

CD11b 调控 LPS 刺激下巨噬细胞 表达 IL-12 的分子机制

刘 珊, 宋政文, 郑晨晨, 张国秀, 赵智辉

(南京师范大学生命科学学院, 生物化学与生物制品研究所, 江苏省分子与医学生物技术重点实验室, 江苏 南京 210023)

[摘要] CD11b 是白细胞整合素家族成员之一, 在炎症的发生和发展中发挥重要作用. 在内毒素血症小鼠模型, 发现脂多糖(LPS)导致外周血白细胞介素 12(IL-12)水平降低, 而 CD11b 抑制剂能防止此现象发生. 为阐明 CD11b 调控 LPS 刺激下 IL-12 产生的分子机制, 本文利用 RAW264.7 细胞开展了进一步研究. 酶联免疫吸附、实时定量 PCR 和 Western Blot 等检测结果表明, CD11b 可抑制 LPS 刺激下 RAW264.7 细胞 IL-12 的表达; 利用 shRNA 敲低 CD11b 的表达则能提高 LPS 刺激下 RAW264.7 细胞 IL-12p35、IL-12p40 的转录水平和蛋白水平的表达; JNK 和 NF- κ B 信号通路与 CD11b 调控 IL-12 的产生关系密切, 而 p38、ERK 信号通路影响较小. 因此, 研究结果提示, CD11b 通过 JNK 和 NF- κ B 信号通路抑制 LPS 刺激下巨噬细胞 IL-12 的产生, 抑制 CD11b 的功能可能有助于削弱 LPS 引起的炎症反应.

[关键词] CD11b, 白细胞介素 12, 脂多糖, 巨噬细胞, JNK, NF- κ B

[中图分类号] R363.2 [文献标志码] A [文章编号] 1001-4616(2018)02-0071-07

Molecular Mechanism of CD11b Regulated IL-12 Expression in LPS-Stimulated Macrophages

Liu Shan, Song Zhengwen, Zheng Chenchen, Zhang Guoxiu, Zhao Zhihui

(School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Institute of Biochemistry and Biological Products,
Jiangsu Key Laboratory for Molecular and Medical Biotechnology, Nanjing 210023, China)

Abstract: CD11b is a member of the leukocyte integrin family, which plays a significant role in the pathogenesis of inflammation. In an endotoxemia mouse model, we found that lipopolysaccharide (LPS) caused a significant decrease of interleukin-12 (IL-12) in peripheral blood, and pretreatment with CD11b inhibitor effectively prevented the occurrence of such event. To elucidate the underlying molecular mechanism that CD11b regulates the production of IL-12 under LPS stimulation, we performed further studies using RAW264.7 cells. Results from Enzyme-linked immunosorbent assay, real-time quantitative PCR, and Western Blot demonstrated that, CD11b inhibited the expression of IL-12 in LPS-stimulated RAW264.7 cells. Knocking down the expression of CD11b increased the expression of IL-12p35 and IL-12p40 at both transcription and protein levels in RAW264.7 cells stimulated with LPS. The regulation of CD11b on IL-12 expression was closely associated with the activation of JNK and NF- κ B signaling pathways, while p38 and ERK signaling pathways were less involved. Thus, this study suggested that CD11b inhibited IL-12 production in LPS-stimulated macrophages mainly via JNK and NF- κ B signaling pathways, and inhibiting the function of CD11b may be of help for attenuating excessive inflammatory responses induced by LPS.

Key words: CD11b, interleukin 12, lipopolysaccharides, macrophage, JNK, NF- κ B

内毒素休克是由各种致病微生物或其毒素感染引起的一种以组织低灌注、低血压以及器官功能障碍为特征的全身反应综合征, 也是临床危重患者的主要死亡原因之一^[1]. 国外流行病学显示, 内毒素休克患者的病死率甚至高达 50%^[2]. 现代救治技术进展迅速, 但内毒素休克仍是治疗的难点^[3]. 寻求降低内毒素

收稿日期: 2018-01-26.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81273232).

通讯联系人: 赵智辉, 博士, 教授, 研究方向: 炎症相关信号通路. E-mail: zhaozhihui_1964@aliyun.com

休克患病率和病死率的治疗方法是当下亟待解决的问题。

IL-12是由p35和p40两个亚单位构成的异二聚体型细胞因子^[4]。它能够诱导IFN- γ 的产生,诱导Th0细胞向Th1细胞分化,是联系固有免疫与适应性免疫间的桥梁^[5]。IL-12对免疫调节、抗感染等具有十分重要的作用^[6]。小野悟志等发现动物患严重脓毒症时IFN- γ 和IL-12的产生减少,用IL-12进行干预能明显提高动物的生存率^[7]。Cristina等发现利什曼原虫通过与巨噬细胞表面的CD11b结合进入宿主细胞,抑制IL-12的产生。当巨噬细胞无CD11b时,利什曼原虫通过其他受体进入宿主细胞,不影响IL-12的产生^[8]。CD11b/CD18是白细胞整合素家族成员之一,它由 α 和 β 两个亚基以非共价键形式结合而成^[9]。CD11b的表达及活化受多种趋化因子调节。CD11b可与多种配体相互作用,在细胞间粘附和炎症的发生发展中发挥重要作用^[10]。本文在内毒素血症小鼠模型中发现LPS导致外周血IL-12水平降低,而CD11b抑制剂能防止此现象发生。本文利用RAW264.7细胞开展了进一步研究,为阐明CD11b调控LPS刺激下IL-12产生的分子机理、了解炎症介质作用的调控机制,为内毒素休克的治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂

细胞培养所使用的链霉素、青霉素、胰酶、DMEM培养基和胎牛血清购于Wisent公司。LPS和乳糖(β -Lactose)购自Sigma-aldrich公司。RNA提取试剂盒、反转录试剂盒和SYBR Green均购于Takara公司。Fugene HD转染试剂购于Roche公司。小鼠炎症试剂盒购于Biosciences公司。小鼠IL-12 ELISA试剂盒购于杭州联科生物技术公司。细胞裂解液RIPA购自江苏碧云天生物技术公司。Gu-4来源于北京大学,氯化钠购于国药集团化学试剂有限公司,地塞米松购于金陵药业有限公司。CD11b shRNA由QIAGEN公司合成。引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成。

免疫印迹中使用的一抗IL-12A和CD11b抗体购于Abcam公司,Phospho-p38(Thr180/Tyr182)、p38、Phospho-JNK/SAPK(Thr183/Tyr185)、JNK/SAPK、Phospho-ERK(Thr202/Tyr204)、ERK、Phospho-IKK α / β (Ser176/180)、Phospho-IkB α (Ser32)、IkB α 抗体均购于Cell Signaling Technology公司。IL-12B、 β -actin抗体和辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔二抗购于南京巴傲得生物科技有限公司,辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠二抗购于诺唯赞生物科技有限公司。

1.1.2 动物模型

构建内毒素血症小鼠模型,18 g~22 g雄性ICR小鼠购自中国科学院上海实验动物中心。LPS溶解于生理盐水,按照小鼠体重0.005 mL/g腹腔注射LPS(37.5 mg/kg)。

1.1.3 细胞培养

小鼠巨噬细胞RAW264.7为本实验室保存。在5% CO₂、37℃细胞培养箱中培养,培养基为含有10%胎牛血清、100 U/mL链霉素和100 U/mL青霉素的DMEM。

1.2 实验方法

1.2.1 流式检测

小鼠内毒素血症模型分为生理盐水对照组(0.9%)、Gu-4处理组(800 nmol/kg)、乳糖处理组(800 nmol/kg)和地塞米松处理组(1.3 mg/kg)(每组n=10),用于治疗药物均溶解于生理盐水。小鼠腹腔注射LPS 30 min后,尾静脉注射不同的治疗药物,注射剂量0.005 mL/g。建模后取1 h、2 h、4 h、6 h、8 h、10 h等不同时间点小鼠的外周血,3 000 r/min离心10 min,取上清,用小鼠炎症试剂盒检测IL-12细胞因子水平的变化。

1.2.2 RNA干扰

RAW264.7细胞以5×10⁵密度接种于6孔板,将CD11b Clone1 shRNA质粒、CD11b Clone2 shRNA质粒及Nep shRNA阴性对照质粒通过Fugene HD转染试剂进行转染。转染后48 h进行后续实验。

1.2.3 ELISA检测

利用ELISA试剂盒测定培养上清液中细胞释放IL-12的水平,按照试剂盒说明书进行操作,通过测定OD_{450 nm}的光吸收值及标准曲线进行IL-12的定量。

1.2.4 实时定量 PCR

利用 RNA 提取试剂盒,严格按照说明书步骤,提取细胞总 RNA. 经测定合格的 RNA 进行反转录实验或放置于-80 ℃冰箱中保存. 经反转录得到的 cDNA 进行实时定量 PCR 分析. 反转录和实时定量 PCR 的步骤都严格按照 Takara 公司说明书进行.引物序列如表 1 所示.

表 1 实时定量 PCR 引物

Table 1 The primer pairs for the real-time PCR

基因	上游引物	下游引物
IL-12p35	5'-GTGCCTTGGTAGCATCTATGA-3'	5'-TGCCCTTGTCTAGAATGATCTG-3'
IL-12p40	5'-GACCATCACTGTCAAAGAGTTTC-3'	5'-AGGAAAGTCTTGTGTTTGA-3'
β -actin	5'-GTGCTATGTTGCTCTAGACTTCG-3'	5'-ATGCCACAGATTCCATACC-3'

1.2.5 免疫印迹

弃去培养基,用 1×PBS 清洗 3 次,每孔加入 200 μ L RIPA 裂解液,置于冰上裂解 30 min. 12 000 r/min 离心 15 min,取上清加入 2×Loading Buffer 混匀,99 ℃煮样 5 min. 10% SDS PAGE 电泳,转移蛋白至 PVDF 膜上,5%脱脂牛奶封闭 2 h,4 ℃孵育一抗过夜,37 ℃孵育辣根过氧化物酶标记的二抗 2 h,最后以 ECL 显色法进行显色.

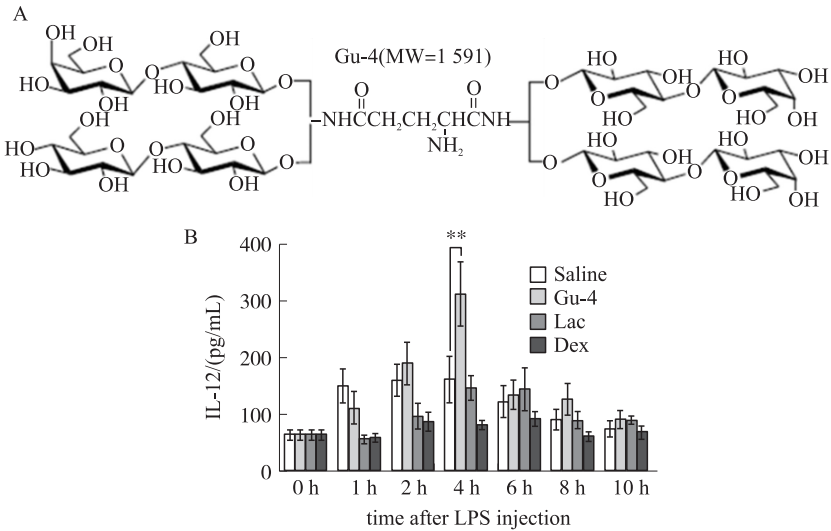
1.2.6 统计学处理

采用 GraphPad Prism 5 软件分析数据,组间差异采用 Repeat *t*-检验进行比较. 实验重复 3 次,*p*<0.05 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 Gu-4 有效提高内毒素血症小鼠外周血中 IL-12 的产生

构建内毒素血症小鼠模型,使用不同的治疗药物(生理盐水、Gu-4、乳糖、地塞米松)处理后,检测小鼠外周血中 IL-12 的水平. 乳糖衍生物 Gu-4 是以谷氨酸为连接臂的四价乳糖糖簇,结构式如图 1A. Gu-4 是 CD11b 的一种抑制剂. 前期研究发现 Gu-4 导致 CD11b 活化位点的暴露减少^[11]. 选用常见的炎症急救药地塞米松作为阳性对照药物. 如图 1 所示,发现地塞米松处理组 IL-12 的水平无明显变化,生理盐水对照组和乳糖处理组 IL-12 的水平略有升高. Gu-4 处理组中 IL-12 的水平明显升高,在 4 h 时 IL-12 的水平显著高于生理盐水对照组. 整体水平结果显示,CD11b 抑制剂 Gu-4 能有效提高内毒素血症小鼠外周血中 IL-12 的产生.



A.Gu-4 的化学结构式. MW:分子量. B.小鼠内毒素血症模型分为生理盐水对照组 (Saline)、Gu-4 处理组 (Gu-4)、乳糖处理组 (Lac)、地塞米松处理组 (Dex). 采集造模后不同时间点 (如图所示,*n*=10) 小鼠外周血,用流式细胞技术检测 IL-12 的水平. 与生理盐水组相比, **p*<0.5, ***p*<0.01

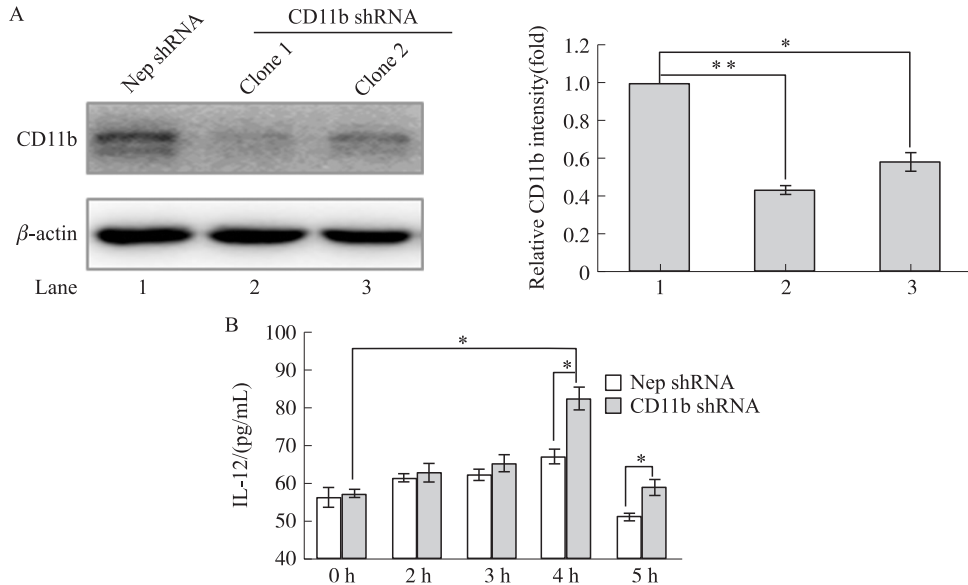
A.Chemical structure of Gu-4. MW, Molecular weight. B.Mice were divided into 4 groups, saline control group, Gu-4, β -lactose, or dexamethasone treatment group. Blood samples were collected from endotoxemia mice (*n*=10 for each group) at consecutive time points (as depicted in B) and subjected to flow cytometry. **p*<0.5, ***p*<0.01 vs. saline

图 1 CD11b 抑制剂 Gu-4 能有效提高内毒素血症小鼠外周血中 IL-12 的水平

Fig. 1 CD11b inhibitor Gu-4 can effectively elevate IL-12 level in the peripheral blood of mice with endotoxemia

2.2 敲低 CD11b 促进 LPS 刺激的巨噬细胞 IL-12 的释放

细胞水平上,选用 RAW264.7 小鼠巨噬细胞进一步开展实验.利用 shRNA 技术敲低 CD11b 的表达.不同质粒对 CD11b 的干扰效果如图 2A 所示,以 Nep shRNA 作为阴性对照质粒,CD11b shRNA clone1 的干扰效果较好,用于之后的干扰实验. Nep shRNA 质粒和 CD11b shRNA 质粒分别转染细胞后,LPS($0.5 \mu\text{g/mL}$)刺激不同时间,收集细胞上清检测 IL-12 水平. ELISA 结果如图 2B 显示,敲低 CD11b 的表达可显著提高 IL-12 的释放. 随着作用时间的延长,IL-12 的释放先增多后减少,在 4 h 时达到峰值.



A.用 CD11b shRNA 和 Nep shRNA 阴性对照质粒分别转染 RAW264.7 细胞 48 h,免疫印迹检测 CD11b 的表达(左图). B.LPS($0.5 \mu\text{g/mL}$)刺激细胞(处理如 A 中细胞)不同时间(如图示)后收集上清,ELISA 法检测 IL-12 水平. $n=3$, $*p<0.5$, $**p<0.01$

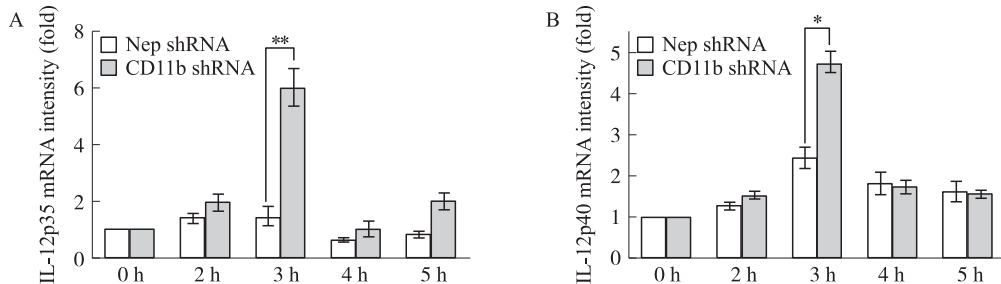
A.RAW264.7 cells were transiently transfected with CD11b shRNA or negative control shRNA. After 48 h of transfection, the expression of CD11b was determined by Western blot(left graph)and subsequent densitometric analysis(right graph). B.RAW264.7 cells(pretreated as in A) were incubated with LPS($0.5 \mu\text{g/mL}$) for the indicated period of time, and the level of IL-12 in the culture medium was measured by ELISA. Data shown are representative results of triplicate experiments. $*p<0.5$, $**p<0.01$

图 2 敲低 CD11b 能增加 LPS 刺激的巨噬细胞 IL-12 的释放

Fig. 2 CD11b knockdown increase the release of IL-12 in LPS-stimulated macrophages

2.3 敲低 CD11b 增加 LPS 刺激巨噬细胞 IL-12 转录水平表达

为了研究 CD11b 对 LPS 刺激下巨噬细胞中 IL-12 表达的影响. 利用 RT-qPCR 检测 IL-12p35 和 IL-12p40 转录水平表达. 结果如图 3 所示,敲低 CD11b 的表达,随着刺激时间的延长,IL-12p35 和 IL-12p40 的 mRNA 发生明显的变化.LPS 刺激 3 h 时,CD11b shRNA 组中 IL-12p35 转录水平较对照组增加 5 倍,IL-12p40 转录水



用 CD11b shRNA 和 Nep shRNA 阴性对照质粒分别转染 RAW264.7 细胞 48 h,LPS($0.5 \mu\text{g/mL}$)分别刺激细胞不同时间(如图示),实时定量 PCR 法检测 IL-12p35(A)和 IL-12p40(B)mRNA 的表达,以 β -actin 为内参. $n=3$, $*p<0.5$, $**p<0.01$

RAW264.7 cells were transiently transfected with CD11b shRNA or negative control shRNA. After 48 h of transfection, cells were incubated with LPS($0.5 \mu\text{g/mL}$) for the indicated period of time. The level of IL-12p35 and IL-12p40 mRNA were measured by real-time PCR, β -actin served as inner control. Data shown are representative results of triplicate experiments. $*p<0.5$, $**p<0.01$

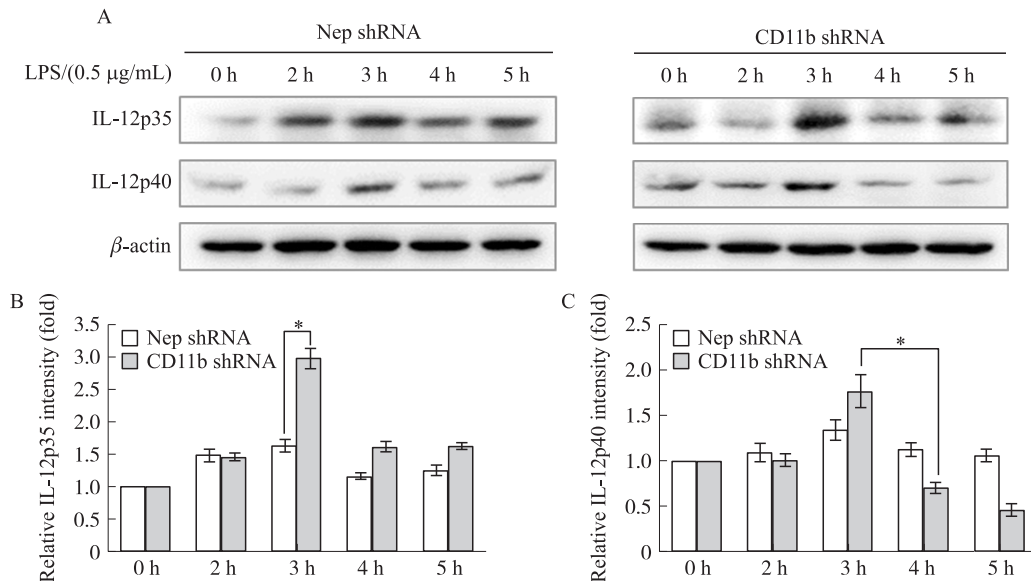
图 3 敲低 CD11b 表达促进 LPS 刺激的巨噬细胞中 IL-12 转录水平表达

Fig. 3 CD11b knockdown promoted transcriptional expression of IL-12 in LPS-stimulated macrophages

平较对照组增加 2 倍。敲低 CD11b 的表达可显著增加 LPS 刺激下巨噬细胞中 IL-12 转录水平的表达。

2.4 干扰 CD11b 增强 LPS 刺激巨噬细胞 IL-12 蛋白水平的表达

用 Nep shRNA 质粒和 CD11b shRNA 质粒分别转染细胞后, LPS (0.5 $\mu\text{g/mL}$) 刺激不同时间, 收集细胞总蛋白, 采用免疫印迹技术检测 IL-12p35 和 IL-12p40 蛋白水平的变化情况。结果如图 4 所示, CD11b shRNA 组 IL-12p35 和 IL-12p40 的蛋白水平的变化趋势与 mRNA 水平的变化趋势相类似, 呈先上升后下降趋势。在 LPS 刺激 3 h 时, CD11b shRNA 组 IL-12p35 蛋白水平达到峰值, 显著高于对照组。



A. CD11b shRNA 和 Nep shRNA 阴性对照质粒分别转染 RAW264.7 细胞 48 h, LPS (0.5 $\mu\text{g/mL}$) 分别刺激细胞 (0、2、3、4、5) h 后, 免疫印迹检测 IL-12p35 和 IL-12p40 的蛋白表达。B、C, IL-12p35 和 IL-12p40 蛋白表达的灰度分析。n=3, * $p<0.05$

A. RAW264.7 cells were transiently transfected with CD11b shRNA or negative control shRNA for 48 h. After 48 h of transfection, cells were incubated with LPS (0.5 $\mu\text{g/mL}$) for the indicated period of time. The intracellular expression of IL-12p35 and IL-12p40 protein was examined by Western blot. B, C, Densitometric analysis of results from A. Data shown are representative results of triplicate experiments. * $p<0.05$

图 4 敲低 CD11b 表达增强 LPS 刺激的巨噬细胞中 IL-12 蛋白表达

Fig. 4 CD11b knockdown enhanced protein expression of IL-12 in LPS-stimulated macrophages

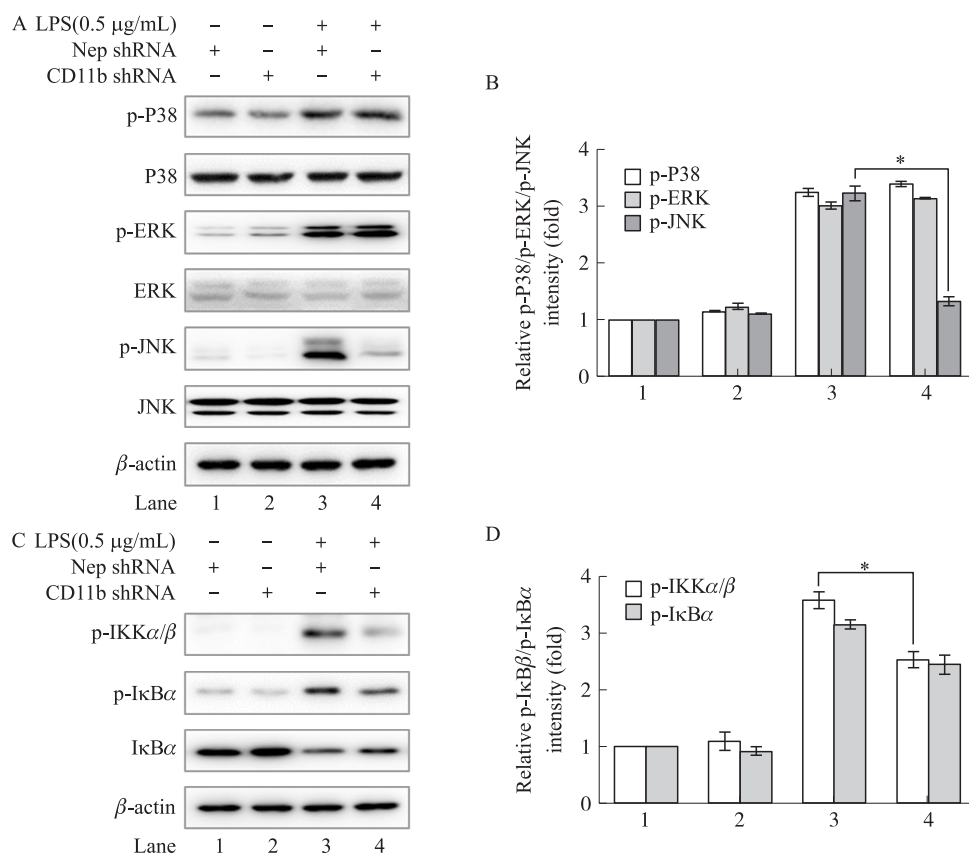
2.5 干扰 CD11b 对 LPS 刺激的 MAPKs 和 NF- κ B 信号通路的影响

MAPKs 和 NF- κ B 在基因表达调控和炎症发生发展过程中发挥关键作用。通过免疫印迹技术对 MAPKs 和 NF- κ B 信号通路及其活性表达进行分析, 探讨 CD11b 调控 LPS 刺激下巨噬细胞产生 IL-12 的分子机制。先检测 LPS 刺激下, 对细胞中 JNK、ERK 和 p38 3 种 MAPKs 磷酸化的作用情况。LPS 刺激引起 JNK、ERK 和 p38 的磷酸化并在 LPS 刺激 30 min 时达到高峰, 随后磷酸化程度逐渐减弱。结果发现, LPS 刺激的 CD11b shRNA 组中 JNK 的磷酸化程度明显受到削弱, 与对照组相比, JNK 的磷酸化水平减少约 60%。但对 ERK 和 p38 的磷酸化水平无明显影响 (图 5A 和 5B)。

NF- κ B 蛋白主要由 p65 和 p50 两个亚基形成异源二聚体。通过检测 IKKs、I κ B α 的磷酸化活化来判断 NF- κ B 通路的活化。LPS 激活 IKK α / β 、I κ B α 的磷酸化且在刺激 30 min 时磷酸化的程度达到峰值。结果发现, 与对照组相比, LPS 刺激的 CD11b shRNA 组中 IKK α / β 的磷酸化程度受到削弱。LPS 激活 IKK α / β 、I κ B α 的磷酸化, 促进 I κ B α 蛋白的降解, 从而导致 NF- κ B 的活化。敲低 CD11b 的表达可显著削弱 NF- κ B 的活化 (图 5C 和 5D)。在 LPS 刺激的巨噬细胞中, 干扰 CD11b 表达能够抑制 JNK 和 NF- κ B 信号通路的活化。

3 讨论

内毒素休克是由各种致病微生物或其毒素感染引起的一种全身炎症反应综合征。在内毒素休克发生发展过程中, 机体调控机制的失调是导致炎症的重要因素^[12]。IL-12 在内毒素休克的发生发展过程中发挥着重要作用。Heike 等连续检测 1113 例消化道大手术患者的外周血 IL-12 水平, 发现术前 IL-12 > 140 ng/mL 的 443 例患者无死亡, 而 IL-12 < 140 ng/mL 的 670 例患者中死亡 16 例, 结果表明患者的死亡与外周血中



A, C. 用 CD11b shRNA 和 Nep shRNA 阴性对照质粒分别转染 RAW264.7 细胞 48 h, 再用 LPS (0.5 μg/mL) 分别刺激细胞 30 min. 免疫印迹检测 MAPKs 和 NF-κB 信号通路相关分子. B, D 分别为对 A 和 C 结果所做灰度分析. $n=3$, $*p<0.05$

A, C. RAW264.7 cells were transiently transfected with CD11b shRNA or negative control shRNA for 48 h. After 48 h of transfection, cells were incubated with LPS (0.5 μg/mL) for 30 min. Key signaling molecules of MAPKs and NF-κB pathways were examined by Western blot. B, D. Densitometric analysis of results from A and C. Data shown are representative results of triplicate experiments. $*p<0.05$

图 5 干扰 CD11b 表达抑制 LPS 刺激的 JNK 和 NF-κB 信号通路的活化

Fig. 5 CD11b knockdown inhibited activation of JNK and NF-κB signaling pathways in LPS-stimulated macrophages

IL-12 的水平相关^[13]. 玉泽德一郎等研究发现, 烧伤后 Th1 细胞产生的 IL-2、TNF-α 相对于 Th2 细胞产生 IL-4、IL-10 的能力降低, 这与 IL-12 减少有关^[14]. 在内毒素血症小鼠模型中, 发现 LPS 导致外周血 IL-12 水平降低, 而 CD11b 抑制剂能防止此现象发生. 利用 RNA 干扰手段, 敲低 CD11b 的表达则能提高 LPS 刺激下 RAW264.7 细胞中 IL-12p35、IL-12p40 的转录水平和蛋白水平的表达. 结果说明 CD11b 在调控 LPS 刺激下巨噬细胞表达 IL-12 的过程中扮演着重要角色.

许多炎症刺激或是细胞因子所触发的炎症反应都通过与细胞表面受体结合向胞内传递信号激活 MAPKs 信号通路, 进而磷酸化并活化相关转录因子, 启动多种促炎症因子基因的表达. MAPKs 和 NF-κB 是介导细胞炎症反应的两条重要信号转导途径^[15-16]. 检测 NF-κB 和 MAPKs 信号分子活性的变化, 结果发现, 在 LPS 刺激的巨噬细胞中, 干扰 CD11b 的表达抑制 JNK 和 NF-κB 信号通路的活化, 而对 p38、ERK 信号通路的影响较小.

因此, 本研究阐明 CD11b 通过 JNK 和 NF-κB 信号通路抑制 LPS 刺激下巨噬细胞 IL-12 的产生, 抑制 CD11b 的功能可能有助于削弱 LPS 引起的炎症反应. 了解炎症介质作用的调控机制, 为改进内毒素休克的治疗方法提供了新的理论基础.

[参考文献]

- [1] MA J, CHEN C, BARTH A S, et al. Lysosome and cytoskeleton pathways are robustly enriched in the blood of septic patients: a meta-analysis of transcriptomic data[J/OL]. Mediators of inflammation, 2015. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/984825>.
- [2] PERMAN S M, GOYAL M, GAIESKI D F. Initial emergency department diagnosis and management of adult patients with

- severe sepsis and septic shock[J]. Journal of trauma,2012,20(1):1-11.
- [3] CHANDRA A, ENKHBAATAR P, NAKANO Y, et al. Sepsis: emerging role of nitric oxide and selectins[J]. Clinics, 2006, 61(1):71-76.
- [4] WEIGHARDT H, HEIDECHE C D, WESTERHOLT A, et al. Impaired monocyte IL-12 production before surgery as a predictive factor for the lethal outcome of postoperative sepsis[J]. Annals of surgery, 2002, 235(4):560-567.
- [5] LIN S, CHANG H, LEKHA N, et al. Interleukin 12(IL-12) family cytokines: role in immune pathogenesis and treatment of CNS autoimmune disease[J]. Cytokine, 2015, 75:249-255.
- [6] TRINCHIERI G. Interleukin-12; a cytokine at the interface of inflammation and immunity[J]. Advances in immunology, 1998, 70(70):83-243.
- [7] ONO S, UENO C, AOSASA S, et al. Severe sepsis induces deficient interferon-gamma and interleukin-12 production, but interleukin-12 therapy improves survival in peritonitis[J]. American journal of surgery, 2001, 182(5):491-497.
- [8] CRISTINA R C, FAVILA M, POLANDO R E, et al. Leishmania major inhibits IL-12 in macrophages by signaling through CR3 (CD11b/CD18) and downregulation of ETS mediated transcription[J]. Parasite Immunol, 2013, 35(12):409-420.
- [9] SHATTIL S J, NEWMAN P J. Integrins: dynamic scaffolds for adhesion and signaling in platelets[J]. Blood, 2004, 104:1606-1615.
- [10] MAYADAS T N, CULLERE X. Neutrophil beta2 integrins: moderators of life or death decisions[J]. Trends in immunology, 2005, 26(7):388-395.
- [11] ZHOU H T, JI X M, WU Y, et al. A dual-role of Gu-4 in suppressing HMGB1 secretion and blocking HMGB1 pro-inflammatory activity during inflammation[J]. PloS One, 2014, 9(3):89 634.
- [12] RITTIRSCH D, FLIERL M A, WARD P A. Harmful molecular mechanisms in sepsis[J]. Nature Reviews Immunol, 2008, 8(10):776-787.
- [13] HEIKE W, HEIDECHE C D, WESTERHOLT A, et al. Impaired monocyte IL-12 production before surgery as a predictive factor for the lethal outcome of postoperative sepsis[J]. Annals of surgery, 2002, 235(4):560-567.
- [14] TOKUICHIRO U, MAKIKO K, DAVID N, et al. A mechanism of interleukin-12 unresponsiveness associated with thermal injury[J]. Journal of surgical research, 2001, 96(2):211-217.
- [15] JOYCE D E, GELBERT L, CIACCIA A, et al. Gene expression profile of antithrombotic protein C defines new mechanisms modulating inflammation and apoptosis[J]. The journal of biological chemistry, 2001, 276(14):11199-11203.
- [16] TAK P P, FIRESTEIN G S. NF- κ B: a key role in inflammatory diseases[J]. The journal of clinical investigation, 2001, 107(1):7-11.

[责任编辑:黄 敏]