

# 高糖对 HDL 调节 THP-1 巨噬细胞 CD36 和过氧化体增殖物激活型受体 $\gamma$ 表达的影响

谭玉林<sup>1,2</sup>, 曾颖<sup>1</sup>, 莫中成<sup>1</sup>, 易光辉<sup>1</sup>

(1. 南华大学心血管疾病研究所 动脉硬化化学湖南省重点实验室 生命科学研究中心, 湖南省衡阳市 421001;

2. 湘南学院病理研究所 免疫学重点学科, 湖南省郴州市 423000)

[关键词] 高糖; 高密度脂蛋白; 清道夫受体 CD36; 过氧化体增殖物激活型受体  $\gamma$ ; THP-1 巨噬细胞; 动脉粥样硬化

[摘要] **目的** 观察高糖对 HDL 调节 THP-1 巨噬细胞清道夫受体 CD36 和过氧化体增殖物激活型受体  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) 表达的影响。**方法** 用 50 mg/L ox-LDL, 50 mg/L ox-LDL + 50 mg/L HDL, 50 mg/L ox-LDL + 50 mg/L HDL + 20 mmol/L D-葡萄糖, 50 mg/L HDL, 50 mg/L HDL + 20 mmol/L D-葡萄糖孵育 THP-1 巨噬细胞 24 h, 采用油红 O 染色观察细胞内脂质蓄积情况, RT-PCR 和 Western Blot 分别检测 CD36、PPAR $\gamma$ 、p-PPAR $\gamma$  mRNA 和蛋白的表达。**结果** 加用 HDL 组明显减少脂质蓄积, 加用 HDL 组的 CD36 mRNA 和蛋白的表达下调, PPAR $\gamma$  的 mRNA 和蛋白及 p-PPAR $\gamma$  的蛋白表达上调; 而同时加用 50 mg/L HDL 和 20 mmol/L 葡萄糖组 CD36 和 PPAR $\gamma$  的 mRNA 及蛋白表达上调, 而 p-PPAR $\gamma$  的表达下调 ( $P < 0.05$ ), 并促进脂质蓄积。**结论** 高糖可使 HDL 抑制 CD36 表达及脂质蓄积的作用减弱。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Effect of High Glucose on the Expression of CD36 and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Regulated by High Density Lipoprotein in THP-1 Macrophage

TAN Yu-Lin<sup>1,2</sup>, ZENG Ying<sup>1</sup>, MO Zhong-Cheng<sup>1</sup>, and YI Guang-Hui<sup>1</sup>

(1. Institute of Cardiovascular Research & Key Laboratory for Atherosclerosis of Hunan Province & Life Science Research Center, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Institute of Pathology Research & Key Disciplines of Immunology, Xiangnan University, Chenzhou, Hunan 423000, China)

[KEY WORDS] High Glucose; High Density Lipoprotein; CD36; Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma; THP-1 Macrophages; Atherosclerosis.

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of high glucose on the expression of CD36 and peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) regulated by high density lipoprotein (HDL) in THP-1 macrophage. **Methods** THP-1 macrophages were incubated with 50 mg/L ox-LDL, 50 mg/L ox-LDL + 50 mg/L HDL, 50 mg/L ox-LDL + 50 mg/L HDL + 20 mmol/L D-Glucose, 50 mg/L HDL, 50 mg/L HDL + 20 mmol/L D-Glucose for 24 h. The lipid accumulation was detected by oil red O stain. CD36 and PPAR $\gamma$  mRNA were determined by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), respectively. CD36, PPAR $\gamma$  and p-PPAR $\gamma$  protein was determined by Western Blot. **Results** The expression of CD36 mRNA and protein was significantly suppressed ( $P < 0.05$ ) by HDL, which significantly reduced the lipid accumulation. In the 50 mg/L HDL and 20 mmol/L glucose groups, the mRNA and protein of CD36 and PPAR $\gamma$ , and the lipid accumulation were significantly increased ( $P < 0.05$ ). However, the expression of p-PPAR $\gamma$  was markedly reduced ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The data indicated that high glucose can weaken the role of HDL in suppressing CD36 expression and lipid accumulation.

[收稿日期] 2014-04-08

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81270360); 湖南省科技厅科技计划重点项目(2014FJ2012); 湖南省卫生厅医药卫生科研计划课题项目(B2014-070)

[作者简介] 谭玉林, 博士研究生, 讲师, 研究方向为 As 发病的分子机制, E-mail 为 yltan1510@126.com。通讯作者易光辉, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为 As 发病的分子机制, E-mail 为 ghyi6108@163.com。

循环中的高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 水平与心血管疾病事件呈反向关系, HDL 可增强核转录因子过氧化体增殖物激活型受体  $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR $\gamma$ ) 的表达<sup>[1]</sup>。PPAR $\gamma$  可靶向调控清道夫受体 CD36 (scavenger receptor class CD36) 基因<sup>[2]</sup>, 它属于 B 族清道夫受体<sup>[3]</sup>, 在单核/巨噬细胞上有丰富的表达<sup>[4]</sup>, 在氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 诱导的动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 形成过程中起主要调节作用<sup>[5]</sup>。糖尿病患者的 As 发生率比非糖尿病患者高 2 ~ 3 倍, 成为糖尿病患者的主要死亡原因, 其中高血糖是心血管病的一个危险因素<sup>[6,7]</sup>。然而, 高糖促进 As 的作用机制不明, 本研究旨在阐明高血糖对 HDL 抗 As 作用的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 药品和试剂

Trizol 试剂购自美国 Gibco 公司; AMV 第一链 cDNA 合成试剂盒购自 Promega 公司; Taq 酶购自北京天为时代; 所有引物由上海生工公司合成; 羊抗人 CD36 和辣根过氧化物酶标记兔抗羊二抗购自美国 Santa Cruz 公司; Blue Ranger 预染蛋白分子量标准、BCA 蛋白含量测定试剂和 Western Blot 荧光检测试剂盒购自 Hyclone-Pierce 公司; 佛波酯、油红 O 和丽春红染色试剂购自 Sigma 公司; 其它试剂均为进口或国产分析纯。

### 1.2 血浆脂蛋白的分离、氧化修饰及鉴定

人血浆 LDL (1.019 ~ 1.063 kg/L) 采用超速离心法分离, 经琼脂糖电泳显示为单一蛋白带。再收集离心管下层液体, 加入固体溴化钾使最终密度为 1.063 g/L, 再次超速离心, 于 8℃、50000 r/min 离心 24 h, 用吸管小心吸出离心管上层的橙黄色液体即 HDL。提纯的 LDL 和 HDL 分别在含 200  $\mu$ mol/L EDTA 的磷酸缓冲液 (PBS) 中透析 48 h, 用 BCA 法进行蛋白定量, 过滤除菌, 4℃ 保存。

将 LDL 置于含 10  $\mu$ mol/L CuSO<sub>4</sub> 的 PBS 溶液 (pH7.2) 中, 37℃ 温育 24 h。氧化后的 LDL 置含 200  $\mu$ mol EDTA 的 PBS 中透析 24 h, PBS 再透析 24 h, 过滤除菌后 4℃ 保存。LDL 中的脂过氧化物在氧化过程中增加, 颜色也由淡黄色变为乳白色。琼脂糖电泳显示 ox-LDL 的电泳迁移速率快于未氧化的 LDL。

### 1.3 细胞株的培养及实验分组

THP-1 细胞株购于中科院上海细胞生物所细胞

中心。细胞生长于含 10% 灭活新生小牛血清、1  $\times$  10<sup>8</sup> U/L 青霉素的 RPMI-1640 完全培养基中, 置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度培养箱内培养。每次实验前用 160 nmol/L 佛波酯孵育 THP-1 细胞 24 h, 使其诱导分化为巨噬细胞, 换无血清培养基培养后分组: 对照组为 RPMI-1640 培养基 + 5  $\mu$ L DMSO 孵育 24 h; 用 ox-LDL (50 mg/L)、ox-LDL (50 mg/L) + HDL (50 mg/L)、ox-LDL (50 mg/L) + HDL (50 mg/L) + D-葡萄糖 (20 mmol/L) 孵育 THP-1 细胞 24 h ( $n = 3$ )。

### 1.4 RT-PCR 检测 CD36、PPAR $\gamma$ 的 mRNA 表达

收集对照组和实验组细胞, 用 Trizol 试剂提取组织总 RNA, 溶于无 Rnase 水中, 紫外分光光度计测定 OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 的比值在 1.8 ~ 2.0 之间。取总 RNA 2  $\mu$ g, 用 Promega 公司逆转录试剂盒合成 cDNA, 再取逆转录产物 10  $\mu$ L 进行 PCR 循环。CD36 (GenBank 序列号: NM005506) 的引物序列为上游 5'-CTCCCAAAGTGCTGGGATTA-3', 下游 5'-AGC-CTTTGGGGTCTTTCTA-3', 扩增片长 246 bp; PCR 反应条件为 94℃ 预变性 4 min, 94℃ 变性 45 s, 53℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 45 s, 30 个循环, 72℃ 继续延伸 10 min。内参采用 GAPDH, 引物序列为上游 5'-TCACCATCTTCCAGGAGCGAG-3', 下游 5'-TGTCGCTGTTGAAGTCAGAG-3', 扩增片长 697 bp。PCR 反应条件为: 94℃ 预变性 4 min, 94℃ 变性 30 s, 60℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30s, 30 个循环, 72℃ 继续延伸 10 min。PPAR $\gamma$  (GenBank 序列号: NM138712) 的引物序列为上游 5'-TTCAGAAATGCCTTGCAGTG-3', 下游 5'-GGGGGTGATGTGTTTGAAGT-3', 扩增片长 308 bp。PCR 反应条件为: 94℃ 预变性 4 min, 94℃ 变性 45 s, 60℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 45 s, 30 个循环。RT-PCR 反应结束后, 取产物在 1.2% 的琼脂糖凝胶中电泳, 加样量均为 10  $\mu$ L, 溴化乙锭染色。电泳条带采用 UVP 型凝胶图像分析系统测定和分析待测基因 mRNA 表达的差异。

### 1.5 Western Blot 检测 CD36、PPAR $\gamma$ 、p-PPAR $\gamma$ 蛋白的表达

收集细胞, 经 PBS 洗涤 3 次, 加入悬浮裂解液中裂解细胞后, 于 4℃、12000 g 离心 7 min, 小心吸出上清液, 用 BCA 法进行蛋白定量。取 50  $\mu$ g 蛋白/泳道加入 1/4 体积 5  $\times$  SDS 凝胶加样缓冲液, 煮沸使蛋白变性。60 V 积层胶, 120 V 分离胶, 电泳分离细胞蛋白, 60 ~ 100 mA 1 h 将蛋白用半干转膜仪转移至 PDVF 膜上。5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h 后, 加入一抗, 4℃ 孵育 6 ~ 12 h; TBST 洗膜 5 ~ 10 min  $\times$  3 次; 加入辣根过氧化物酶标记的二抗, 4℃ 孵育 4 ~ 8

h; TBST 洗膜 5 ~ 10 min × 3 次。然后用 Western Blot 荧光检测试剂激发荧光, 显示于 X 光片, 显影, 定影后进行图像分析。

### 1.6 油红 O 染色观察 THP-1 细胞内脂质

将 THP-1 细胞培养于放有盖玻片的 6 孔培养板内, 待细胞被诱导分化为巨噬细胞后, 换无血清培养基, 加入 ox-LDL (50 mg/L)、ox-LDL (50 mg/L) + HDL (50 mg/L)、ox-LDL (50 mg/L) + HDL (50 mg/L) + D-葡萄糖 (20 mmol/L) 孵育 THP-1 巨噬细胞 24 h ( $n=3$ )。细胞贴壁生长于培养板, 用 PBS 液冲洗 3 次, 每次 5 min; 50% 异丙醇固定 1 min, 油红 O 染色液染色 10 min, 苏木素染色 5 min, 盐酸酒精分色; 水性封片剂封片, 显微镜观察; 细胞内脂质呈红色, 细胞核呈蓝色, 图像分析系统收集图像并于显微镜下摄像保存。

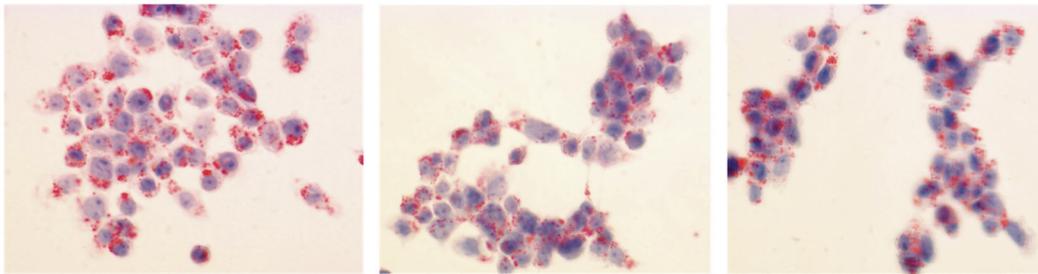


图 1. 油红 O 染色观察高糖对 THP-1 巨噬细胞脂质蓄积的影响 ( $\times 40$ ) 左为 ox-LDL 组, 中为 ox-LDL + HDL 组, 右为 ox-LDL + HDL + D-葡萄糖组。

Figure 1. Effect of high glucose on the lipid accumulation in THP-1 macrophages detected by oil red O stain ( $\times 40$ )

### 2.2 高糖对 HDL 调节 THP-1 巨噬细胞 CD36 mRNA 和蛋白表达的影响

分别用 HDL (50 mg/L)、HDL (50 mg/L) + D-葡萄糖 (20 mmol/L) 孵育 THP-1 巨噬细胞 24 h, RT-PCR 及 Western Blot 分别检测 CD36 的 mRNA 和蛋白表达, 结果显示高糖明显增加 CD36 mRNA 和蛋白的表达 ( $P < 0.05$ ; 图 2 和表 1)。

表 1. 高糖对 HDL 调节 THP-1 巨噬细胞 CD36 mRNA 和蛋白表达的影响

Table 1. Effect of high glucose on the CD36 mRNA and protein expression regulated by HDL in THP-1 macrophages

分组	CD36 mRNA	CD36 蛋白
对照组	0.89 ± 0.12	1.00 ± 0.03
HDL 组	0.70 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.71 ± 0.05 <sup>a</sup>
HDL + D-葡萄糖组	1.03 ± 0.06 <sup>b</sup>	1.41 ± 0.11 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.05$ , 与对照组相比; b 为  $P < 0.05$ , 与 HDL 组相比。

### 2.3 高糖对 HDL 调节 THP-1 巨噬细胞 PPAR $\gamma$ mRNA 和蛋白表达的影响

分别用 HDL (50 mg/L)、HDL (50 mg/L) + D-葡

### 1.7 统计学处理

数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用方差分析及  $t$  检验, 由 SPSS 19.0 统计软件完成,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 细胞内脂质改变

分别用 ox-LDL (50 mg/L)、ox-LDL (50 mg/L) + HDL (50 mg/L)、ox-LDL (50 mg/L) + HDL (50 mg/L) + D-葡萄糖 (20 mmol/L) 孵育 THP-1 巨噬细胞 24 h, 采用油红 O 染色观测细胞内脂质蓄积情况。结果发现, ox-LDL + HDL 组细胞内的脂质明显减少, 而 ox-LDL + HDL + D-葡萄糖组中细胞内脂质又明显增多 (图 1)。

萄糖 (20 mmol/L) 孵育 THP-1 巨噬细胞 24 h, RT-PCR 及 Western Blot 分别检测 PPAR $\gamma$  的 mRNA 和蛋白表达, 结果显示高糖明显增加 PPAR $\gamma$  mRNA 和蛋白的表达 ( $P < 0.05$ ; 图 3 和表 2)。

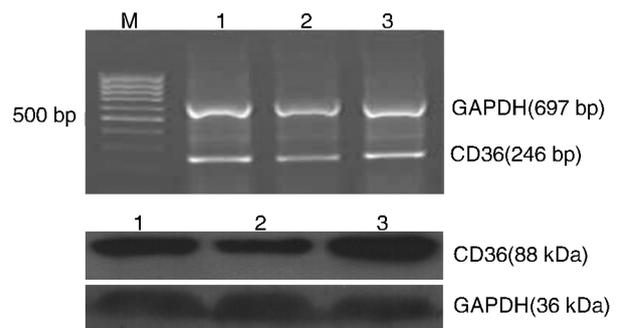


图 2. 高糖对 HDL 调节 THP-1 巨噬细胞 CD36 mRNA (上图) 和蛋白 (下图) 表达的影响 ( $n=3$ ) M 为 DNA Marker, 1 为对照组, 2 为 HDL 组, 3 为 HDL + D-葡萄糖组。

Figure 2. Effect of high glucose on the CD36 mRNA and protein expression regulated by HDL in THP-1 macrophages ( $n=3$ )

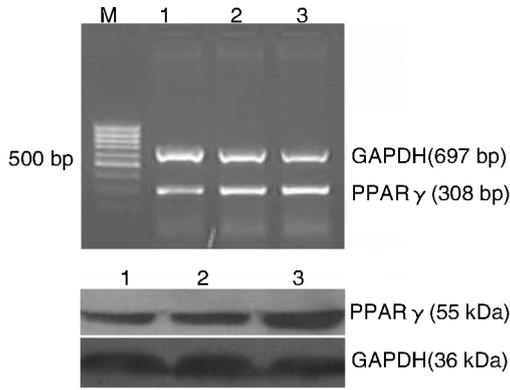


图3. 高糖对 HDL 调节 THP-1 巨噬细胞 PPAR $\gamma$  mRNA (上图) 和蛋白 (下图) 表达的影响 ( $n=3$ ) M 为 DNA Marker, 1 为对照组, 2 为 HDL 组, 3 为 HDL + D-葡萄糖组。

Figure 3. Effect of high glucose on the PPAR $\gamma$  mRNA and protein expression regulated by HDL in THP-1 macrophages

表2. 高糖对 HDL 调节 THP-1 巨噬细胞 PPAR $\gamma$  mRNA 和蛋白表达的影响

Table 2. Effect of high glucose on expression of PPAR $\gamma$  mRNA and protein regulated by HDL in THP-1 macrophages

分 组	PPAR $\gamma$ mRNA	PPAR $\gamma$ 蛋白
对照组	0.61 $\pm$ 0.09	1.00 $\pm$ 0.02
HDL 组	1.02 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	1.41 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>
HDL + D-葡萄糖组	1.32 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	2.23 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.05$ , 与对照组相比; b 为  $P < 0.05$ , 与 HDL 组相比。

#### 2.4 高糖对 HDL 调节 THP-1 巨噬细胞 PPAR $\gamma$ 磷酸化的影响

分别用 HDL (50 mg/L)、HDL (50 mg/L) + D-葡萄糖 (20 mmol/L) 孵育 THP-1 巨噬细胞 24 h, 采用 Western Blot 检测 p-PPAR $\gamma$  蛋白的表达, 结果显示, HDL 明显促进 PPAR $\gamma$  的磷酸化, 高糖对 HDL 作用下的 p-PPAR $\gamma$  表达没有明显的影响, 但有下调 p-PPAR $\gamma$  表达的趋势 (图 4 和表 3)。

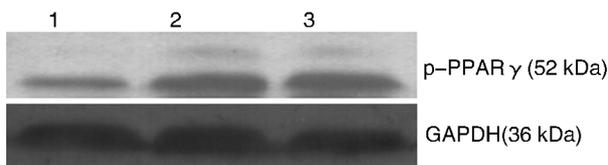


图4. 高糖对 HDL 调节 THP-1 巨噬细胞 p-PPAR $\gamma$  蛋白表达的影响 ( $n=3$ ) 1 为对照组, 2 为 HDL 组, 3 为 HDL + D-葡萄糖组。

Figure 4. Effect of high glucose on the p-PPAR $\gamma$  protein expression regulated by HDL in THP-1 macrophages

表3. 高糖对 HDL 调节 THP-1 巨噬细胞 PPAR $\gamma$  磷酸化水平的影响

Table 3. Effect of high glucose on the phosphorylation of PPAR $\gamma$  regulated by HDL in THP-1 macrophages

分 组	PPAR $\gamma$ 蛋白	p-PPAR $\gamma$	p-PPAR $\gamma$ / PPAR $\gamma$
对照组	1.00 $\pm$ 0.02	1.00 $\pm$ 0.03	1.00 $\pm$ 0.03
HDL 组	1.47 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	1.70 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>	1.28 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>
HDL + D-葡萄糖组	2.31 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>	1.71 $\pm$ 0.17	0.73 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.05$ , 与对照组相比; b 为  $P < 0.05$ , 与 HDL 组相比。

### 3 讨 论

据估计, 2013 年全球约有 3.82 亿成年人患有糖尿病, 导致约 510 万人死亡, 现在全球约 8.3% 的成年人患有糖尿病<sup>[8]</sup>。糖尿病是各种并发症发生、发展和死亡的独立危险因素, 包括冠状动脉疾病 (CAD)<sup>[9-11]</sup>, 与 As 关联的代谢紊乱是糖尿病患者严重的血管病变和致死的主要原因<sup>[12]</sup>。研究发现, CD36 具有结合和修饰动脉壁内 LDL 的能力, 促进荷脂的巨噬细胞泡沫化并引发 As 病变<sup>[13-15]</sup>, 也许 CD36 在循环巨噬细胞的激活是 As 病变的一个早期临床标志, 巨噬细胞泡沫化在糖尿病引起的 As 形成中起重要作用<sup>[16]</sup>。CD36 与 2 型糖尿病患者 As 的危险因素密切相关, 并提出 CD36 可能是代谢综合征 As 的一个潜在标记物<sup>[14]</sup>。

PPAR $\gamma$  是一类由配体激活的核转录因子, 属于核受体超家族成员。治疗糖尿病的噻唑烷酮类化合物和 15-脱氧前列腺素 J2 均可作为 PPAR $\gamma$  的配体, PPAR $\gamma$  主要在脂肪组织中表达, 介导脂肪细胞的分化过程<sup>[17]</sup>, PPAR $\gamma$  在血管内皮细胞、血管平滑肌细胞和巨噬细胞等部位也有不同程度的表达, 在糖和脂代谢、泡沫细胞形成及炎症反应中发挥着重要作用。PPAR $\gamma$  对 CD36 表达起基础性调节作用, 首先表明了 PPAR $\gamma$  在调节细胞内脂质平衡中的作用, ox-LDL 脂质成分可激活 PPAR $\gamma$  并能诱导 CD36 的表达<sup>[18]</sup>, 证实 CD36 是 PPAR $\gamma$  的靶基因<sup>[2]</sup>。

HDL 抑制 CD36 的表达并抑制细胞脂质蓄积, 但其机制仍不清楚。心血管疾病事件与循环中的 HDL 水平呈反向关系<sup>[19]</sup>。HDL 在阻止心血管疾病发展中的有利影响, 被认为是诱导细胞胆固醇流出和促进从外周组织到肝脏的“胆固醇逆向转运”<sup>[1]</sup>。实验证明, HDL 的一个新的有利影响, 并且有可能是 HDL 的一种潜在作用, 即阻止导致心血管疾病发

展的脂质蓄积。巨噬细胞中胆固醇流出改变其信号途径机制的进一步揭示,以及质膜小凹在这一过程中的功能和作用的进一步阐明<sup>[20]</sup>,将大大促进人们对 CD36 表达调节途径的认识。

因为 CD36 是 As 的潜在治疗靶点,所以了解抑制或下调 CD36 表达的机制非常重要<sup>[21]</sup>。Voloshyna 等<sup>[22]</sup>证实, HDL 增加巨噬细胞 PPAR $\gamma$  表达、转录和磷酸化,抑制巨噬细胞 CD36 的表达,抑制细胞脂质蓄积,并呈一种剂量依赖效应。HDL 也许是通过促进胆固醇流出而激活丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号途径,使 PPAR $\gamma$  磷酸化增加而抑制 CD36 的表达<sup>[22,23]</sup>。本实验中发现,高糖增强了 PPAR $\gamma$  的表达,而对 HDL 作用下的 PPAR $\gamma$  磷酸化有降低的趋势,磷酸化 PPAR $\gamma$  与 PPAR $\gamma$  的比例明显减少,而 CD36 的表达显著上调。本实验研究结果提示,高糖也许是通过上调 PPAR $\gamma$  的表达,降低 PPAR $\gamma$  的磷酸化水平,使 HDL 抑制 CD36 表达的作用减弱,从而 CD36 的表达上调。同时也提示,CD36 可能是糖尿病性心血管病的防治靶点。

#### [参考文献]

[1] Bozina T, Simic I, Lovric J, et al. Effects of lipoprotein lipase and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma gene variants on metabolic syndrome traits [J]. *Coll Antropol*, 2013, 37 (3): 801-808.

[2] Kriska T, Cepura C, Gauthier KM, et al. Role of macrophage PPARgamma in experimental hypertension [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2014, 306(1): H26-32.

[3] Neculai D, Schwake M, Ravichandran M, et al. Structure of LIMP-2 provides functional insights with implications for SR-B I and CD36 [J]. *Nature*, 2013, 504(7478): 172-176.

[4] Afonso Mda S, Castilho G, Lavrador MS, et al. The impact of dietary fatty acids on macrophage cholesterol homeostasis [J]. *J Nutr Biochem*, 2014, 25(2): 95-103.

[5] Chavez-Sanchez L, Garza-Reyes MG, Espinosa-Luna JE, et al. The role of TLR2, TLR4 and CD36 in macrophage activation and foam cell formation in response to oxLDL in humans [J]. *Hum Immunol*, 2014, 75(4): 322-329.

[6] Roglic G, Unwin N. Mortality attributable to diabetes: estimates for the year 2010 [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2010, 87(1): 15-19.

[7] Cioffi G, Rossi A, Targher G, et al. Usefulness of subclinical left ventricular midwall dysfunction to predict cardiovascular mortality in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Am J Cardiol*, 2014, 113(8): 1409-1414.

[8] Lamri L, Gripiotis E, Ferrario A. Diabetes in algeria and challenges for health policy: a literature review of prevalence, cost, management and outcomes of diabetes and its complications [J]. *Global Health*, 2014, 10(1): 11.

[9] Isla Pera P. Chronic complications of diabetes mellitus. Recommendations from the American diabetes association 2011. Prevention and management [J]. *Rev Enferm*, 2012, 35(9): 46-52.

[10] Ezenwaka C, Eckel J. Prevention of diabetes complications in developing countries: time to intensify self-management education [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2011, 117(5): 251-253.

[11] Sone H. Prevention and management of atherosclerotic complications of diabetes [J]. *Nihon Ronen Igakkai Zasshi*, 2011, 48(3): 253-256.

[12] Kovacic J C, Castellano J M, Farkouh M E, et al. The relationships between cardiovascular disease and diabetes: focus on pathogenesis [J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2014, 43(1): 41-57.

[13] Collot-Teixeira S, Martin J, McDermott-Roe C, et al. CD36 and macrophages in atherosclerosis [J]. *Cardiovasc Res*, 2007, 75(3): 468-477.

[14] Handberg A, Levin K, Hojlund K, et al. Identification of the oxidized low-density lipoprotein scavenger receptor CD36 in plasma: a novel marker of insulin resistance [J]. *Circulation*, 2006, 114(11): 1 169-176.

[15] Silverstein R L, Li W, Park Y M, et al. Mechanisms of cell signaling by the scavenger receptor CD36: implications in atherosclerosis and thrombosis [J]. *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 2010, 121: 206-220.

[16] Kaplan M, Aviram M, and Hayek T. Oxidative stress and macrophage foam cell formation during diabetes mellitus-induced atherogenesis: role of insulin therapy [J]. *Pharmacol Ther*, 2012, 136(2): 175-185.

[17] Cipolletta D, Feuerer M, Li A, et al. PPAR-gamma is a major driver of the accumulation and phenotype of adipose tissue Treg cells [J]. *Nature*, 2012, 486(7404): 549-553.

[18] 曾颖, 孙玉慧, 黄延锦, 等. 过氧化体增殖物激活型受体对巨噬细胞脂质蓄积及 CD36 表达的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(2): 121-124.

[19] 潘清蓉, 郑央央, 范慧, 等. 非 HDLC/HDLC 与 2 型糖尿病患者早期颈动脉斑块的相关性 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2013, 21(8): 716-720.

[20] Rohrl C, Stangl H. HDL endocytosis and resecretion [J]. *Biochem Biophys Acta*, 2013, 1831(11): 1 626-633.

[21] 肖铭甲, 陈卫红, 郭景新, 等. 芥菜籽提取物抗氧化及下调巨噬细胞清道夫受体 CD36 表达和预防动脉粥样硬化的作用 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2013, 21(2): 109-114.

[22] Voloshyna I, Hai O, Littlefield M J, et al. Resveratrol mediates anti-atherogenic effects on cholesterol flux in human macrophages and endothelium via PPAR gamma and adenosine [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 698(1-3): 299-309.

[23] Ren J, Jin W, and Chen H. oxHDL decreases the expression of CD36 on human macrophages through PPARgamma and p38 MAP kinase dependent mechanisms [J]. *Mol Cell Biochem*, 2010, 342(1-2): 171-181.