

皮下免疫热休克蛋白 65 对高密度脂蛋白 抗炎抗氧化功能的影响

孙海阁, 田 迪, 谭 迎, 刘挺榕, 罗甜甜, 赖文岩, 郭志刚

(南方医科大学南方医院心内科, 广东省广州市 510515)

[关键词] 热休克蛋白 65; 高密度脂蛋白; 抗炎; 抗氧化

[摘要] **目的** 观察不同剂量热休克蛋白 65 对载脂蛋白 E 基因敲除小鼠高密度脂蛋白抗炎抗氧化功能的影响。**方法** 8 周龄载脂蛋白 E 基因敲除小鼠随机分为磷酸盐缓冲液对照组、5 μg 热休克蛋白 65 组及 25 μg 热休克蛋白 65 组, 分别于第 3、6 周进行皮下免疫。第 16 周取标本, 分别检测血脂水平、血清屏氧酶 1 活性、髓过氧化物酶活性、高密度脂蛋白炎症指数及炎症因子白细胞介素 10 和干扰素 γ 含量。**结果** 随着热休克蛋白 65 剂量的增加, 血清高密度脂蛋白胆固醇水平和白细胞介素 10 表达量逐渐下降, 屏氧酶 1 活性逐渐降低, 高密度脂蛋白炎症指数、髓过氧化物酶活性和干扰素 γ 表达量则逐渐升高。与对照组比较, 25 μg 热休克蛋白 65 组血清高密度脂蛋白胆固醇水平和白细胞介素 10 表达量明显下降 ($P < 0.01$), 屏氧酶 1 活性明显降低 ($P < 0.05$), 高密度脂蛋白炎症指数、髓过氧化物酶活性、干扰素 γ 表达量则显著升高 ($P < 0.01$)。**结论** 热休克蛋白 65 可引起炎症反应, 损害高密度脂蛋白抗炎抗氧化功能, 并且这种作用与其剂量有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effect of Heat Shock Protein-65 on the Anti-oxidant and Anti-inflammatory Properties of High Density Lipoprotein

SUN Hai-Ge, TIAN Di, TAN Ying, LIU Ting-Rong, LUO Tian-Tian, LAI Wen-Yan, and GUO Zhi-Gang

(Department of Cardiology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China)

[KEY WORDS] Heat Shock Protein-65; High Density Lipoprotein; Anti-inflammatory; Anti-oxidant

[ABSTRACT] **Aim** To determine the effect of heat shock protein-65 (HSP65) on the anti-oxidant and anti-inflammatory properties of high density lipoprotein (HDL) in apolipoprotein E gene knocked-out (ApoE^{-/-}) mice. **Methods**

Eight-week-old ApoE^{-/-} mice were randomly divided into three groups: phosphate buffer as control group, 5 μg HSP65 group and 25 μg HSP65 group. The mice were boosted twice under the same protocol following three and six weeks. Sixteen weeks after the first immunization, serum lipids, paraoxonase-1 (PON-1) activity, myeloperoxidase (MPO) activity, high density lipoprotein inflammatory index (HII), the level of cytokines interleukin-10 (IL-10) and interferon- γ (IFN- γ) were assessed. **Results** With the increasing dose of HSP65, HDLC level, IL-10 expression and PON-1 activity reduced gradually, whereas HII, MPO activity, and the IFN- γ expression elevated. Compared with control group, markedly decreased HDLC, IL-10 level and PON-1 activity but a significant enhancement of the serum HII, MPO activity, and IFN- γ levels were

resulted in 25 μg HSP65 group (all $P < 0.05$). **Conclusion** HSP65 could induce inflammatory response and impair the anti-oxidant and anti-inflammatory properties of HDL, which was related to the dose of HSP65.

既往流行病学认为^[1], 高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC) 水平与动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 及冠心病风险呈负

相关, 血清 HDLC 是预测心血管事件发生率的重要指标。同时, HDLC 具有重要的保护心血管病的功能, 包括抗炎抗氧化, 促进胆固醇转出, 抑制血栓形

[收稿日期] 2013-05-14

[基金项目] 广东省科技计划项目(2011B031800065)

[作者简介] 孙海阁, 硕士研究生, 研究方向为冠心病及血脂代谢, E-mail 为 hnpdsbfshg@163.com。田迪, 硕士研究生, 研究方向为冠心病及血脂代谢, E-mail 为 791937904@qq.com。通讯作者郭志刚, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为冠心病及血脂代谢, E-mail 为 guozhigang126@126.com。

成,增强内皮功能,改善糖尿病的血糖控制情况以及抑制造血干细胞增殖等,其中 HDL 的抗炎抗氧化功能尤为重要。但最近的研究^[2]发现, HDLC 水平高低并不能准确代表 HDL 的整体功能, HDL 在某些疾病或应激的状态下,其结构和成分会发生修饰和改变,其原有的功能会发生缺失^[3],主要表现为抗炎抗氧化等功能下降,甚至转变为促炎、促氧化等,从而会加速 As 进展^[4,5]。因此,研究 HDL 功能的改变对预测 As 及冠心病风险更为重要。

许多证据表明,热休克蛋白(heat shock protein, HSP)在 As 形成中具有重要作用。大量研究^[6]证明,免疫 HSP65 的小鼠其 As 的损害及斑块面积明显增大,斑块内干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)、白细胞介素 10(interleukin-10, IL-10)等细胞因子含量增加,表明 HSP65 可通过炎症免疫反应,促进 As 的发生发展。还有研究^[3]表明,炎症刺激可引起 HDL 功能发生改变。目前国内外关于 HSP65 对 HDL 功能影响的研究较少,皮下免疫 HSP65 引起炎症免疫反应的同时是否会影响 HDL 的抗炎抗氧化功能尚不明确。因此,我们通过皮下免疫 HSP65,观察不同剂量 HSP65 对载脂蛋白 E 基因敲除(apolipoprotein E gene knocked-out, ApoE^{-/-})小鼠 HDL 抗炎抗氧化功能相关的炎症指数、血清屏氧酶 1(paraoxonase-1, PON-1)活性、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)活性等的影响,以进一步探讨 HSP65 和 HDL 功能改变之间的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

24 只 8 周龄健康雄性 ApoE^{-/-}小鼠,购自北京大学医学部,生产许可证号:SCXK(京)2011-0012,饲养在南方医院实验动物中心,饲养环境温度约 25℃,湿度约 7%,自动通风器保持室内通风;高脂饲料(含 0.15%胆固醇,21%猪油)购自广东省医学实验动物中心。HSP65 购自美国 StressMarq 公司,乙酸苯酯购自美国 Sigma 公司,血清 MPO 活性测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所,小鼠 IL-10 和 IFN- γ 酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒购自美国 Assay 公司。

1.2 动物分组及干预

24 只 8 周龄 ApoE^{-/-}小鼠随机分为 3 组,每组 8 只小鼠,分组如下:①磷酸盐缓冲液(phosphate

buffered solution, PBS)对照组(简称对照组);②5 μ g HSP65 组;③25 μ g HSP65 组。各组分别予以高脂饲料喂养,并在第 3 周和第 6 周分别于小鼠背部皮下注射 PBS、5 μ g HSP65 或 25 μ g HSP65。第 16 周进行实验。

1.3 血脂测定

实验第 16 周,小鼠空腹 12 h 状态下,乙醚麻醉后心脏采血,3 000 r/min 离心 10 min 取血清,置于 -70℃ 冰箱保存备用。采用酶法在日本日立 76002020 型全自动生物化学仪上测定血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、甘油三酯(triglyceride, TG)含量。

1.4 血清屏氧酶 1 活性测定

采用 Farid 等^[7]乙酸苯酯法检测 PON-1 活性。取反应缓冲液(CaCl₂ 2 mmol/L, Tris-HCl 0.1 mol/L, pH 8.0)1.3 mL,加入 5 mmol/L 乙酸苯酯 150 μ L,于 25℃预温 20 min 后,加入 10 倍稀释的样本血清 50 μ L(稀释液为反应缓冲液),反应 90 s,用 0.5 mol/L 乙二胺四乙酸(ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA)100 μ L 终止反应。然后用分光光度计于 270 nm 波长测定吸光度(absorbance, A)值。同时设立血清对照和底物对照。酶活性计算公式: PON-1 活性 = $A \times f \times FV \times 10^3 / (t \times SV \times L \times \epsilon)$,其中 A 为净吸光度值(即标本吸光度 - 血清对照和底物对照的吸光度值),f 为标本稀释倍数, FV 为反应终体积, t 为反应时间, SV 为样品体积, L 为光径, ϵ 为摩尔消光系数, 270 nm 吸光值时乙酸苯酯的 $\epsilon = 1\,310\text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$,酶的活性单位定义为每分钟催化 1 μ mol 乙酸苯酯水解所需的酶量为 1 U。

1.5 血清髓过氧化物酶活性测定

血清 MPO 活性根据南京建成生物工程研究所提供的试剂盒说明书进行测定。酶活力单位定义:每升血清在 37℃的反应体系中过氧化氢(H₂O₂)被分解 1 μ mol 为 1 个酶活力单位。计算公式: MPO (U/L) = (测定管吸光度值 - 对照管吸光度值) / (11.3 $\times$ 取样量),取样量单位为 L。

1.6 血清 HDL 炎症指数测定

血清 HDL 炎症指数(HDL inflammatory index, HII)采用非细胞学法测定:10 μ L 葡聚糖硫酸酯与 100 μ L 血清混合后,3 000 g/min 离心 5 min,上清即含 HDLC,用胆固醇试剂盒测定胆固醇量,调整胆固醇终浓度为 10 mg/L;将 2,7-二氢二氯荧光黄双乙

酸钠(DCFH-DA)溶于新鲜甲醇(终浓度 2 g/L),然后在室温下避光孵化 30 min,制成 2,7-二氢二氯荧光黄(DCFH)溶液;将 1-棕榈酰-2-(5,6-环氧异前列腺素 E2)锡甘油-3-磷酸胆碱(PEIPC)溶液(终浓度为 50 mg/L)10 μL 和含 HDL 的上清液 90 μL 在黑聚苯乙烯微盘中混合,并放入 37℃烤箱中孵化 1 h;再在微盘的每个孔中加入 10 μL DCFH 溶液(0.2 g/L)混合,再放入 37℃烤箱中孵化 2 h;用荧光分析仪分析荧光强度(激发波长为 485 nm,发射波长为 530 nm,终止波长为 515 nm),如数值小于 1,则判断 HDL 有抗炎作用;如数值大于 1,则有促炎作用(HDL 缺乏时,将 PEIPC 氧化 DCFH 所形成的荧光强度标准化为数值 1)。

1.7 血清白细胞介素 10 和干扰素 γ 含量测定

小鼠血清 IL-10 和 IFN-γ 含量严格根据美国 Assay 公司提供的试剂盒说明书采用 ELISA 法检测。

表 1. 皮下免疫 HSP65 对 ApoE^{-/-} 小鼠血脂的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1. Serum lipid of ApoE^{-/-} mice after subcutaneously immunized with HSP65($\bar{x} \pm s, n = 8$)

分 组	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	LDLC (mmol/L)	HDLC (mmol/L)
对照组	17.05 ± 2.29	0.99 ± 0.23	7.46 ± 0.68	1.78 ± 0.18
5 μg HSP65 组	18.20 ± 1.39	1.04 ± 0.27	7.93 ± 0.53	1.76 ± 0.16
25 μg HSP65 组	19.30 ± 2.78	1.28 ± 0.33	7.96 ± 0.68	1.45 ± 0.09 ^{ab}

a 为 $P < 0.01$,与对照组比较;b 为 $P < 0.01$,与 5 μg HSP65 组比较。

2.2 3 组小鼠屏氧酶 1、髓过氧化物酶活性的比较

与对照组相比,5 μg HSP65 组 PON-1 活性稍降低,MPO 活性稍升高,但差异均无统计学意义($P = 0.07, P = 0.156$);25 μg HSP65 组与对照组相比,PON-1 活性显著降低($P = 0.013$),MPO 活性显著升高($P < 0.01$);与 5 μg HSP65 组相比,25 μg HSP65 组 PON-1 活性差异无统计学意义($P = 0.34$),MPO 活性显著升高($P < 0.01$;表 2)。

表 2. 皮下免疫 HSP65 对 ApoE^{-/-} 小鼠 PON-1、MPO 活性的影响($\bar{x} \pm s, U/L$)

Table 2. Effect of HSP65 on PON-1 and MPO activity($\bar{x} \pm s, U/L$)

项 目	对照组	5 μg HSP65 组	25 μg HSP65 组
PON-1	66.32 ± 10.80	55.40 ± 6.68	49.90 ± 10.30 ^a
MPO	37.98 ± 2.88	40.68 ± 3.60	53.10 ± 5.10 ^{bc}

a 为 $P < 0.05$,b 为 $P < 0.01$,与对照组比较;c 为 $P < 0.01$,与 5 μg HSP65 组比较。

1.8 统计学分析

所有计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件进行两样本均数比较的独立样本 t 检验分析,多组间总体均数比较,在方差齐时采用单向方差分析(One-way ANOVA),方差不齐时采用 Welch 校正检验。多个样本均数间的多重比较方差齐时采用 LSD 法检验,方差不齐时采用 Dunnett's T3 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组小鼠第 16 周血脂水平的比较

TC、TG、LDLC 水平差异 3 组小鼠之间无统计学意义;5 μg HSP65 组与对照组比较,HDLC 水平差异无统计学意义;25 μg HSP65 组分别与对照组、5 μg HSP65 组比较,HDLC 水平明显降低(均 $P < 0.01$;表 1)。

2.3 皮下免疫 HSP65 对小鼠血清高密度脂蛋白炎症指数的影响

与对照组小鼠血清 HII (1.03 ± 0.10) 相比,5 μg HSP65 组 HII (1.21 ± 0.09) 和 25 μg HSP65 组 HII (1.34 ± 0.11) 逐渐升高,差异有统计学意义(均 $P < 0.01$);5 μg HSP65 组和 25 μg HSP65 组相比较,HII 差异有统计学意义($P = 0.04$;图 1)。

2.4 皮下免疫 HSP65 对小鼠血清白细胞介素 10 和干扰素 γ 的影响

与对照组小鼠血清 IL-10 (338.54 ± 45.16 ng/L) 相比,5 μg HSP65 组 IL-10 (303.55 ± 42.47 ng/L) 稍降低,但差异无统计学意义($P = 0.13$);25 μg HSP65 组 IL-10 (253.76 ± 45.06 ng/L) 显著降低,与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.01$);5 μg HSP65 组和 25 μg HSP65 组相比较,IL-10 差异有统计学意义($P = 0.04$)(图 2)。

与对照组小鼠血清 IFN-γ (121.01 ± 21.48 ng/L) 相比,5 μg HSP65 组 IFN-γ (139.34 ± 11.43

ng/L) 升高, 差异有统计学意义 ($P = 0.04$); $25\ \mu\text{g}$ HSP65 组 IFN- γ ($185.06 \pm 13.80\ \text{ng/L}$) 显著升高, 与对照组相比差异有统计学意义 ($P < 0.01$); $5\ \mu\text{g}$ HSP65 组和 $25\ \mu\text{g}$ HSP65 组相比较, IFN- γ 差异有统计学意义 ($P < 0.01$; 图 2)。

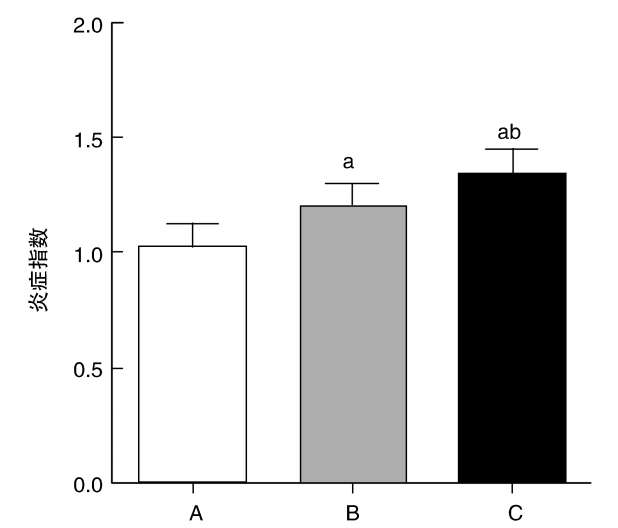


图 1. 各组小鼠血清 HDL 炎症指数的比较 A 为对照组, B 为 $5\ \mu\text{g}$ HSP65 组, C 为 $25\ \mu\text{g}$ HSP65 组。a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 $5\ \mu\text{g}$ HSP65 组比较。
Figure 1. Comparison of HDL inflammatory index in each group

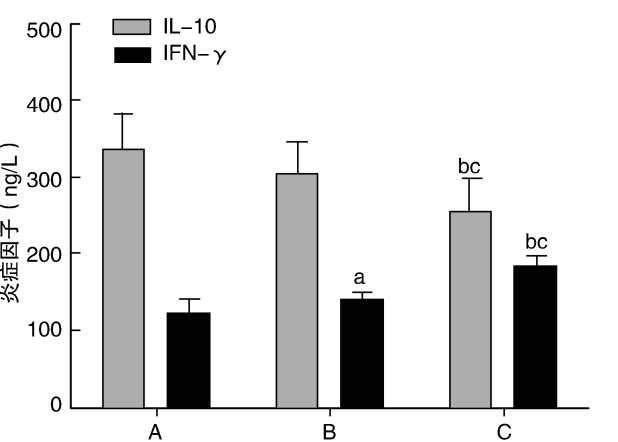


图 2. 各组小鼠血清 IL-10 和 IFN- γ 浓度的比较 A 为对照组, B 为 $5\ \mu\text{g}$ HSP65 组, C 为 $25\ \mu\text{g}$ HSP65 组。a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; c 为 $P < 0.01$, 与 $5\ \mu\text{g}$ HSP65 组比较。
Figure 2. Levels of IL-10 and IFN- γ in each group

3 讨论

动脉粥样硬化是一种慢性炎症与自身免疫反应交互的过程^[8]。HSP65 作为分枝杆菌主要抗原之一, 具有很强的免疫原性, 而且在感染机体时高

度表达, 并被免疫系统识别, 从而诱发炎症免疫反应, 促进 As 的发生发展。最近有研究发现菌源 HSP65 可作为自身免疫疾病的生物标志物^[9]。有研究证实, As 的发生与 Th1/Th2 细胞的功能失衡密切相关^[10], 这两类 T 细胞亚群具有相互调节作用, 它们可通过其分泌的细胞因子相互抑制。IL-10 是主要由 Th2 分泌的一种抑炎因子, 可通过抑制多种促炎细胞因子的产生、下调细胞黏附分子的表达和抑制免疫反应等从而发挥抗动脉硬化作用。IFN- γ 是主要由 Th1 分泌的一种促炎因子, 其可协同诱导多种炎症基因的表达, 产生组织损伤。

本研究结果表明: 对 ApoE^{-/-} 小鼠进行皮下免疫 HSP65, 与对照组比较, $5\ \mu\text{g}$ HSP65 组和 $25\ \mu\text{g}$ HSP65 组促炎因子 IFN- γ 浓度逐渐升高, 抑炎因子 IL-10 浓度则逐渐降低。该结果与 Wu 等^[11] 的研究一致。这提示我们 HSP65 可诱发炎症免疫反应, 使 Th1 和 Th2 细胞功能失衡, 在 As 的发生发展中有重要作用。

高密度脂蛋白的抗炎抗氧化性是其发挥抗 As 的重要功能。国外及我们前期的研究^[12] 发现 HDLC 的浓度与 HDL 是抗炎抗氧化还是促炎促氧化没有必然的联系, 临床资料提示, 40% 以上心血管事件发生患者具有正常血浆 HDLC。Ansell 等^[3] 研究发现, 从高 HDLC 的冠心病患者中分离出的 HDL 并没有抗 As 作用, 甚至能促进血管壁的炎性反应。我们前期基础工作发现冠心病患者 HDL 炎症指数明显高于正常对照组, HDL 功能处于致炎状态。近来研究^[13,14] 显示, HDL 功能(抗炎或促炎)能更好地反映冠状动脉疾病危险程度。Navab 等^[13] 提出 HDL 炎症指数概念, 利用 HII 判断 HDL 的功能状态。HII 是在非细胞环境中检测 HDL 阻止 LDL 被氧化的功能指标, 它可反映 HDL 的抗炎功能, HII 小于 1 时, 表示 HDL 具有抗炎作用; 大于 1 时, 则有促炎作用^[15]。研究发现, 在慢性炎症状态下如系统性红斑狼疮和风湿性关节炎发生时, As 发生率升高, 并与 HII 相关^[16]。本研究结果显示: 随着 HSP65 剂量的增加, 小鼠血清 HII 逐渐升高, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。而 HSP65 组促炎因子 IFN- γ 浓度逐渐升高, 抑炎因子 IL-10 浓度则逐渐降低, 提示炎症反应参与了 HDL 失功能的改变。皮下免疫 HSP65 可能通过诱发炎症反应促使 HDL 由抗炎转变为促炎。

高密度脂蛋白的抗氧化功能主要表现为 HDL 可抑制 LDL 氧化磷脂生成, 并将已生成的氧化磷脂灭活。在 HDL 相关的酶中, 屏氧酶 1 的抗氧化作用最强, 可抑制 LDL 被氧化修饰, 促使脂质过氧化物

代谢,抑制脂质过氧化物堆积,从而发挥抗 As 作用。PON-1 必须结合载脂蛋白 A1 (apolipoprotein A1, ApoA1) 才能发挥抗氧化功能,所以屏氧酶 1 的血清浓度不能完全代表 HDL 抗氧化功能的大小,而其活性才能更好的代表 HDL 抗氧化功能^[2]。髓过氧化物酶是一种由吞噬细胞系统释放的强致氧化性酶,它不仅是中性粒细胞活化的标志物,而且能够促进低密度脂蛋白的氧化修饰,加速 As 的炎症反应,从而促进 As 的发生发展。其可以 H₂O₂ 为氧化底物产生一些硝基化和氯基化的中间产物,这些中间产物以 HDL 上的 ApoA1 为主要靶点使其被氧化修饰导致其结构发生改变,进而损害 ApoA1 促进巨噬细胞内胆固醇经 ATP 结合盒转运子(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1) 途径转运的功能,使 HDL 由抗氧化变为致氧化^[17],因此检测血清 MPO 氧化活性可反映 HDL 上 ApoA1 被氧化修饰程度,进而了解 HDL 的抗氧化/致氧化功能状态。

本研究首次观察皮下免疫 HSP65 对 HDL 抗炎抗氧化功能的影响,由结果可知,与对照组相比,随着 HSP65 剂量的增加,小鼠血清 HDLC 水平和 PON-1 活性逐渐降低,而 MPO 活性则逐渐升高。虽然 5 μg HSP65 组与对照组相比,差异无统计学意义,但 PON-1 活性有降低的趋势,MPO 活性则有升高的趋势;25 μg HSP65 组与对照组相比,差异均有统计学意义。这提示 HSP65 诱导炎症免疫反应的同时会损害 HDL 的抗氧化功能,使 HDL 转变为失功能。随着 HSP65 剂量的增加,对 HDL 抗炎抗氧化功能的影响愈加明显。

综上所述,研究表明,皮下免疫 HSP65 可诱发炎症免疫反应,促进炎症因子的产生,并发现 HSP65 可损害 HDL 抗炎抗氧化功能,且 HSP65 对 HDL 抗炎抗氧化功能的影响与其剂量密切相关。

【参考文献】

- [1] Barter P, Gotto AM, Larosa JC, et al. HDL cholesterol, very low levels of LDL cholesterol, and cardiovascular events[J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(27): 1 301-310.
- [2] Escola-Gil JC, Rotllan N, Julve J, et al. In vivo macrophage-specific RCT and antioxidant and anti-inflammatory HDL activity measurements: New tools for predicting HDL atheroprotection[J]. *Atherosclerosis*, 2009, 206(2): 321-327.
- [3] Ansell BJ, Watson KE, Fogelman AM, et al. High-density lipoprotein function recent advances[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 46(10): 1 792-798.
- [4] Goma EM, Goma RL, Rader DJ. Beyond high-density lipoprotein

- cholesterol levels evaluating high-density lipoprotein function as influenced by novel therapeutic approaches[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 51(23): 2 199-211.
- [5] Sviridov D, Mukhamedova N, Remaley AT, et al. Antiatherogenic functionality of high density lipoprotein: how much versus how good [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2008, 15(2): 52-62.
- [6] Zhang Y, Xiong Q, Hu X, et al. A novel atherogenic epitope from mycobacterium tuberculosis heat shock protein 65 enhances atherosclerosis in rabbit and LDL receptor-deficient mice[J]. *Heart Vessels*, 2012, 27(4): 411-418.
- [7] Farid AS, Nakahara K, Murakami N, et al. Decreased serum paraoxonase-1 activity during intestinal nematode (*Nippostrongylus brasiliensis*) infection in rats[J]. *Am J Trop Med Hyg*, 2008, 78(5): 770-776.
- [8] 陈 瑗, 周 玫. 氧化应激-炎症在动脉粥样硬化发生发展中作用研究的新进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008, 16(10): 757-762.
- [9] Carolina P, Fernanda P, Eliana M, et al. Autolytic mycobacterium leprae HSP65 fragments may act as biological markers for autoimmune diseases [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2011, 51(4): 268-276.
- [10] Methe H, Brunner S, Wiegand D, et al. Enhanced T helper 1 lymphocyte activation patterns in acute coronary syndromes[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 45(12): 1 939-945.
- [11] Wu J, Ma H, Qu Q, et al. Incorporation of immunostimulatory motifs in the transcribed region of a plasmid DNA vaccine enhances Th1 immune responses and therapeutic effect against mycobacterium tuberculosis in mice [J]. *Vaccine*, 2011, 29(44): 7 624-630.
- [12] Zhong JK, Guo ZG, Li C, et al. Probucol alleviates atherosclerosis and improves high density lipoprotein function[J]. *Lipids Health Dis*, 2011, 12(10): 210-219.
- [13] Navab M, Anantharamaiah GM, Reddy ST, et al. Mechanisms of disease: Proatherogenic HDL-an evolving field[J]. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 2006, 2(9): 504-511.
- [14] Dodani S. Excess coronary artery disease risk in South Asian immigrants: Can dysfunctional high-density lipoprotein explain increased risk? [J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2008, 4(5): 953-961.
- [15] Patel PJ, Khera AV, Jafri K, et al. The anti-oxidative capacity of high-density lipoprotein is reduced in acute coronary syndrome but not in stable coronary artery disease[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 58(20): 2 068-075.
- [16] McMahon M, Grossman J, Fitzgerald J, et al. Proinflammatory high-density lipoprotein as a biomarker for atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(8): 2 541-549.
- [17] Shao B, Heinecke JW. Impact of HDL oxidation by the myeloperoxidase system on sterol efflux by the ABCA1 pathway[J]. *J Proteomics*, 2011, 74(11): 2 289-299.

(此文编辑 曾学清)