

氧化型低密度脂蛋白对人血管平滑肌细胞透明质酸表达的影响及机制

梁雅林, 张慧, 宁雕

(洛阳市第三人民医院, 河南省洛阳市 471002)

[关键词] 氧化型低密度脂蛋白; 人主动脉血管平滑肌细胞; 透明质酸; 凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体 1

[摘要] **目的** 观察氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)对人主动脉血管平滑肌细胞透明质酸(HA)合成的影响,并初步探究其分子机制。**方法** 体外培养人主动脉血管平滑肌细胞 T/G HAVSMC,使用不同浓度(10、25、50、75、100 mg/L) ox-LDL 对 T/G HAVSMC 细胞进行干预,使用 CCK-8 法检测细胞存活率,并进行分组分析。采用浓度为 25 和 50 mg/L 的 ox-LDL 干预 T/G HAVSMC 细胞 48 h,并设置天然 LDL(native-LDL, N-LDL)组(50 mg/L 的 N-LDL)和对照组,使用 HPLC 法测定 HA 含量,使用实时定量 PCR 检测透明质酸合成酶 2(HAS2)和透明质酸合成酶 3(HAS3)的 mRNA 表达,使用 Western blot 法检测凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体 1(LOX-1)、低密度脂蛋白受体相关蛋白 1(LRP-1)、氧化脂蛋白的清道夫受体(SR-PSOX)以及脂肪酸转位酶(CD36)的表达。**结果** 低于 100 mg/L 的 ox-LDL 对 T/G HAVSMC 细胞无明显细胞毒性。25 mg/L 和 50 mg/L ox-LDL 组 HA 含量、HAS2 和 HAS3 的 mRNA 表达量明显高于 N-LDL 组和对照组($P < 0.05$), N-LDL 组与对照组组间差异无显著性($P > 0.05$)。25 mg/L 和 50 mg/L ox-LDL 组 LOX-1 表达明显高于 N-LDL 组和对照组($P < 0.05$),而 LRP-1、SR-PSOX 和 CD36 表达无明显变化($P > 0.05$)。**结论** ox-LDL 能够诱导人主动脉平滑肌细胞中 HA 的合成,其机制可能与结合 LOX-1 有关。

[中图分类号] R363;R5

[文献标识码] A

Effect of oxidized low density lipoprotein on hyaluronic acid expression in human vascular smooth muscle cells and its mechanism

LIANG Yalin, ZHANG Hui, NING Diao

(Luoyang Third People's Hospital, Luoyang, Henan 471002, China)

[KEY WORDS] oxidized low density lipoprotein; human aortic vascular smooth muscle cells; hyaluronan; LOX-1

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) on the synthesis of hyaluronic acid (HA) in human aortic vascular smooth muscle cells (HAVSMC), and explore its molecular mechanism.

Methods The T/G HAVSMC were cultured in vitro with different concentration of ox-LDL (10, 25, 50, 75, 100 mg/L), the CCK-8 method was used to measure the cell proliferation and grouping analysis was carried out. T/G HAVSMC were treated with ox-LDL at concentrations of 25 and 50 mg/L for 48 hours. Natural LDL (N-LDL) group (50 mg/L N-LDL) and control group were set up. HPLC was used to determine the HA content, real-time quantitative PCR was used to detect the mRNA level of hyaluronic acid synthetase 2 (HAS2) and hyaluronic acid synthase 3 (HAS3), Western blot was used to detect the protein level of lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 (LOX-1), low-density lipoprotein receptor-related protein-1 (LRP), scavenger receptor for phosphatidylserine and oxidized lipoprotein (SR-PSOX) and cluster of differentiation 36 (CD36). **Results** After 48 h intervention, ox-LDL had no significant cytotoxicity on T/G HAVSMC cells. After 25 and 50 mg/L ox-LDL intervention for 48 h, the content of HA were significantly higher than those in the N-LDL group and the control group ($P < 0.05$), the mRNA expression levels of HAS2 and HAS3 were significantly higher than those in the N-LDL group and the control group ($P < 0.05$), and there was no significant difference between the N-LDL group and the control group ($P > 0.05$). The expression of LOX-1 in 25 mg/L ox-LDL group and 50 mg/L ox-LDL group was significantly higher than that in the N-LDL group and the control group ($P < 0.05$), while the expres-

sion of LRP-1, SR-PSOX and CD36 showed no significant change ($P>0.05$). **Conclusion** ox-LDL could induce the synthesis of HA in human aortic smooth muscle cells, and its mechanism may be related to the combination of LOX-1.

动脉粥样硬化是心血管疾病最常见的病理基础,以血管壁内脂质、炎症因子聚集为主要特征^[1]。局部炎症导致动脉壁增厚,其机制在于细胞外基质(extracellular matrix, ECM)沉积的增加,新形成的ECM在血管壁内捕获脂蛋白和炎症因子,促进粥样硬化斑块产生^[2]。透明质酸(hyaluronan, HA)是一种非硫酸盐的糖胺聚糖,在人体内HA相对分子质量在5 kDa到20 000 kDa之间,是ECM的主要成分之一^[3]。在包括人血管平滑肌细胞等多种细胞中,正常生理或病理条件下HA均分泌于胞外并参与ECM组成^[4]。研究表明在动脉粥样硬化斑块形成的过程中,HA过表达并在血管壁大量堆积,参与细胞迁移、增殖和白细胞黏附,是血管壁增厚的重要促进因素^[5]。氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)是动脉粥样硬化形成和发展过程中的重要危险因素,其与HA分泌的相关性尚未得到清晰阐述^[6]。本研究拟探究ox-LDL与人主动脉血管平滑肌细胞(human aortic vascular smooth muscle cells, HAVSMC)HA分泌的相关性,并初步探讨其分子机制。

1 材料和方法

1.1 主要材料

人T/G HAVSMC购自中国典型培养物保藏中心。SmGM-2培养基(Gibco,美国);胎牛血清(杭州四季青);CCK-8(南京建成生物科技公司);天然LDL(native-LDL, N-LDL,北京协生生物有限公司);RNA提取试剂及实时定量PCR试剂盒(宝生物工程(大连)有限公司);蛋白裂解液及硝酸纤维素膜(Sigma,美国);凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体1(lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1, LOX-1)一抗及低密度脂蛋白受体相关蛋白1(low-density lipoprotein receptor-related protein-1, LRP-1)一抗(Santa,美国);脂肪转位酶(cluster of differentiation 36, CD36)一抗、氧化脂蛋白的清道夫受体(scavenger receptor for phosphatidylserine and oxidized lipoprotein, SR-PSOX)一抗、 β -actin一抗及羊抗兔二抗(Thermo,美国)。细胞培养箱(HEPA CLASS 100,美国Thermo Scientific公司);酶标仪(MODEL 680,美国Bio-Rad公司);电子天平(FA2004A,上海精天电子仪器);高速冷冻离心机

(SK-30,美国SIGMA公司);倒置相差显微镜(DFC-259,德国Leica公司);全自动凝胶成像分析系统(GelDoc EZ,美国Bio-Rad公司);实时荧光定量PCR仪(LightCycler 480 II,德国Roche公司)。

1.2 ox-LDL的制备及鉴定

将N-LDL置于磷酸盐缓冲液中透析24 h,除去乙二胺四乙酸,随后置于含10 mmol/L硫酸铜的PBS缓冲液中,37℃氧化修饰24 h。氧化修饰后的LDL置于含100 μ mol/L乙二胺四乙酸的PBS缓冲液中终止氧化。超滤除菌后使用考马斯亮蓝法测定蛋白浓度,调整蛋白浓度用于后续实验。通过SDS-PAGE纯化蛋白,使用硫代巴比妥酸法测定丙二醛含量,当丙二醛浓度在9.6~16.2 μ mol/L范围内时,证明氧化成功。

1.3 细胞培养

人T/G HAVSMC培养于37℃、5%CO₂和100%饱和湿度的CO₂培养箱中,使用添加10%胎牛血清的SmGM-2培养基。每隔2~3天换液一次,当细胞融合度超过90%时,传代培养。

1.4 CCK-8法检测人T/G HAVSMC体外增殖

收集对数生长期细胞,调整细胞悬液浓度,以每孔5 000个细胞的密度将T/G HAVSMC加入到96孔板中。分别给予含不同质量浓度(10、25、50、75、100 mg/L)的N-LDL或ox-LDL的培养基,并设置不添加N-LDL或ox-LDL的对照组,以空白孔调零,每组设3个复孔,培养48 h。培养结束后,加入CCK-8试剂并避光培养4 h。使用酶标仪测定各孔OD_{450 nm}值,细胞存活率=(OD值_{给药组}-OD值_{空白孔})/(OD值_{对照组}-OD值_{空白孔})。

1.5 HA含量测定

收集对数生长期细胞,以每孔 5.0×10^5 个细胞接种于6孔板中,分别设立对照组、N-LDL组和ox-LDL组。对照组给予培养基,N-LDL组给予含50 mg/L N-LDL的培养基,ox-LDL组给予25、50 mg/L ox-LDL的培养基,设3个复孔,培养48 h。培养结束后取培养基,使用HPLC法^[7]测定分泌的HA含量。

1.6 荧光定量PCR测定mRNA水平

细胞分组及处理同HA含量测定。抽提细胞中总RNA,从中取5 μ g RNA使用Promega MMLV反转录酶及相关试剂进行反转录反应,反应体系为20 μ L,取0.5 μ L RT产物进行实时定量PCR反应。

透明质酸合成酶 2 (hyaluronic acid synthetase2, HAS2) 引物序列为上游 5'-ACAGACAGGCTGAG-GACGAC-3', 下游 5'-CTGTGATTCCAAGGAGGAG-3'; HAS3 引物序列为上游 5'-GTCATGTACACGGC-CTTCAA-3', 下游 5'-CCTACTTGGGGATCCCTCCTC-3'。LOX-1 引物序列为上游 5'-GCCATTCGGAAAT-CAAGAAA-3', 下游 5'-AGGAGTCATCAGGAGGA-GCA-3'; LRP-1 引物序列为上游 5'-GTCATGTA-CACGGCCTTCAA-3', 下游 5'-CCTACTTGGGGATC-CCTCCTC-3'; CD36 引物序列为上游 5'-GGCTGAG-CAAGGTTGACTTC-3', 下游 5'-CCTCCTTATCCTTT-GAGCCC-3'; SR-PSOX 引物序列为上游 5'-ACCAC-CAGCTACCTCATTGG-3', 下游 5'-TTGTTCTCGCA-CTTGAATCG-3'; 阴性对照 β -actin 引物序列为上游 5'-CTCTTCCAGCCTTCCCTCCT-3', 下游 5'-ATGC-TATCACCTCCCCTGTG-3'。反应条件为 10 μ L SYBR Green Mix (2 \times)、0.4 μ L ROX Reference Dye II、1 μ L Primer1 (5 μ mol/L)、1 μ L Primer2 (5 μ mol/L)、0.5 μ L 模板 cDNA、7.1 μ L DEPC 水。实时定量 PCR 扩增条件为:(94 $^{\circ}$ C 4 min \rightarrow 94 $^{\circ}$ C 30 s \rightarrow 50 $^{\circ}$ C 30 s \rightarrow 72 $^{\circ}$ C 40 s) \times 40。给药组相对 mRNA 表达水平=(给药组 mRNA 水平/对照组 mRNA 水平) \times 100%, 以对照组 mRNA 水平为 100%。

1.7 Western blot 测定相关蛋白表达

细胞分组及处理同 HA 含量测定。培养结束后, 蛋白裂解液裂解细胞, 收集上清液, 使用 10% SDS-PAGE 电泳分离蛋白条带, 分离后转移至硝酸纤维素膜上, 室温条件下的封闭缓冲液溶液孵育 30 min, 之后与适当稀释的一抗溶液 4 $^{\circ}$ C 过夜, 最后与适当稀释的耦联辣根过氧化物酶的抗兔抗体室温孵育 60 min。凝胶成像系统分析实验结果, β -actin 为内参对照, 以对照组蛋白表达水平为 100%, 给药组相对蛋白表达水平=(给药组蛋白表达水平/对照组蛋白表达水平) \times 100%。

1.8 统计学处理

使用 SPSS 16.0 软件完成数据分析, 采用 Origin 8.0 软件绘图, 计量资料结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 两两比较采用 t 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ox-LDL 的鉴定

使用硫代巴比妥酸法测定丙二醛含量, 对 ox-LDL 的氧化程度进行测定。N-LDL 的丙二醛浓度为(2.1 \pm 0.5) μ mol/L, 经 10 mmol/L 的硫酸铜氧化

修饰后, ox-LDL 丙二醛浓度高达(15.8 \pm 1.6) μ mol/L (图 1), 其颜色由淡黄变为乳白, 证实 ox-LDL 氧化修饰成功。

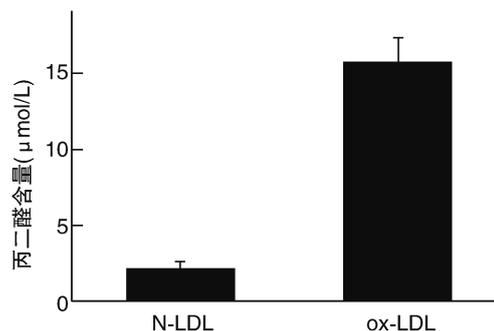


图 1. ox-LDL 的鉴定

Figure 1. Identification of ox-LDL

2.2 不同浓度 ox-LDL 对人 T/G HAVSMC 增殖的影响

不同浓度 N-LDL 和 ox-LDL (10、25、50、75、100 mg/L) 处理人 T/G HAVSMC 48 h 时, T/G HAVSMC 存活率随 ox-LDL 浓度先升高后降低, 相对于对照组差异均无统计学意义 ($P>0.05$, 图 2), 表明 N-LDL 和 ox-LDL 对 T/G HAVSMC 增殖没有明显影响。为此, 并选择 25 和 50 mg/L 的 ox-LDL 作用浓度用于后续实验。

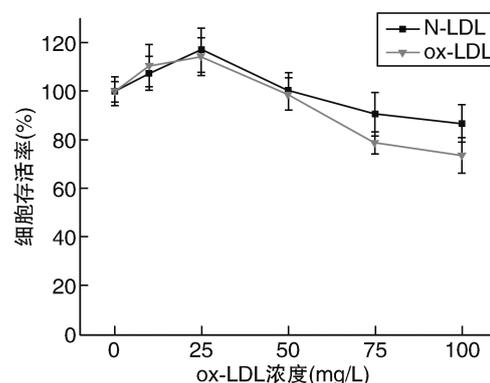


图 2. N-LDL 以及 ox-LDL 对人 T/G HAVSMC 体外增殖的影响 ($n=3$)

Figure 2. Cell survival of T/G HAVSMC in vitro treated with N-LDL and ox-LDL ($n=3$)

2.3 ox-LDL 对人 T/G HAVSMC 分泌 HA 的影响

N-LDL 和 ox-LDL 处理人 T/G HAVSMC 48 h 时, N-LDL 组 HA 分泌相对于对照组差异无显著性 ($P>0.05$), 25 和 50 mg/L ox-LDL 组 HA 分泌则明显高于对照组和 N-LDL 组 ($P<0.01$, 图 3)。

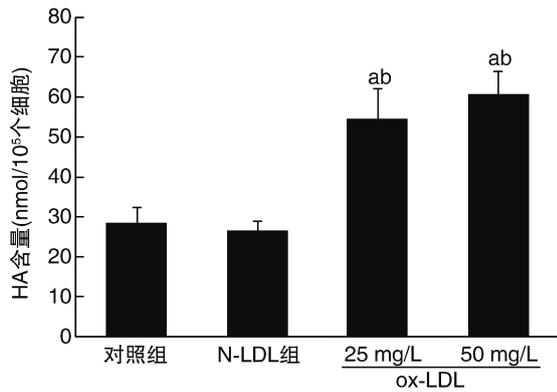


图3. ox-LDL 对人 T/G HAVSMC 分泌 HA 的影响(n=3) a 为 P<0.01, 与对照组比较; b 为 P<0.01, 与 N-LDL 组比较。

Figure 3. Effect of ox-LDL on hyaluronic acid secretion of human T/G HAVSMC(n=3)

2.4 ox-LDL 对人 T/G HAVSMCHA 透明质酸合成酶表达的影响

N-LDL 和 ox-LDL 处理人 T/G HAVSMC 48 h 时, N-LDL 组 HAS2 和 HAS3 的 mRNA 表达水平相对于对照组差异无统计学意义(P>0.05), 25 和 50 mg/L ox-LDL 组 HAS2 和 HAS3 的 mRNA 表达水平则明显高于对照组和 N-LDL 组(P<0.01, 图 4)。

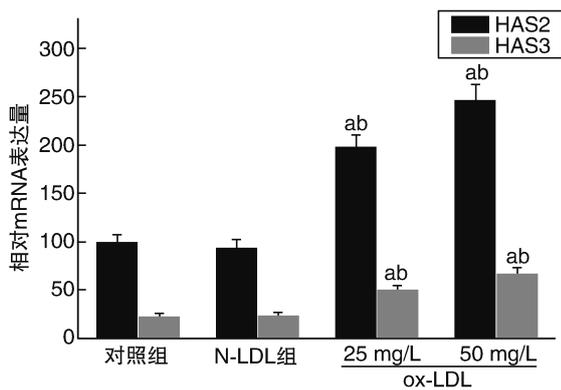


图4. ox-LDL 对人 T/G HAVSMC 透明质酸合成酶表达的影响(n=3) a 为 P<0.01, 与对照组比较; b 为 P<0.01, 与 N-LDL 组比较。

Figure 4. Effect of ox-LDL on the expression of hyaluronic acid synthases of human T/G HAVSMC(n=3)

2.5 ox-LDL 上调人 T/G HAVSMC 中 LOX-1 的表达

N-LDL 和 ox-LDL 处理人 T/G HAVSMC 48 h 时, N-LDL 组 LOX-1 的 mRNA 和蛋白表达水平相对于对照组没有明显改变(P>0.05), 25 和 50 mg/L ox-LDL 组 LOX-1 的 mRNA 和蛋白表达水平则明显高于对照组和 N-LDL 组(P<0.01); 四组间 LRP-1、CD36 和 SR-PSOX 的 mRNA 和蛋白表达差异均无显

著性(P>0.05; 图 5 和图 6)。

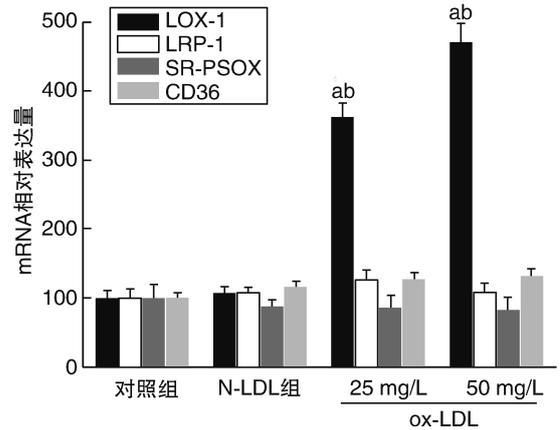


图5. ox-LDL 对人 T/G HAVSMC 中 LOX-1、LRP-1、CD36 和 SR-PSOX mRNA 表达的影响(n=3) a 为 P<0.01, 与对照组比较; b 为 P<0.01, 与 N-LDL 组比较。

Figure 5. Effect of ox-LDL on the mRNA expression of LOX-1, LRP-1, CD36 and SR-PSOX in human T/G HAVSMC(n=3)

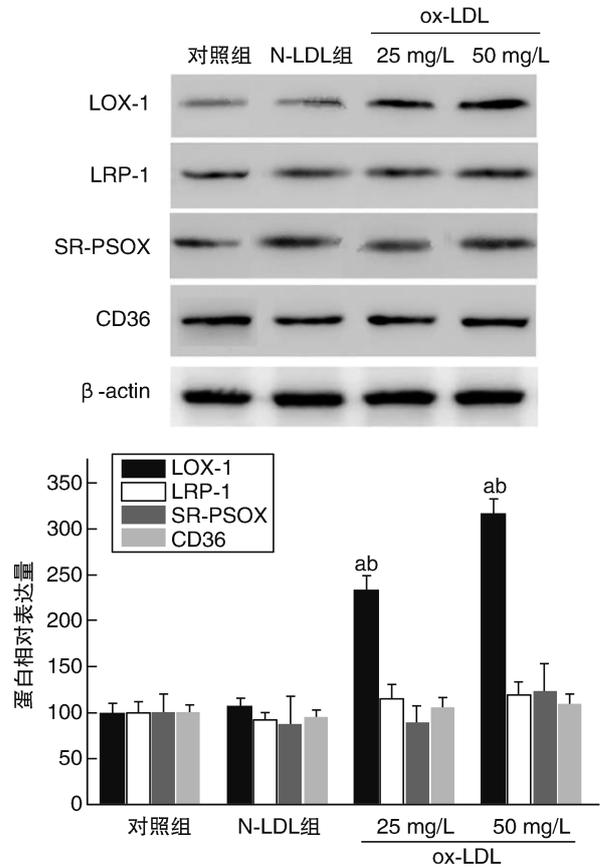


图6. ox-LDL 对人 T/G HAVSMC 中 LOX-1、LRP-1、CD36 和 SR-PSOX 蛋白表达的影响(n=3) a 为 P<0.01, 与对照组比较; b 为 P<0.01, 与 N-LDL 组比较。

Figure 6. Effect of ox-LDL on the protein expression of LOX-1, LRP-1, CD36 and SR-PSOX in human T/G HAVSMC(n=3)

3 讨论

动脉粥样硬化是以大、中动脉血管壁内脂质、炎症因子聚集为主要特征的血管病变,平滑肌细胞、内皮细胞、淋巴细胞和巨噬细胞等多种细胞参与动脉粥样硬化的发生发展^[8]。在健康的动脉血管壁中,内皮细胞调节血管紧张度,在血栓产生与纤维蛋白溶解形成动态平衡,这个稳态的维持有赖于 ECM 的存在。虽然正常生理条件下动脉壁 ECM 中广泛存在 HA,但在动脉粥样硬化过程中,平滑肌细胞过度合成并分泌包括 HA 在内的多种 ECM 分子,其沉积导致动脉壁增厚^[9]。HA 也能诱导血管平滑肌细胞活化、迁移、增殖及产生炎症细胞因子,抑制 HA 合成能够阻断血管平滑肌细胞增殖、迁移,并诱导其凋亡^[10]。Nakashima 等^[11]研究发现 HA 在人粥样硬化斑块中显著表达。大量流行病学研究表明,ox-LDL 是动脉粥样硬化重要的风险因素,且动脉壁中 ox-LDL 的长期存在是动脉壁持续性损伤的重要因素之一^[12]。Merrilees 等^[13]研究报道,ox-LDL 能够促进含 HA 的 ECM 沉积,HA 进一步促进单核细胞在动脉粥样硬化斑块中的定位。阐明 ox-LDL 与 HA 表达的相关性及作用机制,能够为动脉粥样硬化治疗提供理论支持。为此,本研究以 T/G HAVSMC 为研究对象,探究 ox-LDL 与 HA 合成的相关性及其机制。

LDL 含大量不饱和脂肪酸,容易发生氧化修饰产生 ox-LDL,产生丙二醛、4-羟壬烯醛等众多终端氧化产物,呈现明显的细胞毒性、化学趋向性和免疫原性^[14]。本研究中对 N-LDL 进行氧化修饰,制备得到的 ox-LDL 丙二醛含量达 $(15.8 \pm 1.6) \mu\text{mol/L}$,显示 ox-LDL 氧化修饰成功,满足实验要求。有文献报道 ox-LDL (50 mg/L) 能够诱导血管平滑肌细胞异常增殖^[15],本研究中 ox-LDL (10、25 mg/L) 略微增强 T/G HAVSMC 的增殖活性,但总体对 T/G HAVSMC 增殖无明显影响,这其中差异可能与细胞来源有关。在 HA 合成的研究中,本研究发现 ox-LDL 提升了 HA 合成酶 HAS2 和 HAS3 的表达水平,明显增强了 T/G HAVSMC 的 HA 合成。HA 作为 ECM 的主要成分参与动脉粥样硬化斑块的形成,并且随着动脉粥样硬化病情的进展,血清 HA 水平与疾病活动性和损害程度相关联^[16]。本研究证实,ox-LDL 可能通过促进血管平滑细胞的 HA 合成加速病变。HA 的合成依赖于 HAS 的作用,哺乳动物的三种 HAS 分别为 HAS1、HAS2 和 HAS3^[17]。平滑肌细胞中 HAS2 和 HAS3 发挥合成作用,本研究中

ox-LDL 诱导了 T/G HAVSMC 的 HAS2 和 HAS3 mRNA 表达上调,进一步在转录水平验证了 HA 合成的增强。

本研究还进一步观察了 ox-LDL 与相关清道夫受体的关联。LOX-1 是 ox-LDL 的主要清除性受体,LRP-1 是介导 LDL 胞吞作用的主要受体蛋白,SR-PSOX 是能够结合磷脂酰丝氨酸和 ox-LDL 受体的趋化因子,CD36 是介导 ox-LDL 摄取进而导致泡沫细胞形成的主要清道夫受体^[18-19]。本研究中平滑肌细胞 LOX-1、LRP-1、SR-PSOX 和 CD36 均有表达,但仅有 LOX-1 的表达在 ox-LDL 影响下明显上调,而 LRP-1、SR-PSOX 和 CD36 的表达无明显变化。这提示 ox-LDL 在血管平滑肌细胞中的呈递与 LOX-1 有关,而与其它三种细胞因子无关。LOX-1 与 ox-LDL 结合并介导其内吞,两者结合后激活并引发内皮细胞损伤,诱导细胞凋亡、平滑肌细胞增殖,增强单核细胞黏附能力和穿透能力,为炎症细胞黏附提供条件^[20]。余承洁等^[21]报道 ox-LDL 经由 LOX-1 受体激活巨噬细胞核受体通路。本研究结果提示 ox-LDL 能够诱导 HAVSMC 中 HA 的合成,其机制可能与上调 LOX-1 表达有关。

综上所述,本研究揭示了 ox-LDL 在 HAVSMC 透明质酸合成中的作用,为全面了解 ox-LDL 的致病机制,以及以此为靶点设计抗动脉粥样硬化的药物提供了实验基础。

[参考文献]

- [1] Badimon L, Vilahur G. LDL-cholesterol versus HDL-cholesterol in the atherosclerotic plaque: inflammatory resolution versus thrombotic chaos [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2012, 1254(1): 18-32.
- [2] Vigetti D, Deleonibus S, Moretto P, et al. Role of UDP-N-Acetylglucosamine (GlcNAc) and O-GlcNAcylation of hyaluronan synthase 2 in the control of chondroitin sulfate and hyaluronan synthesis [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(42): 44-55.
- [3] Jiang D, Liang J, Noble P W, et al. Hyaluronan as an immune regulator in human diseases [J]. *Physiol Rev*, 2011, 91(1): 221-264.
- [4] Leonarduzzi G, Gamba P, Gargiulo S, et al. Inflammation-related gene expression by lipid oxidation-derived products in the progression of atherosclerosis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 52(1): 19-34.
- [5] Dickhout J G, Lhoták Š, Hilditch B A, et al. Induction of the unfolded protein response after monocyte to macrophage differentiation augments cell survival in early atherosclerotic

- lesions[J]. *FASEB J*, 2011, 25(2): 576-589.
- [6] Vigetti D, Genasetti A, Karousou E, et al. Proinflammatory cytokines induce hyaluronan synthesis and monocyte adhesion in human endothelial cells through hyaluronan synthase 2 (HAS2) and the nuclear factor- κ B (NF- κ B) pathway[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(32): 24639-24645.
- [7] 舒刘芳, 姜希娟, 杨琳, 等. 血管平滑肌细胞表型转换对动脉粥样硬化的作用研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(1): 99-102.
- [8] Viola M, Karousou E, D'Angelo ML, et al. Extracellular matrix in atherosclerosis: hyaluronan and proteoglycans insights[J]. *Curr Med Chem*, 2016, 23(26): 2958-2971.
- [9] Otsuka F, Kramer M, Woudstra P, et al. Natural progression of atherosclerosis from pathologic intimal thickening to late fibroatheroma in human coronary arteries: a pathology study[J]. *Atherosclerosis*, 2015, 241(2): 772-782.
- [10] Vigetti D, Clerici M, Deleonibus S, et al. Hyaluronan synthesis is inhibited by adenosine monophosphate-activated protein kinase through the regulation of HAS2 activity in human aortic smooth muscle cells[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(10): 7917-7924.
- [11] Nakashima Y, Fujii H, Sumiyoshi S, et al. Early human atherosclerosis: accumulation of lipid and proteoglycans in intimal thickenings followed by macrophage infiltration[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(5): 1159-1165.
- [12] Feng B, Yao P M, Li Y, et al. The endoplasmic reticulum is the site of cholesterol-induced cytotoxicity in macrophages[J]. *Nat Cell Biol*, 2003, 5(9): 781-792.
- [13] Merrilees MJ, Beaumont BW, Braun KR, et al. Neointima formed by arterial smooth muscle cells expressing versican variant V3 is resistant to lipid and macrophage accumulation[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(6): 1309-1316.
- [14] Kaplan M, Shur A, Tendler Y, et al. M1 macrophages but not M2 macrophages are characterized by upregulation of CRP expression via activation of NF κ B: a possible role for ox-LDL in macrophage polarization[J]. *Inflammation*, 2018; 1-11.
- [15] 陈锋, 张振东, 唐新华. 氧化型低密度脂蛋白对平滑肌祖细胞增殖和表型的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009, 17(9): 723-726.
- [16] Goyal T, Mitra S, Khaidakov M, et al. Current concepts of the role of oxidized LDL receptors in atherosclerosis[J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2012, 14(2): 150-159.
- [17] Vigetti D, Viola M, Karousou E, et al. Hyaluronan-CD44-ERK1/2 regulate human aortic smooth muscle cell motility during aging[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(7): 4448-4458.
- [18] 朱晔斌, 吴双, 孔麟麟, 等. 氧化型低密度脂蛋白的形成及其致动脉粥样硬化的机制[J]. *武警后勤学院学报(医学版)*, 2009, 18(1): 62-64.
- [19] Schlüter KD, Wolf A, Weber M, et al. Oxidized low-density lipoprotein (oxLDL) affects load-free cell shortening of cardiomyocytes in a proprotein convertase subtilisin/kexin 9 (PCSK9)-dependent way[J]. *Basic Res Cardiol*, 2017, 112(6): 63-72.
- [20] Mollace V, Gliozzi M, Musolino V, et al. Oxidized LDL attenuates protective autophagy and induces apoptotic cell death of endothelial cells: role of oxidative stress and LOX-1 receptor expression[J]. *Int J Cardiol*, 2015, 184: 152-158.
- [21] 余承洁, 李敬达, 修志龙, 等. ox-LDL 经由 LOX-1 受体对 PPAR γ -LXR α -ABCA1 通路激活的作用研究[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25(10): 978-984.
- (此文编辑 许雪梅)