

## 沉默 MAP4K4 通过调控 PPAR $\gamma$ /ABCA1 通路缓解 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤

王玉香, 燕燕, 李永芳, 李艾帆, 李彦玲  
(郑州市第一人民医院神经内科, 河南省郑州市 450004)

[关键词] 动脉粥样硬化; 内皮细胞; MAP4K4; 氧化应激; 凋亡

[摘要] 目的 探讨丝裂原活化蛋白激酶(MAP4K4)在氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导的血管内皮细胞损伤中的作用及其机制。方法 采用 100 mg/L ox-LDL 诱导人脐静脉内皮细胞(HUVEC)建立细胞损伤模型。RT-PCR 检测 HUVEC 中 MAP4K4 的 mRNA 表达水平。Western blot 法测定 MAP4K4、Bax、Bcl-2、Cleaved Caspase-3(C-Caspase-3)、过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$ (PPAR $\gamma$ )和三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(ABCA1)蛋白表达量。CCK8 法检测细胞存活率。ELISA 试剂盒检测细胞凋亡。DCFH-DA 用于检测细胞活性氧(ROS)水平。丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性分别用其试剂盒进行检测。结果 ox-LDL 能明显上调 MAP4K4 的表达。另外,沉默 MAP4K4 能够显著增加细胞活性,且抑制 ox-LDL 诱导的细胞凋亡;同时可抑制 Bax 和 C-Caspase-3 的蛋白表达并促进 Bcl-2 的蛋白表达量。此外,下调 MAP4K4 能够明显抑制 ROS 生成及 MDA 含量,并增加抗氧化酶 SOD 和 CAT 活性。机制研究显示沉默 MAP4K4 能够激活 PPAR $\gamma$ /ABCA1 信号通路。结论 沉默 MAP4K4 通过激活 PPAR $\gamma$ /ABCA1 信号通路抑制 ox-LDL 诱导的 HUVEC 细胞凋亡和氧化应激从而减轻血管内皮细胞损伤,为治疗 As 提供理论依据。

[中图分类号] R541

[文献标识码] A

### Silencing of MAP4K4 alleviated ox-LDL-induced vascular endothelial cell injury via regulating PPAR $\gamma$ /ABCA1 signaling

WANG Yuxiang, YAN Yan, LI Yongfang, LI Aifan, LI Yanling

(Department of Neurology, the First People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou, Henan 450004, China)

[KEY WORDS] atherosclerosis; endothelial cell; MAP4K4; oxidative stress; apoptosis

[ABSTRACT] **Aim** The purpose of the present study was to investigate the potential role and mechanism of mitogen activated protein kinase kinase kinase 4 (MAP4K4) in human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) injury induced by oxidized low density lipoprotein (ox-LDL). **Methods** The cell injury model was induced by ox-LDL (100 mg/L). The mRNA expression of MAP4K4 was detected using RT-PCR assay. Western blot analysis was conducted to estimate the protein levels of MAP4K4, Bax, Bcl-2, C-Caspase-3, peroxisome proliferators-activated receptor $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) and ATP binding cassette transporter A1 (ABCA1). CCK8 assay was performed to measure cell viability. ELISA assay was applied to analyse cell apoptosis. The reactive oxygen species (ROS) production was measured by DCFH-DA assay. The content of malondialdehyde(MDA) and the activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were detected by commercially available assay kits. **Results** The expression of MAP4K4 was elevated in ox-LDL-stimulated HUVEC. In addition, silencing of MAP4K4 apparently enhanced cell viability and attenuated HUVEC apoptosis induced by ox-LDL accompanied by a decrease in the expression of Bax and C-Caspase-3 and an increase in the expression of Bcl-2. Moreover, MAP4K4 knockdown remarkably alleviated the generation of ROS and the content of MDA accompanied with the enhanced activity of anti-oxidative enzyme system SOD and CAT triggered by ox-LDL. Mechanically, ablation of MAP4K4 obviously activated PPAR $\gamma$ /ABCA1 signaling pathway. **Conclusion** Depletion of MAP4K4 relieves ox-LDL-induced

[收稿日期] 2019-12-16

[修回日期] 2020-03-03

[基金项目] 河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20190983)

[作者简介] 王玉香, 硕士, 主治医师, 主要从事脑血管疾病及阿尔茨海默病的研究, E-mail 为 1708616835@qq.com。通信作者李艾帆, 博士, 主任医师, 主要从事脑血管病的基础与临床研究, E-mail 为 liaifangnm@163.com。

vascular endothelial injury by reducing apoptosis and mitigating oxidative damage via PPAR $\gamma$ /ABCA1 activation, thus providing the basis for the therapeutic effect of MAP4K4 on the As.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是引发脑梗死的关键原因,其中最为重要的是颈动脉粥样硬化。当颈动脉粥样硬化不稳定斑块脱落或不断的扩大可阻塞血管,进而减少颈动脉相应供血区域血液的供应,从而造成短暂性脑缺血及脑梗死。氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)是一种促 As 发生因子,在 As 发生时其生成增加,能够损伤血管内皮细胞<sup>[1]</sup>。越来越多的报道表明血管内皮细胞损伤及功能改变是 As 发生发展的始动环节<sup>[2]</sup>,而血管壁内沉积的 ox-LDL 是血管内皮细胞凋亡的诱导因子。ox-LDL 诱导的氧化应激是引起内皮细胞损伤的主要原因之一<sup>[3]</sup>。ox-LDL 可通过诱导细胞内氧化应激和内质网应激导致内皮细胞凋亡<sup>[2,4]</sup>。因此,抑制 ox-LDL 介导的内皮损伤有望成为预防或缓解 As 进展的有效措施。

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase kinase kinase 4, MAP4K4)是丝/苏氨酸激酶亚家族 STE20/MAP4K 中的一员,属于 MAPK 信号通路的上游激酶。MAP4K4 在免疫调节、炎症反应、代谢疾病、心血管疾病等生理及病理进程中发挥着非常重要的作用。有研究报道 MAP4K4 在小鼠和人类的 ECs 和 As 斑块中大量表达<sup>[5]</sup>,且 MAP4K4 能够增强内皮细胞通透性,促进炎症和 As 的发生<sup>[5-6]</sup>。本研究拟通过 ox-LDL 刺激人脐静脉内皮细胞(HUVEC)建立体外细胞损伤模型,探讨 MAP4K4 在 ox-LDL 处理后的血管内皮细胞凋亡及氧化应激中的作用,以明确 MAP4K4 在 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤中的作用机制,以期 As 的预防及治疗提供新靶标。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

人脐静脉血管内皮细胞 HUVEC(ATCC, 美国);DMEM 培养基以及胎牛血清(Gibco 公司, 美国);TRIzol 试剂(Invitrogen 公司, 美国);SYBR Green Master 荧光定量 PCR 试剂及细胞凋亡检测试剂盒(Cell Death Detection ELISA Kit)(Roche 公司, 美国);Prime Script 反转录试剂(TaKaRa 公司, 日本);PVDF 膜和 ECL 发光液(Millipore 公司, 美国);BCA 蛋白定量试剂盒(Thermo 公司, 美国);anti-MAP4K4 抗体、anti-Bcl-2 抗体、anti-Bax 抗体、anti-

ABCA1 抗体和 anti-GAPDH 抗体(Abcam 公司, 美国)及 anti-C-Caspase-3 抗体和 anti-PPAR $\gamma$  抗体(Santa Cruz 公司, 美国);MTT 试剂盒(Sigma 公司, 美国);ROS 试剂盒(上海碧云天公司);丙二醛(MDA)试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒和过氧化氢酶(CAT)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

### 1.2 细胞培养

将 HUVEC 培养在含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中,置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中。2~3 天换液一次,当细胞融合度至 80% 左右时常规传代。

### 1.3 细胞转染和处理

按照 Lipofectamine 2000 转染试剂说明书,分别将 MAP4K4 siRNA 和阴性对照(negative control, NC)转染到 HUVEC。MAP4K4 siRNA 序列为 5'-CAG UCG CGU UUG CGA CUG G-3', siRNA 阴性对照序列为 5'-GAC CAA CUC UGG CUU GUU A-3'。转染 24 h 后,再用 100 mg/L ox-LDL 处理 24 h。分别用 RT-PCR 和 Western blot 测定细胞中 MAP4K4 水平以评估转染效率。

### 1.4 RT-PCR 检测目标 mRNA 表达量

用 TRIzol 试剂提取细胞总 RNA,参照说明书进行操作,并检测浓度。将 RNA 反转录合成 cDNA,操作步骤参照 Prime-Script 反转录试剂盒说明书。采用 SYBR Green Master 荧光定量 PCR 试剂在 7900HT 荧光定量 PCR 仪上进行反应,以检测目的基因的相对表达水平。MAP4K4 的引物序列为 F: 5'-GGG GAA CGC TTC AGA GTG AG-3'; R: 5'-GTG CGG TCA GAT CAG CAG G-3'。GAPDH 的引物序列为 F: 5'-ATG TTC GTC ATG GGT GTG AA-3'; R: 5'-GGT GCT AAG CAG TTG GTG GT-3'。PCR 引物由上海生工生物工程股份有限公司合成。

### 1.5 Western blot 检测蛋白表达水平

收集各组细胞,按照试剂盒说明书步骤提取各组细胞总蛋白,使用 BCA 方法测定蛋白浓度。经 SDS-PAGE 电泳,然后电转到 PVDF 膜上,经过 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h,加入 MAP4K4、Bax、Bcl-2、C-Caspase-3、PPAR $\gamma$ 、ABCA1 和 GAPDH 抗体 4 °C 孵育过夜, TBST 洗膜,加入 HRP 标记的二抗室温孵育 2 h, TBST 洗膜, ECL 发光液曝光显影,并拍照,用 Image J 软件分析目的条带灰度值。以 GAPDH 作为内参。

## 1.6 MTT 检测细胞存活率

将处于对数生长期的 HUVEC ( $5 \times 10^4$  个/mL) 均匀接种到 96 孔板中, 放置于细胞培养箱中孵育, 每孔加 5 g/L MTT 试剂 20  $\mu$ L, 置于 37  $^{\circ}$ C、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中孵育 4 h, 离心去除上清液。每孔加入 150  $\mu$ L DMSO, 37  $^{\circ}$ C 培养箱中孵育 30 min, 震荡使得充分溶解结晶物, 用酶标仪检测各孔在 490 nm 处的吸光度值。

## 1.7 ELISA 检测细胞凋亡

将细胞以  $5 \times 10^4$  个/mL 接种至 6 孔板中, 按试验设计各组进行处理后, 用 ELISA 检测试剂盒检测细胞凋亡, 具体操作步骤参照试剂盒说明书。

## 1.8 ROS 含量测定

ROS 水平运用活性氧检测试剂盒, 操作步骤参照试剂盒说明说进行。将 DCFH-DA 用无血清培养液稀释至 10  $\mu$ mol/L。收集各组细胞, 然后每孔加入稀释后的 DCFH-DA 避光孵育 30 min, PBS 洗涤 3 次后, 用流式细胞仪检测细胞内 ROS 含量。

## 1.9 抗氧化指标 MDA、SOD 和 CAT 的检测

收集各组细胞上清液, 严格按试剂盒说明书方

法, 检测细胞内 MDA 含量及 SOD 和 CAT 的活性。

## 1.10 统计学分析

采用 SPSS 21.0 以及 GraphPad Prism 7 软件对所有数据进行统计分析, 计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用 One-way ANOVA。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Ox-LDL 上调人脐静脉内皮细胞 MAP4K4 的表达

采用 100 mg/L ox-LDL 处理 HUVEC 24 h 后, 运用 RT-PCR 和 Western blot 检测 HUVEC 中 MAP4K4 mRNA 和蛋白的表达水平。结果显示, ox-LDL 能显著上调 HUVEC 中 MAP4K4 mRNA 的表达量 (图 1A)。Western blot 结果也显示细胞中 MAP4K4 蛋白的表达趋势和 mRNA 变化一致 (图 1B)。为进一步探讨 MAP4K4 对 ox-LDL 诱导的内皮损伤的影响, 通过转染 shMAP4K4 后细胞中 MAP4K4 的表达显著降低 (图 1)。

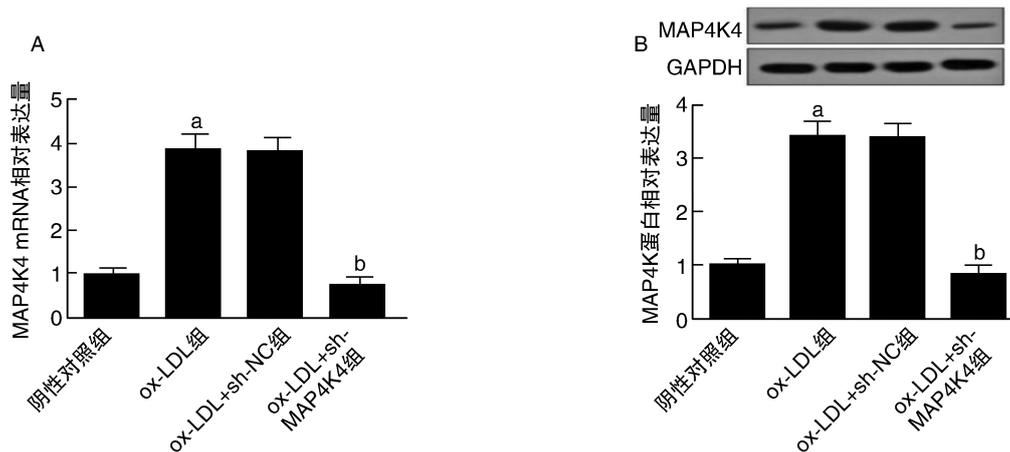


图 1. Ox-LDL 对人脐静脉内皮细胞中 MAP4K4 表达的影响 ( $n=3$ )

A 为 RT-PCR 检测 MAP4K4 mRNA 表达水平。B 为 Western blot 检测 MAP4K4 蛋白表达量。

a 为  $P < 0.05$ , 与阴性对照组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与 ox-LDL 组比较。

Figure 1. Effects of ox-LDL on MAP4K4 expression in human umbilical vein endothelial cell ( $n=3$ )

### 2.2 MAP4K4 沉默抑制 ox-LDL 诱导的 HUVEC 凋亡

Ox-LDL 诱导的氧化应激通常伴随着细胞凋亡, 因此探讨 MAP4K4 对 ox-LDL 诱导的 HUVEC 凋亡的影响。MTT 结果显示, 与阴性对照组比较, ox-LDL 组细胞存活率呈降低趋势, MAP4K4 沉默明显增加细胞存活率 (图 2A,  $P < 0.05$ )。ELISA 结果显示, 与阴性对照组比较, ox-LDL 组细胞凋亡率明显

增加, 而 MAP4K4 沉默后细胞凋亡率降低 (图 2B;  $P < 0.05$ )。Western blot 检测发现, 与阴性对照组比较, ox-LDL 组 Bcl-2/Bax 明显降低, 且 C-Caspase-3 表达明显上调 ( $P < 0.05$ ); 与 ox-LDL 组比较, MAP4K4 沉默后 Bcl-2/Bax 升高, 而 C-Caspase-3 表达量下降 (图 2C ~ E;  $P < 0.05$ )。上述结果提示沉默 MAP4K4 对 ox-LDL 诱导的 HUVEC 凋亡具有明显的抑制作用。

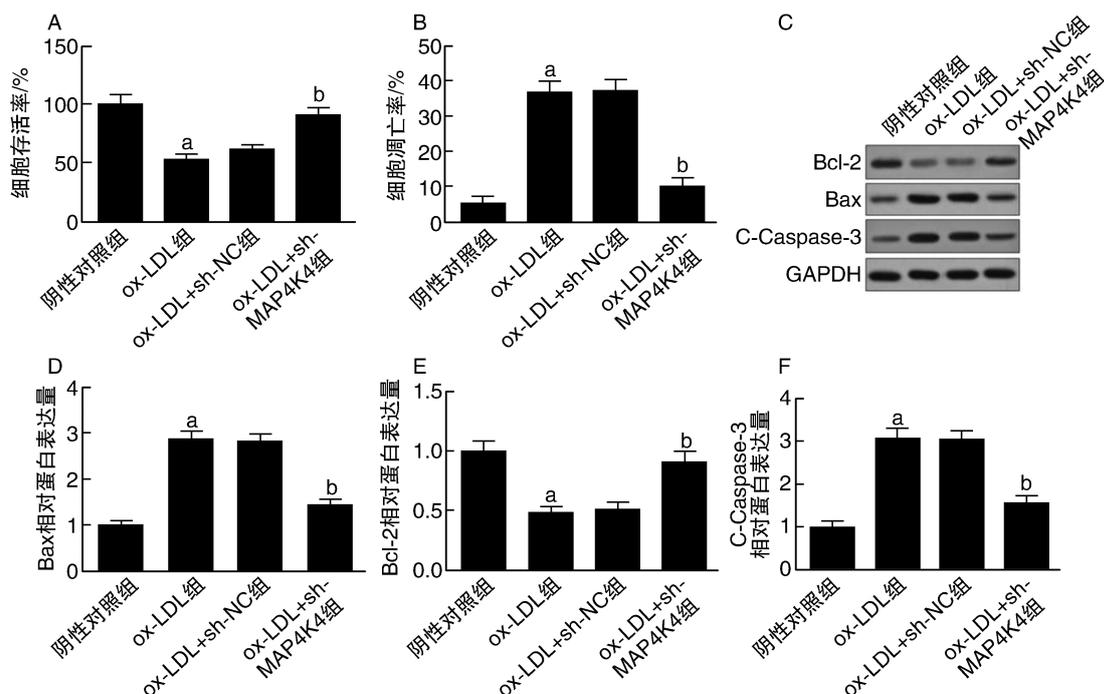


图 2. MAP4K4 对 ox-LDL 诱导的 HUVEC 凋亡的影响 ( $n=3$ )

A 为 MTT 检测细胞存活率; B 为 ELISA 测定细胞凋亡率; C ~ F 为 Western blot 检测凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax 和 C-Caspase-3 的表达量。a 为  $P<0.05$ , 与阴性对照组比较; b 为  $P<0.05$ , 与 ox-LDL 组比较。

Figure 2. Effects of MAP4K4 on ox-LDL-induced apoptosis in HUVEC ( $n=3$ )

### 2.3 MAP4K4 沉默抑制 ox-LDL 诱导的 HUVEC 氧化应激损伤

ox-LDL 能够通过诱导氧化应激反应从而导致内皮细胞损伤, 因此, 进一步探讨 MAP4K4 对 ox-LDL 刺激 HUVEC 氧化应激水平的影响。与阴性对照组比较, ox-LDL 组 ROS 显著增加, 而 MAP4K4 沉默可抑制 ox-LDL 诱导的 ROS 水平 (均  $P<0.05$ )。

与阴性对照组比较, ox-LDL 组细胞 MDA 水平明显增加, 而 SOD 和 CAT 水平明显下降 (均  $P<0.05$ )。与 ox-LDL 组比较, MAP4K4 沉默后 MDA 水平明显下降, SOD 和 CAT 水平明显增加 (均  $P<0.05$ ), 上述结果提示 MAP4K4 可减缓 ox-LDL 对血管内皮细胞氧化损伤 (图 3)。

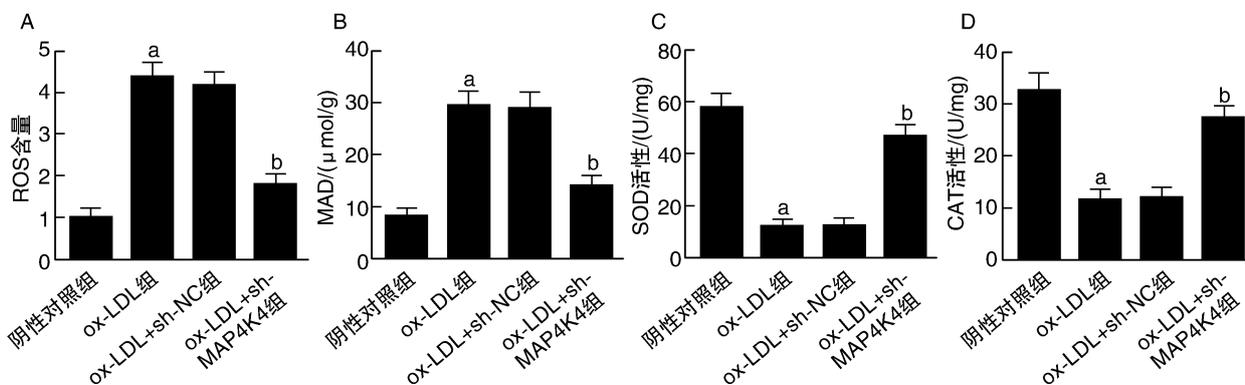


图 3. MAP4K4 对 ox-LDL 诱导的 HUVEC 氧化应激的影响 ( $n=3$ )

A 为采用 DCFH-DA 检测 ROS 的含量; 试剂盒检测 MDA 含量 (B) 及 SOD (C) 和 CAT (D) 活性。

a 为  $P<0.05$ , 与阴性对照组比较; b 为  $P<0.05$ , 与 ox-LDL 组比较。

Figure 3. Effects of MAP4K4 on ox-LDL-induced oxidative stress in HUVEC ( $n=3$ )

### 2.4 MAP4K4 沉默能够激活 PPAR $\gamma$ /ABCA1 信号通路

进而探讨 MAP4K4 对内皮细胞氧化应激和凋

亡的调控机制。应用 Western blot 方法检测 PPAR $\gamma$  和 ABCA1 蛋白的表达变化。结果显示 MAP4K4 沉默后, PPAR $\gamma$  和 ABCA1 的蛋白水平显著升高, 提示沉

默 MAP4K4 能够激活 ox-LDL 处理的 HUVEC PPAR $\gamma$ /ABCA1 信号通路(图 4),表明 MALAT1 通过调控

PPAR $\gamma$ /ABCA1 通路从而调节内皮细胞凋亡和氧化应激损伤。

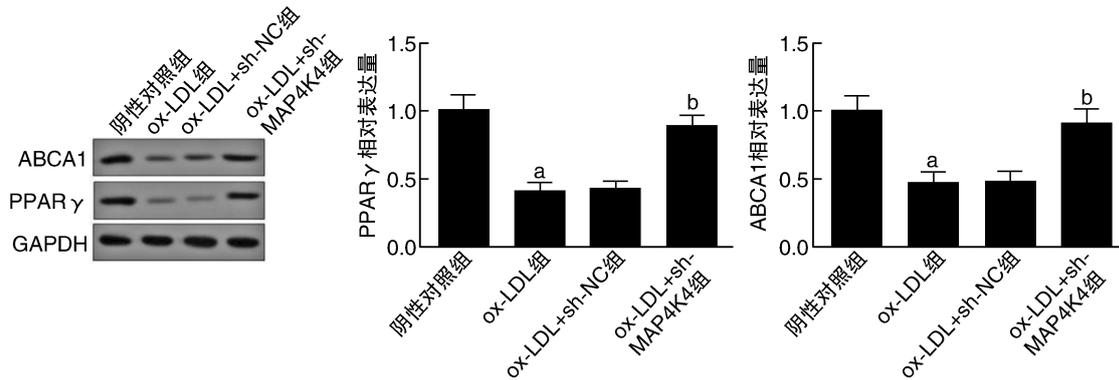


图 4. MAP4K4 对 PPAR $\gamma$ /ABCA1 信号通路的影响 ( $n=3$ )

Western blot 测定 PPAR $\gamma$  和 ABCA1 的蛋白表达量。a 为  $P<0.05$ , 与阴性对照组比较; b 为  $P<0.05$ , 与 ox-LDL 组比较。

Figure 4. Effects of MAP4K4 on PPAR $\gamma$ /ABCA1 signaling ( $n=3$ )

### 3 讨论

As 在脑梗死的发病中有着至关重要的作用,其中颈动脉粥样硬化与脑梗死的发生更为密切。血管内皮细胞损伤在 As 的发生发展中起到重要促进作用<sup>[7]</sup>。当内皮细胞处于正常生理状态下,细胞增殖和凋亡维持平衡,从而使得血管发挥正常功能<sup>[8]</sup>。当 As 发生时,ox-LDL 等因素会刺激血管内皮细胞,使得细胞发生异常凋亡及氧化应激等反应,从而破坏了血管组织,最终导致血管功能失常。有研究证实,内皮细胞的过度凋亡是内皮功能障碍的始动发病机制<sup>[9]</sup>,在 As 发生和发展中起重要作用,而抑制内皮细胞凋亡和保持内皮细胞活性有望成为预防和治疗 As 的重要措施。本研究结果显示,ox-LDL 刺激后细胞活力明显降低,而敲减 MAP4K4 后细胞活力有所增加,揭示沉默 MAP4K4 可缓解 ox-LDL 刺激导致的细胞损伤。另外,ox-LDL 刺激诱导细胞凋亡,与此同时 Bax 和 C-Caspase-3 的表达增加,Bcl-2 的表达下降;而沉默 MAP4K4 可抑制 ox-LDL 诱导凋亡,且降低 Bax 和 Caspase-3 的表达,并促进 Bcl-2 表达,由此表明敲减 MAP4K4 对 ox-LDL 引起的细胞损伤具有保护作用的重要机制。

氧化应激是引发 As 内皮细胞损伤的关键机制<sup>[10-11]</sup>。ox-LDL 刺激使得血管内皮细胞中抗氧化酶 SOD 活性降低,导致细胞内 ROS 不能够及时被清除,而且 ROS 能够激活细胞中 Caspase 凋亡反应,从而引发细胞凋亡<sup>[12-13]</sup>。本研究发现 ox-LDL 刺激 HUVEC 后,ROS 水平及 MDA 含量升高,且 SOD 和 CAT 活性有所降低,说明 ox-LDL 造成血管内皮细胞

功能损伤,而 MAP4K4 沉默后抑制 ROS 的生成及 MDA 含量,且 SOD 和 CAT 活性升高,说明下调 MAP4K4 能够保护 HUVEC 抵抗 ox-LDL 诱导的氧化应激损伤。

有研究表明,在 As 病变中三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ATP binding cassette transporter A1, ABCA1) 表达降低,这种降低与炎症反应增强和动脉粥样硬化进展有关<sup>[14]</sup>。另有研究报道 ABCA1 通过促进胆固醇外排和抑制炎症抑制动脉粥样硬化发生<sup>[15]</sup>。ABCA1 在调节胆固醇外流、抗炎及内皮保护中发挥重要作用<sup>[16]</sup>。有研究发现载脂蛋白 AI 拟肽 5A 不仅对 ABCA1 介导的胆固醇外排高度特异性,而且通过与 ABCA1 相互作用保护内皮细胞免受急性炎症和氧化应激的影响<sup>[17]</sup>。此外,载脂蛋白 AI 拟肽 D-4F 通过 PI3K/Akt/AMPK/eNOS/HO-1 信号通路抑制 ox-LDL 诱导的内皮细胞氧化应激、炎症反应、凋亡从而促进内皮修复,而 ABCA1 在此过程中发挥重要作用<sup>[18]</sup>,表明 ABCA1 具有抗炎、抗氧化应激及抗凋亡作用。多项研究证实,PPAR $\gamma$  促进 ABCA1 表达,并在胆固醇外排方面发挥了重要作用<sup>[19-20]</sup>。CUMS 促进 As 的发生可能是通过 HMGB1 介导的 PPAR $\gamma$ /LXR $\alpha$ -ABCA1 信号通路<sup>[21]</sup>。此外,MAP4K4 负调控 PPAR $\gamma$  的表达<sup>[22]</sup>。本研究发现下调 MAP4K4 能够升高 ox-LDL 处理的 HUVEC 中 PPAR $\gamma$  和 ABCA1 蛋白表达水平,表明能够激活 PPAR $\gamma$ /ABCA1 信号通路。由此推测,MAP4K4 通过作用于 PPAR $\gamma$ /ABCA1 通路调控 ox-LDL 介导的 HUVEC 凋亡进程和氧化损伤。

总之,MAP4K4 沉默可抑制 ox-LDL 诱导的血管

内皮细胞凋亡,缓解氧化应激损伤,这与 PPAR $\gamma$ /ABCA1 信号通路的激活有关。本实验结果为明确 MAP4K4 在动脉粥样硬化性心血管系统疾病中的作用奠定了基础,为动脉粥样硬化性心血管疾病的预防和治疗提供新的靶标和方向。

#### [参考文献]

- [1] Tabas I, Williams KJ, Borén J. Subendothelial lipoprotein retention as the initiating process in atherosclerosis: update and therapeutic implications [J]. *Circulation*, 2007, 116 (16): 1832-1844.
- [2] Cao L, Zhang Z, Li Y, et al. LncRNA H19/miR-let-7 axis participates in the regulation of ox-LDL-induced endothelial cell injury via targeting periostin [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 72: 496-503.
- [3] Itabe H. Oxidized low-density lipoprotein as a biomarker of in vivo oxidative stress: from atherosclerosis to periodontitis [J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2012, 51(1): 1-8.
- [4] Yuan W, Chang HS, Liu X, et al. Brazilian green propolis inhibits ox-LDL-stimulated oxidative stress in human umbilical vein endothelial cell partly through PI3K/Akt/mTOR mediated Nrf2/HO-1 pathway [J]. *Evid-Based Compl Alt*, 2019, 2019: 5789574.
- [5] Roth FR, Skoura A, Matevossian A, et al. Endothelial protein kinase MAP4K4 promotes vascular inflammation and atherosclerosis [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8995.
- [6] Pannekoek WJ, Linnemann JR, Brouwer PM, et al. Rap1 and RAP2 antagonistically control endothelial barrier resistance [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e57903.
- [7] Mano T, Masuyama T, Yamamoto K, et al. Endothelial dysfunction in the early stage of atherosclerosis precedes appearance of intimal lesions assessable with intravascular ultrasound [J]. *Am Heart J*, 1996, 131(2): 231-238.
- [8] Gimbrone J, Garcia CG. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2016, 118(4): 620-636.
- [9] Mallat Z, Tedgui A. Rate of apoptosis in human atherosclerosis [J]. *Am J Pathol*, 1998, 153(4): 1320-1321.
- [10] Chrissobolis S, Miller AA, Drummond GR, et al. Oxidative stress and endothelial dysfunction in cerebrovascular disease [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2011, 16: 1733-1745.
- [11] Husain K, Hernandez W, Ansari RA, et al. Inflammation, oxidative stress and renin angiotensin system in atherosclerosis [J]. *World J Biol Chem*, 2015, 6(3): 209-217.
- [12] Yang Q, Wang CY, Jin YE, et al. Disocin prevents postmenopausal atherosclerosis in ovariectomized LDLR<sup>-/-</sup> mice through a PGC-1 $\alpha$ /ER $\alpha$  pathway leading to promotion of autophagy and inhibition of oxidative stress, inflammation and apoptosis [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 148: 104414.
- [13] Cominacini L, Pasini AF, Garbin U, et al. Oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) binding to ox-LDL receptor-1 in endothelial cell induces the activation of NF-kappaB through an increased production of intracellular reactive oxygen species [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275 (17): 12633-12638.
- [14] Lin XL, Hu HJ, Liu YB, et al. Allicin induces the up-regulation of ABCA1 expression via PPAR $\gamma$ /LXR $\alpha$  signaling in THP-1 macrophage-derived foam cell [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 39(6): 1452-1460.
- [15] Lake NJ, Taylor RL, Trahair H, et al. TRAK2, a novel regulator of ABCA1 expression, cholesterol efflux and HDL biogenesis [J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(48): 3579-3587.
- [16] Westerterp M, Bochem AE, Yvan-Charvet L, et al. ATP-binding cassette transporters, atherosclerosis, and inflammation [J]. *Circ Res*, 2014, 114(1): 157-170.
- [17] Tabet F, Remaley AT, Segaliny AI, et al. The 5a apolipoprotein A-I mimetic peptide displays antiinflammatory and antioxidant properties in vivo and in vitro [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(2): 246-252.
- [18] Liu D, Ding ZZ, Wu MZ, et al. The apolipoprotein A-I mimetic peptide, D-4F, alleviates ox-LDL-induced oxidative stress and promotes endothelial repair through the eNOS/HO-1 pathway [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2017, 105: 77-88.
- [19] Chawla A, Boisvert WA, Lee CH, et al. A PPAR gamma-LXR-ABCA1 pathway in macrophages is involved in cholesterol efflux and atherogenesis [J]. *Mol Cell*, 2001, 7(1): 161-171.
- [20] Ozasa H, Ayaori M, Iizuka M, et al. Pioglitazone enhances cholesterol efflux from macrophages by increasing ABCA1/ABCG1 expressions via PPAR $\gamma$ /LXR $\alpha$  pathway: findings from in vitro and ex vivo studies [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 219(1): 141-150.
- [21] Gu HF, Li N, Xu ZQ, et al. Chronic unpredictable mild stress promotes atherosclerosis via HMGB1/TLR4-Mediated downregulation of PPAR $\gamma$ /LXR $\alpha$ /ABCA1 in ApoE<sup>-/-</sup> mice [J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 165.
- [22] Guntur KV, Guilherme A, Xue L, et al. MAP4K4 negatively regulates peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma protein translation by suppressing the mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway in cultured adipocytes [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(9): 6595-6603.

(此文编辑 朱雯霞)