

血管生成素 1 通过 LXR α 途径调节 THP-1 源性泡沫细胞 ABCA1、ABCG1 表达及胆固醇流出

欧翔¹, 陈凌燕², 周志姣³, 夏晓丹², 龚朵², 赵真旺², 王斯琦², 张强², 唐朝克²

(1. 长沙市第一医院内分泌科, 湖南省长沙市 410005; 2. 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 南华大学医学研究实验中心 分子靶标湖南省协同创新中心, 湖南省衡阳市 421001;

3. 中南大学湘雅三医院病理科, 湖南省长沙市 410013)

[关键词] 血管生成素 1; 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1; 三磷酸腺苷结合盒转运体 G1; 胆固醇流出; 肝 X 受体 α

[摘要] 目的 观察血管生成素 1(Ang-1)通过 LXR α 调节 THP-1 源性泡沫细胞三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(ABCA1)、ABCG1 表达和胆固醇流出。方法 160 nmol/L 佛波酯诱导 THP-1 单核细胞分化为巨噬细胞, 50 mg/L 氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)共孵育, 使其荷脂形成泡沫细胞, 常规体外培养细胞; 实验分为对照组和 Ang-1 处理组; 液体闪烁计数器检测细胞胆固醇流出水平, 高效液相色谱检测细胞内脂质成分, 实时荧光定量 PCR 和 Western blot 检测 ABCA1、ABCG1 表达; LXR α 激动剂 T0901317 或抑制剂 GGPP 分别处理 THP-1 源性泡沫细胞。结果 Ang-1 显著抑制 THP-1 源性泡沫细胞胆固醇流出, 下调 ABCA1、ABCG1 表达; LXR α 激活剂拮抗 Ang-1 对 ABCA1、ABCG1 表达及胆固醇流出的抑制作用。结论 Ang-1 可能通过抑制 LXR α 表达, 降低 ABCA1 和 ABCG1 表达水平, 减少 THP-1 源性泡沫细胞内胆固醇流出。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Angiopietin-1 mediates ABCA1, ABCG1 expression and cholesterol efflux through LXR α pathway in THP-1 derived macrophages

OU Xiang¹, CHEN Ling-Yan², ZHOU Zhi-Jiao³, XIA Xiao-Dan², GONG Duo², ZHAO Zhen-Wang², WANG Si-Qi², ZHANG Qiang², TANG Chao-Ke²

(1. Department of Endocrinology, the First Hospital of Changsha, Changsha, Hunan 410005, China; 2. Institute of Cardiovascular Diseases, University of South China & Key Laboratory for Atherosclerosis of Hunan Province & Medical Research Center, University of South China & Hunan Province Cooperative Innovation Center for Molecular Target New Drug Study, Hengyang, Hunan 421001, China; 3. Department of Pathology, the Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410013, China)

[KEY WORDS] Angiopietin-1; ATP-binding cassette A1; ATP-binding cassette G1; Cholesterol efflux; Liver X receptor α

[ABSTRACT] **Aim** To investigate whether angiopietin-1 (Ang-1) regulates ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1), ABCG1 expression and cholesterol efflux through liver X receptor α (LXR α) in THP-1 derived macrophages. **Methods** THP-1 cells were incubated with 160 nmol/L phorbol ester to transform into macrophages. Subsequently, THP-1 derived macrophages were exposed to 50 mg/L oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) and cultured with typical approaches. The experimental groups were divided into control group and Ang-1 group. Liquid scintillation counter was used to determine the efficiency of cholesterol efflux. Lipids contents were tested with high performance liquid chromatogram (HPLC). Real-time PCR and Western blot were used to quantify the expression of ABCA1, ABCG1. THP-1 derived macrophages were pretreated with LXR α agonists T0901317 or inhibitors GGPP, respectively. **Results** Ang-1

[收稿日期] 2017-03-27

[修回日期] 2017-10-02

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81570408); 湖南省自然科学基金(2017JJ2286); 长沙市科技计划项目(KQ1602028)

[作者简介] 欧翔, 博士, 主治医师, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制与防治, E-mail 为 xou168@163.com。通讯作者唐朝克, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制与防治, E-mail 为 tangchaoke@qq.com。

obviously reduced cholesterol efflux, and downregulated ABCA1, ABCG1 expression. LXR α antagonists T0901317 interfered Ang-1-inhibited ABCA1, ABCG1 expression and cholesterol efflux. **Conclusion** Ang-1 decreased THP-1 derived macrophages cholesterol efflux in a LXR α dependent manner and downregulated ABCA1, ABCG1 expression.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是心脑血管疾病的主要病理基础,其中脂代谢紊乱是促进 As 发生发展的关键因素,而巨噬细胞源性泡沫细胞的形成是 As 起始的关键标志之一^[1-2]。细胞内脂质摄取过多和/或流出减少导致脂质大量蓄积是泡沫细胞形成的主要原因^[3]。三磷酸腺苷结合盒转运体(ATP binding cassette transporter, ABC)家族中的 ABCA1 和 ABCG1 主要负责胆固醇的流出^[4]。ABCA1 介导细胞内胆固醇流出至胞外乏脂的载脂蛋白 A1 (apolipoprotein A1, ApoA1) 形成新生高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL), ABCG1 则主要促进细胞内胆固醇流出至成熟的 HDL^[5-6]。因此,寻找调控 ABCA1、ABCG1 表达的潜在机制对于 As 的防治具有重要意义。肝 X 受体 α (liver X receptor alpha, LXR α) 是核激素受体蛋白质超家族的重要成员,当其与维甲酸类 X 受体 (retinoid X receptor, RXR) 形成异二聚体后,能分别与 ABCA1 基因启动子区 LXR 反应元件(LXR response element, LXRE) 结合,从而刺激 ABCA1 基因转录^[7]。ABCG1 也是 LXR 靶基因, LXR/RXR 能增加 ABCG1 表达,并促进 ABCG1 移位至细胞膜^[8]。血管生成素 1 (angiopoietin-1, Ang-1) 是一种促血管生成因子^[9]。新近研究证实 Ang-1 具有促 As 发生发展的作用,但其与脂质代谢之间的关系尚不清楚^[10-11]。本课题组先前研究发现,葛根素、过氧化体增殖物激活型受体 A (peroxisome proliferators-activated receptor A, PPAR-A)、转化生长因子 β 1 (transforming growth factor, TGF- β 1) 等通过调节 LXR α 水平影响 ABCA1 和/或 ABCG1 表达及细胞内胆固醇流出^[12-14]。因此,本研究旨在观察 Ang-1 是否也是通过 LXR α 调节 THP-1 源性泡沫细胞 ABCA1、ABCG1 表达和细胞内胆固醇流出。

1 材料和方法

1.1 仪器和试剂

实时荧光定量 PCR 仪器 (Applied Biosystem, 美国), 超速离心机 (Beckman Optima, 美国), 200 型高效液相色谱 (Perkin Elmer, 美国), FJ-2107P 型液体闪烁计数仪 (国营二六二厂), THP-1 人单核细胞白血病细胞株 (中国科学院细胞库), 佛波酯 (Sigma, 美国), 重组人 Ang-1 蛋白 (Santa, 中国), 逆转录多

聚酶链反应 (Promega, 美国), ABCA1、ABCG1 和 GAPDH 引物 (英潍捷基, 美国), 总 RNA 提取试剂盒 (康为世, 中国), 预染蛋白分子量标准 (碧云天, 中国), [³H]-胆固醇 (Sigma, 美国), 兔抗人 ABCA1 一抗、兔抗人 ABCG1 一抗、兔抗人 LXR α 一抗 (ABCAM, 美国), 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗 (碧云天, 中国), 兔抗人 β -actin 一抗 (Proteintech, 中国)。其余试剂均为进口或国产分析纯。

1.2 细胞培养

THP-1 单核细胞用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基, 在 37 $^{\circ}$ C 和含 5% CO₂ 的细胞培养箱中静置培养。实验前将 THP-1 细胞转移至 6 孔板, 加入 160 nmol/L 佛波酯静置培养 24 h, 诱导其分化为巨噬细胞。再加入含 50 mg/L 氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 的无血清培养基培养 48 h, 使其充分吞噬脂质, 从而荷脂形成 THP-1 源性泡沫细胞。

1.3 高效液相色谱分析

处理后的 THP-1 源性泡沫细胞用 PBS 清洗 3 次, 加入适量 0.5% NaCl 溶液, 用超声细胞破碎仪处理细胞。随后将胆固醇溶解于异丙醇中配置成 1 g/L 的贮存液, 逐一稀释贮存液制备成 0~40 mg/L 的胆固醇标准稀释液。取 0.1 mL 胆固醇标准稀释液或细胞裂解液样品进行高效液相色谱分析。各样本上样至 C18 柱中, 柱温 4 $^{\circ}$ C, 以异丙醇: 正庚烷: 乙腈为流动相洗脱, 流速 1 mL/min 洗脱 8 min, 216 nm 处检测吸光度。峰面积即为胆固醇含量, 胆固醇酯酶水解测定总胆固醇 (total cholesterol, TC), 总胆固醇减去游离胆固醇 (free cholesterol, FC) 为胆固醇酯 (cholesterol ester, CE) 含量, 以 mg/g 细胞蛋白为单位。

1.4 胆固醇流出

细胞胆固醇流出实验参照文献 [15] 进行。THP-1 源性巨噬细胞贴壁生长 60%~70% 时, 用 0.2 mCi/L [³H]-胆固醇孵育 48 h, 随后用 PBS 洗涤细胞。分别用含 10 mg/L ApoA1 或 50 mg/L HDL 的无血清 RPMI 培养基培养 THP-1 源性泡沫细胞 12 h。用液体闪烁计数仪检测培养基和细胞中 [³H]-胆固醇每分钟计数 (count per minute, CPM)。胆固醇流出率 (%) = [培养基中总 CPM / (细胞总 CPM + 培养基总 CPM)] \times 100%。

1.5 实时荧光定量 PCR 检测

按 Trizol 试剂盒操作说明书提取总 RNA,取 2 μg 进行逆转录和实时荧光定量 PCR。ABCA1 上游引物为 5'-GCTTCAATCATCCCCTGAA-3',下游引物为 5'-TGACAGGCTTCACTCCACTG-3';ABCG1 上游引物为 5'-CTCCGGCTTCTTCTTCT-3',下游引物为 5'-TACACGATGCTGCAGTAGGC-3';LXR α 上游引物为 5'-ACGGTGATGCTTCTGGAGAC-3',下游引物为 5'-AGCAATGAGCAAGGCAAAC-3';内参 GAPDH 上游引物为 5'-CGACCACTTTGTCAAGCTCA-3',下游引物为 5'-AGGGGAGATTCAGTCTGCTG-3'。RT-PCR 试剂盒购于中国上海生物工程公司,经 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 20 s,55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 20 s,68 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 20 s,循环 35 次,68 $^{\circ}\text{C}$ 在此延长反应 5 min。所有经 qPCR 扩增后产物均采用 Melt 曲线分析,定量检测采用 $\Delta\Delta\text{Ct}$ 方法,GAPDH 的表达作为内参。

1.6 总蛋白提取

处理后的 THP-1 源性泡沫细胞培养液倒入离心管中,3000 r/min 离心 10 min,弃除上清,用 PBS 清洗 3 次,低速离心后保留底部沉淀物,适量加入细胞裂解液 RIPA 和蛋白酶抑制剂 PMSF(体积比 94:6),冰上静置 25 min,转移至 EP 管内,12000 r/min 离心 10 min,小心吸取上清液,记录总量,-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内保存待用。

1.7 Western blot 检测

用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳配置电泳液,加入 5 μL 彩色预染蛋白质分子量标准,各样本孔中加入 50 μg 总蛋白,恒压湿转法将蛋白转入 PVDF 膜,采用丽春红染色评估转膜效果。将 PVDF 膜置于 5% 脱脂牛奶,室温下封闭 4 h,分别加入相应一抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日,用 TBST 缓冲液清洗 3 次,每次 10 min。加入 1:1000 的辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育 2 h。TBST 清洗 3 次,每次 10 min。PVDF 膜上滴加 BeyoECL Plus 发光试剂,Tanon5500 全自动化学发光成像分析系统收集并分析条带,以 β -actin 内参为基准。

1.8 统计学分析

所有数据均采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用方差分析或 t 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Ang-1 对 THP-1 源性泡沫细胞胆固醇流出和脂质水平的影响

用 50 mg/L ox-LDL 孵育 THP-1 源性巨噬细胞,

使其荷脂形成泡沫细胞。用不同浓度(0、50、100、200 和 400 $\mu\text{g}/\text{L}$)的 Ang-1 与 THP-1 源性泡沫细胞共孵育 24 h,高效液相色谱法检测脂质成分,结果显示 Ang-1 显著增加 TC、FC 和 CE 水平,促进脂质蓄积(表 1)。后续实验用 200 $\mu\text{g}/\text{L}$ Ang-1 孵育 THP-1 源性泡沫细胞 24 h,随后分别采用 ApoA1(10 mg/L)或人 HDL(50 mg/L)孵育 THP-1 源性泡沫细胞 12 h,经液体闪烁计数仪检测 ABCA1 及 ABCG1 介导的胆固醇流出水平。结果发现,Ang-1 明显抑制 ABCA1 及 ABCG1 介导的 THP-1 源性泡沫细胞胆固醇流出(图 1)。

表 1. Ang-1 对细胞内 TC、CE 和 FC 含量的影响($n=3$)

Table 1. The effect of Ang-1 on intracellular TC, CE and FC levels and CE/TC($n=3$)

分 组	TC(mg/g)	CE(mg/g)	FC(mg/g)	CE/TC(%)
0 $\mu\text{g}/\text{L}$ Ang-1	569 \pm 32	348 \pm 26	220 \pm 21	61.2 \pm 0.2
50 $\mu\text{g}/\text{L}$ Ang-1	586 \pm 25	359 \pm 20	227 \pm 35	61.3 \pm 0.3
100 $\mu\text{g}/\text{L}$ Ang-1	613 \pm 34	378 \pm 29	234 \pm 27	61.7 \pm 0.3
200 $\mu\text{g}/\text{L}$ Ang-1	658 \pm 26 ^a	409 \pm 19 ^a	248 \pm 32 ^a	62.2 \pm 0.5
400 $\mu\text{g}/\text{L}$ Ang-1	649 \pm 21 ^a	403 \pm 35 ^a	245 \pm 28 ^a	62.1 \pm 0.5

a 为 $P<0.05$,与 0 $\mu\text{g}/\text{L}$ Ang-1(对照组)比较。

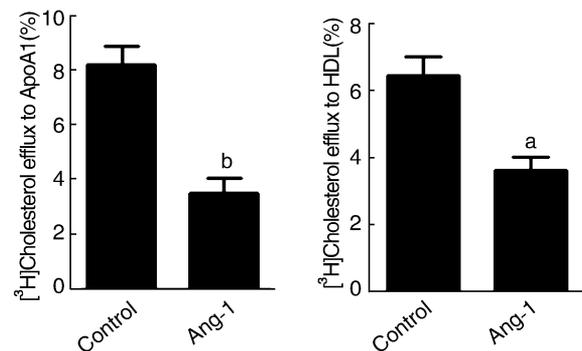


图 1. Ang-1 对 THP-1 源性泡沫细胞胆固醇流出的影响($n=3$) 左图为 Ang-1 对细胞内胆固醇流出至 ApoA1 的影响,右图为 Ang-1 对细胞内胆固醇流出至 HDL 的影响。a 为 $P<0.05$,b 为 $P<0.01$,与对照组比较。

Figure 1. The effect of Ang-1 on cholesterol efflux in THP-1-derived foam cells($n=3$)

2.2 Ang-1 对 THP-1 源性泡沫细胞 ABCA1、ABCG1 表达的影响

THP-1 源性泡沫细胞与 200 $\mu\text{g}/\text{L}$ Ang-1 共孵育 24 h 后,分别提取细胞总 RNA 和蛋白,经实时荧光定量 PCR 和 Western blot 检测 ABCA1、ABCG1 mRNA 和蛋白表达水平。结果发现,Ang-1 显著降低 ABCA1、ABCG1 mRNA 和蛋白表达水平(图 2)。

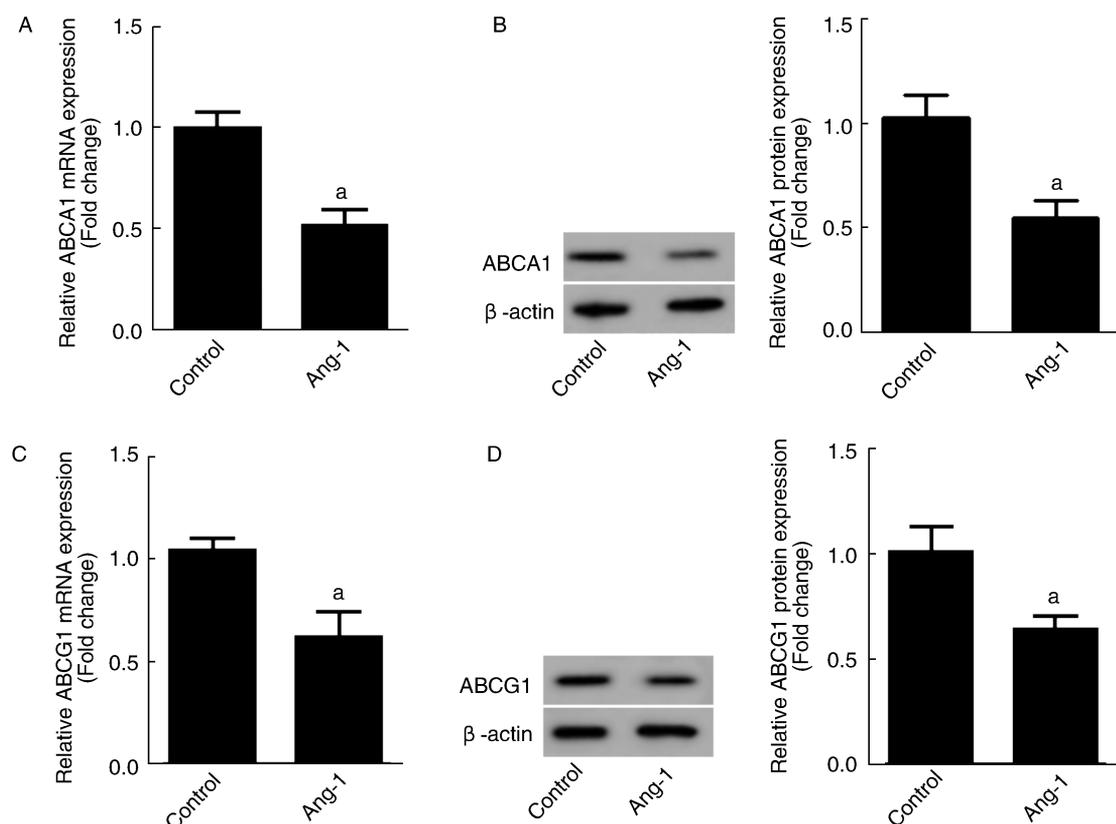


图 2. Ang-1 对 THP-1 源性泡沫细胞 ABCA1、ABCG1 mRNA 和蛋白表达的影响 ($n=3$) A 为实时荧光定量 PCR 检测 ABCA1 mRNA 表达, B 为 Western blot 检测 ABCA1 蛋白表达及其统计学分析, C 为实时荧光定量 PCR 检测 ABCG1 mRNA 表达, D 为 Western blot 检测 ABCG1 蛋白表达及其统计学分析。a 为 $P<0.05$, 与对照组比较。

Figure 2. The effect of Ang-1 on ABCA1, ABCG1 mRNA and protein expression in THP-1 derived macrophages ($n=3$)

2.3 Ang-1 通过抑制 LXR α 表达降低 ABCA1、ABCG1 表达水平, 减少细胞内胆固醇流出

THP-1 源性泡沫细胞与 200 $\mu\text{g/L}$ Ang-1 共孵育 24 h 后, 提取细胞总蛋白, 经实时荧光定量 PCR 和 Western blot 检测 LXR α mRNA 和蛋白水平。结果证实, Ang-1 抑制 LXR α mRNA 和蛋白水平。用 Ang-1 与 LXR α 激活剂 T0901317 (1 $\mu\text{mol/L}$) 共孵育 THP-1 源性泡沫细胞, 结果发现, LXR α 激活剂能明显拮抗 Ang-1 对 ABCA1、ABCG1 表达及胆固醇流出的抑制作用(图 3), 提示 Ang-1 通过抑制 LXR α 表达降低 ABCA1、ABCG1 表达水平, 减少细胞内胆固醇流出。

为了进一步论证 Ang-1 通过 LXR α 影响细胞内胆固醇流出, 用 LXR α 抑制剂 GGPP (10 $\mu\text{mol/L}$) 与 Ang-1 共孵育 THP-1 源性泡沫细胞。结果证实, Ang-1 通过 LXR α 途径抑制 ABCA1、ABCG1 表达及细胞内胆固醇流出(图 4)。

3 讨论

As 是一个多因素参与、多基因异常调控的复杂

病理过程。近年来, As 引起的缺血性脑卒中、心肌梗死等心脑血管疾病发生率逐年升高, 严重危害人类健康。其中巨噬细胞浸润、脂质蓄积导致泡沫细胞形成是 As 发病的主要病理学基础之一^[4]。因而, 研究抑制泡沫细胞形成机制对于 As 性疾病的防治具有重要的临床意义。

ABCA1 和 ABCG1 是一类细胞膜蛋白, 属于三磷酸腺苷结合盒转运体家族, 它们在胆固醇逆转运 (reverse cholesterol transport, RCT) 中发挥重要作用。ABCA1 主要将细胞内未酯化的胆固醇和磷脂转运至细胞表面贫脂或无脂的 ApoA1, 形成新的 HDL; ABCG1 则负责促进胆固醇流出至成熟 HDL, 从而促进 RCT。因此调控 ABCA1、ABCG1 的表达对于抑制泡沫细胞形成和 As 的防治具有指导作用。本研究发现, Ang-1 抑制 THP-1 源性泡沫细胞 ABCA1 和 ABCG1 表达, 与其下调 LXR α 表达相关。新近研究证实转运蛋白激酶结合蛋白 2 (trafficking protein kinesin binding 2, TRAK2) 能抑制 LXR 与 ABCA1 启动子结合, 下调 ABCA1 表达^[16]。Ang-1 能否通过诱导 TRAK2 过表达影响 ABCA1、ABCG1 水平尚需深入

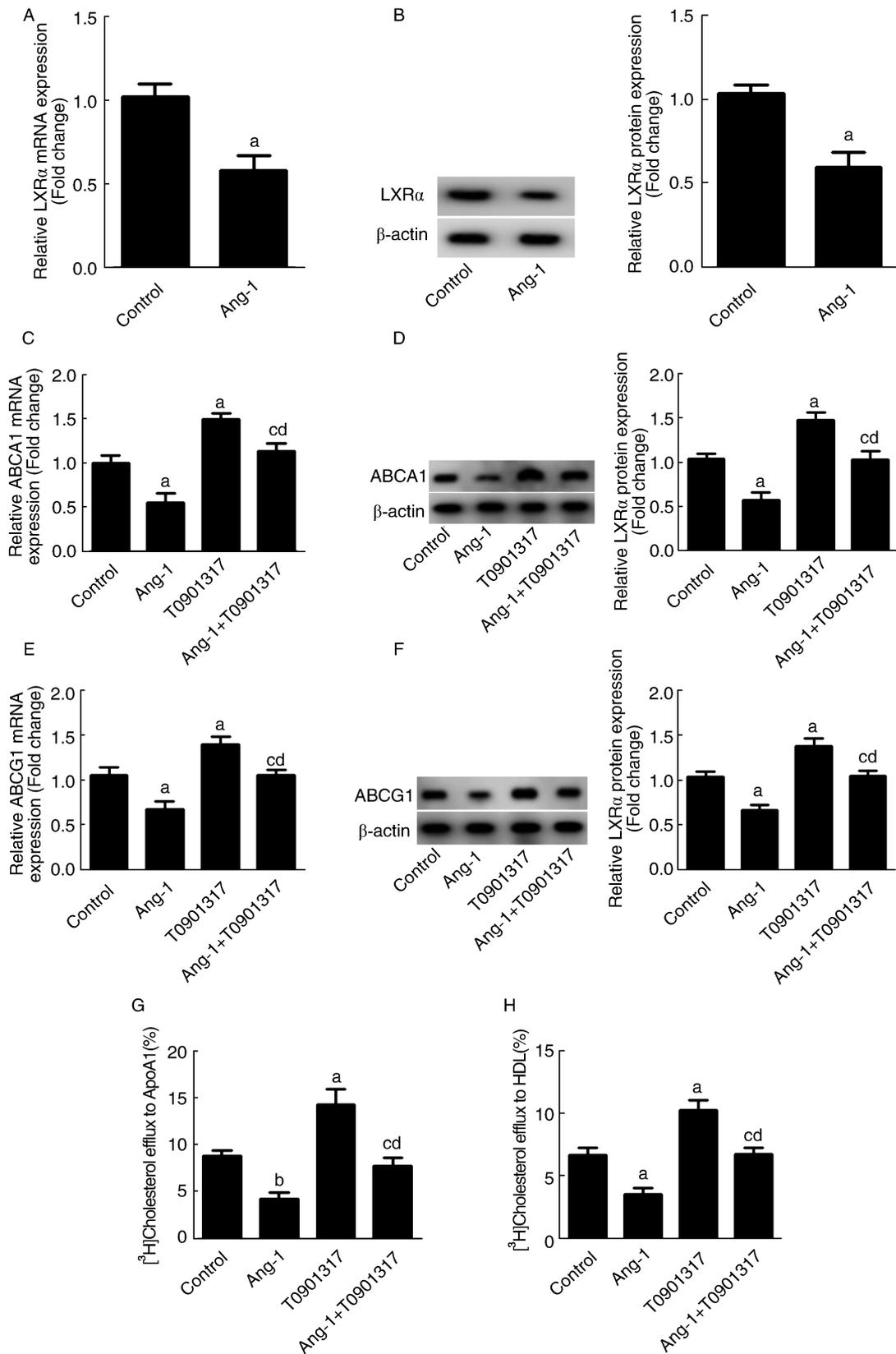


图 3. Ang-1 通过 LXRα 对 ABCA1、ABCG1 表达和胆固醇流出的影响 (n=3) A、B 为实时荧光定量 PCR 和 Western blot 检测 LXRα mRNA 和蛋白表达及其统计学分析;C、D 为实时荧光定量 PCR 和 Western blot 检测 ABCA1 mRNA 和蛋白表达及其统计学分析;E、F 为实时荧光定量 PCR 和 Western blot 检测 ABCG1 mRNA 和蛋白表达及其统计学分析;G、H 为液体闪烁计数仪检测胆固醇流出。a 为 P<0.05, b 为 P<0.01, 与对照组比较; c 为 P<0.05, 与 Ang-1 组比较; d 为 P<0.05, 与 T0901317 组比较。

Figure 3. The effect of Ang-1 on ABCA1, ABCG1 expression and cholesterol efflux through LXRα (n=3)

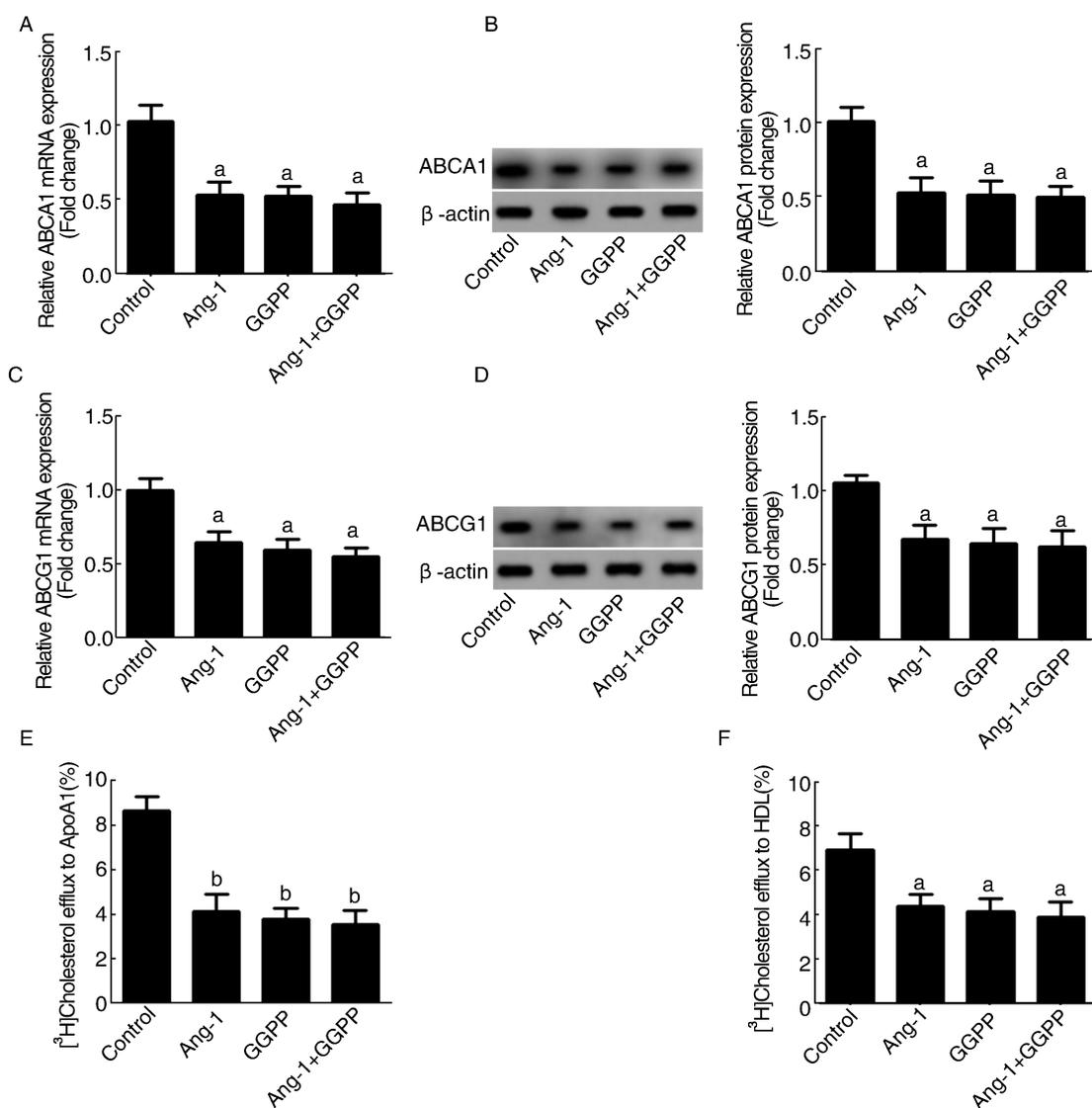


图4. Ang-1通过LXR α 途径抑制ABCA1、ABCG1表达和细胞内胆固醇流出($n=3$) A、B为实时荧光定量PCR和Western blot检测ABCA1 mRNA和蛋白表达及其统计学分析;C、D为实时荧光定量PCR和Western blot检测ABCG1 mRNA和蛋白表达及其统计学分析;E、F为液体闪烁计数仪检测胆固醇流出。a为 $P<0.05$,b为 $P<0.01$,与对照组比较。

Figure 4. Ang-1 inhibits ABCA1, ABCG1 expression and intracellular cholesterol efflux via LXR α pathway($n=3$)

研究。ABCA1和ABCG1的表达水平还受PPAR、p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)/c-Jun氨基端激酶(c-Jun N-terminal kinases, JNK)等多种因素调控^[17-18]。因此,Ang-1是否还能通过PPAR、p38MAPK/JNK等信号途径影响ABCA1和ABCG1表达也需进一步论证。

Ang-1通过多种信号途径影响糖尿病、缺血性心肌梗死等危险因素诱发As,其调控机制复杂,尚未完全阐明^[19-21]。已有研究证实,Ang-1能促进单核细胞和中性粒细胞迁移,诱导细胞产生炎症反应,并促进As斑块中新生血管的形成^[22]。并且,干扰素 γ 和白细胞介素 1β 等促炎因子能抑制ABCA1

表达,而白细胞介素10和转化生长因子 $\beta 1$ 等抗炎因子上调ABCA1表达^[23-25]。因此,Ang-1是否通过调节炎症因子水平影响ABCA1和ABCG1表达有待进一步研究。LXR α 作为一种氧化固醇激活的核受体,与As的发生发展密切相关,在调节机体胆固醇代谢及转运、脂肪生成、糖异生和炎症等过程中发挥重要作用^[26-29]。本研究发现LXR α 激活剂能明显逆转Ang-1抑制ABCA1和ABCG1表达水平,增加细胞内胆固醇流出。

综上所述,Ang-1调节脂质代谢的作用机制可能是通过LXR α 下调ABCA1、ABCG1表达,进一步抑制ABCA1和ABCG1介导的胆固醇流出。本研究为深入探讨Ang-1促As作用机制提供了新的方向。

[参考文献]

- [1] Sposito AC, Santos RD. Angiotensinogen gene polymorphism and HDL2 are linked to coronary artery calcification in individuals with family history of early coronary disease[J]. *Atherosclerosis*, 2013, 226(2): 339-340.
- [2] Yuan Y, Li P, Ye J, et al. Lipid homeostasis and the formation of macrophage-derived foam cells in atherosclerosis[J]. *Protein Cell*, 2012, 3(3): 173-181.
- [3] Yu XH, Fu YC, Zhang DW, et al. Foam cells in atherosclerosis [J]. *Clin Chim Acta*, 2013, 424: 245-252.
- [4] Yvan-Charvet L, Wang N, Tall AR, et al. Role of HDL, ABCA1, and ABCG1 transporters in cholesterol efflux and immune responses [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(2): 139-143.
- [5] Smith JD, Le Goff W, Settle M, et al. ABCA1 mediates concurrent cholesterol and phospholipid efflux to apolipoprotein A-I[J]. *J Lipid Res*, 2004, 45(4): 635-644.
- [6] Matsuura F, Wang N, Chen W, et al. HDL from CETP-deficient subjects shows enhanced ability to promote cholesterol efflux from macrophages in an apoE- and ABCG1-dependent pathway [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(5): 1 435-442.
- [7] Uehara Y, Miura S, von Eckardstein A, et al. Unsaturated fatty acids suppress the expression of the ATP-binding cassette transporter G1 (ABCG1) and ABCA1 genes via an LXR/RXR responsive element[J]. *Atherosclerosis*, 2007, 191(1): 11-21.
- [8] Wang N, Ranalletta M, Matsuura F, et al. LXR-induced redistribution of ABCG1 to plasma membrane in macrophages enhances cholesterol mass efflux to HDL [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(6): 1 310-316.
- [9] Stratmann A, Risau W, Plate KH, et al. Cell type-specific expression of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 suggests a role in glioblastoma angiogenesis[J]. *Am J Pathol*, 1998, 153(5): 1 459-466.
- [10] Fujisawa T, Wang K, Niu XL, et al. Angiopoietin-1 promotes atherosclerosis by increasing the proportion of circulating Gr1+ monocytes[J]. *Cardiovasc Res*, 2017, 113(1): 81-89.
- [11] Wu H, Shou X, Liang L, et al. Correlation between plasma angiopoietin-1, angiopoietin-2 and matrix metalloproteinase-2 in coronary heart disease [J]. *Arch Med Sci*, 2016, 12(6): 1 214-219.
- [12] Li CH, Gong D, Chen LY, et al. Puerarin promotes ABCA1-mediated cholesterol efflux and decreases cellular lipid accumulation in THP-1 macrophages[J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 811: 74-86.
- [13] Tang SL, Chen WJ, Yin K, et al. PAPP-A negatively regulates ABCA1, ABCG1 and SR-B1 expression by inhibiting LXRalpha through the IGF-I-mediated signaling pathway[J]. *Atherosclerosis*, 2012, 222(2): 344-354.
- [14] Hu YW, Wang Q, Ma X, et al. TGF-beta1 up-regulates expression of ABCA1, ABCG1 and SR-B1 through liver X receptor alpha signaling pathway in THP-1 macrophage-derived foam cells [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2010, 17(5): 493-502.
- [15] 谈春芝, 谭玉林, 姚峰, 等. 白细胞介素 4 对 THP-1 巨噬细胞三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 表达和胆固醇流出的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2015, 23(12): 1 203-209.
- [16] 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, doi:10.1093/eurheartj/ehx315.
- [17] He XW, Yu D, Li WL, et al. Anti-atherosclerotic potential of bicalin mediated by promoting cholesterol efflux from macrophages via the PPARgamma-LXRalpha-ABCA1/ABCG1 pathway[J]. *Biomed Pharmacoth*, 2016, 83: 257-264.
- [18] Yang HY, Bian YF, Xiao CS, et al. Angiotensin-(1-7) stimulates cholesterol efflux from angiotensin II-treated cholesterol-loaded THP-1 macrophages through the suppression of p38 and c-Jun N-terminal kinase signaling [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(1): 1 387-392.
- [19] Rufaihah AJ, Johari NA, Vaibavi SR, et al. Dual delivery of VEGF and ANG-1 in ischemic hearts using an injectable hydrogel [J]. *Acta Biomaterialia*, 2017, 48: 58-67.
- [20] Shah P, Lueschen N, Ardestani A, et al. Angiopoietin-2 signals do not mediate the hypervascularization of islets in type 2 diabetes[J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0161 834.
- [21] Li C, Yu T, Liu Y, et al. Topical application of insulin accelerates vessel maturation of wounds by regulating angiopoietin-1 in diabetic mice[J]. *Int J Low Extr Wound*, 2015, 14(4): 353-364.
- [22] Ahmed A, Fujisawa T. Multiple roles of angiopoietins in atherogenesis[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2011, 22(5): 380-385.
- [23] Yin K, Liao DF, Tang CK, et al. ATP-binding membrane cassette transporter A1 (ABCA1): a possible link between inflammation and reverse cholesterol transport[J]. *Mol Med*, 2010, 16(9-10): 438-449.
- [24] Shen J, Hafeez A, Stevenson J, et al. Omega-3 fatty acid supplement prevents development of intracranial atherosclerosis[J]. *Neuroscience*, 2016, 334: 226-235.
- [25] Her NG, Jeong SI, Cho K, et al. PPARdelta promotes oncogenic redirection of TGF-beta1 signaling through the activation of the ABCA1-Cav1 pathway[J]. *Cell Cycle*, 2013, 12(10): 1 521-535.
- [26] Lei C, Lin R, Wang J, et al. Amelioration of amyloid beta-induced retinal inflammatory responses by a LXR agonist T0901317 is associated with inhibition of the NF-kappaB signaling and NLRP3 inflammasome[J]. *Neuroscience*, 2017, 360: 48-60.
- [27] Pelton PD, Patel M, Demarest KT, et al. Nuclear receptors as potential targets for modulating reverse cholesterol transport[J]. *Curr Top Med Chem*, 2005, 5(3): 265-282.
- [28] Ulven SM, Dalen KT, Gustafsson JA, et al. LXR is crucial in lipid metabolism[J]. *Prostag Leukotr Ess*, 2005, 73(1): 59-63.
- [29] Fan Q, Norgaard RC, Bindsboll C, et al. LXRalpha regulates hepatic ChREBPalpha activity and lipogenesis upon glucose, but not fructose feeding in mice[J]. *Nutrients*, 2017, 9(7).

(此文编辑 许雪梅)