

阿托伐他汀对脂多糖诱导的 THP-1 巨噬细胞炎症因子分泌的影响及机制

喻思扬¹, 曾高峰¹, 刘洋¹, 徐健强¹, 曾梦雅¹, 唐业华², 曾志英³, 石小桥³, 陈莹³, 王燕³, 赵国军⁴
(南华大学附属第二医院 1. 心血管内科, 3. 麻醉科, 湖南省衡阳市 421001; 2. 衡阳市中心医院, 湖南省衡阳市 421001; 4. 桂林医学院组胚教研室, 广西桂林市 541004)

[关键词] 阿托伐他汀; 抗炎效应; 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 1 炎性体; 动脉粥样硬化

[摘要] **目的** 观察阿托伐他汀对脂多糖(LPS)诱导的 THP-1 巨噬细胞炎症因子分泌的影响, 并探讨其机制。**方法** 100 nmol/L 佛波酯孵育 THP-1 细胞 24 h, 使其分化为巨噬细胞后, 换无血清培养基, 加入 LPS 和(或)阿托伐他汀进行处理。酶联免疫吸附法检测细胞上清液中白细胞介素 1 β (IL-1 β) 和白细胞介素 18 (IL-18) 含量, 荧光定量 PCR 检测细胞核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 1 (NLRP1) 炎性体的 mRNA 表达, Western blot 检测细胞 NLRP1 炎性体的蛋白表达。**结果** 阿托伐他汀可呈浓度、时间依赖性抑制 LPS 诱导的 THP-1 巨噬细胞 IL-1 β 和 IL-18 释放; 阿托伐他汀可下调 THP-1 巨噬细胞 NLRP1 炎性体 mRNA 和蛋白的表达。**结论** 阿托伐他汀抑制巨噬细胞炎症因子分泌, 其作用机制可能与其下调 NLRP1 炎性体表达有关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The Effect and Mechanism of Atorvastatin on the THP-1 Macrophage Proinflammatory Cytokines Secretion Induced by Lipopolysaccharide

YU Si-Yang¹, ZENG Gao-Feng¹, LIU Yang¹, XU Jian-Qiang¹, ZENG Meng-Ya¹, TANG Ye-Hua², ZENG Zhi-Ying³, SHI Xiao-Qiao³, CHEN Ying³, WANG Yan³, and ZHAO Guo-Jun⁴

(1. Department of Cardiovascular Medicine, 3. Department of Anesthesiology, the Second Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. The Central Hospital of Hengyang, Hengyang, Hunan 421001, China; 4. Department of Histology and Embryology, Guilin Medical University, Guilin, Guangxi 541004, China)

[KEY WORDS] Atorvastatin; Anti-inflammatory Effect; Nucleotide-binding Oligomerization Domain-like Receptor Protein 1 Inflammasome; Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect and potential mechanism of atorvastatin on the THP-1 macrophage proinflammatory cytokines release induced by lipopolysaccharide (LPS). **Methods** THP-1 cells were treated with phorbol 12-myristate 13-acetate (100 nmol/L) for 24 h to differentiate into macrophages. The medium was then replaced with serum-free medium containing LPS and (or) atorvastatin. The secretion of interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-18 (IL-18) were quantitated using enzyme-linked immunosorbent assay analysis. The mRNA level of nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 1 (NLRP1) inflammasome was measured by real-time PCR. Western blot was employed to analyze the protein expression of NLRP1 inflammasome. **Results** Atorvastatin inhibited IL-1 β and IL-18 secretion induced by LPS in THP-1 macrophages in a dose- and time-dependent manner. Atorvastatin decreased the mRNA and protein expression of NLRP1 inflammasome in THP-1 macrophages. **Conclusion** Atorvastatin reduces proinflammatory cytokines release from macrophages, and the mechanism might be related to the inhibition of NLRP1 inflammasome expression.

[收稿日期] 2015-08-29

[修回日期] 2015-10-21

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81200218); 湖南省自然科学基金课题(14JJ5016)

[作者简介] 喻思扬, 硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化病因与防治, E-mail 为 378941598@qq.com。曾高峰, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化病因与防治, E-mail 为 2379795177@qq.com。通讯作者王燕, 副主任医师, 研究方向为动脉粥样硬化病因与防治, E-mail 为 1609779291@qq.com。通讯作者赵国军, 博士后, 研究方向为动脉粥样硬化病因与防治, E-mail 为 zzhsu@163.com。

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 是一种与固有免疫相关的无菌性炎症性疾病^[1]。巨噬细胞通过释放炎症因子参与 As 各个阶段,且该过程受炎症体调控^[2]。核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 1 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 1, NLRP1) 炎性体是最早被发现的炎性体,由 NLRP1、半胱天冬酶 1 (Caspase-1) 和凋亡相关点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase-recruitment domain, ASC) 组成^[3]。在脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 等配体的作用下, NLRP1 炎性体被激活^[4], 参与白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 和白细胞介素 18 (interleukin-18, IL-18) 生成,在 As 中扮演关键角色^[5]。他汀类药物具有降脂和稳定斑块的作用,能有效减少心脑血管事件发生。其中,阿托伐他汀已被广泛证实有显著的抗炎效应^[6-7]。固醇调节元件结合蛋白 1 (sterol regulatory element binding protein-1, SREBP-1) 是 NLRP1 炎性体上游重要的转录因子^[8], 研究显示阿托伐他汀可调控 SREBP-1 表达发挥抗 As 作用^[9-10]。然而,关于阿托伐他汀是否能干扰 NLRP1 炎性体影响炎症因子分泌目前尚未明确。本研究观察了阿托伐他汀对 THP-1 巨噬细胞 IL-1 β 和 IL-18 分泌的影响,并探讨了 NLRP1 炎性体在其中的作用。

1 材料与方法

1.1 细胞株与试剂

THP-1 细胞购自中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所细胞中心; RPMI-1640 培养基、胎牛血清、LPS、佛波酯 (phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA) 均购自 Sigma 公司; 阿托伐他汀钙购自大连美仑生物技术有限公司; 人 IL-1 β 、IL-18 酶联免疫检测试剂盒购自生工生物工程 (上海) 股份有限公司; RNA 抽提试剂购自 GeneCopoeia 公司; Reverse Transcription System 购自 Promega 公司; NLRP1、Caspase-1、ASC 兔抗人一抗购自 Life Technologies 公司; 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗购自 Santa Cruz 公司。

1.2 THP-1 细胞培养

将 THP-1 细胞接种在含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中,置于 37℃、5% CO₂ 培养箱内培养。培养基中含青霉素和链霉素各 1.0×10⁵ U/L。每次实验前用 100 nmol/L PMA 孵育 THP-1 细胞 24 h,使其分化为巨噬细胞,换无血清 RPMI-1640 培养

基,根据实验分组,加入 LPS 和 (或) 阿托伐他汀进行后续实验。阿托伐他汀所用溶剂为二甲基亚砜 (DMSO),另配制相同浓度的 DMSO,供实验对照组使用。

1.3 酶联免疫吸附法测定 IL-1 β 和 IL-18 含量

THP-1 细胞诱导分化为巨噬细胞后,换无血清 RPMI-1640 培养基,按照实验要求予以相应处理因素后,收集细胞上清液,-80℃ 冰箱储存备用。每次检测前从冰箱前取出样本,置于室温环境中充分冻融混匀,严格参照 ELISA 试剂盒操作说明测定 IL-1 β 和 IL-18 含量。

1.4 荧光定量 PCR 检测 NLRP1 炎性体 mRNA 的表达

Trizol 法提取总 RNA。取 1 μ g 总 RNA 进行逆转录反应,合成的 cDNA 产物进行目的基因的扩增。所有 PCR 引物均由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成,具体如下。人 NLRP1: 上游 5'-CCACAAC-CCTCTGTCTACATTAC-3', 下游 5'-GCCCATCTAAC-CCATGCTTC-3'; 人 Caspase-1: 上游 5'-CCGAAGGTGAT-CATCATCCA-3', 下游 5'-ATAGCATCATCTCAAAC TCT-TCTG-3'; 人 ASC: 上游 5'-GCACTTTATAGACCAGCACCG-3', 下游 5'-GGCTGGTGT GAAACTGAAGA-3'; 人 β -actin: 上游 5'-ATTGCCGACAGGATGCAGAA-3', 下游 5'-GCT-GATCCACATCTGCTGGAA-3'。Roche LightCycler[®] 96 荧光定量仪进行反应,反应结束后进行扩增曲线、溶解曲线的分析和结果统计。采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算目的基因的表达量。

1.5 Western blot 检测 NLRP1 炎性体蛋白的表达

提取细胞总蛋白,加入适量的 4×SDS 上样缓冲液,煮沸 5 min, SDS-PAGE 凝胶电泳分析后转移至 PVDF 膜上,5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h,加入稀释过的 NLRP1、Caspase-1、ASC 和 β -actin 兔抗人一抗,4℃ 冰箱过夜, TBST 洗涤 10 min, 重复 3 次后加入稀释过的二抗,室温孵育 1 h, TBST 洗涤 10 min, 重复 3 次,加入 ECL 显色。最后用 Bio-Rad Gel Doc[™] XR + 凝胶成像分析系统扫描胶片,分别计算目的蛋白和内参蛋白条带的灰度值,二者比值即为目的蛋白的相对表达量。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 18.0 统计分析软件进行数据统计学处理。实验所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数的比较采用 *t* 检验,多样本组间均数的比较采用方差分析, *P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同浓度阿托伐他汀对 THP-1 巨噬细胞炎症因子分泌的影响

THP-1 巨噬细胞经 10 μg/L LPS 及不同浓度 (1、10、20 μmol/L) 的阿托伐他汀处理 24 h 后, ELISA 检测结果表明: 与对照组比较, LPS 组 IL-1β 和 IL-18 水平明显升高 ($P<0.05$); 与单独添加 LPS 组比较, LPS+不同浓度阿托伐他汀组 IL-1β 和 IL-18 水平均有所下降 ($P<0.05$), 且阿托伐他汀浓度越大, 下降越明显, 提示阿托伐他汀可呈浓度依赖性抑制 THP-1 巨噬细胞炎症因子的分泌(表 1)。

表 1. 不同浓度阿托伐他汀对 THP-1 细胞 IL-1β 和 IL-18 分泌的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 1. The effect of different concentrations of atorvastatin on THP-1 macrophage IL-1β and IL-18 release ($\bar{x}\pm s, n=3$)

分 组	IL-1β (ng/L)	IL-18 (ng/L)
对照组	76.48±1.15	81.52±1.21
LPS 组	119.01±3.83 ^a	169.07±4.55 ^a
LPS+1 μmol/L 阿托伐他汀组	97.34±5.71 ^b	122.14±3.13 ^b
LPS+10 μmol/L 阿托伐他汀组	85.28±4.37 ^{bc}	109.24±5.93 ^{bc}
LPS+20 μmol/L 阿托伐他汀组	75.75±5.93 ^{bed}	87.82±4.07 ^{bed}

a 为 $P<0.05$, 与对照组比较; b 为 $P<0.05$, 与 LPS 组比较; c 为 $P<0.05$, 与 LPS+1 μmol/L 阿托伐他汀组比较; d 为 $P<0.05$, 与 LPS+10 μmol/L 阿托伐他汀组比较。

2.2 阿托伐他汀作用不同时间对 THP-1 巨噬细胞炎症因子分泌的影响

以 10 μg/L LPS 及 10 μmol/L 阿托伐他汀处理 THP-1 巨噬细胞不同时间 (12、24、48 h) 后, ELISA 检测结果表明: 与对照组比较, LPS 组 IL-1β 和 IL-18 水平明显升高 ($P<0.05$); 与单独添加 LPS 组比较, LPS+阿托伐他汀不同时间组 IL-1β 和 IL-18 水平均有所下降 ($P<0.05$), 且阿托伐他汀处理时间越长, 下降越明显, 提示阿托伐他汀可呈时间依赖性抑制 THP-1 巨噬细胞炎症因子的分泌(表 2)。

2.3 阿托伐他汀对 THP-1 巨噬细胞 NLRP1 炎性体 mRNA 表达的影响

加入 10 μg/L LPS 或(和)10 μmol/L 阿托伐他汀处理 THP-1 巨噬细胞 24 h 后, 荧光定量 PCR 检测细胞内 NLRP1 炎性体组分(NLRP1、Caspase-1 和 ASC)mRNA 表达结果表明: 与对照组比较, LPS 组

NLRP1 炎性体 mRNA 表达明显增加 ($P<0.05$); 与单独添加 LPS 组比较, LPS+阿托伐他汀组 NLRP1 炎性体 mRNA 表达显著减少 ($P<0.05$), 提示阿托伐他汀可抑制 LPS 诱导的 THP-1 巨噬细胞 NLRP1 炎性体 mRNA 的表达(表 3)。

表 2. 阿托伐他汀作用不同时间对 THP-1 细胞 IL-1β 和 IL-18 分泌的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 2. The effect of different duration of atorvastatin on THP-1 macrophage IL-1β and IL-18 release ($\bar{x}\pm s, n=3$)

分 组	IL-1β (ng/L)	IL-18 (ng/L)
对照组	61.23±2.01	71.20±1.96
LPS 组	126.71±2.65 ^a	158.84±2.43 ^a
LPS+阿托伐他汀 12 h 组	101.09±3.99 ^b	119.46±4.02 ^b
LPS+阿托伐他汀 24 h 组	88.44±5.45 ^{bc}	96.83±6.73 ^{bc}
LPS+阿托伐他汀 48 h 组	67.13±4.64 ^{bed}	81.05±5.14 ^{bed}

a 为 $P<0.05$, 与对照组比较; b 为 $P<0.05$, 与 LPS 组比较; c 为 $P<0.05$, 与 LPS+阿托伐他汀 12 h 组比较; d 为 $P<0.05$, 与 LPS+阿托伐他汀 24 h 组比较。

表 3. 各组细胞 NLRP1 炎性体 mRNA 的相对表达量($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 3. Relative expression of NLRP1 inflammasome mRNA in each group ($\bar{x}\pm s, n=3$)

分 组	NLRP1	Caspase-1	ASC
对照组	0.50±0.08	0.23±0.05	0.12±0.03
LPS 组	1.56±0.23 ^a	0.72±0.11 ^a	0.37±0.16 ^a
阿托伐他汀组	0.47±0.11	0.26±0.10	0.13±0.04
LPS+阿托伐他汀组	0.88±0.17 ^b	0.48±0.17 ^b	0.19±0.08 ^b

a 为 $P<0.05$, 与对照组比较; b 为 $P<0.05$, 与 LPS 组比较。

2.4 阿托伐他汀对 THP-1 巨噬细胞 NLRP1 炎性体蛋白表达的影响

以 10 μg/L LPS 或(和)10 μmol/L 阿托伐他汀处理 THP-1 巨噬细胞 24 h 后, Western blot 检测细胞内 NLRP1 炎性体组分(NLRP1、Caspase-1 和 ASC)蛋白表达结果表明: 与对照组比较, LPS 组 NLRP1 炎性体蛋白表达明显增加 ($P<0.05$); 与单独添加 LPS 组比较, LPS+阿托伐他汀组 NLRP1 炎性体蛋白表达显著减少 ($P<0.05$), 提示阿托伐他汀可抑制 LPS 诱导的 THP-1 巨噬细胞 NLRP1 炎性体蛋白的表达(图 1 和表 4)。

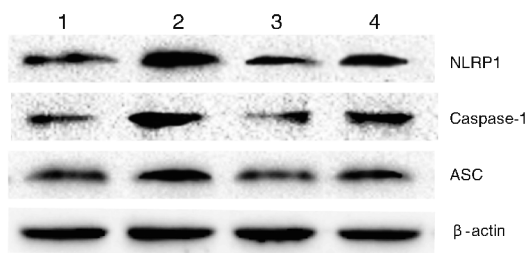


图 1. 阿托伐他汀对 THP-1 巨噬细胞 NLRP1 炎性体蛋白表达的影响 1 为对照组,2 为 LPS 组,3 为阿托伐他汀组,4 为 LPS+阿托伐他汀组。

Figure 1. The effect of atorvastatin on protein expression of NLRP1 inflammasome in THP-1 macrophages

表 4. 各组细胞 NLRP1 炎性体蛋白的相对表达量($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 4. Relative expression of NLRP1 inflammasome protein in each group($\bar{x}\pm s, n=3$)

分 组	NLRP1	Caspase-1	ASC
对照组	0.60±0.04	0.50±0.03	0.32±0.05
LPS 组	1.06±0.09 ^a	0.92±0.20 ^a	0.74±0.18 ^a
阿托伐他汀组	0.56±0.12	0.47±0.08	0.31±0.14
LPS+阿托伐他汀组	0.78±0.17 ^b	0.70±0.08 ^b	0.47±0.16 ^b

a 为 $P<0.05$,与对照组比较;b 为 $P<0.05$,与 LPS 组比较。

3 讨 论

近年来,阿托伐他汀的抗炎作用引起了人们的广泛关注。本研究以 THP-1 巨噬细胞为模型,用 LPS 刺激其分泌炎症因子,再观察阿托伐他汀对 LPS 诱导的炎症因子释放的影响。结果发现,阿托伐他汀可呈浓度、时间依赖性抑制巨噬细胞 IL-1 β 和 IL-18 的分泌,这为阿托伐他汀的抗炎效应提供了一定的理论依据。而我们之所以选择 IL-1 β 和 IL-18 为观察对象,主要是因为:第一,IL-1 β 和 IL-18 与 As 关系紧密。IL-1 β 可诱导内皮细胞(endothelial cells, EC)和平滑肌细胞(smooth muscle cells, SMC)分泌各种炎症因子,并能促进 SMC 基质金属蛋白酶的表达,导致斑块破裂和血栓形成^[11];IL-18 高表达广泛存在于心肌梗死患者中,且与斑块的稳定性和临床症状的轻重程度正相关^[12]。第二,IL-1 β 和 IL-18 是炎性体下游主要的效应物质。此外,阿托伐他汀亦能干预肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 6 和白细胞介素 8 等炎症因子的合成^[13-14],但这些炎症因子与炎性体关系不大,故不是本研究关注的重点。

炎性体是一类以 NOD 样受体(nucleotide-binding oligomerization domain like receptors, NLR)为

主要成分的多蛋白复合物,参与多种心血管疾病的炎症反应。NLR 在 ASC 的协同作用下,能介导 Caspase-1 活化,促进 IL-1 β 和 IL-18 生成^[15]。炎性体与 As 密切相关。过去,核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3)炎性体被认为是 As 的重要参与者,其受胆固醇结晶激活,可调节斑块内炎症反应^[16-17]。但亦有学者指出 NLRP3 炎性体并不是 As 所必需的^[18]。随着研究的深入,NLRP1 炎性体在 As 中的作用逐步为人所知。外周动脉疾病(peripheral arterial disease, PAD)是一种常见的 As 性疾病,研究发现, PAD 患者 NLRP1 水平显著增高,且与 EC 功能紊乱和炎症反应相关联,并参与血管损伤和修复过程,而该过程中 NLRP3 无明显改变^[19]。阿司匹林可减少 PAD 患者的 EC 氧化应激、内皮功能紊乱和血小板源性炎症反应^[20]。根据最新文献^[21]报道, PAD 患者在使用了阿司匹林之后, NLRP1 表达显著下调,这提示阿司匹林可能通过抑制 NLRP1 炎性体发挥药理作用。此外,作为调节脂质代谢的重要转录因子, SREBP-1a 参与 LPS 介导的巨噬细胞 IL-1 β 生成,且 NLRP1 在其中起关键作用;当 SREBP-1a 被敲除后, NLRP1 表达、Caspase-1 激活和 IL-1 β 生成明显减少,而 NLRP3 表达并无显著差异^[8]。而且,已有研究证实 THP-1 细胞的炎症反应并不依赖于 NLRP3^[22]。与上述结果相符,本研究显示经 LPS 刺激后, THP-1 巨噬细胞不仅 NLRP1 表达明显增加, NLRP1 炎性体另外两个组成蛋白 Caspase-1 和 ASC 表达亦显著上调。这些实验结果均表明 NLRP1 炎性体在 As 等炎症反应中扮演关键角色。

此外,我们还发现 THP-1 巨噬细胞经阿托伐他汀处理后, LPS 诱导的 NLRP1、Caspase-1 和 ASC mRNA 及蛋白水平均明显下调,提示阿托伐他汀可抑制 NLRP1 炎性体表达。基于 NLRP1 炎性体在炎症因子分泌中的作用,阿托伐他汀极有可能是通过降低巨噬细胞 NLRP1 炎性体表达,减少 IL-1 β 和 IL-18 释放,从而发挥抗炎作用。但是,关于 NLRP1 炎性体是否的确在阿托伐他汀的抗炎效应中发挥调控作用以及阿托伐他汀是通过何种途径作用于 NLRP1 炎性体,仍需进一步研究。此外,另有学者提出 NLRP3 炎性体是阿托伐他汀抗炎效应的潜在作用靶点^[23]。目前,关于哪种炎性体在其中起主导作用及不同炎性体之间是否存在交叉调控机制,仍不甚清楚。

综上所述,本研究不仅验证了阿托伐他汀的抗

炎效应,即其能抑制巨噬细胞 IL-1 β 和 IL-18 分泌;而且,我们还从分子学角度出发,探讨了阿托伐他汀抗炎的部分分子机制,即其可能通过下调 NLRP1 炎性体表达减少 IL-1 β 和 IL-18 释放。另外,过去人们对炎性体与 As 的认识主要聚焦在 NLRP3 炎性体,而关于 NLRP1 炎性体在 As 中作用的研究则相对甚少。我们的研究以 NLRP1 炎性体为切入点,在剖析阿托伐他汀抗炎机制的同时,间接揭示了 NLRP1 炎性体与 As 的关系。总之,对炎性体的研究将不断深化我们对 As 的认识,此外,标靶炎性体及其下游分子,或许能为相关疾病的治疗带来新思路。

[参考文献]

- [1] Mendel I, Yacov N, Harats D, et al. Therapies targeting innate immunity for fighting inflammation in atherosclerosis[J]. *Curr Pharm Des*, 2015, 21(9): 1 185-195.
- [2] Chen GY, Nuñez G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage[J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(12): 826-837.
- [3] Martinon F, Burns K, Tschoop J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta[J]. *Mol Cell*, 2002, 10(2): 417-426.
- [4] 鲁战平, 孙 剑. NLRP1 炎性体[J]. *生命的化学*, 2012, 32(4): 381-384.
- [5] Lu XJ, Kakkar V. Inflammasome and atherogenesis[J]. *Curr Pharm Des*, 2014, 20(1): 108-124.
- [6] 葛金文, 刘吉勇, 朱惠斌, 等. 阿托伐他汀对动脉粥样硬化免疫氧化应激/炎症反应的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2011, 19(12): 979-983.
- [7] 王 荔, 石 娜, 张小菊, 等. 阿托伐他汀对脑梗死患者 hs-CRP、MMP-9 水平的影响[J]. *卒中与神经疾病*, 2014, 21(1): 23-25.
- [8] Im SS, Yousef L, Blaschitz C, et al. Linking lipid metabolism to the innate immune response in macrophages through sterol regulatory element binding protein-1a[J]. *Cell Metab*, 2011, 13(5): 540-549.
- [9] Arazi SS, Genvigir FD, Willrich MA, et al. Atorvastatin effects on SREBF1a and SCAP gene expression in mononuclear cells and its relation with lowering-lipids response[J]. *Clin Chim Acta*, 2008, 393(2): 119-124.
- [10] Chen P, Xia K, Zhao Z, et al. Atorvastatin modulates the DDAH1/ADMA system in high-fat diet-induced insulin-resistant rats with endothelial dysfunction[J]. *Vasc Med*, 2012, 17(6): 416-423.
- [11] Bhaskar V, Yin J, Mirza AM, et al. Monoclonal antibodies targeting IL-1 beta reduce biomarkers of atherosclerosis in vitro and inhibit atherosclerotic plaque formation in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Atherosclerosis*, 2011, 216(2): 313-320.
- [12] Sedimbi SK, Hägglöf T, Karlsson MC. IL-18 in inflammatory and autoimmune disease[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70(24): 4 795-808.
- [13] 贾晓凤, 刘丽华, 郝国贞, 等. 阿托伐他汀对不稳定型心绞痛血清肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1 β 的影响[J]. *临床荟萃*, 2009, 24(24): 2 171-172.
- [14] Wang Y, Chang H, Zou J, et al. The effect of atorvastatin on mRNA levels of inflammatory genes expression in human peripheral blood lymphocytes by DNA microarray[J]. *Biomed Pharmacother*, 2011, 65(2): 118-122.
- [15] 喻思扬, 王 燕, 刘 洋, 等. 炎性体在动脉粥样硬化等心血管疾病中的作用及机制[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(12): 1 281-286.
- [16] Duewell P, Kono H, Rayner KJ, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals[J]. *Nature*, 2010, 464(7293): 1 357-361.
- [17] Grebe A, Latz E. Cholesterol crystals and inflammation[J]. *Curr Rheumatol Rep*, 2013, 15(3): 313.
- [18] Menu P, Pellegrin M, Aubert JF, et al. Atherosclerosis in ApoE-deficient mice progresses independently of the NLRP3 inflammasome[J]. *Cell Death Dis*, 2011, 2: e137.
- [19] Bleda S, de Haro J, Varela C, et al. NLRP1 inflammasome, and not NLRP3, is the key in the shift to proinflammatory state on endothelial cells in peripheral arterial disease[J]. *Int J Cardiol*, 2014, 172(2): e282-e284.
- [20] Flórez A, de Haro J, Martínez E, et al. Selective cyclooxygenase-2 inhibition reduces endothelial dysfunction and improves inflammatory status in patients with intermittent claudication[J]. *Rev Esp Cardiol*, 2009, 62(8): 851-857.
- [21] Bleda S, De Haro J, Varela C, et al. Aspirin therapy inhibits NLRP1 (nucleotide-binding domain-like receptor protein 1) inflammasome gene expression in patients with peripheral artery disease[J]. *J Vasc Surg*, 2015, 61(4): 1 103-104.
- [22] Huang MT, Taxman DJ, Holley-Guthrie EA, et al. Critical role of apoptotic speck protein containing a caspase recruitment domain (ASC) and NLRP3 in causing necrosis and ASC speck formation induced by *Porphyromonas gingivalis* in human cells[J]. *J Immunol*, 2009, 182(4): 2 395-404.
- [23] Satoh M, Tabuchi T, Itoh T, et al. NLRP3 inflammasome activation in coronary artery disease: results from prospective and randomized study of treatment with atorvastatin or rosuvastatin[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2014, 126(3): 233-241.

(此文编辑 许雪梅)