

油酰乙醇胺对脂多糖诱导的 THP-1 细胞炎症因子表达的影响

孟祥岚, 邹 军, 张 乐, 金 鑫

(厦门大学 医学院 药理学系, 福建 厦门 361005)

摘 要:目的 探讨油酰乙醇胺(OEA)对细菌脂多糖(LPS)诱导的人急性白血病单核细胞(THP-1)中前炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 表达的影响,并初步探讨 OEA 作为过氧化物酶体增殖物激活受体- α (PPAR- α)激动剂参与对炎症调节的作用机制。方法 体外培养的 THP-1 细胞,分别加入不同浓度的 OEA(10、20、40 μ mol/L)或非诺贝特(100 μ mol/L)共同孵育 1 h 后,用 1 μ g/mL LPS 分别诱导 6 或 24 h。采用 RT-PCR、实时定量 PCR 和酶联免疫吸附检测测定细胞中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 和蛋白的表达的变化,并使用实时定量 PCR 及 Western blot 方法检测 PPAR- α 及 Toll 样受体 4(TLR4)的 mRNA 和蛋白的表达。结果 相对于正常 THP-1 细胞,LPS 诱导后细胞中炎症因子(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6)表达明显增加。OEA 对 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 和蛋白的表达有抑制作用,并呈现出一定的剂量依赖性。且 OEA 在激活 PPAR- α 表达的同时能够抑制 TLR4 的表达。结论 OEA 对 LPS 诱导的炎症反应有抑制作用,其机制可能与激活 PPAR- α ,下调 TLR4 的表达有关。

关键词: 油酰乙醇胺; 炎症因子; PPAR- α ; TLR4

中图分类号: Q78 文献标识码: A 文章编号: 1005-4678(2012)02-0101-05

The effect of oleylethanolamide on the expression of cytokines in lipopolysaccharide induced THP-1 cells

MENG Xiang-lan, ZOU Jun, ZHANG Le, JIN Xin

(Department of Pharmacology, School of Medicine, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Purpose To investigate the effect of oleylethanolamide(OEA) on the expression of proinflammatory cytokines TNF- α , IL-1 β and IL-6 in lipopolysaccharide(LPS) induced THP-1 cells and its mechanism. **Methods** THP-1 cells were pretreated with different concentrations of OEA(10, 20, 40 μ mol/L) or fenofibrate(100 μ mol/L) for 1 h, before stimulated with 1 μ g/mL LPS for another 6 h or 24 h. The expression of cytokines was detected by RT-PCR, Real-time PCR and Cell Enzyme linked immunosorbent assay. Real-time PCR and western blot were performed to measure the expression of PPAR- α and Toll like receptor 4(TLR4) in mRNA and protein levels. **Results** OEA inhibited the expression of LPS induced TNF- α , IL-1 β , IL-6 at mRNA and protein levels and markedly up-regulated PPAR- α as well as inhibited the expression of TLR4 in the LPS induced THP-1 cells. **Conclusion** OEA could inhibited the inflammation of monocytes response to the stimulation of LPS, which may be related to the activation of PPAR- α and down-regulation of the expression of TLR4.

Key words: oleylethanolamide; cytokines; peroxisome proliferator-activated receptor α ; toll like receptor 4

油酰乙醇胺(oleylethanolamide, OEA)是一种

内源性脂质调节物,属于脂肪酸乙醇胺(FAE)家族,50多年前首次从植物和动物组织中将其提取出来。近年来研究表明,体外受体蛋白配体相结合试验证明 OEA 是过氧化物酶增殖体激活受体 α (PPAR- α)的一个天然高亲和激动剂,OEA 通过选择性的激活 PPAR- α 受体,起到抑制食物摄入的作用,可以应用于肥胖症的治疗^[1-2]。本实验室的前期研究证实,

收稿日期: 2011-01-13

基金项目: 国家自然科学基金(30670512);厦门市科技计划高校创新项目(3502220083007)

作者简介: 孟祥岚,女,硕士研究生;金鑫,通信作者,男,教授,从事心血管药理学研究, Tel: 0592-2188676, E-mail: xinjin@xmu.edu.cn。

OEA 可以通过激活 PPAR- α 受体抑制肿瘤坏死因子诱导的人脐静脉内皮细胞中血管黏附分子-1 的表达,从而发挥血管内皮的保护作用^[3]。另一方面, PPAR- α 在糖类及脂类代谢中起了非常重要的调节作用,同时 PPAR- α 在大多数血管细胞如内皮细胞、平滑肌细胞、单核/巨噬细胞及动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS) 病变部位均有表达,并影响 AS 病变的过程^[4-5]。有研究报道, PPAR- α 配体可以抑制星形胶质细胞中的炎症反应^[6],为了深入研究 OEA 作为高效 PPAR- α 受体特异性内源性配体在治疗 AS 上的作用及机理,进一步阐明其产生生物活性的本质,本实验采用人急性白血病单核细胞(THP-1),观察 OEA 对细菌脂多糖(LPS)诱导的单核细胞炎症因子的表达的影响,并对其作用机理进行初步探讨。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

OEA、非诺贝特、大肠杆菌 LPS(0111: B4) 美国 Sigma 公司;胎牛血清,新西兰 Hyclone 公司; RPMI 1640 培养基,日本 GIBCO 公司; Trizol,美国 Invitrogen 公司;反转录试剂盒, Fermentas 公司; SYBR Green PCR 混合液,美国 Roche 公司; Bradford 蛋白定量试剂盒,天根生化科技公司;人 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 ELISA 试剂盒,欣博盛生物科技有限公司;鼠抗人 PPAR- α 单克隆抗体, Millipore 公司;鼠抗人 TLR4 单克隆抗体, R&D 公司;鼠抗人 β -actin 单克隆抗体, Santa Cruz 公司; ECL 发光系统, 联科生物公司。

核酸蛋白测定仪,美国 BECKMAN COULTER 公司;荧光定量 PCR 仪,美国 Applied Biosystems 公

司;多功能酶标仪,美国 Molecular Devices 公司; Western blot 体系,美国 BioRad 公司; Kodak IS4000R 全自动图像工作站,美国 Kodak 公司。

1.2 细胞培养

THP-1 细胞由福建医科大学提供,培养于含有 10% 胎牛血清、100 u/L 青霉素、100 u/L 链霉素、0.05 mmol/L 2-巯基乙醇的 RPMI 1640 培养基, 37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 培养箱培养,细胞密度在 (0.2 ~ 0.5) $\times 10^6$ 个/mL,每 2 d 传代 1 次。

1.3 RT-PCR 及荧光实时定量 PCR

将 1×10^6 个/mL 的 THP-1 细胞接种于 6 孔板,分别加入终浓度为 10、20、40 μ mol/L 的 OEA 及 100 μ mol/L 非诺贝特孵育 1 h,再用 1 μ g/mL LPS 诱导 6 h 后收集细胞,用 Trizol 提取细胞总 RNA,测量浓度后,按照反转录试剂盒说明取总 RNA 1 μ g 进行反转录,取反转录产物 0.5 μ g 按照 PCR 试剂盒要求建立反应体系,充分混合后置于荧光定量 PCR 仪上进行扩增,扩增条件为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 2 min,然后 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 40 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 31 个循环, 72 $^{\circ}$ C 最终延伸 10 min。结果以 GAPDH 为内参,产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳分析。以合成的 cDNA 第一链为模板进行实时荧光定量 PCR (20 μ L 体系)。反应条件为: 50 $^{\circ}$ C 2 min, 95 $^{\circ}$ C 10 min 进行预变性,然后两步法进行扩增, 95 $^{\circ}$ C 变性 10 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 40 个循环。结果以 GAPDH 作为内参,以 LPS 组(不加药,仅加 LPS) 作为外参,采用公式 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算出样品相对于 LPS 组的浓度。引物序列见表 1。

表 1 RT-PCR 及 Real-time PCR 检测引物序列

Tab. 1 Primer sequence used for RT-PCR and Real-time PCR analysis

基因名称	引物序列	检索号	扩增产物长度/bp
TNF α	5'-CAGCAAGGGACAGCAGAGG-3'	NM_000594.2	124
	5'-AGTATGTGAGAGGAAGAGAACC-3'		
IL-1 β	5'-TGATGGCTTATTACAGTGCCAATG-3'	NM_000576.2	139
	5'-GTAGTGGTGCTCGGAGATTCCG-3'		
IL-6	5'-TGATGAGGAACAAGCCAGAG-3'	NM_000600.3	238
	5'-ATGCTACATTTGCCAAAGAG-3'		
PPAR α	5'-AATCCATCGGCCGAGGATAG-3'	NM_001001928.2	288
	5'-CCAGCTTGAGTCCAATCGTT-3'		
TLR4	5'-TTGAGCAGGTCTAGGGTGATTGAAC-3'	NM_138554.3	143
	5'-ATGCGGACACACACTTTCAAATA-3'		
GAPDH	5'-TGGTGAAGACGCCAGTGGA-3'	NM_002046.3	137
	5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3'		

1.4 酶联免疫吸附检测

为了检测细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 蛋白水平的表达,采用细胞酶联免疫吸附试验对其进行检测。首先,在 12 孔板中每孔接种细胞 5×10^5 个/mL。用不同浓度的 OEA(10 20 40 $\mu\text{mol/L}$) 及 100 $\mu\text{mol/L}$ 非诺贝特孵育 1 h 后,再用 1 $\mu\text{g/mL}$ LPS 诱导 24 h,收集培养液,11 580 r/min 离心 15 min,取上清,按照试剂盒说明进行检测。

1.5 免疫印迹

培养液中分别加入不同浓度的 OEA(10 20 40 $\mu\text{mol/L}$) 及 100 $\mu\text{mol/L}$ 非诺贝特孵育 1 h 后,再用 1 $\mu\text{g/mL}$ LPS 诱导 24 h,收集细胞,加入裂解液裂解 30 min 后,11 580 r/min 离心 15 min,取上清液用 Bradford 法进行蛋白浓度的测定。SDS-PAGE 每孔上样量为 30 μg 蛋白经电泳分离后,将胶上蛋白转印到 PVDF 膜上,5% 牛血清白蛋白室温封闭 1 h,然后分别加入 1:1 000 稀释的鼠抗人 PPAR- α 单克隆抗体和 1:500 稀释的鼠抗人 TLR4 单克隆抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,然后加入 1:5 000 稀释的羊抗鼠二抗,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h,ECL 底物后化学发光,使用 Kodak IS4000R 系统检测成像,分析。实验以 β -actin 作为

内参蛋白。

1.6 统计学处理

实验数据均以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 Prism 4 for Windows 软件(GraphPad Software Inc, USA) 进行统计学分析,组间比较用单因素方差分析,当方差分析差异有显著性时,进一步用 q 检验作两两比较。

2 结果

2.1 OEA 对 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达的影响

首先应用 RT-PCR 及荧光定量 PCR 来观察 OEA 对 LPS 诱导的 THP-1 细胞中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达的影响。和正常的对照 THP-1 细胞相比,用 LPS 诱导 6 h 后,细胞中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 明显增加($P < 0.001$),OEA 组和非诺贝特组均可以不同程度地下调 THP-1 细胞中这三种主要前炎症因子的表达($P < 0.05$),结果见表 2 和图 1A。10 20 和 40 $\mu\text{mol/L}$ OEA 对 IL-6 的抑制作用尤为显著,相对于 LPS 诱导组抑制率分别为 42.14% 48.86% 和 66.50%。40 $\mu\text{mol/L}$ OEA 对 LPS 诱导的 IL-1 β 与 IL-6 抑制作用与 100 $\mu\text{mol/L}$ 非诺贝特相近,对于 TNF- α 的抑制作用为 46.49%,优于 100 $\mu\text{mol/L}$ 非诺贝特的 20.17%。

表 2 OEA 对 THP-1 细胞 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达的影响($n = 3 \bar{x} \pm s$)

Tab.2 Effects of OEA on mRNA expression of TNF- α , IL-1 β and IL-6 in THP-1 cells($n = 3 \bar{x} \pm s$)

组别	药物浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	mRNA 的表达量 / %		
		TNF- α	IL-1 β	IL-6
正常对照组	-	5.34 \pm 3.12 ³	0.13 \pm 0.05 ³	0.51 \pm 0.82 ³
LPS 诱导组	-	100	100	100
LPS + OEA 组	10	75.50 \pm 9.53 ¹	84.21 \pm 5.23 ¹	58.07 \pm 4.82 ³
	20	71.28 \pm 6.82 ²	71.03 \pm 17.26 ²	51.39 \pm 1.63 ³
	40	55.99 \pm 14.23 ³	60.11 \pm 9.02 ³	33.84 \pm 6.30 ³
LPS + 非诺贝特组	100	80.91 \pm 6.50 ¹	77.74 \pm 7.07 ¹	30.43 \pm 3.96 ³

与 LPS 诱导组相比:¹ $P < 0.05$ ² $P < 0.01$ ³ $P < 0.001$

¹ $P < 0.05$ ² $P < 0.01$ ³ $P < 0.001$ vs LPS group

2.2 OEA 对 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 蛋白表达的影响

和荧光实时定量 PCR 结果类似,LPS 诱导后 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的蛋白表达均明显上调。OEA 组和非诺贝特组对三种炎症因子的表达有不同程度的抑制作用,结果见表 3。并且对 IL-1 β 和 IL-6 的下调作用强于对 TNF- α 的作用。10 20 40 $\mu\text{mol/L}$ OEA 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 非诺贝特对 IL-1 β 的抑制率分别为 42.22% 53.30% 62.67% 和 72.41%。对 IL-6 的抑制率为 33.21% 64.43% 82.37% 和 74.44%。随着 OEA 浓度的增大,其抑制作用随之增大。40 $\mu\text{mol/L}$ OEA 的作用与 100 $\mu\text{mol/L}$ 非诺

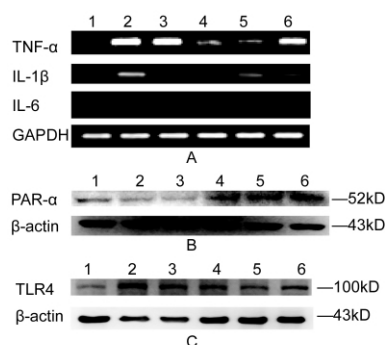
贝特的作用相近。

2.3 OEA 对 LPS 诱导的 THP-1 细胞中 PPAR- α 表达的影响

给予 LPS 刺激后 6 h 后,THP-1 细胞中 PPAR- α mRNA 表达较对照组降低,加入 OEA 和非诺贝特后 PPAR- α mRNA 表达有所上调,结果见表 4 和图 1B。10 20 40 $\mu\text{mol/L}$ OEA 诱导的 PPAR- α 表达为 LPS 诱导的 1.18 1.37 和 1.54 倍。用 Western blot 检测,LPS 诱导 24 h 后 PPAR- α 蛋白的表达,结果与荧光定量 PCR 结果类似。表明 OEA 与非诺贝特均可以增加 LPS 诱导的 THP-1 细胞中 PPAR- α 的表达。

表 3 OEA 对 THP-1 细胞 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 蛋白表达的影响 ($n=4 \bar{x} \pm s$)Tab. 3 Effects of OEA on protein expression of TNF- α , IL-1 β and IL-6 in THP-1 cells ($n=4 \bar{x} \pm s$)

组别	药物浓度 /($\mu\text{mol/L}$)	蛋白的表达量 / %		
		TNF- α	IL-1 β	IL-6
正常对照组	-	21.6 \pm 2.9 ³	未检出	未检出
LPS 诱导组	-	988.2 \pm 36.8	784.6 \pm 245.4	593.2 \pm 89.7
LPS + OEA 组	10	847.4 \pm 73.9	453.9 \pm 79.7 ²	396.2 \pm 130.4 ²
	20	776.5 \pm 100.8 ¹	349.6 \pm 57.7 ³	211.0 \pm 34.1 ³
	40	602.9 \pm 210.7 ³	292.9 \pm 82.4 ³	104.6 \pm 53.1 ³
LPS + 非诺贝特组	100	707.8 \pm 93.9 ²	216.5 \pm 51.5 ³	151.6 \pm 62.4 ³

与 LPS 诱导组相比: ¹ $P < 0.05$, ² $P < 0.01$, ³ $P < 0.001$ ¹ $P < 0.05$, ² $P < 0.01$, ³ $P < 0.001$ vs LPS group1. 对照; 2. LPS 诱导组; 3~5. 10, 20, 40 $\mu\text{mol/L}$ OEA + LPS; 6. 100 $\mu\text{mol/L}$ 非诺贝特 + LPS1. Control; 2. LPS stimulation group; 3-5. Treatment with (10, 20, 40 $\mu\text{mol/L}$) OEA + LPS; 6. Treatment with 100 $\mu\text{mol/L}$ Fenofibrate + LPS图 1 OEA 对 LPS 诱导的 THP-1 细胞 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA (A) PPAR- α 蛋白 (B) 和 TLR4 蛋白 (C) 表达的影响Fig. 1 Effects of OEA on mRNA expression of TNF- α , IL-1 β , IL-6 (A)on protein expression of PPAR- α (B) and on protein expression of TLR4 (C) in LPS induced THP-1 cells

2.4 OEA 对 LPS 诱导的 THP-1 细胞中 TLR4 表达的影响

LPS 诱导 6 h 后, 细胞中 TLR4 的 mRNA 表达上调, 而加入 OEA 和非诺贝特, 其上调作用受到不同程度的抑制, 结果见表 4 和图 1C。10, 20, 40 $\mu\text{mol/L}$ OEA 对 TLR4 的 mRNA 表达与 LPS 诱导组相比, 抑制率分别为 15.60%, 40.78% 和 41.53%。用 Western blot 检测 24 h 诱导后 TLR4 蛋白的表达变化, 观察到与荧光定量 PCR 结果相似。表明 TLR4 被 LPS 诱导激活产生炎症因子, 而 OEA 和非诺贝特可以抑制 TLR4 受体在这一炎症反应过程中的表达上调。

3 讨论

AS 是一种慢性的炎症性疾病, 血管内多种细胞如血管内皮细胞、巨噬细胞、单核细胞及平滑肌细胞都参与以上过程, 是多种细胞功能异常导致的全身免疫紊乱性疾病^[7-8]。近来, 对于 AS 的治疗已从单

表 4 OEA 对 THP-1 细胞 PPAR- α 及 TLR4 mRNA 表达的影响 ($n=3 \bar{x} \pm s$)Tab. 4 Effects of OEA on mRNA expression of PPAR- α and TLR4 in THP-1 cells ($n=3 \bar{x} \pm s$)

组别	浓度 /($\mu\text{mol/L}$)	mRNA 的表达量 / %	
		PPAR- α	TLR4
正常对照组	-	137.7 \pm 7.3 ²	58.68 \pm 28.36 ²
LPS 诱导组	-	100	100
LPS + OEA 组	10	118.0 \pm 21.2 ¹	84.41 \pm 1.40
	20	137.8 \pm 19.7 ¹	59.22 \pm 3.20 ²
	40	154.2 \pm 8.7 ²	58.47 \pm 5.60 ²
LPS + 非诺贝特组	100	144.5 \pm 4.2 ²	54.72 \pm 5.51 ²

与 LPS 诱导组相比: ¹ $P < 0.05$, ² $P < 0.01$ ¹ $P < 0.05$, ² $P < 0.01$ vs LPS group

纯的降血脂扩展到对多种细胞和免疫环节的控制和预防。在 AS 病变过程中单核-巨噬细胞通过促进炎症、脂质沉淀和斑块的破裂, 对 AS 的形成和发展起到重要作用^[9]。因此, 对外周血中的单核细胞进行监测和调控, 抑制炎症性的单核细胞产生则成为预防和治疗 AS 病变的关键。

Toll 样受体 (TLRs) 是一种模式识别受体, 能特异性地识别病原相关的分子模式 (PAMPs), 在免疫及炎症反应的信号传导中扮演重要角色。据报道, 在患有动脉血管疾病的患者外周单核细胞中发现有 TLR4 表达的增加^[10], LPS 通过特异性地激活 TLR4, 介导细胞内信号传递导致炎症细胞因子的表达, 并参与调节免疫细胞的募集^[11-12]。有研究表明, PPAR- α 激动剂可以抑制脂肪细胞中的炎症反应^[13]。另外, 可以下调 LPS 介导的血管平滑肌细胞中 TNF- α 、MMP-9 的表达, 并且通过 TLR4 受体通路的调节而发挥效应^[14]。为了观察 OEA 作为 PPAR- α 的天然高亲和性配体, 是否可以抑制 LPS 引起的单核细胞炎症因子的产生, 本研究采取荧光实时定量 PCR 和酶联免疫吸附实验进行检测。结果表明 OEA 可以分别不同程度的抑制 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6

的表达,并且对 IL-6 的抑制作用尤为显著。荧光实时定量 PCR 和 Western blot 结果显示,LPS 诱导的 THP-1 细胞中 PPAR- α 表达与正常对照组相比有所降低,而给予激动剂后 PPAR- α 上调,表明 OEA 在发挥生物效应中,PPAR- α 参与了这一过程的调节。同时观察到经 LPS 诱导后,TLR4 的表达增加,OEA 可以抑制 LPS 诱导的 TLR4 的上调。表明 OEA 可能是通过激动 PPAR- α 受体,直接抑制 TLR4 的表达从而降低炎症因子的产生的。TLR4 可能是 PPAR- α 受体参与炎症反应调节作用的靶点之一。

本实验从细胞水平上观察了 OEA 对三种主要的前炎症因子表达的影响,其中 TNF- α 作为主要前炎症因子可以启动炎症因子级联反应,促进 IL-1 β 、IL-6 的产生。三者相互作用,其信号转导通路亦不尽相同。OEA 对三者均有不同程度的下调,但是否通过相似的调节通路还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] Fu J ,Gaetani S ,Oveisi F ,et al. Oleylethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR α [J]. *Nature* 2003 425: 90-93.
- [2] Fu J ,Oveisi F ,Gaetani S ,et al. Oleylethanolamide an endogenous PPAR α agonist ,lowers body weight and hyperlipidemia in obese rats [J]. *Neuropharmacology* 2005 48: 1147-1153.
- [3] 秦文,金鑫,陈彩霞,等. 油酰乙醇胺对人脐静脉内皮细胞血管细胞黏附分子-1 表达的影响 [J]. *中国生化药物杂志*, 2008 29(6): 374-377.
- [4] Fokko Z ,Jorge P. PPAR α in atherosclerosis and inflammation [J]. *Acta Bioch Bioph* 2007 1771: 972-982.
- [5] Nikolaus M ,Helene D ,Jean C F ,et al. Peroxisome proliferator-activated receptors and atherogenesis: Regulators of gene expression in vascular cells [J]. *Circ Res* 2004 94: 1168-1178.
- [6] Xu J H ,Janet A C ,Michael K R ,et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and retinoid X receptor agonists inhibit inflammatory responses of astrocytes [J]. *J Neuroimmunol* ,2006 , 176: 95-105.
- [7] Mohamad N ,Alan M F ,Judith A B ,et al. Pathogenesis of atherosclerosis [J]. *Am J Cardiol* ,1995 76: 18-23.
- [8] Hansson G K. Atherosclerosis: an immune disease: The anitschkov lecture 2007 [J]. *Atherosclerosis* 2009 202: 2-10.
- [9] Geng H L ,Lu H Q ,Zhang L Z ,et al. Increased expression of Toll like receptor 4 on peripheral-blood mononuclear cells in patients with coronary arteriosclerosis disease [J]. *Clin Exp Immunol* , 2006 143(2): 269-273.
- [10] Bjarne O. A global view on the role of monocytes and platelets in atherogenesis [J]. *Thrombosis Res* ,1997 85: 1-22.
- [11] Takeuchi O ,Hoshino K ,Kawai T ,et al. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of Gram-negative and Gram-positive bacterial cell wall components [J]. *Immunity* ,1999 11: 443-451.
- [12] Zakkar M ,Chaudhury H ,Sandvik G ,et al. Increased endothelial mitogen-activated protein kinase phosphatase expression suppresses proinflammatory activation at sites that are resistant to atherosclerosis [J]. *Circ Res* 2008 103(7): 726-732.
- [13] Kentaro M ,Hideaki B ,Hiroyuki U ,et al. Effect of PPAR- α activation of macrophages on the secretion of inflammatory cytokines in cultured adipocytes [J]. *Eur J Pharmacol* 2007 561: 206-213.
- [14] Ji Y Y ,Wang Z D ,Li Z F ,et al. Modulation of LPS-mediated inflammation by fenofibrate via the TRIF-dependent TLR4 signaling pathway in vascular smooth muscle cells [J]. *Cell Physiol Biochem* 2010 25: 631-640.

(上接第 100 页)

- [2] Ashkenazi A. Targeting death and decoy receptors of the tumour-necrosis factor superfamily [J]. *Nat Rev Cancer* 2002 2(6): 420-430.
- [3] Sprick M R ,Weigand M A ,Rieser E ,et al. FADD/MORT1 and caspase-8 are recruited to TRAIL receptors 1 and 2 and are essential for apoptosis mediated by TRAIL receptor 2 [J]. *Immunity* , 2000 12(6): 599-609.
- [4] Li H ,Zhu H ,Xu C J ,et al. Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis [J]. *Cell* 1998 94(4): 491-501.
- [5] Georgakis G V ,Li Y ,Humphreys R ,et al. Activity of selective fully human agonistic antibodies to the TRAIL death receptors TRAIL-R1 and TRAIL-R2 in primary and cultured lymphoma cells: induction of apoptosis and enhancement of doxorubicin- and bortezomib-induced cell death [J]. *Br J Haematol* 2005 130(4): 501-510.
- [6] Mccarthy M M ,Divito K A ,Sznol M ,et al. Expression of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptors 1 and 2 in melanoma [J]. *Clin Cancer Res* 2006 12(12): 3856-3863.
- [7] Lawrence D ,Shahrokh Z ,Marsters S ,et al. Differential hepatocyte toxicity of recombinant Apo2L/TRAIL versions [J]. *Nat Med* , 2001 7(4): 383-385.
- [8] 宋玉国,李文珠,李迎,等. FasL、抗人 DR5 单克隆抗体诱导肿瘤细胞凋亡的研究 [J]. *中国免疫学杂志* 2007 23(1): 38-41.
- [9] 杨东海,庄国洪,刘忠臣,等. 抗人 DR5 单克隆抗体的制备、鉴定及活性分析 [J]. *免疫学杂志* 2009 25(6): 671-675.
- [10] Gu X ,Jia X ,Feng J ,et al. Molecular modeling and affinity determination of scFv antibody: proper linker peptide enhances its activity [J]. *Ann Biomed Eng* 2010 38(2): 537-549.