

OmpW 在鲍曼不动杆菌中的表达及致病机制

包玉霞¹, 柴媛¹, 魏常梅², 孙鹏³, 王俊瑞⁴, 王继春^{5*}

(1. 内蒙古医科大学第一临床医学院, 内蒙古 呼和浩特 010059;

2. 河北省人民医院 检验科, 河北 石家庄 050051;

3. 内蒙古医科大学微生物与免疫学研究室, 内蒙古 呼和浩特 010059;

4. 内蒙古医科大学附属医院 检验科, 内蒙古 呼和浩特 010050;

5. 内蒙古医科大学附属医院 儿科, 内蒙古 呼和浩特 010050;)

【摘要】目的 分析外膜蛋白 W (OmpW) 在鲍曼不动杆菌临床株中的分布及其可能致病机制。方法 选取碳青霉烯类耐药鲍曼不动杆菌 31 株(耐药组)及敏感株 30 株(敏感组)作为研究对象。采用 Western Blot 检测 OmpW 的表达特征差异; OmpW 重组蛋白与 Hep-2 人喉癌上皮细胞株体外共孵育, 检测其对 Hep-2 细胞增殖能力的影响; 采用 JC-1 染色技术观察 OmpW 对 Hep-2 细胞的促凋亡作用, 并采用 Western Blot 检测细胞凋亡相关通路蛋白表达情况。结果 OmpW 在耐药株中的表达率(100%, 31/31)明显高于敏感株(63.33%, 19/30), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。JC-1 染色法检测中, OmpW 与 Hep-2 细胞作用后, 其凋亡细胞明显增多。40 μg 和 80 μg OmpW 作用于细胞, 其增殖能力明显减弱, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 孵育 12 h 及 24 h 后, 80 μg ompW 组细胞增殖能力明显减弱($P < 0.05$); 在 OmpW 作用下, Hep-2 细胞 Bcl-2 蛋白相对表达量明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 但无明显时间及浓度依赖特征; 而 DR4、Fas Ligand、IGF 1 及 Caspase 8 蛋白表达量无明显变化。结论 耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌临床株高表达 OmpW。OmpW 重组蛋白可显著抑制 Hep-2 细胞增殖并呈浓度依赖性, 同时促进 Hep-2 细胞凋亡, 促凋亡机制可能主要通过抑制 Bcl-2 家族蛋白相关信号通路来实现。

【关键词】鲍曼不动杆菌; 外膜蛋白 W; 耐药性; 致病性; 细胞凋亡

中图分类号: R378

文献标识码: B

文章编号: 2095-512X(2023)03-0300-05

鲍曼不动杆菌(*acinetobacter baumannii*, AB)又称鲍氏不动杆菌, 属于革兰阴性菌, 是严格需氧、非乳糖发酵的致病菌, 生存力、黏附力及侵袭力极强。携带特定碳青霉烯耐药基因的鲍曼不动杆菌多重耐药株在多个国家快速传播^[1]。鲍曼不动杆菌耐药性已成为一个重要的公共卫生问题, 尤其是在医院环境中, 其所致感染是导致住院患者病死率增加的一个重要原因^[2]。2019 年 CHINET 监测网数据显示, 我国三级医院鲍曼不动杆菌分离株对碳青霉烯类药物亚胺培南和美罗培南的耐药率高达 73.6% 和 75.1%, 整体分离率位居非发酵革兰阴性菌首位^[3]。近年不断被报道的黏菌素和替加环素耐药株的出现^[4], 给临床抗感染治疗带来极大挑战, 亟待新型抗鲍曼不动杆菌药物的出现。

外膜蛋白(outer membrane protein, OMP)是镶嵌在细菌肽聚糖外脂质双层中间的特殊蛋白质, 具有

参与细菌代谢、介导细菌耐药等多种生物学活性。鲍曼不动杆菌外膜蛋白被发现可帮助细菌躲避宿主细胞免疫攻击^[5,6]。其中, 外膜蛋白 A(OmpA)被发现与鲍曼不动杆菌致病性密切相关, 可促进鲍曼不动杆菌黏附及侵入宿主细胞、生物膜形成等^[7-9]。鲍曼不动杆菌的另外一种外膜蛋白(OmpW)被发现具有良好的免疫源性^[10], 并与铁代谢调控相关^[11]。但 OmpW 在致病性方面的研究报道甚少, 是否存在与 OmpA 相似或相同的生物学活性有待进一步挖掘。

本研究拟以鲍曼不动杆菌临床分离株为研究对象, 分析 OmpW 在不同耐药表型菌株中的表达差异, 并观察 OmpW 促进 Hep-2 人喉癌上皮细胞凋亡的可能分子机制, 为进一步阐明其在介导多重耐药鲍曼不动杆菌耐药及致病机制中的作用提供新的实验数据。

收稿日期: 2022-10-27; 修回日期: 2023-04-16

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目(2017MS0847)

第一作者: 包玉霞(1996—), 女, 2020 级在读硕士研究生。E-mail: 1635630679@qq.com

*通信作者: 王继春, 女, 硕士, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师。研究方向: 小儿呼吸内科。E-mail: wangjichunemail@126.com

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 从内蒙古医科大学附属医院检验科微生物室分离自临床样本中的鲍曼不动杆菌60株及标准菌株ATCC19606,其中碳青霉烯类耐药鲍曼不动杆菌31株、敏感株30株。人喉癌上皮细胞Hep-2细胞株由本实验室保存。

1.1.2 主要实验试剂与仪器 转膜仪、ECL凝胶成像系统购自Bio-Rad Laboratorie; VITEK-2全自动微生物分析鉴定仪购自法国生物梅里埃公司;紫外分光光度计购自北京滨达英创科技有限公司;酶标仪购自美国热电公司(Multiskan, Mk3);二氧化碳细胞培养箱购自美国Heal-Force公司;荧光显微镜购自德国Leica公司。兔抗Bcl-2(BS-0032R)、鼠抗Caspase 8(BS-33190M)、Fas Ligand(BS-0216R)、DR-4(BS-0591R)、IGF-1(BS-0014R)、beta-actin(BS-0061R)多克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 鲍曼不动杆菌临床株鉴定及OmpW表达检测 常规培养实验室保存临床标本分离鲍曼不动杆菌,常规传代培养,采用VITEK-2全自动微生物鉴定仪及其配套革兰阴性菌鉴定卡(GN卡)进行复核,同时采用16S-rRNA测序方法进行菌种确认。鉴定无误后,菌株在血琼脂平板传代培养18~24 h,收集菌体,使用PBS重悬,1500 g离心3 min,弃上清液。加适量上样缓冲液SDS-PAGE裂解蛋白,煮沸5~10 min。后续Western Blot试验按照常规流程进行,其中电泳用分离胶和浓缩胶浓度分别为12%和5%。OmpW多克隆抗体制备流程依据课题组前期实验步骤进行。

1.2.2 OmpW重组蛋白对Hep-2细胞增殖活性的影响 采用MTT法检测细胞增殖活性,实验基本流程如下:收集对数生长期的人喉癌上皮细胞(Hep-2细胞),以 2×10^3 个/孔的密度接种于96孔细胞培养板中,培养24 h后,将不同浓度的OmpW溶液(20 μ g、40 μ g、80 μ g)加入96孔板中,每组设有3个复孔。孵育6 h、12 h、24 h后,加入5 mg/mL MTT溶液20 μ L,37 $^{\circ}$ C孵育4 h后,检测在490 nm波长下吸光度(optical density, OD)。

1.2.3 细胞凋亡实验 本实验采用JC-1线粒体膜荧光探针技术进行细胞凋亡活性检测。JC-1为线粒体膜电位亲脂性的理想荧光探针,能穿透细胞膜,随膜电位变化在膜两侧保持动态平衡。在线粒

体膜电位较高时,JC-1聚集在线粒体基质并形成聚合物,产生红色荧光;相反,膜电位较低时,此时的JC-1为单体,不会聚集形成聚合物,而产生绿色荧光。细胞凋亡早期会出现膜电位降低的信号,故产生绿色荧光^[1]。JC-1检测Hep-2细胞线粒体膜电位,实验基本步骤如下:

(1)收集、悬浮细胞 将Hep-2细胞铺至96孔板,37 $^{\circ}$ C过夜。加入20 μ g OmpW,共同孵育24 h。用0.5 mL预热的PBS将Hep-2细胞进行重悬,并调节细胞密度约为 1×10^6 个细胞/mL。

(2)诱导Hep-2细胞 设定一组未诱导的细胞作为空白对照组。在阳性对照组中,加入1 μ L 25 mM CCCP(组份B),37 $^{\circ}$ C孵育10 min。离心并弃上清液,收集细胞,取预热的PBS液0.5 mL重悬Hep-2细胞。每0.5 mL悬液中各加入5 μ L JC-1探针(组份A),并在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂条件下孵育15~30 min。离心收集细胞,弃上清液,用0.5 mL预热的PBS重悬细胞,并重复洗涤一次。

(3)将重悬的悬液滴于载玻片上,盖上盖玻片。用488 nm滤光片在荧光显微镜下同时观察绿色和红色荧光信号。

1.2.4 细胞凋亡相关蛋白检测 分组同“1.2.3”相同。将各组细胞置于冰面,并加入蛋白裂解液,放置20 min,经过离心后得到上清液,以二辛可酸(bicinchoninic acid, BCA)法测定蛋白浓度,通过带电离子的移动,形成电泳现象,并转移到固相载体上,加入脱脂奶粉进行封闭,结束后加入兔抗Bcl-2、鼠抗Caspase 8、Fas Ligand、DR-4、IGF-1、beta-actin单抗稀释液(稀释比例均为1:2000),4 $^{\circ}$ C条件下过夜,PBS液漂洗3次,加入稀释后比例为1:1000的兔抗Bcl-2、鼠抗Caspase 8、Fas Ligand、DR-4、IGF-1、Beta-actin二抗共同孵育2 h,再次漂洗3次,滴加ECL化学发光底物,置于凝胶成像系统显影。以Image J软件分析各个蛋白对应的灰度值,并计算蛋白相对表达量,其计算方法为目的蛋白灰度值/内参蛋白灰度值。

2 结果

2.1 临床株OmpW表达情况

2.1.1 耐药组和敏感组Western Blot检测结果 Western Blot结果显示,耐药组OmpW表达阳性率为100%,敏感组OmpW表达阳性率为63.33%,差异有统计学意义(见图1)。

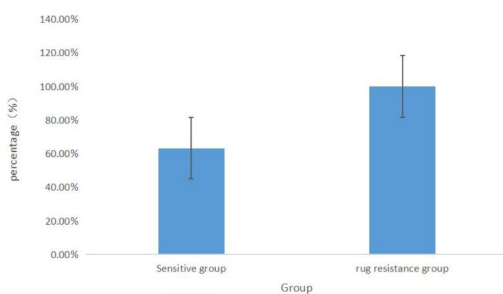


图1 OmpW蛋白表达阳性率

2.2 OmpW重组蛋白对Hep-2细胞增殖能力的影响

与对照组相比,20 μg OmpW组作用6 h后,细胞增殖能力差异无统计学意义($P > 0.05$),而40 μg和80 μg OmpW组细胞增殖能力明显减弱,差异有统计学意义($P < 0.05$);OmpW作用12 h后,20 μg和40 μg OmpW组细胞增殖能力无明显变化($P > 0.05$),而80 μg OmpW组细胞增殖能力明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);OmpW蛋白作用24 h后,20 μg和40 μg OmpW组细胞增殖能力无明显变化($P > 0.05$),而80 μg OmpW组细胞增殖能力明显减弱,差异有统计学意义($P < 0.05$)。采用20 μg OmpW,处理6 h、12 h、24 h后,细胞体外增殖能力先上升后下降,不同时间点差异有统计学意义;采用40 μg和80 μg OmpW蛋白处理6 h、12 h、24 h后,12 h、24 h细胞增殖水平高于6 h,且12 h时增殖水平达到峰值,不同时间点细胞体外增殖能力差异有统计学意义($P < 0.05$)(见表1)。

表1 不同浓度OmpW蛋白作用下Hep-2细胞体外增殖能力变化

OmpW浓度 (μg/mL)	6 h	12 h	24 h
0	0.67 ± 0.17	1.29 ± 0.08 [○]	0.98 ± 0.32 [□]
20	0.56 ± 0.16	1.28 ± 0.06 [○]	0.88 ± 0.45
40	0.49 ± 0.14 [*]	1.31 ± 0.11 [○]	0.80 ± 0.33 [□]
80	0.34 ± 0.03 ^{**}	0.57 ± 0.23 ^{**▲○}	0.43 ± 0.02 ^{**▲□}

注*:与空白组相比 $P < 0.05$;*:与20 μg浓度组相比 $P < 0.05$;▲:与40 μg浓度组相比 $P < 0.05$;○:与相同浓度6 h相比 $P < 0.05$;□:与相同浓度12 h相比 $P < 0.05$ 。

2.3 细胞凋亡实验

细胞凋亡早期JC-1染色,线粒体膜电位表现为低信号,故产生绿色荧光。图2-B的绿色荧光比对应的图2-A明显增多,表示OmpW与Hep-2细胞作用后,诱导凋亡的细胞大量增多。

2.4 OmpW重组蛋白对Hep-2细胞凋亡相关信号通路分子表达水平的影响

Western Blot结果显示兔抗Bcl-2多克隆抗体与

靶蛋白特异性结合(见图3);与空白对照组比较,不同浓度重组蛋白OmpW作用下,Hep-2细胞株Bcl-2蛋白表达量明显减少(见图4),差异具有统计学意义($P < 0.05$),但无明显时间及浓度依赖特性。同期检测的其他4个凋亡相关蛋白(DR4、Fas Ligand、Anti-IGF 1及Caspase 8)的表达水平未见明显变化。

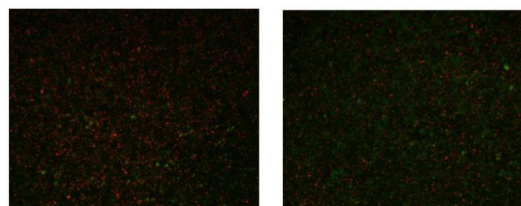


图2 OmpW蛋白作用Hep-2细胞前后(×100)

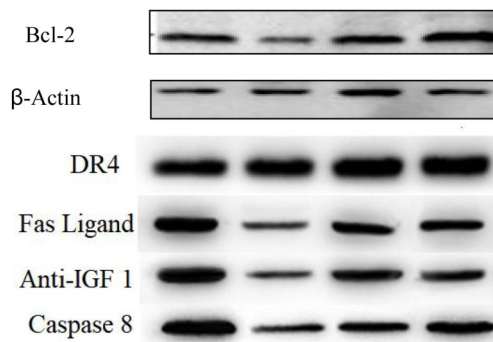


图3 Bcl-2蛋白Western Blot检测结果
注:从左到右,依次为20 μg OmpW重组蛋白、40 μg OmpW重组蛋白、80 μg OmpW重组蛋白和空白对照。

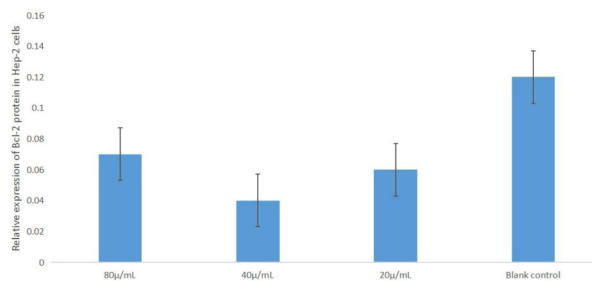


图4 不同浓度OmpW重组蛋白作用下Hep-2细胞Bcl-2蛋白相对表达量变化

注:*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$ 。

3 讨论

多重耐药鲍曼不动杆菌因其严重的耐药性和快速传播的特征,被世界卫生组织列为公共卫生带来极大威胁,可引起肺炎、血液感染、尿路感染、伤口感染和脑膜炎等多种感染^[12,13]。鲍曼不动杆菌

耐药机制复杂,主要包括产酶及非产酶机制^[14]。有研究发现^[15],外膜蛋白与鲍曼不动杆菌耐药存在一定的关系。本项目组前期成功构建了鲍曼不动杆菌外膜蛋白家族成员之一 OmpW 的重组蛋白,通过进一步对其在临床株中的分布及生物学活性进行探究,发现 OmpW 广泛分布在鲍曼不动杆菌临床分离株中,特别是在碳青霉烯耐药株中的表达率达到 100%,而敏感株表达率仅为 63.33%。OmpW 是一种高度免疫原性的蛋白质,在鲍曼不动杆菌中高度保守。在脓毒症小鼠模型中,针对 OmpW 的主动和被动免疫,其都能有效地保护小鼠免受鲍曼不动杆菌感染,主要表现为存活率显著提高、器官内细菌负荷减少、血清中炎症细胞因子和趋化因子的积累受到抑制^[16]。在我们的研究中,也发现高浓度 OmpW 重组蛋白会显著抑制 Hep-2 细胞增殖,并可能促进 Hep-2 细胞发生凋亡。

细胞凋亡^[17]不同于细胞坏死,指的是在某些因素作用下,自主发生的由基因控制的有序性死亡,可维持内环境稳定;与细胞坏死不同,细胞凋亡是主动过程,通过一系列基因的激活、表达以及调控等发挥作用。Bcl-2 蛋白家族作为重要的凋亡相关因子,主要有 Bcl-2、Bax、Mcl-1、NR-B、A1、Bcl-w、Bak 等,其中既有抗凋亡蛋白,也有促凋亡蛋白。Bcl-2 家族蛋白在表达、定位和结合方面是内在凋亡的关键调节因子^[17]。除 Bcl-2 蛋白外,有实验证实,抗菌肽 LL37 可诱导人 Jurkat T 白血病细胞凋亡,其主要通过激活线粒体凋亡途径。该实验结果显示,LL37 通过激活抑癌基因 p53 的表达,进而抑制胃癌 AGS 细胞增殖并诱导细胞凋亡。p53 基因可直接转录激活 PUMA 的表达,随后 PUMA 与 Bcl-2 / Bax 复合体相互作用诱导线粒体膜间隙细胞色素 c 的释放,激活 caspase 级联反应,最终由 Cleaved caspase 执行凋亡,该实验也说明了 p53 基因同细胞凋亡也有关系^[18]。本次研究中,我们通过 JC-1 染色法检测细胞膜电位变化来明确鲍曼不动杆菌 OmpW 对 Hep-2 细胞凋亡产生的影响。结果显示在细胞凋亡早期会出现膜电位降低的信号并产生绿色荧光,表明 OmpW 能够诱导细胞相关凋亡蛋白发生变化。通过 Western-Blot 检测发现 Bcl-2 蛋白表达减少。据此推测,OmpW 可能主要通过抑制 Bcl-2 蛋白的表达,促进人 Hep-2 细胞的凋亡,但是否有其他分子机制参与,有待进一步深入研究。

总之,本研究发现 OmpW 在碳青霉烯耐药鲍曼不动杆菌中呈高表达状态,故考虑可能与其耐药性

相关;MTT 法检测发现 OmpW 重组蛋白可显著抑制 Hep-2 细胞增殖并呈浓度依赖性;在细胞凋亡早期 JC-1 染色法检测中,OmpW 与 Hep-2 细胞作用后,其凋亡细胞明显增多,考虑其有促进 Hep-2 细胞凋亡作用,其凋亡作用可抑制 Bcl-2 蛋白的相关表达。以上结果提示 OmpW 可能参与碳青霉烯耐药鲍曼不动杆菌耐药性调控,而对于致病性的调控,研究显示其作用并不明显。

参考文献

- [1]Tafaj S, Kostyanev T, Xavier BB, et al. Clonal transmission of multidrug-resistant acinetobacter baumannii harbouring bla-OXA-24-like and blaOXA-23-like genes in a tertiary hospital in Albania [J]. J Glob Antimicrob Resist, 2020, 23: 79-81
- [2]Karakonstantis S, Gikas A, Astrinaki E, et al. Excess mortality due to pandrug-resistant acinetobacter baumannii infections in hospitalized patients[J]. J Hosp Infect, 2020, 106(3): 447-453
- [3]胡付品,郭燕,朱德妹,等. 2019 年 CHINET 三级医院细菌耐药监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2020, 20(3): 233-243
- [4]Pormohammad A, Mehdinejadi K, Gholizadeh P, et al. Global prevalence of colistin resistance in clinical isolates of acinetobacter baumannii: a systematic review and meta-analysis [J]. Microb Pathog, 2020, 139: e103887
- [5]Doi Y, Murray GL, Peleg AY. Acinetobacter baumannii: evolution of antimicrobial resistance-treatment options[J]. Semin Respir Crit Care Med, 2015, 36(1): 85-98
- [6]Gaddy JA, Tomaras AP, Actis LA. The Acinetobacter baumannii 19606 OmpA protein plays a role in biofilm formation on abiotic surfaces and in the interaction of this pathogen with eukaryotic cells[J]. Infect Immun, 2009, 77(8): 3150-3160
- [7]Choi CH, Lee JS, Lee YC, et al. Acinetobacter baumannii invades epithelial cells and outer membrane protein a mediates interactions with epithelial cells[J]. BMC Microbiol, 2008, 10(8): 216
- [8]Park JS, Lee WC, Choi S, et al. Overexpression, purification, crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of the periplasmic domain of outer membrane protein a from acinetobacter baumannii[J]. Acta Crystallogr Sect Struct Biol Cryst Commun., 2011, 67(12): 1531-1533
- [9]Jin JS, Kwon SO, Moon DC, et al. Acinetobacter baumannii secretes cytotoxic outer membrane protein a via outer membrane vesicles[J]. PLoS One, 2011, 6(2): e17027
- [10]Huang W, Wang S, Yao Y, et al. OmpW is a potential target for eliciting protective immunity against acinetobacter baumannii infections[J]. Vaccine, 2015, 33(36): 4479-4485
- [11]Catel FM, Marti S, Guillon L, et al. The outer membrane porin OmpW of acinetobacter baumannii is involved in iron uptake and colistin binding[J]. FEBS Lett, 2016, 590(2): 224-231

(下转第 319 页)

- [19]National Institute of Health and Care Excellence . Electrical stimulation to improve muscle strength in chronic respiratory conditions, chronic heart failure and chronic kidney disease. Interventional procedures guidance [IPG677]. 2020
- [20]McCaughey EJ, Jonkman AH, Boswell CL, et al. Abdominal functional electrical stimulation to assist ventilator weaning in critical illness: a double- blinded, randomised, sham- controlled pilot study[J].Critical Care (London, England) , 2019,23:261
- [21]吴月红,梁红霞,席芳,等.体外膈肌起搏预防无创机械通气患者膈肌功能障碍的效果研究[J].中华护理杂志,2022,57(9):1029-1034
- [22]Hsin YF, Chen SH, Yu TJ, et al. Effects of transcutaneous electrical diaphragmatic stimulation on respiratory function in patients with prolonged mechanical ventilation[J]. Ann Thorac Med, 2022,17(1):14-20
- [23]曹洪丽,郑海彬,刘自金,等.体外膈肌起搏器治疗对慢性阻塞性肺疾病稳定期患者平衡及步态的疗效观察[J].中国康复医学杂志,2020,35(5):581-584
- [24]Zhao Z, Sun W, Zhao X, et al. Stimulation of both inspiratory and expiratory muscles versus diaphragm- only paradigm for rehabilitation in severe chronic obstructive pulmonary disease patients: a randomized controlled pilot study[J]. Eur J Phys Rehabil Med, 2022,58(3):487-496
- [25]Keogh C, Saavedra F, Dubo S, et al. Non- invasive phrenic nerve stimulation to avoid ventilator- induced diaphragm dysfunction in critical care[J]. Artif Organs, 2022,46(10):1988-1997

(上接第303页)

- [12]赵建平,张叶毛,武芳,等.血流感染的临床分布和多重耐药菌的耐药性及分离趋势分析[J].内蒙古医科大学学报,2022,44(3):280-283
- [13]张军力,王俊瑞,魏常梅,等.鲍曼不动杆菌外膜蛋白W多克隆抗体的制备及鉴定[J].内蒙古医科大学学报,2015,37(4):309-313+317
- [14]Wong D, Nielsen TB, Bonomo RA, et al. Clinical and patho- physiological overview of acinetobacter infections: a century of challenges[J]. Clin Microbiol Rev, 2017,30(1):409-447
- [15]Garnacho J, Sole VJ, Sa BM, et al. Clinical impact of pneu- monia caused by acinetobacter baumannii in intubated patients: a matched cohort study[J]. Crit Care Med, 2003,31(10):2478-2482
- [16]马真,蔡绍曦,佟万成,等.鲍曼不动杆菌外膜蛋白CarO的原核表达、纯化和多克隆抗体的制备[J].南方医科大学学报,2009,29(6):1265-1267
- [17]Zeng X, Gu H, Peng L, et al. Transcriptome profiling of lung innate immune responses potentially associated with the patho- genesis of acinetobacter baumannii acute lethal pneumonia[J]. Front Immunol, 2020,11:708
- [18]欧宏宇,朱海宏,朱文君,等.抗菌肽LL-37通过激活p53信号通路诱导胃癌AGS细胞凋亡[J].安徽医科大学学报,2021,56(4):571-576

(上接第313页)

- [17]Siasos G, Tousoulis D, Siasou Z, et al. Shear stress, protein kinases and atherosclerosis[J]. Curr Med Chem,2007,14(14):1567-1572
- [18]Ren J, Lin J, Yu L, et al. Lysophosphatidylcholine: potential target for the treatment of chronic pain[J]. Int J Mol Sci, 2022,23(15):8274
- [19]Corrêa R, Silva LFF, Ribeiro DJS, et al. Lysophosphatidyl- choline induces NLRP3 inflammasome- mediated foam cell formation and pyroptosis in human monocytes and endothelial cells[J]. Front Immunol,2019,10:2927
- [20]Ismaeel S, Qadri A. ATP release drives inflammation with lysophosphatidylcholine[J]. Immunohorizons,2021,5(4):219-233
- [21]Taniguchi R, Inoue A, Sayama M, et al. Structural insights into ligand recognition by the lysophosphatidic acid receptor LPA6[J]. Nature,2017,548(7667):356-360
- [22]Magkrioti C, Galaris A, Kanellopoulou P, et al. Autotaxin and chronic inflammatory diseases[J]. J Autoimmun, 2019,104:30550-30555
- [23]Karshovska E, Mohibullah R, Zhu M, et al. Endothelial ENPP2 (ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 2) increases atherosclerosis in female and male mice[J]. Arterio- scler Thromb Vasc Biol,2022,42(8):1023-1036
- [24]Bao L, Qi J, Wang YW, et al. The atherogenic actions of LPC on vascular smooth muscle cells and its LPA receptor mediated mechanism[J]. Biochem Biophys Res Commun,2018,503(3):1911-1918
- [25]Knuplez E Marsche G. An updated review of pro- and anti- inflammatory properties of plasma lysophosphatidylcholines in the vascular system[J]. Int J Mol Sci,2020,21(12):4501