

# 载脂蛋白 E 基因缺失促进不成熟髓系细胞的增殖和向单核细胞的极化

童明宏<sup>1,2</sup>, 孙奋勇<sup>3</sup>, 罗瑞萍<sup>2</sup>, 傅明杰<sup>2</sup>, 李海涛<sup>2</sup>, 王 栋<sup>2</sup>

(1. 同济大学医学院, 上海市 200336; 2. 上海交通大学附属同仁医院, 上海市 200050; 3. 同济大学附属第十人民医院, 上海市 200072)

[关键词] 动脉粥样硬化; 不成熟髓系细胞; 载脂蛋白 E; 单核细胞; 固有免疫细胞

[摘要] **目的** 研究载脂蛋白 E(ApoE)对小鼠骨髓来源的 CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>髓系细胞增殖和分化的影响,阐述 ApoE 基因敲除小鼠(ApoE<sup>-/-</sup>)致动脉粥样硬化敏感的炎症相关新机制。**方法** 6~8 周龄的 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠和 C57/B6 野生型小鼠,采用流式细胞术分析骨髓、脾脏和外周血中 CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>髓系细胞、CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>-</sup>单核细胞和 CD11b<sup>-</sup>Gr-1<sup>+</sup>粒细胞的百分比的变化。应用定量 RT-PCR 和免疫荧光染色,鉴定 ApoE 基因和蛋白在 CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>髓系细胞的表达。从骨髓分选 CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>髓系细胞,体外培养 24 h,流式细胞术分析 ApoE 基因缺失对髓系细胞周期改变的作用。**结果** (1) ApoE 基因缺失显著增加 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠外周血 CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>髓系细胞和 CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>-</sup>单核细胞;(2) ApoE 基因缺失促进 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠脾脏和骨髓中 CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>不成熟髓系细胞的增殖;(3) 定量 RT-PCR 和免疫荧光染色证实 ApoE 在 CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>髓系细胞有较高水平的表达;(4) ApoE 基因缺失可以促进 CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>细胞周期自 G<sub>1</sub> 期进入 S 期。**结论**

ApoE 基因缺失显著增加 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠脾脏和骨髓中 CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>不成熟髓系细胞的增殖、巨噬细胞分化和动员。ApoE 基因缺失促进 CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>髓系细胞增殖与其促进细胞周期进入 S 期有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Apolipoprotein E Deficiency Promotes the Proliferation of Immature Myeloid Cells and Polarization of Monocytes

TONG Ming-Hong<sup>1,2</sup>, SUN Fen-Yong<sup>3</sup>, LUO Rui-Ping<sup>2</sup>, FU Ming-Jie<sup>2</sup>, LI Hai-Tao<sup>2</sup>, and WANG Dong<sup>2</sup>

(1. Medical College of Tongji University, Shanghai 200336; 2. Tongren Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200050; 3. Tenth People's Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200072, China)

[KEY WORDS] Atherosclerosis; Immature Myeloid Cells; Apolipoprotein E; Monocyte; Innate Immune Cells

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the role of apolipoprotein E (ApoE) on the migration, proliferation, and differentiation of CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup> immature myeloid cells with ApoE genetic deficiency mice. **Methods** CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup> myeloid cells, CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>-</sup> monocytes, and CD11b<sup>-</sup>Gr-1<sup>+</sup> granulocytes in the peripheral blood, spleen, and bone marrow of ApoE<sup>-/-</sup> mice and control C57/B6 mice were analyzed by flow cytometry. Expression of ApoE in CD11b<sup>+</sup> myeloid cells were examined by quantitative RT-PCR and immune-fluorescence co-staining with anti-CD11b and anti-ApoE. Cell cycle analysis was performed by flow cytometry. **Results** (1) Genetic deficiency of ApoE markedly promoted the migration of multiple myeloid subsets, in particular CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup> myeloid cells and CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>-</sup> monocytes. (2) Genetic deficiency of ApoE significantly increased the percentage of CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup> immature myeloid cells in the spleen and bone marrow of ApoE<sup>-/-</sup> mice compared with wild type mice. (3) ApoE was highly expressed in CD11b<sup>+</sup> myeloid cells located in the spleen and bone marrow. (4) ApoE deficiency increased the percentage of CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup> myeloid cells in S cell cycle. **Conclusions** ApoE deficiency significantly promotes the proliferation, differentiation, and migration of CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup> immature myeloid cells in the spleen and bone marrow of ApoE<sup>-/-</sup> mice. Repressing the proliferation of CD11b<sup>+</sup>

[收稿日期] 2014-02-17

[基金项目] 上海市长宁区科学技术委员会课题(CNKW2013J09)和上海市科委浦江人才计划(12PJ1401700)资助

[作者简介] 童明宏, 硕士研究生, 副主任技师, 研究方向为免疫学和分子生物学技术, E-mail 为 tongmh2010@sohu.com。孙奋勇, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为基因工程药物研发, E-mail 为 sunfenyong@263.net。罗瑞萍, 硕士, 副主任医师, 研究方向为心血管疾病诊断治疗, E-mail 为 ruipingluo1969@hotmail.com。

Gr-1<sup>+</sup> immature myeloid cells and macrophage differentiation through an ApoE dependent signal pathway may provide a novel sight on the treatment of atherosclerosis.

1992年, Piedrahita等<sup>[1,2]</sup>应用基因打靶的方法构建了ApoE基因敲除小鼠(ApoE<sup>-/-</sup>), 该基因敲除鼠进食高脂食物诱导产生的动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)病变, 与人类的病变非常相似, 因而广泛应用于As发病机制和防治的研究<sup>[3-5]</sup>。但是, 有较多的研究发现, 较低浓度的ApoE就可以抑制As病变的发展, 而对血浆胆固醇水平几乎没有影响<sup>[6]</sup>, 提示ApoE除了参与血脂代谢之外, 还有其它的抗As病变发生的机制。自Ross于1993年提出As发生的“炎症-反应学说”, 脂质代谢失衡和血管壁炎症反应作为As的关键驱动因素在As研究中被广泛接受<sup>[7-9]</sup>。固有免疫细胞(innate immune cells)中包括中性粒细胞和单核/巨噬细胞是参与As血管炎症反应的主要效应细胞, 是易损斑块形成、破裂和急性冠状动脉综合征发生的关键因素<sup>[10]</sup>。研究发现, 小鼠骨髓和脾脏有大量的CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>不成熟髓系细胞(imature myeloid cells, IMC), 这些不成熟髓系细胞与炎症相关的小鼠结肠癌和皮肤癌的发展密切相关<sup>[11-13]</sup>。CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>不成熟髓系细胞在As斑块形成与发展中的作用, 目前研究尚少。既往有研究报道骨髓分离的不成熟髓系细胞诱导分化的单核细胞可以吞噬氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)形成泡沫细胞<sup>[7-9]</sup>。ApoE的表达对固有免疫细胞, 尤其是对其前体不成熟髓系细胞的调控, 目前研究很少, 其作用及机制有待进一步阐明。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

健康6~8周龄ApoE基因敲除小鼠(20 g)和C57/B6野生型小鼠(WT)各20只, 均为雄性, 由北京维通利华实验动物中心提供。

### 1.2 主要试剂

DMEM/LG培养基(Gibco公司), 标准胎牛血清(Hyclone公司), 磷酸盐缓冲溶液(PBS)(武汉博士德公司)。PerCP Cy5.5 Rat anti-mouse Ly6G和Ly6C即anti-Gr-1、PE Rat anti-mouse CD11b、FITC Rat anti-mouse Ly6C、Biotin anti-F4/80(美国eBioscience公司)。倒置相差显微镜及相机(Nikon), 流式细胞仪为BD公司生产(BD FACS Aria™ II)。

### 1.3 流式细胞术检测髓系细胞亚群

麻醉处死小鼠, 从心室抽取血液约1 mL, 抗凝

处理, 采用红细胞裂解液(RBC Lysis Buffer, BD)裂解红细胞, 流式缓冲液200 μL重悬细胞备用; 脾脏组织剪取小块(黄豆大小), 在40 μmol/L滤网(BD)上研磨后, PBS冲洗过滤收集单个细胞; 最后分离股骨, 采用含2%胎牛血清的PBS冲洗骨髓腔, 经40 μmol/L滤网过滤收集洗脱液。细胞计数后( $1 \times 10^6$  cell/100 μL), 按照1:100的浓度, 分别加入FITC-anti-CD11b、PerCP Cy5.5-anti-Gr-1(Ly6G/Ly6C)、PE-anti-Ly6C等荧光标记抗体(BD Bioscience), 孵育45 min。PBS洗涤细胞用滤网过滤, 重悬在含DAPI的200 μL PBS。比较骨髓、脾脏和外周血CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>髓系细胞、CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>-</sup>单核细胞和CD11b<sup>-</sup>Gr-1<sup>+</sup>粒细胞的百分比变化, 进行髓系细胞增殖和动员分析。CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>髓系细胞也可以经流式细胞仪分选, 然后用TriZol试剂提取细胞总RNA, 用于定量RT-PCR分析。ApoE<sup>-/-</sup>和C57/B6野生型小鼠每组各有5只以上。

### 1.4 免疫荧光染色鉴定ApoE蛋白在脾脏组织的表达

小鼠麻醉后处死, 分离脾脏先用4%多聚甲醛固定24 h, 然后转入30%蔗糖溶液处理24 h。OCT包埋后制备冰冻组织切片。免疫荧光双染色采用Rat anti-mouse CD11b(BD)和anti-ApoE(abcam, ab1906)抗体。荧光标记二抗分别采用Texas-RED和FITC。

### 1.5 统计学分析

资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 $t$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 载脂蛋白E基因缺失促进CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>髓系细胞的动员和增殖

流式细胞术分析结果显示, CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>髓系细胞在ApoE<sup>-/-</sup>小鼠( $n=10$ )的外周血较野生型小鼠( $n=10$ )有显著增加( $6.8\% \pm 1.8\%$ 比 $2.9\% \pm 0.8\%$ ,  $P < 0.05$ ); CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>-</sup>单核细胞亚群在ApoE<sup>-/-</sup>小鼠的外周血也较野生型小鼠有显著增加( $5.1\% \pm 1.4\%$ 比 $1.5\% \pm 0.6\%$ ,  $P < 0.05$ ; 图1)。

流式细胞术分析CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>和CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>-</sup>两个髓系细胞亚群在骨髓和脾脏的表达, 结果显示, 在骨髓和脾脏内有大量的CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>和CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>-</sup>两个髓系细胞亚群, 特别是CD11b<sup>+</sup>

Gr-1<sup>+</sup> 髓系细胞亚群。ApoE 基因缺失能显著增加骨髓和脾脏内 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 髓系细胞的百分比(骨髓:74.5% ± 4.8% 比 58.6% ± 3.1% ,*P* < 0.05 ;脾脏:18.8% ± 5.6% 比 3.3% ± 0.9% ,*P* < 0.01 )。综上,ApoE 基因缺失可以促进骨髓和脾脏内髓系细胞的增殖和分化,促进 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 和 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>-</sup> 两个髓系细胞亚群,尤其是 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 细胞的增殖和动员(图 2)。

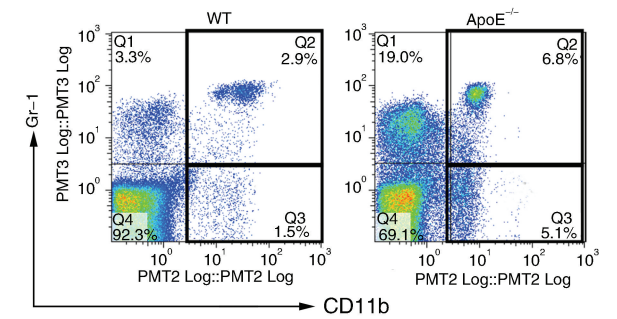


图 1. 流式细胞术分析检测 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠和野生型小鼠外周血内 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 和 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>-</sup> 两个髓系细胞亚群的表达

Figure 1. Expression of CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> myeloid cells and CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>-</sup> monocytes in the blood of ApoE<sup>-/-</sup> and WT mice by FACS

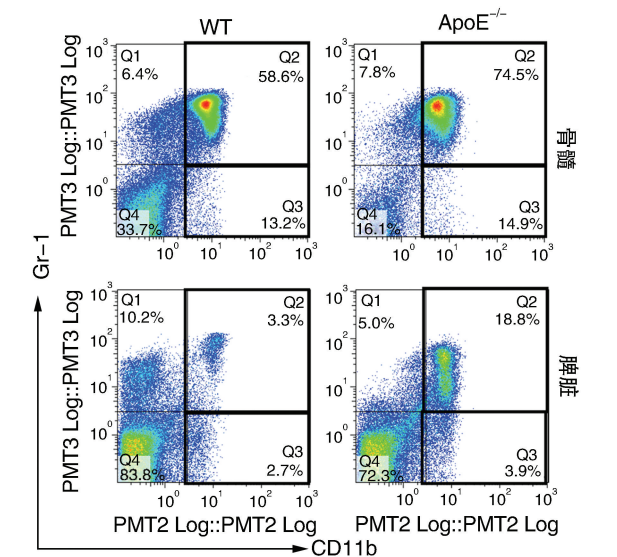


图 2. 流式细胞术检测 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠和野生型小鼠骨髓和脾脏内 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 和 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>-</sup> 两个髓系细胞亚群的表达

Figure 2. Expression of CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> myeloid cells and CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>-</sup> monocytes in the spleen and bone marrow of ApoE<sup>-/-</sup> and WT mice by FACS

2.2 载脂蛋白 E 在脾脏内 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 髓系细胞高表达

为弄清 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠异常的髓系免疫细胞增殖和动员,是源自 ApoE 基因缺失导致的血脂异常,还是其它信号机制,我们应用流式分选,从野生型小鼠脾脏和骨髓分离了 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 髓系细胞,然后分别用定量 RT-PCR 和免疫荧光分析,检测了 ApoE 基因和蛋白在 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 髓系细胞的表达。定量 RT-PCR 结果显示,ApoE mRNA 在脾脏分离的 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 髓系细胞的表达,较骨髓分离的 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 髓系细胞高约 3.6 倍(图 3)。进一步应用免疫荧光共染色方法,证实 ApoE 蛋白在脾脏组织 CD11b<sup>+</sup> 髓系细胞高表达,而不是在淋巴细胞内(图 4)。

2.3 载脂蛋白 E 基因缺失促进髓系细胞增殖和向 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>-</sup> 单核细胞的分化

流式细胞术分析结果显示,ApoE<sup>-/-</sup> 不仅影响血脂代谢,还影响 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 和 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>-</sup> 两个髓系细胞亚群的增殖和分化(图 5)。为了进一步分析 ApoE<sup>-/-</sup> 促进 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 不成熟髓系细胞增殖的机制,我们从野生型小鼠和 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠的骨髓分离了 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 细胞,体外培养 48 h 后,进行细胞周期分析,结果显示,ApoE 基因缺失可以减少 G<sub>1</sub> 期细胞的百分比而增加 S/M 期细胞的百分比,促进细胞增殖(图 6)。

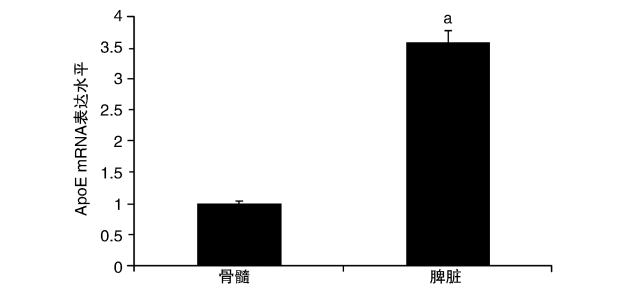


图 3. 定量 RT-PCR 检测 ApoE mRNA 在脾脏和骨髓分离的 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 髓系细胞的表达水平 a 为 *P* < 0.05,与骨髓比较。

Figure 3. Expression of ApoE mRNA in CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> myeloid cells isolated from spleen and bone marrow of ApoE<sup>-/-</sup> and WT mice by quantitative RT-PCR

3 讨论

ApoE 是 1973 年 Shore 等在富含甘油三酯的极低密度脂蛋白(VLDL)中首先发现的,是血浆脂蛋白的重要组成部分,在脂质代谢中具有重要的作用<sup>[14,15]</sup>。1992 年通过基因打靶建立了 ApoE 基因



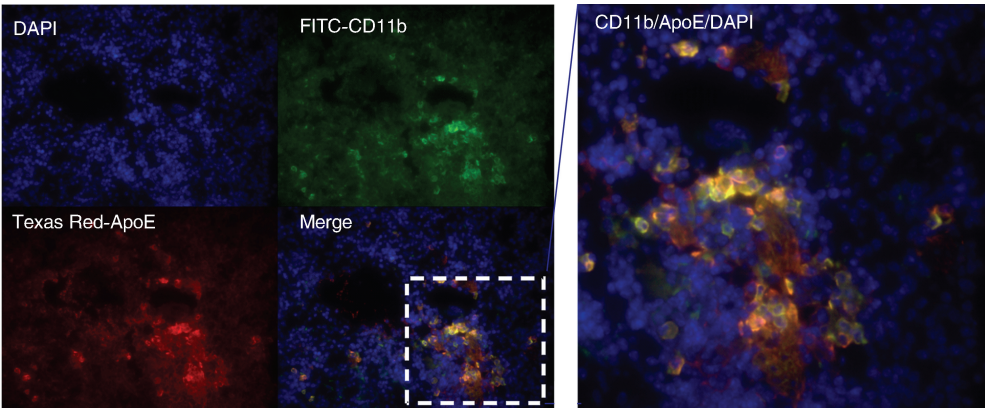


图 4. 免疫荧光双染色检测 CD11b<sup>+</sup> 髓系细胞在脾脏的表达和 ApoE 蛋白在脾脏内免疫细胞的表达

Figure 4. Expression of ApoE protein in CD11b<sup>+</sup> myeloid cells located in the spleen examined by immunofluorescence staining with anti-CD11b (FITC) and anti-ApoE (Red)

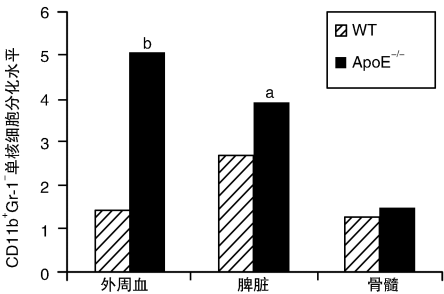


图 5. 流式细胞术分析 ApoE 基因缺失对 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>-</sup> 单核细胞分化的影响 a 为  $P < 0.05$ , b 为  $P < 0.01$ , 与野生型小鼠比较。

Figure 5. Expression of CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>-</sup> monocytes in the blood, spleen, and bone marrow of ApoE<sup>-/-</sup> compared with WT mice by FACS

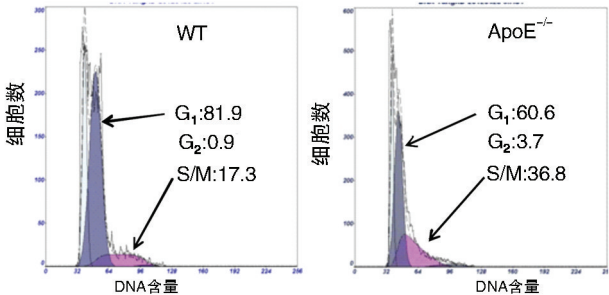


图 6. 细胞周期分析展示 ApoE 基因缺失对 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 细胞周期的影响

Figure 6. FACS analyzes cell cycle of CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> myeloid cells isolated ApoE<sup>-/-</sup> mice compared with WT mice

敲除小鼠,因其异常增高的血浆胆固醇浓度(是正常小鼠的 5 倍)和对 As 病变的敏感性,广泛应用于心血管疾病机制和药物研究。既往的研究已发现 ApoE 抗 As 的机制可能通过:(1) ApoE 协同载脂蛋

白 A I (ApoA I) 促进胆固醇从内膜斑块的巨噬细胞中流出;(2) ApoE 可以抑制 T 淋巴细胞的增殖,调节血管炎症反应;(3) ApoE 具有抗氧化效应。但是,通过转基因技术,让 ApoE 基因敲除小鼠表达外源性的 ApoE,并使其浓度低于正常水平 1% ~ 2%,发现其对血浆胆固醇水平几乎没有影响,却抑制了 As 的进展,说明 ApoE 可以通过调节血浆胆固醇以外的其他机制来抑制动脉 As<sup>[16]</sup>。但是,ApoE 基因缺失对炎症和免疫细胞的影响及其作用机制并不十分清楚。

为探讨炎症反应和免疫细胞在 As 发生中的作用,本研究我们主要应用流式细胞术,分析了多个 CD11b<sup>+</sup> 髓系细胞亚群在 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠外周血、脾脏和骨髓内的表达。我们的研究发现 ApoE 基因和蛋白在脾脏和骨髓的 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 髓系细胞有高水平的表达;ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠即使给予普通饲料喂养,也可以引起固有免疫细胞尤其是 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 不成熟髓系细胞的增殖和动员显著增加;ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠较野生型小鼠 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>-</sup> 单核细胞亚群的百分比在脾脏和外周血显著增加。这些结果提示 ApoE<sup>-/-</sup> 不仅影响血脂代谢,还影响 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 髓系细胞和 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>-</sup> 单核细胞两个髓系细胞亚群的增殖和分化。我们的研究进一步发现 ApoE 基因缺失可以促进 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 细胞周期自 G<sub>1</sub> 期进入 S 期,这可能是 ApoE 调控 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 髓系细胞增殖的一个重要细胞内机制。小鼠 CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 不成熟髓系细胞,也称作髓系来源的抑制细胞(myeloid derived suppressor cells, MDSC)。CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> 不成熟髓系细胞或 MDSC 是来源于骨髓的一类细胞的总称,具备向 Ly6G<sup>+</sup> 粒细胞或者 Ly6C<sup>+</sup> 单核细胞或者 CD11c<sup>+</sup> 树突

状细胞(dendritic cell)分化的能力。CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>不成熟髓系细胞或 MDSC 在急慢性感染、自身免疫疾病和肿瘤发生中发挥重要作用<sup>[8-10]</sup>,但在 As 的发病机制中发挥的作用尚不明确。Ross 等<sup>[7-9]</sup>研究发现,LPS 刺激诱导大量 MDSC 从骨髓动员,释放到外周循环中;小鼠骨髓分离的 MDSC 细胞也可以转化为单核细胞源性泡沫细胞。2011 年,Andrew Murphy 等研究发现,ApoE 蛋白在骨髓造血干细胞膜(hematopoietic stem and progenitor cell, HSPC)上表达,ApoE<sup>-/-</sup>小鼠,不论是给予普通饮食还是高脂饮食,都可以促进单核细胞和中性粒细胞的增殖;ApoE 抑制免疫细胞增殖,与其通过 ABCA1/ABCG1 调节脂质向细胞内流动有关<sup>[17]</sup>。ApoE 蛋白在 HSPC 上通过与 ABCA1/ABCG1 相互作用,促进胆固醇流出,抑制细胞表面脂代谢受体表达和 IL-3 受体下游的信号。在本研究中,我们发现 ApoE 抗 As 的可能新机制,首先是 ApoE 可以调节髓系细胞增殖,可能与其抑制不成熟髓系细胞的细胞周期自 G<sub>1</sub> 期进入 S 期有关。不成熟髓系细胞在骨髓细胞的百分比,可以达到 30% ~ 50%,ApoE 可能更多通过调控不成熟髓系细胞,而不是造血干细胞(低于骨髓细胞的 1%)来调节髓系细胞的增殖和分化,但其机制有待进一步研究。其次,ApoE 可以抑制单核巨噬细胞的分化,脾脏和外周血管组织可能是其调控场所。越来越多的研究支持 As 是炎症性疾病和免疫相关的疾病,固有免疫细胞在免疫调节及慢性炎症性疾病中发挥着重要的作用。我们和其它研究者的发现都提示,调节不成熟髓系细胞的增殖和分化,尤其是巨噬细胞的分化或极化,可能成为调控血管 As 斑块内炎症微环境的一个靶标。不成熟髓系细胞及其在血管内膜下释放的 ApoE 将来都可能作为抑制 As 病变内炎症反应的新靶点。

# [参考文献]

- [1] Piedrahita JA, Zhang SH, Hagaman JR, et al. Generation of mice carrying a mutant apolipoprotein E gene inactivated by gene targeting in embryonic stem cells[J]. PNAS, 1992, 89: 4 471-475.
- [2] Jawien J, Nastalek P, Korbut R. Mouse models of experimental atherosclerosis[J]. J PhysiolPharmacol, 2004, 55 (3): 503-517.
- [3] Sullivan PM, Mezdour H, Quarfordt SH, et al. Type III hyperlipoproteinemia and spontaneous atherosclerosis in mice resulting from gene replacement of mouse ApoE with human APOE \*2[J]. J Clin

Invest, 1998, 102(1): 130-135.

- [4] Sullivan PM, Mezdour H, Aratani Y, et al. Targeted replacement of the mouse apolipoprotein gene with the common human ApoE3 allele enhances diet-induced hypercholesterolemia and atherosclerosis [J]. J Biol Chem, 1997, 272: 17 972-980.
- [5] Knouff C, Hinsdale ME, Mezdour H, et al. ApoE structure determines VLDL clearance and atherosclerosis risk in mice[J]. J Clin Invest, 1999, 103: 1 579-586.
- [6] Linda K, Curtiss. ApoE in atherosclerosis: a protein with multiple hats[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000, 20: 1 852-853.
- [7] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s[J]. Nature, 1993, 362: 801-809.
- [8] Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease[J]. New England J Med, 1999, 340: 115-126.
- [9] 杨向东, 姜宜成, 沈成兴, 等. 脂多糖动员骨髓 CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>髓系抑制细胞及其吞噬氧化型低密度脂蛋白形成泡沫细胞[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18(3): 189-192.
- [10] Vinten-Johansen J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury[J]. Cardiovasc Res, 2004, 61: 481-497.
- [11] Haile LA, von Waselewski R, Gamrekashvili J, et al. Myeloid-derived suppressor cells in inflammatory bowel disease: a new immunoregulatory pathway [J]. Gastroenterology, 2008, 135 (3): 871-81, 881.
- [12] Yang XD, Ai W, Asfaha S, et al. Histamine deficiency promotes inflammation-associated carcinogenesis through reduced myeloid maturation and accumulation of CD11b<sup>+</sup>Ly6G<sup>+</sup> immature myeloid cells[J]. Nature Med, 2011, 17: 87-95.
- [13] Lechner MG, Liebertz DJ, Epstein AL. Characterization of cytokine-induced myeloid-derived suppressor cells from normal human peripheral blood mononuclear cells[J]. J Immunol, 2010, 185: 2 273-284.
- [14] Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cellrn biology [J]. Science, 1988, 240: 622-630.
- [15] 彭 旷, 杨永宗. 载脂蛋白 E 及其基因敲除小鼠的研究进展[J]. 心血管病学进展, 2006, 27(增刊): 74-78.
- [16] Tho gate FE, Rudel LL, Walzem RL, et al. Low levels of extrahepaticnonmacrophage apoE inhibit atherosclerosis without correcting hypercholesterolemia in apoE-deficient mice [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000, 20: 1 939-945.
- [17] Andrew J, Murphy, Mani Akhtari, et al. ApoE regulates hematopoietic stem cell proliferation, monocytosis, and monocyte accumulation in atherosclerotic lesions in mice[J]. J Clin Invest, 2011, 121(10): 4 138-149.

(此文编辑 许雪梅)