

GW1929 对氧化型低密度脂蛋白诱导巨噬细胞 SOCS1 和 SOCS3 表达及炎症反应的影响

李 飞, 袁 勇, 董剑廷, 冯 力, 邓志华, 韩 莹

(中山市人民医院心血管内科, 广东省中山市 528400)

[关键词] 动脉粥样硬化; 炎症反应; 细胞因子; 细胞因子信号抑制剂; 巨噬细胞; 过氧化体增殖物激活型受体

[摘要] **目的** 观察过氧化体增殖物激活型受体 γ (PPAR γ) 激动剂 GW1929 对氧化型低密度脂蛋白 (ox-LDL) 诱导巨噬细胞 SOCS1、SOCS3 表达和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 10 (IL-10)、 γ 干扰素 (IFN- γ) 生成的影响。**方法** ox-LDL (50 mg/L)、GW1929 (20 μ mol/L) 作用于小鼠腹腔巨噬细胞 4 h 后, 采用 Real-time PCR 技术观察各组 SOCS1 及 SOCS3 mRNA 的表达。采用 Western blot 技术观察 ox-LDL 作用于小鼠腹腔巨噬细胞 6 h 后, SOCS1 及 SOCS3 蛋白的表达。最后 ELISA 法测定 ox-LDL 作用于小鼠腹腔巨噬细胞 24 h 后, 各组培养液上清中 TNF- α 、IL-10、IFN- γ 的浓度。**结果** ox-LDL 组巨噬细胞 SOCS1 及 SOCS3 mRNA 和蛋白的表达明显高于对照组与 GW1929 组 ($P < 0.05$), 而 ox-LDL + GW1929 组 SOCS1 的表达明显高于 ox-LDL 组 ($P < 0.05$), SOCS3 的表达却明显低于 ox-LDL 组 ($P < 0.05$)。ox-LDL 组细胞培养液中 TNF- α 、IFN- γ 及 IL-10 的浓度以及 TNF- α /IL-10、IFN- γ /IL-10 比值均明显高于对照组及 GW1929 组 ($P < 0.05$), 加入 GW1929 24 h 后培养液中 TNF- α 、IFN- γ 及 IL-10 的浓度以及 TNF- α /IL-10、IFN- γ /IL-10 比值均明显低于 ox-LDL 组 ($P < 0.05$)。**结论** ox-LDL 促进了小鼠腹腔巨噬细胞 SOCS1 和 SOCS3 mRNA 及蛋白的表达增多, 而 PPAR γ 激动剂可能通过进一步上调 SOCS1 而不是 SOCS3 的表达, 以对抗过度的炎症反应, 调节促炎/抗炎反应的平衡。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effects of GW1929 on Macrophage SOCS1/SOCS3 Expression and Inflammatory Reaction Induced by Oxidized Low Density Lipoprotein

LI Fei, YUAN Yong, DONG Jian-Ting, FENG Li, DENG Zhi-Hua, and HAN Ying

(Department of Cardiology, the People's Hospital of Zhongshan, Zhongshan, Guangdong 528400, China)

[KEY WORDS] Atherosclerosis; Inflammation; Cytokines; SOCS; Macrophages; Peroxisome Proliferator Activated Receptors

[ABSTRACT] **Aim** To investigate whether peroxisome proliferator activated receptors gamma (PPAR γ) activator GW1929 regulates suppressors of cytokine signaling-1 (SOCS1) and SOCS3 expression as well as production of tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin-10 (IL-10), and interferon- γ (IFN- γ) in macrophages induced by oxidized low density lipoprotein (ox-LDL). **Methods** Real-time PCR were used to analyze SOCS1 and SOCS3 mRNA expression after the mouse peritoneal macrophages were pretreated with ox-LDL (50 mg/L) and GW1929 (20 μ mol/L) for 4 h. Western blot were used to analyze SOCS1 and SOCS3 protein expression after the mouse peritoneal macrophages were pretreated with ox-LDL (50 mg/L) and GW1929 (20 μ mol/L) for 6 h. The concentrations of TNF- α , IL-10 and IFN- γ in the culture supernatant were detected after macrophages were pretreated with ox-LDL and GW1929 for 24 h by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The concentrations of TNF- α , IL-10 and IFN- γ and ratios of TNF- α /IL-10, IFN- γ /IL-10 in ox-LDL group were higher than those in control and GW1929 group obviously, but the concentrations of the above factors in ox-LDL + GW1929 group were lower than those in ox-LDL group apparently. The expressions of SOCS1 at mRNA and protein level in ox-LDL group were higher than those in control and GW1929 group obviously, and SOCS1 expr-

[收稿日期] 2012-09-04

[作者简介] 李飞, 博士后, 副主任医师, 研究方向为冠心病的发病机制及诊治, E-mail 为 lifei750123@sohu.com。袁勇, 博士后, 主任医师, 研究方向为冠心病的发病机制及诊治。董剑廷, 硕士, 主任医师, 研究方向为心脏电生理研究。

ession in ox-LDL + GW1929 group was higher than that in ox-LDL group, but SOCS3 expression in ox-LDL + GW1929 group was lower than that in ox-LDL group. **Conclusion** PPAR γ activator GW1929 up-regulates the expressions of SOCS1 but not SOCS3 at mRNA and protein level and regulates the balance of pro-inflammatory/anti-inflammatory reactions in macrophages induced by ox-LD.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是引起心血管疾病的主要原因。研究表明, As 是一种炎症性疾病^[1]。As 是以T辅助细胞1(T help cells, Th1)细胞因子介导的炎症反应为主的疾病。细胞因子信号抑制剂(suppressors of cytokine signaling, SOCS)是一系列能够抑制细胞因子信号转导的蛋白。近来发现, SOCS 蛋白家族与 As 及炎症有着密切关系。临床应用广泛的抗 As 的他汀类药物能诱导巨噬细胞表达 SOCS3 增多, 同时减少细胞因子的生成^[2]。人的 As 斑块在炎症活跃区的巨噬细胞中有大量 SOCS1 和 SOCS3 的高表达^[3]。SOCS3 的缺乏能够促进巨噬细胞的分化及炎症反应^[4]。SOCS1 的基因治疗能够抑制自身免疫性心肌炎的炎症及病理反应^[5]。因此, 以 SOCS 蛋白为靶点, 增加 SOCS1 和 SOCS3 的表达, 减少促炎细胞因子的生成, 从而抑制 Th1 介导的炎症反应, 可能成为防治 As 的新策略。过氧化体增殖物激活型受体(peroxisome proliferator activated receptors, PPAR)属于核受体超家族的转录因子。研究表明, PPAR γ 可能通过作用于血管内皮细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞以及 T 淋巴细胞表现出抗炎、抗 As 的作用^[6]。本研究旨在观察 PPAR γ 激动剂 GW1929 对泡沫细胞 SOCS1 和 SOCS3 的表达及炎症反应的影响。

1 材料和方法

1.1 主要材料

雄性 BALB/c 小鼠(6~8 周龄, 体重 18~20 g)购自中山大学医学院实验动物中心。液体硫乙醇酸盐培养基购自广东环凯微生物科技有限公司。氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)购自中国医学科学院基础医学研究所生化所。GW1929 购自美国 Sigma 公司。RPMI-1640 培养基为 Gibco 公司产品。新生小牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司。肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor α , TNF- α)、 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、白细胞介素 10(interleukin-10, IL-10)ELISA 试剂盒购自晶美生物工程有限公司(最低检测标准 4 ng/L)。小鼠 SOCS1 及 SOCS3 多克隆抗体购自美国 Zymed 公司。

1.2 细胞培养

雄性 BALB/c 小鼠腹腔注射 8% 硫乙醇酸盐液 1

mL, 每天 1 次, 连续 3 天。第 4 天引颈处死小鼠, 置于弯盘中, 剪开腹部皮肤, 暴露出腹膜。将 6 mL PBS 注入腹腔中, 用手揉压腹膜两侧 15 min, 然后针头轻轻挑起腹壁, 将小鼠微倾向一侧, 抽吸出腹腔液体。拔出针头, 液体注入离心管中, 再重复以上操作 1 次。2 次液体合并, 4℃1000 r/min 离心 10 min。去上清, 加入 10 mL RPMI-1640 培养液, 混匀后计数细胞, 调整为 2×10^6 /L。接种到 6 孔板中, 每孔 2 mL。2 h 后弃去培养基, PBS 冲洗 2 次, 再加入 RPMI-1640 培养液。37℃培养箱中培养 3 天后分组处理。

1.3 实验分组

对照组: 培养液中未加入干预试剂; GW1929 组: GW1929 的终浓度为 20 μ mol/L; ox-LDL 组: ox-LDL 的终浓度为 50 mg/L; ox-LDL + GW1929 组: ox-LDL 的终浓度为 50 mg/L, GW1929 的终浓度为 20 μ mol/L。

1.4 Real-time PCR 检测 SOCS1 及 SOCS3 mRNA 的表达

实验分组及处理 4 h 后, 加入 Trizol 提取细胞总 RNA, 经紫外分光光度计检测纯度和浓度。符合要求的总 RNA 用反转录试剂盒合成 cDNA 第 1 条链, 以合成的 cDNA 为模板, 小鼠 β -actin 为内参, 及小鼠 SOCS1 及 SOCS3 上、下游引物行 Real-time PCR 检测。引物由 TaKaRa 公司合成, SOCS1 序列为上游 5'-TCG TCC TCG TCT TCG TCC T-3', 下游 5'-GAA GGT GCG GAA GTG AGT GT-3'; SOCS3 上游 5'-GGA GAT TTC GCT TCG GGA CTA-3', 下游 5'-GGA AAC TTG CTG TGG GTG AC-3'; β -actin 上游 5'-TGA CAG GAT GCA GAA GGA GA-3', 下游 5'-GCT GGA AGG TGG ACA GTG AG-3'。反应总体积为 20 μ L, 共 40 个循环。ABI PRISM7000 Real-time PCR 扩增仪获得扩增的 Ct 值, 对比内参照基因得到 Δ Ct 值, 计算各组的 $-\Delta\Delta$ Ct 值, 根据模板浓度制定标准曲线, 测定扩增效率 E, 各组的目标基因转录的相对水平表示为 $E^{-\Delta\Delta Ct}$ 。

1.5 Western blot 检测 SOCS1 及 SOCS3 蛋白表达水平

实验分组及处理 6 h 后提取细胞总蛋白: 弃去药物, 用预冷的 PBS 润洗细胞后, 倒尽吸干 PBS, 加入 RIPA 裂解液, 冰上裂解 30 min, 刮下细胞, 离心, 取上清液于 -80℃保存。提取细胞总蛋白后经 Mini BCA 法定量。十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝

胶电泳 (SDS-PAGE) 和免疫印迹杂交: 各取 12 μ L 提取液, 100 $^{\circ}$ C 变性 5 min, 上样, 电泳, 转膜后封闭, 加入一抗, 4 $^{\circ}$ C 过夜, 洗膜, 加入二抗于室温下作用 2 h, 洗膜后进行化学发光, 显影。根据各条带密度的变化, 判断 SOCS1 及 SOCS3 蛋白的表达情况。

1.6 检测培养液中 TNF- α 、IFN- γ 及 IL-10 的浓度

实验分组及处理 24 h 后, ELISA 法检测各组培养液中 TNF- α 、IFN- γ 及 IL-10 的含量。操作步骤按试剂盒说明书进行测得各组的 A 值。以标准品浓度和相应的 A 值为参数, 用 SPSS10.0 统计软件进行直线回归处理, 得出相应的方程; 把各标本的 A 值代入方程算出各标本的浓度。

1.7 统计学处理

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用 SPSS10.0 统计软件进行统计学处理, 各组均数间的比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA)。

2 结 果

2.1 Real-time PCR 观察 SOCS1 和 SOCS3 mRNA 的表达

由所示扩增曲线可知各样本基因的 Ct 值, 由融解曲线可见反应产物呈一个单一的熔点曲线峰, 表明扩增产物的特异性高 (图 1 和图 2)。

Ox-LDL 作用于巨噬细胞 4 h 后, SOCS1 及 SOCS3 mRNA 的表达明显高于对照组和 GW1929 组 ($P < 0.05$)。而 ox-LDL + GW1929 组巨噬细胞 SOCS1 mRNA 的表达明显高于 ox-LDL 组 ($P < 0.05$), ox-LDL + GW1929 组巨噬细胞 SOCS3 mRNA 的表达明显低于 ox-LDL 组 ($P < 0.05$)。GW1929 组与对照组之间巨噬细胞 SOCS1 及 SOCS3 mRNA 的表达无明显差异 (表 1)。

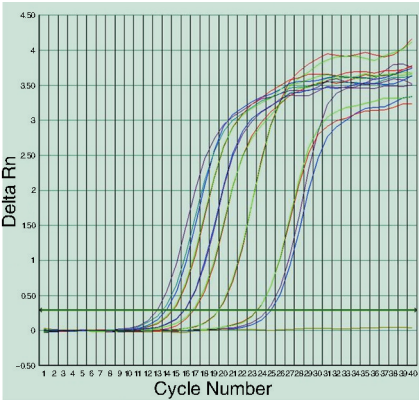


图 1. Real-time PCR 扩增曲线
Figure 1. Amplification curves of Real-time PCR

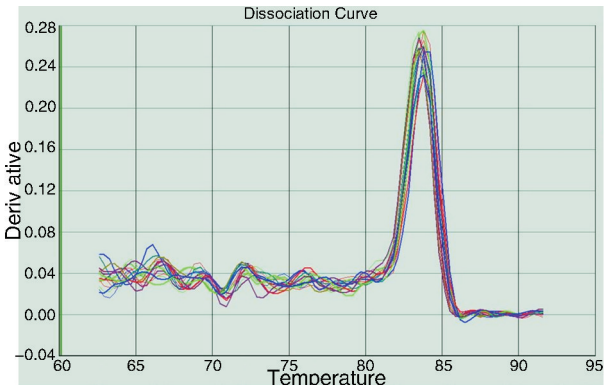


图 2. Real-time PCR 产物的融解曲线
Figure 2. Melting curves of Real-time PCR products

表 1. 巨噬细胞 SOCS1 及 SOCS3 mRNA 的表达 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)
Table 1. Expression of SOCS1 and SOCS3 mRNA in macrophages in various groups

分 组	SOCS1	SOCS3
对照组	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00
GW1929 组	1.24 \pm 0.36	1.19 \pm 0.40
ox-LDL 组	2.94 \pm 0.65 ^a	2.68 \pm 0.41 ^a
ox-LDL + GW1929 组	4.87 \pm 0.71 ^b	1.28 \pm 0.38 ^b

a 为 $P < 0.05$, 与对照组及 GW1929 组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 ox-LDL 组比较。

2.2 Western blot 观察 SOCS1 和 SOCS3 蛋白的表达

Ox-LDL 组巨噬细胞 SOCS1 和 SOCS3 蛋白的表达明显高于对照组和 GW1929 组 ($P < 0.05$); ox-LDL + GW1929 组巨噬细胞 SOCS1 蛋白的表达又明显高于 ox-LDL 组 ($P < 0.05$), 而 SOCS3 蛋白的表达明显低于 ox-LDL 组 ($P < 0.05$)。GW1929 组与对照组之间巨噬细胞 SOCS1 和 SOCS3 蛋白的表达无明显差异 (图 3 及表 2)。

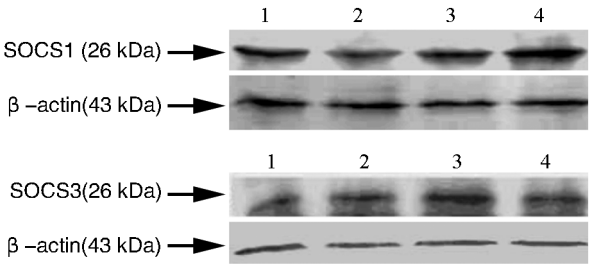


图 3. 巨噬细胞 SOCS1 和 SOCS3 蛋白的表达 1 为对照组, 2 为 GW1929 组, 3 为 ox-LDL 组, 4 为 ox-LDL + GW1929 组。
Figure 3. SOCS1 and SOCS3 protein expression in macrophages in various groups

表 2. 巨噬细胞 SOCS1 及 SOCS3 蛋白的表达 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2. SOCS1 and SOCS3 protein expression in macrophages

分 组	SOCS1	SOCS3
对照组	0.63 ± 0.13	1.27 ± 0.33
GW1929 组	0.54 ± 0.08	1.22 ± 0.27
ox-LDL 组	1.12 ± 0.19 ^a	2.39 ± 0.22 ^a
ox-LDL + GW1929 组	2.15 ± 0.27 ^b	1.23 ± 0.34 ^b

a 为 $P < 0.05$, 与对照组及 GW1929 组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 ox-LDL 组比较。

表 3. 各组培养液中 TNF- α 、IFN- γ 、IL-10 的浓度及 TNF- α /IL-10、IFN- γ /IL-10 比值 ($\bar{x} \pm s, \text{ng/L}, n = 6$)

Table 3. The concentration of TNF- α , IFN- γ , IL-10 and TNF- α /IL-10, IL-6/IL-10 ratio in culture fluid of various groups

指 标	对照组	GW1929 组	ox-LDL 组	ox-LDL + GW1929 组
TNF- α	21.17 ± 10.31	20.30 ± 9.82	181.86 ± 38.07 ^a	35.60 ± 3.40 ^b
IFN- γ	24.92 ± 5.25	26.46 ± 5.21	98.45 ± 12.70 ^a	41.23 ± 8.46 ^b
IL-10	19.01 ± 6.86	14.07 ± 5.29	44.17 ± 9.18 ^a	23.57 ± 7.16 ^b
TNF- α /IL-10	1.10 ± 0.21	1.08 ± 0.23	4.27 ± 1.16 ^a	1.68 ± 0.71 ^b
IFN- γ /IL-10	1.46 ± 0.24	1.60 ± 0.24	2.21 ± 0.21 ^a	1.67 ± 0.28 ^b

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

3 讨 论

细胞因子信号的负向调控剂 SOCS 蛋白家族与 As 的形成有着密切关系。但 SOCS1 和 SOCS3 在 As 形成中的作用目前尚有争议。Ortiz-Munoz 的研究发现^[3], 敲除小鼠的 SOCS3 基因的表达, 通过增加斑块的体积、白细胞的募集及趋化因子的表达, 促进了斑块的形成。而 Taleb 的研究发现^[7], T 淋巴细胞 SOCS3 的缺失促进了 IL-10 及 IL-17 的生成, 促使巨噬细胞表现出抗炎反应的表型, 并以 IL-17 依赖的方式抑制了粥样斑块及血管炎症的进行。Yu 等^[8]研究发现, PPAR γ 激动剂曲格列酮通过诱导 SOCS3 的表达, 抑制 JAK2/STAT3 信号转导途径, 并进一步抑制 IL-6 的表达。而 PPAR γ 激动剂与 SOCS 的关系目前也存在一定的争议。研究表明^[9], PPAR γ 表达增多可以通过上调 SOCS3 的表达, 抑制炎症性肠病的炎症反应。与之相反, Collino 等^[10]的研究表明, PPAR γ 激动剂吡格列酮通过抑制肝脏 SOCS3 的表达, 抑制肝脏的炎症反应及胰岛素抵抗。另有研究表明, As 过程中 SOCS1 和 SOCS3 表达的时限并不同^[11], SOCS1 在 As 病变中的大部分巨噬细胞中均有表达, 并贯穿于整个 As 发展的过程中; 但 SOCS3 在巨噬细胞中的表达, 只是出现在 As 发展的后期。本研究 GW1929 对 SOCS1 的作用提示除了 ox-LDL 激活

2.3 培养液上清 TNF- α 、IFN- γ 及 IL-10 的浓度

ox-LDL 组细胞培养液中 TNF- α 、IFN- γ 、IL-10 的浓度及 TNF- α /IL-10、IFN- γ /IL-10 的比值均明显高于对照组及 GW1929 组 ($P < 0.05$)。而加入 GW1929 24 h 后巨噬细胞培养液中 TNF- α 、IFN- γ 、IL-10 的浓度及 TNF- α /IL-10、IFN- γ /IL-10 的比值均明显低于 ox-LDL 组 ($P < 0.05$; 表 3)。

巨噬细胞反射性的引起 SOCS1 的表达增多以外, GW1929 通过 PPAR γ 受体依赖或非依赖的途径进一步促进了 SOCS1 的表达, 以对抗过度的炎症反应。而 GW1929 并没有通过 SOCS3 的表达增多抑制巨噬细胞的炎症反应, 可能因为 SOCS1 表达较 SOCS3 早, GW1929 首先通过促进 SOCS1 的表达增多, 抑制巨噬细胞的炎症反应, 反而致使 SOCS3 的负反馈信号减弱, SOCS3 的表达下调。

细胞因子的大量生成在 As 的形成中起重要作用。研究表明, 细胞因子在 As 病变中的表达量高于正常动脉中的表达, 且促炎细胞因子 (TNF- α 、IFN- γ) 的含量高于抗炎细胞因子 (IL-4、IL-10)^[12]。临床观察表明, IL-10 的水平在急性心肌梗死患者比稳定型心绞痛患者明显降低^[13]。而 TNF- α 及其 mRNA 水平在不稳定型心绞痛患者中明显升高, IL-10 水平在心绞痛患者与健康对照者比较没有明显不同, 但 TNF- α 与 IL-10 的比例明显升高。因此, 研究者多以促炎/抗炎细胞因子的比值 (TNF- α /IL-10、IFN- γ /IL-10) 反映 Th1/Th2 的比例或促炎/抗炎反应的平衡^[14]。本实验结果表明, ox-LDL 促进小鼠腹腔巨噬细胞分泌 TNF- α 、IFN- γ 及 IL-10 明显增多, TNF- α /IL-10 及 IFN- γ /IL-10 的比值也明显增高。而 GW1929 抑制了 ox-LDL 促进 TNF- α 、IFN- γ 及 IL-10 的分泌, 降低了 TNF- α /IL-10 及 IFN- γ /IL-

10 的比值。以上研究结果提示,ox-LDL 作为一种独立的致 As 危险因素,能够引起巨噬细胞 Th1/Th2 炎症反应的失衡,使炎症向以 Th1 细胞因子占优势的方向发展。而 GW1929 可能通过某种途径促进了 Th1 向 Th2 细胞因子的转化,从而调节促炎/抗炎反应的平衡,并抑制 ox-LDL 对巨噬细胞的激活作用。

以上研究结果表明,PPAR γ 激动剂 GW1929 能够上调巨噬细胞 SOCS1 而不是 SOCS3 的表达,抑制 TNF- α 、IL-6 及 IL-10 的生成,调节促炎/抗炎反应的平衡。PPAR γ 激动剂调节促炎/抗炎反应平衡的机制可能与其调节 SOCS 蛋白的负反馈机制有关。但本研究尚未揭示 GW1929 是否直接通过上调 SOCS1 的表达发挥以上作用,需要通过基因敲除或 RNA 干扰技术进一步去验证。

[参考文献]

- [1] Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis[J]. *Circulation*, 2002, 105: 1 135-143.
- [2] Huang K, Chen C, Chen J, et al. Statins induce suppressor of cytokine signaling-3 in macrophages[J]. *FEBS Lett*, 2003, 555: 385-389.
- [3] Ortiz-Munoz G, Martin-Ventura JL, Hernandez-Vargas P, et al. Suppressors of cytokine signaling modulate JAK/STAT-mediated cell responses during atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29: 525-531.
- [4] Qin H, Holdbrooks AT, Liu Y, et al. SOCS3 deficiency promotes M1 macrophage polarization and inflammation[J]. *J Immunol*, 2012, 189(7): 3 439-448.
- [5] Tajiri K, Imanaka-Yoshida K, Matsubara A, et al. Suppressor of cytokine signaling 1 DNA administration inhibits inflammatory and pathogenic responses in autoimmune myocarditis[J]. *J Immunol*, 2012, 189(4): 2 043-053.
- [6] Marx N, Kehrle B, Kohlhamme K, et al. PPAR activators

as anti-inflammatory mediators in human T lymphocytes[J]. Implications for atherosclerosis and transplantation-associated arteriosclerosis[J]. *Circ Res*, 2002, 90: 703-710.

- [7] Taleb S, Romain M, Ramkhalawon B, et al. Loss of SOCS3 expression in T cells reveals a regulatory role for interleukin-17 in atherosclerosis[J]. *J Exp Med*, 2009, 206: 2 067-077.
- [8] Yu JH, Kim KH, Kim H. SOCS 3 and PPAR-gamma ligands inhibit the expression of IL-6 and TGF-beta1 by regulating JAK2/STAT3 signaling in pancreas[J]. *Int J Biochem Cell Biol* 2008, 40: 677-688.
- [9] Li Y, de Haar C, Peppelenbosch MP, et al. SOCS3 in immune regulation of inflammatory bowel disease and inflammatory bowel disease-related cancer[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2012, 23(3): 127-138.
- [10] Collino M, Aragno M, Castiglia S, et al. Pioglitazone improves lipid and insulin levels in overweight rats on a high cholesterol and fructose diet by decreasing hepatic inflammation[J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 160(8): 1 892-902.
- [11] Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance[J]. *J Clin Invest*, 2000, 106 (4): 473-481.
- [12] Hansson GK, Robertson AK, Söderberg-Nauclér C. Inflammation and atherosclerosis[J]. *Annu Rev Pathol*, 2006, 1: 297-329.
- [13] Wojakowski W, Maslankiewicz K, Ochala A, et al. The pro-and anti-inflammatory markers in patients with acute myocardial infarction and chronic stable angina[J]. *Int J Mol Med*, 2004, 142: 317-322.
- [14] Cervera C, Filella X, Linares L, et al. TH1/TH2 cytokine release pattern during in vivo cytomegalovirus disease in solid organ transplantation[J]. *Transplant Proc*, 2007, 39(7): 2 233-235.

(此文编辑 许雪梅)