

N^ε-羧甲基赖氨酸通过 RAGE 促进平滑肌细胞源性泡沫细胞形成

包正阳¹, 孙振¹, 李丽华², 王小东¹, 宋娟¹, 邵晨¹, 严金川¹, 王中群¹

(江苏大学附属医院 1. 心内科, 2. 病理科, 江苏省镇江市 212000)

[关键词] N^ε-羧甲基赖氨酸; 晚期糖基化终末产物受体; 胆固醇外流; 血管平滑肌细胞; 泡沫细胞形成

[摘要] **目的** 研究 N^ε-羧甲基赖氨酸(CML)对平滑肌细胞泡沫化中脂质外流的影响,探讨其在促进平滑肌细胞泡沫化中的作用和机制。**方法** 使用组织贴块法从 C57BL/6J 小鼠主动脉中提取原代血管平滑肌细胞并进行鉴定;将第 3~9 代的原代平滑肌细胞分为对照组,氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)(50 mg/L)模型组,1、10、100 μmol/L 的 CML 与 ox-LDL 共刺激组,通过 NBD-胆固醇流出实验检测 CML 对泡沫细胞胆固醇流出率的影响,通过胆固醇含量测定试剂盒测定细胞内总胆固醇(TC)、游离胆固醇(FC)和胆固醇酯(CE)水平;将原代血管平滑肌细胞分为四组:对照组、ox-LDL 模型组、ox-LDL+CML 组、RAGE siRNA 沉默组(ox-LDL+CML+siRAGE 组)并进行刺激,通过 Western blot 检测糖基化终末产物受体(RAGE)和胆固醇流出调节子 ABCA1 的表达;通过油红 O 染色和油红萃取实验检测各组平滑肌细胞泡沫化程度。**结果** 与对照组相比,不同浓度 CML 明显升高平滑肌细胞内 TC、CE 和 FC 的含量;胆固醇流出实验表明胆固醇流出率随 CML 浓度升高而降低;Western blot 实验表明与对照组相比,加入 CML 后 RAGE 明显升高,ABCA1 明显降低,ox-LDL+CML+siRAGE 组 RAGE 的表达降低,并且 ABCA1 降低水平减少;油红 O 染色显示 ox-LDL 能够促使平滑肌细胞内脂质蓄积,CML 能够增强其作用,抑制 RAGE 表达后 CML 作用减弱。**结论** CML 通过 RAGE 抑制脂质外流,促进平滑肌细胞源性泡沫细胞形成。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

CML/RAGE signal induces vascular smooth muscle cell derived-foam cells formation

BAO Zhengyang¹, SUN Zhen¹, LI Lihua², WANG Xiaodong¹, SONG Juan¹, SHAO Chen¹, YAN Jinchuan¹, WANG Zhongqun¹

(1. Department of Cardiology, 2. Department of Pathology, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212001, China)

[KEY WORDS] N^ε-carboxymethyllysine; receptor for advanced glycation end products; cholesterol efflux; vascular smooth muscle cells; foam cells formation

[ABSTRACT] **Aim** To study the effect and mechanism of N^ε-carboxymethyllysine (CML) on vascular smooth muscle cells (VSMC) foam cells formation. **Methods** Primary VSMC were extracted from the aorta of C57BL/6J mice using tissue affixing method and identified; Primary smooth muscle cells of 3~9 passages were divided into control group, oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) (50 mg/L) group, 1, 10, and 100 μmol/L concentrations of CML and ox-LDL co-stimulation group. The levels of total cholesterol (TC), free cholesterol (FC) and cholesteryl esters (CE) were determined by a cholesterol content assay kit; the primary VSMC were divided into four groups: control group, ox-LDL-induced model group, and ox-LDL co-stimulated with CML group, RAGE siRNA silencing group. Western blot and qRT-PCR was used to detect receptor for advanced glycation end products (RAGE) and cholesterol efflux end regulator ATP binding cassette transporter A1 (ABCA1); The degree of foaming of smooth muscle cells in each group was detected by oil red O staining and oil red extraction experiments. **Results** Compared with control group, CML significantly increased smooth muscle intracellular TC, CE and FC levels; Cholesterol efflux experiments showed that cholesterol efflux rate decreased with

[收稿日期] 2018-05-11

[修回日期] 2018-06-09

[基金项目] 国家自然科学基金(81770450,81370408);江苏省研究生科研创新计划(KYCX17_1801);镇江市社会发展项目(SH2016037,SH2017031)

[作者简介] 包正阳,硕士研究生,主要研究方向为动脉粥样硬化的基础与临床,E-mail 为 txwdbzy9307@outlook.com。通信作者王中群,博士,副研究员,博士研究生导师,主要研究方向为动脉粥样硬化基础与临床,E-mail 为 wangtsmc@aliyun.com。

increasing CML concentration; Western blot showed that compared with the control group, RAGE in the CML group was significantly higher, ABCA1 was significantly lower, and RAGE siRNA decreased expression of RAGE, and increased ABCA1 levels. Oil red staining showed that ox-LDL could promote lipid accumulation in smooth muscle cells, and CML could enhance its effect. **Conclusion** CML/RAGE inhibits VSMC cholesterol efflux, induces vascular smooth muscle cell derived-foam cells formation.

动脉硬化性心血管疾病是糖尿病患者死亡和残疾的主要原因^[1],与非糖尿病患者相比,糖尿病患者心血管疾病发病更早(约 14.6 年),且病变分布更广,此外,约 2/3 的糖尿病患者死于心血管疾病:其中约 40%来自缺血性心脏病,15%来自其他形式的心脏病,主要是充血性心力衰竭,约 10%来自脑卒中^[2-4]。我们前期研究证实,糖基化终末产物的重要活性成分 N^ε-羧甲基赖氨酸(N^ε-carboxymethyllysine, CML)通过促进巨噬细胞泡沫形成和凋亡,抑制其迁移,进而加速动脉粥样硬化过程^[5-6]。

血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)是泡沫细胞的另一个重要来源,由平滑肌细胞来源的泡沫细胞可占总泡沫细胞的 40%~50%,并且随疾病进展所占比重逐渐增加^[7-8]。已有研究发现,胆固醇流出的重要调节因子 ATP 结合盒转运体 A1(adenosine triphosphate binding cassette transporter A1, ABCA1)在泡沫化的平滑肌细胞中表达明显降低,提示胆固醇流出受阻在此过程中发挥重要作用^[8-9]。另有研究表明,糖基化终末产物受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)通过调控参与巨胞饮(macropinosome)的因子而参与平滑肌细胞泡沫化过程^[10]。因此,我们提出假设,CML 通过 RAGE 抑制胆固醇外流,促使平滑肌细胞泡沫化。

1 材料和方法

1.1 实验动物

6 周龄 SPF 级 C57BL/6J 雄性小鼠由江苏大学实验动物中心提供。

1.2 试剂和药品

高糖 DMEM 培养基购自 Hyclone 公司;胎牛血清购自维森特公司;CML 购自 Toronto 公司(加拿大);氧化型低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, ox-LDL)购自广东奕源生物公司;ABCA1、RAGE 和 β -actin 一抗购自 Abcam 公司;油红 O、NBD-胆固醇和 α -SMA-FITC 购自 Sigma 公司。

1.3 体外血管平滑肌细胞原代培养和鉴定

将 6 周龄 C57BL/6J 雄性小鼠使用断颈法处

死,迅速取其胸主动脉,使用 PBS 冲洗并且在胶原酶中消化 5 min,剥去外膜,剪成小块并移植 EP 管中,加入 1 mL 胶原酶,5%CO₂、37℃放置 1~2 h,加入 1 mL 完全培养基终止消化,1000 r/min 离心 5 min,弃上清加入完全培养基重悬并移入培养瓶中,使用 20%胎牛血清的培养基进行培养,3 天后可观察有细胞爬出,此时换液并逐渐降低血清浓度,取第 3~9 代细胞进行实验。将状态良好的 VSMC 以 1×10^5 /孔种于 12 孔板中,待其贴壁进入对数生长期后,将其固定,使用 FITC 标记的 α -SMA 孵育过夜,DAPI 染核,置于荧光显微镜下观察。

1.4 实验分组与处理

将第 3~9 代原代平滑肌细胞以 1×10^5 接种于 6 孔板中,待细胞进入对数生长期后,经过 12 h 的饥饿同步化,吸弃培养基并将其按实验目的进行分组。在进行胆固醇流出实验和细胞内胆固醇含量检测时,将其分为对照组(2%FBS+高糖 DMEM),ox-LDL 模型组(2%FBS+高糖 DMEM+50 mg/L ox-LDL),ox-LDL+1 μ mol/L CML 组(2%FBS+高糖 DMEM+50 mg/L ox-LDL+1 μ mol/L CML),ox-LDL+10 μ mol/L CML 组(2%FBS+高糖 DMEM+50 mg/L ox-LDL+10 μ mol/L CML),ox-LDL+100 μ mol/L CML 组(2%FBS+高糖 DMEM+50 mg/L ox-LDL+100 μ mol/L CML)。在进行蛋白免疫印迹检测和油红 O 染色实验时,将其分为对照组(2%FBS+高糖 DMEM),ox-LDL 模型组(2%FBS+高糖 DMEM+50 mg/L ox-LDL),ox-LDL 和 CML 共刺激组(2%FBS+高糖 DMEM+50 mg/L ox-LDL+10 μ mol/L CML),RAGE siRNA 沉默组(2%FBS+高糖 DMEM+50 mg/L ox-LDL+10 μ mol/L CML+siRAGE)。

1.5 siRNA 瞬时转染

RAGE 外显子序列的 siRNA 和阴性对照 siRNA 获自广州 Ribobio。使用以下 RAGE 序列:正义 5'-(GGT CAGAGCtGACAGtGAtTT)dTdT-3'。使用阴性对照 siRNA 5'-(TTCTCCGAACGTGTCACGTAA)dTdT-3'作为阴性对照。根据制造商的悬浮转染方案,使用 InstantFECT 转染试剂(PGR-Solutions Inc. USA)将 RNA 寡核苷酸瞬时转染至细胞中。

1.6 胆固醇流出检测

NBD-胆固醇浓度与其荧光信号强度成正比,将原代平滑肌细胞以 2×10^4 密度种入 96 孔酶标板中,待细胞贴壁后,待细胞进入对数生长期后按上述分组加入刺激,分别刺激 12 h、24 h 和 48 h 后,将细胞裂解液和诱导外流液加入孔中收集细胞,12000 g 离心 10 min,除去细胞碎片,以 96 孔黑色酶标板在荧光酶标仪激发光 469 nm 和发射光 537 nm 处测定 FI。胆固醇流出率 = 诱导外流液 FI / (诱导外流液 FI + 细胞裂解液 FI) $\times 100\%$ 。

1.7 细胞总胆固醇、游离胆固醇及胆固醇酯含量测定

按上述分组和处理细胞,弃培养液后用 PBS 漂洗细胞 2 次,将每孔细胞分别用 1 mL 蒸馏水收集至离心管中行超声破碎,留取 10 μ L 样品用于蛋白浓度检测,并将 500 μ L 样品与 2 mL 氯仿和甲醇混合物充分振荡混匀后,离心分层,将下层溶液 1 mL 转移至另一离心管中进行真空干燥,再用 100 μ L 含 10% Triton-X100 的异丙醇溶解脂质沉淀。根据胆固醇试剂盒说明书,测定细胞内总胆固醇 (total cholesterol, TC) 和游离胆固醇 (free cholesterol, FC) 及胆固醇酯 (cholesteryl ester, CE) ($CE = TC - FC$)。

1.8 蛋白免疫印迹分析

细胞加药处理 72 h 后,室温下使用含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白,蛋白浓度经由 BCA 法进行测定,以每泳道 50 μ g 蛋白上样,经 SDS-PAGE 电泳后,转膜至硝酸纤维膜上,封闭,洗膜,与 β -actin (1 : 2000)、ABCA1 (1 : 1000)、RAGE (1 : 1000) 一抗孵育过夜,使用 TBST 洗膜 3 次后与二抗 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h,在 AI 600 (GE 公司) 中进行显像并进行图像分析。

1.9 实时荧光定量 PCR 检测

使用 TRIzol 试剂 (Invitrogen) 提取总 RNA,通过甲醛-琼脂糖凝胶电泳评估 RNA 质量。按照制造商的说明,使用 HiScript 1st Strand cDNA Synthesis Kit (Vazyme Biotech Co., 南京, 中国) 通过反转录获得第一链 cDNA。使用 AceQ qPCR SYBR Green Master Mix (Vazyme Biotech Co., 南京, 中国) 以 2 μ L cDNA 的总 20 μ L 进行 qRT-PCR,并使用 7500 实时 PCR 系统 (Thermo) 进行检测。ABCA1、RAGE 和 β -actin 的实时 PCR 条件为: 95 $^{\circ}$ C 10 min,接着 40 个循环的 95 $^{\circ}$ C 15 s、60 $^{\circ}$ C 15 s。ABCA1 正向引物为 5'-CCT CAG AGA AAA CAG AAA ACC G-3',反向引物 5'-CTT TGC TAT GAT CTG CAC GTAC-3'; RAGE 正向引物为 5'-CTA CCT TCT CCT GCA GTT TCA G-

3',反向引物为 5'-CAT CCT TTA TCC AGT GGA CCT G-3'; β -actin 用作内部装载对照。使用默认阈值设置确定阈值周期 (Ct),并且将 Ct 值定义为荧光通过固定阈值时的分数周期数。

1.10 油红 O 染色

将原代平滑肌细胞以 1×10^6 每孔种于 6 孔板中,按上述实验分组和条件培养 72 h 后, PBS 清洗 2 遍,使用 60% 异丙醇将每个孔润洗一遍,每孔加入 1 mL 过滤好的油红 O,染色 15 min,使用 60% 异丙醇将多余的染料洗去,使用苏木素染色 2 min,置于倒置显微镜下观察。

1.11 油红萃取实验

使用上述油红 O 染色方法进行染色后,每孔加入 1 mL 100% 异丙醇萃取细胞内的油红 O 染色液,每孔 100 μ L 加入 96 孔板中于 518 nm 处测定其吸光度,以定量检测细胞内 TC 含量。

1.12 统计学分析

使用 SPSS 17.0 进行分析,正态分布计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料应用百分比表示。正态分布计量资料多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 判定差异具有显著性。

2 结 果

2.1 原代血管平滑肌细胞的培养与鉴定

将 C57BL/6J 小鼠主动脉以组织贴块法于培养瓶中培养,4 天后置于倒置显微镜下观察,可见组织块周围有细胞爬出,多呈长梭形 (图 1A)。培养 2~3 代后使用 α -SMA 染色,DAPI 染核对其进行鉴定,显示胞质中有条状绿色阳性区域,提示为血管平滑肌细胞 (图 1B)。

2.2 CML 降低胆固醇流出率,增加细胞内胆固醇蓄积

与对照组比较,ox-LDL 模型组细胞内 TC、FC 及 CE 显著增加,且 CE 所占比例明显升高;加入不同浓度 CML 后,细胞内胆固醇蓄积进一步增加,并且 CE/TC 比例大于 50%,提示该组细胞形成典型的泡沫细胞 (表 1)。胆固醇流出实验表明,与对照组比较,ox-LDL 模型组脂质蓄积随时间增加 ($P < 0.01$),在此过程中胆固醇流出率随时间增加,加入 CML 共刺激后,胆固醇流出率明显降低,在 24、48 h 差异有统计学意义 ($P < 0.01$),且下降幅度随 CML 浓度升高而增加 (图 2),提示 CML 引起平滑肌细胞的泡沫化与胆固醇逆向转运过程抑制有关。

2.3 CML 上调 RAGE 表达并下调 ABCA1 的表达

Western blot 分析显示 CML 显著上调 RAGE 的表达,与对照组相比,ox-LDL 模型组上调 RAGE 的表达,加入 CML 后显著上调 RAGE 表达,同时,显著下调 ABCA1 的表达,加入 siRAGE 后,ABCA1 下调减少(图 3)。上述结果提示 CML 促进平滑肌细胞泡沫化的作用与抑制胆固醇逆向转运蛋白 ABCA1 的表达有关。

2.4 CML 通过 RAGE 受体促进平滑肌细胞泡沫化

将各组细胞经过处理后按上述方法进行油红 O

染色,结果显示 ox-LDL 模型组细胞内脂滴较对照组增多,加入 CML 后较 ox-LDL 模型组脂滴增加明显($P<0.05$),而加入 siRAGE 后脂滴明显减少($P<0.05$)(图 4);油红萃取实验显示 ox-LDL 模型组较对照组增高 1.82 倍($P<0.05$),ox-LDL+CML 组较对照组增高 3.56 倍($P<0.05$),ox-LDL+CML+siRAGE 组较 ox-LDL+CML 组降低 1.79 倍($P<0.05$)。上述结果提示 CML 能够促使平滑肌细胞泡沫化,其可能与 RAGE 受体有关。

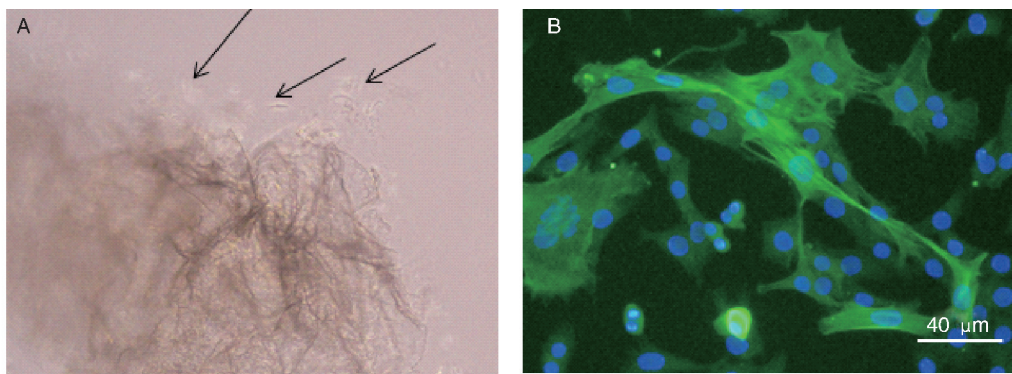


图 1. 原代 VSMC 培养及 α -SMA 细胞免疫荧光鉴定(200 \times) A 为光镜下培养 3 天后 VSMC 变化,B 为 α -SMA 细胞免疫荧光。
Figure 1. Primary VSMC culture and immunofluorescence identification for α -SMA(200 \times)

表 1.不同浓度 CML 影响平滑肌细胞内脂质含量($n=3$)

Table 1. Effects of different concentrations of CML on lipid content in vascular smooth muscle cells($n=3$)

分组	TC (mg/g)	FC (mg/g)	CE (mg/g)	CE/TC (%)
对照组	45.3 \pm 4.2	38.4 \pm 3.0	6.9 \pm 1.9	15.2
ox-LDL 模型组	95.3 \pm 20.2 ^a	58.7 \pm 15.1 ^a	36.6 \pm 5.4 ^a	38.4
ox-LDL+1 μ mol/L CML 组	122.6 \pm 20.3 ^b	75.5 \pm 15.2 ^b	47.0 \pm 6.9 ^b	36.9
ox-LDL+10 μ mol/L CML 组	177.8 \pm 19.1 ^b	81.8 \pm 11.9 ^b	96.0 \pm 7.9 ^b	51.8
ox-LDL+100 μ mol/L CML 组	270.6 \pm 7.0 ^b	145.0 \pm 20.9 ^b	125.6 \pm 24.7 ^b	46.3

a 为 $P<0.01$,与对照组比较;b 为 $P<0.01$,与 ox-LDL 模型组比较。

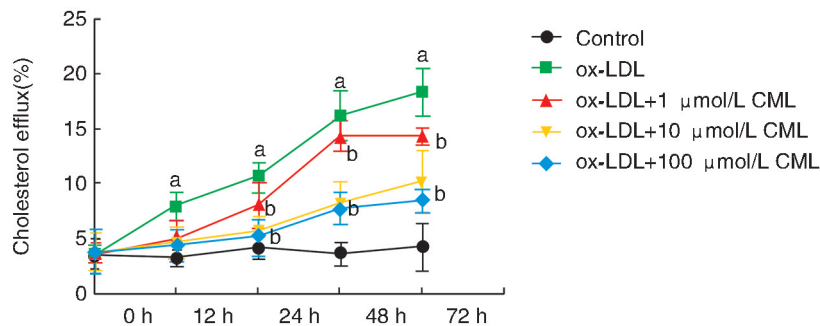


图 2. 不同浓度 CML 对胆固醇流出率的影响($n=3$) 分别为 0,1,10 和 100 μ mol/L 浓度的 CML 处理细胞后,使用 NBD-胆固醇作用细胞,在不同时间点收集细胞裂解液测定 FI 值。a 为 $P<0.01$,与对照组比较;b 为 $P<0.01$,与 ox-LDL 模型组比较。
Figure 2. Effect of different concentration of CML on cholesterol efflux($n=3$)

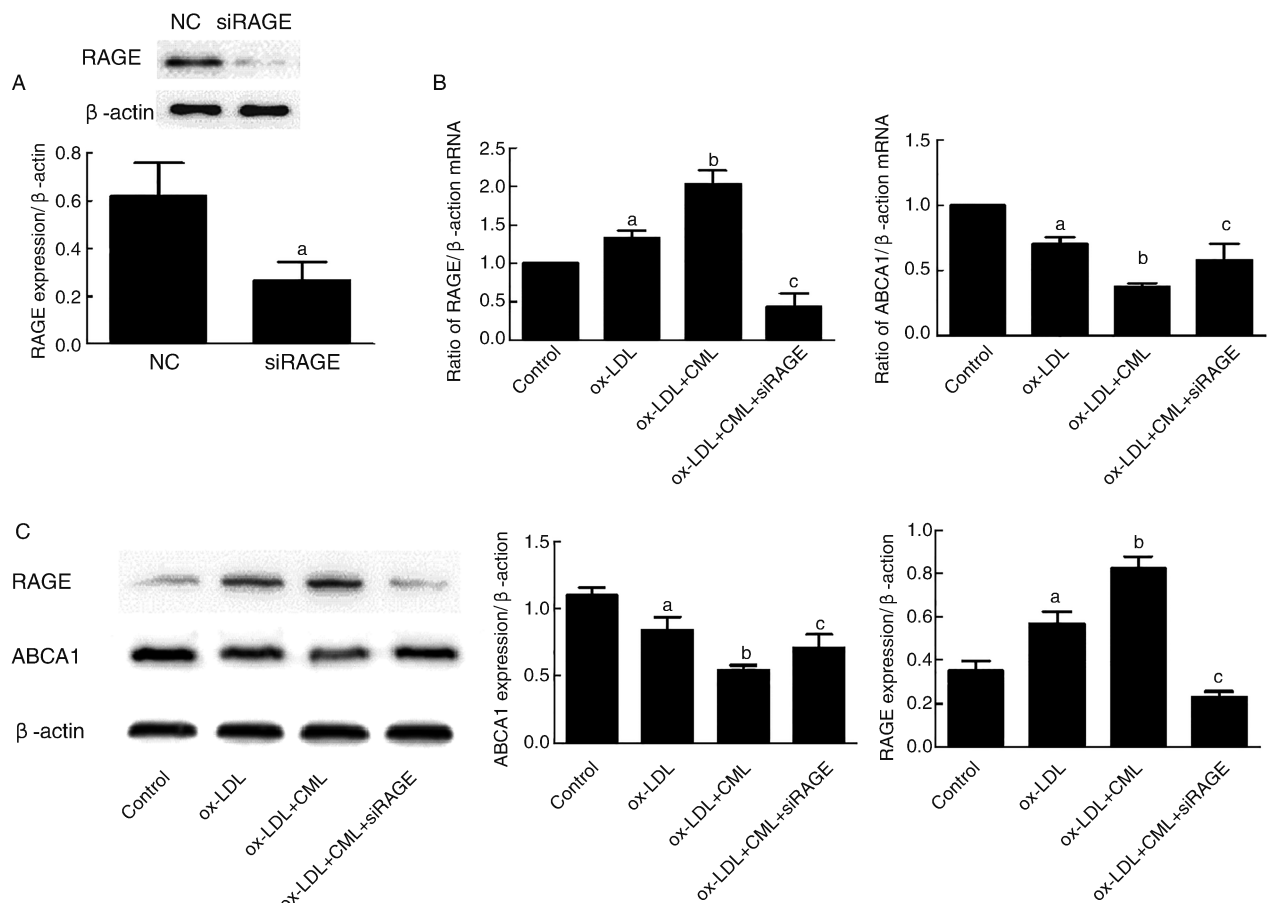


图 3. RAGE siRNA 干扰效率验证及 CML 对 RAGE 和 ABCA1 表达的影响($n=3$) A 为 RAGE siRNA 干扰效率验证, B 为经过上述分组处理后 RAGE 与 ABCA1 mRNA 水平改变, C 为经过上述处理后 RAGE 与 ABCA1 蛋白水平改变。a 为 $P<0.01$, 与对照组比较; b 为 $P<0.01$, 与 ox-LDL 模型组比较; c 为 $P<0.01$, 与 ox-LDL+CML 组比较。

Figure 3. Expression of RAGE and ABCA1 in each group ($n=3$)

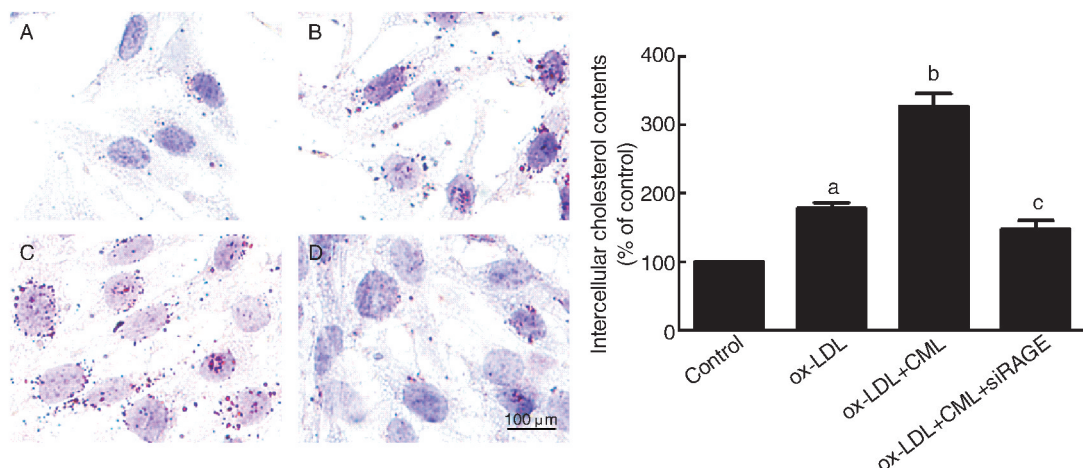


图 4. 油红 O 染色与油红萃取结果($n=3$) A 为对照组, B 为 ox-LDL 模型组, C 为 ox-LDL+CML 组, D 为 ox-LDL+CML+siRAGE 组。a 为 $P<0.01$, 与对照组比较; b 为 $P<0.01$, 与 ox-LDL 模型组比较; c 为 $P<0.01$, 与 ox-LDL+CML 组比较。

Figure 4. Oil red O staining and extraction ($n=3$)

3 讨论

泡沫细胞形成在动脉粥样硬化发生发展的各

环节都发挥着重要的作用^[11]。传统观念认为,在动脉粥样硬化过程中,各种促炎因子激活内皮细胞(endothelial cells, EC)黏附因子的表达并使内皮屏

障受损,这促使血液中的单核巨噬细胞与其黏附,进而进入内膜吞噬脂质形成泡沫细胞^[12-13]。其主要机制包括清道夫受体家族 CD36、LOX-1、SR-A1 介导的胆固醇和 ox-LDL 流入及 ATP 结合盒转运体 A1(ATP binding cassette transporter A1, ABCA1)和 ABCG1 参与的胆固醇逆向转运平衡^[14-15]。

在已有的研究中,诱导平滑肌细胞泡沫化的诱导物尚未完全明确,ox-LDL 作为巨噬细胞来源泡沫细胞的经典供体,在平滑肌细胞的泡沫化中作用效果并不明确^[16]。在我们的研究中,在原代平滑肌细胞中加入 ox-LDL 3 天后,胆固醇含量检测和油红 O 染色显示,与对照组相比,ox-LDL 能够促使脂质蓄积,结果有统计学意义,但 CE 含量与 TC 比小于 0.5,按传统观点认为并未形成经典的泡沫细胞^[17],加入 CML 共刺激后,平滑肌细胞内脂质明显增多,形成明显的泡沫细胞,提示 CML 对平滑肌细胞吞噬 ox-LDL 有促进作用。

有文献显示,糖基化终末产物最重要的受体 RAGE 在平滑肌细胞摄取 LDL 时必不可少,并且通过与血凝素样氧化低密度脂蛋白受体 1(LOX-1)的互相作用,促进平滑肌细胞源性泡沫细胞形成^[18]。本研究通过 Western blot 和 siRNA 干扰,证实了 RAGE 在 CML 促进平滑肌细胞泡沫化中发挥决定性作用,值得注意的是,在使用 siRNA 干扰 RAGE 表达后,平滑肌细胞脂质蓄积较单纯的 ox-LDL 刺激组更低,提示 ox-LDL 的摄取有部分由 RAGE 所介导。

ABCA1 以 ATP 为主要能源,促进细胞内胆固醇和磷脂游出,并结合到细胞表面的 ApoA I,从而调节胆固醇逆向转运和体内胆固醇平衡。有文献报道,ABCA1 的下调在平滑肌细胞泡沫化的过程中发挥重要作用,本研究中,我们发现在 ox-LDL 诱导平滑肌细胞泡沫化的过程中,ABCA1 的表达下调,且 CML 能够增加其下调,同时,siRAGE 处理后 ABCA1 降低明显减少。上述结论提示 CML 通过 RAGE 下调 ABCA1 的表达,抑制胆固醇外流。

综上所述,CML 通过 RAGE 促进平滑肌细胞泡沫化,此过程可能通过下调 ABCA1 抑制胆固醇外流途径有关。本实验为进一步了解动脉粥样硬化过程中胆固醇沉积以及泡沫细胞形成的机制提供了新的思路。

[参考文献]

[1] Tancredi M, Rosengren A, Svensson A M, et al. Excess mortality among persons with type 2 diabetes[J]. N Engl J Med, 2015, 373(18): 1720-1732.

- [2] Beckman JA, Paneni F, Cosentino F, et al. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part II[J]. Eur Heart J, 2013, 34: 2444-2452.
- [3] Shi Z, Nicholls SJ, Taylor AW, et al. Early life exposure to Chinese famine modifies the association between hypertension and cardiovascular disease[J]. Hypertension, 2018, 36(1): 54-60.
- [4] 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2017》概要[J].中国循环杂志,2018,33(1): 1-8.
- [5] 徐永中,徐绥宁,李丽华,等.清道夫受体 CD36 在 CML 抑制泡沫细胞迁徙中的作用[J].中国动脉硬化杂志,2017,25(12): 1201-1206.
- [6] Wang Z, Yan J, Li L, et al. Effects of N ϵ -carboxymethyl-lysine on ERS-mediated apoptosis in diabetic atherosclerosis[J]. Int J Cardiol, 2014, 172(3): e478-e483.
- [7] Nakashima Y, Wight TN, Sueishi K. Early atherosclerosis in humans: role of diffuse intimal thickening and extracellular matrix proteoglycans[J]. Cardiovasc Res, 2008, 79: 14-23.
- [8] Allahverdian S, Chehrroudi AC, McManus BM, et al. Contribution of intimal smooth muscle cells to cholesterol accumulation and macrophage-like cells in human atherosclerosis[J]. Circulation, 2014, 129: 1551-1559.
- [9] 莫中成,唐朝克.胆固醇逆向转运关键蛋白介导药物和小分子调控脂代谢的机制研究[J].中国动脉硬化杂志,2018,26(4): 325-328.
- [10] Chellan B, Reardon C A, Getz G S, et al. Enzymatically modified low-density lipoprotein promotes foam cell formation in smooth muscle cells via macropinocytosis and enhances receptor-mediated uptake of oxidized low-density lipoprotein[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2016, 36(6): 1101.
- [11] Chistiakov D A, Melnichenko A A, Myasoedova V A, et al. Mechanisms of foam cell formation in atherosclerosis[J]. J Mol Med, 2017(Suppl 1): 1-13.
- [12] Chistiakov D A, Orekhov A N, Bobryshev Y V. Endothelial barrier and its abnormalities in cardiovascular disease[J]. Front Physiol, 2015, 6: 365.
- [13] 马彩云,柳景华,王韶屏,等.内皮功能障碍与冠心病的研究[J].心肺血管病杂志,2016,35(6): 482-484.
- [14] Chistiakov D A, Bobryshev Y V, Orekhov A N. Macrophage-mediated cholesterol handling in atherosclerosis[J]. J Cell Mol Med, 2015, 20(1): 17-28.
- [15] Yu X H, Fu Y C, Zhang D W, et al. Foam cells in atherosclerosis[J]. Clin Chim Acta, 2013, 424: 245-252.
- [16] Vengrenyuk Y, Nishi H, Long X, et al. Cholesterol loading reprograms the miR-143/145-myocardin axis to convert aortic smooth muscle cells to a dysfunctional macrophage-like phenotype[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2015, 35(3): 535-546.
- [17] 周云,沃兴德,卢德赵. RAW264.7 巨噬细胞源性泡沫细胞模型的建立及鉴定[J].中国动脉硬化杂志,2010,18(9): 687-690.
- [18] Torzewski M. Enzymatically modified LDL, atherosclerosis and beyond: paving the way to acceptance[J]. Front Biosci, 2018, 23(4): 1257.

(此文编辑 许雪梅)