Влияние хемокинов на формирование атеросклеротического поражения за счёт регулирования функции лейкоцитов.

И.В. Сергиенко, Д.Н. Нозадзе, Е.И. Казначеева
ФГБУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗиСР РФ

Абстракт

В работе описываются процессы, регулирующие функцию лейкоцитов в процессе формирования атеросклеротической бляшки. в частности, показана роль основных хемокинов – MCP-1, фракталкина и интерлейкина 8, а также фактора, ингибирующего миграцию макрофагов. Описывается роль антиатерогенного хемокина – фактора, способствующего выходу стромальных клеток. Отражены механизмы, которые включаются на ранних и развёрнутых стадиях атеросклеротического процесса. Большое внимание уделяется регуляции функции различных подклассов моноцитов, которые по-разному участвуют в формировании атеросклеротической бляшки. Показано, что определённый вклад в регуляцию функции моноцитов вносят Т-лимфоциты. Рассматривается возможность соединения разных хемокинов в гетеромерные комплексы, что приводит к изменению их свойств.

Ключевые слова: *MCP-1, фракталкин, интерлейкин 8, фактор, ингибирующий миграцию макрофагов, гетеромерные комплексы хемокинов.*

The influence of chemokines on the formation of atherosclerotic lesions by regulating the function of leukocytes.

I.V. Sergienko, D.N. Nozadze, E.I. Kaznacheeva
Russian Cardiology Research Complex

Abstract

This paper describes the processes that regulate the function of leukocytes in the formation of atherosclerotic plaque. In particular, it illustrates the role of MCP-1, interleukin 8, fraktalkin, macrophage migration inhibitory factor, arterial colony stimulating factor-1. The authors describe the mechanisms that are included in the early and advanced stages of atherosclerotic process and different role of the various subclasses of monocytes, which are known to be differently involved in the formation of atherosclerotic plaque.

Keywords: *MCP-1, fraktalkin, interleukin 8, macrophage migration inhibitory factor, heteromeric complexes of chemokines.*

Несмотря на достигнутые успехи в профилактике, диагностике и лечении атеросклероза, осложнения, связанные с этим заболеваниям лидируют среди всех причин смерти. Поэтому, особое внимание уделяют поискам новых подходов к его лечению. в частности, возможность оказывать воздействие на процессы, регулирующие участие лейкоцитарного звена в формировании атеросклеротического поражения. считают наиболее перспективным.

Известно, что воспалительный ответ в начале и при развитии атеросклеротического процесса происходит с вовлечением подклассов иммунных и прогениторных клеток. Регуляция данного процесса в основном осуществляется молекулами адгезии и хемоаттрактантами. в настоящее время широко обсуждается роль моноцитов в развитии атеросклеротической бляшки. Взаимодействие между хемокинами и моноцитами происходит за счёт рецепторов, расположенных на поверхности моноцитов. Для изучения роли этих рецепторов в основном используются экспериментальные модели на мышах, у которых индуцируют атеросклероз [1]. Участие моноцитов в зоне повреждения эндотелия включает мобилизацию их из костного мозга, адгезию, хемотаксис, трансформацию, изменение соотношения между различными подклассами моноцитов и многое другое. Хемотаксис лейкоцитов и их внедрение в сосудистую стенку происходит с вовлечением последовательных и частично перекрывающихся сигналов. Медиаторами данных сигналов считают селектины, которые начинают действовать одновременно с хемотаксисом лейкоцитов под действием интегринов и их трансэндотелиальной миграции по хемотаксическому градиенту. Этот процесс, регулируемый хемокинами и их рецепторами, осуществляется по нескольким путям, что демонстрирует разнообразие влияния хемокинов на процесс форми-

рования атеросклеротической бляшки. Хемокины могут влиять на способность интегринов обеспечивать клеточную адгезию, способствуют формированию хемотаксического градиента, что приводит к проникновению клеток в сосудистую стенку. Кроме того, хемокины могут оказывать антиапоптотическое влияние на лейкоциты, что было показано на примере фракталкина [2].

Известен ещё один механизм формирования атеросклеротической бляшки – контакт крови непосредственно с интимой сосуда при выраженном повреждении эндотелия. в результате запускаются репаративные процессы, в том числе – пролиферация гладкомышечных клеток, что стимулирует рост атеросклеротической бляшки [3-5]. в экспериментальной работе, описывающей процессы в зоне артифициального повреждения эндотелия сосудов у кроликов, находящихся на гиперхолестериновой диете, показано, что инфильтрация моноцитами области повреждения предшествует аккумуляции гладкомышечных клеток. Вероятно, хемотаксис моноцитов сам по себе является триггером развития устойчивого хронического воспаления, возможно обусловленного высвобождением цитокинов и факторов роста [6].

Разные воспалительные подклассы лейкоцитов задействуются на различных стадиях атеросклеротического поражения и принимают участие, как в начальном, так и в адаптивном иммунном ответе. Этот процесс осуществляется за счет экспрессированных на поверхности макрофагов распознающих рецепторов и рецепторов скавенджеров, а также за счет непосредственной секреции Т-лимфоцитами антител против модифицированных липидов [7, 8]. Помимо моноцитов/макрофагов на локальное повреждение эндотелия могут влиять различные подклассы сосудистых прогениторных клеток. Например, эндотелиальные клетки могут влиять на состав атеросклеротической бляшки, её васкуляризацию и стабильность [8].

Хотя изучение роли хемокинов в процессе атеросклеротического поражения сосудистой стенки началось более 10 лет назад, многие моменты остаются не ясными. Наибольшей интерес представляет изучение роли хемокинов в хемотаксисе определенных клеточных популяций. в таблице 1 представлена роль отдельных хемокинов в формировании атеросклеротической бляшки [9].

Первые данные об участии хемокинов в развитии атеросклероза были получены в экспериментальных работах на 2-х моделях мышей. у мышей, нокаутированных по гену, кодирующему выработку CCL2 (моноцитарный хемотаксический фактор-1, MCP-1) или его рецептора CCR2, не удавалось вызвать атеросклероз путём блокирования рецептора к ЛНП ($Ldlr^{-}/^{-}$) или к аполипопротеину Е ($apoE^{-}/^{-}$), при этом отмечалось значительное снижение инфильтрации стенки сосудов макрофагами [10-12]. Мыши $Ldlr^{-}/^{-}$ и мыши $apoE^{-}/^{-}$ – это искусственно выведенная популяция мышей, у которых за счёт внесённых генетических изменений спонтанно развивается атеросклероз, то есть, это искусственно созданные модели для изучения атеросклероза.

Центральная роль CCL2/CCR2 в хемотаксисе моноцитов и инфильтрации ими стенки сосудов была доказана в дальнейших работах, продемонстрировавших, что в условиях гиперлипидемии усиливается синтез CCL2 и увеличивается экспрессия CCR2 на моноцитах [13, 14].

В экспериментальной работе показано, что после повреждения внутренней поверхности сонной артерий катетером у $apoE^{-}/^{-}$ мышей, находящихся на гиперхолестериновой диете, увеличивается концентрация MCP-1. При этом MCP-1 иммобилизуется на поверхности тромбоцитов, что введет к их адгезии в просвете сосуда [15], возможно за счет встраивания протеогликанов [16]. Интересно, что хемотаксис моноцитов на ранней стадии атеросклеротического повреждения сонной артерий у $apoE^{-}/^{-}$ мышей регулируется не MCP-1, а фактором роста кератиноцитов (KC/CXCL1) и CXCR2. Это доказывает, что MCP-1 регулирует включение моноцитов в сосудистую стенку, начиная с фазы эндотелиального повреждения атеросклеротического процесса [17]. у $apoE^{-}/^{-}$ мышей блокирование MCP-1 за счет введения антител к нему приводит к уменьшению гиперплазии неоинтимы и макрофагальной инфильтрации стенки сонной артерий после повреждения [15]. Однако, не совсем понятны механизмы, которые запускают хемотаксис моноцитов под влиянием MCP-1 при нормальном уровне холестерина ЛНП [18-21].

Условно процесс проникновения моноцитов в сосудистую стенку можно разделить на 3 этапа: адгезия моноцитов в области повреждения, проникновение в стенку и последующая трансформация. Считается, что в процессе проникновения и дальнейшей трансформации моноцитов в сосудистую стенку основную роль играют 3 хемокина – MCP-1, IL-8 и фракталкин. Проникновение моноцита осуществляется главным образом за счёт связывание MCP-1 и фракталкина с соответствующими рецепторами на поверхности моноцита. Моноцит становится макрофагом. Затем под воздействием IL-8 и фракталкина макрофаг активируется. Последующее поглощение им холестерина приводит к образованию пенистой клетки, это является одним из основных механизмов формирования атеросклеротической бляшки. Схематично этот процесс изображён на рисунке.1.

Таким образом, на начальном этапе атеросклеротического повреждения хемотаксис моноцитов в атеросклеротической бляшке происходит преимущественно за счёт MCP-1. Кроме того в формировании атеросклеротического поражения принимают участие и другие хемокины – CCL2 (или IL-8) и CCL5, которые относятся к семейству CC хемокинов, таких как CCL1 (I-309), CCL3 (макро-

Таблица 1. Участие хемокинов и их рецепторов в атеросклеротическом процессе.

Хемокины	Рецепторы	Экспериментальные модели (мыши)	Влияние его ингибирования на размер повреждения
CCL2	CCR2	Ccl2^{-}/$^{-}$ Ldlr $^{-}$/$^{-}$ Ccr2^{-}/$^{-}$ BM > apoE3- Лейден Ccr2^{-}/$^{-}$ apoE^{-}/$^{-}$	↓ Атеросклероз ↓ Гиперплазия неоинтимы
CCL5	CCR1	Ccr1^{-}/$^{-}$ apoE^{-}/$^{-}$	↑ Атеросклероз
	CCR3 CCR5	Ccr1^{-}/$^{-}$ BM > Ldlr $^{-}$/$^{-}$ Ccr5^{-}/$^{-}$ apoE^{-}/$^{-}$ Ccr5^{-}/$^{-}$ BM > Ldlr^{-}/$^{-}$	↔ Гиперплазия неоинтимы ↑ Атеросклероз ↔ Атеросклероз ↓ Атеросклероз ↓ Гиперплазия неоинтимы ↔ Атеросклероз
CXCL1 CXCL8	CXCR2	Ccr2^{-}/$^{-}$ BM > Ldlr^{-}/$^{-}$ Anti-CXCL1 Ab в apoE^{-}/$^{-}$	↓ Атеросклероз ↑ Гиперплазия неоинтимы
MIF	CXCR2 CXCR5	Anti-MIF Ab в apoE^{-}/$^{-}$ Anti-MIF Ab в apoE^{-}/$^{-}$ / Ldlr^{-}/$^{-}$ MIF^{-}/$^{-}$ Ldlr^{-}/$^{-}$ Anti-MIF Ab в Ldlr^{-}/$^{-}$	↔Атеросклероз ↓ Гиперплазия неоинтимы ↓ Атеросклероз ↑ Регрессия
CXCL12	CXCR4	Cxcr4 $^{-}$/$^{-}$ BM > apoE^{-}/$^{-}$ Cxcr4 дегракин BM > Ldlr^{-}/$^{-}$ Cxcr4 лечение антагонистами Cxcr4^{-}/$^{-}$ BM > apoE^{-}/$^{-}$ Anti-CXCR4 Ab в apoE^{-}/$^{-}$	↑ Атеросклероз ↓ Гиперплазия неоинтимы
CX3CL1	CX3CR1	Cx3cl1^{-}/$^{-}$ apoE^{-}/$^{-}$ Cx3cl^{-}/$^{-}$ Ldlr^{-}/$^{-}$ Cx3cr1^{-}/$^{-}$ apoE^{-}/$^{-}$ Cx3cr1^{-}/$^{-}$ BM > apoE^{-}/$^{-}$	↓ Атеросклероз ↓ Атеросклероз ↓ Атеросклероз ↓ Атеросклероз
		Cx3cl1^{-}/$^{-}$ Ccr2^{-}/$^{-}$apoE^{-}/$^{-}$	↓ Атеросклероз
		CCL5 ингибирование белка в Cx3cl1^{-}/$^{-}$ Ccr2^{-}/$^{-}$ apoE^{-}/$^{-}$	↓ Атеросклероз
CXCL16	CXCR6	Cxcl16^{-}/$^{-}$ Ldlr^{-}/$^{-}$ Cxcr6^{-}/$^{-}$ apoE^{-}/$^{-}$	↑ Атеросклероз ↓ Атеросклероз
CXCL19 CXCL20	CXCR7	apoE^{-}/$^{-}$ arch > WT + Anti-CXCL19/ CXCL20 Ab	↓ Регрессия
CXCL9 CXCL10 CXCL11	CXCR3	Cxcr3^{-}/$^{-}$ apoE^{-}/$^{-}$ CXCR3 антагонист NBI-74330 or CCR5/CXCR3 антагонист TAK-779 в Ldlr^{-}/$^{-}$ Cxcl10^{-}/$^{-}$ apoE^{-}/$^{-}$	↓ Атеросклероз ↓ Атеросклероз ↓ Атеросклероз
CXCL14	CXCR3B	Разрыв белковой связи Cxcl4·Ccl5 в apoE^{-}/$^{-}$	↓ Атеросклероз

фагальный воспалительный белок-MIP-1α), CCL4 (MIP-1β) и CCL5 [22-24]. CCL2 наряду с MCP-1 индуцирует хемотаксис моноцитов до их включения в эндотелиальную стенку. CCL5 может экспрессироваться различными типами клеток, включая моноциты/макрофаги, Т-лимфоциты и гладкомышечные клетки. Он стимулирует адгезию моноцитов/макрофагов и Т-лимфоцитов и их трансэндотелиальный диапедез [1, 25]. Кроме того, CCL5 накапливается и секретируется α-гранулами тромбоцитов, далее иммобилизуясь на активированном эндотелии аорты или на повреждённой неоинтиме. Таким образом, секреторная функция тромбоцитов также оказывает влияние на формирование атеросклеротической бляшки и способствует увеличению площади поражения эндотелия [26, 27]. Соответственно блокирование рецепторов к CCL5 за счёт введения агонистов (Мет-RANTES) ведёт к снижению активности воспаления при атеросклерозе и тормозит его развитие [26, 28].

Рисунок 1. Формирование атеросклеротической бляшки.

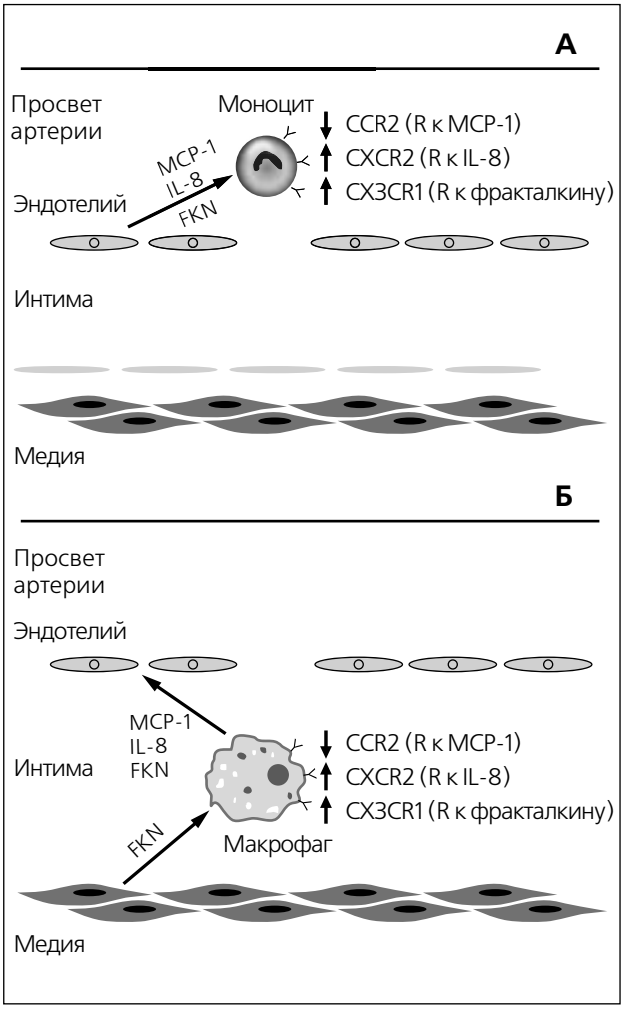

Рисунок 1. А. Адгезия моноцитов. Б. Проникновение моноцитов в сосудистую стенку. В. Трансформация моноцита и превращение его в пенистую клетку.

Было показано, что CCL5 действует на ряд рецепторов: CCR1, CCR3 и CCR5. в настоящее время определена функция каждого из них. "Нокаутирование» apoE^{-}/$^{-}$ мышей по CCR5 не защищает их от формирования атеросклеротического поражения на раннем этапе, хотя на поздних стадиях у этих мышей отмечается замедление прогрессирования поражения [29]. Примечательно, что это ассоциируется со снижением Th1 типа иммунного ответа [30, 31].

С другой стороны, «нокаутирование» Ldlr^{-}/$^{-}$ мышей по CCR5 не продемонстрировало значительного влияния на размер атеросклеротического поражения, хотя и вело к стабилизации атеросклеротической бляшки [32]. Более того, «нокаутирование» как мышей apoE^{-}/$^{-}$, так и мышей Ldlr^{-}/$^{-}$ по CCR1 приводило к увеличению активности атеросклеротического процесса [31, 33]. Подобные результаты были получены на apoE^{-}/$^{-}$ моделях мышей с повреждением артерий. в то время как дефицит CCR5 предотвращает гиперплазию неоинтимы в зоне повреждения эндотелия, дефицит CCR1 значимого влияния на гиперплазию не оказывает [34]. Подобная разница может быть объяснена тем, что данные рецепторы по-разному экспрессируются на различных типах клеток. Использование селективных антагонистов к этим рецепторам показало, что CCR1 в большей степени, чем CCR5 индуцируют CCL5 стимулированную агрегацию моноцитов, что обусловлено различной экспрессией данных рецепторов на их поверхности. в свою очередь, CCR5 влияет на распространение моноцитов. Оба этих рецептора также влияют на трансэндотелиальную миграцию моноцитов [35, 36]. Интересно, что отдельные субпопуляции (около 13%) эндотелиальных прогениторных клеток (EPC) мышей экспрессируют CCR5 и удаление (генетическим путём) CCR5 у мышей apoE^{-}/$^{-}$ приводит к увеличению количества EPC, что рассматривается как атеропротективный фактор [30, 37]. Роль третьего рецептора к CCL5 – CCR3 пока не ясна .

Не менее важную роль во включении моноцитов в атеросклеротическую бляшку играют CXC хемокины, в частности CXCL1 [фактор роста кератиноцитов или его аналог у человека – связанный с ростом онкоген (GRO^{-})]. Рецептор к этому лиганду обнаружен на поверхности моноцитов/макрофагов, находящихся в зоне атеросклеротического поражения сосуда [38-40]. Доказательства участия этого хемокина и его рецептора в атеросклеротическом процессе получены в экспериментальных работах на генетически модифицированных клетках костного мозга, так как мыши с генетическим отсутствием CXCL1 или CXCR2 не жизнеспособны или чрезвычайно неустойчивы к инфекциям. в этих работах продемонстрировано, что у Ldlr^{-}/$^{-}$ мышей после пересадки костного мозга Cxcr2^{-}/$^{-}$ (то есть у мышей, в клетках белой крови которых отсутствуют рецепторы к хемокинам CXCL1), атеросклероз не индуцируется. Далее было показано, что рецептор CXCR2 играет более важную роль в аккумуляции макрофагов в зоне атеросклеротического поражения, чем его лиганд CXCL1 [41, 42]. Более того, CXCL1 предотвращает гиперплазию неоинтимы при повреждении эндотелия [43]. Имеются экспериментальные работы, которые демонстрируют, что эти рецепторы способствуют хемотаксису нейтрофилов, и что нейтрофилы принимают участие в формировании атеросклеротического поражения на его ранней стадии [44, 45]. Также было показано, что за счёт CXCR2 происходит привлечение проангиогенных клеток – EPC к месту повреждения стенки сосуда, что необходимо для регенерации эндотелия [46, 47]. Хотя EPC улучшают регенерацию эндотелия и его функцию, активация CXCR1 стимулирует неоангиогенез атеросклеротической бляшки, что ведёт к её дестабилизации [48]. Таким образом, на развёрнутой стадии атеросклероза негативная роль CXCR2 является доказанной, в частности это определяется ещё одной функцией этого рецептора, которая была открыта недавно. Этот рецептор может связываться с фактором, ингибирующим миграцию макрофагов (MIF),

который рассматривается как ключевой фактор воспаления, играющий существенную роль в прогрессии атеросклероза. Различные проатерогенные факторы, такие как окисленные ЛНП, индуцируют экспрессию MIF на эндотелиальных, гладкомышечных и мононуклеарных клетках (макрофагах) на различных стадиях атеросклероза у человека, мышей и кроликов. Экспрессия MIF коррелирует с тяжестью атеросклеротического процесса, то есть с толщиной комплекса интима-медиа и отложением липидов в стенке аорты у мышей, с количеством атеросклеротических бляшек в грудной аорте у людей и у кроликов, находящихся на атерогенной диете [49]. Впервые роль MIF в прогрессировании атеросклероза in vivo была продемонстрирована в экспериментальной работе на apoE^{-}/$^{-}$ мышах, находящихся на обычном питании. у этих мышей отмечалось нарушение хемотаксиса макрофагов, но уменьшение площади атеросклеротического поражения аорты было незначительным [50]. Генетическое удаление MIF у Ldlr^{-}/$^{-}$ мышей останавливало развитие атеросклероза, индуцированного диетой с большим содержанием липидов [51]. Это подтверждено и работой, в которой мышам вводили антитела, блокирующие MIF. При этом отмечалась регрессия атеросклероза, а также уменьшение количества макрофагов и Т-лимфоцитов [52]. Поскольку доказано, что рецепторы CXCR2 и CXCR4 взаимодействуют с MIF, считается, что MIF может способствовать адгезии и хемотаксису моноцитов и Т-лимфоцитов. Более того, рецепторы CXCR2 имеются и на поверхности нейтрофилов, поэтому MIF обладает умеренной хемотаксической активностью по отношению к этим клеткам [52]. Так как нейтрофилы участвуют в формировании атеросклеротического поражения на его начальной стадии, а также способствуют хемотаксису некоторых субпопуляций моноцитов, считается, что MIF участвует в атеросклеротическом поражении и за счёт своего влияния на нейтрофилы [53]. Кроме того, хемокин-подобные свойства MIF обусловлены ещё и тем, что он активирует CCL2 и другие факторы воспаления, такие как молекулы адгезии, фактор некроза опухоли, а также клетки, инициирующие и поддерживающие воспалительную реакцию [54, 55]. Генетическое удаление MIF ассоциируется со снижением экспрессии матриксных металлопротеиназ (MMPs) и катепсинов на поверхности гладкомышечных клеток, MMP-1 и MMP-9 в атеросклеротической бляшке [51, 56].

Роль MIF в атеросклеротическом процессе доказана в экспериментальных работах на Ldlr^{-}/$^{-}$ мышах, у которых повреждали эндотелий сонных артерий. При этом в зоне повреждения активно развивалось атеросклеротическое поражение. Введение антител к MIF позволяло остановить этот процесс. При этом отмечалось ингибирование разрастания неоинтимы, снижение активности воспалительного процесса и пролиферации клеток [57]. Такое же повреждение катетером сонной артерии apoE^{-}/$^{-}$ мышей приводило к значительному увеличению экспрессии MIF на поверхности гладкомышечных клеток сразу после повреждения. На более поздних стадиях повышалась экспрессия MIF преимущественно на поверхности эндотелиальных и пенистых клеток. Введение антител к MIF умеренно уменьшало разрастание неоинтимы, однако содержание макрофагов в ней значительно уменьшалось, также ингибировался процесс превращения макрофагов в пенистые клетки. Кроме того, увеличивалось содержание гладкомышечных клеток и коллагена в неоинтиме, что приводило к стабилизации атеросклеротических бляшек [58]. Это доказывает, что MIF влияет на миграцию и пролиферацию не только моноцитов, но и гладкомышечных клеток [51, 59]. Важно отметить, что влияние MIF на гиперплазию неоинтимы и гладкомышечные клетки осуществляется через рецептор CXCR4. Ряд авторов считает, что через данный рецептор в основном регулируется пролиферация гладкомышечных клеток и формирование неоинтимы, поэтому данный рецептор «ответственен» за развитие рестеноза [60].

Обсуждается участие в формировании атеросклеротического поражения ещё одного фактора – CXCL12 или фактора, способствующего выходу стромальных клеток. Этот фактор обнаружен в атеросклеротических бляшках человека, он экспрессируется на гладкомышечных и эндотелиальных клетках. Изначально было показано, что CXCL12 участвует в гематопоэзе, мобилизации стволовых клеток, увеличении объёма костного мозга, что и обусловило название данного фактора.

Показано, что уровень CXCL12 у больных, как со стабильной, так и нестабильной ИБС, в плазме понижен по сравнению со здоровыми добровольцами [61]. Большой интерес представляет выполненное недавно геном-ассоциированное исследование, доказавшее защитную функцию этого хемокина. Выявлено, что дефект хромосомы 10q11, при котором нарушается синтез CXCL12, является предиктором развития ИБС, так как возрастает восприимчивость к факторам риска атеросклероза [62]. Авторы делают вывод, что увеличение уровня CXCL12 позволяет улучшить течение ИБС и оказывает стабилизирующий эффект на атеросклеротические бляшки. Интересно, что роль этого хемокина в развитии атеросклероза одновременно изучалась как в клинических, так и экспериментальных работах. Работы на мышах, у которых моделировали атеросклероз, подтвердили, что CXCL12 этот процесс замедляет. Генетическое удаление рецептора к SDF1α CXCR4 в клетках костного мозга значительно усиливает активность атеросклероза у apoE^{-}/$^{-}$ и у Ldlr^{-}/$^{-}$ мышей, но, одновременно увеличивало содержание нейтрофилов в атеросклеротических бляшках [44]. Этот парадокс объясняется тем, что в результате нарушения гемопоэза усиливается мобилизация нейтрофилов в периферическую кровь. Это подтверждается тем,

что в нестабильной атеросклеротической бляшке человека в месте ее разрыва или эрозии, а также в извлеченных тромбах, образовавшихся в результате разрыва фиброзной покрышки, обнаруживается большое количество нейтрофилов [63, 64]. Это подтверждается также более ранними работами, в которых было показано, что количество нейтрофилов является предиктором развития ИБС и, чем их больше, тем тяжелее течение этого заболевания [65, 66]. в экспериментальных работах продемонстрировано, что повреждение эндотелия приводит к транзиторному повышению уровня CXCL12 в плазме [60, 67, 68]. Повышение уровня CXCL12 после повреждения эндотелия усиливает выход прогениторных клеток из костного мозга и трансформацию их в гладкомышечные клетки в месте повреждения, что приводит к увеличению количества гладкомышечных клеток [60]. Аналогичным образом блокирование CCXL12 ингибирует выход прогениторных клеток из костного мозга в кровь, что приводит к дефициту гладкомышечных клеток в зоне повреждения, тем самим, замедляя формирование неоинтимы [67], в то время как аккумуляция гладкомышечных клеток в месте повреждения эндотелия ведет к усилению формированию неоинтимы. Высказываются мнения, что увеличение количества гладкомышечных клеток в месте повреждения сосудистой стенки способствует стабилизации атеросклеротических бляшек. Действительно, введение эндотелиальных апоптотических тел, содержащих микро РНК-126 приводит к увеличению экспрессии CXCL12 посредством активации CXCR4, оказывая тем самым атеропротективный эффект [69].

Было показано также, что CXCL12 способен активировать тромбоциты in vitro. In vivo, тромбоциты, находящиеся в зоне повреждения эндотелия, экспрессируют данный хемокин, способствуя адгезии CD34+ прогениторных клеток в зоне повреждения [60, 70, 71]. Важно отметить, что формирование неоинтимы в зоне повреждения эндотелия в меньшей степени влияет на ре-эндотелизацию по сравнению с влиянием на гладкомышечные прогениторные клетки [72]. Кроме того у мышей, у которых генетически подавлена способность эндотелиальных клеток синтезировать оксид азота, отмечается увеличение экспрессии CXCL12 и, следовательно, усиление выхода прогениторых клеток из костного мозга и поступление их в зону повреждения сонной артерий [73].

Несколько различаются механизмы, за счёт которых регулируется включение различных подклассов моноцитов в зону атеросклеротического поражения, что требует дальнейшего изучения. CCR5 селективно стимулирует $Ly^{-}6C^{low}$ моноциты и способствует их включению в атеросклеротические бляшки, причём это осуществляется не за счёт рецепторов к фракталкину, экспрессированных на поверхности этого подкласса моноцитов. Напротив, $Ly^{-}6C^{high}$ моноциты содержат на своей поверхности рецепторы к фракталкину, CCR2 (к MCP-1) и CCR5 (к RAGE) рецепторы [74]. $Ly\text{-}6C^{high}$ моноциты «заселяют» участки стенки артерий, в которых экспериментально индуцируется воспаление, а $Ly\text{-}6C^{low}$ моноциты могут мигрировать в лимфоидные и нелимфоидные ткани и в обычных условиях. Анализ особенностей миграции и дифференциации этих двух подклассов моноцитов у $apoE^{-}/^{-}$ мышей показал, что $Ly\text{-}6C^{high}$ моноциты в большом количестве аккумулируются в атеросклеротических бляшках, в то время как $Ly\text{-}6C^{low}$ моноциты в них практически не попадают. Это наблюдение имеет не только научное, но и практическое значение, так как появляется возможность синтезировать селективные антагонисты к фракталкиновым (CX3CR1) рецепторам без блокирования CCR2 рецепторов (к MCP-1), играющих важную роль в воспалительных реакциях, не всегда являющихся патологическими.

Имеется ещё один подкласс хемокинов, участвующий в воспалительном процессе сосудистой стенки – CCL19 и CCL21. Их уровень повышен у больных с атеросклерозом сонных артерий и у больных со стабильной или нестабильной стенокардией по сравнению со здоровыми лицами. Кроме того, эти хемокины обнаружены в артериях $apoE^{-}/^{-}$ мышей [75]. Роль этих хемокинов и рецепторов к ним в процессе формирования атеросклеротического процесса двояка. с одной стороны CCL19/CCL21 и CCR7 промотируют выработку провоспалительных Т-лимфоцитов и макрофагов, увеличивают уровень MMP, которые обладают проатерогенными, дестабилизирующим и протромботическим эффектом [75]. с другой стороны, имеются исследования, в которых показано, что CCL19/CCL21 ингибируют пролиферацию Т-лимфоцитов и выработку ИЛ-2 как у мышей, так и у человека, соответственно, эти хемокины оказывают атеропротективную функцию [76]. у $apoE^{-}/^{-}$ мышей одновременная блокада CCL19 и CCL21 приводила к регрессии атеросклеротических бляшек и снижению количества пенистых клеток [77]. Таким образом, роль CCL19/CCL21/CCR7 в атерогенезе неоднозначна. Воздействуя на эти хемокины и их рецептор можно влиять на размер атеросклеротических бляшек.

Имеются также данные о влиянии CXCR3 и его лигандов на включение Т-лимфоцитов в процесс атеросклероза. CXCR3 экспрессируется на поверхности Т-хелперов тип 1. Данный рецептор является общим для таких лигандов как CXCL9, CXCL10 и CXCL11. Эти три лиганда активно экспрессируются в атеросклеротической бляшке человека на всех стадиях её формирования [40]. Дефицит CXCR3 приводит к ингибированию формирования атеросклеротического поражения у $apoE^{-}/^{-}$ мышей (за счёт воздействуя на антивоспалительные молекулы Ил-10, Ил-18BP и эндотелиальную NO синтазу) и к увеличению количества регуляторных Т-лимфоцитов в зоне повреждения эндотелия [78]. Аналогичные результаты были получены в недавно

проведенном исследовании по блокированию CXCR3 при помощи введения его антагониста NBI-74330 [79]. Это приводило к снижению хемотаксиса макрофагов и Т-лимфоцитов и к изменению характера воспалительного процесса сосудистой стенки – увеличивалось количество регуляторных Т-лимфоцитов. в лимфатических узлах таких мышей отмечался сдвиг в сторону увеличения количества регуляторных Т-лимфоцитов и снижения количества активированных Т-лимфоцитов [79]. Более того, введение Ldlr^{-}/$^{-}$ мышам TAK-779 (вещество блокирующее CCR5 и CXCR3) вело к уменьшению площади атеросклеротического поражения и количества Т-лимфоцитов [80]. На основании этого авторы делают вывод, что CXCR3 регулируют хемотаксис и функцию Т-лимфоцитов в атеросклеротическом процессе.

Из всех лигандов, связывающихся с CXCR3, в процессе формирования атеросклеротического поражения, изучена роль только CXCL10. в норме CXCL10 экспрессируется в лимфоидной ткани, однако, при различных патологических процессах под влиянием IFN-γ данный хемокин может экспрессироваться на моноцитах, макрофагах, эндотелиальных и гладкомышечных клетках [81, 82]. Роль CXCL10 в атеросклерозе была продемонстрирована в ряде работ. Показано, что повышение уровня этого хемокина в плазме крови коррелирует с развитием рестенозов после эндоваскулярного лечения, также его уровень повышен у больных с ИБС по сравнению со здоровыми добровольцами [83, 84]. Генетическое удаление CXCL10 у мышей приводило к регрессии атеросклеротического поражения аорты, к увеличению количества регуляторных Т-лимфоцитов, возрастанию уровня ИЛ-10 и усилению экспрессии трансформирующего фактора роста (TGF)-β1 [85]. Таким образом, роль CXCL9 и CXCL11 в процессе атеросклероза остается не до конца ясной. Роль CXCL10 и CXCR3 доказана – они оказывают регулирующее влияние на хемотаксис и функцию Т-лимфоцитов. в процессе формирования атеросклеротического поражения.

Рецептор CXCR3 объединяет несколько подклассов рецепторов данного типа. Одним из этих подклассов является CXCR3b, который связывается со своим лигандом CXCL4, тромбоцитарным фактором 4/PF4, экспрессирующимся на поверхности эндотелиальных клеток [86]. CXCL4 был обнаружен в жировых полосках у людей, его концентрация коррелировала с гистологической и клинической выраженностью атеросклероза [87]. CXCL4 экспрессируется на поверхности тромбоцитов и высвобождается в большом количестве при их активации. в двух экспериментальных работах показано, что генетическое удаление CXCL4 или CCL5 приводит к значительному уменьшению площади атеросклеротического поражения, что доказывает проатерогенный эффект двух этих хемокинов [87, 88]. Строго говоря, CXCL4 в микромолярных концентрациях не является классическим хемокином, его роль в хемотаксисе моноцитов скорее вспомогательная [89, 90]. CCL5 и CXCL4 могут формировать гетеромерный комплекс, в таком виде они накапливаются в альфа гранулах тромбоцитов человека [91]. Подобный комплекс демонстрирует, что между хемокинами могут возникать гетерофильные взаимодействия. Подобные взаимодействия – гетеромеризация – были описаны для 13 хемокинов [92, 93]. Очевидно, что гетеромеризованные хемокины (или комплексы хемокинов) функционально отличаются от несвязанных хемокинов. Следовательно, гетеромеризация является ещё одним механизмом регуляции функции лейкоцитов в формировании атеросклеротического поражения и может стать дополнительной мишенью терапии при лечении атеросклероза.

В недавно проведённом исследовании была продемонстрирована роль CCL5 и CXCL4 в процессе развития атеросклероза. Возникший в результате их гетеромеризации циклический комплекс носит название CKEY2 у человека и MKEY у мышей. Введение MKEY мышам, у которых имелась спровоцированная гиперхолестериновой диетой гиперлипидемия, приводило к значительному снижению скорости формирования атеросклеротических бляшек. Данное исследование подтвердило, что влияя на механизмы гетеромеризации, создавая или разрушая связи между хемокинами, можно влиять и на процесс формирования атеросклеротического поражения [91].

Таким образом, имеется большое количество экспериментальных и клинических исследований, в которых доказана роль системы хемокинов и их рецепторов в развитии атеросклероза. Несомненно, что столь сложная и многократно пересекающаяся система должна обладать большой надёжностью и избыточностью. Стимулирование первичного клеточного ответа за счет активации некоторыми хемокинами рецепторов лейкоцитов может быть продемонстрировано на примере включения Gr-1^{low} моноцитов за счет их рецепторов CCR5 в атеросклеротические бляшки или активации инфильтрации Т-лимфоцитами за счет их рецепторов CXCR6 [74, 94]. Эти два механизма опосредуют инфильтрацию атеросклеротических бляшек мононуклеарными клетками. Поскольку в крови в одно и тоже время определяется несколько типов хемокинов, возник вопрос – могут ли они образовывать между собой комплексы и как формирование таких комплексов отразится на хемотаксисе моноцитов [2, 17, 35]. Возможность согласованного влияния различных рецепторов к хемокинам, находящихся на поверхности клеток одного типа, подтверждается примером комбинированного влияния CCL5, CX3CL1 на рецептор CCR2 «воспалительных» Gr-1^{high} моноцитов, причем концентрация этих хемокинов коррелирует с выраженностью атеросклероза [95, 96]. Образование гетерофильных комплексов хемоки-

нов позволяет объяснить их функциональное разнообразие и пластичность. Возможность воздействия на такие комплексы позволит использовать их в качестве потенциальных мишеней для медикаментозной терапии [92], причем такая терапия теоретически будет обладать минимальным количеством побочных эффектов. в частности, «разрыв» гетеромерного комплекса CCL5-CXCL4 путем введения специфических циклических белков позволяет значительно замедлить прогрессирование атеросклероза [91]. Если рассматривать влияние на различные стадии образования атеросклеротических бляшек, то следует отметить, что на раннем этапе в данном процессе участвует CCL5, на более поздних – CXCL1 и CX3CL1, при этом ингибируя CX3CL1 удается остановить рост атеросклеротических бляшек [97, 98]. Возможность воздействия на разные стадии атеросклеротического процесса доказывается торможением атеросклероза грудной и брюшной аорты за счет ингибирования CCR2 и CXCR3 [78]. Важно отметить, что ряд хемокинов обладают атеропротективным эффектом, например CXCL12 (за счет его связывания с рецептором CZCR4) и CXCL16. Комплексный подход к изучению этих механизмов позволяет надеяться на создание препаратов, влияющих на клеточно-гуморальное звено воспалительного компонента атеросклеротического процесса.

Список литературы.

1. *Weber C, Schober A, Zernecke A. Chemokines: key regulators of mononuclear cell recruitment in atherosclerotic vascular disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2004;24:1997–2008.*
2. *Weber C. Novel mechanistic concepts for the control of leukocyte transmigration: specialization of integrins, chemokines, and junctional molecules. J Mol Med 2003;81:4–19.*
3. *Schwartz RS, Topol EJ, Serruys PW. et al. Artery size, neointima, and remodeling: time for some standards. J Am Coll Cardiol 1998;32:2087–2094.*
4. *Bittl JA. Advances in coronary angioplasty. N Engl J Med 1996;335:1290–1302.*
5. *Ward MR, Pasterkamp G, Yeung AC, Borst C. Arterial remodeling. Mechanisms and clinical implications. Circulation 2000;102:1186–1191.*
6. *Schober A, Weber C. Mechanisms of monocyte recruitment in vascular repair after injury. Antioxid Redox Signal 2005;7:1249–1257.*
7. *Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. N Engl J Med 2005;352:1685–1695*
8. *Weber C, Zernecke A, Libby P. The multifaceted contributions of leukocyte subsets to atherosclerosis: lessons from mouse models. Nat Rev Immunol 2008;8:802–815.*
9. *Zernecke A, Weber C. Chemokines in the vascular inflammatory response of atherosclerosis. Cardiovasc. Research, 2010, 86, p. 192-201.*
10. *Boring L, Gosling J, Cleary M, Charo IF. Decreased lesion formation in CCR22/2 mice reveals a role for chemokines in the initiation of atherosclerosis. Nature 1998;394:894–897.*
11. *Gu L, Okada Y, Clinton SK. et al. Absence of monocyte chemoattractant protein-1 reduces atherosclerosis in low density lipoprotein receptor-deficient mice. Mol Cell 1998;2:275–281.*
12. *Dawson TC, Kuziel WA, Osahar TA, Maeda N. Absence of CC chemokine receptor-2 reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. Atherosclerosis 1999;143:205–211.*
13. *Yu X, Dluz S, Graves DT. et al. Elevated expression of monocyte chemoattractant protein 1 by vascular smooth muscle cells in hypercholesterolemic primates. Proc Natl Acad Sci USA 1992;89:6953–6957.*
14. *Han KH, Tangirala RK, Green SR, Quehenberger O. Chemokine receptor CCR2 expression and monocyte chemoattractant protein-1-mediated chemotaxis in human monocytes. A regulatory role for plasma LDL. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1998;18:1983–1991.*
15. *Schober A, Zernecke A, Liehn EA. et al. Crucial role of the CCL2/CCR2 axis in neointimal hyperplasia after arterial injury in hyperlipidemic mice involves early monocyte recruitment and CCL2 presentation on platelets. Circ Res 2004;95:1125–1133.*
16. *Kuschert GS, Coulin F, Power CA. et al. Glycosaminoglycans interact selectively with chemokines and modulate receptor binding and cellular responses. Biochemistry 1999;38:12959–12968.*
17. *Huo Y, Weber C, Forlow SB. et al. The chemokine KC, but not monocyte chemoattractant protein-1, triggers monocyte arrest on early atherosclerotic endothelium. J Clin Invest 2001;108:1307–1314.*
18. *Egashira K, Zhao Q, Kataoka C. et al. Importance of monocyte chemoattractant protein-1 pathway in neointimal hyperplasia after periarterial injury in mice and monkeys. Circ Res 2002;90:1167–1172.*
19. *Furukawa Y, Matsumori A, Ohashi N. et al. Anti-monocyte chemoattractant protein-1/monocyte chemotactic and activating factor antibody inhibits neointimal hyperplasia in injured rat carotid arteries. Circ Res 1999;84:306–314.*
20. *Horvath C, Welt FG, Nedelman M. et al. Targeting CCR2 or CD18 inhibits experimental in-stent restenosis in primates: inhibitory potential depends on type of injury and leukocytes targeted. Circ Res 2002;90:488–494.*
21. *Roque M, Kim WJ, Gazdoin M. et al. CCR2 deficiency decreases intimal hyperplasia after arterial injury. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2002;22:554–559.*
22. *Wilcox JN, Nelken NA, Coughlin SR. et al. Local expression of inflammatory cytokines in human atherosclerotic plaques. J Atheroscler Thromb 1994;1:S10–S13.*
23. *Pattison JM, Nelson PJ, Huie P. et al. RANTES chemokine expression in transplant-associated accelerated atherosclerosis. J Heart Lung Transplant 1996;15:1194–1199.*
24. *Haque NS, Zhang X, French DL. et al. CC chemokine I-309 is the principal monocyte chemoattractant induced by apolipoprotein(a) in human vascular endothelial cells. Circulation 2000;102:786–792.*

25. Krohn R, Raffetseder U, Bot I. et al. Y-box binding protein-1 controls CC chemokine ligand-5 (CCL5) expression in smooth muscle cells and contributes to neointima formation in atherosclerosis-prone mice. Circulation 2007;116:1812–1820.
26. von Hundelshausen P, Weber KS, Huo Y. et al. RANTES deposition by platelets triggers monocyte arrest on inflamed and atherosclerotic endothelium. Circulation 2001;103:1772–1777.
27. Huo Y, Schober A, Forlow SB. et al. Circulating activated platelets exacerbate atherosclerosis in mice deficient in apolipoprotein E. Nat Med 2003;9:61–67.
28. Veillard NR, Kwak B, Pelli G. et al. Antagonism of RANTES receptors reduces atherosclerotic plaque formation in mice. Circ Res 2004;94:253–261.
29. KuzielWA, Dawson TC, Quinones M. et al. CCR5 deficiency is not protective in the early stages of atherogenesis in apoE knockout mice. Atherosclerosis 2003;167:25–32.
30. Quinones MP, Martinez HG, Jimenez F. et al. CC chemokine receptor 5 influences late-stage atherosclerosis. Atherosclerosis 2007;195:e92–e103.
31. Braunersreuther V, Zernecke A, Arnaud C. et al. Ccr5 but not Ccr1 deficiency reduces development of diet-induced atherosclerosis in mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2007;27:373–379.
32. Potteaux S, Combadiere C, Esposito B. et al. Role of bone marrow-derived CC-chemokine receptor 5 in the development of atherosclerosis of low-density lipoprotein receptor knockout mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2006;26:1858–1863.
33. Potteaux S, Combadiere C, Esposito B. et al. Chemokine receptor CCR1 disruption in bone marrow cells enhances atherosclerotic lesion development and inflammation in mice. Mol Med 2005;11:16–20.
34. Zernecke A, Liehn EA, Gao JL. et al. Deficiency in CCR5 but not CCR1 protects against neointima formation in atherosclerosis-pronemice: involvement of IL-10. Blood 2006;107:4240–4243.
35. Weber C, Weber KS, Klier C. et al. Specialized roles of the chemokine receptors CCR1 and CCR5 in the recruitment of monocytes and T(H)1-like/CD45RO(ю) T cells. Blood 2001;97:1144–1146.
36. Baltus T, Weber KS, Johnson Z. et al. Oligomerization of RANTES is required for CCR1-mediated arrest but not CCR5-mediated transmigration of leukocytes on inflamed endothelium. Blood 2003;102:1985–1988.
37. Spring H, Schuler T, Arnold B. et al. Chemokines direct endothelial progenitors into tumor neovessels. Proc Natl Acad Sci USA 2005;102:18111–18116.
38. Wang N, Tabas I, Winchester R. et al. Interleukin 8 is induced by cholesterol loading of macrophages and expressed by macrophage foam cells in human atheroma. J Biol Chem 1996;271:8837–8842.
39. Boisvert WA, Curtiss LK, Terkeltaub RA. Interleukin-8 and its receptor CXCR2 in atherosclerosis. Immunol Res 2000;21:129–137.
40. Mach F, Sauty A, Iarossi AS. et al. Differential expression of three T lymphocyte-activating CXC chemokines by human atheroma-associated cells. J Clin Invest 1999;104:1041–1050.
41. Boisvert WA, Santiago R, Curtiss LK, Terkeltaub RA. A leukocyte homologue of the IL-8 receptor CXCR-2 mediates the accumulation of macrophages in atherosclerotic lesions of LDL receptor-deficient mice. J Clin Invest 1998;101:353–363.
42. Boisvert WA, Rose DM, Johnson KA. et al. Up-regulated expression of the CXCR2 ligand KC/GRO-alpha in atherosclerotic lesions plays a central role in macrophage accumulation and lesion progression. Am J Pathol 2006;168:1385–1395.
43. Schmidt-Lucke C, Rossig L, Fichtlscherer S. et al. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair. Circulation 2005;111:2981–2987.
44. Zernecke A, Bot I, Djalali-Talab Y. et al. Protective role of CXC receptor 4/CXC ligand 12 unveils the importance of neutrophils in atherosclerosis. Circ Res 2008;102:209–217.
45. Soehnlein O, Zernecke A,Weber C. Neutrophils launch monocyte extravasation by release of granule proteins. Thromb Haemost 2009;102:198–205.
46. Schober A, Zernecke A. Chemokines in vascular remodeling. Thromb Haemost 2007;97:730–737.
47. Liehn EA, Schober A, Weber C. Blockade of keratinocyte-derived chemokine inhibits endothelial recovery and enhances plaque formation after arterial injury in ApoE-deficient mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2004;24:1891–1896.
48. Koch AE, Polverini PJ, Kunkel SL. et al. Interleukin-8 as a macrophage-derived mediator of angiogenesis. Science 1992;258:1798–1801.
49. Zernecke A, Bernhagen J, Weber C. Macrophage migration inhibitory factor in cardiovascular disease. Circulation 2008;117:1594–1602.
50. Burger-Kentischer A, Gobel H, Kleemann R. et al. Reduction of the aortic inflammatory response in spontaneous atherosclerosis by blockade of macrophage migration inhibitory factor (MIF). Atherosclerosis 2006;184:28–38.
51. Pan JH, Sukhova GK, Yang JT. et al. Macrophage migration inhibitory factor deficiency impairs atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. Circulation 2004;109:3149–3153.
52. Bernhagen J, Krohn R, Lue H. et al. MIF is a noncognate ligand of CXC chemokine receptors in inflammatory and atherogenic cell recruitment. Nat Med 2007;13:587–596.
53. Soehnlein O, Zernecke A, Eriksson EE. et al. Neutrophil secretion products pave the way for inflammatory monocytes. Blood 2008;112:1461–1471.
54. Gregory JL, Morand EF, McKeown SJ. et al. Macrophage migration inhibitory factor induces macrophage recruitment via CC chemokine ligand 2. J Immunol 2006;177:8072–8079.
55. Lan HY, Bacher M, Yang N. et al. The pathogenic role of macrophage migration inhibitory factor in immunologically induced kidney disease in the rat. J Exp Med 1997;185:1455–1465.
56. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis:the good, the bad, and the ugly. Circ Res 2002;90:251–262.
57. Chen Z, Sakuma M, Zago AC. et al. Evidence for a role of macrophage migration inhibitory factor in vascular disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2004;24:709–714.

58. Schober A, Bernhagen J, Thiele M. et al. Stabilization of atherosclerotic plaques by blockade of macrophage migration inhibitory factor after vascular injury in apolipoprotein E-deficient mice. Circulation 2004;109:380–385.
59. Schrans-Stassen BH, Lue H, Sonnemans DG. et al. Stimulation of vascular smooth muscle cell migration by macrophage migration inhibitory factor. Antioxid Redox Signal 2005;7:1211–1216.
60. Zernecke A, Schober A, Bot I. et al. SDF-1alpha/CXCR4 axis is instrumental in neointimal hyperplasia and recruitment of smooth muscle progenitor cells. Circ Res 2005;96:784–791.
61. Damas JK, Waehre T, Yndestad A. et al. Stromal cellderived factor-1alpha in unstable angina: potential antiinflammatory and matrix-stabilizing effects. Circulation 2002;106:36–42.
62. Kathiresan S, Voight BF, Purcell S. et al. Genome-wide association of early-onset myocardial infarction with single nucleotide polymorphisms and copy number variants. Nat Genet 2009;41:334–341.
63. Naruko T, Ueda M, Haze K. et al. Neutrophil infiltration of culprit lesions in acute coronary syndromes. Circulation 2002;106:2894–2900.
64. Tavora FR, Ripple M, Li L, Burke AP. Monocytes and neutrophils expressing myeloperoxidase occur in fibrous caps and thrombi in unstable coronary plaques. BMC Cardiovasc Disord 2009;9:27.
65. Avanzas P, Arroyo-Espliguero R, Cosin-Sales J. et al. Multiple complex stenoses, high neutrophil count and C-reactive protein levels in patients with chronic stable angina. Atherosclerosis 2004;175:151–157.
66. Kawaguchi H, Mori T, Kawano T. et al. Band neutrophil count and the presence and severity of coronary atherosclerosis. Am Heart J 1996;132:9–12.
67. Schober A, Knarren S, Lietz M. et al. Crucial role of stromal cell-derived factor-1alpha in neointima formation after vascular injury in apolipoprotein E-deficient mice. Circulation 2003;108:2491–2497.
68. Tanaka K, Sata M, Hirata Y, Nagai R. Diverse contribution of bone marrow cells to neointimal hyperplasia after mechanical vascular injuries. Circ Res 2003;93:783–790.
69. Zernecke A, Bidzhekov K, Noels H. et al. Delivery of microRNA-126 by apoptotic bodies induces CXCL12-dependent vascular protection. Sci Sign 2009;2:ra81.
70. Abi-Younes S, Sauty A, Mach F. et al. The stromal cellderived factor-1 chemokine is a potent platelet agonist highly expressed in atherosclerotic plaques. Circ Res 2000;86:131–138.
71. Massberg S, Konrad I, Schurzinger K. et al. Platelets secrete stromal cell-derived factor 1alpha and recruit bone marrowderived progenitor cells to arterial thrombi in vivo. J Exp Med 2006;203:1221–1233.
72. Sakihama H, Masunaga T, Yamashita K. et al. Stromal cell-derived factor-1 and CXCR4 interaction is critical for development of transplant arteriosclerosis. Circulation 2004;110:2924–2930.
73. Zhang LN, Wilson DW, da Cunha V. et al. Endothelial NO synthase deficiency promotes smooth muscle progenitor cells in association with upregulation of stromal cell-derived factor-1alpha in a mouse model of carotid artery ligation. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2006;26:765–772.
74. Tacke F, Alvarez D, Kaplan TJ. et al. Monocyte subsets differentially employ CCR2, CCR5, and CX3CR1 to accumulate within atherosclerotic plaques. J Clin Invest 2007;117:185–194.
75. Damas JK, Smith C, Oie E. et al. Enhanced expression of the homeostatic chemokines CCL19 and CCL21 in clinical and experimental atherosclerosis: possible pathogenic role in plaque destabilization. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2007;27:614–620
76. Ziegler E, Oberbarnscheidt M, Bulfone-Paus S. et al. CCR7 signaling inhibits T cell proliferation. J Immunol 2007;179:6485–6493.
77. Trogan E, Feig JE, Dogan S. et al. Gene expression changes in foam cells and the role of chemokine receptor CCR7 during atherosclerosis regression in ApoE-deficient mice. Proc Natl Acad Sci USA 2006;103:3781–3786.
78. Veillard NR, Steffens S, Pelli G. et al. Differential influence of chemokine receptors CCR2 and CXCR3 in development of atherosclerosis in vivo. Circulation 2005;112:870–878.
79. van Wanrooij EJ, de Jager SC, van Es T. et al. CXCR3 antagonist NBI-74330 attenuates atherosclerotic plaque formation in LDL receptordeficient mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2008;28:251–257.
80. van Wanrooij EJ, Happe H, Hauer AD. et al. HIV entry inhibitor TAK-779 attenuates atherogenesis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2005;25:2642–2647.
81. Gattass CR, King LB, Luster AD, Ashwell JD. Constitutive expression of interferon gamma-inducible protein 10 in lymphoid organs and inducible expression in T cells and thymocytes. J Exp Med 1994;179:1373–1378.
82. Gottlieb AB, Luster AD, Posnett DN, Carter DM. Detection of a gamma interferon-induced protein IP-10 in psoriatic plaques. J Exp Med 1988;168:941–948.
83. Fernandes JL, Mamoni RL, Orford JL. et al. Increased Th1 activity in patients with coronary artery disease. Cytokine 2004;26:131–137.
84. Kawamura A, Miura S, Fujino M. et al. CXCR3 chemokine receptor-plasma IP10 interaction in patients with coronary artery disease. Circ J 2003;67:851–854.
85. Heller EA, Liu E, Tager AM. et al. Chemokine CXCL10 promotes atherogenesis by modulating the local balance of effector and regulatory T cells. Circulation 2006;113:2301–2312.
86. Lasagni L, Francalanci M, Annunziato F. et al. An alternatively spliced variant of CXCR3 mediates the inhibition of endothelial cell growth induced by IP-10, Mig, and I-TAC, and acts as functional receptor for platelet factor 4. J Exp Med 2003;197:1537–1549.
87. Pitsilos S, Hunt J, Mohler ER. et al. Platelet factor 4 localization in carotid atherosclerotic plaques: correlation with clinical parameters. Thromb Haemost 2003;90:1112–1120.
88. Sachais BS, Turrentine T, Dawicki McKenna JM. et al. Elimination of platelet factor 4 (PF4) from platelets reduces atherosclerosis in C57Bl/6 and apoE2/2 mice. Thromb Haemost 2007;98:1108–1113.

89. *Brandt E, Ludwig A, Petersen F, Flad HD. Platelet-derived CXC chemokines: old players in new games. Immunol Rev 2000;177:204–216.*
90. *von Hundelshausen P, Koenen RR, Sack M. et al. Heterophilic interactions of platelet factor 4 and RANTES promote monocyte arrest on endothelium. Blood 2005;105:924–930.*
91. *Koenen RR, von Hundelshausen P, Nesmelova IV. et al. Disrupting functional interactions between platelet chemokines inhibits atherosclerosis in hyperlipidemic mice. Nat Med 2009;15:97–103.*
92. *Weber C, Koenen RR. Fine-tuning leukocyte responses: towards a chemokine 'interactome'. Trends Immunol 2006;27:268–273.*
93. *Allen SJ, Crown SE, Handel TM. Chemokine: receptor structure, interactions, and antagonism. Annu Rev Immunol 2007;25:787–820.*
94. *Galkina E, Harry BL, Ludwig A. et al. CXCR6 promotes atherosclerosis by supporting T-cell homing, interferon-gamma production, and macrophage accumulation in the aortic wall. Circulation 2007;116:1801–1811.*
95. *Saederup N, Chan L, Lira SA, Charo IF. Fractalkine deficiency markedly reduces macrophage accumulation and atherosclerotic lesion formation in CCR22/2 mice: evidence for independent chemokine functions in atherogenesis. Circulation 2008;117:1642–1648.*
96. *Combadiere C, Potteaux S, Rodero M. et al. Combined inhibition of CCL2, CX3CR1, and CCR5 abrogates Ly6C(hi) and Ly6C(lo) monocytosis and almost abolishes atherosclerosis in hypercholesterolemic mice. Circulation 2008;117:1649–1657.*
97. *Lutgens E, Faber B, Schapira K. et al. Gene profiling in atherosclerosis reveals a key role for small inducible cytokines: validation using a novel monocyte chemoattractant protein monoclonal antibody. Circulation 2005;111:3443–3452.*
98. *Cheng C, Tempel D, van Haperen R. et al. Shear stress-induced changes in atherosclerotic plaque composition are modulated by chemokines. J Clin Invest 2007;117:616–626.*