

PPAR γ 激动剂和 MEK1/2 抑制剂药物组合对 ApoE $^{-/-}$ 小鼠动脉粥样硬化发展的抑制作用

杨潇潇^{1,2}, 刘力沛^{1,2}, 孙蕾^{1,2}, 李小菊^{1,2}, 段亚君^{1,2}, 陈元利^{1,3,4}

(南开大学 1. 药物化学生物学国家重点实验室, 2. 生命科学学院, 3. 生物治疗协同创新中心, 4. 医学院, 天津市 300071)

[关键词] 过氧化物增殖物激活型受体 γ ; 细胞外信号调控激酶; 动脉粥样硬化; 甘油三酯

[摘要] 目的 研究过氧化物增殖物激活型受体 γ (PPAR γ) 激动剂吡格列酮及 MEK1/2 抑制剂 U0126 药物组合对雄性载脂蛋白 E 基因敲除 (ApoE $^{-/-}$) 小鼠动脉粥样硬化的抑制作用, 并初步探讨药物组合抑制动脉粥样硬化的机制。方法 ApoE $^{-/-}$ 小鼠随机分为高脂喂养的对照组、吡格列酮喂药组和 U0126 与吡格列酮组合喂药 3 组。药物处理 16 周之后, 将小鼠安乐死, 收集血清, 检测血清中总胆固醇 (TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL) 和甘油三酯 (TG) 的含量; 剥离小鼠全主动脉并制备主动脉根部冰冻切片, 油红 O 染色检测斑块大小; 小鼠肝脏组织冰冻切片后油红 O 染色, 提取肝脏组织中的脂类, 定量检测 TG 含量。结果 药物处理没有明显的副作用, 同时血清脂质水平和肝脏 TG 含量没有显著的影响。吡格列酮抑制雄性 ApoE $^{-/-}$ 小鼠动脉粥样硬化的发展, 而吡格列酮与 U0126 组合喂药则进一步抑制动脉粥样硬化斑块。吡格列酮与 U0126 药物组合增加斑块弹性蛋白和胶原蛋白的含量, 从而可增加斑块的稳定性。结论 吡格列酮和 U0126 药物组合抑制动脉粥样硬化的发展而不引起肝损伤及肝脏脂肪性病变等副作用。我们的结果揭示了一种新的治疗动脉粥样硬化方法。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Combination of Peroxisome Proliferator Activated Receptor Ligand and MEK1/2 Inhibitor Inhibits the Development of Atherosclerosis in ApoE Deficient Mice

YANG Xiao-Xiao^{1,2}, LIU Li-Pei^{1,2}, SUN Lei^{1,2}, LI Xiao-Ju^{1,2}, DUAN Ya-Jun^{1,2}, and CHEN Yuan-Li^{1,3,4}

(1. State Key Laboratory of Medicinal Chemical Biology, Nankai University; 2. College of Life Sciences, Nankai University; 3. Collaborative Innovation Center of Biotherapy, Nankai University; 4. School of Medicine, Nankai University, Tianjin 300071, China)

[KEY WORDS] Peroxisome Proliferator Activated Receptor; Mitogen-activated Protein Kinases 1/2; Atherosclerosis; Triglycerides

[ABSTRACT] **Aim** To study the effect of the combined peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) ligand (pioglitazone) and MEK1/2 inhibitor (U0126) on the development of atherosclerosis in ApoE deficient (ApoE $^{-/-}$) mice and define the underlying mechanisms. **Methods** Male ApoE $^{-/-}$ mice (8 Week-old) were randomly divided into three groups and received the following treatment: high fat diet (HFD), HFD containing pioglitazone, HFD containing pioglitazone plus U0126. The treatment was lasted for 16 weeks with routine check of food intake, water drinking and body-weight gain. At the end of treatment, all the mice were anesthetized and euthanized in a CO₂ chamber followed by collection of blood, aorta and liver. The serum was prepared followed by determination of triglycerides (TG), total cholesterol, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol levels using commercially available enzymatic kits. The 5 μ m frozen sections of aortic root were prepared, and lesions in enface aorta and the aortic root cross sections were determined by oil red O staining.

[收稿日期] 2014-12-09

[修回日期] 2015-02-07

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金(31400694); 天津市应用基础与前沿基础研究计划(14JCYBJC25100); 中国博士后科学基金(2014M551014); 国家基础学科人才培养基金(J1103503)

[作者简介] 杨潇潇, 博士研究生, 研究方向为心血管生物学, E-mail 为 1012017910@qq.com。刘力沛, 博士研究生, 研究方向为心血管生物学, E-mail 为 1017990295@qq.com。孙蕾, 博士研究生, 研究方向为心血管生物学, E-mail 为 sunlei0911159@163.com。通讯作者陈元利, 讲师, 研究方向为心血管生物学, E-mail 为 yuanli2014@nankai.edu.cn。

The liver frozen sections were prepared and used to determine hepatic lipid content by oil red O staining. A piece of liver (~50 mg) was used to extract total lipids followed by TG quantitative analysis. **Results** The treatment had little effect on serum lipid profiles as well as hepatic TG levels. However, pioglitazone significantly inhibited the development of atherosclerosis and the inhibition was enhanced by adding U0126. The combined pioglitazone and U0126 increased lesion stability by increasing collagen and elastin content in aortic wall. **Conclusions** The combined pioglitazone and U0126 inhibits the development of atherosclerosis without side effects, such as fatty liver disease and liver damage. Our results provide a new approach for treatment of atherosclerosis.

过氧化体增殖物激活型受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor gamma, PPAR γ) 是核受体转录因子超家族中的一员并受其配体的激活, 是控制脂肪细胞分化的重要转录因子^[1]。吡格列酮 (pioglitazone) 是人工合成的 PPAR γ 配体, 具有与 PPAR γ 特异结合能力强的特点。近年来的研究表明, PPAR γ 在心血管疾病中发挥重要作用, 能够抑制血管的炎症反应、调控内皮细胞功能^[2-3]。在动物模型中, PPAR γ 配体抑制低密度脂蛋白受体敲除 (LDLR $^{-/-}$) 和前脂蛋白 E 基因敲除 (ApoE $^{-/-}$) 小鼠的动脉粥样硬化的发展^[4-6]。促分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路在调控细胞有丝分裂以及机体炎症反应方面发挥重要作用。最近研究表明, MAPK 信号通路可能在心血管疾病的发病过程中扮演着重要的角色^[7]。MAPK 信号通过 RAS/MEK1/2/ERK1/2 信号通路发挥作用。其中 MEK1/2 专一性磷酸化 ERK1/2, 发挥其功能。MEK1/2 抑制剂在巨噬细胞中能够促进 ABCA1 的表达, 加速胆固醇的外流^[8]。此外, ERK1/2 在免疫调控中发挥重要作用。Williams 等^[9] 报道指出在肿瘤坏死因子诱导的炎症反应中 ERK1/2 也发挥着重要的作用。此外, ERK1/2 的激活能够使 PPAR γ 磷酸化并抑制 PPAR γ 的转录调节活性^[10]。本文使用 ApoE $^{-/-}$ 小鼠为研究对象, 通过 PPAR γ 激动剂吡格列酮单独或吡格列酮与 MEK1/2 抑制剂 U0126 组合喂食小鼠, 研究药物组合抑制动脉粥样硬化的作用, 并初步探讨潜在的分子机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料与试剂

高脂食物 (HFD, 含有 21% 甘油三酯和 0.5% 胆固醇) 购自 Harlan Teklad 公司 (Madison, WI); 吡格列酮 (PIOG) 购自武田药品工业株式会社 (大阪, 日本); U0126 (Cat #: U6770) 购自 LC Laboratories (Woburn, MA)。4% 多聚甲醛于天津鼎国生物技术

有限公司处购买; 甘油三酯 (TG) 检测试剂盒购自 Wako Chemicals (Richmond, VA); 其他试剂除特意说明外均购自美国 Sigma 公司 (St Louis, MO)。

1.2 实验动物及分组

体重相近、年龄 (约 8 周龄) 匹配的雄性 ApoE $^{-/-}$ 小鼠, 共 45 只, 购自北京维通利华公司。实验开始时将小鼠随机分为 3 组 (n = 15), 分别为对照组、吡格列酮喂药组 (PIOG 组)、U0126 与吡格列酮组合喂药组 (PIOG + U0126 组)。每组均喂食高脂食物, 其中 PIOG 组药物剂量为 30 mg/kg, PIOG + U0126 组剂量为: 吡格列酮 30 mg/kg; U0126 3 mg/kg。饲养条件光照 12 h, 黑暗 12 h。连续喂食 16 周之后安乐处死小鼠后, 收集小鼠血液, 制备血清样品。同时收集小鼠主动脉和肝脏以进行进一步实验。

1.3 全主动脉油红 O 染色

取出小鼠全主动脉, 剔除主动脉上多余的脂肪和肌肉组织。将主动脉置于 4% 多聚甲醛中固定 48 h。然后用 PBS 漂洗 2 次, 每次 5 min。漂洗过后, 将全主动脉置于油红 O 染色工作液 [油红 O 原液 (0.5 g/100 mL 异丙醇): 水 = 3:2] 中染色 1 h。用 60% 异丙醇洗去多余染液, 再反复用蒸馏水洗涤以洗去浮色。然后在体视显微镜下观察染色后的主动脉并拍照保存。统计各组动脉粥样硬化斑块面积比例, 并进行统计分析。

1.4 小鼠主动脉根部及肝脏的油红 O 染色

将小鼠主动脉根部及肝脏组织修剪成合适大小, 于 4% 多聚甲醛中固定过夜, 采用 30% 蔗糖溶液脱水 24 h。将脱水过后的主动脉或肝脏组织包埋于 OTC 中, 于冰冻切片机上切片, 切片厚度为 5 μ m。染色时, 将冰冻切片取出, 室温晾干, PBS 浸泡 5 min。用油红 O 工作液染色 40~60 min。染色结束后, 将切片在 60% 异丙醇脱色液中蘸几次但不过度脱色。然后用 Leica DM5000B 显微镜拍照, 保存照片。

1.5 VVG 染色

主动脉根部 5 μ m 冰冻切片进行 VVG 染色, 步骤如下: 首先切片浸入 Verhoeff's 工作液中 [取 20 mL

5% 苏木精乙醇溶液、8 mL 10% 氯化铁和 8 mL Weigert's 碘溶液 (2% 碘化钾和 1% 碘溶液), 混匀备用] 染色 1 h。然后用蒸馏水冲洗玻片。切片在 2% 氯化铁溶液中浸泡 1 min, 5% 硫代硫酸钠溶液浸泡 1 min。然后玻片用 Van Gieson's 溶液 (1% 酸性品红溶解于饱和苦味酸) 复染 3 min。最后切片进行快速脱水处理: 快速浸泡于 95% 乙醇 1 次, 100% 乙醇 2 次, 二甲苯透明, 然后玻片用中性树脂封片。所有的切片用 Leica 显微镜 (Wetzlar, Germany) 拍照。

1.6 小鼠血脂水平分析

小鼠眼球取血, 室温静置 2 h, 2000 g 离心 20 min, 吸取上层血清, -20°C 保存待用。血清用 PBS 稀释一定倍数, 用总胆固醇 (TC) 检测试剂盒、低密度脂蛋白胆固醇 (LDLC) 测定试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇 (HDLC) 测定试剂盒、血清 TG 测定试剂盒在日立 7020 全自动生化分析仪上检测, 并分析数据。

1.7 肝脏甘油三酯检测

取 50 mg 肝组织, 加入 1 mL PBS 用电动玻璃匀浆机破碎组织, 将悬液吸入 15 mL 离心管内, 用超声细胞破碎仪进一步破碎细胞。取 100 μL 裂解液放入 1.5 mL 离心管内用于蛋白浓度的测定, 其余放入 15 mL 离心管内。在 1 mL 裂解液内加入 1.5 mL 甲醇和氯仿混合液 (甲醇: 氯仿 = 2: 1), 充分振荡混匀

后再加入 0.5 mL 氯仿, 振荡混匀。混合液于 3000 r/min 离心 5 min, TG 在最底层有机相中, 小心取出放入新的 15 mL 离心管中, 用氮吹仪吹干, 加入 300 μL 异丙醇溶解, 按照试剂盒说明书检测 TG 含量。

1.8 数据分析

文中所涉及的数据至少从三个独立的实验产生。采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。所有数据使用 Dunnett 的多重比较检验和方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PPAR γ 激动剂协同 MEK1/2 抑制剂抑制主动脉粥样硬化斑块的发展

在喂食药物 16 周后处死小鼠, 剥离小鼠全主动脉, 对小鼠全主动脉进行油红 O 染色, 观察主动脉粥样硬化斑块的发生状况, 发现 PIOG 组小鼠主动脉粥样硬化斑块面积较对照组减少约 30%, 表明吡格列酮对小鼠主动脉粥样硬化斑块发展具有良好的抑制效果。PIOG + U0126 组在此基础上进一步抑制了斑块的发展, 斑块面积较对照组减少约 40%, 说明两种药物组合使用更好的抑制主动脉粥样硬化斑块的发展 (图 1)。

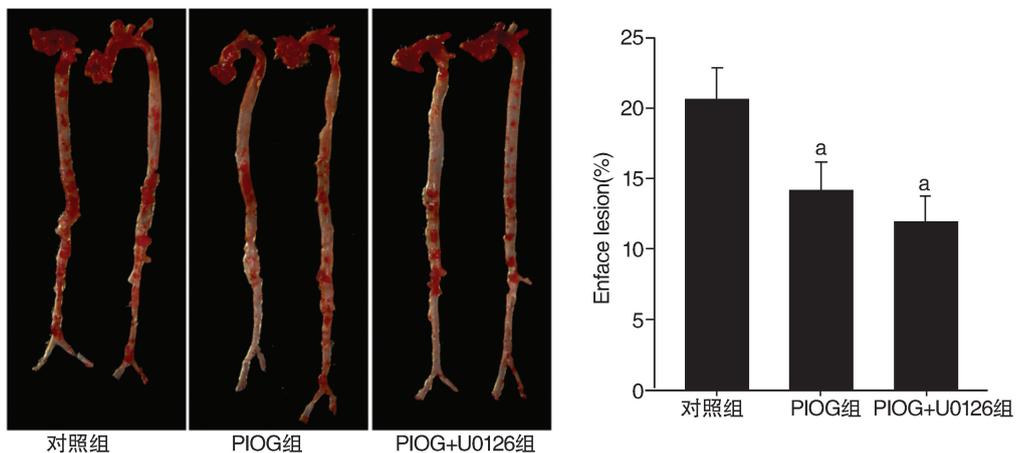


图 1. 吡格列酮与 U0126 组合抑制 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉粥样硬化斑块发展 左图为小鼠全主动脉油红 O 染色结果图; 右图为小鼠全主动脉油红 O 染色斑块统计结果。a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

Figure 1. The combined pioglitazone and U0126 inhibit the development of enface lesions in male ApoE^{-/-} mice

2.2 PPAR γ 激动剂与 MEK1/2 抑制剂抑制主动脉根部动脉粥样硬化斑块的发展

主动脉根部为动脉粥样硬化高发区。为了进一步验证组合药物对动脉粥样硬化发展的抑制作用, 我们对小鼠主动脉根部冰冻切片进行油红 O 染色。结果发现对照组主动脉根部斑块较大, 约为

$(15 \pm 3) \times 10^5 \mu\text{m}^2$, PIOG 组斑块面积为 $(10 \pm 3.5) \times 10^5 \mu\text{m}^2$, 减少约 30%, 表明吡格列酮抑制主动脉根部斑块的形成。PIOG + U0126 组则进一步抑制斑块的形成, 与对照组相比, 斑块减少约 50%, 进一步说明两种药物搭配具有更明显的抑制动脉粥样硬化发展的功能 (图 2)。

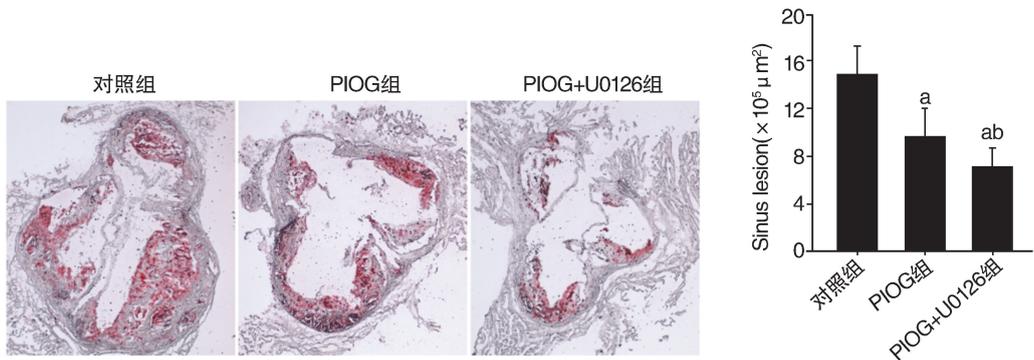


图 2. PIOG 与 U0126 药物组合抑制 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉根部斑块形成 左图为主动脉根部冰冻切片油红 O 染色;右图为主动脉根部油红 O 染色斑块面积统计结果。a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 PIOG 组比较。

Figure 2. The combined pioglitazone and U0126 inhibit the development of sinus lesions of aortic root in ApoE^{-/-} mice

2.3 吡格列酮或吡格列酮与 U0126 组合增加动脉粥样硬化斑块稳定性

为研究组合药物对动脉粥样硬化斑块稳定性的影响,我们对小鼠主动脉根部冰冻切片进行 VVG 染色,结果发现对照组斑块纤维帽处胶原蛋白(紫色)含量很少,斑块纤维帽不规则,说明其斑块稳定性较差,易发生斑块破裂。吡格列酮喂药之后斑块

纤维帽处胶原蛋白含量显著上升,斑块结构规则,其稳定性增高;PIOG + U0126 组能在此基础上进一步增加胶原成分,同时弹性蛋白(黑色)含量增加,斑块更加趋于稳定(图 3)。提示吡格列酮与 U0126 组合应用增强了斑块的稳定性,对动脉粥样硬化的发展具有显著的抑制作用。

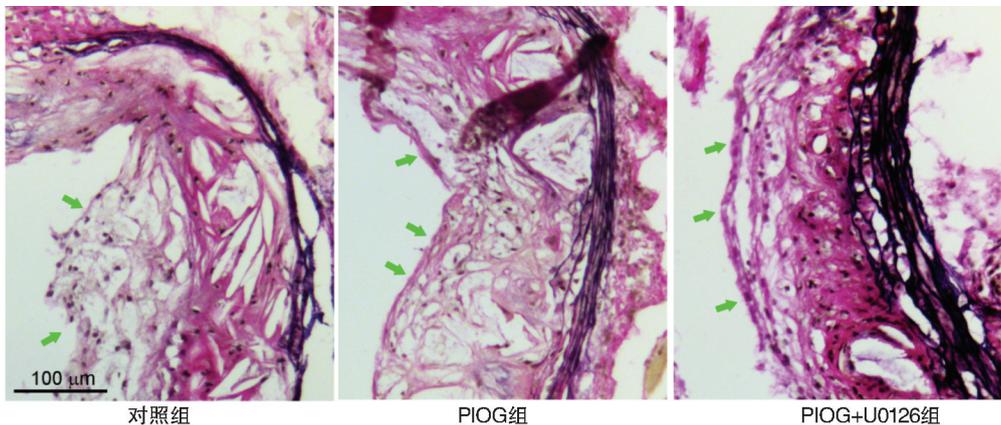


图 3. 吡格列酮与 U0126 药物组合增加 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化斑块稳定性(VVG 染色) 箭头示纤维帽区,紫色为胶原蛋白,黑色为细胞核与弹性蛋白。

Figure 3. The combined pioglitazone and U0126 increase the stability of the cap of lesion area in ApoE^{-/-} mice(VVG stain)

2.4 吡格列酮与 U0126 组合不影响肝脏脂质水平

为了观察吡格列酮与 U0126 组合长期喂食是否会产生副作用,我们首先在实验期间定期测量小鼠进食量和体重增长,与对照组相比,我们发现吡格列酮与 U0126 药物组合不影响小鼠进食量和体重增长,说明组合药物比较安全。我们进一步分离小鼠肝脏,检测组合药物对肝脏脂质累积水平的影响。我们首先对肝脏进行冰冻切片,油红 O 染色观察脂质累积水平,结果发现,吡格列酮喂药或吡格列酮与 U0126 组合喂药不影响肝脏中脂质累积水

平(图 4)。我们还提取肝脏中的脂质成分,通过试剂盒定量测定了肝脏中 TG 的含量,结果与油红 O 染色结果类似,PIOG 组(85.7 ± 18.2 mg/g)和 PIOG + U0126 组(84.9 ± 8.1 mg/g)小鼠肝脏中 TG 含量略低于对照组(114.5 ± 14.9 mg/g),但差异并未达到统计学意义($P > 0.05$)。提示吡格列酮与 U0126 药物组合不会对小鼠肝脏产生副作用。

2.5 吡格列酮与 U0126 组合不影响血脂水平

为了检测吡格列酮喂药或吡格列酮与 U0126 组合喂药是否会对肝脏产生副作用,我们检测了血

清丙氨酸转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 和天冬氨酸转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 水平,发现喂食两种药物均不会影响 ALT 和 AST 的水平(表 1)。另外实验结果发现,吡格列酮或吡格列酮与 U0126 组合喂药不影响血脂水平,同时两种药物对小鼠体重以及肝重/体重也没有影响(表 2)。

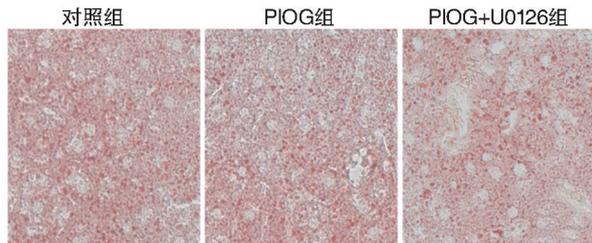


图 4. 吡格列酮与 U0126 组合药物不影响肝脏脂质积累(油红 O 染色)

Figure 4. The combined pioglitazone and U0126 have no effect on liver triglycerides content(oil red O stain)

表 1. 吡格列酮与 U0126 不影响血清中 ALT 和 AST 水平($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Pioglitazone and U0126 have no effect on serum ALT and AST levels($\bar{x} \pm s$)

分 组	ALT(U/L)	AST(U/L)
对照组	44.7 ± 10.4	210.3 ± 65.8
PIOG 组	43.1 ± 13.9	216.9 ± 23.8
PIOG + U0126 组	42.9 ± 7.1	210.4 ± 67.5

表 2. 吡格列酮与 U0126 不影响血清中脂质水平($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Table 2. The combined pioglitazone and U0126 have no effect on serum lipid levels in ApoE^{-/-} mice($\bar{x} \pm s, n = 15$)

指 标	对照组	PIOG 组	PIOG + U0126 组
TC(mmol/L)	15.5 ± 1.5	13.8 ± 2.4	15.2 ± 1.8
HDLC(mmol/L)	3.1 ± 0.2	2.2 ± 0.2	2.5 ± 0.3
LDLC(mmol/L)	6.7 ± 0.5	6.7 ± 1.1	6.8 ± 0.4
TG(mmol/L)	1.8 ± 0.2	1.7 ± 0.1	1.9 ± 0.2
体重(g)	28.2 ± 1.5	30.0 ± 0.6	29.1 ± 0.8
肝重/体重	4.8% ± 0.2%	4.7% ± 0.2%	4.9% ± 0.2%

3 讨 论

动脉粥样硬化是心脑血管疾病的主要病理基础之一,也是导致中老年人死亡的重要原因。动脉粥样硬化斑块的形成主要是由脂质代谢紊乱和慢性炎症所致^[11]。基于前期研究,我们发现 U0126 单独喂食 ApoE^{-/-} 小鼠不会影响小鼠主动脉的发生发展情况,同时也不会产生副作用(此部分结果处于

投稿阶段,并未在本文中展示)。本研究以 ApoE^{-/-} 小鼠为实验材料,发现 PPAR γ 激动剂(吡格列酮)与 MEK1/2 抑制剂(U0126)组合能够更加显著地抑制小鼠主动脉的动脉粥样硬化发生与发展,机制上体现出对斑块纤维帽区域胶原成分增加,血管壁弹性纤维增厚,从而增强血管斑块稳定性。同时我们发现这两种药物组合对肝脏没有明显的副作用。

吡格列酮是噻唑烷二酮(thiazolidinediones, TZD)药物的一种,是 PPAR γ 的人工合成配体,在临床上可以用于治疗 2 型糖尿病。通过动物实验与临床研究表明,TZD 除了能够增强胰岛素敏感性,治疗 2 型糖尿病之外,还具有抗动脉粥样硬化和心血管保护的功能^[5-6,12]。吡格列酮能够抑制 LDLR^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化的进一步发展,并且降低血浆中 LDLC 含量,提高 HDLC 含量^[12]。曲格列酮(troglitazone)能够有效的抑制 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化斑块的发展,并且这种抑制作用与改善血管壁微环境和巨噬细胞功能相关^[5]。然而,我们并未观察到吡格列酮对血清中脂质水平有任何影响,这可能是由于使用的小鼠模型和给药时间不同。

细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulatory kinases, ERK)又名丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK),是一系列重要的信号传导分子。其一、二类激酶(ERK1/2 或 p44/42 MAPK)在细胞的分化和增殖中扮演重要的角色。本实验室前期研究工作表明,ERK1/2 信号通路在动脉粥样硬化发生发展中有着重要的作用。MEK1/2 抑制剂与 LXR 激动剂能够协同诱导巨噬细胞 ABCA1 的表达并促进胆固醇外流^[13]。抑制 ERK1/2 可能成为治疗动脉粥样硬化的重要靶点。此外,MEK1/2 抑制剂能够通过抑制 PPAR γ 去磷酸化进而激活 PPAR γ ,从而诱导 PCSK9 和 LDLR 表达。PPAR γ 配体与 MEK1/2 抑制剂组合能够改善 C57BL/6 小鼠血清脂质水平^[14]。本实验发现,吡格列酮与 U0126 组合药物能够发挥比吡格列酮单独作用更好的抗动脉粥样硬化效果,而且组合药物在我们的试验周期中没有明显的副作用,小鼠肝脏无明显病变,同时不影响血清中 ALT 和 AST 水平。但是组合药物对血脂水平依然无明显的影响,说明组合药物对动脉粥样硬化抑制作用的分子机制与血脂调控无关,可能与药物调控的炎症反应、单核细胞增殖、迁移和黏附等相关。在进一步的实验中我们将关注吡格列酮和 U0126 组合药物对血管炎症的作用。

吡格列酮和 UO126 组合药物除了抑制动脉粥样硬化斑块的发展外,血管胶原和弹性纤维成分显著增加,意味着斑块稳定性增加。Lannoy 等^[14]研究发现 MEK1/2 抑制剂在体外能够刺激弹性蛋白的表达,体内 UO126 处理 10 周显著增加血管壁弹性蛋白的水平,而不影响细胞总数量。我们的结果与之类似,当喂食含有 UO126 的组合药物后,血管弹性蛋白显著增加。总之,我们的结果证明 PPAR γ 激动剂和 MEK1/2 抑制剂组合药物有潜力成为治疗动脉粥样硬化的新方法。

[参考文献]

- [1] Shao D, Rangwala SM, Bailey ST, et al. Interdomain communication regulating ligand binding by PPAR-gamma[J]. *Nature*, 1998, 396(6709): 377-380.
- [2] 阮景明,朱鹏立,蒋娜,等. 白藜芦醇对兔动脉粥样硬化及 PPARgamma 相关炎症因子表达的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2013, 21(3): 203-208.
- [3] 隋亚那,朱勤伟. 替米沙坦通过激活 PPARgamma 而下调 NF κ B 通路抑制脂多糖诱导的单核细胞 THP-1 炎症反应[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(12): 1225-2230.
- [4] Nakaya H, Summers BD, Nicholson AC, et al. Atherosclerosis in LDLR-knockout mice is inhibited, but not reversed, by the PPARgamma ligand pioglitazone[J]. *Am J Pathol*, 2009, 174(6): 2007-014.
- [5] Chen Z, Ishibashi S, Perrey S, et al. Troglitazone inhibits atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice: pleiotropic effects on CD36 expression and HDL[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, 21(3): 372-377.
- [6] Li AC, Brown KK, Silvestre MJ, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands inhibit development of atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice[J]. *J Clin Invest*, 2000, 106(4): 523-531.
- [7] Muslin AJ. MAPK signalling in cardiovascular health and disease: molecular mechanisms and therapeutic targets[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2008, 115(7): 203-218.
- [8] 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): 6316-326.
- [9] Williams LM, Lali F, Willetts K, et al. Rac mediates TNF-induced cytokine production via modulation of NF-kappaB[J]. *Mol Immunol*, 2008, 45(9): 2446-454.
- [10] Shao C, F, Wang M, O'Connor JP, et al. Phosphorylation of PPARgamma via active ERK1/2 leads to its physical association with p65 and inhibition of NF-kappabeta[J]. *J Cellular Biochem*, 2003, 90(4): 732-744.
- [11] Blasi C. The autoimmune origin of atherosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 2008, 201(1): 17-32.
- [12] Nakaya H, Summers BD, Nicholson AC, et al. Atherosclerosis in LDLR-knockout mice is inhibited, but not reversed, by the PPAR gamma ligand pioglitazone[J]. *Am J Pathol*, 2009, 174(6): 2007-014.
- [13] Duan Y, Chen Y, Hu W, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation by ligands and dephosphorylation induces proprotein convertase subtilisin kexin type 9 and low density lipoprotein receptor expression[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(28): 23667-677.
- [14] Lannoy M, Slove S, Louedec L, et al. Inhibition of ERK1/2 phosphorylation: a new strategy to stimulate elastogenesis in the aorta[J]. *Hypertension*, 2014, 64(2): 423-430.

(此文编辑 许雪梅)