

内分泌专题

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001596

Pyrin 在巨噬细胞 M1 型极化中的作用研究

张林坤, 胡人之, 彭 川, 高茹菲, 胡金波, 马林强, 杨 溢, 李 璇, 杨淑敏, 李启富

(重庆医科大学附属第一医院内分泌科, 重庆 400016)

【摘要】目的:探讨 Pyrin 在巨噬细胞 M1 型极化中的作用。**方法:**培养人单核细胞株 THP-1 细胞, 提取人外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)、小鼠骨髓来源巨噬细胞(bone marrow-derived macrophage, BMDM)。随机分为对照组和实验组, 实验组用脂多糖(lipopolysaccharide, LPS, 100 ng/mL)复合干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ , 20 ng/mL)干预(THP-1 18 h, PBMC、BMDM 24 h)构建巨噬细胞 M1 型极化模型。qRT-PCR、Western blot 和流式细胞术检测 2 组 M1 型极化相关标志物, 同时利用 qRT-PCR 和 Western blot 检测 MEFV 基因和 Pyrin 蛋白表达水平。**结果:**与对照组相比, 实验组在 LPS+IFN- γ 刺激后, qRT-PCR 检测 THP-1 细胞 M1 型极化标志物: 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) ($t=-4.360$, $P=0.007$)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) ($t=-8.329$, $P=0.000$)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6) ($t=-2.924$, $P=0.033$)、CD14 ($t=-2.858$, $P=0.035$)、CD80 ($t=-3.433$, $P=0.019$), PBMC 细胞 M1 型极化标志物: TNF- α ($t=-2.893$, $P=0.034$)、IL-1 β ($t=-3.606$, $P=0.015$)、IL-6 ($t=-2.895$, $P=0.034$)、CD14 ($t=-2.645$, $P=0.046$)、CD80 ($t=-3.648$, $P=0.015$), BMDM 细胞 M1 型极化标志物: TNF- α ($t=-6.123$, $P=0.002$)、IL-1 β ($t=-2.697$, $P=0.043$)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1) ($t=-4.335$, $P=0.007$)、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS) ($t=-3.607$, $P=0.015$) 均明显增加, Western blot 检测 THP-1 细胞 M1 型极化标志物: TNF- α ($t=-3.827$, $P=0.031$)、IL-1 β ($t=-4.189$, $P=0.025$)、IL-6 ($t=-5.345$, $P=0.002$) 均明显增加, 流式细胞术检测 THP-1 细胞 M1 型极化标志物 HLA-DR ($t=-3.270$, $P=0.017$)、BMDM 细胞 M1 型极化标志物 F4/80⁺CD11c⁺ ($t=-3.833$, $P=0.009$) 均明显增加, 提示 M1 型极化模型构建成功; 在构建成功的 M1 型极化模型中, qRT-PCR 检测 THP-1 细胞、PBMC 细胞和 BMDM 细胞 MEFV 基因表达水平较对照组明显增加 ($t=-3.226$, $P=0.023$; $t=-2.989$, $P=0.030$; $t=-2.891$, $P=0.034$), Western blot 检测 THP-1 细胞 Pyrin 蛋白表达水平较对照组明显增加 ($t=-8.591$, $P=0.000$)。**结论:**巨噬细胞 M1 型极化中 Pyrin 表达增加, Pyrin 可能与巨噬细胞 M1 型极化相关。

【关键词】Pyrin; 巨噬细胞; M1 型极化**【中图分类号】**R392.3**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2017-12-30

Role of Pyrin in macrophage M1 polarization

Zhang Linkun, Hu Renzhi, Peng Chuan, Gao Rufe, Hu Jinbo, Ma Linqiang,
Yang Yi, Li Xuan, Yang Shumin, Li Qifu

(Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the role of Pyrin in macrophage M1 polarization. **Methods:** THP-1 cells were cultured and peripheral blood mononuclear cell (PBMC), bone marrow-derived macrophage (BMDM) were extracted. These three kinds of cells were randomly divided into control group and treatment group. Treatment group was treated with lipopolysaccharide (LPS, 100 ng/mL) and interferon- γ (IFN- γ , 20 ng/mL) to construct macrophage M1 polarization models (THP-1 for 18 h, PBMC and BMDM for 24 h).

qRT-PCR, Western blot and flow cytometry (FCM) were used to test the markers of M1 polarization, qRT-PCR and Western blot were used to test the expression of MEFV and Pyrin. **Results:** Compared with those of control group, qRT-PCR detection of THP-1-M1 polarization markers: TNF- α ($t=-4.360$, $P=0.007$), IL-1 β ($t=-8.329$, $P=0.000$), IL-6 ($t=-2.924$, $P=0.033$), CD14 ($t=-2.858$, $P=0.035$), CD80 ($t=-3.433$, $P=0.019$) and Western blot detection of THP-1-M1 polarization markers: TNF- α ($t=-3.827$, $P=0.031$), IL-1 β ($t=-4.189$, $P=0.025$), IL-6 ($t=-5.345$, $P=0.002$) were significantly increased after the treatment with

作者介绍: 张林坤, Email: 1003065957@qq.com,

研究方向: 代谢性疾病的发病机制和治疗。

通信作者: 李启富, Email: liqifu@yeah.net。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号: 81370954, 81670785);
国家临床重点专科建设经费资助项目 (编号: 2011-170);
重庆市基础科学与前沿技术研究专项资助项目 (编号:
cstc2015jcyjBX0096); 重庆市社会事业与民生保障科技创
新专项子课题资助项目 (编号: cstc2016shms-ztx1003)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180408.1439.034.html>
(2018-04-09)

LPS and IFN- γ . The mRNA levels of TNF- α ($t=-2.893, P=0.034$), IL-1 β ($t=-3.606, P=0.015$), IL-6 ($t=-2.895, P=0.034$), CD14 ($t=-2.645, P=0.046$), CD80 ($t=-3.648, P=0.015$) of PBMC-M1 polarization markers and the mRNA levels of TNF- α ($t=-6.123, P=0.002$), IL-1 β ($t=-2.697, P=0.043$), MCP-1 ($t=-4.335, P=0.007$), iNOS ($t=-3.607, P=0.015$) of BMDM-M1 polarization markers were significant higher after the treatment with LPS and IFN- γ . Treatment group displayed higher positive cells of THP-1-M1 polarization marker HLA-DR ($t=-3.270, P=0.017$) and BMDM-M1 polarization marker F4/80 $^{+}$ CD11c $^{+}$ ($t=-3.833, P=0.009$) than control group. These results suggested that the M1 polarization models were constructed successfully. In these three M1 polarization models, qRT-PCR and Western blot detection of MEFV ($t=-3.226, P=0.023$) and Pypin ($t=-8.591, P=0.000$) of THP-1-M1 macrophages were significantly increased. The mRNA level of MEFV of PBMC-M1 macrophages ($t=-2.989, P=0.030$) and BMDM-M1 macrophages ($t=-2.891, P=0.034$) were significant higher than control group. **Conclusion:** The expressions of Pypin increase in macrophage M1 polarization; Pypin maybe related to macrophage M1 polarization.

【Key words】Pypin; macrophage; M1 polarization

Pypin 是位于 16 号染色体(16p13.3)上的 MEFV 基因编码的由 781 个氨基酸组成的功能蛋白, 主要表达于多形核白细胞和单核细胞。Pypin 蛋白的突变是家族性地中海热(familial mediterranean fever, FMF)、Pypin 相关自身免疫性嗜中性皮病(pypin-associated autoinflammation with neutrophilic dermatosis, PAAND)等免疫系统疾病的主要致病原因^[1-2]。突变的 Pypin 能够促进 Pypin 炎症小体的形成, 进而增加半胱天冬酶-1(caspase-1)的剪切和白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)的产生, 引起自身炎症性病理损伤^[3], 但其具体机制尚不清楚。

巨噬细胞在不同的环境状态下可以表现出不同的功能状态, 这一过程称为极化。根据表面标志物和功能的不同可以将巨噬细胞极化分为两大类, 即经典活化巨噬细胞(M1 型)和选择性活化巨噬细胞(M2 型)。巨噬细胞在脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)等因子作用下, 向 M1 型极化, 分泌肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-1 β 等炎症因子和趋化因子, 表现出很强的促炎及抗原提呈能力, 对病原体和肿瘤细胞发挥宿主免疫清除功能, 也会导致机体正常组织的炎症损伤。巨噬细胞在白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)、白细胞介素-13(interleukin-13, IL-13)等因子作用下, 向 M2 型极化, 分泌转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等因子, 具有抗炎、促进组织修复、促进伤口愈合和纤维化、促进肿瘤生长和浸润等作用^[4]。

既然 Pypin 在促进炎症发生发展过程中起着—

定作用, 而巨噬细胞 M1 型极化在发挥固有免疫防御功能方面也具有一定促炎能力, 那么研究 Pypin 是否能通过影响巨噬细胞极化发挥免疫调节作用有着重要意义, 可为进一步阐明相关疾病的发病机制及治疗提供理论依据。本研究利用人单核细胞株 THP-1 细胞、人外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)、小鼠骨髓来源巨噬细胞(bone marrow-derived macrophage, BMDM)构建 M1 极化模型探讨 Pypin 在巨噬细胞 M1 型极化中的可能作用。

1 材料与方法

1.1 仪器设备

酶联免疫检测仪(美国 Thermo Fisher); CO₂ 细胞培养箱(美国 Thermo Fisher); Western blot 电泳仪、转膜仪及电泳槽(美国 BioRad); 核酸含量测定仪(美国 Thermo Fisher); 小型高速冷冻离心机(美国 Sigma); 凝胶成像仪(法国 Vilber); 荧光定量 PCR 检测仪(美国 BioRad); 流式细胞仪(美国 BD)。

1.2 细胞培养

人单核细胞株 THP-1 细胞: 购于中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心, 培养基为 1640 培养基(美国 Thermo Fisher)+10% 胎牛血清(美国 Thermo Fisher)+0.05 mmol/L β -巯基乙醇(美国 Sigma), 在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养。

人外周血单核细胞 PBMC: 取正常志愿者 EDTA 抗凝外周静脉血 20 mL, PBS 按 1:1 比例稀释、Ficoll 离心液(美国 GE)离心, 取中间白色薄膜层细胞, PBS 清洗 2 遍后种入 6 cm 培养皿中, 用含 10% 胎牛血清+100 ng/mL 人巨噬细胞集落刺激因子(美国 PeproTech)的 1640 培养基在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 6 d(第 3 天换液)。

小鼠骨髓来源巨噬细胞 BMDM: 颈椎脱臼法处死 8 周龄

C57BL/6 小鼠,取股骨及胫骨去掉两端,用装满灌洗液(含 2%胎牛血清 PBS)的注射器针头插入骨髓腔冲洗,将冲洗液过 70 μm 一次性筛网滤除杂质,并用 3 倍体积的红细胞裂解液(中国天根)冰上裂解 10 min,离心弃上清并用 PBS 清洗后将细胞种入 6 cm 培养皿中,用含 10%胎牛血清+10 ng/mL 小鼠巨噬细胞集落刺激因子(美国 PeproTech)的 IMDM 培养基(美国 Thermo Fisher)在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 细胞培养箱中培养 6 d (第 3 天换液)。

1.3 巨噬细胞 M1 型极化的诱导

将上述 3 种细胞随机分为对照组和实验组,THP-1 细胞用 320 nmol/L 佛波醇(美国 Sigma)促进贴壁 6 h 后,实验组复合 100 ng/mL LPS(美国 Sigma)+20 ng/mL IFN- γ (美国 PeproTech)干预 18 h 诱导 M1 型巨噬细胞,18 h 后收取细胞及上清。PBMC 细胞和 BMDM 细胞实验组第 7 天用 100 ng/mL LPS+20 ng/mL IFN- γ 干预 24 h 诱导 M1 型巨噬细胞,24 h 后收取细胞及上清。

1.4 流式细胞术

用 TrypLE™ Express(美国 Thermo Fisher)收集对照组和实验组巨噬细胞,取 1×10^6 个细胞入流式检测管,PBS 清洗 2 次后 THP-1 细胞用小鼠来源抗人单克隆 PE-HLA-DR 抗体(美国 BD)4 $^{\circ}\text{C}$ 标记 1 h,BMDM 细胞用大鼠来源抗小鼠单克隆 PE-F4/80 抗体、仓鼠来源抗小鼠单克隆 APC-CD11c 抗体(中国三箭)4 $^{\circ}\text{C}$ 标记 1 h。标记结束后用 PBS 清洗细胞 1 次,重悬细胞并上机检测各组巨噬细胞中 M1 极化表面标志物变化,用 BD FACS Software 软件对结果进行分析。

1.5 qRT-PCR

Trizol 总 RNA 提取液(日本 Takara)收集对照组和实验组细胞,提取 mRNA,按照逆转录试剂盒(瑞士 Roche)说明书将其逆转录为 cDNA。以 cDNA 为模板、GAPDH 为内参进行

实时荧光定量 PCR,检测目的基因表达水平,用 BioRad CFX 定量 PCR 软件记录扩增曲线和 C_t 值,引物序列见表 1。qPCR 的结果根据 C_t 值计算比较: $\Delta C_t = C_{t \text{ 目的}} - C_{t \text{ GAPDH}}$; $\Delta\Delta C_t = \Delta C_{t \text{ 实验组}} - \Delta C_{t \text{ 对照组}}$;目的基因 mRNA 表达记为 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 。

1.6 Western blot

提取对照组和实验组细胞总蛋白,用 BCA 试剂盒(中国碧云天)检测蛋白浓度。蛋白变性处理后依次进行电泳(上样量 60 μg)、转膜、封闭及小鼠来源抗人单克隆 Pyrin 抗体(美国 Santa Cruz)、兔来源抗人多克隆 TNF- α (中国博奥森)、IL-1 β (中国博士德)、白细胞介素-6(interleukin-6,IL-6)(中国博士德)抗体 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。辣根过氧化物酶标记二抗孵育后,ECL 化学发光法显影,扫描图像用 Vilber Fusion 软件对条带灰度值进行分析,以目的蛋白与内参 β -actin 灰度比值代表目的蛋白表达水平。

1.7 统计分析

用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)来表示,采用两独立样本 t 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结 果

2.1 THP-1 细胞 M1 型极化模型中 Pyrin 表达增加

与对照组相比,实验组 THP-1 细胞在 LPS(100 ng/mL)+IFN- γ (20 ng/mL)干预后,qRT-PCR 检测发现巨噬细胞 M1 型极化标志物 TNF- α ($t = -4.360, P = 0.007$)、IL-1 β ($t = -8.329, P = 0.000$)、IL-6($t = -2.924, P = 0.033$)、CD14($t = -2.858, P = 0.035$)、CD80($t = -3.433, P = 0.019$)mRNA 表达水平明显增加(图 1A),Western blot 检测发现巨噬细胞 M1 型极化标志物 TNF- α ($t = -3.827, P = 0.031$)、IL-1 β ($t = -4.189, P = 0.025$)、IL-6($t = -5.345,$

表 1 qRT-PCR 引物序列
Tab.1 Sequences of primers for qRT-PCR

基因	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
Homo		
MEFV	GTCGCCCTGGAACACAAGAA	TCCTCCCATAGGATCGCTG
TNF- α	CATCTACTCCCAGGTCTCTTCA	CTGGCAGGGGCTCTTGATG
IL-1 β	CCTGAGCACCTTCTTTCCCTT	GCGTGCACTTCAGTGATCGTAC
IL-6	ATGAGGAGACTTGCTGCTGAA	GTTGGGTCAGGGGTGTTATT
CD80	ACTCGCATCTACTGGCAAAAGG	CACTCGTATGTGCCCTCGTCA
CD14	AGGTGCCTAAAGGACTGCCAG	CCAGGGACCAGGAAGGGATT
GAPDH	CACCCACTCCTCCACCTTTGA	CCACCCTGTTGCTGTAGCCA
Mus		
MEFV	AGGCTTCAAGGACTTTACAACAA	TCATGCCAATGAGACTCCCAT
TNF- α	CAGGCGGTGCCTATGTCTC	CGATCACCCCGAAGTTCAGTAG
IL-1 β	GAAATGCCACCTTTTGACAGTG	TGGATGCTCTCATCAGGACAG
MCP-1	AGAGCCAGACGGGAGGAAG	GCATGCTGCTGGAGGAAGAG
iNOS	ACATCGACCCGTCCACAGTAT	CAGAGGGGTAGGCTTGTCTC
GAPDH	GCCTTCGGTGTCTCTACCC	TGCCTGCTTACCACCTTC

$P=0.002$)蛋白表达水平明显增加(图 1B),流式细胞术检测发现 HLA-DR($t=-3.270, P=0.017$)阳性细胞百分比明显增加(图 1C)。在构建成功的 THP-1-M1 型巨噬细胞模型中进一步检测 MEFV 基因 mRNA 及 Pyn 蛋白表达水平,结果显示 MEFV 基因 mRNA($t=-3.226, P=0.023$)表达水平(图 1D)和 Pyn 蛋白($t=-8.591, P=0.000$)表达水平(图 1E)较对照组均有明显增加。以上结果提示巨噬细胞 M1 型极化中 Pyn 表达增加,Pyn 可能与巨噬细胞 M1 型极化相关。

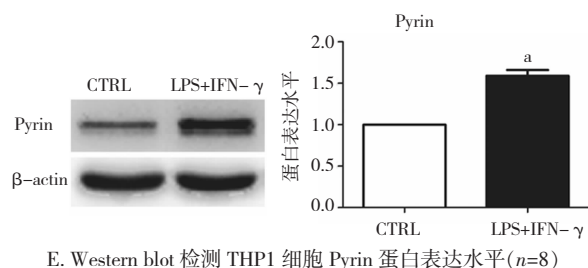
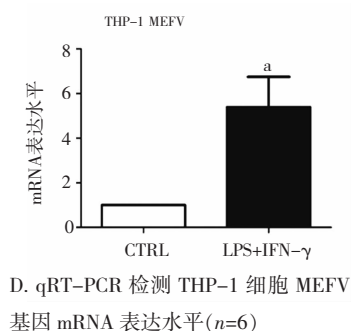
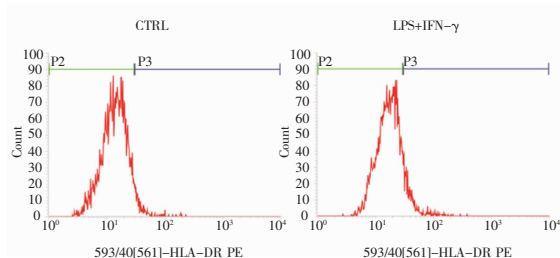
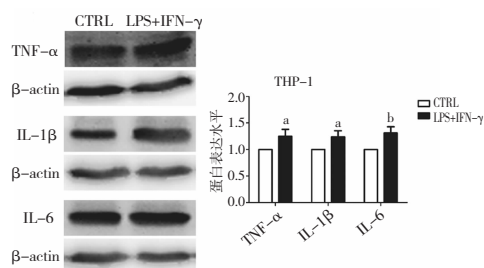
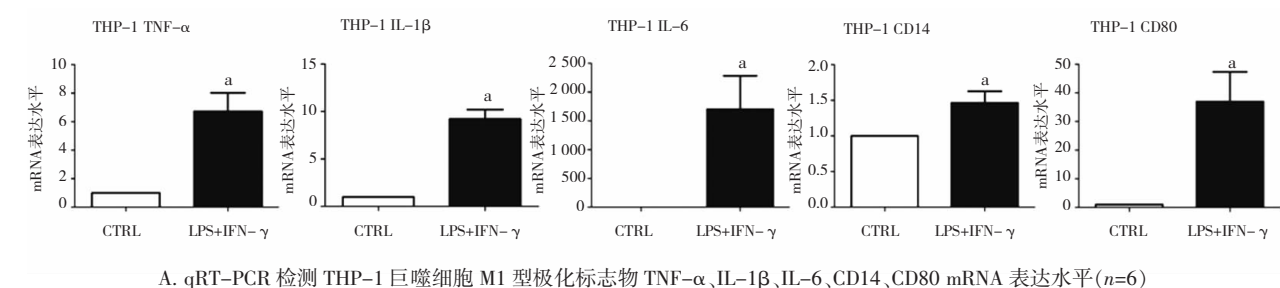
2.2 PBMC 细胞 M1 型极化模型中 Pyn 表达增加

与对照组相比,实验组 PBMC 细胞在 LPS(100 ng/mL)+IFN- γ (20 ng/mL)干预后,qRT-PCR 检测发现巨噬细胞 M1 型极化标志物 TNF- α ($t=-2.893, P=0.034$)、IL-1 β ($t=-3.606, P=0.015$)、IL-6($t=-2.895, P=0.034$)、CD14($t=-2.645, P=0.046$)、CD80($t=-3.648, P=0.015$)mRNA 表达水平明显增加(图 2A)。在构建成功的 PBMC-M1 型巨噬细胞模型中进一步检测 MEFV 基因 mRNA 表达水平,结果显示 MEFV 基因 mRNA

表达水平($t=-2.989, P=0.030$)较对照组明显增加(图 2B)。以上结果提示巨噬细胞 M1 型极化中 Pyn 表达增加,Pyn 可能与巨噬细胞 M1 型极化相关。

2.3 BMDM 细胞 M1 型极化模型中 Pyn 表达增加

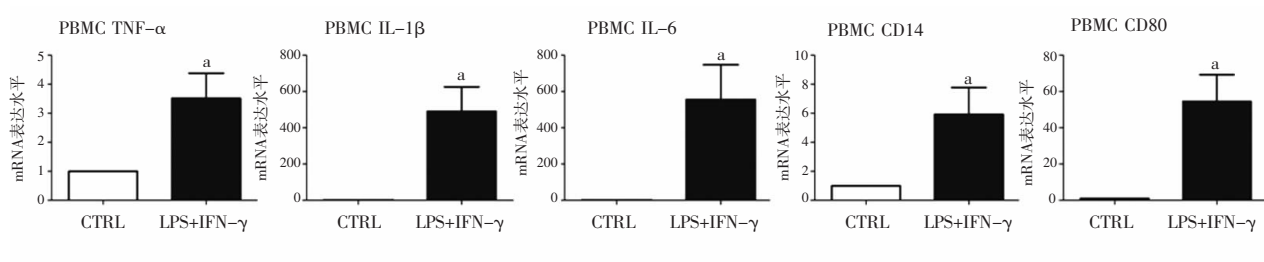
与对照组相比,实验组 BMDM 细胞在 LPS(100 ng/mL)+IFN- γ (20 ng/mL)干预后,qRT-PCR 检测发现巨噬细胞 M1 型极化标志物 TNF- α ($t=-6.123, P=0.002$)、IL-1 β ($t=-2.697, P=0.043$)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1)($t=-4.335, P=0.007$)、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)($t=-3.607, P=0.015$)mRNA 表达水平明显增加(图 3A),流式细胞术检测发现 F4/80⁺CD11c⁺($t=-3.833, P=0.009$)阳性细胞百分比明显增加(图 3B)。在构建成功的 BMDM-M1 型巨噬细胞模型中进一步检测 MEFV 基因 mRNA 表达水平,结果显示 MEFV 基因 mRNA 表达水平($t=-2.891, P=0.034$)较对照组明显增加(图 3C)。以上结果提示巨噬细胞 M1 型极化中 Pyn 表达增加,Pyn 可能与巨噬细胞 M1 型极化相关。



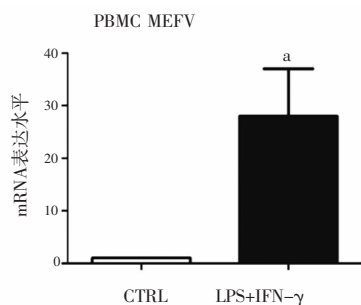
a: 与对照组相比, $P < 0.05$

图 1 THP-1 细胞 M1 型极化模型中 Pyn 表达增加

Fig.1 Expression of Pyn increased in M1 polarization model of THP-1 cells



A. qRT-PCR 检测 PBMC 巨噬细胞 M1 型极化标志物 TNF-α、IL-1β、IL-6、CD14、CD80 mRNA 表达水平



B. qRT-PCR 检测 PBMC 细胞 MEFV 基因 mRNA 表达水平

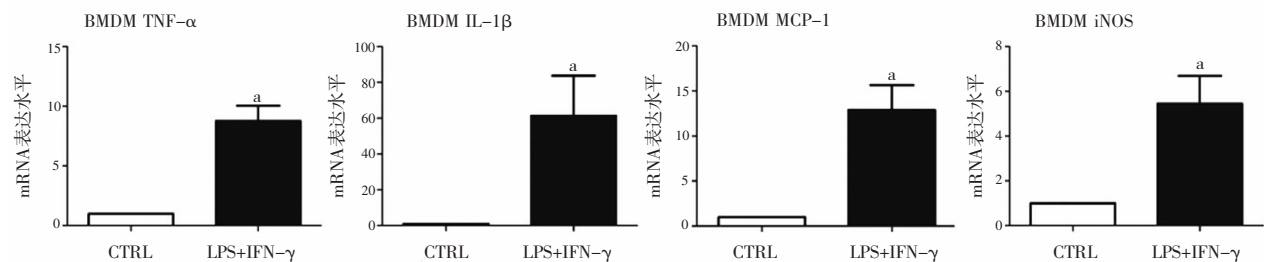
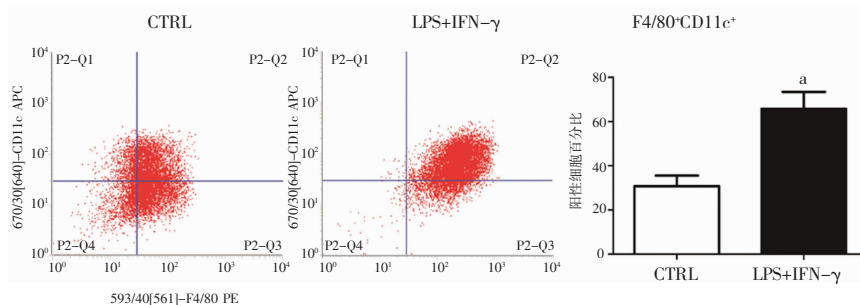
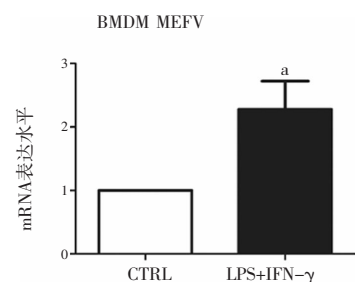
a: 与对照组相比, $P < 0.05$ 图 2 PBMC 细胞 M1 型极化模型中 Pypin 表达增加 ($n=6$)Fig.2 Expression of Pypin increased in M1 polarization model of PBMC cells ($n=6$)A. qRT-PCR 检测 BMDM 巨噬细胞 M1 型极化标志物 TNF-α、IL-1β、MCP-1、iNOS mRNA 表达水平 ($n=6$)B. 流式细胞术检测 BMDM 巨噬细胞 M1 型极化标志物 F4/80+CD11c+ 阳性细胞百分比 ($n=4$)a: 与对照组相比, $P < 0.05$ C. qRT-PCR 检测 BMDM 细胞 MEFV 基因 mRNA 表达水平 ($n=6$)

图 3 BMDM 细胞 M1 型极化模型中 Pypin 表达增加

Fig.3 Expression of Pypin increased in M1 polarization model of BMDM cells

3 讨论

FMF 为常染色体隐性遗传疾病, 是常见的自发性炎症性疾病之一, 主要临床表现为反复发作的发热, 伴有多发性浆膜炎, 部分病人未及时治疗可发生器官淀粉样变性^[2]。PAAND 主要临床表现为儿童期反复发作可持续数周的发热、关节痛、肌肉痛, 以及典型的嗜中性皮病的表现: 瘰疬、皮肤脓肿、坏疽、小血管炎, 病理活检可见血管及间质大量中性粒细胞浸润^[2]。FMF 和 PAAND 的发病都与 Pyrin 突变所带来的炎症过度激活有关, 而巨噬细胞极化在炎症的调节中有着重要作用, 它们之间可能存在着某种联系。本研究在 3 种巨噬细胞 M1 型极化模型中均发现了 MEFV 基因水平和 Pyrin 蛋白水平的增加, 提示 Pyrin 可能与巨噬细胞 M1 型极化相关, 因此 Pyrin 对巨噬细胞 M1 型极化的影响也可能是相关免疫系统疾病发病的重要机制之一。

巨噬细胞极化除了在免疫系统疾病中发挥着重要作用外, 在其他疾病的发生发展过程中也有重要贡献。在动脉粥样硬化炎症发生以及斑块的形成过程中, Ly6C^{hi} 炎症单核细胞的募集以及它向 M2 型巨噬细胞的极化发挥着重要作用^[5]。胞浆 Pellino-1 蛋白促进的 M1 型巨噬细胞极化在肥胖病患者的糖耐量异常中有着重要功能^[6]。转录因子 EB 能够促进巨噬细胞 M1 型极化, 减少 M2 型极化, 调节肿瘤微环境, 在肿瘤细胞生长、迁移以及肿瘤血管生成等方面具有重要贡献^[7]。本研究提示 Pyrin 可能与巨噬细胞 M1 型极化相关, 那么 Pyrin 是否也参与了这些疾病的发生发展过程, 值得后续研究。

为了进一步确认 Pyrin 在巨噬细胞 M1 型极化这一过程中的作用, 后续实验中还需要在干预 Pyrin 的基础上进一步检测 M1 型极化相关指标变化。涉及巨噬细胞 M1 型极化的相关通路有很多, 如: JAK/STAT^[8]、PI3K/Akt^[9]、JNK^[10]、Notch^[11]等, 如果 Pyrin 确实参与了 M1 型巨噬细胞极化过程, 那么 Pyrin 是通过何种途径影响巨噬细胞的 M1 型极化有待进一

步探索。如果 Pyrin 的增加只是巨噬细胞 M1 型极化过程的伴随现象, 那么这一过程中 Pyrin 是受到哪些转录因子的调控也有待进一步发掘和证实。

参考文献

- [1] Kastner DL, O'Shea JJ. A fever gene comes in from the cold[J]. Nat Genet, 2001, 29(3): 241-242.
- [2] Masters SL, Lagou V, Jeru I, et al. Familial autoinflammation with neutrophilic dermatosis reveals a regulatory mechanism of pyrin activation[J]. Sci Transl Med, 2016, 8(332): 332-345.
- [3] Park YH, Wood G, Kastner DL, et al. Pyrin inflammasome activation and RhoA signaling in the autoinflammatory diseases FMF and HIDS[J]. Nat Immunol, 2016, 17(8): 914-921.
- [4] Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation[J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(12): 958-969.
- [5] Rahman K, Vengrenyuk Y, Ramsey SA, et al. Inflammatory Ly6Chi monocytes and their conversion to M2 macrophages drive atherosclerosis regression[J]. J Clin Invest, 2017, 127(8): 2904-2915.
- [6] Kim D, Lee H, Koh J, et al. Cytosolic Pellino-1-mediated K63-linked ubiquitination of IRF5 in M1 macrophages regulates glucose intolerance in obesity[J]. Cell Rep, 2017, 20(4): 832-845.
- [7] Fang L, Hodge J, Saaoud F, et al. Transcriptional factor EB regulates macrophage polarization in the tumor microenvironment[J]. Oncoimmunology, 2017, 6(5): e1312042.
- [8] Salmiheimo A, Mustonen H, Vainionpää S, et al. Tumour-associated macrophages activate migration and STAT3 in pancreatic ductal adenocarcinoma cells in co-cultures[J]. Pancreatology, 2017, 17(4): 635-641.
- [9] Lim JE, Chung E, Son Y. A neuropeptide, Substance-P, directly induces tissue-repairing M2 like macrophages by activating the PI3K/Akt/mTOR pathway even in the presence of IFN γ [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 9417.
- [10] Zhong J, Wang H, Chen W, et al. Ubiquitylation of MFHAS1 by the ubiquitin ligase p38 promotes M1 macrophage polarization by activating JNK and p38 pathways[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(5): e2763.
- [11] Sun W, Zhang H, Wang H, et al. Targeting notch-activated M1 macrophages attenuates joint tissue damage in a mouse model of inflammatory arthritis[J]. J Bone Miner Res, 2017, 32(7): 1469-1480.

(责任编辑: 张辉洁)