

本文引用: 罗仕钰, 叶世英, 张雅玲, 等. 巨噬细胞钙蛋白酶促进动脉粥样硬化进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(5): 449-455. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2023.05.012.

[文章编号] 1007-3949(2023)31-05-0449-07

· 文献综述 ·

巨噬细胞钙蛋白酶促进动脉粥样硬化进展

罗仕钰, 叶世英, 张雅玲, 高 祎, 袁碧晨, 孙少卫

(南华大学衡阳医学院药物药理研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[摘要] 动脉粥样硬化(As)是一种脂质驱动的慢性炎症性血管疾病,其发病机制以脂质代谢紊乱和炎症反应为主。钙蛋白酶(calpain)是钙离子依赖性半胱氨酸蛋白酶,研究显示其参与了As的发生发展,特别是存在于巨噬细胞中的Calpain对细胞的脂质代谢和炎症反应均有着重要调节作用。文章就巨噬细胞中Calpain参与As的可能途径及分子机制进行综述,为As的防治提供新的思路。

[关键词] 动脉粥样硬化; 钙蛋白酶; 巨噬细胞; 脂质代谢; 炎症反应

[中图分类号] R363;R5

[文献标识码] A

Macrophages calpain promotes the progression of atherosclerosis

LUO Shiyu, YE Shiyang, ZHANG Yaling, GAO Yi, YUAN Bichen, SUN Shaowei

(Institute of Pharmacy & Pharmacology, Hengyang Medical School, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[ABSTRACT] Atherosclerosis (As) is a lipid-driven chronic inflammatory vascular disease, the pathogenesis of which primarily includes lipid metabolism disorders and inflammatory responses. Calpain, a calcium-dependent cysteine protease, has been shown to be involved in the development of As. Especially calpain in macrophages plays an important role in regulating lipid metabolism and inflammatory responses in As. This article reviews the possible pathways and molecular mechanisms of macrophages calpain involvement in As trying to provide new ideas for the prevention and treatment of As.

[KEY WORDS] atherosclerosis; calpain; macrophages; lipid metabolism; inflammatory responses

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是一种以大中动脉粥样硬化斑块形成导致血管狭窄为主要病理特征的血管疾病,其发病机制极其复杂,其中较为公认的病理基础是脂质代谢紊乱和血管炎症反应^[1]。脂质代谢紊乱主要是由于血脂异常增高导致的动脉内膜下血管平滑肌细胞和巨噬细胞过度摄取脂质而脂质流出减少,导致过多的胆固醇聚集,加速泡沫细胞的形成和崩解,大量死亡细胞及富含胆固醇的细胞碎片堆积在动脉壁,随后形成As斑块^[2]。此外,As病变具有经典炎症变性、渗出及增生的特点,炎症的生物标志物如C反应蛋白已成功用于评估As及心血管疾病的危险性^[3]。炎症反应贯穿As的整个过程,同时还参与了随后的斑块破

裂和血栓形成。脂质代谢紊乱和炎症反应在As病变早期至血栓形成的各个阶段都发挥重要作用,两者共同促进As的发生发展。

钙蛋白酶(calpain)是一种钙激活的中性蛋白酶,对多种蛋白质底物进行有限的水解进而调节蛋白质的活性,参与细胞周期调控、肌肉生长与分化、葡萄糖转运等生理活动^[4]。Calpain水平的异常多与疾病的发生有关,已有研究表明Calpain参与癌症^[5]、神经退行性疾病^[6]和心血管疾病^[7]的发生发展。研究显示抑制Calpain可以抑制巨噬细胞内的脂质蓄积和炎症因子分泌^[8-10]。提示Calpain可能是一种重要的As调节因子。本文总结了Calpain调节巨噬细胞中脂质稳态和炎症反应的机制及靶向

[收稿日期] 2022-09-13

[修回日期] 2022-10-18

[基金项目] 湖南省自然科学基金资助项目(2016JJ3109、2021JJ30599和2021JJ30623);湖南省大学生创新创业训练计划项目(S202110555320)

[作者简介] 罗仕钰,硕士研究生,研究方向为动脉粥样硬化发病机制,E-mail:1667420841@qq.com。通信作者孙少卫,博士,讲师,硕士研究生导师,研究方向为动脉粥样硬化发病机制,E-mail:sunshaowei2004@aliyun.com。

Calpain 的抗 As 药物最新研究进展,为 As 的防治提供参考。

1 Calpain 的生物学功能

1.1 Calpain 的分布

目前已鉴定出 15 种亚型的 Calpain, Calpain1、2、5、7、10、13、14 在体内广泛存在,而 Calpain3、6、8、9、11、12、15、16 具有组织特异性。其中 Calpain1 的激活需要微摩尔级的 Ca^{2+} 浓度, Calpain2 则需毫摩尔级的 Ca^{2+} 浓度才能被激活,因此又可命名为 μ -Calpain (Calpain1) 和 m-Calpain (Calpain2), 它们是被研究最多的 Calpain, 也统称为传统 Calpain^[4]。Calpain3 主要在骨骼肌中表达^[11]; 研究人员在胎儿的骨骼肌、软骨及心脏中发现了 Calpain6^[12]; Calpain8 和 Calpain9 则主要在胃肠道表达^[13]。

1.2 Calpain 的结构

根据 Calpain 的结构将其分为典型 Calpain (Calpain1、2、3、8、9、11、12、13、14) 和非典型 Calpain (Calpain5、6、7、10、15、16)。典型 Calpain 的结构是由 1 个具有催化活性的 80 kD 大亚基和 1 个具有调节活性的 30 kD 小亚基组成的异源二聚体, 大亚基含有四个结构域 (I ~ IV), 小亚基含有两个结构域 (V ~ VI)。结构域 I 位于 N-末端, 当被 Ca^{2+} 激活后可发生自溶, 从而引起蛋白酶构象改变。结构域 II 是酶的活性中心, 其活性位点主要由 105 位的半胱氨酸、262 位的组氨酸以及 286 位的天冬酰胺残基组成。结构域 III 以 Ca^{2+} 依赖的方式将钙与磷脂结合, 是激活蛋白或抑制蛋白结合的部位。结构域 IV 由 5 个 EF 手型结构域构成, 是 Ca^{2+} 结合的位点。结构域 V 含有大量的甘氨酸和疏水氨基酸, 具有疏水作用, 是酶与细胞膜结合的部位。结构域 VI 与结构域 IV 结构相似, 位于 C-末端, 与 Ca^{2+} 结合。非典型 Calpain 的结构则是在典型 Calpain 的基础上某些结构域发生替换或缺失而形成的 (图 1)。

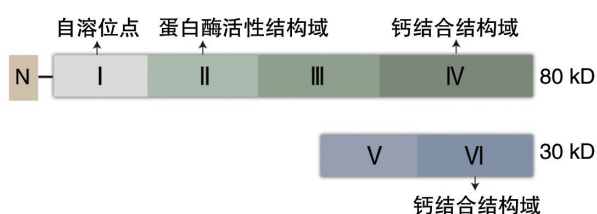


图 1. Calpain 的结构

Figure 1. Structure of calpain

1.3 Calpain 的主要功能

正常水平的 Calpain 参与细胞增殖、迁移、凋亡以及信号转导等生理过程, 其主要表现为蛋白水解活性, 通过水解细胞中关键蛋白的方式影响细胞的功能。异常水平的 Calpain 过度水解导致细胞功能障碍。例如, 在内皮细胞中, Calpain 可水解发挥内皮细胞屏障功能的关键蛋白 VE-钙黏素, 从而破坏内皮细胞的屏障保护功能^[14]。在肿瘤细胞中, Calpain 降解血管生成抑制蛋白 1 (vasohibin-1), 促进肿瘤血管生成^[15]。在巨噬细胞中, Calpain 以翻译后调控的方式降解负责转运磷脂和胆固醇流出的三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1), 促使胞内胆固醇堆积^[16]。表明 Calpain 在细胞周期调控、信号转导、血管炎症、肿瘤发生、脂质代谢等多种生理病理过程中发挥关键作用。

2 巨噬细胞 Calpain 通过调节细胞胆固醇转运参与 As

巨噬细胞是 As 斑块形成过程中的主要效应细胞, 其脂质代谢异常在 As 的发病机制中起着核心作用。当血脂侵入动脉内膜后, 可趋化单核巨噬细胞迁移到内膜下通过受体介导和非受体介导的方式摄取脂质, 以脂滴的形式贮存在细胞中。同时细胞内过多的胆固醇也可以通过胆固醇流出的方式排出细胞, 这样就维持了巨噬细胞内的胆固醇稳态。然而, 研究发现巨噬细胞内的 Calpain 能打破这种平衡, 其一方面促进胆固醇的流入, 另一方面抑制胆固醇的流出, 导致胆固醇在细胞内大量蓄积并泡沫化, 直至坏死崩解形成粥样斑块核心 (图 2)。

2.1 Calpain 促进巨噬细胞的胆固醇流入

2.1.1 Calpain 促进巨噬细胞受体介导的胆固醇摄取 巨噬细胞主要通过清道夫受体摄取胆固醇, 这类受体包括分化抗原 36 (cluster of differentiation 36, CD36)、A 类清道夫受体 (class A scavenger-receptors, SR-A)、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)。生理状态下这些受体的表达丰度受细胞内胆固醇水平的负反馈调节, 从而维持胞内胆固醇的动态平衡。巨噬细胞依赖这些受体不受控制地摄取胆固醇是 As 病变的关键环节。

研究证实 Calpain 可上调清道夫受体的表达。在氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 处理的巨噬细胞中过表达 Calpain1, 发

现 CD36 表达显著上调,从而增加 ox-LDL 的摄取,胞内胆固醇含量明显增加^[17]。钙蛋白酶抑制剂(calpain inhibitor, CAI)能显著降低 Calpain 活性,可显著下调 ApoE^{-/-}小鼠主动脉和腹膜巨噬细胞 SR-A 及 CD36 的基因表达,从而抑制胆固醇摄取^[18]。这些研究表明 Calpain 可促进巨噬细胞中 CD36、SR-A 介导的胆固醇摄取,促使胞内胆固醇蓄积泡沫化,进而加速 As 的进程。然而,也有研究发现 Calpain 可水解巨噬细胞中的 SR-A,从而下调 SR-A 的蛋白表达,抑制胆固醇的摄取^[19]。这使得 Calpain 调节巨噬细胞摄取胆固醇的作用更为复杂,其确切的作用机制需待进一步研究。

2.1.2 Calpain 促进巨噬细胞非受体介导的胆固醇摄取 早期关于巨噬细胞摄取胆固醇的研究主要集中在清道夫受体介导的 ox-LDL 摄取。然而,随后的研究发现,巨噬细胞可以不依赖于清道夫受体及 LDL 的修饰,通过液相吞饮的方式直接摄取天然 LDL^[20]。有证据显示 Calpain 参与了巨噬细胞吞饮天然 LDL 的过程,但关于 Calpain 参与巨噬细胞吞饮 LDL 的机制目前并不清楚。实验发现,鞘磷脂酶和磷脂酶 C 对天然 LDL 的修饰导致 LDL 失去稳定性从而促进其聚集,聚集的 LDL 附着在巨噬细胞膜上可诱导质膜内陷,刺激巨噬细胞对其吞噬^[21]。而 Calpain2 的切割作用则参与了 Fc γ 受体介导的巨噬细胞吞噬过程,促进吞噬小体的成熟^[22],进而加速巨噬细胞的胞饮过程。此外,有研究表明,沉默 Calpain6 可显著降低巨噬细胞内吞脂质的活性^[23]。因此,Calpain 可能通过参与巨噬细胞非受体介导的胆固醇摄取,进而影响 As 进程。但需要进一步明确的证据验证这一猜想。

2.2 Calpain 抑制巨噬细胞的胆固醇流出

巨噬细胞内的胆固醇流出主要依赖于细胞膜上的胆固醇转运体 ABCA1、三磷酸腺苷结合盒转运体 G1(ATP-binding cassette transporter G1, ABCG1)及 B 族 I 型清道夫受体 scavenger receptor-B I(SR-B I)。ABCA1 将胆固醇转运到贫脂的载脂蛋白 AI(apolipoprotein A I, ApoA I),随后形成高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)。而 ABCG1 与 SR-B I 则将胆固醇直接转运至 HDL 颗粒。最终, HDL 运载胆固醇至肝脏将其转化为胆汁酸排出。研究显示 ABCA1、ABCG1 及 SR-B I 的水平与巨噬细胞的胆固醇流出能力呈正相关,与 As 病变风险呈负相关。

Wang 等^[24]研究发现 Calpain 通过识别 ABCA1 中的一段特殊序列(PEST 序列)来降解 ABCA1,这

一特殊序列由脯氨酸(proline)、谷氨酸(glutamate)、丝氨酸(serine)和苏氨酸(threonine)组成。Calpain 通过促进 PEST 序列磷酸化而降解 ABCA1,其中有两个关键的磷酸化位点 Thr-1286 和 Thr-1305。ApoA I 与 ABCA1 结合时, ApoA I 通过促进 ABCA1 中 PEST 序列去磷酸化来阻断 Calpain 介导的降解^[25],从而增加 ABCA1 的稳定性及蛋白水平。这些研究表明 ABCA1 是 Calpain 降解的靶蛋白,使其蛋白表达降低,PEST 序列有助于将 Calpain 靶向到细胞膜上的 ABCA1。Calpain 通过降解 ABCA1,从而抑制巨噬细胞中 ABCA1 转运的胆固醇流出,促使胞内胆固醇堆积和 As 的发生。此外,Calpain 也可以通过调节肝 X 受体 α (liver X receptor α , LXR α)来阻止巨噬细胞的胆固醇流出。LXR α 是 ABCA1 和 ABCG1 的主要转录调节因子,Calpain 可与 LXR α 形成复合物,识别 LXR α 中的 PEST 序列,从而降解 LXR α ,最终导致巨噬细胞中 ABCA1 表达下调和依赖于 ABCA1 的胆固醇外流受损^[26]。表明 Calpain 可从多种途径诱导 ABCA1 降解,抑制胆固醇的流出,加速 As 的发展。

胡椒碱通过上调 ABCA1 的表达促进 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞胆固醇流出,这种作用被证明是胡椒碱部分通过抑制 Calpain 介导的 ABCA1 降解来实现的^[27]。Zn²⁺、可溶性环氧化物水解酶抑制剂 TPPU 也具有类似的抑制作用^[28-29]。研究证实,内皮素 1 激活了巨噬细胞中的 Calpain,从而下调 ABCG1 的表达,阻碍胆固醇外流,促进泡沫细胞形成及 As 发展^[30]。然而,激活的 Calpain 没有诱导 ABCA1 的降解,表明 Calpain 可能通过不同的机制调节 ABCA1 和 ABCG1,而 Calpain 如何调节 ABCG1 的表达,需要更多确凿的证据进行评估。

3 巨噬细胞 Calpain 通过调节炎症反应参与 As

炎症是 As 的一个重要特征,贯穿于 As 的全程。研究显示活性氧或脂多糖等炎症介质刺激巨噬细胞能激活巨噬细胞中的 Calpain,促使 Calpain 对参与调节 As 的多种蛋白进行水解。同时,As 中被激活的 Calpain 又可上调炎症介质水平,从而形成恶性循环。因此,Calpain 在 As 的炎症反应中起关键作用。研究表明,Calpain 通过抑制巨噬细胞的吞噬功能,促进巨噬细胞炎症因子的分泌参与炎症反应及 As 的发生(图 3)。

3.1 Calpain 抑制巨噬细胞的吞噬功能

巨噬细胞的吞噬功能是对抗感染、损伤和细胞

凋亡的重要反应,通过快速有效的吞噬反应可抑制致炎因子白细胞介素 1β (interleukin- 1β , IL- 1β)、IL-6和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)分泌,同时刺激抗炎因子IL-10产生,保护组织免受炎症反应的影响。ABCA7与巨噬细胞的吞噬功能密切相关。ApoA I或ApoA II可拮抗Calpain降解ABCA7,增强巨噬细胞的吞噬活性^[31],表明Calpain通过促进ABCA7降解的方式来抑制巨噬细胞的吞噬活性,促使炎症的发生。As斑块内含有大量凋亡的巨噬细胞、平滑肌细胞及内皮细胞,吞噬细胞可清除这些凋亡细胞,这种作用称为胞葬作用。吞噬细胞高效的胞葬作用可促进其编程为抗炎表型并加速炎症的消退^[32]。As小鼠中,蓄积胆固醇的巨噬细胞胞葬作用变得迟钝,其原因可能是由于病变巨噬细胞的吞噬能力缺陷,也可能是因为巨噬细胞中的Calpain6抑制了胞葬过程,导致大量凋亡细胞碎片堆积在血管壁^[23]。以上研究表明Calpain6通过抑制巨噬细胞的胞葬过程从而加速炎症反应及As发展。

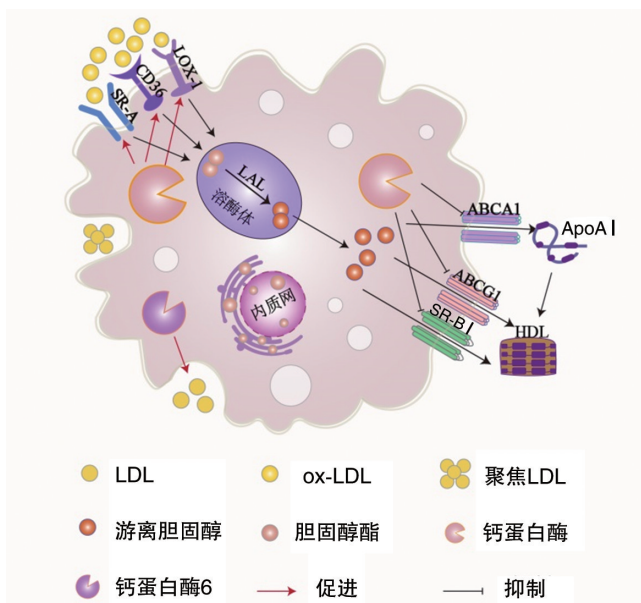


图2. Calpain 调节巨噬细胞的脂质代谢

Figure 2. Calpain regulates lipid metabolism in macrophages

3.2 Calpain 促进巨噬细胞炎症因子的分泌

转录调节蛋白核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)调节众多炎症因子转录,Calpain可水解NF- κ B抑制蛋白 α (NF- κ B inhibitor α , I κ B α)并释放NF- κ B, NF- κ B转位到细胞核以激活IL- 1β 、IL-6和TNF- α 等炎症因子的转录^[33]。表明Calpain通过介导炎

症因子的转录而启动炎症反应,促使As发生。在血管紧张素II诱导的As小鼠模型中,Calpain活性显著增加。Calpain抑制剂Calpastatin(CAST)是一种与Calpain紧密结合的内源性抑制剂,严格调控Calpain。过表达CAST可显著降低As小鼠中炎症因子单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)、IL-6的mRNA水平,抑制NF- κ B亚单位p65磷酸化,减少巨噬细胞的积聚及炎症反应,显著减轻As病变^[8]。CAI可显著下调高脂饮食大鼠的炎症分子细胞间黏附分子1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)、血管细胞黏附分子1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、MCP-1的mRNA和蛋白水平,从而减轻炎症反应,延缓As的发展^[34]。这些证据表明Calpain通过促进巨噬细胞炎症因子的分泌来放大炎症反应,促进As斑块处的血管炎症。

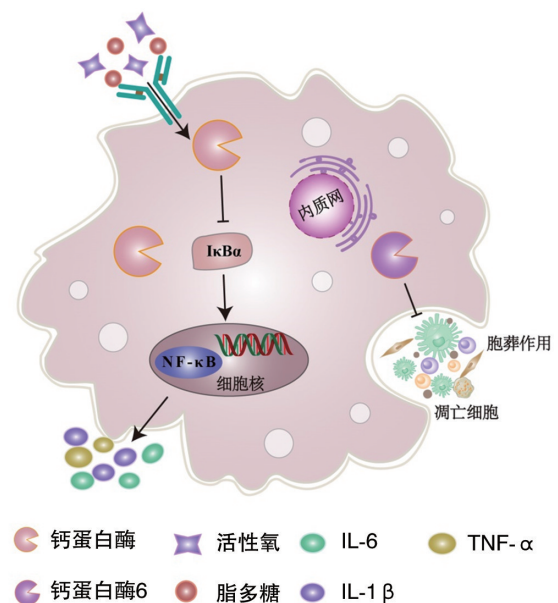


图3. Calpain 调节巨噬细胞的炎症反应

Figure 3. Calpain regulates inflammatory responses in macrophages

4 Calpain 抑制巨噬细胞的迁移能力

巨噬细胞的迁移能力在As的发生发展中起着关键作用。巨噬细胞从血液中迁移到内膜下是As斑块形成的始动因素,而巨噬细胞到达内膜后的迁移能力受损则是As不能缓解的原因,巨噬细胞滞留在动脉内膜持续吞噬胆固醇促进泡沫细胞的形成及As发展。体内外研究都已表明,蓄积的ox-LDL可以抑制巨噬细胞的迁移^[35]。LOX-1受体的缺失

抑制了巨噬细胞摄取 ox-LDL,从而减弱了 ox-LDL 抑制的细胞迁移作用。同时,还伴随着巨噬细胞中 Calpain2 的表达降低,但 Calpain1 的表达却增加。Calpain1 和 Calpain2 都参与了 ox-LDL 抑制巨噬细胞迁移的过程,并依赖于 LOX-1 的存在^[36]。因此,可以认为 Calpain2 通过促进巨噬细胞中 LOX-1 介导的 ox-LDL 摄取,从而抑制巨噬细胞迁出粥样硬化斑块,加速 As 的进展。

5 靶向 Calpain 的抗 As 药物进展

针对 Calpain 在 As 中的重要作用,研究者们致力于设计和开发靶向 Calpain 的抗 As 药物(表 1)。研究表明,抑制 Calpain 活性是一种可行的治疗策

略。Calpain 内源性抑制剂 CAST^[8]以及外源性抑制剂 Calpeptin^[37]、ALLM^[9]、BAD-410^[10]在 As 模型小鼠中均显示出较好的治疗效果,能有效抑制巨噬细胞胆固醇的沉积、减轻炎症反应和延缓 As 的发展。目前,真正应用到临床治疗 As 的 Calpain 抑制剂较少,这一领域尚有巨大的研究潜力,也存在许多挑战。在开发 Calpain 抑制剂时,可以尝试不同的策略:① Calpain 可识别 ABCA1 中的 PEST 序列,从 PEST 序列着手可能是设计 Calpain 抑制剂的出发点。② CAST 是唯一的内源性特异性 Calpain 抑制剂,利用 CAST 的抑制结构域和抑制模式也可以促进有效抑制剂的开发。③建模和计算方法也可以为设计和开发抑制剂提供有价值的工具,以确定良好的 Calpain 抑制剂候选药物^[38]。

表 1. 靶向 Calpain 的药物在抗动脉粥样硬化中的应用
Table 1. The use of drugs targeting calpain in atherosclerosis

钙蛋白酶抑制剂	物种或细胞类型	药理效应	参考文献
Calpastatin	LDLR ^{-/-} 小鼠	巨噬细胞聚集、黏附、迁移 ↓ 炎症(MCP-1、IL-6、IKK) ↓ As(乙酰 LDL 摄取、斑块) ↓	[8]
PD150606	小鼠腹腔巨噬细胞	PPAR γ ↓, CD36 ↓	[17]
Calpeptin	小鼠骨髓巨噬细胞	泡沫细胞 ↓, 脂质蓄积 ↓, IL-6 ↓, 斑块 ↓	[37]
	J774 巨噬细胞	ABCA1 泛素化 ↓, ABCA1 ↑	[39]
	小鼠腹腔巨噬细胞	ABCG1 ↑, 胆固醇流出 ↑	[40]
ALLM	LDLR ^{-/-} 小鼠	As 病变 ↓, 炎症(TNF- α 、ICAM-1、VCAM-1、NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、CD68、E 选择素) ↓	[9]
BDA-410	LDLR ^{-/-} 小鼠	炎症(MCP-1、ICAM-1、IL-6、IKK) ↓ 腹主动脉瘤 ↓, 巨噬细胞积聚 ↓, As 病变 ↓	[10]
CAI	ApoE ^{-/-} 小鼠	炎症基因(TNF- α 、IL-6) ↓ 胆固醇流入基因(CD36、SR-A) ↓ 胆固醇流出基因(PPAR γ 、LXR α 、ABCA1) ↑	[18]
	大鼠	炎症(ICAM-1、VCAM-1、MCP-1、NF- κ B) ↓, eNOS ↑, NO ↑, As(斑块、CD68) ↓	[34]

注:PPAR γ 指过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ);eNOS 指内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase)。

6 问题与展望

综上所述,Calpain 对巨噬细胞中的脂质代谢和炎症反应均具有重要作用,致力于降低 Calpain 活性的抗 As 治疗策略是有效的。本文为 As 及心血管疾病的有效防治提供新的思路,并为以 Calpain 为靶点的临床治疗提供理论依据。进一步的研究需阐明除传统 Calpain 外的其他 Calpain 亚型在 As 中的作用;Calpain 在内皮细胞和平滑肌细胞等细胞中发挥的作用及是否有相互作用;研发高效快速可用于临

床治疗的 Calpain 抑制剂并评估靶向 Calpain 的治疗策略在 As 治疗中的价值。

[参考文献]

- [1] 龚勇珍, 孙少卫, 廖端芳. 细胞炎症反应与脂质代谢的相互作用及调节[J]. 中国动脉硬化杂志, 2017, 25(6): 623-629.
- GONG Y Z, SUN S W, LIAO D F. Interaction and regulation of cell inflammation and lipid metabolism[J]. Chin J Arterioscler, 2017, 25(6): 623-629.

- [2] 郭明秋, 殷晓捷, 刁殿琰, 等. 脂质代谢水平与冠状动脉粥样硬化病变的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2021, 29(2): 149-155.
GUO M Q, YIN X J, DIAO D Y, et al. Relationship between the levels of lipid metabolism and coronary atherosclerotic lesions[J]. Chin J Arterioscler, 2021, 29(2): 149-155.
- [3] 董亚兰, 胡德胜. 动脉粥样硬化的炎症应答特征及运用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(4): 304-312.
DONG Y L, HU D S. Characteristics and application of inflammatory response in atherosclerosis[J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(4): 304-312.
- [4] SPINOZZI S, ALBINI S, BEST H, et al. Calpains for dummies: What you need to know about the calpain family[J]. BiochimBiophys Acta Proteins Proteom, 2021, 1869(5): 140616.
- [5] SHAPOVALOV I, HARPER D, GREER P A. Calpain as a therapeutic target in cancer[J]. Expert Opin Ther Targets, 2022, 26(3): 217-231.
- [6] SHAMS R, BANIK N L, HAQUE A. Calpain in the cleavage of alpha-synuclein and the pathogenesis of Parkinson's disease[J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2019, 167: 107-124.
- [7] LIANG L W, LI H L, CAO T, et al. Calpain activation mediates microgravity-induced myocardial abnormalities in mice via p38 and ERK1/2 MAPK pathways[J]. J Biol Chem, 2020, 295(49): 16840-16851.
- [8] HOWATT D A, BALAKRISHNAN A, MOORLEGHEN J J, et al. Leukocyte calpain deficiency reduces angiotensin II-induced inflammation and atherosclerosis but not abdominal aortic aneurysms in mice[J]. ArteriosclerThromb Vasc Biol, 2016, 36(5): 835-845.
- [9] MIYAZAKI T, TAKETOMI Y, TAKIMOTO M, et al. m-Calpain induction in vascular endothelial cells on human and mouse atheromas and its roles in VE-cadherin disorganization and atherosclerosis[J]. Circulation, 2011, 124(23): 2522-2532.
- [10] SUBRAMANIAN V, UCHIDA H A, IJAZ T, et al. Calpain inhibition attenuates angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysms and atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2012, 59(1): 66-76.
- [11] DE ANDRADE ROSA I, CORRÊA S, COSTA M L, et al. The scaffolding protein calpain-3 has multiple distributions in embryonic chick muscle cells and it is essential for the formation of muscle fibers[J]. Tissue Cell, 2020, 67: 101436.
- [12] GOTO S, OZAKI Y, OZAWA F, et al. The investigation of calpain in human placenta with fetal growth restriction[J]. Am J Reprod Immunol, 2021, 85(1): e13325.
- [13] CUI H X, WANG S L, GUO L P, et al. Expression and effect of Calpain9 gene genetic polymorphism on slaughter indicators and intramuscular fat content in chickens[J]. Poult Sci, 2018, 97(10): 3414-3420.
- [14] GUO X W, ZHANG H, HUANG J Q, et al. PIEZO1 ion channel mediates ionizing radiation-induced pulmonary endothelial cell ferroptosis via Ca²⁺/calpain/VE-cadherin signaling[J]. Front Mol Biosci, 2021, 8: 725274.
- [15] SAITO M, SUZUKI Y, YANO S, et al. Proteolytic inactivation of anti-angiogenic vasohibin-1 by cancer cells[J]. J Biochem, 2016, 160(4): 227-232.
- [16] CHENG H P, CHENG Q M, BAO X W, et al. Over-activation of NMDA receptors promotes ABCA1 degradation and foam cell formation[J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids, 2020, 1865(10): 158778.
- [17] YANG X Y, YIN M H, YU L, et al. Simvastatin inhibited oxLDL-induced proatherogenic effects through calpain-1-PPAR γ -CD36 pathway[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2016, 94(12): 1336-1343.
- [18] LIU J X, WANG Q N, WEI Y J, et al. Calpain inhibitor prevents atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice by regulating mRNA expression of genes related to cholesterol uptake and efflux[J]. Microvasc Res, 2022, 140: 104276.
- [19] ZHAO J F, CHING L C, HUANG Y C, et al. Molecular mechanism of curcumin on the suppression of cholesterol accumulation in macrophage foam cells and atherosclerosis[J]. Mol Nutr Food Res, 2012, 56(5): 691-701.
- [20] KRUTH H S. Receptor-independent fluid-phase pinocytosis mechanisms for induction of foam cell formation with native low-density lipoprotein particles[J]. Curr Opin Lipidol, 2011, 22(5): 386-393.
- [21] SINGH R K, HAKA A S, BHARDWAJ P, et al. Dynamic actin reorganization and Vav/Cdc42-dependent actin polymerization promote macrophage aggregated LDL (low-density lipoprotein) uptake and catabolism[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2019, 39(2): 137-149.
- [22] NORTON R L, FREDERICKS G J, HUANG Z, et al. Selenoprotein K regulation of palmitoylation and calpain cleavage of ASAP2 is required for efficient Fc γ R-mediated phagocytosis[J]. J Leukoc Biol, 2017, 101(2): 439-448.
- [23] MIYAZAKI T, TONAMI K, HATA S, et al. Calpain-6 confers atherogenicity to macrophages by dysregulating pre-mRNA splicing[J]. J Clin Invest, 2016, 126(9): 3417-3432.
- [24] WANG N, CHEN W G, LINSEL-NITSCHKE P, et al. A PEST sequence in ABCA1 regulates degradation by calpain

- protease and stabilization of ABCA1 by ApoA-I[J]. *J Clin Invest*, 2003, 111(1): 99-107.
- [25] MARTINEZ L O, AGERHOLM-LARSEN B, WANG N, et al. Phosphorylation of a pest sequence in ABCA1 promotes calpain degradation and is reversed by ApoA-I [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(39): 37368-37374.
- [26] ZHAO J F, SHYUE S K, LEE T S. Excess nitric oxide activates TRPV1-Ca²⁺-calpain signaling and promotes PEST-dependent degradation of liver X receptor α [J]. *Int J Biol Sci*, 2016, 12(1): 18-29.
- [27] WANG L M, PALME V, ROTTER S, et al. Piperine inhibits ABCA1 degradation and promotes cholesterol efflux from THP-1-derived macrophages [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2017, 61(4): 1500960.
- [28] LU R, ISHIKAWA T, TANAKA M M U, et al. Zinc increases ABCA1 by attenuating its clearance through the modulation of calmodulin activity [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2021, 28(3): 261-270.
- [29] PENG H C, TANG J J, ZHAO S P, et al. Inhibition of soluble epoxide hydrolase in macrophages ameliorates the formation of foam cells: role of heme oxygenase-1 [J]. *Circ J*, 2019, 83(12): 2555-2566.
- [30] LIN C Y, LEE T S, CHEN C C, et al. Endothelin-1 exacerbates lipid accumulation by increasing the protein degradation of the ATP-binding cassette transporter G1 in macrophages [J]. *J Cell Physiol*, 2011, 226(8): 2198-2205.
- [31] TANAKA N, ABE-DOHMAE S, IWAMOTO N, et al. Helical apolipoproteins of high-density lipoprotein enhance phagocytosis by stabilizing ATP-binding cassette transporter A7 [J]. *J Lipid Res*, 2010, 51(9): 2591-2599.
- [32] KOURTZELIS I, HAJISHENGALLIS G, CHAVAKIS T. Phagocytosis of apoptotic cells in resolution of inflammation [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 553.
- [33] SHUMWAY S D, MAKI M, MIYAMOTO S. The PEST domain of IkappaB alpha is necessary and sufficient for in vitro degradation by mu-calpain [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(43): 30874-30881.
- [34] YU L, YIN M H, YANG X Y, et al. Calpain inhibitor I attenuates atherosclerosis and inflammation in atherosclerotic rats through eNOS/NO/NF- κ B pathway [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2018, 96(1): 60-67.
- [35] LIN F, PEI L, ZHANG Q, et al. Ox-LDL induces endothelial cell apoptosis and macrophage migration by regulating caveolin-1 phosphorylation [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(10): 6683-6692.
- [36] WANG X W, DING Z F, LIN J T, et al. LOX-1 in macrophage migration in response to ox-LDL and the involvement of calpains [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 467(1): 135-139.
- [37] BANDARU S, ALA C D, SALIMI R Z, et al. Targeting filamin a reduces macrophage activity and atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2019, 140(1): 67-79.
- [38] DÓKUS L E, YOUSEF M, BÁNÓCZI Z. Modulators of calpain activity: inhibitors and activators as potential drugs [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2020, 15(4): 471-486.
- [39] IBORRA R T, MACHADO-LIMA A, OKUDA L S, et al. AGE-albumin enhances ABCA1 degradation by ubiquitin-proteasome and lysosomal pathways in macrophages [J]. *J Diabetes Complications*, 2018, 32(1): 1-10.
- [40] HORI N, HAYASHI H, SUGIYAMA Y. Calpain-mediated cleavage negatively regulates the expression level of ABCG1 [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 215(2): 383-391.
- (此文编辑 许雪梅)