

- [9] 熊绮丽,徐刚,石勇,等.食管癌放射治疗计划的剂量学比较[J].辐射研究与辐射工艺学报,2016,34(5):50111-50117.
- [10] 潘闻燕,孔伟,王艳阳,等.联合应用NLR、V20和Dmena预测肺癌放射性肺炎发生——一项外部验证研究[J].中华放射肿瘤学杂志,2019,28(6):417-420.
- [11] 张静,谢晓慧.胸部放疗致放射性肺炎的相关因素分析[J].肿瘤预防与治疗,2020,33(1):81-86.
- [12] 宋永浩,夏炎春,周诚忠,等.调强适形放疗致老年食管癌放射性肺损伤的相关因素分析[J].现代肿瘤医学,2017,25(2):224-226.
- [13] GIULIANI ME, LINDSAY PE, KWAN JY, et al. Correlation of dosimetric and clinical factors with the development of esophagitis and radiation pneumonitis in patients with limited-stage small-cell lung carcinoma[J]. Clin Lung Cancer, 2015, 16(3):216-220.
- [14] 陈丽,谭飞,武文娟,等.胸中段食管癌调强放疗照射野设计探讨与分析[J].现代肿瘤医学,2017,25(6):942-944.
- [15] 杨含,钟明松,吴府容,等.胸中段食管癌共面不等分5野及铅门跟随调强放疗计划的剂量学研究[J].中国医学物理学杂志,2020,37(7):810-815.

(收稿日期:2021-01-03,修回日期:2021-02-27)

引用本文:王万虹,史波,张荣林,等.信号传导与转录激活子4信号通路在脂肪酶/Toll样受体4调控M1/M2型巨噬细胞分化的作用及机制[J].安徽医药,2022,26(8):1597-1601.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.08.026.

◇临床医学◇



信号传导与转录激活子4信号通路在脂肪酶/Toll样受体4调控M1/M2型巨噬细胞分化的作用及机制

王万虹¹,史波²,张荣林¹,丁浩¹,李锦爽¹,李志龙¹,叶力硕³作者单位:¹南京鼓楼医院集团宿迁医院、徐州医科大学附属宿迁医院,江苏 宿迁 223800;²宿迁市中医院,江苏 宿迁 223800;³江西财经大学统计学院,江西 南昌 333000

通信作者:张荣林,男,主任医师,硕士生导师,研究方向为冠心病,Email:zhangronglin2004@hotmail.com

基金项目:宿迁市科技计划项目(S201716)

摘要: 目的 探讨信号传导与转录激活子4(STAT4)信号通路在脂肪酶(LPS)/Toll样受体4(TLR4)调控M1/M2型巨噬细胞分化的作用及机制。方法 用野生型和STAT4-KO小鼠建立动脉内膜拉伤-增生模型,在术后1、3、7和14 d用流式细胞术分析免疫细胞M1/M2型巨噬细胞在外周血内的百分比变化。用免疫荧光双染检测M1、M2型巨噬细胞的表达。用实时荧光定量PCR(q-RT-PCR)检测血管组织中STAT4和TLR4表达;酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血管生长因子VEGF、PDGF-BB变化。从STAT4KO和蛋白质印迹法小鼠骨髓分离CD11b+细胞,用集落刺激因子GM-CSF和LPS处理,细胞实验分为WT con组、WT+LPS刺激组、STAT4KO con组、STAT4KO+LPS刺激组。观察巨噬细胞的分化情况。结果 与野生组相比,STAT4-KO组在术后1、3、7和14天时M1型巨噬细胞F4/80⁺iNOS⁺、F4/80⁺IL-12的细胞百分比降低($P<0.05$),而M2型巨噬细胞F4/80⁺Arg-1⁺和F4/80⁺CD206⁺的细胞百分比明显升高($P<0.05$)。STAT4-KO组的M1、M2型巨噬细胞阳性表达率($9.42\pm 0.41\%$ 、 $(89.48\pm 10.43)\%$)与野生组($11.14\pm 1.49\%$ 、 $(48.73\pm 5.89)\%$)比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。STAT4和TLR4在STAT4-KO组[(0.23 ± 0.04)、(0.47 ± 0.06)]中的表达量明显较野生组[(1.31 ± 0.07)、(0.89 ± 0.08)]低($P<0.05$)。VEGF、PDGF-BB在STAT4-KO组[(9.28 ± 1.02)、(10.56 ± 1.62)]中的表达量明显较野生组[(3.14 ± 0.91)、(4.23 ± 0.84)]高($P<0.05$)。M2型巨噬细胞的诱导因子(IL-4)及分泌因子(IL-10)在STAT4KO+LPS刺激组、WT+LPS刺激组、STAT4KO con组中的表达量明显较WT con组高($F=13.412$, $F=15.012$, $P<0.05$),其中STAT4KO+LPS刺激组表达量最为显著。结论 STAT4信号通路可以促进抑制M1型巨噬细胞和增强M2型巨噬细胞分化。其作用机制可能是通过LPS/TLR4的结合。

关键词: 动脉硬化; 颈动脉; 信号传导与转录激活子4信号通路; M1/M2巨噬细胞; 机制

Role and mechanism of STAT4 signaling pathway in LPS / TLR4 regulating M1 / M2 macrophage differentiation

WANG Wanhong¹, SHI Bo², ZHANG Ronglin¹, DING Hao¹, LI Jinshuang¹, LI Zhilong¹, YE Lishuo³

Author Affiliations:¹Suqian Hospital of Nanjing Drum Tower Hospital Group, Suqian Hospital Affiliated to Xuzhou Medical University, Suqian, Jiangsu 223800, China;²Suqian Traditional Chinese Medicine Hospital, Suqian, Jiangsu 223800, China;³School of Statistics, Jiangxi University of Finance and Economics, Nanchang, Jiangxi 333000, China

Abstract: Objective To probe into the role and mechanism of signal transduction and transcription activator 4 (STAT4) signaling pathway in the regulation of M1 / M2 macrophage differentiation by lipase/Toll-like receptor 4 (LPS/TLR4). **Methods** Wild-type and STAT4-KO mice were used to establish an intimal strain-proliferative model. Flow cytometry was used to analyze the percentage change of the immune cell M1/M2 type macrophages in peripheral blood at 1, 3, 7 and 14 days after surgery. The expressions of M1 and M2 macrophages were checked by immunofluorescence double staining. Real-time fluorescent quantitative PCR (q-RT PCR) was used to detect the expressions of STAT4 and TLR4 in vascular tissues. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to check the changes of vascular growth factors VEGF and PDGF-BB. CD11b+ cells were isolated from the bone marrow of STAT4KO and WT mice and treated with colony-stimulating factors GM-CSF and LPS. Cell experiments were assigned into WT con group, WT + LPS stimulation group, STAT4KO con group, and STAT4KO + LPS stimulation group. The differentiation of macrophages was observed. **Results** Compared with the wild group, the percentage of M1 macrophages F4/80⁺ iNOS⁺, F4/80⁺ IL-12 decreased at 1, 3, 7 and 14 days after surgery ($P < 0.05$), while the percentage of M2 macrophages F4/80⁺ Arg-1⁺ and F4/80⁺ CD206⁺ increased significantly ($P < 0.05$). The positive expression rates of M1 and M2 macrophages in the STAT4-KO group, [(9.42±0.41) %, (89.48±10.43) %], respectively were statistically significant compared with the wild group [(11.14±1.49) %, (48.73±5.89) %], respectively ($P < 0.05$). The expression levels of STAT4 and TLR4 in the STAT4-KO group [(0.23±0.04), (0.47±0.06), respectively] were significantly lower than those in the wild group [(1.31±0.07), (0.89±0.08)] ($P < 0.05$). The expression levels of VEGF and PDGF-BB in the STAT4-KO group [(9.28±1.02), (10.56±1.62)] were significantly higher than those in the wild group [(3.14±0.91), (4.23±0.84)] ($P < 0.05$). M2 macrophages' induction factor (IL-4) and secretion factor (IL-10) were obviously higher in STAT4KO + LPS stimulation group, WT + LPS stimulation group, and STAT4KO con group than in WT con group ($F=13.412$, $F=15.012$, $P < 0.05$), of which the expression level in the STAT4KO + LPS stimulation group was the most significant. **Conclusion** STAT4 signaling pathway can promote the inhibition of M1 macrophages and enhance the differentiation of M2 macrophages, whose mechanism of action may be through the combination of LPS/TLR4.

Key words: Arteriosclerosis; Carotid arteries; STAT4 signaling pathway; M1/M2 macrophages; Mechanism

冠心病仍然是心血管疾病中对人类健康危害最大的疾病,也是心血管疾病中发生猝死最常见的疾病^[1-2]。既往文献报道信号传导与转录激活子4(transcriptional activator 4, STAT4)在多种器官组织中表达,尤其在淋巴细胞、单核细胞、树突状细胞和巨噬细胞中较高表达^[3-5]。STAT4在Th1/Th2淋巴细胞分化中作用重大,尤在Th1中较显著^[6]。STAT4可以通过抑制Eoxp3⁺的调节性T细胞反应,促进自身免疫疾病的发生^[7]。文献报道STAT4基因敲除小鼠除了白细胞介素12(IL-12)反应受损外,还有更多T辅助淋巴细胞向Th2分化^[8-9]。有研究发现螺旋B表面肽(helix B surface peptide, HBSP)可使肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平降低、M1型巨噬细胞的数量减少、M1/M2型巨噬细胞比例降低、抑制内皮细胞凋亡以及促进巨噬细胞向M2型极化,从而抑制AS。HBSP或可作为干预冠状动脉病变的新靶点;更有研究指出冠心病病人心外膜脂肪组织巨噬细胞浸润较非冠心病病人更明显,表明冠心病的严重程度与M1/M2型巨噬细胞成正比^[10]。本研究自2020年3—10月探讨STAT4信号通路在脂酶(LPS)/Toll样受体4(TLR4)调控M1/M2型巨噬细胞分化的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 野生型和STAT4-KO小鼠共40只,4~8周龄,体质量为19~22 g,由南京大学模式动物中心引进。小鼠饲养于南京医科大学实验动物中

心SPF级屏障系统动物房,按照SPF级饲养条件饲养。本研究符合一般动物实验伦理学原则。

1.2 主要试剂及仪器 DMEM培养基(美国,HyClone)、ELISA、Q-RT-PCR试剂盒(Abcam公司)、HERAcell VISO160i型二氧化碳恒温培养箱(美国Thermo公司)、兔抗小鼠F4/80, iNOS, FTLR4, CD40, CD14, CD11b, Arg-1和CD206多克隆抗体(BD公司,美国);电泳仪、图像采集和图像分析系统(Bio-Rad, 美国)等。

1.3 方法

1.3.1 建立动脉内膜拉伤-增生模型 将野生型和STAT4-KO小鼠用导丝拉伤颈动脉内膜,建立内皮损伤-修复模型。以超声心动图及病理改变作为建模成功的观察指标。分为野生型和STAT4-KO组。

1.3.2 流式细胞术分析M1/M2型巨噬细胞在外周血和损伤血管内的变化 取各组小鼠外周血0.5 mL于流式上样管,按F4/80, iNOS, FTLR4, CD40, CD14, Arg-1和CD206抗体说明书,根据抗体组合方案,每管分别加5 μ L抗体,避光孵育20 min;71.6 $\times$ g离心5 min,弃上清, PBS清洗, 54.8 $\times$ g离心5 min,收集沉淀加500 μ L PBS重悬,300目筛子过滤,30 min内上机检测,Cell Quest软件进行细胞分类分析。

1.3.3 免疫荧光双染检测M1, M2型巨噬细胞的表达 14 d后将大鼠处死,制备肝组织石蜡切片。取两组的大鼠肝组织石蜡切片进行组织免疫荧光染色,CD163抗体(1:100)标记M1、M2型巨噬细胞

(红色), 6-二脒基-2-苯基吡啶 (DAPI) 标记细胞核 (蓝色), 分别于波长 559 nm 和 340 nm 激发光荧光倒置显微镜下观察拍照, Adobe Photoshop 软件合成图片, 用 Image J 软件计算镜下 5 个视野 ($\times 200$ 倍) 内 CD163+ 标记 M1、M2 型巨噬细胞的阳性表达率。

1.3.4 实时荧光定量 PCR (q-RT PCR) 检测 STAT4 和 TLR4 的表达 用 q-RT PCR 法检测各组 STAT4 和 TLR4 的表达变化, RNA 的提取、逆转录以及 q-RT PCR 都按照试剂盒的说明书操作进行。 β -actin 作为 STAT4 和 TLR4 的内参, 通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式分析得到其表达情况。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因名称	引物序列
STAT4	F: 5'-CTTGGCGCTGTCTCTCUCC-3'
	R: 5'-AGGCGTG ATTCTTCCCACAG-3'
TLR4	F: 5'-GCTGCCTGAGAGACCTAGAGA-3'
	R: 5'-GTTACGAAGCTGCCTCCAG-3'
β -actin	F: 5'-CGAGGCTACAGCTTACCACA-3'
	R: 5'-CGGGTTGGCGTACAGTTCTTA-3'

1.3.5 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测血管生长因子 VEGF、PDGF-BB 变化 选取相应处理后的细胞培养上清用于 VEGF、PDGF-BB 的 ELISA 检测, 向相应的样品孔中加入与其对应的样品, 37 °C 放置 90 min; 向每个孔中加入 100 μ L 生物素化的抗体工作液, 于 37 °C 下放置 1 h; 每个孔中加 100 μ L 酶结合工作液, 37 °C 放置 30 min; 每个孔中加 90 μ L 底物溶液 (TMB), 37 °C 下避光放置 15 min 左右; 往每个孔中加 50 μ L 终止液; 测量各孔的光密度 (OD) 值。建立标准曲线, 然后进行计算。

1.3.6 巨噬细胞的分化情况 从 STAT4KO 和 WT 小鼠骨髓分离 CD11b+ 细胞, 用集落刺激因子 GM-CSF 和脂肪酶 (lipase, LPS) 处理, 分为 WT con 组、WT+LPS 刺激组、STAT4KO con 组、STAT4KO+LPS 刺激组。ELISA 法检测 M2 型巨噬细胞的诱导因子 (IL-4) 及 M2 型巨噬细胞分泌因子 (IL-10) 的 mRNA 表达。

1.4 统计学方法 选用 SPSS 24.0 软件进行统计分

析, 数据资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。细胞分类分析采用重复测量数据方差分析, 两组均值比较采用 t 检验, 多组均值比较采用单因素方差分析, 定性资料用百分数表示, 组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 M1/M2 型巨噬细胞在外周血内的变化 与野生组相比, STAT4-KO 组在术后 1、4、7 和 14 d 时 M1 型巨噬细胞 F4/80⁺iNOS⁺, F4/80⁺IL-12 的细胞百分比降低 ($P < 0.05$), 而 M2 型巨噬细胞 F4/80⁺Arg-1⁺ 和 F4/80⁺CD206⁺ 的细胞百分比明显升高 ($P < 0.05$)。且 M1 型巨噬细胞 F4/80⁺iNOS⁺ 及 M2 型巨噬细胞 F4/80⁺Arg-1⁺ 组别和时间的交互作用对细胞百分比的影响均差异有统计学意义 ($F = 18.62, 8.06, P < 0.05$)。其中 M1 型巨噬细胞 F4/80⁺iNOS⁺ 在第 1、4、7、14 天野生组和 STAT4-KO 组细胞百分比均差异有统计学意义 ($F = 8.90, 77.29, 68.29, 54.00, P < 0.05$), M2 型巨噬细胞 F4/80⁺Arg-1⁺ 在第 1、4、14 天野生组和 STAT4-KO 组细胞百分比均差异有统计学意义 ($F = 522.98, 74.99, 26.85, P < 0.05$)。M1 型巨噬细胞 F4/80⁺F4/80⁺IL-12 组别和时间对细胞百分比的影响差异有统计学意义 ($F = 36.20, 483.66, P < 0.05$), 其中时间具有主效应, 第 1、4、7、14 天细胞百分比两两比较均差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。M2 型巨噬细胞 F4/80⁺CD206⁺ 组别和时间对细胞百分比的影响差异有统计学意义 ($F = 242.15, 139.54, P < 0.05$), 其中时间具有主效应, 第 1、4、7、14 天细胞百分比两两比较均差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2, 3。

2.2 免疫荧光双染检测 M1、M2 型巨噬细胞的表达 STAT4-KO 组的 M1、M2 型巨噬细胞阳性表达率与野生组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

2.3 STAT4 和 TLR4 的表达情况 STAT4 和 TLR4 在 STAT4-KO 组中的表达量明显较野生组低 ($P < 0.05$), 见表 5。

2.4 血管生长因子 VEGF、血小板衍生因子 PDGF-BB 的变化情况 血管生长因子 VEGF、血小板衍生因子 PDGF-BB 在 STAT4-KO 组中的表达量明显较野生组高 ($P < 0.05$), 见表 6。

表 2 不同时间外周血 M1 型巨噬细胞 F4/80⁺iNOS⁺, F4/80⁺IL-12 的细胞百分比/(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	重复次数	iNOS				IL-12			
		1 d	4 d	7 d	14 d	1 d	4 d	7 d	14 d
野生组	3	3.60 $\pm$ 0.51	11.09 $\pm$ 1.04	17.88 $\pm$ 1.81	31.49 $\pm$ 2.80	5.55 $\pm$ 0.47	10.95 $\pm$ 1.38	16.33 $\pm$ 1.76	22.52 $\pm$ 1.84
STAT4-KO 组	3	2.04 $\pm$ 0.85	5.89 $\pm$ 1.13	7.39 $\pm$ 1.63	18.56 $\pm$ 2.20	4.32 $\pm$ 0.51	8.77 $\pm$ 0.93	13.14 $\pm$ 1.37	18.03 $\pm$ 1.68
F 值				18.62				2.80	
P 值				<0.001				0.076	

表3 不同时间外周血 M2 型巨噬细胞 F4/80⁺Arg-1⁺和 F4/80⁺CD206⁺的细胞百分比/(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	重复次数	Arg-1				CD206			
		1 d	4 d	7 d	14 d	1 d	4 d	7 d	14 d
野生组	3	7.54±0.77	8.47±1.13	10.32±1.39	20.51±2.09	6.80±0.55	8.40±0.74	10.80±1.24	14.17±1.58
STAT4-KO 组	3	12.03±0.84	13.40±1.00	18.02±1.59	25.00±2.50	10.29±0.76	12.25±0.92	14.84±1.40	18.21±1.60
F 值				8.06				0.10	
P 值				0.002				0.957	

表4 M1、M2 型巨噬细胞的阳性表达率比较/(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	重复次数	M1 巨噬细胞	M2 巨噬细胞
野生组	3	11.14±1.49	48.73±5.89
STAT4-KO 组	3	9.42±0.41	89.48±10.43
t 值		4.98	15.22
P 值		<0.001	<0.001

表5 信号传导与转录激活子 4(STAT4)、Toll 样受体 4 (TLR4)的表达情况比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	TLR4	STAT4
野生组	3	0.89±0.08	1.31±0.07
STAT4-KO 组	3	0.47±0.06	0.23±0.04
t 值		18.46	58.00
P 值		<0.001	<0.001

表6 血管生长因子 VEGF、PDGF-BB 的变化情况/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	VEGF	PDGF-BB
野生组	3	3.14±0.91	4.23±0.84
STAT4-KO 组	3	9.28±1.02	10.56±1.62
t 值		20.09	15.54
P 值		<0.001	<0.001

2.5 巨噬细胞的分化情况 M2 型巨噬细胞的诱导因子 (IL-4) 及分泌因子 (IL-10) 在 STAT4KO+LPS 刺激组、WT+LPS 刺激组、STAT4KO con 组中的表达量明显较 WT con 组高 ($P<0.05$), 其中 STAT4KO+LPS 刺激组表达量最为显著。见表 7。

表7 巨噬细胞的分化情况/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	白细胞介素-4	白细胞介素-10
WT con 组	3	0.49±0.06	0.98±0.14
WT+LPS 刺激组	3	1.02±0.21	1.22±0.36
STAT4KO con 组	3	2.11±0.37	2.91±0.42
STAT4KO+LPS 刺激组	3	4.02±1.01	5.29±1.31
F 值		80.68	77.04
P 值		<0.001	<0.001

3 讨论

大数据显示,目前心血管疾病死亡率占居民疾病死亡率 40%,远高于肿瘤和其他疾病,因此在中国开展心肌保护和心肌再生医学研究是非常有必要的。炎症免疫反应是一种损伤过程,近来免疫系

统在血管再生中发挥的作用越来越得到重视。参与固有免疫应答的细胞主要包括巨噬细胞、NK 细胞、NK1.1⁺T 细胞、树突状细胞和 B-1 细胞等^[11-12]。微生物可以通过 Toll 样受体介导的信号通路在固有免疫应答中引起非 T 细胞依赖的 IL-12 分泌^[13]。巨噬细胞根据其表面标识、属性和功能的不同,可分为经典激活巨噬细胞(I 型, M1)和替代激活巨噬细胞(II 型, M2)。研究发现 M1 型巨噬细胞通过 γ -干扰素和细菌脂多糖(LPS)激活,可释放大量的炎症因子 IL-1、IL-6 等,促进炎症反应,促进心肌细胞的损伤和动脉粥样硬化(AS)病变的发展^[14-15]; M2 型巨噬细胞由 IL-4、IL-13 和免疫复合物激活,表达 IL-10 等,起着抗炎的作用,促进血管新生、组织修复^[16-17]。M1/M2 型巨噬细胞可以参与炎症反应、促进组织修复,并且与一些干细胞或者拥有祖细胞性质的一些细胞产生一定程度的交互作用,可能在组织修复和重构的过程中扮演着重要角色^[18]。

本研究中,我们对 STAT4 信号通路在 LPS/TLR4 调控 M1/M2 型巨噬细胞分化的作用及机制进行研究,发现与野生组对比,在 STAT4 基因缺失组中术后 1、3、7 和 14 天时 M1 型巨噬细胞 F4/80⁺iNOS⁺, F4/80⁺IL-12 的细胞百分比降低,而 M2 型巨噬细胞 F4/80⁺Arg-1⁺和 F4/80⁺CD206⁺ 的细胞百分比明显升高。说明 STAT4 信号通路在 M1、M2 巨噬细胞的分化过程中起着重要作用。可以提升巨噬细胞 Arg-1 的表达水平,抑制 iNOS 的表达,促进巨噬细胞的 M2 型极化发展。STAT4-KO 组的 M1 巨噬细胞阳性表达率为 (9.42±0.41)%,野生组为 (11.14±1.49)%, STAT4-KO 组的 M2 巨噬细胞阳性表达率为 (89.48±10.43)%,野生组为 (48.73±5.89)%,即表示抑制 STAT 信号通路后, M1 型巨噬细胞得到抑制,而 M2 型巨噬细胞分化得到明显增强。有研究指出, INF- γ 引起的 M1 型巨噬细胞极化主要是介导了酪氨酸激酶-信号转导和转录激活因子(JAK-STAT)的通路,通过激活 JAK1 和 JAK1 激酶后使转录因子 STAT1 发生磷酸化,从而引起 M1 型标志分子的转录表达, IL-12 通过刺激 JAK2 和酪氨酸激酶 2 活性,使 STAT4 的磷酸化后参与 M1 型巨噬细胞的极化^[19]。STAT4 和 TLR4 在 STAT4-KO 组中的表达量明显较

野生组低,血管生长因子 VEGF、PDGF-BB 在 STAT4-KO 组中的表达量明显较野生组高,说明在 STAT4 基因的缺失可以明显促进 VEGF、PDGF-BB 因子的释放。对于细胞实验,结果发现 M2 型巨噬细胞的诱导因子 (IL-4) 及分泌因子 (IL-10) 在 STAT4KO+LPS 刺激组、WT+LPS 刺激组、STAT4KO con 组中的表达量明显较 WT con 组高,其中 STAT4KO+LPS 刺激组表达量最为显著。即说明 STAT4 信号通路也参加巨噬细胞的增殖与分化过程,在 STAT4 基因的缺失和 LPS 的刺激下 M2 型巨噬细胞的分化程度得到明显增强。有研究还发现,STAT4 基因缺失可显著促使巨噬细胞的 M2 型极化^[20],这与本研究结果相一致。

综上所述,STAT4 信号通路可以抑制 M1 型巨噬细胞,从而促进增强 M2 型巨噬细胞分化,其作用机制可能是通过 LPS/TLR4 的结合。本研究可以为心梗病人介入治疗后防止再狭窄和血栓提供新的思路 and 一定的基础支持。可进一步研究 STAT4 信号通路及巨噬细胞变化与内皮细胞和血管新生的关系。

参考文献

- [1] TAN CT, KOH KT, SAID A, et al. Impact of visual assessment of stress cardiac magnetic resonance imaging in patients with known or suspected coronary artery disease in real world practice: a single centre experience [J]. International Journal of Cardiology, 2019, 297(Supl):88.
- [2] OO MM, TAN ICZ, NG KS, et al. Outcomes of percutaneous coronary intervention in significant coronary artery disease patients with documented poor and normal left ventricular ejection fraction [J]. International Journal of Cardiology, 2019, 297: 14-15.
- [3] TAGHAVIE-MOGHADAM PARÉSA L, WASEEM TAYAB C, HATTLER J, et al. STAT4 regulates the CD8+ regulatory T Cell/T follicular helper cell axis and promotes atherogenesis in insulin-resistant *ldlr*^{-/-} mice [J]. Journal of Immunology, 2017, 199 (10): 3453-3465.
- [4] CARSON WILLIAM F, CAVASSANI KAREN A, SOARES ELYARA M, et al. The STAT4/MLL1 epigenetic axis regulates the antimicrobial functions of murine macrophages [J]. Journal of Immunology, 2017, 199(5):1865-1874.
- [5] DOBRIAN AD, HATCHER MA, BROTMAN JJ, et al. STAT4 contributes to adipose tissue inflammation and atherosclerosis [J]. The Journal of Endocrinology, 2015, 227(1): 13-24.
- [6] XUE YL, ZHANG SX, ZHENG CF, et al. Silencing of STAT4 protects against autoimmune myocarditis by regulating Th1/Th2 immune response via inactivation of the NF- κ B pathway in rats [J]. Inflammation, 2019, 42(4):1179-1189.
- [7] XU J, YANG Y, OIU G, et al. Stat4 is critical for the balance between th17 cells and regulatory T cells and regulatory T cells in colitis in [J]. J Immunol, 2011, 186(11):6597-6606.
- [8] IAN LM, RAJANI R, SUSAN N, et al. STAT4 controls GM-CSF production by both Th1 and Th17 cells during EAE [J]. Journal of Neuroinflammation, 2015, 12(1):1-8.
- [9] 张群辉, 马骏, 郭琰, 等. 巨噬细胞极化在心血管疾病中的作用及应用研究进展 [J]. 现代免疫学, 2020, 40(1):52-56.
- [10] CAO Q, WANG RF, WANG YP, et al. Regulatory innate lymphoid cells suppress innate immunity and reduce renal ischemia/reperfusion injury [J]. Kidney International, 2020, 97(1):130-142.
- [11] LI C, ZHU D, ZHAO Y, et al. Dendritic cells therapy with cytokine-induced killer cells and activated cytotoxic cells attenuated Th2 bias immune response [J]. Immunological Investigations, 2019, 10(8):1-13.
- [12] JIANG Z, QIANFEI C, YIRAN Z, et al. Mechanism of angiogenesis promotion with shexiang baixin pills by regulating function and signaling pathway of endothelial cells through macrophages [J]. Atherosclerosis, 2020, 292(10):99-111.
- [13] LU Y, XU J, CHEN S, et al. Lipopolysaccharide promotes angiogenesis in mice model of HCC by stimulating hepatic stellate cell activation via TLR4 pathway [J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2017, 49(11):1029-1034.
- [14] 周潇逸, 吴随一, 张子程, 等. 巨噬细胞在骨折愈合过程中作用的研究进展 [J]. 第二军医大学学报, 2017, 38(12):1556-1561.
- [15] ISHIKAWA S, NOMA T, FU HAI Y, et al. Apoptosis inhibitor of macrophage depletion decreased M1 macrophage accumulation and the incidence of cardiac rupture after myocardial infarction in mice [J]. PLoS One, 2017, 12(11):e0187894. DOI: 10.1371/journal.pone.0187894.
- [16] DENG SQ, ZHOU XJ, GE Z, et al. Exosomes from adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorate cardiac damage after myocardial infarction by activating S1P/SK1/S1PR1 signaling and promoting macrophage M2 polarization [J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2019, 114(10):105564. DOI: 10.1016/j.biocel.2019.105564..
- [17] 张亮, 胡泽平, 圣波, 等. 肝细胞生长因子对动脉粥样硬化模型兔巨噬细胞 M1、M2 亚型及斑块成分的影响 [J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(4):484-490.
- [18] 陈浥尘, 陈广洁, 陈红. M1/M2 型巨噬细胞与心血管疾病关系的研究进展 [J]. 现代免疫学, 2015, 35(6):507-510.
- [19] 孟慧杰. 结核特异性多肽 E7 诱导巨噬细胞极化的信号通路的探讨 [D]. 广州: 广州医科大学, 2018.
- [20] 赵九洲, 姜晓旭, 李宏伟, 等. JAK-STAT 信号通路与巨噬细胞炎症调控的研究进展 [J]. 癌变·畸变·突变, 2020, 32(5):402-404, 408.

(收稿日期:2020-12-28,修回日期:2021-02-05)