

别嘌呤醇抑制巨噬细胞脂质蓄积的作用机制

郑伟¹, 陈欣¹, 李亚新¹, 李珊^{1,2}

(湖北医药学院 1.附属东风医院综合医疗科, 2.基础医学院生物化学教研室, 湖北省十堰市 442000)

[关键词] 别嘌呤醇; 巨噬细胞; 脂质蓄积; 肝 X 受体 α ; 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1

[摘要] **目的** 采用氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)构建小鼠巨噬细胞泡沫化模型,探讨别嘌呤醇对泡沫化进程中脂质蓄积的影响及其机制。**方法** 体外培养小鼠单核巨噬细胞株 RAW264.7,用 ox-LDL 或 Dil-ox-LDL 孵育细胞构建泡沫化模型。用不同浓度别嘌呤醇处理细胞,MTT 法筛选出合适的实验浓度。将合适浓度的别嘌呤醇作用于细胞,在共聚焦荧光显微镜下观察 Dil-ox-LDL 孵育后 RAW264.7 细胞内脂质蓄积情况;酶学终点法定量检测细胞内总胆固醇的变化;半定量、荧光定量 RT-PCR 法和蛋白免疫印迹法分别检测细胞中 LXR α 和 ABCA1 mRNA 和蛋白的表达水平。**结果** 与 ox-LDL 诱导的泡沫化模型组相比,别嘌呤醇组脂质蓄积显著下降,总胆固醇含量明显下调。别嘌呤醇在 mRNA 和蛋白水平上引起 LXR α 和 ABCA1 的高表达。**结论** 别嘌呤醇具有抑制 ox-LDL 诱导小鼠巨噬细胞泡沫化进程的作用,并通过上调 LXR α -ABCA1 途径来调节细胞内胆固醇的含量。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Study on the Mechanism of Allopurinol Inhibiting the Lipid Accumulation of Macrophages

ZHENG Wei¹, CHEN Xin¹, LI Ya-Xin¹, and LI Shan^{1,2}

(1.Department of Integrated Medicine, the Affiliated Dongfeng Hospital, 2.College of Basic Medicine, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China)

[KEY WORDS] Allopurinol; Macrophage; Lipid Accumulation; Liver X Receptor α ; ATP-binding Cassette Transporter A1

[ABSTRACT] **Aim** To construct the mouse macrophage foam model by using oxidized low density lipoprotein (ox-LDL); To investigate the effect of allopurinol on lipid accumulation in macrophage foam process and its mechanism.

Methods Mouse macrophage cell line RAW264.7 was cultured in vitro, and foam model was constructed by using ox-LDL or Dil-ox-LDL incubating macrophage cells. Macrophage cells were treated with different concentrations of allopurinol, and MTT method was used to screen the suitable experimental concentration. Macrophage cells were treated with suitable concentration of allopurinol. After Dil-ox-LDL incubation, the lipid accumulation in RAW264.7 cells was observed under confocal fluorescence microscopy. The change of total cholesterol in the cells was detected by enzymatic end point method. Semi-quantitative, fluorescence quantitative RT-PCR and Western blot were used to detect the expressions of liver X receptor α (LXR α), ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) mRNA and protein in cells. **Results** Compared with the ox-LDL induced foam model group, the lipid accumulation and total cholesterol content were significantly decreased in RAW264.7 cells of the allopurinol group. Allopurinol could cause the high expressions of LXR α , ABCA1 mRNA and protein. **Conclusion** Allopurinol can restrain mouse macrophage foam process induced by ox-LDL, and regulate intracellular cholesterol content through the up-regulation of LXR α -ABCA1 pathway.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是多种心血管疾病的基本病理特征,而其中巨噬细胞无限增殖

[收稿日期] 2015-02-05

[修回日期] 2015-12-23

[基金项目] 湖北省教育厅科学技术研究计划优秀中青年人才项目(Q20132105);湖北省教育厅科学技术研究计划重点项目(D20142106)

[作者简介] 郑伟,硕士,主治医师,讲师,研究方向为动脉粥样硬化的分子机制,E-mail 为 zheng_wei@tom.com。通讯作者李珊,博士,讲师,主要研究方向为冠心病的防治,E-mail 为 lishanhbmu@126.com。通讯作者陈欣,硕士,副主任医师,研究方向为心血管疾病机制,E-mail 为 hb-chenxin@126.com。

取氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)颗粒形成泡沫细胞是 As 早期病变的重要环节^[1],这种巨噬细胞源性的泡沫细胞最终进展为 As 斑块的脂质核心,在 As 的进程中起着关键性的作用^[2]。肝 X 受体 α (liver X receptor α , LXR α)属于核受体超家族成员,在维持细胞内胆固醇的稳态方面起着重要的作用。多项研究表明,LXR α 在 As 的发生发展中发挥着重要作用,它能够与靶基因上游的 LXR 反应元件结合,调节特定基因的表达,通过胆固醇逆向转运促进巨噬细胞内的胆固醇流出^[3]。而三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)是受 LXR α 通路调节的控制细胞内胆固醇磷脂外流和胆固醇逆转运的关键分子^[4]。因此,寻找有效的调控 LXR α -ABCA1 通路的药物对抑制泡沫细胞形成,阻止 As 进展具有重要意义。在临床上,别嘌呤醇作为一线药物已广泛应用于高尿酸血症的治疗中,但是近年来多项研究提示,别嘌呤醇还能够延缓小鼠 As 的进程^[5],但是其在 As 中的具体作用机制仍不明确。本文以 ox-LDL 诱导的小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 泡沫化为模型,观察了别嘌呤醇对巨噬细胞泡沫化过程中脂质聚积、胆固醇含量以及 LXR α -ABCA1 通路表达的影响,以探讨其调控巨噬细胞泡沫化的机制,为别嘌呤醇作为抗 As 的药物治疗提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料及试剂

别嘌呤醇购自 Sigma 公司;ox-LDL (1.26 mg/L)和 Dil 标记的 ox-LDL (Dil-ox-LDL;1.9 g/L)购自广州奕源生物有限公司;DMEM 高糖培养基和胎牛血清购自 Gibco 公司;四甲基偶氮唑盐(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)细胞增殖试剂盒购自美国 ATCC 公司;Trizol 购自 Invitrogen 公司;逆转录试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒购自 Toyobo 公司;M-PER 购自 Pierce 公司;兔抗 LXR α 、ABCA1 和 β -actin 抗体购自 Santa Cruz 公司;增强化学发光(enhanced chemiluminescence, ECL)试剂盒和二氟化树脂膜分别为 Pierce 公司和 Millipore 公司产品;二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白含量测定试剂盒购自 Pierce 公司;总胆固醇测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所;其余试剂均为进口分装。

1.2 细胞培养

小鼠单核巨噬细胞株 RAW264.7 购自中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所,在含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基中贴壁生长,培养条件为 37℃、5%CO₂。细胞生长至 90%时传代 1 次。取对数生长期细胞进行实验,在每次实验前将细胞密度调整为 1×10^9 /L,按实验需要分组。应用 ox-LDL(终浓度为 50 mg/L)或 Dil-ox-LDL(10 mg/L)处理 24 h,诱导巨噬细胞泡沫化。实验共分 3 组:(1)空白对照组;(2)泡沫化模型组(ox-LDL 或 Dil-ox-LDL 组);(3)别嘌呤醇组:ox-LDL 或 Dil-ox-LDL 作用后,在培养液中加入别嘌呤醇处理,2 h 后收集细胞。

1.3 MTT 法检测细胞存活率

每孔换无血清 DMEM 培养基(别嘌呤醇浓度 5 ~ 500 μ mol/L),加 MTT,37℃、5%CO₂ 培养 5 h 后取出,每孔加入二甲基亚砷 100 μ L,室温轻摇 4 h,待蓝色颗粒完全溶解后于酶标仪(KHB ST-360)570 nm 处测吸光度(absorbance, A)值。细胞存活率按公式计算:细胞存活率 = 处理组 A_{570 nm}/对照组 A_{570 nm} × 100%。

1.4 共聚焦荧光显微镜检测细胞内 Dil-ox-LDL 蓄积程度

取出处理后细胞,细胞标本用 PBS 洗涤 3 次,在共聚焦荧光显微镜下观察细胞内 Dil-ox-LDL 的蓄积情况。

1.5 细胞内总胆固醇测定

培养皿细胞孵育结束后,收集细胞,用 PBS 洗 3 次,按 Folch 法进行脂质抽提,依照脂质测定试剂盒说明书测定总胆固醇(total cholesterol, TC)的含量。细胞蛋白质含量用 BCA 法测定。

1.6 RT-PCR 检测 LXR α 和 ABCA1 基因的表达

将处理后的细胞加入 Trizol,按说明书提取细胞总 RNA。取各组细胞总 RNA 4 μ g,用东洋纺逆转录试剂盒逆转录合成 cDNA,取产物 2 μ L,以 β -actin 为内参进行 PCR 扩增。PCR 循环参数:94℃ 预热 2 min,94℃ 变性 30 s,58℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 30 s,共进行 28 个循环,末次循环 72℃,延伸 10 min。LXR α 引物序列:5'-CGACAGAGCTTCCGTCCACAA-3';5'-GCTCGTTCGCCAGCATTTT-3'。ABCA1 引物序列:5'-GGACATGCACAAGGTCCTGA-3';5'-CA-GAAAATCCTGGAGCTTCAAA-3'。 β -actin 引物序列:5'-TGGCCTCCAAGGAGTAAGAAAC-3';5'-GG-GATAGGGCCTCTCTTGCT-3'。用凝胶电泳分析系统扫描并分析各组 LXR α 、ABCA1 和 β -actin 基因的

灰度值,以二者的比值表示目的基因 mRNA 相对表达水平。

1.7 蛋白免疫印迹检测 LXR α 和 ABCA1 蛋白的表达

按照 M-PER 蛋白提取试剂盒说明书提取各组细胞总蛋白,细胞蛋白质含量用 BCA 法测定。经定量变性处理后的蛋白质进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(10%分离胶)后电转印至二氟化树脂膜,5%脱脂奶粉封闭后分别用兔抗 LXR α 和 ABCA1(1:200)和 β -actin 抗体(1:1000)多克隆抗体室温孵育 3 h,洗膜后用辣根过氧化物酶标记相应二抗孵育 2 h,免疫条带用 ECL 法显示,暗室曝光。采用 Image-ProPlus 软件分析蛋白条带积分吸光度(integral absorbance, IA)值,以目的蛋白 IA 值与 β -actin IA 值的比值反映目的蛋白的相对水平。

1.8 统计学分析

实验均重复 3 次,各组实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 别嘌呤醇浓度的确定

用 MTT 法检测不同浓度(5、50、100、250、500 $\mu\text{mol/L}$)别嘌呤醇作用于 RAW264.7 细胞 48 h 后对细胞增殖的影响,结果显示,在别嘌呤醇浓度 $< 250 \mu\text{mol/L}$ 时,对巨噬细胞 RAW264.7 的增殖无显著影响;别嘌呤醇浓度 $\geq 250 \mu\text{mol/L}$ 时,

对巨噬细胞 RAW264.7 的增殖有显著抑制作用($P < 0.05$;图 1)。

2.2 别嘌呤醇对泡沫化巨噬细胞脂质蓄积的影响

向 RAW264.7 细胞加入 10 mg/L Dil-ox-LDL,培养 24 h,在共聚焦荧光显微镜下观察。结果显示,未加入 Dil-ox-LDL 的空白对照组巨噬细胞内无荧光(图 2A);加入 Dil-ox-LDL 的泡沫化模型组,镜下呈现强烈的红色荧光(图 2B);而经别嘌呤醇处理后,20 $\mu\text{mol/L}$ 别嘌呤醇组与泡沫化模型组无明显差异(图 2C),但 80 $\mu\text{mol/L}$ 别嘌呤醇组 Dil-ox-LDL 的红色荧光显著减弱,提示 80 $\mu\text{mol/L}$ 别嘌呤醇处理后巨噬细胞内脂质蓄积明显减少(图 2D)。因此,后续实验均采用 80 $\mu\text{mol/L}$ 别嘌呤醇进行实验。

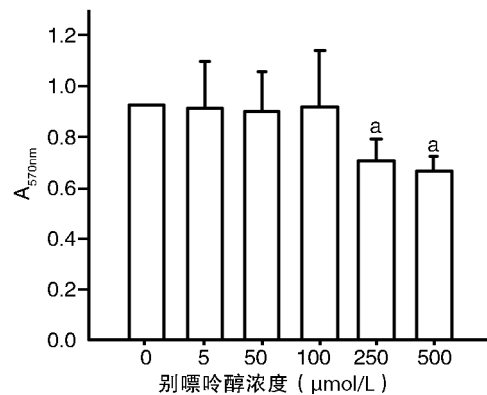


图 1. 别嘌呤醇对 RAW264.7 细胞增殖的影响 a 为 $P < 0.05$,与 0 $\mu\text{mol/L}$ 别嘌呤醇组(空白对照组)相比。

Figure 1. The effect of allopurinol on proliferation in RAW264.7 cell

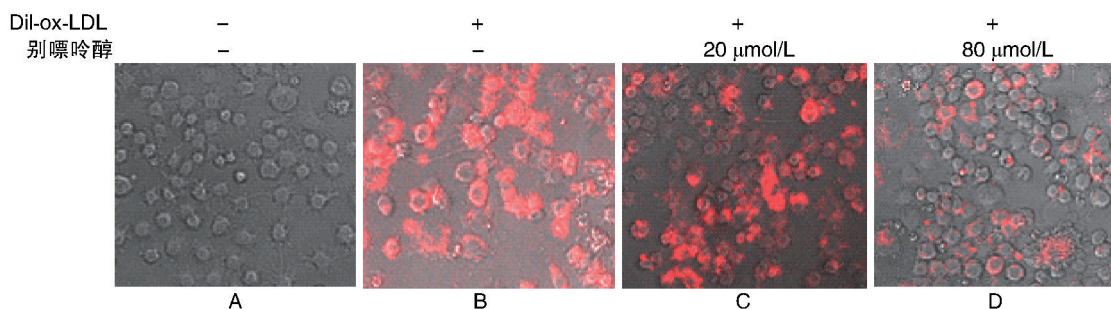


图 2. 共聚焦荧光显微镜观察巨噬细胞内 Dil-ox-LDL 蓄积($\times 40$) A 为空白对照组, B 为泡沫化模型组, C 为 20 $\mu\text{mol/L}$ 别嘌呤醇组, D 为 80 $\mu\text{mol/L}$ 别嘌呤醇组。

Figure 2. The changes of the lipid (Dil-ox-LDL) deposition after treated with allopurinol under the confocal fluorescence microscopy ($\times 40$)

2.3 别嘌呤醇对泡沫化巨噬细胞胆固醇含量的影响

总胆固醇测定结果显示,与空白对照组相比,

泡沫化模型组巨噬细胞内 TC 增加($P < 0.001$),而别嘌呤醇组细胞内 TC 含量较泡沫化模型组显著减少($P < 0.01$),提示别嘌呤醇能显著抑制 ox-LDL 诱导

的巨噬细胞泡沫化(表1)。

2.4 别嘌呤醇对泡沫化巨噬细胞 LXR α 和 ABCA1 表达的影响

通过半定量和荧光定量 RT-PCR,我们发现,与泡沫化模型组(ox-LDL 组)相比,别嘌呤醇处理后 LXR α 和 ABCA1 的 mRNA 表达水平呈现上调趋势($P<0.05$;图 3A、B),而空白对照组中加入别嘌呤醇并不能使 LXR α 和 ABCA1 的 mRNA 表达水平出现改变(图 3B)。Western blot 的结果与半定量、荧光定量 RT-PCR 的结果一致,显示泡沫化模型组、空白对照组巨噬细胞中 LXR α 的表达均呈现低表达水平且无明显差异,而别嘌呤醇组 LXR α 表达明显增加,说明别嘌呤醇对泡沫化巨噬细胞内 LXR α 的蛋白表达有激活作用。另一方面,与空白对照组比较,泡

沫化模型组 ABCA1 表达明显增加,提示 ox-LDL 可以上调泡沫细胞内 ABCA1 的表达水平;与泡沫化模型组比较,别嘌呤醇组 ABCA1 的表达仍有上调,差异具有显著性($P<0.05$;图 3C)。

表 1. 各组细胞内总胆固醇的含量($\bar{x}\pm s$,mg/g 蛋白)

Table 1. Total cholesterol content in each group cells ($\bar{x}\pm s$, mg/g protein)

分 组	n	TC
空白对照组	4	33.29 \pm 0.69
泡沫化模型组	4	55.84 \pm 0.76 ^a
别嘌呤醇组	4	36.51 \pm 2.52 ^b

a 为 $P<0.001$,与空白对照组相比;b 为 $P<0.01$,与泡沫化模型组相比。

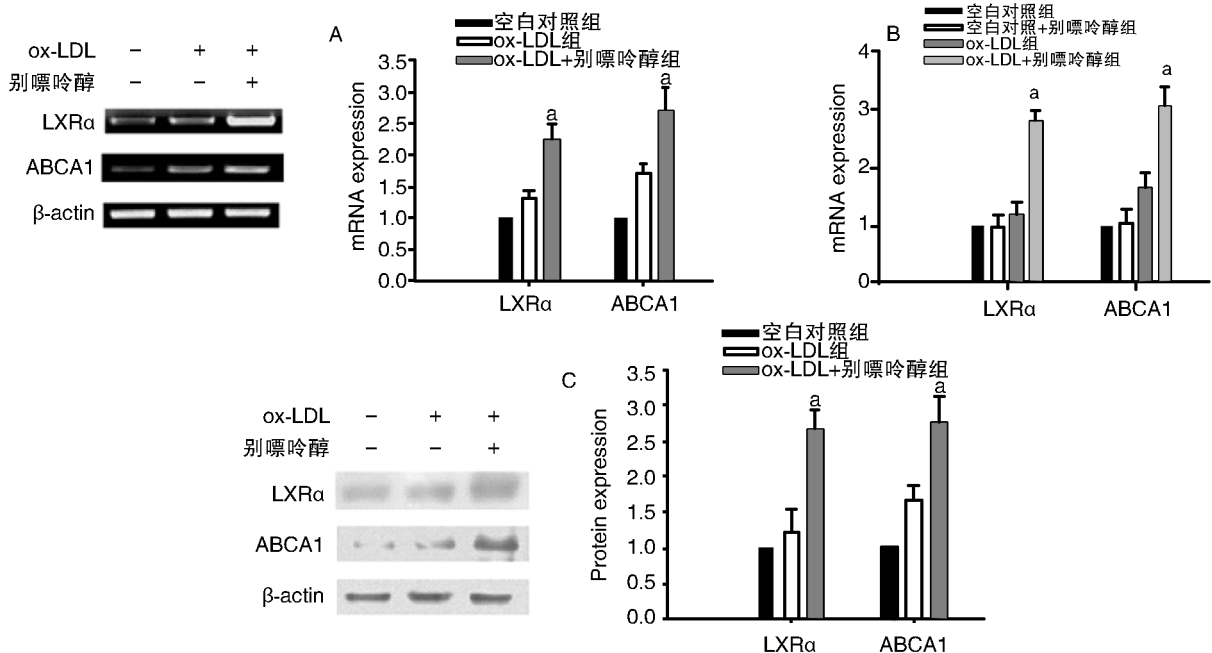


图 3. 别嘌呤醇对泡沫化巨噬细胞 LXR α 和 ABCA1 表达的影响 A 为半定量 RT-PCR 检测 LXR α 和 ABCA1 mRNA 的表达;B 为荧光定量 RT-PCR 检测 LXR α 和 ABCA1 mRNA 的表达;C 为 Western blot 检测 LXR α 和 ABCA1 蛋白的表达。a 为 $P<0.05$,与泡沫化模型组相比。

Figure 3. The effects of allopurinol on LXR α and ABCA1 expression in foam macrophages

2.5 别嘌呤醇通过 LXR α 途径调控 ABCA1 的表达

为了研究别嘌呤醇对 LXR α 途径活化和 ABCA1 蛋白表达上调之间的联系,我们运用 LXR α 抑制剂 SR9243 抑制 LXR α 途径的活化,然后再检测 ABCA1 的表达水平。通过 Western blot 发现,不论泡沫化模型组还是别嘌呤醇组加入 SR9243,都将显著降低 ABCA1 蛋白表达水平($P<0.05$),但别嘌呤醇组 ABCA1 蛋白表达水平仍高于泡沫化模型组(图 4),说明别嘌呤醇引起 ABCA1 表达上调的作用是多方面因素引起的,但 LXR α 途径的活化确实在

别嘌呤醇引起 ABCA1 蛋白表达上调中起着一定的作用。

3 讨论

目前认为,巨噬细胞内脂质代谢出现异常导致细胞内脂质堆积,进而转化为泡沫细胞是 As 形成的病理基础^[6]。在临床上,别嘌呤醇作为黄嘌呤氧化酶的抑制剂已广泛应用于高尿酸血症的治疗中。但近期的研究显示,别嘌呤醇除具有降低尿酸的作

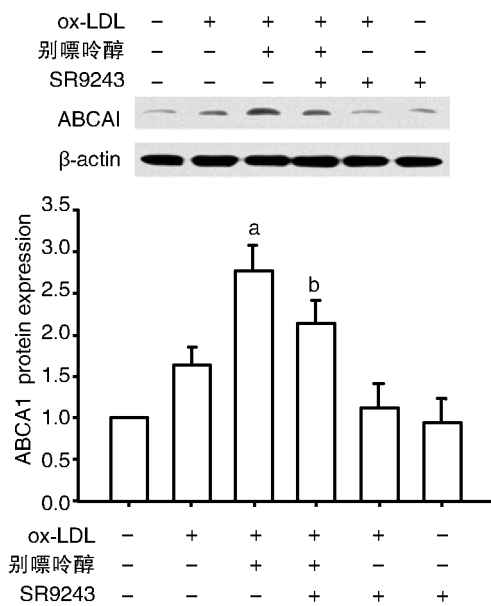


图 4. 别嘌呤醇通过 LXR α 活化调控 ABCA1 蛋白的表达 a 为 $P < 0.05$, 与泡沫化模型组相比; b 为 $P < 0.05$, 与别嘌呤醇组相比。

Figure 4. Allopurinol regulated the expression of ABCA1 protein through LXR α activation

用外,还能够降低病人心血管事件的死亡率^[7],具有改善慢性稳定型心绞痛^[8]、慢性心力衰竭、保护心肌缺血再灌注损伤^[9]以及延缓动脉粥样硬化进程^[10]等作用。研究发现,别嘌呤醇能够下调载脂蛋白 E 基因敲除小鼠泡沫化巨噬细胞中炎症因子白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、IL-12 和肿瘤坏死因子 α 的表达^[5],因此,我们推测别嘌呤醇可能通过一定的机制影响 As 的发生发展。在本研究中,通过共聚焦荧光显微镜观察 Dil-ox-LDL 的方法检测巨噬细胞内脂质蓄积情况,我们发现别嘌呤醇具有显著抑制巨噬细胞脂质蓄积的效应。为了确定别嘌呤醇在调节泡沫化巨噬细胞胆固醇含量中的作用,我们检测了各组细胞内 TC 的含量,结果发现泡沫化巨噬细胞内 TC 含量明显增多;别嘌呤醇处理组能够明显下调巨噬细胞源性泡沫细胞中 TC 的含量。这些结果均提示别嘌呤醇可能通过影响胆固醇转运来参与 As 的进程。

近年来的研究发现,巨噬细胞内 LXR α 能够激活一系列信号通路调控其脂质代谢,可以通过调节参与胆固醇吸收、转运、外流和分泌的基因表达,从而维持整个机体的胆固醇内环境稳定^[11]。研究显示,LXR α 激动剂有明显的抗 As 作用,敲除 LXR α 受体,可以引发小鼠产生 As^[12]。本研究中发现空白对照组和泡沫化模型组中的 LXR α 呈低水平表达,别嘌呤醇处理后能够促进 LXR α 的 mRNA 和蛋

白表达。因此,我们认为别嘌呤醇通过 LXR α 途径抑制脂质的细胞内蓄积,维持机体胆固醇内环境的稳定,延缓泡沫细胞的形成,阻止 As 的进展。

进一步的研究指明,LXR α 的激活可以诱导其下游与胆固醇输出密切相关蛋白的表达来调节细胞内胆固醇的外流^[13]。在巨噬细胞中有多种基因调控着细胞内胆固醇的稳态,其中主要包括清道夫受体和胆固醇转运蛋白,如清道夫受体 B1 和 ATP 结合盒转运体 (ABCA1 和 ABCG1)^[14]。ABCA1 是巨噬细胞内参与胆固醇外流信号通路的关键蛋白,近年研究显示,ABCA1 能以 ATP 为能源转运各种底物,尤其是细胞内多余的胆固醇^[15]。研究发现,当 ABCA1 的表达降低时,会造成细胞内大量的脂质堆积,最后形成泡沫细胞^[16]。而 LXR α 活化可以通过直接调节 ABCA1 的启动子活性来介导胆固醇外排^[17]。近期研究显示 ox-LDL 能够促进 THP-1 人单核巨噬细胞的 ABCA1 蛋白表达增加^[18],而某些抗动脉粥样硬化药物能够通过激活 LXR α -ABCA1 途径^[19],促进胆固醇的外流,从而降低细胞内胆固醇的含量^[20];本研究中也有类似发现。通过 RT-PCR 和蛋白质免疫印迹技术,我们观察到空白对照组 ABCA1 水平表达呈现出低表达状态,而 ox-LDL 孵育后能显著上调细胞内 ABCA1 的表达水平,但是 ox-LDL 对巨噬细胞 LXR α 表达无影响,说明 ox-LDL 上调 ABCA1 的表达并非通过激活 LXR α 来实现的。与 ox-LDL 诱导的泡沫化模型组相比,别嘌呤醇组 ABCA1 蛋白的表达明显升高,表明别嘌呤醇可通过提高 ABCA1 的表达来促进巨噬细胞内胆固醇的转运。而 LXR α 抑制剂的应用,证实别嘌呤醇上调 ABCA1 的表达确实部分通过 LXR α 通路来实现。

综上所述,本研究提示在 ox-LDL 诱导 RAW264.7 巨噬细胞泡沫化模型中,别嘌呤醇能够改善巨噬细胞泡沫化过程中的脂质蓄积,其作用机制是通过激活 LXR α -ABCA1 途径以促进脂质外排。该研究结果为别嘌呤醇作为抗 As 药物在临床上使用提供了理论和实验依据。

[参考文献]

- [1] Thorp E, Tabas I. Mechanisms and consequences of efferocytosis in advanced atherosclerosis [J]. J Leukoc Biol, 2009, 86(5): 1 089-095.
- [2] Andrés V, Pello OM, Silvestre-Roig C. Macrophage proliferation and apoptosis in atherosclerosis [J]. Curr Opin Lipidol, 2012, 23(5): 429-438.
- [3] Beltowski J. Liver X receptors (LXR) as therapeutic targets

- in dyslipidemia [J]. *Cardiovasc Ther*, 2008, 26(4): 297-316.
- [4] Voloshyna I, Reiss AB. The ABC transporters in lipid flux and atherosclerosis [J]. *Prog Lipid Res*, 2011, 50(3): 213-224.
- [5] Kushiyama A, Okubo H, Sakoda H, et al. Xanthine oxidoreductase is involved in macrophage foam cell formation and atherosclerosis development [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(2): 291-298.
- [6] Tiwari RL, Singh V, Barthwal MK. Macrophages: an elusive yet emerging therapeutic target of atherosclerosis [J]. *Med Res Rev*, 2008, 28(4): 483-544.
- [7] Noman A, Ang DS, Ogston S, et al. Effect of high-dose allopurinol on exercise in patients with chronic stable angina: a randomised, placebo controlled crossover trial [J]. *Lancet*, 2010, 375(9732): 2 161-167.
- [8] Grimaldi-Bensouda L, Alperovitch A, Aubrun E, et al. Impact of allopurinol on risk of myocardial infarction [J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74(5): 836-842.
- [9] Francisco J, Miguel J, Antonio R, et al. Allopurinol use and risk of non-fatal acute myocardial infarction [J]. *Heart*, 2015, 101(9): 679-685.
- [10] Hopkins P. Molecular biology of atherosclerosis [J]. *Physiol Rev*, 2013, 93(3): 1 317-342.
- [11] Zhang Y, Beyer TP, Bramlett KS, et al. Liver X receptor and retinoic X receptor mediated ABCA1 regulation and cholesterol efflux in macrophage cells-messenger RNA measured by branched DNA technology [J]. *Mol Genet Metab*, 2002, 77(1-2): 150-158.
- [12] Zhao C, Dahlman-Wright K. Liver X receptor in cholesterol metabolism [J]. *J Endocrinol*, 2010, 204(3): 233-240.
- [13] Zhou X, Yin Z, Guo X, et al. Inhibition of ERK1/2 and activation of liver X receptor synergistically induce macrophage ABCA1 expression and cholesterol efflux [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(9): 6 316-326.
- [14] Mallat Z. Macrophages [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(12): 2 509-519.
- [15] Zimmer S, Grebe A, Latz E. Danger signaling in atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2015, 116(2): 323-340.
- [16] Tall AR, Yvan-Charvet L, Terasaka N, et al. HDL, ABC transporters, and cholesterol efflux: implications for the treatment of atherosclerosis [J]. *Cell Metab*, 2008, 7(5): 365-375.
- [17] Reddy ST, Hama S, Ng C, et al. ATP-binding cassette transporter 1 participates in LDL oxidation by artery wall cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Bio*, 2002, 22(11): 1 877-883.
- [18] Tang CK, Yi GH, Yang JH, et al. Oxidized LDL upregulated ATP binding cassette transporter-1 in THP-1 macrophages [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25(5): 581-586.
- [19] 薛偕华, 魏伟, 陈彤, 等. 泽泻汤对巨噬细胞泡沫化脂质沉积及其 LXR α 和 ABCA1 表达的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2013, 21(11): 971-976.
- [20] 吕运成, 王佐, 姚峰, 等. 薯蓣皂苷元对 THP-1 巨噬细胞 ABCA1 表达及胆固醇流出的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(7): 680-684.
- (此文编辑 曾学清)