

· 基础研究 ·

巨噬细胞中神经损伤诱导蛋白1在肝脏缺血再灌注损伤及其炎症反应中的作用

周 顺,王 勇,张 峰,游 伟*

南京医科大学第一附属医院肝胆中心,江苏 南京 210029

[摘 要] 目的:评价巨噬细胞中神经损伤诱导蛋白1(nerve injury-induced protein 1, Ninj1)在肝脏缺血再灌注损伤及后续炎症反应中的作用。方法:分别收集肝脏部分切除术中行肝门阻断的患者(肝门阻断组, $n=6$)以及未行肝门阻断的患者(对照组, $n=6$)术前和术后的外周血,提取外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC),采用RT-PCR和Western blot方法检测并比较两组患者术前、术后PBMC中Ninj1基因和蛋白表达水平;提取小鼠骨髓细胞,体外诱导成巨噬细胞(bone marrow derived macrophage, BMDM),检测脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激后BMDM中Ninj1表达的变化情况,并利用小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)干扰Ninj1分析其对BMDM炎症反应的影响;建立小鼠肝脏缺血再灌注(ischemia reperfusion, IR)模型,采用巨噬细胞特异性干扰RNA敲低巨噬细胞中Ninj1的表达,观察其对小鼠肝脏IR损伤及炎症反应的影响。结果:Ninj1在肝门阻断组患者术后PBMC中的表达较术前明显增高($P < 0.05$),而在对照组中无明显变化;体外LPS刺激能明显激活小鼠BMDM中Ninj1的表达,siRNA干扰Ninj1的表达后LPS诱导的BMDM炎症反应明显减轻($P < 0.05$);在体内特异性敲低巨噬细胞中Ninj1的表达能显著减轻小鼠肝脏IR损伤及炎症反应($P < 0.05$)。结论:肝脏IR能激活人外周单核细胞中Ninj1的表达。抑制巨噬细胞中Ninj1的表达能抑制小鼠肝脏IR后继发的炎症反应从而减轻肝脏的损伤。

[关键词] 缺血再灌注;神经损伤诱导蛋白1;外周血单核细胞;巨噬细胞;炎症

[中图分类号] R329.26

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2021)02-166-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20210203

Roles of macrophage nerve-injury induced protein1 in ischemia reperfusion-induced liver injury and inflammatory response

ZHOU Shun, WANG Yong, ZHANG Feng, YOU Wei*

Hepatobiliary Center, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** This study aims to evaluate the effect of Nerve injury-induced protein 1 (Ninj1) in myeloid-derived macrophages on liver ischemia/reperfusion (IR)-induced immune inflammatory response. **Methods:** Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were collected from 6 patients who undergone hepatic portal occlusion (hepatic portal occlusion group) during hepatectomy and another 6 patients who had no hepatic portal occlusion (control group). RT-PCR and Western blot were performed to compare the expression of Ninj1 in PBMC of pre-operation and post-operation between the two groups. Murine bone marrow derived macrophages (BMDM) treated with lipopolysaccharide (LPS) were used to evaluate the role of Ninj1 in regulating macrophage inflammatory response *in vitro*. A murine liver partial warm ischemia reperfusion model was established to determine the role of Ninj1 in liver IR injury and hepatic inflammation. **Results:** In the hepatic portal occlusion group, the mRNA and protein levels of Ninj1 in PBMCs of post-operation were significantly higher than that in PBMC of pre-operation ($P < 0.05$), while no obvious change was observed in the control group. Compared with the PBS group, Ninj1 was significantly upregulated in murine BMDM in response to LPS stimulation. Knockdown of Ninj1 in BMDM by siRNA *in vitro* markedly reduced LPS-induced inflammatory cytokine secretion ($P < 0.05$). Specific blockade of Ninj1 in macrophages obviously attenuated liver IR injury and hepatic inflammation *in vivo* ($P < 0.05$). **Conclusion:** Liver IR significantly activated Ninj1 in patients' PBMCs. Inhibition of Ninj1 can mitigate macrophage inflammatory response leading to attenuation of liver IR injury in mice.

[Key words] ischemia reperfusion; nerve injury-induced protein 1; peripheral blood mononuclear cell; macrophage; inflammation

[基金项目] 江苏省“六大人才高峰”高层次人才项目 (WSW-019)

[J Nanjing Med Univ, 2021, 41(02): 166-172]

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: surgeonwu@163.com

肝脏缺血再灌注(ischemia reperfusion, IR)损伤可发生于部分肝切除术后、肝移植以及各种原因导致的休克,是术后器官功能恢复迟缓甚至出现衰竭的重要原因^[1]。肝脏IR损伤发病机制复杂,巨噬细胞介导的无菌性免疫炎症反应在其中扮演了极其重要的角色^[2-3]。大量研究证实了外周来源的巨噬细胞(infiltrating macrophage, iMΦ)在IR后被募集入肝脏介导继发性炎症反应从而加重肝脏IR损伤^[4-5]。

神经损伤诱导蛋白1(nerve injury-induced protein 1, Ninj1)是最初发现于神经损伤时施旺细胞中的一种黏附分子^[6],以后的研究发现其在单核细胞、内皮细胞、上皮细胞以及多种组织中均有不同程度的表达^[7]。最近研究表明,Ninj1能够调控外周单核细胞向炎症区域迁移的能力,参与调控体内多种炎症反应。多发性硬化症患者外周单核细胞中Ninj1的表达上调与其越过血脑屏障迁移至中枢神经有关,并且在实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental allergic encephalomyelitis, EAE)的小鼠模型中,抑制Ninj1的表达能明显减少脑组织中巨噬细胞的浸润,减轻炎症反应,改善组织病理学指标^[8]。在小鼠结肠炎模型中,髓系特异性敲除Ninj1的小鼠肠道炎症较野生型小鼠明显减轻^[9]。

目前,Ninj1在肝脏IR损伤中肝内炎症反应的作用尚未见报道。本研究收集肝部分切除术中行肝门阻断以及未行肝门阻断的患者术前及术后的外周血标本,提取外周单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)并分析Ninj1在两组患者PBMC中的表达情况,进一步建立小鼠肝脏IR模型,采用小干扰RNA(small interfering, siRNA)特异性敲低巨噬细胞中Ninj1的表达,探讨Ninj1在肝脏IR后炎症反应中的作用和机制,为临床防治肝脏IR损伤提供新的思路。

1 材料和方法

1.1 材料

冷冻离心机(Eppendorf公司,德国);ABI Prism7900荧光定量PCR仪(Applied Biosystems公司,美国);SDS-PAGE电泳仪、酶标仪(Bio-Rad公司,美国);显微镜(Leica公司,德国);化学发光检测仪(Thermo Fisher Scientific公司,美国);TRIzol(Invitrogen公司,美国);逆转录试剂盒、SYBR Green Master、定量PCR试剂盒(TaKaRa公司,日本);BCA蛋白浓度测定试剂盒(上海Beyotime公司);胰蛋白酶

(Sigma Aldrich公司,美国);蛋白裂解液RIPA(Cell Signaling公司,美国);脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)(InvivoGen公司,美国);TNF-α ELISA试剂盒、IL-6 ELISA试剂盒、IL-1β ELISA试剂盒(eBioscience公司,美国);Ninj1-siRNA、Non-specific siRNA、siRNA转染试剂盒(Santa Cruz Biotechnology公司,美国);兔抗人Ninj1一抗、羊抗兔二抗(Abcam公司,美国),兔抗人GAPDH一抗(Cells Galing公司,美国)。

雄性C57BL/6小鼠60只,6~8周龄(南京江苏集萃药康生物科技有限公司),饲养于南京医科大学动物实验中心。在建立模型之前,小鼠至少在动物房饲养1周。饲养环境为:温度20~25℃,湿度50%左右,正常昼夜更替,12 h光照/12 h无光照交替进行的方式模拟,自由饮水进食。所有动物实验严格按照动物实验规范执行。

1.2 方法

1.2.1 人PBMC的提取

肝门阻断组患者6例,年龄(61.3±4.6)岁,5例原发性肝癌,1例肝脏炎性组织增生,手术方式均为肝部分切除术,术中行第一肝门阻断;对照组患者6例,年龄(58.9±6.7)岁,均为原发性肝癌,5例行肝部分切除术,1例行腹腔镜下肝部分切除术,术中未行肝门阻断。分别于术前、术后第1、3天采集患者外周血行天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)检测。本研究经医院伦理委员会批准,所有患者并知情同意。

肝部分切除术前1 h和术后6 h采集患者外周血标本。用PBS按照1:2的比例稀释外周血,将稀释好的外周血小心加入到含有5 mL Ficoll淋巴细胞分离液的15 mL离心管中。室温下2 000 r/min离心20 min。离心结束,小心取出离心管,离心管分成3层,上层为血浆,下层为红细胞和粒细胞,中层为淋巴细胞分离液,上层与中层之间有一白色云雾层,即为淋巴细胞和单核细胞。移液枪插入云雾层,小心吸取。PBS洗涤2次,用红细胞裂解液裂解红细胞,收集PBMC。

1.2.2 小鼠分组和IR手术方法

分组:假手术组(Sham组)、IR组、IR+NS(Non-specific)-siRNA组、IR+Ninj1-siRNA组。

IR模型手术方法:水合氯醛腹腔注射麻醉小鼠,将小鼠固定于手术台上,碘伏、酒精消毒2遍。取腹正中切口,剪开皮肤,经腹白线剪开腹膜。小拉钩充分暴露术野,生理盐水浸润棉签,充分显露肝脏左叶、中叶,小心剪开肝胃韧带,游离第一肝

门,用无损伤血管夹夹闭肝左、中叶脉管共干,观察肝脏缺血情况,计时。关腹缝合,将小鼠置于保温毯上,维持麻醉状态和体温。缺血 90 min 后,再次开腹,小心松开无损伤血管夹,恢复肝脏血流。关腹缝合,恢复血流后 6 h 收集下腔静脉血和缺血的肝脏组织标本。假手术(Sham)组基本操作相同,但只游离第一肝门,并不进行夹闭。

1.2.3 小鼠血清转氨酶检测

1 mL 注射器采取小鼠下腔静脉血,转入含有 EDTA 抗凝剂的离心管中,室温下 7 000 r/min 离心 8 min,收集上层血清样品。取 50 μ L 血清采用自动生化检测仪检测血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)和 AST 的水平。剩余血清样本置入-80 $^{\circ}$ C 冰箱保存。

1.2.4 肝脏组织样本病理学检测

HE 染色:剪成小块型的肝脏组织样本放入 4% 多聚甲醛溶液中固定,脱水后石蜡包埋。将石蜡包埋后的组织切成 4 μ m 厚度置于载玻片中,进行苏木精-伊红(HE)染色,中性树胶封片固定,显微镜下观察。肝脏损伤程度采用 Suzuki's 评分标准(0~4 分)进行分析。判断标准依据有无肝细胞坏死、肝窦充血、淤血,小叶中心水肿等进行评判。

免疫组化:小鼠肝脏标本切片后用二甲苯浸泡 2 次,每次 10 min,利用不同浓度梯度乙醇分别浸泡 5 min 进行水化。清洗 3 次后在抗原修复液中进行抗原修复。3% 双氧水-甲醇溶液处理切片 15 min。CD11b 染色按照试剂盒操作说明进行,染色结果中 CD11b⁺巨噬细胞被染成黄褐色,200 倍镜下取 6~8

个视野进行计数。

1.2.5 骨髓来源巨噬细胞(bone marrow derived macrophages, BMDM)的分离培养和 LPS 刺激

将 6~8 周龄的雄性小鼠腹腔注射 120 μ L 的 5% 水合氯醛麻醉后,脱颈处死。置入 70% 乙醇中浸泡 5 min 消毒。无菌剪刀剪开双侧后肢皮肤,将皮肤分离至髌关节,小心离断髌关节,取下双侧后肢。将供体双侧后肢移至超净工作台,去除肌肉组织,仔细剥离出胫骨和股骨。用无菌注射器吸取完全培养基插入骨髓腔,反复冲洗骨髓腔,将骨髓移入离心管,移液枪反复混匀细胞。放入离心机,1 200 r/min 离心 5 min,取下层细胞,PBS 重悬,显微镜下计数。将骨髓细胞用红细胞裂解液处理 3 min,再将骨髓细胞按照 2×10^4 个/皿的密度分入 10 cm 细胞培养皿,加入含有 20% 的 L929 上清配制的完全 DMEM 培养基培养 4 d,用含有 20% 的 L929 上清配制的完全 DMEM 培养基换液,继续培养 3 d。PBS 清洗 2 遍,用 0.25% 的胰酶消化贴壁细胞,重新铺板,37 $^{\circ}$ C 培养箱培养过夜。LPS 组用含有 500 ng/mL LPS 的完全 DMEM 培养基刺激 6 h,对照组(PBS 组)用含同等体积的 PBS 完全 DMEM 培养基继续培养 6 h。PBS 清洗 2 遍,用 0.25% 的胰酶消化贴壁细胞,镜下计数,用于后续实验。

1.2.6 RT-PCR 实验

取适量肝组织或者 BMDM,采用 TRIzol 两步法逆转录合成 cDNA,定量 PCR 分析 Ninj1 和炎症因子的 mRNA 表达量。引物设计见表 1。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences of PCR

目的基因	上游引物	下游引物
Ninj1	5'-TGAGGAGTATGAGCTCAACG-3'	5'-GATGTCCAGCATGCTCTCCGC-3'
TNF- α	5'-CAGGCGGTGCCTATGTCTC-3'	5'-CGATCACCCGAAGTTTCAGTAG-3'
IL-6	5'-TAGTCCTTCCTACCCCAATTTCC-3'	5'-TTGGTCCTTAGCCACTCCTTC-3'
IL-1 β	5'-GCACTACAGGCTCCGAGATGAA-3'	5'-GTCGTTGCTTGTTCTCCTTGT-3'
GAPDH	5'-ATTCCACCCATGGCAAATTC-3'	5'-CGCTCCTGGAAGATGGTGAT-3'

1.2.7 免疫印迹实验

人 PBMC 或者小鼠 BMDM 加入 1 mL 预冷的蛋白裂解液研磨均匀后冰上静置 30 min,12 000 r/min 离心 15 min,取上清液,BCA 法测定蛋白质浓度。SDS-PAGE 电泳、转膜后封闭,一抗 4 $^{\circ}$ C 摇床孵育过夜,电泳缓冲液洗膜 3 次,每次 10 min,二抗孵育 2 h,加入电化学发光试剂显影,检测 Ninj1 蛋白表达水平。

1.2.8 siRNA 干扰

体外:将体外诱导成功的小鼠原代 BMDM 用胰

蛋白酶消化,镜下计数,按 2×10^4 个/孔重新铺至 6 孔板,用无抗生素的 DMEM 培养基培养过夜。按照 siRNA 转染试剂盒说明书进行体外 siRNA 转染。实验分组为:PBS 组、LPS 组、LPS+NS-siRNA 组、LPS+Ninj1-siRNA 组。

体内:巨噬细胞特异性表达甘露糖受体,采用甘露糖偶联聚合物为载体,将 NS-siRNA 和 Ninj1-siRNA 与甘露糖偶联聚合物混合静置 20 min,在建立缺血再灌注模型 4 h 之前按照 2 mg/kg 通过尾静脉

高压注射入小鼠体内,以达到体内特异性干扰巨噬细胞的目的。

1.2.9 酶联免疫吸附实验ELISA

取细胞培养上清,上清中细胞因子IL-6、TNF-α、IL-1β采用美国eBioscience公司的ELISA试剂盒检测,实验步骤遵照说明书进行。

1.3 统计学方法

采用SPSS 19.0软件进行统计学分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析进行比较,组间比较采用LSD-*t*检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝部分切除术患者术前、术后肝功能以及PBMC中Ninj1表达水平的比较

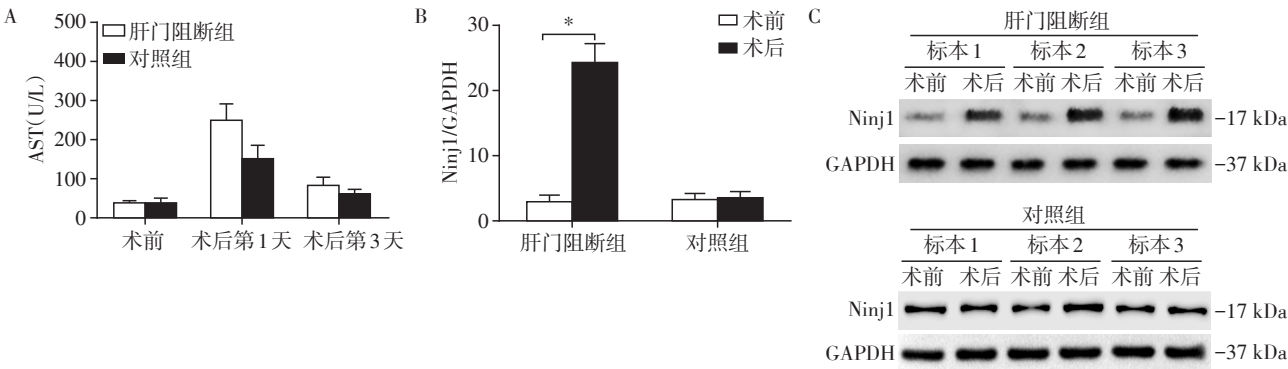
两组患者的肝功能如图1A所示,与对照组相

比,肝门阻断组患者术后第1天AST有增高趋势,但两组患者术前、术后AST的差异无统计学意义。

RT-PCR结果显示,肝门阻断组患者术后PBMC中Ninj1的基因表达水平较术前明显上调($P < 0.05$,图1B)。免疫印迹实验也证实,肝门阻断组患者术后PBMC中Ninj1的蛋白表达水平与术前相比明显增高($P < 0.05$),而对照组患者PBMC中Ninj1的表达无明显变化(图1C),提示外周单核细胞中Ninj1参与肝脏IR损伤的过程。

2.2 体外干扰Ninj1的表达对LPS诱导的小鼠BMDM炎症反应的影响

体外LPS刺激小鼠BMDM后,Ninj1的蛋白表达水平较PBS组明显增高(图2A)。RT-PCR和ELISA的结果均证实LPS刺激能诱导BMDM分泌大量炎症因子(IL-6、TNF-α、IL-1β)(图2B)。而与LPS组相比,Ninj1-siRNA+LPS组的BMDM分泌的炎症因子



A:肝门阻断组和对照组患者术前、术后第1天、术后第3天血清AST变化情况($n=6$);B:RT-PCR检测肝门阻断组和对照组患者术前、术后PBMC中Ninj1的mRNA表达情况($P < 0.05$, $n=6$);C:Western blot检测肝门阻断组和对照组患者术前、术后PBMC中Ninj1的蛋白表达情况。

图1 肝门阻断组与对照组患者术前、术后AST以及PBMC中Ninj1的比较

Figure 1 Comparison of AST and of Ninj1 in PBMC of pre-operation and post-operation between the hepatic portal occlusion group and control group

明显减少($P < 0.05$)。

2.3 体内特异性干扰巨噬细胞Ninj1的表达对肝脏IR损伤的作用

IR后小鼠血清ALT和AST的水平较Sham组明显增高(图3A、B)。HE染色显示,IR组肝脏组织结构的损伤明显(图3C)。与IR组相比,Ninj1-siRNA+IR组HE染色和Suzuki's评分均提示肝脏组织的损伤明显减轻(图3C、D),并且ALT和AST水平显著降低($P < 0.05$,图3A、B)。

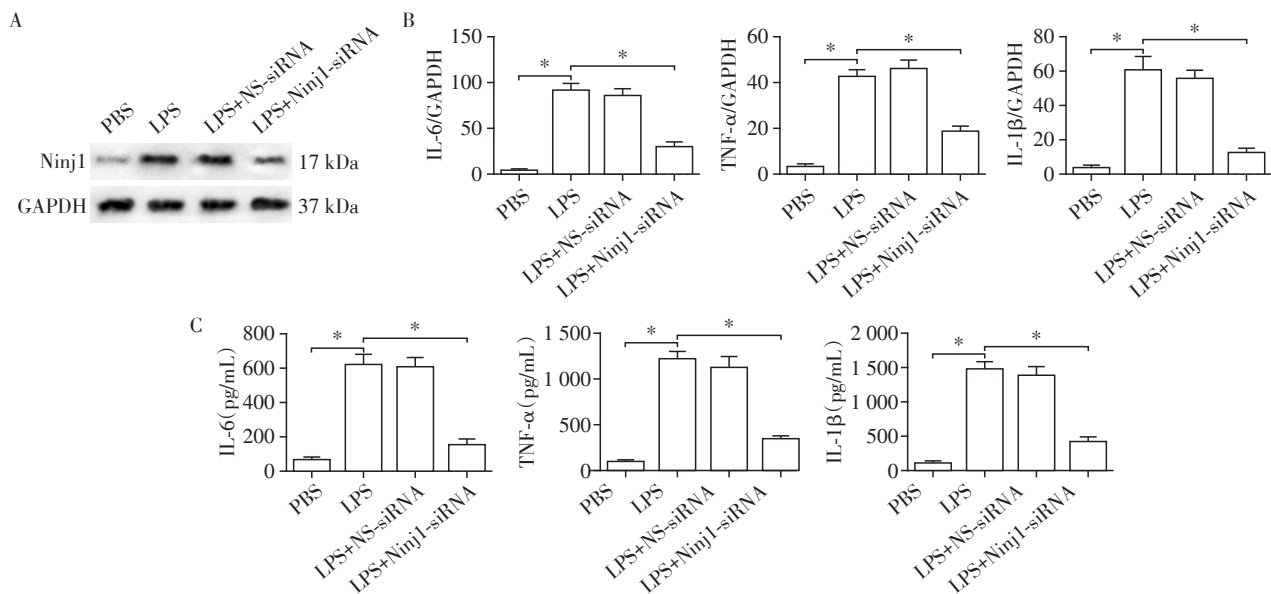
2.4 体内特异性干扰巨噬细胞Ninj1对IR后炎症反应的影响

与Sham组相比,肝脏IR后体内炎症反应明显激活,表现为IR组肝脏内CD11b⁺巨噬细胞的数量明

显增多,肝组织中炎症因子的mRNA水平显著升高,血清中炎症因子的分泌显著增多(图4)。而与IR组相比,Ninj1-siRNA+IR组中上述炎症指标均明显下降($P < 0.05$)。

3 讨论

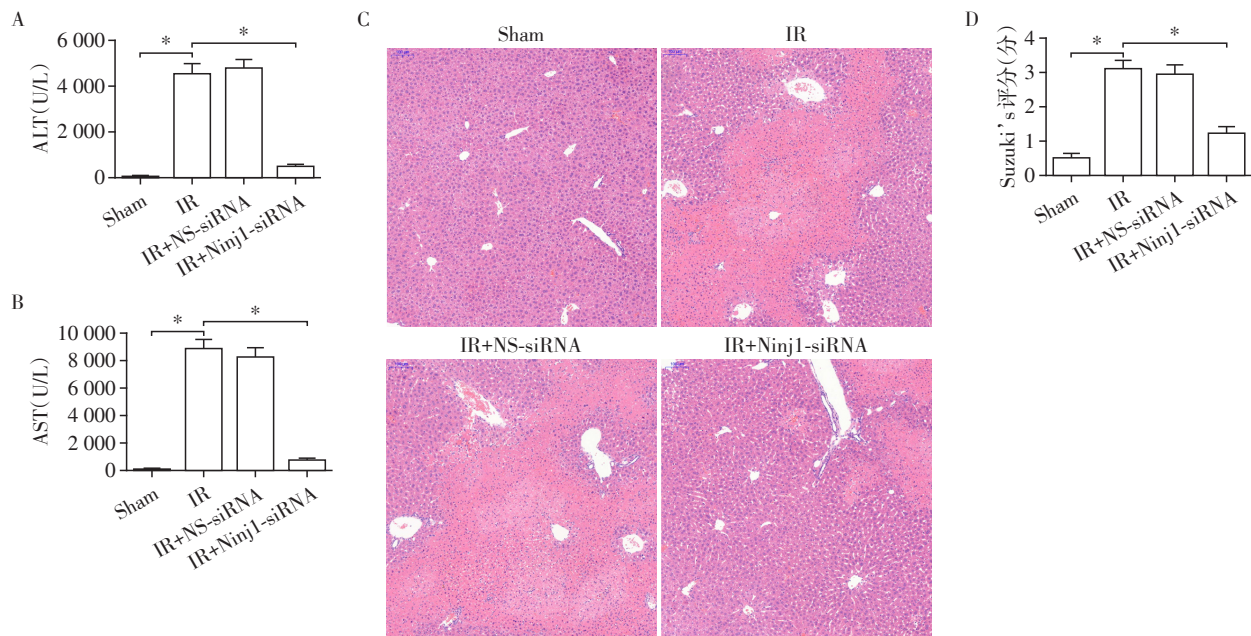
肝脏IR损伤的发生机制非常复杂,巨噬细胞介导的先天免疫在其中发挥了至关重要的作用。在肝脏的缺血期,肝实质细胞由于缺血缺氧直接受损,释放出损伤相关分子模式(damage-associated molecular pattern, DAMP)激活肝枯否细胞(Kupffer cells, KC)启动肝内炎症反应;在肝脏的再灌注期,激活的KC释放出大量的炎症因子和趋化因子,趋



A: Western blot 检测各组小鼠 BMDM 中 Ninj1 的蛋白表达情况; B: RT-PCR 检测各组小鼠 BMDM 中炎症因子的 mRNA 表达情况; C: ELISA 检测各组小鼠 BMDM 细胞上清中炎症因子的含量。两组比较, $P < 0.05 (n=6)$ 。

图2 各组小鼠 BMDM 中 Ninj1 的蛋白表达水平、炎症因子的基因水平和含量比较

Figure 2 Comparison of Ninj1 protein level, mRNA and secretion levels of inflammatory factors in different groups of murine BMDM



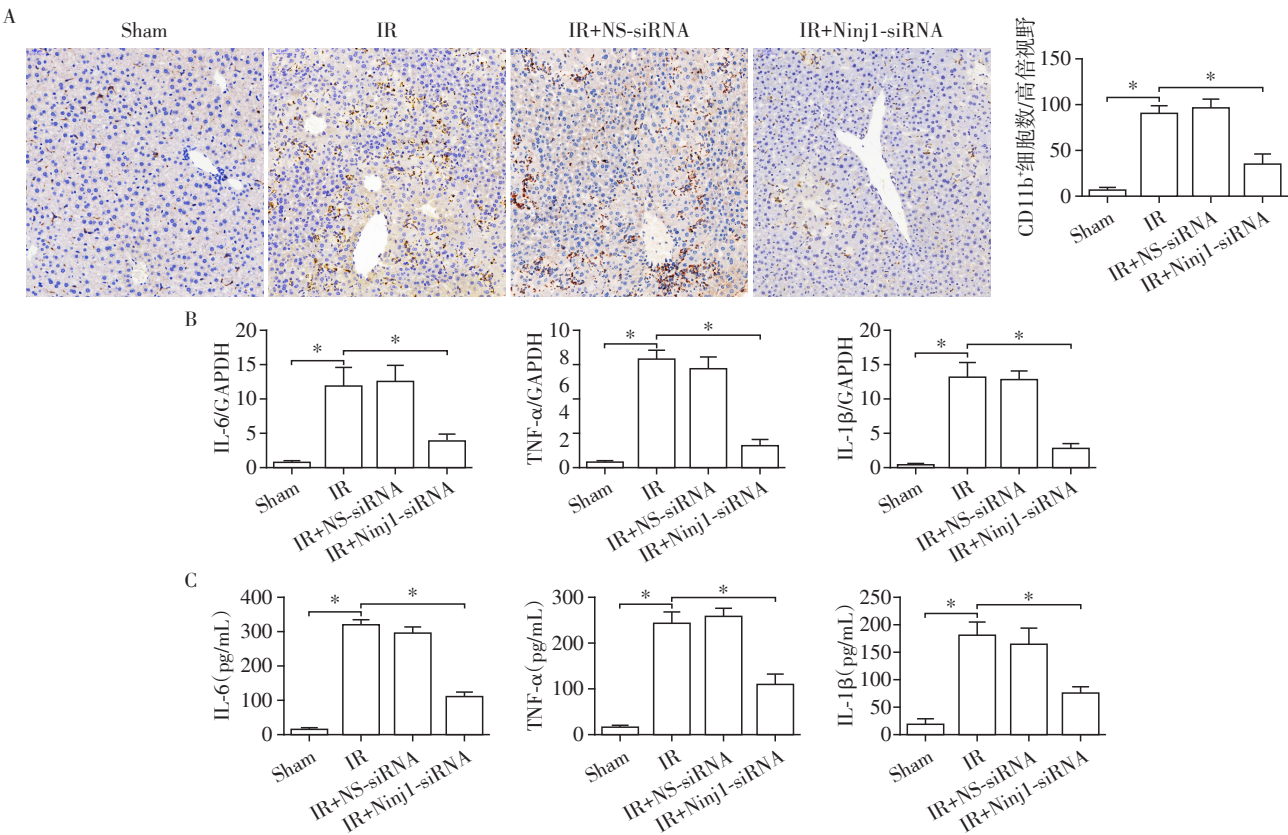
A: 小鼠血清 ALT 情况; B: 小鼠血清 AST 情况; C: 小鼠肝脏组织 HE 染色(×100); D: 小鼠 Suzuki's 评分。两组比较, $P < 0.05 (n=6)$ 。

图3 各组小鼠血清 ALT、AST 及肝脏损伤程度的比较。

Figure 3 Comparison of levels of ALT and AST and degree of liver IR injury among different groups

化外周的单核细胞迁移入肝,进一步加重肝内的炎症损伤^[10-11]。Ninj1 是一种表达于外周单核细胞的黏附分子,在多种炎症疾病的模型中被证实与外周单核细胞的迁移和炎症反应有关^[12-16]。因此,本研究的着重点在于外周来源的巨噬细胞中 Ninj1 在肝脏 IR 损伤中调控炎症反应的作用。

首先,分析了肝部分切除术中肝门阻断组与对照组患者术前及术后肝功能的变化,结果显示术后第 1 天,肝门阻断组患者的 AST 较对照组有增高的趋势,但差异无统计学意义,这可能与病例数较少有关。进一步分析了两组患者术前和术后 PBMC 中 Ninj1 的表达情况,结果与预想的一致,肝门阻断后



A:各组小鼠肝脏组织免疫组化检测CD11b⁺细胞(免疫组化,×200);B:RT-PCR检测各组小鼠肝脏组织中炎症因子的mRNA表达情况;C:ELISA检测各组小鼠血清中炎症因子的含量。两组比较,**P* < 0.05(*n* = 6)。

图4 各组小鼠肝组织中CD11b⁺细胞的数量比较,肝组织中炎症因子的基因水平和血清中炎症因子的含量比较
Figure 4 Comparison of the number of CD11b⁺ cells in the liver tissues,mRNA levels of inflammatory factors in the livers and protein levels of inflammatory factors in serum among the four groups

患者PBMC中的Ninj1表达显著增高,而对照组患者中Ninj1的表达无明显变化,提示肝脏IR能激活外周单核细胞Ninj1的表达,但是其与继发的免疫炎症反应有无关系尚不清楚。

PBMC中含有多种细胞类型,包括淋巴细胞、单核细胞和树突状细胞(dendritic cell, DC)^[17]。Choi等^[7]的研究显示,在正常人PBMC中Ninj1仅少量表达于B淋巴细胞和T淋巴细胞,但是在利用抗CD3抗体和IL-2体外激活后的人PBMC中,CD68⁺巨噬细胞和CD83⁺DC细胞中Ninj1的表达显著增高,而在淋巴细胞中的表达无显著性差异,提示Ninj1在炎症反应中的作用主要通过单核细胞实现。本研究结果也表明,在接受第一肝门阻断的肝部分切除术患者中,肝脏IR同样能够激活PBMC中Ninj1的表达,提示Ninj1可能在肝脏IR后继发的炎症损伤中发挥重要的作用。

以往的研究表明,在体外LPS刺激人微血管内皮细胞和巨噬细胞可明显上调2种细胞中Ninj1的表达,并且抑制Ninj1的表达,进而通过TLR4受体

信号通路减轻败血症小鼠体内的炎症反应和器官损伤^[15]。与上述研究结果相似,本研究在体外利用LPS刺激小鼠BMDM发现Ninj1的表达明显上调,siRNA干扰实验证实Ninj1的表达增加与巨噬细胞的促炎性反应密切相关。Ahn等^[18]研究表明,Ninj1促进BMDM膜突触的形成,增强其迁移能力,从而促进BMDM穿过血管内皮细胞进入炎症组织中。事实上,本研究的体内实验也表明,敲低巨噬细胞中Ninj1的表达能明显减少IR后肝脏组织中CD11b⁺巨噬细胞的数量,这种现象是否与外周巨噬细胞的迁移能力减弱有关有待进一步的研究。

综上所述,肝脏IR能显著激活人PBMC中Ninj1的表达,抑制巨噬细胞中Ninj1的表达能明显减轻小鼠肝脏IR损伤以及肝内的炎症反应,提示Ninj1可能成为防治肝脏IR损伤新的作用靶点。

[参考文献]

[1] THORGERSEN E B, BARRATT-DUE A, HAUGAA H, et al. The role of complement in liver injury, regeneration, and transplantation[J]. Hepatology, 2019, 70(2): 725-736

- [2] LU L, ZHOU H, NI M, et al. Innate immune regulations and liver ischemia - reperfusion injury [J]. *Transplantation*, 2016, 100(12): 2601-2610
- [3] 华东旭, 王明明, 马国华, 等. 肝脏缺血激活 PI3K/p-Akt2 信号通路并促进库普弗细胞向 M1 型巨噬细胞转化[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2019, 39(8): 1177-1182
- [4] HEYMAN F, TACKE F. Immunology in the liver-from homeostasis to disease[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 13(2): 88-110
- [5] BREMPERIS K J, CRISPE I N. Infiltrating monocytes in liver injury and repair[J]. *Clin Transl Immunol*, 2016, 5(11): e113
- [6] ARAKI T, MILBRANDT J. Ninjurin, a novel adhesion molecule, is induced by nerve injury and promotes axonal growth[J]. *Neuron*, 1996, 17(2): 353-361
- [7] CHOI S, WOO J K, JANG Y S, et al. Ninjurin1 plays a crucial role in pulmonary fibrosis by promoting interaction between macrophages and alveolar epithelial cells [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 17542
- [8] IFRGANI I, KEBIR H, TEROUZ S, et al. Role of Ninjurin-1 in the migration of myeloid cells to central nervous system inflammatory lesions[J]. *Ann Neurol*, 2011, 70(5): 751-763
- [9] JUNG H J, KANG J H, PAK S, et al. Detrimental role of nerve injury-induced protein 1 in myeloid cells under intestinal inflammatory conditions [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(2): 614
- [10] SICA A, INVERNIZZI P, MANTOVANI A, et al. Macrophage plasticity and polarization in liver homeostasis and pathology[J]. *Hepatology*, 2014, 59(5): 2034-2042
- [11] 曹守纪, 李国强. 成纤维细胞生长因子 21 减轻小鼠肝脏缺血再灌注损伤[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2018, 38(8): 1049-1053
- [12] ODOARDI F, SIE C, STREYL K, et al. T cells become licensed in the lung to enter the central nervous system[J]. *Nature*, 2012, 488(7413): 675-679
- [13] LEE H J, AHN B J, SHIN M W, et al. Ninjurin1 mediates macrophage-induced programmed cell death during early ocular development[J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(10): 1395-1407
- [14] SHIN M W, BAE S J, WEE H J, et al. Ninjurin1 regulates lipopolysaccharide - induced inflammation through direct binding[J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(2): 821-828
- [15] JENNEWEIN C, SOWA R, FABER A C, et al. Contribution of Ninjurin1 to Toll-like receptor 4 signaling and systemic inflammation[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2015, 53(5): 656-663
- [16] YIN G N, CHOI M J, KIM W J, et al. Inhibition of Ninjurin 1 restores erectile function through dual angiogenic and neurotrophic effects in the diabetic mouse [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(26): E2731-2740
- [17] LEE D A. Cellular therapy: adoptive immunotherapy with expanded natural killer cells[J]. *Immunol Rev*, 2019, 290(1): 85-99
- [18] AHN B J, LE H, SHIN M W, et al. Ninjurin1 enhances the basal motility and transendothelial migration of immune cells by inducing protrusive membrane dynamics [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(32): 21926-21936

[收稿日期] 2020-07-17