

本文引用: 林湘杰, 曾庆春. 先天性免疫在钙化性主动脉瓣疾病中的作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(6): 461-465.
DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.06.001.

[文章编号] 1007-3949(2024)32-06-0461-05

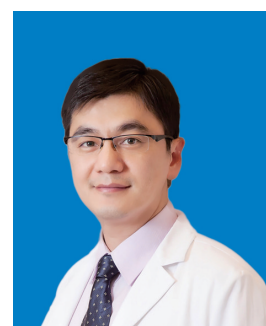
· 专家论坛 ·

先天性免疫在钙化性主动脉瓣疾病中的作用

林湘杰, 曾庆春

南方医科大学南方医院心血管内科, 广东省广州市 510515

[专家简介] 曾庆春, 博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 博士后合作导师, 现任南方医科大学南方医院心血管内科行政副主任, 广东特支计划科技创新青年拔尖人才, 广东省杰出青年医学人才获得者。2010 年—2014 年曾留美访学。研究方向为钙化性主动脉瓣疾病和心力衰竭等心血管疾病的发病机制和防治研究, 以第一作者或通信作者在 *Circulation*、*Sci Adv*、*PNAS*、*ATVB*、*Cardiovasc Res*、*Redox Biol* 等国际权威学术期刊发表多篇 SCI 论著。主持国家自然科学基金面上项目 4 项, 省市级科研项目 7 项。荣获广东省优秀博士学位论文、“白云好青年”、胡润平安中国好医生、“羊城好医生”、第五届中青年心血管病学菁英“科学科研创新”等荣誉。参编《国家心力衰竭指南 2023》和《中国经导管主动脉瓣置换术临床路径 2021》等, 参与出版学术专著 3 本, 申请国家专利 10 项, 授权 3 项。担任中华医学会心血管急重症学组委员、中国医师协会心血管内科医师分会代谢性心血管疾病专委会(学组)委员、广东医师协会心力衰竭专业医师分会委员会常委、广东省医学会心血管分会心力衰竭学组成员兼秘书、广东医师协会心血管医师青年专业组副组长、广东省医学教育协会心脏内科学专委会副主委、大湾区心脏协会结构性心脏病分会副主委、广东省精准医学应用学会心脏康复分会副主委、广东省健康科普促进会心血管病防治分会副主委、广东省医疗行业协会心血管疾病管理专委会常委、广东省医学会心脏起搏与电生理学分会基础学组副组长、《中华心力衰竭和心肌病杂志》编委、《中国动脉硬化杂志》编委、《中国介入心脏病学杂志》编委、《中华高血压杂志》中青年编委、《南方医科大学学报》特邀编委、*Cardiovascular Innovation and Application* 青年编委等。



[摘要] 钙化性主动脉瓣疾病(CAVD)是影响心脏瓣膜的最常见疾病,其特征是主动脉瓣瓣小叶的增厚、纤维化和矿化,目前尚无有效的药物治疗。主动脉瓣钙化是一个复杂的、多因素影响的过程,包括瓣膜炎症、纤维化、钙化以及瓣膜增厚和心流出道阻塞。CAVD 的确切病理生理机制尚不完全清楚,但许多研究表明先天免疫细胞在主动脉瓣钙化的发展中起关键作用。该综述主要阐述目前关于先天性免疫细胞在 CAVD 发展中的作用。

[关键词] 先天性免疫; 钙化性主动脉瓣疾病; 炎症

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The role of innate immunity in calcific aortic valve disease

LIN Xiangjie, ZENG Qingchun

Department of Cardiology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China

[ABSTRACT] Calcific aortic valve disease (CAVD) is the most common disease affecting the heart valves, characterized by thickening, fibrosis, and mineralization of the aortic valve leaflets. Currently, there is no effective pharmacological treatment. Aortic valve calcification is a complex and multifactorial process involving valve inflammation, fibrosis, calcification, valve thickening and outflow tract obstruction. The exact pathophysiological mechanisms of CAVD are not fully understood, but many studies have suggested that innate immune cells play a key role in the development of aortic valve calcification. This review focuses on the current role of innate immune cells in the development of CAVD.

[KEY WORDS] innate immunity; calcific aortic valve disease; inflammation

[收稿日期] 2024-02-01

[修回日期] 2024-05-08

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81770386, 82070403)

[作者简介] 林湘杰, 博士研究生, 研究方向为钙化性主动脉瓣疾病, E-mail: Linxiangjie638@outlook.com。通信作者曾庆春, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为钙化性主动脉瓣疾病, E-mail: z-qch@163.com。

钙化性主动脉瓣疾病 (calcific aortic valve disease, CAVD) 是发达国家最常见的瓣膜性心脏病, 主要表现为进行性的瓣膜炎症、纤维化和钙化^[1-2]。CAVD 是主动脉瓣狭窄的主要原因, 最终可导致心绞痛、晕厥、心力衰竭甚至是心源性猝死^[3]。2017 年, 全球 CAVD 患病人数估计为 1 260 万。1990 年—2017 年, CAVD 病例数增加了 124%, 成为继冠心病、高血压之后的第三大心血管疾病^[4]。一旦出现临床症状, 未经治疗的患者预后较差, 其 2 年和 5 年生存率分别为 50% 和 25%。目前尚没有针对性的药物治疗可用于预防 CAVD 或减缓疾病进展。外科治疗仍是最有效的治疗方法。越来越多的研究认为先天性免疫在 CAVD 病变过程中发挥重要功能。该综述将详细讨论先天免疫细胞在 CAVD 发生发展中的作用。

1 CAVD 的病理生理过程

主动脉瓣通常由 3 个瓣叶组成, 但 1% ~ 2% 的主动脉瓣是由单尖瓣、二尖瓣或是四尖瓣所组成。正常的主动脉瓣叶由面向瓣膜主动脉侧的胶原纤维层、富含糖胺聚糖的中间层和面向心室侧富含弹性蛋白的心室肌层构成^[5-6]。主动脉瓣主要由两种细胞构成: 瓣膜内皮细胞 (valvular endothelial cells, VEC)、瓣膜间质细胞 (valvular interstitial cells, VIC)^[3]。VEC 覆盖瓣叶表面, 其主要功能是调节瓣膜的通透性。VIC 存在于主动脉瓣叶的三层结构, 通过调控细胞外基质的合成和降解以调节瓣膜重塑^[7]。在 CAVD 发展的早期, 血流动力学的改变会影响 VEC 的表型, 导致内皮功能障碍。受损的 VEC 可释放细胞黏附分子, 增强免疫细胞的募集。这些免疫细胞分泌细胞因子, 通过内皮-间质转化将 VEC 转化为肌成纤维样或成骨样细胞^[8]。VIC 同样可被刺激转化为肌成纤维样和成骨样细胞, 导致瓣膜细胞外基质重塑和纤维化^[9]。除了 VEC 和 VIC 外, CAVD 的初期发展也与免疫细胞驱动的炎症过程相关^[10]。人主动脉瓣钙化的组织病理学检查显示, 在早期 CAVD 病变中, 瓣膜增厚伴免疫细胞浸润、脂质沉积和钙化^[11]。瓣膜梗阻使左心室收缩压过载, 导致心肌肥大、间质纤维化, 最终导致心力衰竭。

2 先天性免疫的概念

作为抵御病原体的第一道防线, 先天免疫系统是通过感知并响应病原体相关分子模式 (pathogen-

associated molecular pattern, PAMP) 以及从受损细胞释放的损伤相关分子模式 (damage-associated molecular pattern, DAMP) 发挥作用的。模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR) 是免疫系统的一个关键组成部分。激活的 PRR 会招募适配分子, 进而产生信号级联^[12]。

3 先天性免疫在 CAVD 进展中的作用

先天免疫是抵御感染的第一道防线, 可触发瓣膜小叶内炎症的扩增, 促进免疫和常驻细胞群中的适应性免疫浸润和促炎基因表达 (表 1)。

3.1 中性粒细胞与 CAVD

中性粒细胞是先天免疫系统中最丰富的效应细胞, 可分泌多种促炎分子。中性粒细胞/淋巴细胞比值 (neutrophil/lymphocyte ratio, NLR) 已被证明与 CAVD 的严重程度呈正相关^[13]。CAVD 患者在接受 TAVR 手术后, NLR 可恢复正常水平^[14]。中性粒细胞产生多种细胞因子, 包括集落刺激因子、抗炎细胞因子、免疫调节细胞因子、促炎细胞因子等。在主动脉瓣狭窄的患者中, 中性粒细胞胞外诱捕网 (neutrophil extracellular traps, NET) 大量存在于主动脉瓣小叶内, 导致内皮通透性增加, 通过血小板募集激活凝血级联, 增强瓣膜的炎症^[15]。Kopytek 等^[15]发现狭窄瓣膜中的 NET 与疾病严重程度相关。Warnatsch 等^[16]发现 NET 通过破坏细胞外基质和诱发内皮功能障碍, 从而促进主动脉狭窄发展。

中性粒细胞可释放组蛋白, 通过促进炎症发展导致血管内膜增厚。此外, 中性粒细胞也可通过分泌髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 和中性粒细胞弹性蛋白酶 (neutrophil elastase, NE) 等刺激巨噬细胞产生细胞因子, 包括白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 和活性氧 (reactive oxygen species, ROS)^[16]。中性粒细胞可通过分泌基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 作用于 VIC 来促进细胞增殖和细胞外基质重塑^[17]。Liu 等^[18]研究发现, 中性粒细胞可以促进猪主动脉瓣间质细胞的炎症反应, 并通过 NF- κ B 和 Akt 信号通路促进成骨分化。而中性粒细胞抑制剂 Alvelestat 则可减少小鼠瓣膜增厚、中性粒细胞炎症因子表达降低, 并改善小鼠心脏功能。

3.2 巨噬细胞与 CAVD

病理学证据证明巨噬细胞在钙化瓣膜中明显增加, 已被用于确定瓣膜钙化程度, 因此确定其在

CAVD 中的作用非常重要。巨噬细胞可受微环境影响而极化为促炎亚型(M1)和抗炎亚型(M2)^[19]。巨噬细胞可被细胞因子等刺激极化为 M1 型巨噬细胞。M1 型巨噬细胞也是钙化瓣膜中的主要巨噬细胞亚群^[20],而在 CAVD 患者的瓣膜组织中几乎没有观察到 M2 型巨噬细胞。这说明了 M1/M2 型巨噬细胞平衡在 CAVD 发展中的重要性^[21]。

M1 型巨噬细胞产生多种促炎因子增强炎症细胞浸润,改变瓣膜微环境,影响瓣膜钙化^[22-23]。Zhu 等^[24]发现氧化型磷脂(oxidized phospholipid, oxPL)可增强巨噬细胞的 M1 极化,并通过 PERK/eIF2 α /ATF4 信号轴增强 VIC 的成骨反应。Zhou 等^[25]发现在钙化瓣膜中有更多的 M1 型巨噬细胞浸润,而白细胞介素 37(interleukin-37, IL-37)通过 Notch1 和 NF- κ B 通路有效下调 M1 型标志物 iNOS 和 CD11c 以及炎症因子的表达,并上调 M2 型标志物 CD206 的表达。因此,减少巨噬细胞的 M1 型极化可能是 CAVD 的一种潜在的靶向治疗方向。

Wu 等^[26]发现,在主动脉瓣中肌成纤维细胞与巨噬细胞存在相互作用。在肌成纤维细胞条件培养基刺激下,巨噬细胞发生 M2 型极化。尽管 M2 型巨噬细胞可分泌抗炎因子,如白细胞介素 10(interleukin-10, IL-10)等,提示 M2 型可能具有延缓 CAVD 发展的作用,但 M2 型在 CAVD 中的作用仍需进一步探明。

此外,巨噬细胞还可以通过外泌蛋白来影响 CAVD 的发展。含有促炎、促钙化细胞因子的细胞外囊泡被证明与心血管钙化有关^[27]。M1 型巨噬细胞分泌的细胞外囊泡被证明可以使羟基磷灰石晶体成核,并在 VIC 矿化早期阶段作为微钙化的成核位点^[28]。而 Tu 等^[29]发现巨噬细胞可通过分泌细胞通信网络蛋白 3(cellular communication network factor 3, CCN3)减轻 VIC 的成骨反应,在高脂喂养模型中 CCN3-KO 小鼠的瓣膜病变程度相较于正常小鼠加重。这提示除了 M1/M2 型平衡外,巨噬细胞还可以通过分泌蛋白来影响 CAVD 的发展。

3.3 肥大细胞与 CAVD

肥大细胞是对抗病原体的第一道防线,其特征是单核核和含有大量胞质颗粒。肥大细胞存在于瓣膜的三层组织中。肥大细胞可产生大量促血管生成、促炎症和抗炎细胞因子,它们的激活和随后的脱颗粒与急性冠状动脉综合征、心肌梗死的发病机制有关^[30]。

肥大细胞分泌的乳糜酶可将血管紧张素 I 转化为血管紧张素 II,可促进小鼠瓣膜增厚^[31-32]。CAVD 患者中,肥大细胞的比例与瓣膜狭窄程度之间存在相关性^[33]。肥大细胞来源的蛋白酶也与主动脉瓣狭窄患者的瓣膜狭窄程度相关^[34]。考虑到二尖瓣主动脉瓣疾病的炎症性质和严重程度,二尖瓣的肥大细胞数量明显多于三尖瓣,这可以说明肥大细胞的数量与主动脉狭窄的严重程度、小叶运动受限和钙化发展相关。活化的肥大细胞产生组织蛋白酶 G,导致瓣膜组织中弹性蛋白降解^[35-36]。类胰蛋白酶是肥大细胞释放的另一种蛋白酶,可以降解动脉粥样硬化患者细胞中的抗血管生成分子内皮抑素。此外,肥大细胞可以产生血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF),对血管形成可能有作用^[37]。肥大细胞在瓣膜重塑过程中发挥作用,也可能在钙化中发挥重要作用,但这需要进一步研究。

3.4 单核细胞与 CAVD

单核细胞通常被分为三种亚型,分别为经典型 CD14^{hi}CD16^{null}、中间型 CD14^{hi}CD16⁺和非经典型 CD14^{low}CD16^{hi},它们在炎症反应中发挥着显著不同的作用^[38]。经典型单核细胞与炎症密切相关,占循环单核细胞的 90% 以上。经典型单核细胞外渗后可释放促进炎症的 TNF- α 和一氧化氮。相反,非经典型单核细胞产生白细胞介素 1RA(interleukin-1RA, IL-1RA)^[39]。中间型单核细胞则产生大量的 ROS,并且具有比其他两种亚型更强的炎症特性。在心肌梗死和心力衰竭等患者的血液检测中,中间型单核细胞的数量约占循环血液单核细胞的 8%。严重钙化性主动脉瓣狭窄患者的血液检测也有类似的情况,但行主动脉瓣置换后中间型单核细胞数量则下降^[40-42]。这提示中间型单核细胞在 CAVD 发病过程中的重要影响。

Luo 等^[43]发现单核细胞通过 β 2 整合素与主动脉 VIC 的细胞间黏附分子 1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)之间相互作用,并增强主动脉 VIC 的 ICAM-1 和 IL-6 表达,从而增强主动脉 VIC 的炎症反应。此外,Zhang 等^[44-45]证实单核细胞条件培养基刺激或单核细胞与 VIC 共培养时,能够上调 VIC 中的 ICAM-1 和 TNF- α 表达;敲低或抑制 Toll 样受体 2(Toll-like receptor 2, TLR2),则会减轻单核细胞诱导的炎症因子表达。而活化的单核细胞分泌的促炎因子 RANTES 和 TNF- α 能上调 VIC 中纤维化和成骨介质的产生。这表明单核细胞可通过旁分泌促炎因子来增强 VIC 的炎症反应。

表 1. 先天免疫细胞在 CAVD 中的作用
Table 1. Role of innate immune cells in CAVD

细胞类型	免疫作用	在 CAVD 中的作用	参考文献
中性粒细胞	形成 NET, 释放细胞因子	NLR 与 CAVD 严重程度相关; NET 与 CAVD 严重程度相关; 外泌蛋白增强 VIC 的炎症反应。	[9-14]
M1 型巨噬细胞	吞噬病原体, 抗原呈递, 启动炎症和细胞毒性免疫反应	在 CAVD 的瓣膜中增加, 可分泌促炎因子, 增强 VIC 的炎症反应。	[15-21]
M2 型巨噬细胞	吞噬病原体, 抗原提呈, 在耐受性和促纤维化反应中发挥作用	在 CAVD 的瓣膜中几乎没有, 可分泌抗炎因子。	[22]
肥大细胞	通过结合 IgE 和释放组胺介导超敏反应和过敏反应, 可调节血流和凝血	钙化的二尖瓣中数量增高; 肥大细胞数量与主动脉瓣狭窄程度相关; 乳糜酶可使小鼠瓣膜增厚。	[26-32]
单核细胞	可分化为组织驻留巨噬细胞和树突状细胞	中间型单核细胞在严重主动脉瓣狭窄患者的血液中占比升高, 可通过旁分泌增强 VIC 的炎症反应。	[34-41]

4 小 结

缺乏有效的治疗或预防策略来改善或延缓主动脉瓣膜钙化是 CAVD 复杂性的一个方面。正如该综述所述, CAVD 的病变可能与先天免疫反应的复杂性有关。先天性免疫在主动脉瓣钙化中扮演重要角色, 先天免疫细胞的数量与 CAVD 的严重程度有着密切的关系。目前已有的大多数研究探究的是先天免疫细胞通过分泌促炎/抗炎因子来调节 VIC 或 VEC 的炎症反应, 从而对 CAVD 的发生发展造成影响。但是作为构成瓣膜的两种主要细胞亚群, VIC 与 VEC 如何影响瓣膜组织中的先天免疫细胞, 仍了解甚少, 需要更加有力的研究探究 VIC 与 VEC 对先天免疫细胞的调控作用。先天免疫在瓣膜钙化中的作用虽然已经有了初步研究, 但仍需要更强有力的研究探明其在 CAVD 中的潜在的治疗靶点, 以期能早日应用于临床。

[参考文献]

[1] MONCLA L M, BRIEND M, BOSSÉ Y, et al. Calcific aortic valve disease: mechanisms, prevention and treatment[J]. Nat Rev Cardiol, 2023, 20(8): 546-559.

[2] 钟国恒, 曾庆春. 瓣膜间质细胞异质性在钙化性主动脉瓣疾病中的作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(10): 829-836.

ZHONG G H, ZENG Q C. Regulatory role of valve interstitial cell heterogeneity in calcific aortic valve disease[J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(10): 829-836.

[3] KRALER S, BLASER M C, AIKAWA E, et al. Calcific aortic valve disease: from molecular and cellular mechanisms to medical therapy[J]. Eur Heart J, 2022, 43(7): 683-697.

[4] YADGIR S, JOHNSON C O, ABOYANS V, et al. Global, regional, and national burden of calcific aortic valve and degenerative mitral

valve diseases, 1990-2017 [J]. Circulation, 2020, 141(21): 1670-1680.

[5] PEREZ K A, DEPPE D W, FILAS A, et al. Multimodal analytical tools to enhance mechanistic understanding of aortic valve calcification [J]. Am J Pathol, 2024, 194(4): 539-550.

[6] SHIH J Y, GEE T, SCUDERI G, et al. Biomechanical remodeling of aortic valve interstitial cells during calcified lesion formation *in vitro* [J]. Ann Biomed Eng, 2024, 52(5): 1270-1279.

[7] CHEN J H, SIMMONS C A. Cell-matrix interactions in the pathobiology of calcific aortic valve disease: critical roles for matricellular, matricrine, and matrix mechanics cues [J]. Circ Res, 2011, 108(12): 1510-1524.

[8] MAHLER G J, FARRAR E J, BUTCHER J T. Inflammatory cytokines promote mesenchymal transformation in embryonic and adult valve endothelial cells [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2013, 33(1): 121-130.

[9] LIU Z, WANG K, JIANG C, et al. Morusin alleviates aortic valve calcification by inhibiting valve interstitial cell senescence through Cend1/trim25/Nrf2 axis [J]. Adv Sci (Weinh), 2024, 19: e2307319.

[10] CONTE M, PETRAGLIA L, CAMPANA P, et al. The role of inflammation and metabolic risk factors in the pathogenesis of calcific aortic valve stenosis [J]. Aging Clin Exp Res, 2021, 33(7): 1765-1770.

[11] TANASE D M, VALASCIUC E, GOSAV E M, et al. Contribution of oxidative stress (OS) in calcific aortic valve disease (CAVD): from pathophysiology to therapeutic targets [J]. Cells, 2022, 11(17): 2663.

[12] AKIRA S, UEMATSU S, TAKEUCHI O. Pathogen recognition and innate immunity [J]. Cell, 2006, 124(4): 783-801.

[13] AVCI A, ELNUR A, GÖKSEL A, et al. The relationship between neutrophil/lymphocyte ratio and calcific aortic stenosis [J]. Echocardiography, 2014, 31(9): 1031-1035.

[14] SONG J, ZHENG Q, MA X, et al. Predictive roles of neutrophil-to-lymphocyte ratio and C-reactive protein in patients with calcific aortic valve disease [J]. Int Heart J, 2019, 60(2): 345-351.

[15] KOPYTEK M, KOLASA-TRELA R, ZABCZYK M, et al. NETosis is

- associated with the severity of aortic stenosis; links with inflammation[J]. *Int J Cardiol*, 2019, 286: 121-126.
- [16] WARNATSCH A, IOANNOU M, WANG Q, et al. Neutrophil extracellular traps license macrophages for cytokine production in atherosclerosis[J]. *Sci*, 2015, 349(6245): 316-320.
- [17] LI S, XU L, LIU B. The neglected role of neutrophils in the severity of aortic valve stenosis[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2019, 74(5): 367-368.
- [18] LIU Y, JIANG P, AN L, et al. The role of neutrophil elastase in aortic valve calcification[J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1): 167.
- [19] KIM Y, NURAKHAYEV S, NURKESH A, et al. Macrophage polarization in cardiac tissue repair following myocardial infarction[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(5): 2715.
- [20] WANG R, CHEN W, MA Z, et al. M1/M2 macrophages and associated mechanisms in congenital bicuspid aortic valve stenosis[J]. *Exp Ther Med*, 2014, 7(4): 935-940.
- [21] JOHNSON J L, NEWBY A C. Macrophage heterogeneity in atherosclerotic plaques[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2009, 20(5): 370-378.
- [22] KADEN J J, DEMPFLER C E, GROBHOHL R, et al. Inflammatory regulation of extracellular matrix remodeling in calcific aortic valve stenosis[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2005, 14(2): 80-87.
- [23] YU B, ZHAO X, YANG C, et al. Parathyroid hormone induces differentiation of mesenchymal stromal/stem cells by enhancing bone morphogenetic protein signaling[J]. *J Bone Miner Res*, 2012, 27(9): 2001-2014.
- [24] ZHU X, YANG L, HAN X, et al. Oxidized phospholipids facilitate calcific aortic valve disease by elevating ATF4 through the PERK/eIF2 α axis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2023, 15(14): 6834-6847.
- [25] ZHOU P, LI Q, SU S, et al. Interleukin 37 suppresses M1 macrophage polarization through inhibition of the notch1 and nuclear factor kappa B pathways[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 56.
- [26] WU L, HUANG K, LI Q, et al. Crosstalk between myofibroblasts and macrophages: a regulative factor of valvular fibrosis in calcific aortic valve disease[J]. *Cell Biol Int*, 2023, 47(4): 754-767.
- [27] BLASER M C, AIKAWA E. Roles and regulation of extracellular vesicles in cardiovascular mineral metabolism[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2018, 5: 187.
- [28] KAWAKAMI R, KATSUKI S, TRAVERS R, et al. S100A9-RAGE axis accelerates formation of macrophage-mediated extracellular vesicle microcalcification in diabetes mellitus[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(8): 1838-1853.
- [29] TU P, XU Q, ZHOU X, et al. Myeloid CCN3 protects against aortic valve calcification[J]. *Cell Commun Signal*, 2023, 21(1): 14.
- [30] VARRICCHI G, MARONE G, KOVANEN P T. Cardiac mast cells: underappreciated immune cells in cardiovascular homeostasis and disease[J]. *Trends Immunol*, 2020, 41(8): 734-746.
- [31] FUJISAKA T, HOSHIGA M, HOTCHI J, et al. Angiotensin II promotes aortic valve thickening independent of elevated blood pressure in apolipoprotein-E deficient mice[J]. *Atherosclerosis*, 2013, 226(1): 82-87.
- [32] HELSKE S, LINDSTEDT K A, LAINE M, et al. Induction of local angiotensin II-producing systems in stenotic aortic valves[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2004, 44(9): 1859-1866.
- [33] WYPASEK E, NATORSKA J, GRUDZIEN G, et al. Mast cells in human stenotic aortic valves are associated with the severity of stenosis[J]. *Inflammation*, 2013, 36(2): 449-456.
- [34] ŠTEINER I, STEJSKAL V, ŽÁČEK P. Mast cells in calcific aortic stenosis[J]. *Pathol Res Pract*, 2018, 214(1): 163-168.
- [35] AIKAWA E, NAHRENDORF M, SOSNOVIK D, et al. Multimodality molecular imaging identifies proteolytic and osteogenic activities in early aortic valve disease[J]. *Circulation*, 2007, 115(3): 377-386.
- [36] AIKAWA E, AIKAWA M, LIBBY P, et al. Arterial and aortic valve calcification abolished by elastolytic cathepsin S deficiency in chronic renal disease[J]. *Circulation*, 2009, 119(13): 1785-1794.
- [37] SYVÄRANTA S, HELSKE S, LAINE M, et al. Vascular endothelial growth factor-secreting mast cells and myofibroblasts: a novel self-perpetuating angiogenic pathway in aortic valve stenosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(6): 1220-1227.
- [38] KAPellos T S, BONAGURO L, GEMÜND I, et al. Human monocyte subsets and phenotypes in major chronic inflammatory diseases[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2035.
- [39] THOMAS G, TACKE R, HEDRICK C C, et al. Nonclassical patrolling monocyte function in the vasculature[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(6): 1306-1316.
- [40] TAPP L D, SHANTSIL E, WRIGLEY B J, et al. The CD14⁺⁺ CD16⁺ monocyte subset and monocyte-platelet interactions in patients with ST-elevation myocardial infarction[J]. *J Thromb Haemost*, 2012, 10(7): 1231-1241.
- [41] BARISIONE C, GARIBALDI S, GHIGLIOTTI G, et al. CD14CD16 monocyte subset levels in heart failure patients[J]. *Dis Markers*, 2010, 28(2): 115-124.
- [42] HEWING B, AU S C, LUDWIG A, et al. Severe aortic valve stenosis in adults is associated with increased levels of circulating intermediate monocytes[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2017, 10(1): 27-34.
- [43] LUO Z, THE E, ZHANG P, et al. Monocytes augment inflammatory responses in human aortic valve interstitial cells via β 2-integrin/ICAM-1-mediated signaling[J]. *Inflamm Res*, 2022, 71(5/6): 681-694.
- [44] ZHANG P, THE E, NEDUMARAN B, et al. Monocytes enhance the inflammatory response to TLR2 stimulation in aortic valve interstitial cells through paracrine up-regulation of TLR2 level[J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(15): 3062-3074.
- [45] ZHANG P, THE E, LUO Z, et al. Pro-inflammatory mediators released by activated monocytes promote aortic valve fibrocalcific activity[J]. *Mol Med*, 2022, 28(1): 5.