

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.09.007

## 不同浓度的普伐他汀对小鼠巨噬细胞极性的影响研究

谷祥任,张雁<sup>△</sup>

(湖南省张家界市人民医院心血管内科 427000)

**[摘要]** **目的** 探讨不同浓度的普伐他汀对小鼠巨噬细胞极性的影响。**方法** 对小鼠骨髓来源的巨噬细胞进行体外培养,以 0 μmol/L 普伐他汀钠组作为对照组,分别给予 10、25、50 μmol/L 的普伐他汀钠进行药物干预 24 h,用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测白细胞介素(IL)-10、IL-12 的分泌,流式细胞仪检测细胞膜 CD16/32、CD206 的表达,荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测 Toll 样受体 4(TLR4)、髓样分化因子 88(MyD88)、干扰素调控因子 5(IRF5) mRNA 的表达。**结果** 普伐他汀钠干预后的巨噬细胞,随着普伐他汀钠的浓度升高,IL-12、CD16/32 的表达下降,而 IL-10、CD206 的表达升高,并伴有 TLR4、MyD88、IRF5 mRNA 的表达下调,且呈剂量依赖性。**结论** 普伐他汀钠促进巨噬细胞向抗炎性 M2 型极化,该效应可能与普伐他汀钠的抗炎作用有关。

**[关键词]** 普伐他汀;炎症;巨噬细胞极性;动脉粥样硬化**[中图分类号]** R363**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)09-1173-03

## Effect of different concentrations of pravastatin treatment on macrophage polarity in mice

Gu Xiangren, Zhang Yan<sup>△</sup>

(Department of Cardiology, Zhangjiajie Municipal People's Hospital, Zhangjiajie, Hunan 427000, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the effect of different concentrations of pravastatin treatment on macrophage polarity in mice. **Methods** The mice bone marrow sources of macrophages were cultured in vitro, with the 0 μmol/L sodium pravastatin group as control, by giving 10, 25, 50 μmol/L sodium pravastatin to conduct the drug intervention for 24 h. The enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the secretion of interleukin 10 (IL-10) and IL-12; the flow cytometry instrument was used to detect cell membrane CD16/32, CD206 expression; real time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) was adopted to detect toll-like receptor 4 (TLR4), myeloid differentiation factor 88 (MyD88), interferon regulatory factor 5 (IRF5) mRNA expression. **Results** After the intervention of pravastatin sodium on macrophages, as the pravastatin sodium concentration increase, the expression of IL-12 and CD16/32 was decline, while the expression of IL-10 and CD206 was risen, which was accompanied by TLR4, MyD88, IRF5 mRNA expression down regulatyion, and a dose dependent manner. **Conclusion** Sodium pravastatin promote the polarization of macrophages toward an anti-inflammatory macrophage phenotype (M2), this effect may be related with the anti-inflammatory effect of sodium pravastatin.

**[Key words]** pravastatin; inflammation; macrophage polarity; atherosclerosis

炎症与动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)密切相关。AS 更被认为是一种慢性炎症性疾病<sup>[1]</sup>。巨噬细胞作为 AS 发生发展的关键细胞,其可见于 AS 的各个阶段。有研究发现,巨噬细胞是一种兼具促炎与抗炎作用于一体的异质性细胞,在不同的环境与条件下表现为不同的表型<sup>[2]</sup>: M1 型(经典激活型)与 M2 型(替代激活型),前者表现为促炎性,能释放炎症介质,参与炎症反应,与人群中冠心病的患病率和病死率可能呈正相关;后者表现为抗炎性,分泌许多抗炎因子,如转化生长因子-β(TGF-β)、血管内皮生长因子(VEGF)参与组织修复,与动脉粥样硬化性心血管疾病的发病率可能呈负相关,有抗 AS 的作用。已有研究表明,二者能相互转化,可成为防治 AS 的新策略<sup>[3]</sup>。研究发现,作为心血管疾病的常用药物,他汀类除具有传统的降脂效应外,还具有抗炎的作用,具有逆转斑块的效应,但具体机制尚不清楚。本研究以不同浓度的水溶性最高的他汀类代表药普伐他汀钠作用于体外培养的巨噬细胞,观察他汀类药物浓度因素对巨噬细胞极性的影响,探讨其抗炎、抗 AS 的细胞和分子机制。

**1 材料与方****1.1 材料** (1)实验动物:SPF 级 4~6 周龄 C57BL/6 雌性小

鼠,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司。(2)仪器与试剂:重组小鼠 γ-干扰素(IFN-γ, Peprotech 公司),普伐他汀钠原料药(浙江海正药业有限公司),脂多糖(LPS, Sigma 公司),异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记的大鼠抗小鼠 F4/80 抗体(Biolegend 公司),FITC 标记的大鼠抗小鼠 CD16/32 抗体(Biolegend 公司),FITC 标记的大鼠抗小鼠 CD206 抗体(AbD Serotec 公司)及对应的同型抗体,小鼠白细胞介素(IL)-10, IL-12 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒(达科为生物技术有限公司),RNApure 高纯总 RNA 快速提取试剂盒(艾德莱生物科技有限公司),M-MLV 逆转录试剂盒(Invitrogen 公司),荧光定量聚合酶链反应(PCR)试剂盒 Maxima SYBR Green qPCR Master Mix(Thermo Scientific 公司)。FACSAria III 流式细胞仪(美国 BD 公司),多功能酶标仪(瑞士 Tecan 公司),7500 Fast 实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司)。

**1.2 方法****1.2.1 M0 型巨噬细胞模型的建立** 借鉴 Pradel 等<sup>[4]</sup>的方法,将 C57BL/6 小鼠颈椎脱臼处死,无菌分离出股骨和胫骨,截断骨髓端,用 2.5 mL 注射器吸取培养基(20%胎牛血清、

100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  链霉素、100 U/mL 青霉素的 DMEM 培养液) 冲洗骨髓, 收集冲洗物, 2 000 r/min 离心 10 min 后弃上清液, 加入含 L929 成纤维细胞上清液的培养基(20% 胎牛血清、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  链霉素、100 U/mL 青霉素的 DMEM 培养液), 培养 7 d 后弃去未贴壁细胞, 再在不含 L929 成纤维细胞上清液的培养基中进行培养, 1 d 后获得的贴壁细胞即为骨髓来源的巨噬细胞(M0 型巨噬细胞组)。

**1.2.2 M1 型巨噬细胞模型的建立** 去除悬浮的细胞及旧的细胞培养液, 重新换上不含 L929 成纤维细胞上清液的培养基与贴壁的细胞共培养, 在 Vats 等<sup>[5]</sup>的方法基础上浓度减半(预实验显示减半后的浓度效果较佳, 细胞无成片死亡或状态极差的情况), 即脂多糖(LPS)2.5 ng/mL 和 IFN- $\gamma$  50 U/mL, 对骨髓来源的 M0 型巨噬细胞进行 12 h 的刺激, 使其形成 M1 型巨噬细胞。

**1.2.3 实验分组** 实验分为 4 组。对照组: 即 M1 型巨噬细胞组(0  $\mu\text{mol}/\text{L}$  普伐他汀钠组); 用药组: 分别给予 10、25、50  $\mu\text{mol}/\text{L}$  的普伐他汀钠对 M1 型巨噬细胞进行药物干预 24 h。

**1.2.4 ELISA 测定细胞因子分泌** 收集各组巨噬细胞培养上清液, 按照试剂盒说明操作, 检测 IL-10、IL-12 的分泌。加入配好的标准品, 设置对照, 在 450 nm 波长处检测吸光度(OD 值)。

**1.2.5 流式细胞术检测细胞膜表面抗原表达** 0.25% 胰蛋白酶消化贴壁细胞, PBS 洗涤 1 次, 离心, 去除上清液后用 100  $\mu\text{L}$  PBS 重悬细胞, 再分别加入 0.25  $\mu\text{g}$  FITC 标记的大鼠抗小鼠 F4/80 抗体、0.5  $\mu\text{g}$  FITC 标记的大鼠抗小鼠 CD16/32 抗体、0.5  $\mu\text{g}$  FITC 标记的大鼠抗小鼠 CD206 抗体及对应的同型抗体, 4  $^{\circ}\text{C}$  避光孵育 30 min, 2 000 r/min 离心, PBS 冲洗 2 次, 300  $\mu\text{L}$  PBS 重悬后再用流式细胞仪进行检测。

**1.2.6 RNA 提取及荧光定量 PCR 检测** 收集各组细胞, 提取细胞总 RNA, 操作严格按照说明书进行。逆转录生成 cDNA, 然后 -20  $^{\circ}\text{C}$  保存。采用美国 ABI 7500 Fast 实时荧光定量 PCR 仪进行检测。引物由 Invitrogen 公司设计合成, TLR4 上游: 5'-AGA CCT CAG CTT CAA TGG TG-3'; 下游: 5'-GAG ACT GGT CAA GCC AAG AA-3'。MyD88 上游: 5'-TCC GGC AAC TAG AAC AGA CAG ACT-3'; 下游: 5'-GCG GCG ACA CCT TTT CTC AAT-3'。IRF5 上游: 5'-AAT ACC CCA CCA CCT TTT GA-3'; 下游: 5'-TTG AGA TCC GGG TTT GAG AT-3'。为保证各 cDNA 样本量的均一性, 采用  $\beta$ -actin 作为内参。 $\beta$ -actin 上游: 5'-TCC GTA AAG ACC TCT ATG CC-3', 下游: 5'-TAC TCC TGC TTG CTG ATC C-3'。采用两步法扩增目的 DNA 片段, 每个样本设置 3 个复孔, 反复检测 3 次, 采用  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  法分析基因表达。定量 PCR 反应体系配置见表 1。

表 1 定量 PCR 反应体系的配置

试剂	反应体系
Maxima SYBR Green qPCR Master Mix(2 $\times$ ), no ROX	9.4 $\mu\text{L}$
Forward Primer	0.75 $\mu\text{L}$
Reverse Primer	0.75 $\mu\text{L}$
ROX Solution	0.05 $\mu\text{L}$
Template DNA	$\leq 500$ ng
RNase-Free Water	19 $\mu\text{L}$

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS19.0 软件对数据进行统计分析; 多组间均数差异比较先采用方差分析, 再用 S-N-K 检验进行两均数间的两两比较; 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 M0 型巨噬细胞模型的鉴定** M0 型巨噬细胞的鉴定主要有表型(F4/80)、形态及吞噬功能测定(如吞噬墨汁、鸡红细胞、中性红细胞等)3 种鉴定方法, 其中, 表型鉴定是最具可靠性的鉴定手段。本实验采集的骨髓细胞, 经 L929 成纤维细胞分泌的巨噬细胞集落刺激因子(macrophage-colony stimulating factor, M-CSF)的作用, 在含 L929 成纤维细胞上清液的培养基中培养 7 d 后, 流式细胞术检测小鼠巨噬细胞特异性标记 F4/80 示巨噬细胞的纯度高达 96%(图 1), 可用于后续试验。

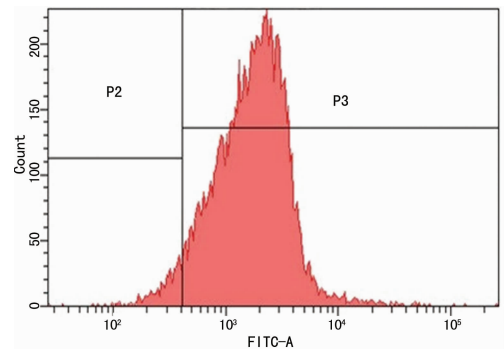
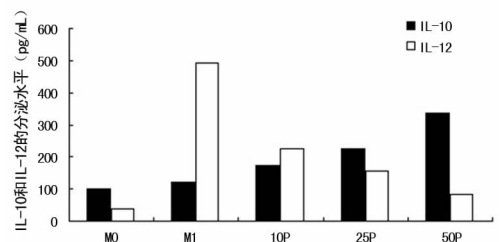


图 1 M0 型巨噬细胞 F4/80 的表达(96%)

**2.2 M1 型巨噬细胞模型的鉴定** 将 IFN- $\gamma$ (50 U/mL) 和 LPS(2.5 ng/mL) 联合刺激 M0 型巨噬细胞后, 通过检测发现, CD16/32 阳性表达率为(78.15  $\pm$  2.02)%, CD206 阳性表达率为(6.74  $\pm$  3.08)%(表 2)。IL-12 的分泌较高, IL-10 的分泌较低(图 2)。与 M1 型巨噬细胞的表型特点相符。



M0: M0 型巨噬细胞组; M1: M1 型巨噬细胞组; 10P: 10  $\mu\text{mol}/\text{L}$  普伐他汀钠组; 25P: 25  $\mu\text{mol}/\text{L}$  普伐他汀钠组; 50P: 50  $\mu\text{mol}/\text{L}$  普伐他汀钠组。

图 2 各组巨噬细胞 IL-10、IL-12 的分泌水平

**2.3 各组形成的巨噬细胞表型指标检测** 巨噬细胞分泌的 IL-12、IL-10 及膜表面抗原蛋白分子 CD16/32、CD206 是鉴定巨噬细胞表型的主要指标。通过检测发现, 普伐他汀钠组炎症因子 IL-12 的分泌和 CD16/32 的阳性表达率均低于 M1 型巨噬细胞组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 而抗炎因子 IL-10 的分泌和 CD206 的阳性表达率较 M1 型巨噬细胞组升高明显, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 见表 2。

**2.4 荧光定量 PCR 检测各组 TLR4、MyD88、IRF5 mRNA 的基因表达** M1 型巨噬细胞组 TLR4、MyD88、IRF5 mRNA 的表达最高, 而经不同浓度的普伐他汀钠干预后, 其 TLR4、MyD88、IRF5 mRNA 的表达下降明显, 呈剂量依赖性, 与 M1 型巨噬细胞组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 见表 3。

表 2 各组巨噬细胞表型指标检测( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

组别	IL-12(pg/mL)	IL-10(pg/mL)	CD16/32 阳性率(%)	CD206 阳性率(%)
M1 型巨噬细胞组	490.00±16.00	120.00±9.00	78.15±2.02	6.74±3.08
10 μmol/L 普伐他汀组	226.00±5.00 <sup>a</sup>	174.00±3.00 <sup>a</sup>	59.60±2.91 <sup>a</sup>	11.88±1.65 <sup>a</sup>
25 μmol/L 普伐他汀组	155.00±4.00 <sup>a</sup>	228.00±4.00 <sup>a</sup>	48.55±2.87 <sup>ab</sup>	17.65±0.97 <sup>ab</sup>
50 μmol/L 普伐他汀组	84.00±7.00 <sup>a</sup>	334.00±5.00 <sup>a</sup>	38.87±1.32 <sup>abc</sup>	25.12±1.58 <sup>abc</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与 M1 型巨噬细胞组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与 10 μmol/L 普伐他汀组比较; <sup>c</sup>:  $P < 0.05$ , 与 25 μmol/L 普伐他汀组比较。

表 3 各组 TLR4、MyD88、IRF5 DNA 的相对拷贝数检测( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

组别	TLR4	MyD88	IRF5
M1 型巨噬细胞组	30.03±2.13	1.91±0.07	0.92±0.12
10 μmol/L 普伐他汀组	19.23±0.88 <sup>a</sup>	1.25±0.11 <sup>a</sup>	0.71±0.06 <sup>a</sup>
25 μmol/L 普伐他汀组	10.68±0.82 <sup>ab</sup>	0.87±0.04 <sup>ab</sup>	0.51±0.08 <sup>ab</sup>
50 μmol/L 普伐他汀组	4.87±0.27 <sup>abc</sup>	0.53±0.06 <sup>abc</sup>	0.29±0.07 <sup>abc</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与 M1 型巨噬细胞组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与 10 μmol/L 普伐他汀组比较; <sup>c</sup>:  $P < 0.05$ , 与 25 μmol/L 普伐他汀组比较。

### 3 讨 论

炎症是驱动 AS 及其相关疾病发生发展的主要原因<sup>[6]</sup>。目前,对炎症与 AS 的研究涉及多个方面,在细胞层面主要有 T 淋巴细胞、内皮细胞、血管平滑肌细胞以及巨噬细胞等。研究表明,巨噬细胞在 AS 过程中发挥核心作用,因为它是脂类代谢和炎症免疫反应的调节剂<sup>[7]</sup>。巨噬细胞是一种具有双向调节作用的免疫细胞,具有促炎与抗炎两种作用,而巨噬细胞极性就是这两种极端性质。M1 型巨噬细胞分泌炎症因子 IL-12,高表达膜抗原 CD16/32,与炎症损伤有关;而 M2 型巨噬细胞分泌抗炎因子 IL-10,高表达膜抗原 CD206,有抑制炎症的作用。研究发现,在特定条件下,AS 斑块中的 M1 与 M2 型巨噬细胞可相互转化,根据数量优劣表现为促炎或抗炎的作用<sup>[8]</sup>。

作为调脂的常规用药,他汀类药物还具有其他的多效性作用,如稳定粥样斑块,改善血管内皮功能,保护神经,抗凝防血栓和抗炎等作用,尤其需要特别关注的是抗炎作用。研究显示其与斑块的稳定、血管壁的内皮功能亦密切相关,在急性冠脉综合征(ACS)早期患者中使用能够抑制血管内皮的炎症反应,稳定粥样斑块,改善血管内皮功能<sup>[9-10]</sup>。

人类和小鼠 AS 病变显示出增强的 TLR4 表达。观察发现,经 oxLDL 刺激后,在 AS 区域 TLR4 表达增加<sup>[11]</sup>。除了 TLR3 外,MyD88 能传递所有 TLR 受体的信号,是一种非常关键的衔接蛋白。Bjorkbacka 等<sup>[12]</sup> 研究显示 MyD88 的缺失及灭活,能导致巨噬细胞招募到动脉壁的减少,并引起 AS 的减少,与趋化因子相关联。新的研究表明,IRF5 可作为控件操纵巨噬细胞抗炎或促炎的特性<sup>[13]</sup>。Weiss 等<sup>[14]</sup> 为了弄清 IRF5 的表达在巨噬细胞中的作用是否与炎症性巨噬细胞存在相关联,采用活体小鼠实验性诱导成关节炎的做法来检测 IRF5 的表达,发现关节腔中的巨噬细胞 IRF5 的表达升高,其他相关检测符合 M1 型巨噬细胞或炎症性巨噬细胞的特征,提示 IRF5 与炎症相关,其表达升高可作为炎症性巨噬细胞或 M1 型巨噬细胞的一个标志。

现有的研究资料显示,炎症反应与巨噬细胞上 TLR4 及其下游的 MyD88、IRF5 传导通路密切相关<sup>[15]</sup>。本实验从 TLR4-MyD88-IRF5 分子信号通路出发,用他汀类代表药普伐

他汀钠,以 10、25、50 μmol/L 的浓度进行药物干预发现,与 M1 型巨噬细胞组比较,不同浓度的普伐他汀钠干预炎症标志物 IL-12、CD16/32 的表达均下降,而抗炎标志物 IL-10、CD206 的表达均升高,并伴有 TLR4、MyD88、IRF5 mRNA 的表达下调,且呈剂量依赖性,推测他汀类药物可能通过抑制 TLR4-MyD88-IRF5 分子信号通路来调控巨噬细胞的极性,使 M1 型巨噬细胞极化为 M2 型巨噬细胞,进而发挥抗炎效应,其具体机制尚需更进一步研究。

综上所述,在 AS 的发生发展过程中,机体始终存在着巨噬细胞促炎与抗炎的极性转换,而他汀类代表药普伐他汀钠具有促进 M1 型向 M2 型转换而发挥抗炎的作用,这为他汀类药物对 AS 的防治提供了理论支持。

### 参考文献

- [1] Tuttolomondo A, Di Raimondo D, Pecoraro R, et al. Atherosclerosis as an inflammatory disease[J]. *Curr Pharm Des*, 2012, 18(28): 4266-4288.
- [2] Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(3): 787-795.
- [3] Khallou-Laschet J, Varthaman A, Fornasa G, et al. Macrophage plasticity in experimental atherosclerosis[J]. *PLoS One*, 2010, 5(1): e8852.
- [4] Pradel LC, Mitchell AJ, Zarubica A, et al. ATP-binding cassette transporter hallmarks tissue macrophages and modulates cytokine-triggered polarization programs [J]. *Eur J Immunol*, 2009, 39(8): 2270-2280.
- [5] Vats D, Mukundan L, Odegaard JI, et al. Oxidative metabolism and PGC-1beta attenuate macrophage-mediated inflammation[J]. *Cell Metab*, 2006, 4(1): 13-24.
- [6] Johan F. Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease[J]. *BMC Med*, 2013, 11: 117.
- [7] Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis: the road ahead [J]. *Cell*, 2001, 104(4): 503-516.
- [8] Wilson HM. Macrophages heterogeneity in atherosclerosis implications for therapy[J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14(8): 2055-2065.
- [9] Gelosa P, Cimino M, Pignieri A, et al. The role of HMG-CoA reductase inhibition in endothelial dysfunction and inflammation[J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2007, 3(5): 567-577.
- [10] Sposito AR, Aguiar Filho GB, Aarao AR, et al. Statins in acute coronary syndromes[J]. *Arq Bras Cardiol*, 2011, 97(4): 350-356.

**3.1 体外反搏治疗对睡眠质量的影响** 研究结果表明:体外反搏治疗能有效改善冠心病伴失眠患者的睡眠质量。通过对 PSQI 得分分析比较可知:通过 EECP 治疗,冠心病伴失眠患者 PSQI 各因子得分及总分较治疗前均有一定程度的减低,提示 EECP 治疗具有一定的缩短入睡时间,提高睡眠效率,延长睡眠时间,改善日间功能,减少催眠药物的使用等效果。这与国内沈跃玲等<sup>[8]</sup>,国外 Shakouri 等<sup>[9]</sup>学者的研究结果一致。

**3.2 体外反搏改善冠心病伴失眠患者睡眠质量的原因初步分析** (1)国内外已有大量的研究证明,EECP 对冠心病有较好的疗效,能够显著改善患者心绞痛、胸闷等症状,从而提高患者日常活动能力,在本研究中也发现对于夜间频发心绞痛的患者,EECP 能够显著减少夜间心绞痛发作频率,减轻发作症状,从而提高患者的睡眠效率。另外经 EECP 治疗患者,日常活动能力增加,能够逐渐改善患者日间功能,日间活动量的增加在一定程度上能够促进睡眠,缩短患者入睡时间;(2)体外反搏能够显著增加脑部血流灌注,国内陈光福等<sup>[10]</sup>学者研究发现体外反搏治疗能够明显地提高增加大脑血流灌注,改善脑细胞的营养和氧供,有利于脑神经细胞的恢复。沈跃玲等<sup>[8]</sup>学者研究发现,EECP 能够显著提高血红细胞和血浆的镁离子浓度,另外 EECP 可能通过调节 5-羟色胺/去甲肾上腺素的含量而改善失眠症状。这些机制表明体外反搏具有改善提高睡眠质量的作用。研究表明体外;(3)冠心病患者多为中老年,受多种心理社会因素的影响,存在不同程度焦虑、抑郁等症状,服用镇静及催眠药物的不良反应和心理负担,又加重其不良情绪。另外国内李桂侠等<sup>[7]</sup>研究表明,相比于药物治疗,患者主观更愿意接受非药物疗法治疗失眠。尤其是国内中老年冠心病患者,冠心病治疗日常已需要口服较大剂量药物,常常会担心药物治疗副作用等,在思想上对一些镇静类药物更为排斥,在主观思想上会更加愿意接受体外反搏治疗。而 EECP 在治疗初期即可短时间内改善其长期困扰患者的失眠症状,能够减轻患者心理负担,增加了患者治疗疾病的信心。

综上所述,体外反搏在一定程度上能够改善冠心病患者的睡眠质量。体外反搏为一种物理治疗方法,安全性高,副作用少,且价格便宜,在治疗心脑血管疾病的同时可以显著改善患者睡眠质量,值得临床推广。但是,其具体机制有待进一步研究论证,另外体外反搏对失眠患者的长期效果有待于进一步长期和大样本的随访和观察。

## 参考文献

[1] Beck DT, Martin JS, Casey DP. Enhanced external coun-

(上接第 1175 页)

- [11] Xu XH, Shah PK, Faure E, et al. Toll-like receptor-4 is expressed by macrophages in murine and human lipid-rich atherosclerotic plaques and upregulated by oxidized LDL[J]. *Circulation*, 2001, 104(25):3103-3108.
- [12] Bjorkbacka H, Kunjathoor VV, Moore KJ, et al. Reduced atherosclerosis in MyD88-null mice links elevated serum cholesterol levels to activation of innate immunity signaling pathways[J]. *Nat Med*, 2004, 10(4):416-421.
- [13] Krausgruber T, Blazek K, Smallie T, et al. IRF5 promotes inflammatory macrophage polarization and T(H)1-T(H)

terpulsation improves endothelial function and exercise capacity in patients with ischaemic left ventricular dysfunction[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2014, 41(9):628-636.

- [2] Bozorgi A, Mehrabi Nasab E, Sardari A. Effect of enhanced external counterpulsation (EECP) on exercise time duration and functional capacity in patients with refractory angina pectoris[J]. *J Tehran Heart Cent*, 2014, 9(1):33-37.
- [3] 杨建波,林晓静,孙薇,等.慢性疼痛对帕金森患者睡眠质量影响的临床研究[J]. *重庆医学*, 2015, 44(11):1499-1500,1504.
- [4] 路桃影,李艳,夏萍,等.匹兹堡睡眠质量指数的信度及效度分析[J]. *重庆医学*, 2014, 43(3):260-263.
- [5] 农冬晖,肖琼芬,卢莹.加氧体外反搏疗法联合心理护理治疗老年失眠症的疗效观察[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2011, 24(10):1670-1671.
- [6] 李雪琴,方小正,李红.慢性失眠对老年糖尿病患者静息心率及心率变异性的影响[J]. *中国老年学志*, 2014, 35(21):6037-6039.
- [7] 李桂侠,王芳,刁倩,等.发作性睡病与心理的关系[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2012, 15(11):1271-1273.
- [8] 沈跃玲,蔡亚梅,邓耀波,等.体外反搏治疗对失眠患者脑血流变化情况的临床研究[J]. *昆明医科大学学报*, 2012, 40(21):6037-6039.
- [9] Shakouri SK, Razavi Z, Eslamian F. Effect of enhanced external counterpulsation and cardiac rehabilitation on quality of life, plasma nitric oxide, endothelin 1 and high sensitive CRP in patients with coronary artery disease; a pilot study[J]. *Ann Rehabil Med*, 2015, 39(2):191-198.
- [10] 陈光福,马启玲,贾少微,等.体外反搏对难治性癫痫患儿局灶性脑血流灌注的影响[J]. *中华临床医师杂志*, 2009, 30(1):140-143.

(收稿日期:2015-11-08 修回日期:2016-01-16)

17 responses[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(3):231-238.

- [14] Weiss M, Blazek K, Byrne AJ, et al. IRF5 is a specific marker of inflammatory macrophages in vivo[J]. *Med Inflamm*, 2013, 2013:245804.
- [15] Paun A, Reinert JT, Jiang Z, et al. Functional characterization of murine interferon regulatory factor 5 (IRF-5) and its role in the innate antiviral response[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(21):14295-14308.

(收稿日期:2015-09-18 修回日期:2015-12-10)