

•实验研究•

[文章编号] 1007-3949(2004)12-05-0502-05

极低密度脂蛋白受体在泡沫细胞形成中的作用地位

田俊, 屈伸, 王燕, 李映红, 王宇哲, 宗义强

(华中科技大学同济医学院生物化学与分子生物学系, 湖北省武汉市 430030)

[关键词] 分子生物学; 极低密度脂蛋白受体表达上调; 逆转录聚合酶链反应; 极低密度脂蛋白受体; 脂蛋白; 表达调控; 泡沫细胞

[摘要] 为探讨极低密度脂蛋白受体在摄取富含甘油三酯的脂蛋白及泡沫细胞形成中的作用, 在体外实验中, 将极低密度脂蛋白、 β 极低密度脂蛋白及低密度脂蛋白分别与小鼠腹腔巨噬细胞孵育 24 及 48 h 后, 检测细胞内甘油三酯及总胆固醇的含量, 油红 O 染色观察泡沫细胞的形成, 半定量逆转录聚合酶链反应检测极低密度脂蛋白受体、LRP 及极低密度脂蛋白受体的 mRNA 表达变化。结果发现, 三种脂蛋白与巨噬细胞均能升高细胞内甘油三酯、总胆固醇含量; 极低密度脂蛋白受体受极低密度脂蛋白、 β 极低密度脂蛋白的刺激表达上调, 低密度脂蛋白受体表达下调, LRP 表达略有上调。在稳定表达极低密度脂蛋白受体细胞中的实验表明, 极低密度脂蛋白受体介导对富含甘油三酯的脂蛋白的摄取在胞内脂质聚集及泡沫细胞形成过程中具有重要作用。

[中图分类号] Q7

[文献标识码] A

The Study on the Role of Very Low Density Lipoprotein Receptor in the Foam Cell Formation

TIAN Jun, QU Shen, WANG Yan, LI Ying-Hong, WANG Yu-Zhe, and ZONG Yi-Qiang

(The Biochemistry and Molecular Biology Department of Tongji Medical College, Huazhong Science and Technology University, Wuhan 430030, China)

[KEY WORDS] Very Low Density Lipoprotein Receptor; Lipoproteins; Expression Regulation; Foam Cells; Triglyceride; Total Cholesterol

[ABSTRACT] **Aim** To discuss the function of very low density lipoprotein (VLDL) in foam cell formation and the role of VLDL receptor (VLDLR) in this process. **Methods** Macrophage cells separated from mouse abdominal cavity were incubated with three lipoproteins, VLDL, β -VLDL, and low density lipoprotein (LDL) for 24 h, 48 h respectively. The content of triglyceride (TG) and total cholesterol (TC) in cells was examined, and the foam cells formation was identified by oil red O dyeing. The mRNA expression level of LDLR, LRP and VLDLR was measured by half-quantitation RT-PCR. **Results** The content of TG and TC increased by all three lipoprotein; VLDLR was upregulated by VLDL and β -VLDL while LDLR was downregulated and LRP was upregulated a little. **Conclusion** The experiment in the Id^{a7}-VR cells which can steadily express VLDLR shows that the uptake of triglyceride-rich lipoprotein (TRL) mediated by VLDLR plays an important role in the accumulation of lipids and the foam cell formation.

早期研究认为, 动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 发生、发展过程中, 胆固醇起着主要作用。近年来的研究表明, 血浆甘油三酯 (triglyceride, TG) 水平和心血管疾病的发病率呈正相关。越来越多的临床证据及流行病学研究结果表明富含甘油三酯的脂蛋白 (triglyceride-rich lipoprotein, TRL) 是 As 的独立危险因素^[1]。研究发现, 新西兰家兔饲以胆固醇第 3 周, 主动脉中膜平滑肌细胞 (smooth muscle cell, SMC) 和巨噬细胞中表达的极低密度脂蛋白受体 (very low

density lipoprotein receptor, VLDLR) 即显著增高, 14 周时升高 100 倍^[2]; 人的 As 斑块中 VLDLR 的表达也表现为大幅上调。以上资料提示 As 斑块中的 SMC 和巨噬细胞表面的 VLDLR 大幅上调, 可能在泡沫细胞形成中具有独特的作用意义。已有的资料表明, As 的发生及发展过程在体内是多种因素通过多种途径共同作用的结果, 但极低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL) 受体在其中的作用地位及意义目前并不明确。本研究探讨了不同脂蛋白对巨噬细胞中的 VLDLR 表达的调节及 VLDLR 表达上调对胞内脂质堆积及泡沫细胞形成的作用。

[收稿日期] 2003-10-17 [修回日期] 2004-08-05

[基金项目] 国家自然科学基金 (39970307) 资助

[作者简介] 田俊, 博士, 主要从事动脉粥样硬化发病的分子机制的研究, E-mail 为 juntian1969@hotmail.com。屈伸, 教授, 博士研究生导师, 主要从事心血管疾病的分子机制的研究, E-mail 为 qushen@mails.tjmu.edu.cn。王燕, 博士, 主要从事动脉粥样硬化发病的分子机制的研究。

1 材料和方法

1.1 材料

逆转录酶和 Oligo dT、Taq DNA Polymerase、DNA 分子量标准、DNA Purification System、Luciferase Assay System、LipofectAMINETM Reagent、 β -Galactosidase Enzyme Assay System with Reporter Lysis Buffer、dNTPs、异硫氰酸胍购自 Promega; 脂质测定试剂盒购自北京中生公司; Hepes、RPMI1640 培养基、胎牛血清购自 Gibco; Id1-A7 细胞(缺失 LDLR, 痕量表达 VLDLR 与 LRP)由 Monty Krieger 教授惠赠; THP-1 细胞购自 ATCC; 质粒 pGL4.2-luciferase 由 Anne K. Soutar 教授惠赠; Id1-A7-VR 细胞(能稳定表达 VLDLR 的 Id1-A7 细胞)由屈伸等建系^[3]; PCR 引物由上海生工公司合成; 实验用日本大耳白兔及小鼠由同济医学院实验动物中心提供。其他试剂为国产分析纯。

1.2 脂蛋白的分离

按本室王淳本等^[4]建立的超速离心法。

1.3 小鼠腹腔巨噬细胞的分离及培养

巨噬细胞取自雌性昆明小鼠腹腔。 5×10^6 接种于 100 mL 培养瓶中, 10% 胎牛血清、20 mmol/L Hepes 及 125 mg/L L-谷氨酰胺的 1640 培养基中 37℃、5% CO₂ 培养 24 h 后, 换用不含胎牛血清的 1640 培养基培养 24 h, 然后在培养基中分别加入三种不同的脂蛋白至终浓度为 50 mg/L, 分别孵育 0、24 及 48 h。

1.4 Id1-A7 细胞和 Id1-A7-VR 细胞的培养

正常生长的 Id1-A7 细胞和 Id1-A7-VR 细胞培养于含 10% 胎牛血清、20 mmol/L Hepes 及 125 mg/L L-谷氨酰胺的 RPMI 1640 培养基中, 培养条件为 37℃、5% CO₂。脂蛋白孵育前 24 h, 接种 1×10^5 细胞于 100 mL 培养瓶中, 孵育时换用 OMEM 无血清培养基培养 24 h, 然后再用分别加入三种不同的脂蛋白至

终浓度为 8 mg/L 的 OMEM 无血清培养基培养, 分别孵育 2、4 及 6 天。

1.5 脂质抽提及测定

脂质抽提采用 Folch's 法; 脂质测定按试剂盒说明进行。细胞内蛋白质的测定采用 Lowery 法; 细胞内 TG 或总胆固醇(total cholesterol, TC)含量按公式计算: TG(TC) = (测定值 \div 所取裂解液体积) \div 蛋白浓度。

1.6 油红 O 染色鉴定泡沫细胞

5×10^5 巨噬细胞或 1×10^4 Id1-A7、Id1-A7-VR 细胞接种于 24 孔培养板中培养, 染色前去掉培养基, 经漂洗固定后, 依次用 0.3% 油红 O 和苏木素染色, 倒置显微镜下观察染色结果并在 CIS-1000 细胞扫描分析系统下照相。

1.7 逆转录聚合酶链反应

异硫氰酸胍一步离心法^[5]提取细胞总 RNA。逆转录反应按 SuperScriptTM Preamplification System 操作指南进行。取总 RNA 3.5 μ g、oligo(dT)₁₂₋₁₈ 1 μ g, 用 DEPC 处理水补充反应体积至 12 μ L, 混匀。75℃、5 min 后置于冰上冷却 1 min 以上, 加入 5 \times buffer 5 μ L, 10 mmol dNTPs 2 μ L, 混匀, 42℃预热 5 min 后加入 20 u 逆转录酶, 42℃反应 60 min 后, 95℃、5 min 灭活逆转录酶, 置于 -20℃保存。取 4 μ L 逆转录产物进行 PCR 反应, PCR 反应的引物序列及条件见表 1(Table 1)。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙啶染色, 紫外灯下照相, GIS 凝胶电泳分析系统扫描分析。被扩增产物的定量以 β -actin 为内参。

1.8 统计学方法

采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为有显著性差异。

表 1. 聚合酶链反应引物序列及扩增条件

Table 1. Primers and PCR condition

序列	扩增片段 长度 (bp)	PCR 反应条件 (℃)			循环数
		变性	退火	延伸	
VLDLR 上游引物 5'-GGTCAGACTGGGCGAGCCA-3' 下游引物 5'-GCTGCCAGGCAGAGATATTG-3'	451	94	58	72	35
LRP 上游引物 5'-GTATCTCAAAGGCTGGCGGTG-3' 下游引物 5'-TGCACCCAGCATACGGTCTC-3'	619	94	56	72	37
LDLR 上游引物 5'-GAAGACTCATGCAGCAGGAACG-3' 下游引物 5'-CTCATCGGAGCCGTCAACACAG-3'	468	94	56	72	37
β -actin 上游引物 5'-TGAGACCTTCAACACCCAG-3' 下游引物 5'-GCCATCTCTTGCTCGAAGTC-3'	316	94	60	72	27

2 结果

2.1 巨噬细胞中脂蛋白受体的表达

在小鼠巨噬细胞中均扩增出 VLDLR、LDLR、LRP 及 β -actin 的相应条带,表明三种受体在小鼠巨噬细胞中均有表达(图 1, Figure 1)。

2.2 脂蛋白对巨噬细胞中甘油三酯和总胆固醇含量及泡沫细胞形成的影响

三种脂蛋白孵育巨噬细胞 24 h 后,脂质含量即开始升高,孵育 48 h 后升高更为显著,其中 VLDL、 β -VLDL 孵育对 TG 的升高作用较 LDL 的作用明显;而 LDL 则对 TC 的升高作用突出(表 2, Table 2)。油红 O 染色结果发现, VLDL、 β -VLDL 和巨噬细胞孵育 24

h 即观察到泡沫细胞的形成,孵育时间延长到 48 h 后,形成的泡沫细胞形态更加清楚;LDL 和巨噬细胞孵育 48 h,细胞形态有所改变,但改变程度较轻。

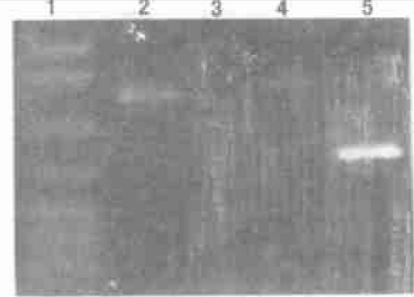


图 1. 巨噬细胞中受体的表达 1 为 Marker, 2 为极低密度脂蛋白受体, 3 为 LRP, 4 为低密度脂蛋白受体, 5 为 β -actin。

Figure 1. The receptor expression in macrophage cells

表 2. 脂蛋白孵育后巨噬细胞中甘油三酯和总胆固醇含量 ($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

Table 2. The content of TG and TC after incubation with lipoproteins

脂蛋白	0 h		24 h		48 h	
	TG	TC	TG	TC	TG	TC
LDL	80.88 \pm 11.3	24.62 \pm 6.00	90.32 \pm 10.24	40.23 \pm 9.45	94.24 \pm 14.20	48.74 \pm 9.86
VLDL	80.88 \pm 11.3	24.62 \pm 6.00	106.07 \pm 11.26	50.79 \pm 9.87	142.40 \pm 16.87	74.84 \pm 13.24
β -VLDL	80.88 \pm 11.3	24.62 \pm 6.00	109.76 \pm 16.78	46.91 \pm 9.15	134.82 \pm 19.01	64.31 \pm 14.34

2.3 脂蛋白孵育对巨噬细胞相关受体表达的影响

VLDL、 β -VLDL 孵育巨噬细胞后 VLDLR 的表达增加,LDLR 的表达降低,而对 LRP 表达的影响不明显;LDL 孵育后 LDLR 的表达降低,LRP 的表达升高,但对 VLDLR 的表达无明显影响(图 2~ 4, Figure 2~ 4)。

2.4 脂蛋白孵育对 Id1-A7 和 Id1-A7-VR 细胞中甘油三酯和总胆固醇含量及泡沫细胞形成的影响

由表 3 和 4(Table 3 and 4) 表明,在稳定表达

VLDLR 的 Id1-A7-VR 细胞中, VLDL 能使胞内 TG 含量明显增高,油红 O 染色表明孵育 6 天后细胞形态发生明显改变,大量的细胞转变为体积较大,脂质较多的泡沫细胞; β -VLDL 除增高 TG 外,也可使 TC 明显升高,并也能在 Id1-A7-VR 细胞中诱导泡沫细胞的形成。而 LDL 孵育的两种细胞中,细胞形态均无明显变化,TC 含量虽有一定的增多,但无统计学意义,可能与细胞的非特异的胞吞作用相关。

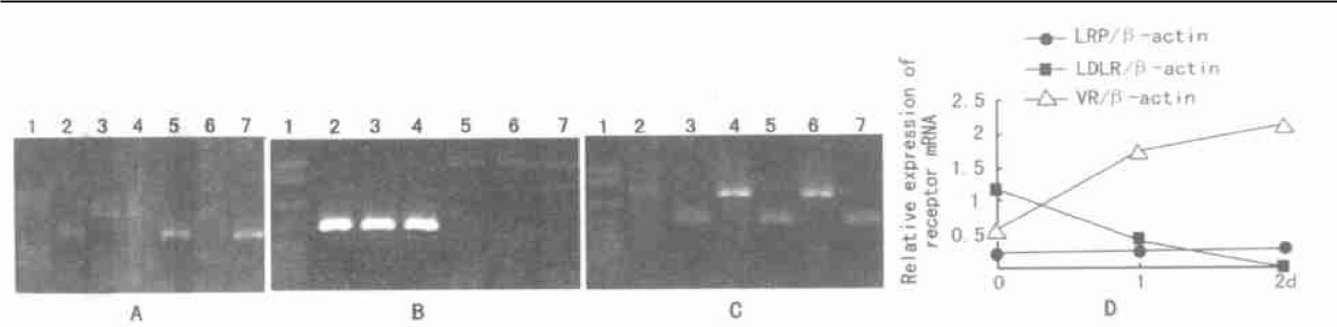


图 2. β 极低密度脂蛋白对巨噬细胞低密度脂蛋白受体、LRP 及极低密度脂蛋白受体表达水平的影响 A 为低密度脂蛋白受体的表达, 1 为 Marker, 2、5、7 为 β 极低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后 β -actin 的表达, 3、4、6 为 β 极低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后低密度脂蛋白受体的表达; B 为 LRP 的表达, 1 为 Marker, 2、3、4 为 β 极低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后 β -actin 的表达, 5、6、7 为 β 极低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后 LRP 的表达; C 为极低密度脂蛋白受体的表达, 1 为 Marker, 2、4、6 为 β 极低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后 β -actin 的表达, 3、5、7 为 β 极低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后 LRP 的表达; D 为 A、B、C 中电泳条带的定量结果。

Figure 2. Effect of β -VLDL on the mRNA levels of LDLR, LRP, VLDLR in macrophages

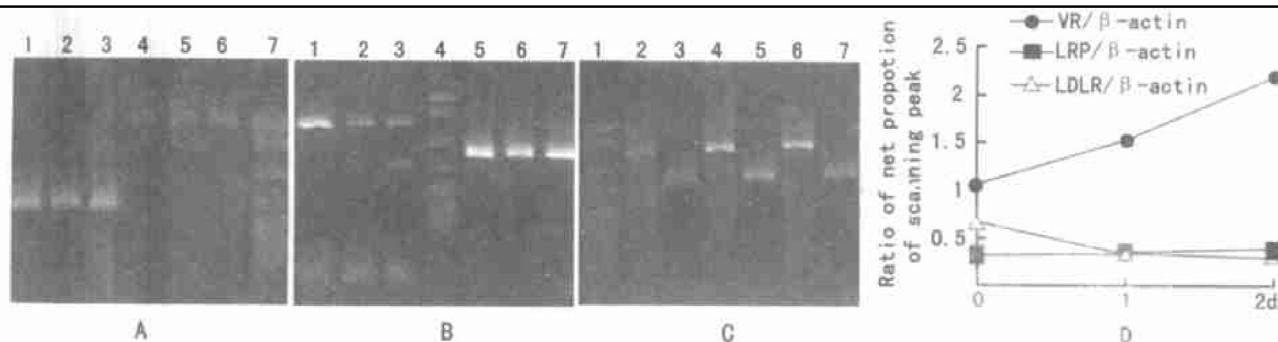


图 3. 极低密度脂蛋白对巨噬细胞 LRP、低密度脂蛋白受体和极低密度脂蛋白受体表达水平的影响 A 为 LRP 的表达, 1、2、3 为极低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后 β -actin 的表达, 4、5、6 为极低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后 LRP 的表达, 7 为 Marker; B 为低密度脂蛋白受体的表达, 1、2、3 为极低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后低密度脂蛋白受体的表达, 4 为 Marker, 5、6、7 为极低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后 β -actin 的表达; C 为极低密度脂蛋白受体的表达, 1 为 Marker, 2、4、6 为极低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后极低密度脂蛋白受体的表达, 3、5、7 为极低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后 β -actin 的表达, D 为 A、B、C 中电泳条带的定量结果。

Figure 3. Effect of VLDL on the expression of LRP, LDLR, VLDLR in macrophage cells

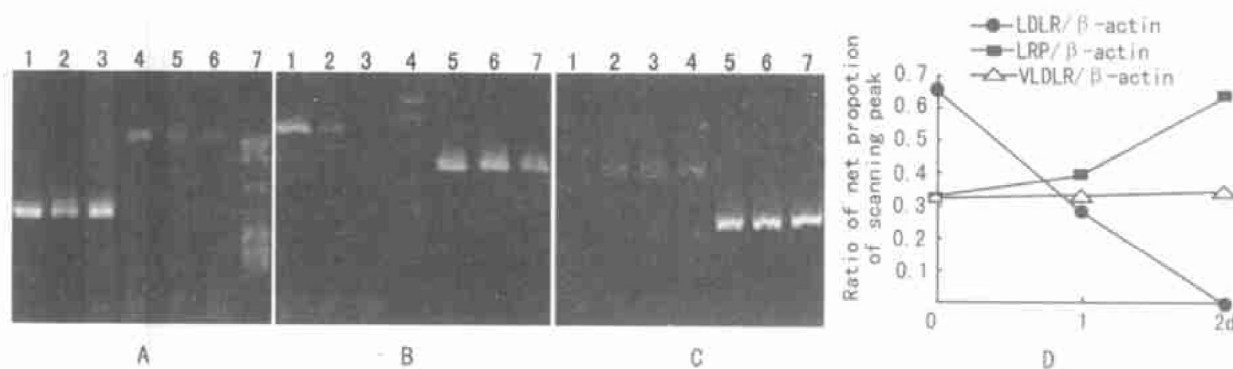


图 4. 低密度脂蛋白对巨噬细胞 LRP、低密度脂蛋白受体和极低密度脂蛋白受体表达水平的影响 A 为 LRP 的表达, 7 为 Marker, 4、5、6 为低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后 LRP 的表达, 1、2、3 为低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后 β -actin 的表达; B 为低密度脂蛋白受体的表达, 4 为 Marker, 1、2、3 为低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后低密度脂蛋白受体的表达; 5、6、7 为低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后 β -actin 的表达; C 为极低密度脂蛋白受体的表达, 1 为 Marker, 2、3、4 为低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后极低密度脂蛋白受体的表达, 5、6、7 为低密度脂蛋白孵育 0、24 及 48 h 后 β -actin 的表达; D 为 A、B、C 中电泳条带的定量结果。

Figure 4. Effect of LDL on the expression of LRP, LDLR, VLDLR in macrophage cells

表 3. 脂蛋白孵育后 IdF A7 细胞中甘油三酯和总胆固醇的含量 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

Table 3. The content of TG and TC after incubation IdF A7 cells with lipoproteins

脂蛋白	0 d		2 d		4 d		6 d	
	TG	TC	TG	TC	TG	TC	TG	TC
LDL	12.9 \pm 1.3	18.5 \pm 1.0	13.1 \pm 1.1	19.7 \pm 2.3	15.9 \pm 1.5	24.2 \pm 2.4	13.9 \pm 1.4	23.6 \pm 1.9
VLDL	12.9 \pm 1.3	18.5 \pm 1.0	14.1 \pm 1.1	20.4 \pm 3.2	14.6 \pm 1.6	17.7 \pm 1.8	15.2 \pm 1.5	17.1 \pm 1.6
β -VLDL	12.9 \pm 1.3	18.5 \pm 1.0	11.9 \pm 1.3	21.6 \pm 2.9	14.9 \pm 1.1	23.7 \pm 1.9 ^a	13.6 \pm 1.2	22.7 \pm 2.3

表 4. 脂蛋白孵育后 IdF A7-VR 细胞中甘油三酯和总胆固醇的含量 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

Table 4. The content of TG and TC after incubation IdF A7-VR cells with lipoproteins

脂蛋白	0 d		2 d		4 d		6 d	
	TG	TC	TG	TC	TG	TC	TG	TC
LDL	16.4 \pm 1.7	18.9 \pm 2.7	14.3 \pm 2.3	23.7 \pm 3.1	19.1 \pm 2.4	27.9 \pm 2.7	23.8 \pm 2.8	28.5 \pm 2.5
VLDL	16.4 \pm 1.7	18.9 \pm 2.7	28.4 \pm 3.4	20.2 \pm 1.8	31.4 \pm 3.6	25.1 \pm 2.6	58.7 \pm 7.2	24.1 \pm 2.0
β -VLDL	16.4 \pm 1.7	18.9 \pm 2.7	18.3 \pm 2.0	26.7 \pm 1.7	30.9 \pm 3.2	38.4 \pm 3.2	40.4 \pm 4.7	40.8 \pm 3.2

3 讨论

大量的研究揭示,血管内膜的巨噬细胞和 SMC 大量摄取脂质转变成成为泡沫细胞是动脉粥样斑块形成的原因之一,而脂蛋白受体介导的内吞途径是细胞摄取脂质的主要方式,并已阐明 LDLR 通过摄取富含胆固醇的脂蛋白(如 LDL 和氧化型 LDL 等)而形成泡沫细胞是 As 形成的重要机制。然而,对于 TRL(如 VLDL、 β -VLDL)如何导致 As 的形成,目前尚无定论。VLDLR 主要参与 TG 的代谢,并在动物实验中发现动脉斑块组织中 VLDLR 表达大幅升高^[2],并有报道提示 VLDLR 通过摄取 VLDL 导致泡沫细胞的形成,表明 VLDLR 可能在泡沫细胞形成过程中发挥的重要作用。本实验中,三种脂蛋白分别与小鼠腹腔巨噬细胞孵育,发现 VLDL、 β -VLDL 能够在体外诱导巨噬细胞形成泡沫细胞,且在巨噬细胞转变成泡沫细胞过程中,同时检测到 VLDLR mRNA 表达升高,而 LDLR 表达降低,LRP 表达略有升高。这一结果与动物实验中斑块组织的受体变化相似。

为了进一步明确 VLDLR 在泡沫细胞形成中的作用,实验选择较为特殊的细胞——Id⁻A7 细胞,并通过基因转移的方法获得了稳定表达 VLDLR 的 Id⁻A7 细胞(Id⁻A7-VR)^[3],由于 Id⁻A7 细胞中 LDLR 缺失,VLDLR 和 LRP 的低表达,因此可以通过 Id⁻A7 细胞与 Id⁻A7-VR 的比较确定 VLDLR 的作用。实验结果表明,稳定表达 VLDLR 的 Id⁻A7-VR 细胞能在 VLDL 或 β -VLDL 诱导下转变成泡沫细胞,而 Id⁻A7 不能,这说明 VLDLR 在介导 TRL 内吞,导致胞内脂质堆积,在泡沫细胞形成中发挥了重要作用。

有报道表明,白细胞介素 1 β 能上行调节兔 SMC VLDLR mRNA 的表达^[6];低氧等生理状态也能上调 VLDLR mRNA 的表达水平^[7]。综合我们的研究结果,As 发生过程中多种因素可刺激 VLDLR 的表达上调,这些因素之间的因果关系目前并不明确,VLDL 或 β -VLDL 可能是导致 VLDLR 表达上调的始动因素。因此进一步研究 VLDL 或 β -VLDL 诱导 VLDLR 表达上调的途径及机制具有重要意义。目前对 VLDLR 表达调控的作用机制及调控位点尚不清楚,一般认为其转录水平的调控较为重要并已发

现多个转录调控因子,如核因子 Y 和 CCAAT 结合蛋白 β ,他们在 BeWo 及 JEG 细胞中均发挥重要的调控作用^[8,9]。VLDL 所诱导的表达上调和这些转录因子及 VLDLR 基因上游调控元件的关系目前尚未阐明。但我们发现含 VLDLR 5' 端调控序列的重组启动子质粒,能在 VLDL 诱导下增强其下游报告基因的表达。提示 VLDL 可能通过转录激活调节的方式作用于受体的 5' 端调控序列,从而上调受体的表达,这尚需进一步的实验证实。

鉴于 VLDL 是 VLDLR 的天然配体及 VLDLR 在富含甘油三酯的脂蛋白代谢中的重要作用,我们推测 VLDL 可能作为始动因子,通过某种机制激活 VLDLR 基因上游调控元件,诱导 VLDLR 基因表达上调,使细胞膜上的 VLDLR 增加,促进细胞大量摄取富含甘油三酯的脂蛋白,形成泡沫细胞。但目前对 VLDLR 表达上调的机制尚不清楚,有报道表明 ERK、MAPK 和 p38 可能参与了 VLDLR 的表达上调过程,其详细机制值得深入探讨。

[参考文献]

- [1] Grundy SM. Hypertriglyceridemia, atherogenic dyslipidemia and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol*, 1998, **81** (4A): 18B-25B
- [2] Hiltunen TP, Luoma JS, Nikkari T, Ylä-Herttuala S. Expression of LDL receptor, VLDL receptor, LDL receptor-related protein, and scavenger receptor in rabbit atherosclerotic lesions: marked induction of scavenger receptor and VLDL receptor expression during lesion development. *Circulation*, 1998, **97** (11): 1079-086
- [3] 屈伸,王剑波,刘志国,邓耀祖,冯宗忱. 中国人极低密度脂蛋白受体基因的克隆及其在中国仓鼠卵巢细胞中的表达. *中国动脉硬化杂志*, 2000, **8** (3): 189-192
- [4] Wang Chunben, Feng Youmei, Zong Yiqiang. Rapid isolation of large amount of plasma VLDL and LDL by a Two step Ultracentrifugation. *J Tongji Med Univ*, 1995, **15** (4): 198-200
- [5] Sambrook J. Molecular cloning: A Laboratory manual 2nd ed, Cold spring harbor laboratory press, 1989
- [6] 阮秋蓉,石桥敏幸. 白细胞介素 1 β 上行调节兔平滑肌细胞 VLDL 受体 mRNA 的表达. *中国动脉硬化杂志*, 1998, **6** (3): 237
- [7] Nakazato K, Ishibashi T, Nagata K, Seino Y, Wada Y, Sakamoto T, et al. Expression of very low density lipoprotein receptor mRNA in circulating human monocytes: its up-regulation by hypoxia. *Atherosclerosis*, 2001, **155** (2): 439-44
- [8] Tibel O, Oka k. Mouse very low density lipoprotein receptor(VLDLR): gene structure, tissue-specific expression and dietary and developmental regulation. *Atherosclerosis*, 1999, **145**: 239-251
- [9] Kreuter R, Souter A K, Wade D P. Transcription factors CCAAT/enhancer-binding protein β and nuclear factor-Y bind to discrete regulatory elements in the very low density lipoprotein receptor-promoter. *J Lipid Res*, 1999, **40**: 376-386

(此文编辑 文玉珊)