

色素上皮衍生因子对氧化低密度脂蛋白诱导的巨噬细胞炎性反应的影响研究

张燕¹, 姚树桐², 田华², 王曙霞³, 马守原¹, 李曼¹, 秦树存², 朱平¹

【摘要】 背景 近年来越来越多的研究证据表明,伴有巨噬细胞浸润和极化的局部和全身炎症反应是导致动脉粥样硬化斑块不稳定的主要原因,因此减少巨噬细胞源性泡沫细胞形成、抑制巨噬细胞炎性反应对提高斑块稳定性及防治心脑血管疾病具有重要意义。**目的** 探讨色素上皮衍生因子(PEDF)对氧化低密度脂蛋白(Ox-LDL)诱导的巨噬细胞炎性反应的影响。**方法** 本实验于2018年1—8月完成。实验分组前将巨噬细胞分为空白对照组及A、B、C、D组,A、B、C、D组细胞分别给予终浓度为100、200、400、800 ng/ml的PEDF处理24 h,进行细胞毒性试验。细胞毒性试验完成后将巨噬细胞随机分为实验对照组、炎性反应组、低浓度组、中浓度组、高浓度组。炎性反应组细胞加Ox-LDL处理24 h诱导炎性反应;低浓度组、中浓度组、高浓度组分别加终浓度为100、200、400 ng/ml的PEDF处理24 h,之后加Ox-LDL处理24 h诱导炎性反应。采用CCK-8法检测细胞活力,采用Western blot法检测细胞内白介素1(IL-1)、单核细胞趋化因子1(MCP-1)蛋白表达,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测细胞外IL-1、MCP-1蛋白表达,采用Annexin V-FITC/PI双染流式细胞术检测细胞凋亡率。**结果** (1) D组细胞活力低于空白对照组($P<0.05$),A、B、C组细胞活力与空白对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$);PEDF适宜干预浓度为100、200、400 ng/ml。(2) 炎性反应组、低浓度组、中浓度组、高浓度组细胞活力低于实验对照组,中浓度组、高浓度组细胞活力低于炎性反应组($P<0.05$)。(3) 炎性反应组、低浓度组、中浓度组、高浓度组细胞内外IL-1蛋白相对表达量高于实验对照组,低浓度组、中浓度组、高浓度组细胞内外IL-1蛋白相对表达量低于炎性反应组($P<0.05$);炎性反应组、低浓度组、中浓度组、高浓度组细胞内外MCP-1蛋白相对表达量高于实验对照组,中浓度组、高浓度组细胞内外MCP-1蛋白相对表达量低于炎性反应组($P<0.05$)。(4) 炎性反应组、低浓度组、中浓度组、高浓度组细胞凋亡率高于实验对照组,中浓度组、高浓度组细胞凋亡率高于炎性反应组($P<0.05$)。**结论** 终浓度为200、400 ng/ml的PEDF能有效降低巨噬细胞活力,下调IL-1和MCP-1蛋白表达,促进巨噬细胞凋亡,进而抑制Ox-LDL诱导的巨噬细胞炎性反应。

【关键词】 色素上皮衍生因子;氧化低密度脂蛋白;巨噬细胞;炎性反应

【中图分类号】 R 364.5 **【文献标识码】** A DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2019.03.011

张燕,姚树桐,田华,等.色素上皮衍生因子对氧化低密度脂蛋白诱导的巨噬细胞炎性反应的影响研究[J].实用心脑血管病杂志,2019,27(3):54-58.[www.syxf.net]

ZHANG Y, YAO S D, TIAN H, et al. Impact of pigment epithelium-derived factor on oxidized low density lipoprotein-induced macrophage inflammatory response [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2019, 27(3): 54-58.

Impact of Pigment Epithelium-derived Factor on Oxidized Low Density Lipoprotein-induced Macrophage Inflammatory Response ZHANG Yan¹, YAO Shutong², TIAN Hua², WANG Shuxia³, MA Shouyuan¹, LI Man¹, QIN Shucun², ZHU Ping¹

1. Department of Cardiovascular Medicine, the South Building, General Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Beijing 100853, China

2. Institute of Atherosclerosis, Taishan Medical College (Key Laboratory for Atherosclerosis of Shandong Colleges and Universities), Taian 271002, China

3. Department of Cadre Clinic, General Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Beijing 100853, China

Corresponding author: ZHU Ping, E-mail: zhuping301hospital@163.com

QIN Shucun, E-mail: shucunqin@hotmail.com

基金项目: 国防科技创新特区课题(17-163-15-XJ-001-004-03); 国家自然科学基金资助项目(81570410, 81370381)

1.100853 北京市, 中国人民解放军总医院南楼心血管内科 2.271002 山东省泰安市, 泰山医学院动脉粥样硬化研究所, 山东省高校动脉粥样硬化重点实验室 3.100853 北京市, 中国人民解放军总医院干部诊疗科

通信作者: 朱平, E-mail: zhuping301hospital@163.com

秦树存, E-mail: shucunqin@hotmail.com

【 Abstract 】 Background In recent years, more and more research evidence shows that, local and systemic inflammatory response with macrophage infiltration and polarization are the major causes of atherosclerotic plaque instability. Therefore, reducing the formation of macrophage derived foam cells and inhibiting inflammatory response of macrophages are of great importance for improving the plaque stability, prevention and treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases. **Objective** To investigate the impact of pigment epithelium-derived factor (PEDF) on oxidized low density lipoprotein (Ox-LDL)-induced macrophage inflammatory response. **Methods** This experiment was carried out from January to August 2018. Macrophages were divided into blank control group and groups A, B, C and D before grouping, and then cells in groups A, B, C and D received PEDF with final concentration of 100, 200, 400, 800 ng/ml for 24 hours to complete the cytotoxicity test, respectively. After cytotoxicity test, macrophages were randomly divided into experimental control group, inflammatory response group, low concentration group, medium concentration group and high concentration group. Cells in inflammatory response group received Ox-LDL for 24 hours to induce inflammatory response, cells in low concentration group, medium concentration group and high concentration group received PEDF with final concentration of 100, 200 and 400 ng/ml for 24 hours, respectively, followed by Ox-LDL for 24 hours to induce inflammatory response. CCK-8 method was used to detect the cell viability, Western blot method was used to detect the intracellular expression of IL-1 protein and MCP-1 protein, ELISA was used to detect the extracellular expression of IL-1 protein and MCP-1 protein, and Annexin V-FITC/PI double staining method was used to detect the apoptotic rate. **Results** (1) Cell viability in D group was statistically significantly lower than that in blank control group ($P < 0.05$), while there was no statistically significant difference in cell viability in groups A, B, C and blank control ($P > 0.05$), thus the appropriate intervention concentration of PEDF was 100, 200 and 400 ng/ml. (2) Cell viability in inflammatory response group, low concentration group, medium concentration group and high concentration group was statistically significantly lower than that in experimental control group, respectively, meanwhile cell viability in medium concentration group and high concentration group was statistically significantly lower than that in inflammatory response group, respectively ($P < 0.05$). (3) Relative expression quantity of intracellular and extracellular IL-1 protein in inflammatory response group, low concentration group, medium concentration group and high concentration group was statistically significantly higher than that in experimental control group, respectively, meanwhile relative expression quantity of intracellular and extracellular IL-1 protein in low concentration group, medium concentration group and high concentration group was statistically significantly lower than that in inflammatory response group, respectively ($P < 0.05$); relative expression quantity of intracellular and extracellular MCP-1 protein in inflammatory response group, low concentration group, medium concentration group and high concentration group was statistically significantly higher than that in experimental control group, respectively, meanwhile relative expression quantity of intracellular and extracellular MCP-1 protein in medium concentration group and high concentration group was statistically significantly lower than that in inflammatory response group, respectively ($P < 0.05$). (4) Apoptotic rate in inflammatory response group, low concentration group, medium concentration group and high concentration group was statistically significantly higher than that in experimental control group, respectively, meanwhile apoptotic rate in medium concentration group and high concentration group was statistically significantly higher than that in inflammatory response group, respectively ($P < 0.05$). **Conclusion** PEDF with final concentration of 200 and 400 ng/ml can effectively reduce viability of macrophage, down-regulate the expression of IL-1 protein and MCP-1 protein, promote the apoptosis of macrophage, and then inhibit the Ox-LDL-induced macrophage inflammatory response.

【 Key words 】 Pigment epithelium-derived factor; Oxidized low density lipoprotein; Macrophage; Inflammatory response

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是心血管疾病的主要病理基础, 是一种以粥样斑块形成为特征的慢性血管炎性疾病^[1-2]。既往研究表明, 巨噬细胞与 AS 的发生、发展密切相关, 抑制巨噬细胞炎性反应可能成为延缓 AS 进展的关键^[3]。氧化低密度脂蛋白 (oxidized low-density lipoprotein, Ox-LDL) 作为贯穿 AS 发生发展的关键致炎因子, 在内皮细胞功能损伤及启动 AS 中发挥着重要作用^[4]。色素上皮衍生因子 (pigment epithelium-derived factor, PEDF) 是一种丝氨酸蛋白酶

抑制剂超家族的多功能糖蛋白, 具有抗炎、抗氧化应激、稳定斑块等作用, 其与 AS 发生密切相关^[5-7]。笔者所在课题组前期研究发现, 急性冠脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS) 患者血浆 PEDF 水平低于健康人群, 且 PEDF 在 AS 早期具有减轻 Ox-LDL 诱导的内皮细胞功能损伤等作用^[8]。本研究旨在探讨 PEDF 对 Ox-LDL 诱导的巨噬细胞炎性反应的影响, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 鼠源 RAW 264.7 巨噬细胞购自

中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所细胞库, Ox-LDL (北京协生生物科技有限公司生产), 胎牛血清 (fetal calf serum, FBS)、DMEM 培养基 (Gibco 公司生产), PEDF (PeproTech 公司生产), CCK-8 (上海碧云天生物科技有限公司生产), 兔抗 β -actin 抗体 (Sigma 公司生产), 抗白介素 1 (IL-1) 抗体、抗单核细胞趋化因子 1 (MCP-1) 抗体 (Abcam 公司生产), 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔免疫球蛋白 G (IgG) (北京中杉金桥生物技术有限公司生产), 增强化学发光 (enhanced chemiluminescence, ECL) 试剂盒 (Pierce 公司生产), PVDF 膜 (Millipore 公司生产), Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒 (南京凯基生物科技发展有限公司生产), IL-1、MCP-1 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒 (上海蓝基生物科技有限公司生产), RIPA 裂解液、BCA 蛋白定量试剂盒、二甲基亚砜 (DMSO)、碱性磷酸盐、青链霉素混合液、胰蛋白酶、4 \times 蛋白上样缓冲液、30% 丙烯酰胺、4 \times SDS-PAGE 分离胶缓冲液、4 \times SDS-PAGE 浓缩胶缓冲液 (北京 Solarbio 公司生产)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 本实验于 2018 年 1—8 月完成。采用 DMEM 培养基 (含 10% FBS、1% 青链霉素混合液) 于 37 $^{\circ}$ C、5% 二氧化碳 (CO₂) 培养箱中培养巨噬细胞。

1.2.2 细胞毒性试验 将 DMEM 培养基更换为含 1% FBS 的 DMEM 培养基, 将巨噬细胞分为空白对照组及 A、B、C、D 组, A、B、C、D 组细胞分别给予终浓度为 100、200、400、800 ng/ml 的 PEDF 处理 24 h。

1.2.3 分组 将 DMEM 培养基更换为 1% FBS 的 DMEM 培养基培养 12 h, 之后将巨噬细胞随机分为实验对照组、炎症反应组、低浓度组、中浓度组、高浓度组。炎症反应组细胞加 Ox-LDL 80 mg/L 处理 24 h 诱导炎症反应; 低浓度组、中浓度组、高浓度组分别加终浓度为 100、200、400 ng/ml 的 PEDF 处理 24 h, 之后加 Ox-LDL 80 mg/L 处理 24 h 诱导炎症反应。

1.3 CCK-8 法 采用 CCK-8 法检测细胞活力, 具体如下: 将巨噬细胞以 1×10^4 /孔接种于 96 孔培养板内, 按照上述分组方法处理细胞后, 每孔加 100 μ l 无 FBS DMEM 培养基与 10 μ l CCK-8, 37 $^{\circ}$ C 继续培养 2 h。酶标仪在波长 450 nm 处测定各孔吸光度 (optical density, OD) 值, 测定前轻微振荡。

1.4 Western blot 法 采用 Western blot 法检测细胞内 IL-1 和 MCP-1 蛋白表达, 具体如下: 将巨噬细胞以 1×10^6 /孔接种于 6 孔培养板内, 按照上述分组方法处理细胞后, 采用 RIPA 裂解液提取各组细胞蛋白, 经 BCA 蛋白定量、金属浴变性处理, 并进行 SDS-PAGE (10% 分离胶) 分离后电转印至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶

粉封闭 2 h, 后分别用兔抗 β -actin 抗体 (1:1 000)、抗 IL-1 抗体 (1:1 500)、抗 MCP-1 抗体 (1:1 500) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST-T 洗膜 3 次, 采用辣根过氧化物酶标记相应二抗孵育 2 h, 再次 TBST-T 洗膜 3 次。免疫条带用 ECL 法显影, 暗室曝光, 采用 Image-Pro Plus 软件分析蛋白条带积分吸光度 (integrated absorbance, IA) 值, 以目的蛋白 IA 值/ β -actin IA 值的比值反映目的蛋白相对表达量。

1.5 ELISA 采用 ELISA 检测细胞外 IL-1、MCP-1 蛋白表达, 具体如下: 收集各组培养基, 4 $^{\circ}$ C 1 000 r/min 离心 5 min (离心半径 30 cm), 取上清。取出试剂盒, 于室温 (20~25 $^{\circ}$ C) 放置 15~30 min。取出酶标板, 按照标准品的次序分别加入 50 μ l 标准品溶液于空白微孔中, 空白微孔中加入 50 μ l 样品, 空白对照孔加入 50 μ l 蒸馏水, 在样品孔中加入 10 μ l 生物素, 除空白对照孔外各孔中加入 100 μ l 酶标记溶液, 将酶标板用封口胶密封, 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h。浓缩洗涤液用蒸馏水 1:100 稀释, 然后充分清洗酶标板 5 次, 吸水纸彻底拍干。除空白对照孔外各孔加入显色剂 A、B 液各 50 μ l, 室温避光反应 15 min 后各孔加入 50 μ l 终止液终止反应, 酶标仪在波长 450 nm 处测定各孔 OD 值。

1.6 Annexin V-FITC/PI 双染法流式细胞术 采用 Annexin V-FITC/PI 双染法流式细胞术检测细胞凋亡率, 具体如下: 收集各组巨噬细胞, 调整细胞密度为 5×10^5 /ml, 4 $^{\circ}$ C 1 000 r/min 离心 10 min (离心半径 30 cm), 冰冷 PBS 漂洗细胞 2 次。弃上清, 加入 500 μ l Binding Buffer 重悬细胞, 加入 5 μ l Annexin V-FITC 混匀后室温避光孵育 15 min, 上机前 5 min 加入 5 μ l 碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 染色, 流式细胞仪检测细胞凋亡情况。凋亡细胞可定量分为 4 个细胞亚群, 包括正常活细胞 (左下象限: Annexin⁻/PI⁻)、坏死细胞 (左上象限: Annexin⁻/PI⁺)、早期凋亡细胞 (右下象限: Annexin⁺/PI⁻) 和晚期凋亡细胞 (右上象限: Annexin⁺/PI⁺), 细胞凋亡率 = 早期细胞凋亡率 + 晚期细胞凋亡率。

1.7 统计学方法 采用 SPSS 18.0 统计学软件进行数据分析, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK 法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞毒性试验结果 空白对照组细胞活力为 (0.569 \pm 0.009), A 组为 (0.566 \pm 0.011), B 组为 (0.561 \pm 0.008)、C 组为 (0.558 \pm 0.009), D 组为 (0.548 \pm 0.006)。各组细胞活力比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 其中 D 组细胞活力低于空白对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); A、B、C 组细胞活力与空白对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$);

PEDF 适宜干预浓度为 100、200、400 ng/ml。

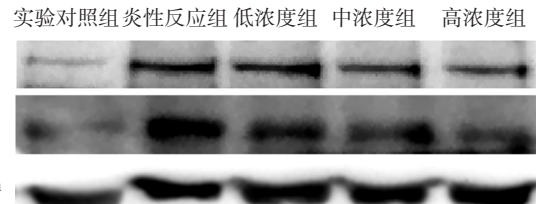
2.2 细胞活力 实验对照组细胞活力为 (0.524 ± 0.031)，炎症反应组为 (0.333 ± 0.022)，低浓度组为 (0.329 ± 0.016)，中浓度组为 (0.289 ± 0.021)，高浓度组为 (0.247 ± 0.018)。各组细胞活力比较，差异有统计学意义 ($F=114.704, P<0.05$)；炎症反应组、低浓度组、中浓度组、高浓度组细胞活力低于实验对照组，中浓度组、高浓度组细胞活力低于炎症反应组，差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

2.3 细胞内外 IL-1 和 MCP-1 蛋白相对表达量 各组细胞内外 IL-1 和 MCP-1 蛋白相对表达量比较，差异有统计学意义 ($P<0.05$)；炎症反应组、低浓度组、中浓度组、高浓度组细胞内外 IL-1 蛋白相对表达量高于实验对照组，低浓度组、中浓度组、高浓度组细胞内外 IL-1 蛋白相对表达量低于炎症反应组，差异有统计学意义 ($P<0.05$)；炎症反应组、低浓度组、中浓度组、高浓度组细胞内外 MCP-1 蛋白相对表达量高于实验对照组，中浓度组、高浓度组细胞内外 MCP-1 蛋白相对表达量低于炎症反应组，差异有统计学意义 ($P<0.05$)，见表 1、图 1)。

表 1 5 组细胞内外 IL-1 和 MCP-1 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of relative expression quantity of intracellular and extracellular IL-1 protein and MCP-1 protein in the five groups

组别	细胞内 IL-1 蛋白	细胞内 MCP-1 蛋白	细胞外 IL-1 蛋白	细胞外 MCP-1 蛋白
实验对照组	0.085 ± 0.029	0.251 ± 0.094	0.753 ± 0.081	0.874 ± 0.070
炎症反应组	0.868 ± 0.062 ^a	1.614 ± 0.433 ^a	1.634 ± 0.092 ^a	1.497 ± 0.107 ^a
低浓度组	0.604 ± 0.127 ^{ab}	1.266 ± 0.312 ^a	1.484 ± 0.093 ^{ab}	1.406 ± 0.059 ^a
中浓度组	0.308 ± 0.063 ^{ab}	0.841 ± 0.070 ^{ab}	1.280 ± 0.106 ^{ab}	1.293 ± 0.064 ^{ab}
高浓度组	0.270 ± 0.056 ^{ab}	0.709 ± 0.060 ^{ab}	1.001 ± 0.149 ^{ab}	1.048 ± 0.129 ^{ab}
F 值	51.020	13.641	55.521	40.938
P 值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注: IL-1= 白介素 1, MCP-1= 单核细胞趋化因子 1; 与实验对照组比较, ^a $P<0.05$; 与炎症反应组比较, ^b $P<0.05$



注: IL-1= 白介素 1, MCP-1= 单核细胞趋化因子 1

图 1 5 组细胞内 IL-1 和 MCP-1 蛋白表达电泳图

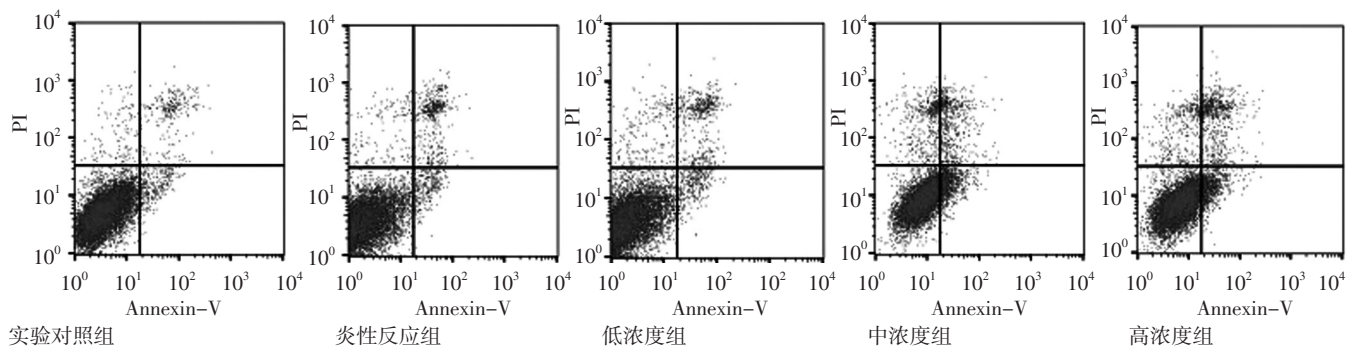
Figure 1 Electrophoretogram for expression of intracellular IL-1 protein and MCP-1 protein in the five groups

2.4 细胞凋亡率 实验对照组细胞凋亡率为 (9.937 ± 1.459) %，炎症反应组为 (14.060 ± 1.128) %，低浓度组为 (16.977 ± 1.132) %，中浓度组为 (30.517 ± 3.820) %，高浓度组为 (40.200 ± 4.431) %。各组细胞凋亡率比较，差异有统计学意义 ($F=40.928, P<0.05$)；炎症反应组、低浓度组、中浓度组、高浓度组细胞凋亡率高于实验对照组，中浓度组、高浓度组细胞凋亡率高于炎症反应组，差异有统计学意义 ($P<0.05$)，见图 2)。

3 讨论

AS 是一种全身、弥漫性血管壁慢性炎症反应，可导致心、脑、肾等重要脏器功能损伤，其主要病理过程与炎症反应密切相关，故在 AS 早期抗炎或可成为其治疗关键。Ox-LDL 可诱导炎症反应，上调血管内皮细胞及巨噬细胞产生炎症因子，促进巨噬细胞迁移至血管内皮下吞噬脂质，进一步进展为泡沫细胞，其在 AS 始动阶段具有关键作用，但具体机制尚未十分清楚。既往研究表明，局部和系统性炎症反应是导致 AS 斑块不稳定的关键，减轻巨噬细胞炎症反应有利于增加斑块稳定性^[9-10]。巨噬细胞是释放促炎因子和破坏斑块稳定性因子的主要细胞群，因此抑制巨噬细胞炎症反应可能抑制 AS 进展。

PEDF 是最先在人胎儿视网膜色素上皮细胞培养基中发现的一种神经营养活性物质，体内多种细胞均可表达 PEDF 蛋白，其具有抑制血管新生及炎症反应、抗肿瘤、



注: PI= 碘化丙啶

图 2 5 组流式细胞图

Figure 2 Flow cytometry for the five groups

抗氧化应激、抗血栓形成、促进细胞凋亡、免疫调节等作用^[11-14]。本研究结果显示, D组细胞活力低于对照组, A、B、C组细胞活力与空白对照组比较差异无统计学意义, 提示 PEDF 终浓度为 800 ng/ml 对细胞有明显毒性作用, PEDF 适宜干预浓度为 100、200、400 ng/ml。

巨噬细胞通过在血管内皮迁徙、聚集、释放炎症因子及炎性趋化因子(如 MCP-1、IL-1)等复杂过程而导致炎症反应^[15]。既往研究表明, PEDF 可通过抑制 AS 过程中 MCP-1、IL-1、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等各种炎症因子生成, 进而发挥抗炎作用^[16]。本研究结果显示, 炎症反应组、低浓度组、中浓度组、高浓度组细胞内外 IL-1 蛋白相对表达量高于实验对照组, 低浓度组、中浓度组、高浓度组细胞内外 IL-1 蛋白相对表达量低于炎症反应组; 炎症反应组、低浓度组、中浓度组、高浓度组细胞内外 MCP-1 蛋白相对表达量高于对照组, 中浓度组、高浓度组细胞内外 MCP-1 蛋白相对表达量低于炎症反应组, 提示终浓度为 200、400 ng/ml 的 PEDF 能有效下调 IL-1 和 MCP-1 蛋白表达, 进而发挥抗炎作用。

WEN 等^[17]研究表明, 降低巨噬细胞活性或促进巨噬细胞凋亡均可达到抗炎效果, 因此促进巨噬细胞凋亡实质也是抗炎过程。本研究结果显示, 炎症反应组、低浓度组、中浓度组、高浓度组细胞活力低于实验对照组, 细胞凋亡率高于实验对照组; 中浓度组、高浓度组细胞活力低于炎症反应组, 细胞凋亡率高于炎症反应组, 提示终浓度为 200、400 ng/ml 的 PEDF 能有效降低巨噬细胞活力、促进细胞凋亡。

综上所述, 终浓度为 200、400 ng/ml 的 PEDF 能有效降低巨噬细胞活力, 下调 IL-1 和 MCP-1 蛋白表达, 促进巨噬细胞凋亡, 进而抑制 Ox-LDL 诱导的巨噬细胞炎症反应。但 PEDF 延缓 AS 发展的可能机制仍有待进一步研究探索。

作者贡献: 姚树桐、秦树存进行文章的构思与设计; 张燕、马守原、李曼进行研究的实施与可行性分析; 张燕进行数据收集、整理、分析, 结果分析与解释, 负责撰写论文; 田华、王曙霞进行论文的修订; 王曙霞、秦树存负责文章的质量控制及审核; 朱平对文章整体负责, 监督管理。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] LI J J. Inflammation in coronary artery diseases [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2011, 124 (21): 3568-3575.
- [2] 郭寻竹, 宋丽萍. 兔动脉粥样硬化模型血清 TNF- α 与斑块内细胞凋亡的相关性研究 [J]. *解放军医学院学报*, 2014, 35 (2): 174-177. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5227.2014.02.022.
- [3] WEBER C, ZERNECKE A, LIBBY P. The multifaceted contributions of leukocyte subsets to atherosclerosis: lessons from mouse models [J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8 (10): 802-815. DOI: 10.1038/nri2415.
- [4] NICKEL T, SCHMAUSS D, HANSEN H, et al. OxLDL uptake by dendritic cells induces upregulation of scavenger-receptors, maturation and differentiation [J]. *Atherosclerosis*, 2009, 205 (2): 442-450. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2009.01.002.
- [5] YAMAGISHI S, MATSUI T. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) and cardiometabolic disorders [J]. *Curr Pharm Des*, 2014, 20 (14): 2377-2386.
- [6] RYCHLI K, NIESSNER A, HOHENSINNER P J, et al. Prognostic value of pigment epithelium-derived factor in patients with advanced heart failure [J]. *Chest*, 2010, 138 (3): 656-664. DOI: 10.1378/chest.09-2739.
- [7] TAHARA N, YAMAGISHI S, TAHARA A, et al. Serum level of pigment epithelium-derived factor is a marker of atherosclerosis in humans [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 219 (1): 311-315. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.06.022.
- [8] LIU J, WANG S X, SHI J X, et al. The association study of plasma levels of pigment epithelium-derived factor with acute coronary syndrome in the Chinese Han population [J]. *Cardiology*, 2014, 127 (1): 31-37. DOI: 10.1159/000354873.
- [9] BOBRYSEV Y V, IVANOVA E A, CHISTIYAKOV D A, et al. Macrophages and their role in atherosclerosis: pathophysiology and transcriptome analysis [J]. *Biomed Res Int*, 2016; 9582430. DOI: 10.1155/2016/9582430.
- [10] TABAS I, BORNFELDT K E. Macrophage phenotype and function in different stages of atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2016, 118 (4): 653-667. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306256.
- [11] YAMAGISHI S I, MATSUI T. Anti-atherothrombotic properties of PEDF [J]. *Curr Mol Med*, 2010, 10 (3): 284-291.
- [12] FILLEUR S, NELIUS T, DE RIESE W, et al. Characterization of PEDF: a multi-functional serpin family protein [J]. *J Cell Biochem*, 2009, 106 (5): 769-775. DOI: 10.1002/jcb.22072.
- [13] RYCHLI K, HUBER K, WOJTA J. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) as a therapeutic target in cardiovascular disease [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2009, 13 (11): 1295-1302. DOI: 10.1517/14728220903241641.
- [14] YAMAGISHI S, MATSUI T. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) and cardiometabolic disorders [J]. *Curr Pharm Des*, 2014, 20 (14): 2377-2386.
- [15] VALENTE A J, ROZEK M M, SPRAGUE E A, et al. Mechanisms in intimal monocyte-macrophage recruitment. A special role for monocyte chemoattractant protein-1 [J]. *Circulation*, 1992, 86 (6 Suppl): III20-25.
- [16] 李曼, 朱平. 色素上皮衍生因子与动脉粥样硬化相关性的研究进展 [J]. *中国心血管杂志*, 2018, 23 (2): 173-176. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5410.2018.02.018.
- [17] WEN H, LIU M, LIU Z, et al. PEDF improves atherosclerotic plaque stability by inhibiting macrophage inflammation response [J]. *Int J Cardiol*, 2017, 235: 37-41. DOI: 10.1016/j.ijcard.2017.02.102.

(收稿日期: 2018-12-20; 修回日期: 2019-03-15)

(本文编辑: 谢武英)