

OX40-OX40L 相互作用对 NFATc1 表达及斑块形成的影响

严洋¹, 张嘉文¹, 翁嘉懿¹, 臧光耀¹, 郭栋¹, 杨云稀¹, 贺骏达¹, 潘诵弦¹, 许文荣¹, 严金川²

(1.江苏大学医学院临床医学,2.江苏大学附属医院心内科,江苏省镇江市 212001)

[关键词] OX40-OX40L; 活化 T 细胞核因子 c1; 动脉粥样硬化

[摘要] **目的** 探讨 OX40-OX40L 相互作用对活化 T 细胞核因子 c1(NFATc1)及动脉粥样硬化斑块形成的影响。**方法** 选取 33 只载脂蛋白(Apo)E^{-/-}小鼠,分为对照组、OX40 刺激组、OX40 刺激+沉默 NFATc1 组,采用颈动脉硅胶圈置入法建立斑块模型;Masson 染色检测斑块组成;采用免疫组化检测斑块内 NFATc1 和 CD68 分布。细胞实验以小鼠脑微静脉内皮细胞为对象,分为对照组、OX40 刺激组和 OX40 抑制组。斑块及细胞表达 NFATc1 采用 qRT-PCR 和 Western blot 方法检测。**结果** 细胞实验显示,OX40 刺激组小鼠内皮细胞 NFATc1 蛋白及 mRNA 表达明显高于对照组($P<0.05$),而 OX40 抑制组小鼠内皮细胞 NFATc1 蛋白及 mRNA 表达低于 OX40 刺激组($P<0.05$)。动物实验显示,OX40 刺激组 ApoE^{-/-}小鼠斑块中 NFATc1 蛋白及 mRNA 表达高于对照组($P<0.05$),而 OX40 刺激+沉默 NFATc1 组 ApoE^{-/-}小鼠斑块中 NFATc1 蛋白及 mRNA 表达低于 OX40 刺激组($P<0.05$)。OX40 刺激组斑块面积与对照组相比显著增加,斑块内纤维增生明显,而 OX40 刺激+沉默 NFATc1 组较刺激组斑块面积明显减少,纤维增生程度减弱。OX40 刺激组 ApoE^{-/-}小鼠斑块内 NFATc1 及 CD68 表达高于对照组,而 OX40 刺激+NFATc1 沉默组小鼠斑块内 NFATc1 及 CD68 表达低于 OX40 刺激组。**结论** OX40-OX40L 信号调控 NFATc1 表达并影响动脉粥样硬化斑块的形成。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Effect of OX40-OX40L Interaction on the Expression of NFATc1 and Formation of the Atherosclerotic Plaques

YAN Yang¹, ZHANG Jia-Wen¹, WENG Jia-Yi¹, QI Guang-Yao¹, GUO Dong¹, YANG Yun-Xi¹, HE Jun-Da¹, PAN Song-Xian¹, XU Wen-Rong¹, and YAN Jin-Chuan²

(1.Clinical Medicine, Medical College of Jiangsu University; 2.Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212001, China)

[KEY WORDS] OX40-OX40L; Nuclear Factor of Activated T Cells c1; Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of OX40-OX40L interaction on the expression of nuclear factor of activated T cells c1 (NFATc1) and formation of the atherosclerotic plaques. **Methods** Atherosclerotic plaque model was randomly divided into the following groups: control group ($n=11$), OX40 activated group ($n=11$) and OX40 activated+PLKO.1-shNFATc1 group ($n=11$). Atherosclerotic plaque model was produced by perivascular carotid collar placement in ApoE^{-/-} mice. Masson staining was used to detect the composition of the plaque. Immunohistochemistry was used to observe the distribution of NFATc1 and CD68 in plaques. Mouse brain endothelial cells were divided into three groups: control group, OX40 activated group and OX40 inhibited group. The mRNA and protein level of NFATc1 was detected by real-time quantitative PCR (qRT-PCR) and Western blot respectively. **Results** In vitro, the expression level of NFATc1 was significantly increased in OX40 activated group, and were decreased in OX40 inhibited group($P<0.05$). In vivo, the expression level of NFATc1 was significantly increased in OX40 activated group, and were decreased after the gene of NFATc1 being silenced($P<0.05$). Masson staining revealed that the area of the plaque and fibrin proliferation was

[收稿日期] 2016-01-21

[修回日期] 2016-05-11

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81170279,81370409);江苏省高校大学生创新创业计划项目(201510299043Z);江苏省六大人才高峰项目(WS074);江苏省 333 高层次人才项目(BRA2014162)

[作者简介] 严洋,在校大学生,临床医学专业,E-mail 为 nanjingyanyang@126.com。许文荣,教授,博士研究生导师,研究方向为干细胞的分化与转化研究。通讯作者严金川,教授,博士研究生导师,研究方向为急性冠状动脉综合征基础与临床研究,E-mail 为 yanjinchuan@hotmail.com。

higher than the control group, while were decreased in OX40 activated+PLKO.1-shNFATc1 group. In vivo, compared with the control group, the distribution of NFATc1 and CD68 in the plaque were increased after the addition of agonist-OX40, which can be inhibited by silencing NFATc1. **Conclusion** OX40-OX40L interaction may regulate the expression of NFATc1 and promote the formation of the atherosclerotic plaque.

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 是一种在动脉血管中以脂质浸润、纤维增生及炎症反应等多种病变为特征的慢性疾病,严重危害人类健康,是心脑血管疾病发生的始动因素^[1]。OX40 是一种膜结合型蛋白分子,作为肿瘤坏死因子超家族成员之一,由活化的 T 细胞表达。OX40 配体 (OX40L) 表达于活化的巨噬细胞及内皮细胞,OX40-OX40L 信号的激活在自身免疫、炎症等过程中起着重要作用^[2]。活化 T 细胞核因子 c1 (nuclear factor of activated T cells c1, NFATc1) 是一种重要的核转录分子,参与炎症反应、免疫应答调节、T 细胞生长分化等过程^[3]。我们前期研究表明,OX40-OX40L 信号的激活可促进小鼠动脉粥样硬化斑块进展,并发现在脾脏淋巴细胞中 NFATc1 与 OX40 表达呈正相关^[4-5]。提示 OX40-OX40L 信号与 NFATc1 参与 As 斑块的形成。本研究在前期研究基础上探讨 OX40-OX40L 信号是否通过 NFATc1 调控动脉粥样硬化斑块形成,分别从细胞水平和动物模型激活 OX40-OX40L 信号并通过沉默 NFATc1 观察其对动脉粥样硬化斑块形成的影响。

1 材料和方法

1.1 主要材料

6 周龄 ApoE^{-/-}小鼠,雄性,体重约 20 g,购自美国 Jackson 实验室。高脂饲料 (0.3% 胆固醇,15% 可可脂) 购自上海斯莱克公司;硅胶管购自 Dow Corning 公司;同型对照 IgG2b 购自美国 eBioscience 公司;OX40 抗体购自 Biolegend 公司;NFATc1 抗体购自美国 Santa Cruz 公司;CD68 抗体购自武汉博士德生物工程有限公司; β -actin 抗体、免疫组化试剂盒购自中国康为世纪有限公司;辣根过氧化物酶-羊抗兔 IgG 购自美国 Abbkine 公司;Trizol 购自美国 Inventrogen 公司;引物购自上海生工生物技术有限公司;小鼠脑微静脉内皮细胞 (BMEC, bEnd.3) 购自美国 ATCC;空载及载体对照 PLKO.1-shGFP 购自 Sigma 公司;shNFATc1 序列由上海生工生物工程有限公司设计并合成;辅助质粒 PSPAX2 及 PMD2G 购于上海吉凯基因有限公司;病毒浓缩液及病毒滴度测定试剂盒购自 GeneCopoeial 公司。逆转录试剂盒、

SYBR green 试剂盒购自 TaKaRa 公司。

1.2 细胞实验干预

传代培养的小鼠脑微静脉内皮细胞以每孔 2×10^5 个细胞接种于 6 孔板,分为 3 组 (因正常内皮细胞很少表达 OX40L,予 TNF- α 预刺激增加 OX40L 表达): IgG 同型对照组;TNF- α 对照组 + IgG (5 mg/L);OX40 刺激组:对照组处理基础上加刺激性 OX40 (5 mg/L);OX40 抑制组:OX40 刺激组处理基础上加抑制性 OX40 (5 mg/L)。置于 37℃ 培养箱培养,12 h 后提取 NFATc1 蛋白及 RNA 用于 Western blot 及荧光定量 PCR 检测。

1.3 慢病毒感染小鼠脑微静脉内皮细胞及鉴定

小鼠脑微静脉内皮细胞接种于 6 孔板内,待融合度达 70% 时,更换新鲜培养基,每孔加入 1×10^8 TU/mL 病毒 20 μ L 及终浓度为 8 mg/L 的聚凝胺,24 h 后重复感染一次,48 h 后使用 2.5 mg/L 嘌呤霉素筛选并克隆式培养稳定干扰细胞株:对照细胞株 (PLKO.1-shGFP) 和沉默 NFATc1 细胞株 (PLKO.1-shNFATc1)。筛选出细胞株后,分别提取细胞 RNA 和蛋白,采用 qRT-PCR 和 Western blot 技术分析 NFATc1 表达水平。

1.4 动物模型建立和干预

33 只 6 周龄雄性 ApoE^{-/-}小鼠,适应性喂养 1 周后,予高脂饲养,分为对照组 (慢病毒对照 PLKO.1-shGFP + IgG2b 对照)、OX40 刺激组 (慢病毒对照 PLKO.1-shGFP + 刺激性 OX40)、OX40 刺激 + 沉默 NFATc1 组 (沉默 NFATc1 慢病毒 PLKO.1-shNFATc1 + 刺激性 OX40) 三组,予腹腔麻醉,麻醉后分离小鼠颈总动脉,通过颈外动脉向对照组及沉默组小鼠右颈总动脉内注入 10 μ L (1.0×10^8 TU/mL) 慢病毒。使慢病毒和血管局部作用 10 min 后,用丝线缝合颈部伤口。2 周后再次予腹腔麻醉,分离颈总动脉,重复注入一次慢病毒,同时用 0.4 mm 硅胶圈 (内径 0.3 mm) 快速包绕颈总动脉 (外径 0.36 mm) 使颈动脉狭窄 30% 诱导 As 斑块模型形成^[6]。术后三组小鼠,对照组 (腹腔注射 IgG2b 200 μ g),刺激组 (腹腔注射刺激性 OX40 抗体 200 μ g),OX40 刺激 + 沉默 NFATc1 组 (腹腔注射刺激性 OX40 抗体 200 μ g 和沉默 NFATc1 慢病毒 PLKO.1-shNFATc1,观察刺激性 OX40 抗体激活 OX40-OX40L 信号是否通过

NFATc1 起作用);每周一次,连续 4 周。

1.5 标本收集

4 周后,颈椎脱臼法处死小鼠,取硅胶管内颈动脉,部分浸于 4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋,用于免疫组化分析;部分颈动脉取材后保存于 -80°C 冰箱,用于 Western blot 检测及荧光定量 PCR 检测。

1.6 沉默 NFATc1 载体 PLKO.1-shNFATc1 的构建及其病毒制备

构建沉默小鼠 NFATc1 的重组慢病毒,命名为 PLKO.1-shNFATc1。沉默 NFATc1 载体构建:设计 shNFATc1 序列,设计引物上游为 CCGGCCCCGTC-CAAGTCAGTTTCTATCTCGAGATAGAACTGACTTG GACGGGTTTTTG,下游为 AATTCAAAAACCCGTC-CAAGTCAGTTTCTATCTCGAGATAGAACTGACTTG GACGGG,上述合成的序列于 PCR 仪上, 95°C 100 min,退火生成双链 DNA,使用 EcoR I 及 Age I 双酶切,连接过夜,将连接产物导入感受态细胞后涂板放入 37°C 培养箱,14 h 后挑取阳性单克隆扩增,提取质粒,测序。取生长良好的 293T 细胞,以每孔 8×10^5 个细胞接种于 10 cm 细胞培养皿,第 2 天细胞覆盖率达 70%~80%,根据脂质体说明书使用 Lipofectamine 按慢病毒包装体系(参考吉凯基因慢病毒包装系统说明书)将目的基因(PLKO.1-shGFP 和 PLKO.1-shNFATc1)及辅助质粒 PSPAX2 及 PMD2G 共转染至 293T 细胞,8 h 后更换 10% FBS 完全培养基,收集 48 h 和 72 h 上清液, 4600 r/min 4°C 离心 10 min。将病毒与病毒浓缩液按 5:1 比例混匀, 4°C 过夜, 6000 r/min 4°C 离心 25 min,小心移去上清液,以 DMEM(与病毒原体积比例为 1:100)重悬病毒颗粒。按 GeneCopoeial 公司测定病毒滴度试剂说明书测定病毒滴度,分装病毒置于 -80°C 冰箱保存,避免反复冻融。

1.7 颈动脉粥样硬化斑块病理学观察

颈动脉石蜡切片进行 Masson 和免疫组化染色,HRP 标记二抗,光学显微镜下可见颈动脉斑块的形态、斑块内纤维成分以及 NFATc1 和 CD68 呈棕黄色表达。

1.8 蛋白提取和 Western blot 分析 NFATc1 蛋白表达

颈动脉部分血管,液氮中研磨后按 1 mg 组织加入遇冷的 $10\text{ }\mu\text{L}$ 裂解液裂解组织,细胞蛋白提取按照细胞核/浆蛋白抽提试剂盒提取总蛋白及核蛋白,分装 -20°C 保存待用。8% SDS-PAGE 电泳,350 mA 恒流 120 min 转膜,封闭,一抗 NFATc1

(1:1000) 4°C 孵育过夜。第二天常规洗膜,HRP 标记羊抗兔 IgG(1:6000)孵育 1 h, TBST 洗涤,ECL 显影,使用 LANE-1D Analyzer 扫描灰度值进行分析相对定量。

1.9 RNA 提取及 qRT-PCR 检测 NFATc1 含量

加入 1 mL Trizol 试剂,用氯仿异丙醇乙醇溶液分离、沉淀、清洗 RNA。测定 RNA 浓度后,取 $1\text{ }\mu\text{g}$ RNA 按逆转录反应试剂盒说明书进行逆转录反应成 DNA 后,用于 NFATc1 检测。qRT-PCR 反应条件: 95°C 预变性 30 s, 95°C 5 s, 60°C 20 s, 72°C 30 s。NFATc1 引物设计如下:上游引物为 5'-TTCGAGTTCGATCAGAGCGG-3',下游引物为 3'-TGGCTGAAGGAACAGCTGAG-5'。使用 β -actin 作为内参对照,引物设计如下:上游引物为 5'-CCTGAGCGCAAGTACTCTGTGT-3',下游引物为 3'-AAGGTCTCTACACCTAGTCG-5'。获得 Ct 值后,应用比较 Ct 法进行相对定量,目标基因的相对定量按 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 计算。

1.10 统计学分析

采用统计学软件 SPSS16.0 对数据进行处理。计量数据符合正态分布以 $\bar{x}\pm s$ 表示,并进行方差齐性检验,两组间比较采用 t 检验,多组间的计量数据比较采用方差分析,两两比较采用 LSD- t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 体外干预 OX40-OX40L 信号对小鼠脑微静脉内皮细胞 NFATc1 表达的影响

OX40 刺激组小鼠脑微静脉内皮细胞中 NFATc1 总蛋白及核蛋白表达高于对照组,而 OX40 抑制组细胞中 NFATc1 总蛋白及核蛋白表达低于 OX40 刺激组($P<0.05$;图 1 和图 2)。OX40 刺激组细胞中 NFATc1 mRNA 表达水平高于对照组,而 OX40 抑制组细胞中 NFATc1 mRNA 表达低于 OX40 刺激组($P<0.05$;图 3)。

2.2 对照 PLKO.1-shGFP 细胞株和沉默 PLKO.1-shNFATc1 细胞株内 NFATc1 表达水平

与对照组(PLKO.1-shGFP)细胞株比较,沉默 NFATc1 细胞株(PLKO.1-shNFATc1) NFATc1 mRNA 表达水平显著降低(0.06 ± 0.02 比 1.00 ± 0.00 , $P<0.05$)。沉默 NFATc1 细胞株(PLKO.1-shNFATc1) NFATc1 蛋白表达水平亦低于对照组细胞(图 4)。

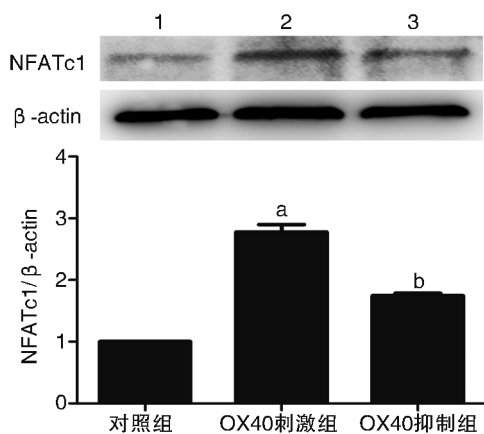


图1. Western blot 检测 OX40 处理后小鼠脑微静脉内皮细胞 NFATc1 总蛋白表达 ($n=3$) 1 为对照组, 2 为 OX40 刺激组, 3 为 OX40 抑制组。a 为 $P<0.05$, 与对照组相比; b 为 $P<0.05$, 与 OX40 刺激组相比。

Figure 1. Total protein expression of NFATc1 in mouse brain microvessel endothelial cells in each group ($n=3$)

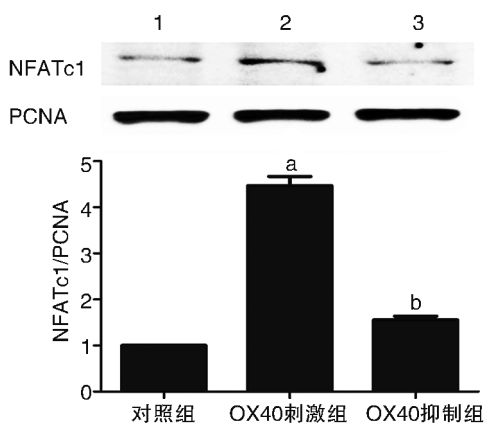


图2. Western blot 检测 OX40 处理后小鼠脑微静脉内皮细胞 NFATc1 核蛋白表达 ($n=3$) 1 为对照组, 2 为 OX40 刺激组, 3 为 OX40 抑制组。a 为 $P<0.05$, 与对照组相比; b 为 $P<0.05$, 与 OX40 刺激组相比。

Figure 2. Nucleus protein expression of NFATc1 in mouse brain microvessel endothelial cells in each group ($n=3$)

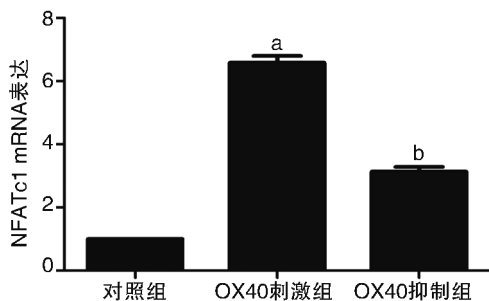


图3. 荧光定量 PCR 检测 OX40 处理后小鼠脑微静脉内皮细胞 NFATc1 mRNA 表达 ($n=3$) a 为 $P<0.05$, 与对照组相比; b 为 $P<0.05$, 与 OX40 刺激组相比。

Figure 3. mRNA expression of NFATc1 in mouse brain microvessel endothelial cells in each group by RT-PCR ($n=3$)

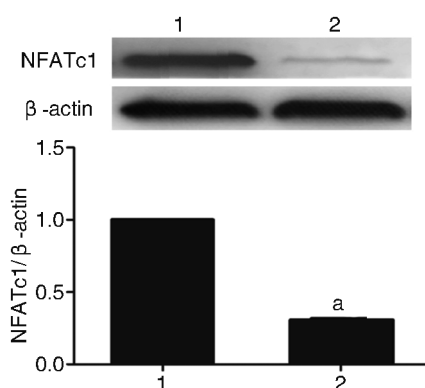


图4. Western blot 检测沉默 NFATc1 基因后小鼠脑微静脉内皮细胞内 NFATc1 蛋白表达 ($n=3$) 1 为对照组 (PLKO.1-shGFP), 2 为沉默 NFATc1 组 (PLKO.1-shNFATc1)。a 为 $P<0.05$, 与对照组相比。

Figure 4. Protein expression of NFATc1 in mouse brain microvessel endothelial cells in each group ($n=3$)

2.3 体内干预 OX40-OX40L 信号及沉默 NFATc1 对颈动脉斑块 NFATc1 及 CD68 表达的影响

与对照组比较, OX40 刺激组斑块 NFATc1 蛋白及 mRNA 含量增加, OX40 刺激+沉默 NFATc1 组 NFATc1 蛋白及 mRNA 含量较 OX40 刺激组表达减少 ($P<0.05$; 图 5)。OX40 刺激组颈动脉斑块中, NFATc1 和 CD68 阳性标记较对照组明显增高, 而 OX40 刺激+沉默 NFATc1 组 NFATc1 及 CD68 阳性标记少于 OX40 刺激组 (图 6)。

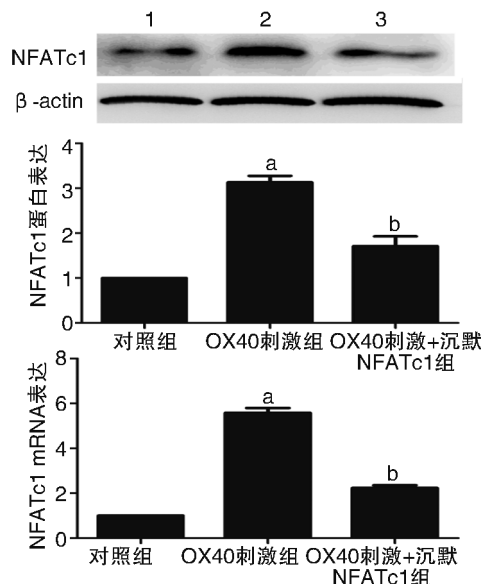


图5. Western blot 和荧光定量 PCR 分别检测颈动脉斑块内 NFATc1 蛋白 (上图) 和 mRNA (下图) 表达 ($n=3$) 1 为对照组, 2 为 OX40 刺激组, 3 为 OX40 刺激+沉默 NFATc1 组。a 为 $P<0.05$, 与对照组相比; b 为 $P<0.05$, 与 OX40 刺激组相比。

Figure 5. Protein and mRNA expression of NFATc1 in carotid artery plaques in each group by Western blot and by RT-PCR ($n=3$)

2.4 体内干预 OX40-OX40L 信号及沉默 NFATc1 后颈动脉斑块形态变化

与对照组相比, OX40 刺激组颈动脉斑块面积较对照组明显增加, 内膜增生明显, 平滑肌和胶原

纤维增生, 而 OX40 刺激+沉默 NFATc1 组颈动脉斑块面积较 OX40 刺激组明显减少, 内膜增生程度明显降低, 平滑肌和胶原纤维增生明显减少(图 7)。

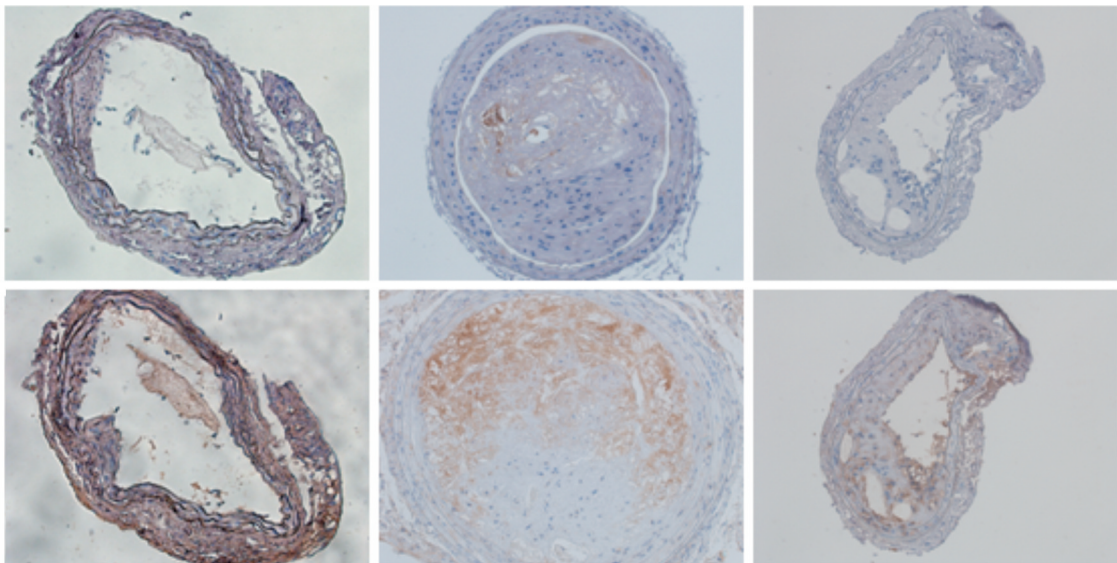


图 6. 免疫组化分析颈动脉斑块 NFATc1(上图)和 CD68(下图)表达(200×) 左为对照组, 中为 OX40 刺激组, 右为 OX40 刺激+沉默 NFATc1 组。

Figure 6. NFATc1 and CD68 expression in carotid artery plaques by immunohistochemical analysis(200×)

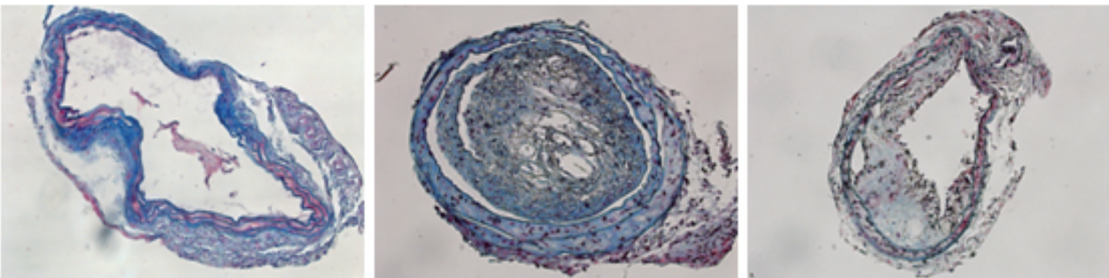


图 7. 颈动脉 Masson 染色结果(200×) 左为对照组, 中为 OX40 刺激组, 右为 OX40 刺激+沉默 NFATc1 组; 蓝色表示胶原纤维, 红色表示肌纤维。

Figure 7. Carotid artery Masson staining(200×)

3 讨 论

As 是一种以脂纹及纤维斑块病变为特征的慢性非特异性炎症及免疫性疾病, 是冠心病、中风等多种疾病的基础病变, 在促炎症因子刺激下, 炎症细胞、内皮细胞、平滑肌细胞等多种细胞相互作用, 促进斑块发生、发展并引起多种相关疾病^[7]。OX40-OX40L 作为免疫应答过程中一对重要的共刺激分子, 可以促进 T 细胞活化、增殖, 参与机体免疫、炎症反应^[8]。研究表明, 动脉粥样硬化不稳定斑块中 OX40L 表达增高, OX40-OX40L 信号激活可

能是致 As 形成及发展的一个重要信号级联反应, 能促进斑块发生发展, 增加斑块不稳定性^[9]。我们前期研究发现, 急性冠状动脉综合征(ACS)患者外周血中可溶性 OX40L 明显升高^[10], Dumitriu 等^[11]研究发现 ACS 患者循环血液中 CD4(+)CD28(-)T 细胞内 OX40 等共刺激分子表达水平较稳定型心绞痛患者显著增加, 这些研究均提示 OX40-OX40L 信号可能是影响斑块稳定性的关键信号分子。NFATc1 是 NFAT 家族重要成员之一, 表达于活化的 T 细胞和 NK 细胞, 是重要的核转录因子^[12], 细胞内 NFATc1 去磷酸化激活后进入细胞核发挥多种生物

学效应,可参与心脏瓣膜形成、调节内皮细胞功能、T细胞的活化等心血管系统的发育及炎症反应过程^[13-14]。我们前期研究发现 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化斑块模型中,颈部及脾脏淋巴细胞中 NFATc1 与 OX40、OX40L 表达水平呈正相关^[15]。因此,我们推测,OX40-OX40L 信号激活后通过 NFATc1 调控动脉粥样硬化斑块形成,本实验从体内、外两方面观察干预 OX40-OX40L 信号对 NFATc1 表达的影响,并在体内观察激活 OX40-OX40L 信号且沉默 NFATc1 对小鼠颈动脉斑块形成的影响。

在细胞实验中,刺激 OX40-OX40L 轴,我们发现小鼠脑微静脉内皮细胞 NFATc1 总蛋白表达增加,与此同时,细胞 NFATc1 去磷酸化激活进入细胞核,细胞核内 NFATc1 蛋白表达水平也增加。抑制 OX40-OX40L 轴,细胞内 NFATc1 总蛋白表达降低,细胞核内 NFATc1 表达也降低,表明 OX40-OX40L 信号可影响小鼠脑微静脉内皮细胞 NFATc1 表达。为了验证 OX40-OX40L 信号通过 NFATc1 调控动脉粥样硬化斑块形成,我们通过向颈动脉局部注射慢病毒悬液干扰目的基因 NFATc1 表达后激活 OX40-OX40L 信号,观察小鼠斑块形成以及斑块内 NFATc1 及 CD68 的变化。体内实验显示,刺激组斑块内 NFATc1 蛋白表达水平较对照组增加;刺激组 ApoE^{-/-}小鼠腹腔注射刺激型 OX40 后,小鼠斑块面积增加,内膜增厚,斑块内 NFATc1 表达明显增加,炎症浸润,纤维增生程度加重,而使用慢病毒干扰 NFATc1 基因表达后,再次激活 OX40-OX40L 信号,我们观察到沉默 NFATc1 可抑制 OX40 刺激小鼠动脉粥样硬化斑块的形成及发展的作用,小鼠斑块面积明显减少,内膜增生程度减弱,斑块内 NFATc1 表达减少,炎症浸润及纤维增生程度减弱。提示 OX40-OX40L 信号可能通过 NFATc1 调控动脉粥样硬化斑块形成。然而 OX40-OX40L 信号与 NFATc1 之间是否存在调控分子目前尚不明确,OX40-OX40L 如何将信号传递给 NFATc1 调控动脉粥样硬化斑块形成也不清楚。这些尚未解决的问题有待进一步研究。

综上所述,OX40-OX40L 信号能调控 NFATc1 的表达并影响小鼠动脉粥样硬化斑块的形成。该研究为了解 OX40-OX40L 信号与 As 形成相关性提供了理论基础,也为预防和治疗 As 提供了新思路。

[参考文献]

[1] Lusis AJ. Atherosclerosis [J]. Nature, 2000, 407(6801):

233-241.

- [2] Sugamura K, Ishii N, Weinberg AD. Therapeutic targeting of the effector T-cell co-stimulatory molecule OX40 [J]. Nat Rev Immunol, 2004, 4(6): 420-431.
- [3] Wu B, Baldwin HS, Zhou B. NFATc1 directs the endocardial progenitor cells to make heart valve primordium [J]. Trends Cardiovasc Med, 2013, 23(8): 294-300.
- [4] 伍超, 严金川, 逯朝阳, 等. OX40-OX40L 信号对 ApoE^{-/-}小鼠颈动脉斑块中亲环素 A 表达的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2014, 22(5): 443-447.
- [5] Yan JC, Xu LJ, Wang CP, et al. Effects of OX40-OX40L interaction on the nuclear factor of activated T cells c1 in ApoE-deficient mice [J]. Inflammation, 2014, 37(1): 205-213.
- [6] 王标, 严金川, 徐良洁, 等. 小鼠动脉粥样硬化斑块模型的快速制作及 CD40 在斑块中的表达[J]. 江苏医药, 2011, 37(13): 1491-493.
- [7] Conti P, Shaik-Dasthagirisae Y. Atherosclerosis: a chronic inflammatory disease mediated by mast cells [J]. Cent Eur J Immunol, 2015, 40(3): 380-386.
- [8] Ueno H, Blanco P. OX40/OX40L axis: not a friend in autoimmunity [J]. Oncotarget, 2015, 6(26): 21779-780.
- [9] Shi JZ, Wang LY, Zhu Y, et al. OX40 ligand levels and high-sensitivity C-reactive protein levels in blood from local coronary plaque and the femoral artery in patients with acute coronary syndrome or stable angina [J]. J Int Med Res, 2011, 39(4): 1275-283.
- [10] Yan J, Gong J, Chen G, et al. Evaluation of serum soluble OX40 ligand as a prognostic indicator in acute coronary syndrome patients [J]. Clin Chim Acta, 2010, 411(21-22): 1662-665.
- [11] Dumitriu IE, Baruah P, Finlayson CJ, et al. High levels of costimulatory receptors OX40 and 4-1BB characterize CD4+CD28 null T cells in patients with acute coronary syndrome [J]. Circ Res, 2012, 110(6): 857-869.
- [12] Graef IA, Chen F, Crabtree GR. NFAT signaling in vertebrate development [J]. Curr Opin Genet Dev, 2001, 11(5): 505-512.
- [13] Aliprantis AO, Glimcher LH. NFATc1 in inflammatory and musculoskeletal conditions [J]. Adv Exp Med Biol, 2010, 658: 69-75.
- [14] Rinne A, Banach K, Blatter LA. Regulation of nuclear factor of activated T cells (NFAT) in vascular endothelial cells [J]. J Mol Cell Cardiol, 2009, 47(3): 400-410.
- [15] 徐良洁, 严金川, 王标, 等. NFATc1 与 OX40-OX40L 在 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化中的表达及意义[J]. 江苏医药, 2011, 37(12): 1384-387.

(此文编辑 许雪梅)