的基础临床研究以及介入治疗,E-mail 为 yanchunding@aliyun.com。

bles the macrophage inflammatory activation and polarity switch, which may be the main mechanism in the initiation and progression of atherosclerosis.

激活的巨噬细胞能产生多种炎症因子、趋化因子和多种酶的激动剂和抑制剂,连接固有和获得性免疫,调节脂质蓄积,参与血管的重构和斑块的失稳定。巨噬细胞的炎性活化涉及表型及复杂的细胞内信号传导网络。核苷酸结合寡聚化结构域样受体(nucleotide-binding oligomerization domain like receptors, NOD-like receptors, NLR)家族是固有免疫反应模式识别受体的主要成员,NOD1 和 NOD2 是 NLR 家族两个主要成员,NLR 与其配体结合后可以激活下游的 RIP2,继而通过 NF- κ B 途径或 MAPK 途径两条途径诱导细胞因子、趋化因子等表达,引起炎症反应。目前已在动脉粥样硬化(As)斑块中发现 NOD1 和 NOD2 的特异性配体细菌的肽聚糖(peptidoglycan, PGN),并发现它与斑块的不稳定有关^[1]。我们研究发现 NOD/RIP2 信号通路参与大鼠颈动脉损伤后的再狭窄过程及血管平滑肌细胞的增殖及表型变化,表明 NOD/RIP2 信号通路的激活可能参与 As 的形成^[2],但具体机制尚不清楚。本研究用氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)刺激 THP-1 源性巨噬细胞,观察 NOD1/RIP2 信号通路活化后,对炎症因子单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1)和巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibition factor, MIF)分泌以及表面抗原 CD16/CD68 表达的影响,探讨 NOD1/RIP2 信号通路在巨噬细胞活化以及极化中的作用,为巨噬细胞在 As 形成机制中的作用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 主要实验材料

THP-1 细胞由中国科学院上海细胞库提供;ox-LDL 购于北京欣源佳生物科技有限公司;RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒购于 BIONEER 公司;佛波酯(PMA)购于 Sigma 公司;兔抗人 NOD1 多克隆抗体、羊抗兔多克隆抗体、兔抗人 RIP2 多克隆抗体购于 Santa Cruz Biotechnology Inc 公司;RIPA 裂解液、金鸡纳酸(BCA)蛋白浓度测定试剂盒、蛋白酶抑制剂苯甲基磺酰氟化物购于 PMSF 公司、鼠抗人 β -actin、兔抗鼠 β -actin、蛋白质免疫印迹法(Western blot)荧光检测试剂盒购于江苏碧云天生物技术研究所以;人 MIF ELISA 试剂盒购于上海细胞生物公司,人 MCP-

1 ELISA 试剂盒购于达科为生物技术有限公司;流式细胞抗体 CD16-PE、CD68-PE、IgG2a-PE 购于美国 BD 公司,胎牛血清购于兰州民海生物公司;RPMI1640 培养基购于 HycLone 和 Gibco 公司;其他试剂为国产或进口分析纯。

1.2 细胞培养及 THP-1 细胞的诱导分化

THP-1 单核细胞培养于含 10% 胎牛血清、100 kU/L 青霉素、100 kU/L 链霉素的 RPMI1640 中,置于 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 饱和湿度的培养箱中培养。细胞呈单个、圆形、悬浮生长。每 2~3 天更换培养基。选取传 3~4 代以后细胞,以 1×10^9 /L 细胞密度接种于 6 孔板,以 160 nmol/L PMA 诱导 24 h 后,细胞贴壁,变成不规则形或梭形,伸出伪足,诱导形成巨噬细胞。

1.3 细胞分组及处理

对照组:对 THP-1 源性巨噬细胞不给予药物处理;实验组:分别用终浓度为 10、25、50 mg/L 的 ox-LDL 刺激 THP-1 源性巨噬细胞 24 h。

1.4 RT-PCR 法检测 THP-1 源性巨噬细胞中 NOD1 和 RIP2 mRNA 表达

采用 RT-PCR 法,用 TRIZOL 试剂提取各组样本总 RNA,逆转录合成 cDNA,进行 PCR 循环。Bioneer 公司合成引物序列 RIP2-F:5'-TCCTG-GAAATCACAGTTGG-3',RIP2-R:5'-TGAGGTCCTT-GTAGGCTTG-3',PCR 扩增产物长度为 291 bp;NOD1-F:5'-GCTGAAGGGTGACTAAACGG-3',NOD1-R:5'-ATGAGCGGGCAAGAGGAC-3',PCR 扩增产物长度为 148 bp。内参采用 β -actin。取 RT-PCR 产物在 1% 琼脂糖凝胶电泳中电泳,样品上样量均 10 μ L,DNA Marker 5 μ L,溴化乙锭染色,100 V 200 mA,25 min 电泳。结果用 Image J 图像分析软件进行图像灰度扫描测定。得出目的基因与内参基因的吸光度比值,即为目的基因表达水平的半定量指标。

1.5 Western blot 检测 THP-1 源性巨噬细胞中 NOD1 和 RIP2 蛋白表达

收集样品,提取总蛋白。BCA 法进行蛋白定量。加等体积 SDS Loading,煮沸使蛋白变性。电泳分离蛋白质,220 mA 100 min。将蛋白质转移至 PVDF 膜上。孵育一抗 4 $^{\circ}$ C 过夜,TBST 洗膜 10 min 三次,孵育二抗,室温 2 h,TBST 洗膜 10 min 三次。Western blot 荧光检测试剂激发荧光,显示于 X 光片,显影,定影后进行图像分析。结果用 Image J 图像分析软件进行图像灰度扫描测定,得出目的蛋白

与内参蛋白的吸光度的比值,即为目的蛋白表达水平的半定量指标。

1.6 ELISA 法检测细胞培养物上清液中细胞因子 MIF、MCP-1 的浓度

各组细胞培养在等体积的培养液中,收集培养物的上清液,储存在 -80°C 冰箱。按照 ELISA 试剂盒说明书方法,将试剂盒提供的原倍标准品在 EP 管中加入标准品稀释液倍比稀释,分别设空白孔、标准品孔、待测样品孔。在标准孔中加标准品 $100\ \mu\text{L}$,待测样品 $100\ \mu\text{L}$, 37°C 温箱孵育 $90\ \text{min}$,洗板 5 次,除空白孔外加入生物素化抗体工作液,封板胶封孔, 37°C 温箱孵育 $60\ \text{min}$,洗板 5 次,除空白孔外,加入酶结合物工作液,封板胶封孔, 37°C 温箱避光孵育 $30\ \text{min}$ 。洗板 5 次,加入显色液, 37°C 温箱避光孵育 $15\ \text{min}$,迅速加入终止液,混匀后即刻在 $450\ \text{nm}$ 波长下读值,测定 MIF、MCP-1 的浓度。

1.7 流式细胞学检测 THP-1 源性巨噬细胞表面抗原 CD16/CD68 表达

胰蛋白酶消化各组细胞后,计数,分管,离心弃上清,PBS 清洗后, $100\ \mu\text{L}$ PBS 重悬细胞,再分别加入 $20\ \mu\text{L}$ 荧光素标记的 CD16、CD68 单克隆抗体及对应的同型抗体,室温避光 $15\ \text{min}$ 孵育,震荡混匀,室温避光孵育 $10\ \text{min}$, $2\ 500\ \text{r}/\text{min}$ 离心 $3\ \text{min}$,弃上清,加入 PBS $0.5\ \text{mL}$ 混匀,重悬细胞采用流式细胞仪(FACSCaLibar,美国 BD 公司)检测。用 CeLQuest 软件分析结果,以荧光阳性的细胞的平均荧光强度作为定量指标。

1.8 统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件对数据进行统计分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间差异比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 q 检验,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ox-LDL 对 THP-1 源性巨噬细胞中 NOD1/RIP2 信号通路表达的影响

分别用终浓度为 10 、 25 和 $50\ \text{mg}/\text{L}$ 的 ox-LDL 刺激 THP-1 源性巨噬细胞 $24\ \text{h}$,用 RT-PCR 和 Western blot 法检测 NOD1、RIP2 mRNA 以及蛋白的表达,结果表明,对照组表达低水平 NOD1、RIP2 mRNA 和蛋白,随着 ox-LDL 刺激浓度的增加,NOD1、RIP2 mRNA 和蛋白表达水平呈剂量依赖性增加,其中 $50\ \text{mg}/\text{L}$ 组表达最高($P<0.01$;图 1 和图 2)。

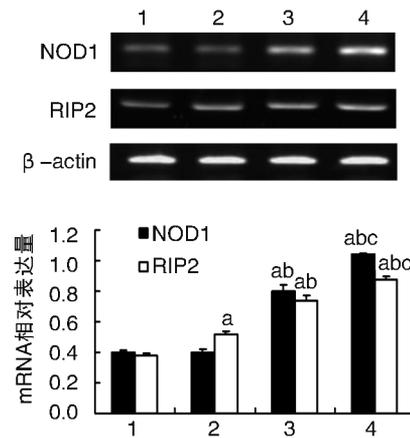


图 1. ox-LDL 对 THP-1 源性巨噬细胞 NOD1、RIP2 mRNA 表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$) 1 为对照组,2~4 依次为 $10\ \text{mg}/\text{L}$ 、 $25\ \text{mg}/\text{L}$ 和 $50\ \text{mg}/\text{L}$ ox-LDL 组。a 为 $P<0.01$,与对照组比较;b 为 $P<0.01$,与 $10\ \text{mg}/\text{L}$ ox-LDL 组比较;c 为 $P<0.01$,与 $25\ \text{mg}/\text{L}$ ox-LDL 组比较。

Figure 1. Effects of ox-LDL on NOD1 and RIP2 mRNA expression in THP-1 induced macrophage($\bar{x}\pm s, n=3$)

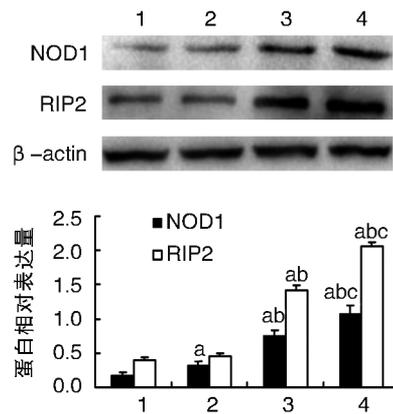


图 2. ox-LDL 对 THP-1 源性巨噬细胞 NOD1、RIP2 蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$) 1 为对照组,2~4 依次为 $10\ \text{mg}/\text{L}$ 、 $25\ \text{mg}/\text{L}$ 和 $50\ \text{mg}/\text{L}$ ox-LDL 组。a 为 $P<0.01$,与对照组比较;b 为 $P<0.01$,与 $10\ \text{mg}/\text{L}$ ox-LDL 组比较;c 为 $P<0.01$,与 $25\ \text{mg}/\text{L}$ ox-LDL 组比较。

Figure 2. Effects of ox-LDL on NOD1 and RIP2 protein expression in THP-1 induced macrophage($\bar{x}\pm s, n=3$)

2.2 NOD1/RIP2 信号通路活化后对 THP-1 源性巨噬细胞培养物上清液中炎症因子分泌的影响

ELISA 法检测结果表明 NOD1/RIP2 信号通路激活后能使细胞培养物上清液中炎症因子 MCP-1 和 MIF 的分泌增加,随着 ox-LDL 刺激浓度的增加,MCP-1 和 MIF 分泌呈剂量依赖性升高,其中 $50\ \text{mg}/\text{L}$ 组可以显著增加炎症因子的分泌,各组间差异有统计学意义(表 1)。

表 1. NOD1/RIP2 信号通路活化后对 THP-1 源性巨噬细胞培养液中炎症因子 MCP-1 和 MIF 分泌的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 1. Effects of NOD1/RIP2 signal pathway activation on MCP-1 and MIF secretion in THP-1 induced macrophage($\bar{x}\pm s, n=3$)

ox-LDL 浓度	MCP-1 (pg/L)	MIF (ng/L)
0 mg/L (对照组)	5.71±1.94	4.61±0.40
10 mg/L	10.66±3.13 ^a	5.74±0.38 ^b
25 mg/L	20.08±1.57 ^{bc}	7.09±0.41 ^{bc}
50 mg/L	29.30±1.48 ^{bed}	18.67±0.15 ^{bed}

a 为 $P<0.05$, b 为 $P<0.01$, 与对照组比较; c 为 $P<0.01$, 与 10 mg/L ox-LDL 组比较; d 为 $P<0.01$, 与 25 mg/L ox-LDL 组比较。

2.3 NOD1/RIP2 信号通路活化后对 THP-1 源性巨噬细胞表面抗原 CD16、CD68 表达的影响

流式细胞术测定结果表明 NOD1/RIP2 信号通路活化后能改变巨噬细胞表面抗原 CD16、CD68 的

表达,低浓度 ox-LDL 刺激对 THP-1 源性巨噬细胞表面 CD16、CD68 的表达有轻度上调,但差异无显著性,随着刺激浓度的增加,CD16、CD68 的表达下调,以 50mg/L 组最为明显($P<0.01$;图 3 和表 2)。

表 2. NOD1/RIP2 信号通路活化后对 THP-1 源性巨噬细胞 CD16、CD68 表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 2. Effects of NOD1/RIP2 signal pathway activation on CD16/CD68 expression in THP-1 induced macrophage($\bar{x}\pm s, n=3$)

ox-LDL 浓度	CD16	CD68
0 mg/L (对照组)	25.2±0.6	29.8±0.4
10 mg/L	28.3±1.6	30.9±0.7
25 mg/L	23.7±0.7 ^a	29.9±1.7
50 mg/L	21.3±0.6 ^{bed}	26.9±0.9 ^{bed}

a 为 $P<0.05$, b 为 $P<0.01$, 与对照组比较; c 为 $P<0.01$, 与 10 mg/L ox-LDL 组比较; d 为 $P<0.05$, 与 25 mg/L ox-LDL 组比较。

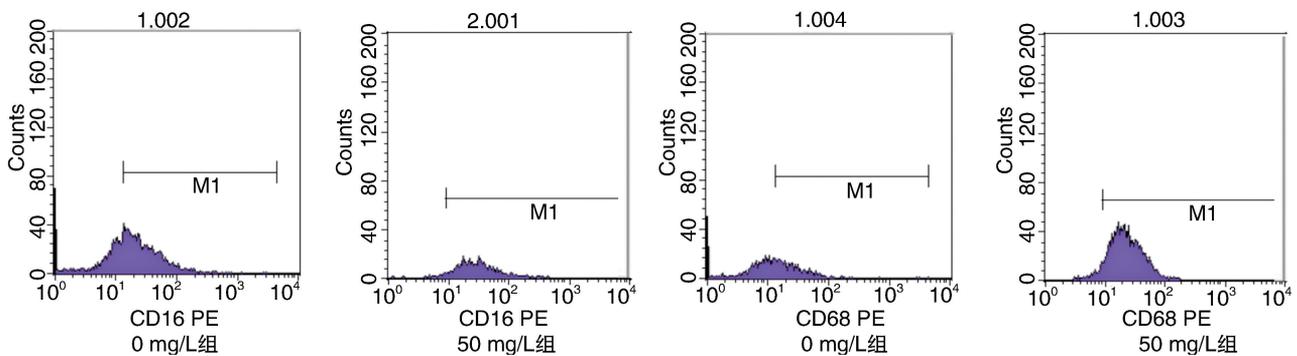


图 3. NOD1/RIP2 信号通路活化后 THP-1 源性巨噬细胞表面抗原 CD16、CD68 的 FACS 检测

Figure 3. Effects of NOD1/RIP2 signal pathway activation on CD16/CD68 expression by FACS

3 讨论

巨噬细胞吞噬 ox-LDL, 形成泡沫细胞, 进而产生多种炎症因子、趋化因子和多种酶的激动剂和抑制剂, 是动脉粥样斑块形成和发展的关键环节。As 是一种慢性炎症反应性疾病, 关于固有免疫参与 As 形成和发展已得到广泛认同, 在本研究中我们发现 ox-LDL 能够以剂量依赖的方式诱导 THP-1 源性巨噬细胞 NOD1、RIP2 mRNA 和蛋白的表达, 此外 ox-LDL 还可以引起巨噬细胞培养物上清液中 MCP-1、MIF 的表达增加, ox-LDL 在 As 的形成发展中具有重要作用, 它作为一种损伤相关的分子模式, 已经被证实可以激活另一类较早发现的模式识别受体 Toll 样受体 (toll-like receptors, TLR), 继而引起炎症反应, 参与 As 的形成^[3]。本研究表明 ox-LDL 在被巨噬细胞吞噬的过程中能够以某种方式上调并激活细胞内 NOD1/RIP2 信号通路, 诱导巨噬细胞分泌

炎症因子。NOD1 作为 NLR 家族中的重要成员, 发挥着细胞内的免疫监视防御功能。我们的发现证实了泡沫细胞的形成中存在着 NOD1/RIP2 介导的固有免疫信号通路的激活, 并能促进巨噬细胞分泌炎症细胞因子。

关于 NOD1 介导的信号通路在 As 形成过程中的作用已有少数报道。Kanno 等^[4]发现长期给予载脂蛋白 E 基因缺失小鼠服用免疫抑制剂 565 (NOD1 配体) 可以加速小鼠动脉粥样斑块的形成, 并且 NOD1 基因敲除能够使载脂蛋白 E 基因缺失小鼠形成的粥样斑块减小, 表明 NOD1 与 As 的形成和发展有一定的联系。Yan 等^[5]在 RIP2 基因敲除小鼠中发现尽管炎症反应受损, 但其 As 形成增加, 进一步在 RIP2 基因敲除巨噬细胞中发现巨噬细胞吞噬脂质增加, 并认为 RIP2 在巨噬细胞中的效应可能是通过改变脂质代谢实现的。这些均表明 NOD1/RIP2 信号通路在 As 形成中具有重要作用, 但关于其具体机制却知之甚

少。激活的 NOD1 通过募集下游分子 RIP2,能够引起 IKK 的激活致 NF- κ B 抑制子 I κ B α 的降解,然后 NF- κ B 转位入核内,能够使 NF- κ B 依赖的靶基因转录,如 TNF- α 、MCP-1 等基因^[6]。本研究检测到下游炎症因子 MCP-1 和 MIF 也可以被 ox-LDL 以剂量依赖的方式诱导,提示 NOD1 信号通路活化后,通过 RIP2 激酶激活了 NF- κ B,上调 MCP-1 和 MIF 的表达。MIF 在巨噬细胞黏附、向内皮迁移及转化为泡沫细胞过程发挥了重要作用,MCP-1 可使单核细胞渗透到内皮细胞下,在内皮间隙中加快摄取脂蛋白而泡沫化,加速单核细胞的滚动和黏附,进而加快 As 病变^[7-9]。这些都提示巨噬细胞中 NOD1/RIP2 介导的固有免疫信号通路可以通过调节巨噬细胞的炎性活化,参与 As 的形成过程。

巨噬细胞的极化是目前研究的热点,人们效仿辅助性 T 细胞的极化方式将巨噬细胞分为两大类,即促进炎症的经典活化巨噬细胞 (classically activated macrophage, CAM; 即 M1 型) 和抗炎的选择性活化巨噬细胞 (alternatively activated macrophage, AAM; 即 M2 型)^[10-11]。但是关于 M1 型和 M2 型巨噬细胞的鉴别尚没有统一的标准,巨噬细胞各极化类型的表面标记物并没有特异性。在本研究中我们发现随着 ox-LDL 刺激浓度的变化,巨噬细胞表面抗原 CD16、CD68 的平均荧光强度随之发生变化,提示在巨噬细胞中 NOD1/RIP2 信号通路激活后可以引起其表面抗原的表达发生变化。CD16 可以调控巨噬细胞的吞噬功能,并且通常认为表达于 M1 型巨噬细胞,但转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 亦可诱导血液单核细胞表达 CD16,而 TGF- β 是一种可由 M2 型巨噬细胞分泌的抗炎因子,而 CD68 通常被认为是单核巨噬细胞的表面标志^[12-13]。Bouhle 等人在动脉斑块中发现 CD68⁺ 细胞群能够表达甘露糖受体,而甘露糖受体是 M2 巨噬细胞的表面标志,表明 NOD1/RIP2 信号通路激活后可以导致巨噬细胞炎性活化的同时,还可以诱导巨噬细胞的极性发生转换,但具体机制有待于进一步研究。近来体内研究发现,已分化的 M1 和 M2 型巨噬细胞之间也可进行相互转化,斑块进展期存在 M2 型巨噬细胞向 M1 型巨噬细胞转化的现象^[14-15]。提示 NOD1/RIP2 信号通路可能通过调节巨噬细胞极性改变来参与 As 的形成与发展。

总之,本研究已证实巨噬细胞中 NOD1/RIP2 信号通路能被 ox-LDL 以剂量依赖的方式激活,NOD1/

RIP2 信号通路激活后能导致巨噬细胞的炎性活化及其极性转换,这可能是其参与 As 形成和发展过程的主要机制,尽管 NOD1 信号通路的激活以及在巨噬细胞吞噬脂质过程中发挥作用的具体机制仍不清楚,但是它为我们认识免疫反应在 As 中的作用提供新的实验依据,为 As 的防治提供了新的思路。

[参考文献]

- [1] Erridge C. The roles of pathogen-associated molecular patterns in atherosclerosis [J]. Trends Cardiovasc Med, 2008, 18(2): 52-56.
- [2] 丁彦春, 曲鹏. 核苷酸结合寡聚结构域受体 1 作为先天免疫识别受体在血管平滑肌细胞激活中的作用 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(11): 2 021-024.
- [3] Miller YI, Choi SH, Wiesner P, et al. Oxidation-specific epitopes are danger-associated molecular patterns recognized by pattern recognition receptors of innate immunity [J]. Circ Res, 2011, 108(2): 235-248.
- [4] Kanno S, Nishio H, Tanaka T, et al. Activation of an innate immune receptor, Nod1, accelerates atherogenesis in Apoe^{-/-} mice [J]. J Immunol (Baltimore, Md; 1950), 2015, 194(2): 773-780.
- [5] Levin MC, Jirholt P, Wramstedt A, et al. Rip2 deficiency leads to increased atherosclerosis despite decreased inflammation [J]. Circ Res, 2011, 109(11): 1 210-218.
- [6] Philpott DJ, Sorbara MT, Robertson SJ, et al. NOD proteins: regulators of inflammation in health and disease [J]. Nature Rev Immunol, 2014, 14(1): 9-23.
- [7] Cheng Q, McKeown SJ, Santos L, et al. Macrophage migration inhibitory factor increases leukocyte-endothelial interactions in human endothelial cells via promotion of expression of adhesion molecules [J]. J Immunol (Baltimore, Md; 1950), 2010, 185(2): 1 238-247.
- [8] Muller II, Muller KA, Schonleber H, et al. Macrophage migration inhibitory factor is enhanced in acute coronary syndromes and is associated with the inflammatory response [J]. PloS One, 2012, 7(6): e38 376.
- [9] Lin J, Kakkar V, Lu X. Impact of MCP-1 in atherosclerosis [J]. Cur Pharmaceutical Des, 2014, 20(28): 4 580-588.
- [10] Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation [J]. Nature Rev Immunol, 2008, 8(12): 958-969.
- [11] 胡旭堂, 胡海英, 王志禄. 巨噬细胞及其亚型在动脉粥样硬化中的研究进展 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2014, 22(7): 747-750
- [12] Wahl SM, Allen JB, Welch GR, et al. Transforming growth factor-beta in synovial fluids modulates Fc gamma RII (CD16) expression on mononuclear phagocytes [J]. J Immunol (Baltimore, Md; 1950), 1992, 148(2): 485-490.
- [13] Iwahashi M, Yamamura M, Aita T, et al. Expression of Toll-like receptor 2 on CD16+ blood monocytes and synovial tissue macrophages in rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Rheumatism, 2004, 50(5): 1 457-467.
- [14] Chinetti-Gbaguidi G, Baron M, Bouhlel MA, et al. Human atherosclerotic plaque alternative macrophages display low cholesterol handling but high phagocytosis because of distinct activities of the PPARgamma and LXRalpha pathways [J]. Circ Res, 2011, 108(8): 985-995.
- [15] Feig JE, Parathath S, Rong JX, et al. Reversal of hyperlipidemia with a genetic switch favorably affects the content and inflammatory state of macrophages in atherosclerotic plaques [J]. Circulation, 2011, 123(9): 989-998.

(此文编辑 许雪梅)