文章编号:1000-5404(2014)07-0625-06

论著

TLR4通过下调ABCA1表达促进平滑肌源性泡沫细胞形成

郭 露,张莉莉,曹小洁,刘 赟,廖少琼,黎炳护,皮 燕,尹延伟,李敬诚 (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所神经内科)

[摘要] **目的** 探讨Toll样受体4(Toll-like receptor 4,TLR4)促进平滑肌源性泡沫细胞的形成是否与三磷酸腺苷-结合盒转运子A1(ATP-binding cassette transporter,ABCA1)表达异常相关。**方法** 组织贴块法培养原代血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells,VSMCs);细胞分为野生型(Wild type)空白对照组、Wild type氧化低密度脂蛋白(oxLDL)组、TLR4敲除($TLR4^{-/-}$)空白对照组和$TLR4^{-/-}$ oxLDL组;油红O染色观察VSMCs内脂质聚集,并用异丙醇萃取油红O测定光密度值;RT-qPCR、Western blot检测VSMCs中TLR4、ABCA1、IL-1β及TNF-α mRNA和蛋白表达水平;细胞免疫荧光染色鉴定原代VSMCs及观察核转录因子-kappa B(NF-κB)核转位。**结果** ①Wild type oxLDL组中见细胞内大量脂滴形成,油红O光密度值为Wild type空白对照组的2.3倍($P<0.01$);$TLR4^{-/-}$ oxLDL组中只见少许脂质沉积于细胞内,油红O光密度值与$TLR4^{-/-}$空白对照组相比无明显变化($P>0.05$)。②Wild type oxLDL组ABCA1 mRNA及蛋白表达水平较Wild type空白对照组分别下降61%($P<0.05$),44%($P<0.01$);$TLR4^{-/-}$ oxLDL组ABCA1 mRNA及蛋白表达水平分别为$TLR4^{-/-}$空白对照组的2.3倍($P<0.05$),1.7倍($P<0.05$)。③Wild type oxLDL组VSMCs中NF-κB核转位明显增多,IL-1β和TNF-α mRNA表达较Wild type空白对照组分别升高3.9倍($P<0.05$),1.7倍($P<0.05$);$TLR4^{-/-}$ oxLDL组VSMCs中无明显NF-κB核转位,仅IL-1β mRNA表达较$TLR4^{-/-}$空白对照组升高1.2倍($P>0.05$)。**结论** TLR4及其调节的炎性反应参与平滑肌源性泡沫细胞形成过程中ABCA1表达异常。

[关键词] 泡沫细胞;血管平滑肌细胞;Toll样受体4;三磷酸腺苷-结合盒转运子A1
[中图法分类号] R322.12; R392.32; R543.502 [文献标志码] A

TLR4 promotes VSMCs-derived foam cells formation *via* down-regulating ABCA1 expression

Guo Lu, Zhang Lili, Cao Xiaojie, Liu Yun, Liao Shaoqiong, Li Binghu, Pi Yan, Yin Yanwei, Li Jingcheng (Department of Neurology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine whether Toll-like receptor 4 (TLR4) promoting VSMCs-derived foam cells formation is related with the abnormal expression of ATP-binding cassette transporter 1 (ABCA1). **Methods** Vascular smooth muscle cells (VSMCs) were isolated from male C57BL/6J ($TLR4^{+/+}$) and C57BL/10ScNj ($TLR4^{-/-}$) mice respectively, and primary cultured and identified. The obtained VSMCs were divided into wild type blank control cells, oxLDL-treated wild type cells (50 μg/mL oxLDL), $TLR4^{-/-}$ blank control cells and oxLDL-treated $TLR4^{-/-}$ cells. Neutral lipid inclusions in the VSMCs induced by oxLDL were assessed by Oil Red O staining. Lipid accumulation was quantitated by isopropanol extraction of Oil Red O from stained cells and optical density determinations at 518 nm. The mRNA and/or protein levels of TLR4, ABCA1, IL-1β and TNF-α were determined by Western blotting and RT-qPCR. The NF-κB translocation was identified by immunofluorescence assay. **Results** Oil red O staining indicated that a large amount of lipid was accumulated in oxLDL-treated wild type VSMCs, with the OD value increased by 2.3 folds compared with that of blank control ($P<0.01$). Only few lipids were found in oxLDL-treated $TLR4^{-/-}$ VSMCs, with no significant difference with the untreated cells ($P>0.05$). The ABCA1 expression at mRNA and protein levels was

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81271282);重庆市杰出青年科学基金(CSTC2012JJJQ10003)
[通信作者] 李敬诚,电话:(023)68757841,E-mail:lijingcheng11@aliyun.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140115.1514.003.html(2014-01-15)

reduced by 61% ($P<0.05$) and 44% ($P<0.01$), respectively, in oxLDL-treated wild type VSMCs than in untreated cells. However, in the TLR4$^{-/-}$ VSMCs stimulated by oxLDL, the ABCA1 mRNA and protein expression were 2.3-fold ($P<0.05$) and 1.7-fold higher ($P<0.05$) than the TLR4$^{-/-}$ blank control, respectively. The translocation of NF-κB was activated by TLR4 in oxLDL-treated wild type VSMCs, and the IL-1β and TNF-α mRNA expression were 3.9 folds ($P<0.05$) and 1.7 folds ($P<0.05$) respectively of wild type blank controls. However, in oxLDL-treated TLR4 knockout VSMCs, NF-κB translocation and the expression of TNF-α had no significant change, but the expression of IL-1β was enhanced by 1.2 times ($P>0.05$) when compared with untreated TLR4$^{-/-}$ VSMCs. **Conclusion** TLR4 and its mediating inflammation are involved in the abnormal expression of ABCA1 during VSMCs-derived foam cells formation.

[**Key words**] foam cells; vascular smooth muscle cells; Toll-like receptor 4; ATP-binding cassette transporter 1

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81271282) and the Science Foundation for Outstanding Young Scholars of Chongqing (CSTC2012JJJQ10003). Corresponding author: Li Jingcheng, Tel: 86-23-68757841, E-mail: lijingcheng11@aliyun.com

泡沫细胞聚集是动脉粥样硬化最主要的特征,在中晚期动脉粥样硬化病变中,巨噬细胞源性泡沫细胞约占30%,而平滑肌细胞源性泡沫细胞高达45%[1]。巨噬细胞源性泡沫细胞形成机制已有大量研究,而平滑肌细胞源性泡沫细胞形成机制的研究却很少。

研究证实,在动脉粥样硬化斑块中,Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)表达量显著升高[2]。此外,在TNF-α、IL-1刺激下,培养的平滑肌细胞摄取AcLDL分别增加32%及98%,形成平滑肌源性泡沫细胞[3-4]。因此,TLR4能促进平滑肌源性泡沫细胞的形成,但是其具体机制仍需进一步研究。

细胞膜上的脂质转运体三磷酸腺苷-结合盒转运子A1(ATP-binding cassette transporter, ABCA1)能将过剩的胆固醇传递给细胞外的载脂蛋白A-Ⅰ(ApoA-Ⅰ)形成成熟的高密度脂蛋白(HDL)[5]。动脉粥样硬化病变部位的内膜血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)中ABCA1表达较中膜VSMCs中的表达明显下降,并伴有ApoA-Ⅰ结合异常及HDL形成障碍,细胞内脂质含量明显增多,说明ABCA1的表达下调参与内膜平滑肌细胞源性泡沫细胞的形成[6]。另有研究证实,LPS(脂多糖,TLR4配体)刺激培养巨噬细胞后,ABCA1表达下降约50%。促炎性细胞因子IL-1β和TNF-α也可通过NF-κB依赖的途径降低巨噬细胞中ABCA1的表达,减少胆固醇的流出[7-8]。据此,我们推测,TLR4及其介导的炎性反应参与下调ABCA1表达,进而促进脂质沉积于VSMCs中,形成平滑肌源性泡沫细胞。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 3~4周龄C57BL/6J雄性小鼠20只,10~15 g,SPF级,购自南京大学模式动物研究所。3~4周龄C57BL/10ScNj(TLR4基因敲除)雄性小鼠20只,10~15 g,SPF级,购自美国Jackson实验室。实验过程中对动物的处置符合动物伦理学标准。

1.1.2 主要试剂 胎牛血清(FBS)、DMEM细胞培养液购自美国HyClone公司。青链霉素溶液、山羊抗鼠二抗、山羊抗兔二抗购自江苏碧云天公司。oxLDL购自广东奕源生物公司。ABCA1、α-SMA、SM-22α、TLR4一抗购自英国Abcam公司。RNA提取试剂购自日本TaKaRa,RT-qPCR试剂盒购自日本TOYOBO。其余试剂均为国产或进口分析纯。

1.2 方法

1.2.1 血管平滑肌细胞原代培养及鉴定 采用组织贴块法进行小鼠胸主动脉VSMCs原代培养,于DMEM高糖培养基中培养,选取第2~6代生长良好的细胞用于实验。

取第2代VSMCs,以1×10^5接种于预置盖玻片的24孔板中,贴壁后,4%多聚甲醛固定20 min,PBS洗3次;0.3% Triton X-100作用20 min,增加膜通透性,PBS洗3次;羊血清室温封闭30 min;加入鼠抗SM-22α(1∶100稀释)和兔抗α-SMA一抗(1∶100稀释),4 ℃共同孵育过夜,弃一抗,PBS洗3次;加入Alexa Fluor 488标记鸡抗兔IgG(H+L)二抗(1∶100稀释)室温避光孵育1 h,PBS洗3次;再加入Alexa Fluor 647标记兔抗鼠IgG(H+L)二抗(1∶100稀释)室温避光孵育1 h,PBS洗3次;Hochest 33342避光染核5 min,PBS洗3次;抗荧光猝灭封片剂封片,激光共聚焦显微镜下观察及拍照。

1.2.2 小鼠基因型鉴定 剪取小鼠尾组织加入Trizol提取Total RNA,取RNA 1 μg,应用引物(表1)进行PCR扩增,扩增产物经2%琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下成像拍照。

1.2.3 实验分组与细胞建模 实验分为Wild type空白对照组、Wild type oxLDL组、TLR4$^{-/-}$空白对照组和TLR4$^{-/-}$ oxLDL组,oxLDL(50 μg/mL)刺激培养VSMCs,促使脂质沉积于细胞内。

1.2.4 油红O染色鉴定平滑肌源性泡沫细胞 VSMCs以1×10^5接种于预置盖玻片的24孔板中,贴壁后,换用含0.5% FBS的DMEM培养12 h,再换用无血清DMEM或含oxLDL

(50 μg/mL)刺激培养 48 h。4% 多聚甲醛固定 20 min,油红 O 染液 37 ℃染色 20 min,苏木精常温复染 3 min,倒置显微镜下观察。

1.2.5 油红 O 染色分光光度计测量 VSMCs 以 2×10^5/孔定量接种于 24 孔板中,于含 10% FBS 的 DMEM 中培养 12 h,再换用含 0.5% FBS 的 DMEM 培养 24 h,最后换用无血清 DMEM 或含 oxLDL(50 μg/mL)刺激培养 48 h。油红 O 染色后,于每孔中加入异丙醇 300 μL 萃取细胞内油红 O 染液,取 100 μL 加入 96 孔板中,于 518 nm 处测其光密度值,定量检测细胞内脂质的含量。

1.2.6 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR) VSMCs 以 1.5×10^6/孔接种于 6 孔板中,加入含 10% FBS 的 DMEM,待细胞生长至 80% 融合后,换用含 0.5% FBS 的 DMEM 培养 12 h,再换用无血清 DMEM 或含 oxLDL(50 μg/mL)刺激培养 24 h 或 48 h。Trizol 法提取各组细胞总 RNA,取 1 μg 总 RNA 按照试剂盒说明书逆转录合成 cDNA,20 μL 体系。逆转录条件如下:37 ℃ 15 min,98 ℃ 5 min。取 1 μL 逆转录产物为模板进行实时荧光定量 PCR,反应体系为 25 μL。扩增反应条件为:95 ℃ 30 s 预变性;95 ℃ 15 s,60 ℃ 20 s,72 ℃ 10 s,40 个循环;65 ~ 95 ℃每上升 0.5 ℃采集荧光。反应结束后,根据 Ct 值计算目的基因的相对表达量:$\triangle Ct = Ct_{目的基因} - Ct_{\beta\text{-actin}}$,$\triangle\triangle Ct = \triangle Ct_{oxLDL组} - \triangle Ct_{对照组}$,oxLDL 组目的基因 mRNA 表达即为对照组的 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 倍。引物序列见表 1。

表 1 基因引物序列

基因	上游引物(5′→3′)	下游引物(5′→3′)
TLR4	GCAGTTTCAATCGCATAGAGACAT	TGCTTCTGTTCCTTGACGCACT
ABCA1	TCAGTTTGACGCCATGACAGAG	ACCAACCTTGCCAACTTCCTT
TNF-α	TGACAAGCCTGTAGCCCACG	TCTTTGAGATCCATGCCGTTG
IL-1β	ATGAAAGACGGCACACCCAC	TCTGCTTGTGAGGTGCTGATGTA
β-actin	CATCCGTAAAGACCTCTATGCCAAC	ATGGAGCCACCGATCCACA

1.2.7 Western blot 细胞处理同 1.2.6,oxLDL(50 μg/mL)刺激培养 48 h 后收集细胞,RIPA 裂解液提取总蛋白,lowry 法测蛋白浓度。进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,电转膜,5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h,加入 TLR4、ABCA1 或 β-actin 一抗(1∶500 稀释)4 ℃ 孵育过夜。TBST 洗膜 3 次 ×10 min 后,加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔或者山羊抗鼠二抗室温孵育 1 h,TBST 洗膜 3 次 ×10 min 后,采用化学发光法曝光,Image Lab 软件分析条带光密度。

1.2.8 NF-κB 活性检测 VSMCs 以 1×10^5/孔接种于 24 孔板中,于含 10% FBS 的 DMEM 中培养 12 h,再换用含 0.5% FBS 的 DMEM 培养 24 h,最后换用无血清 DMEM 或含 oxLDL(50 μg/mL)刺激培养 24 h。4% 多聚甲醛固定 20 min,PBS 洗 3 次 ×10 min;0.3% Triton X-100 作用 20 min,增加膜通透性;PBS 洗 3 次 ×10 min;羊血清室温封闭 30 min;加入兔抗 NF-κB 一抗(1∶100 稀释),4 ℃过夜,弃一抗,PBS 洗 3 次 ×10 min;加入 Alexa Fluor 488 标记鸡抗兔 IgG(H + L)二抗(1∶100 稀释)室温避光孵育 1 h,PBS 洗 3 次 ×10 min;Hochest 33342 避光染核 5 min,PBS 洗 3 次 ×3 min;抗荧光猝灭封片剂封片,激光共聚焦显微镜下观察 NF-κB 核转位及拍照。

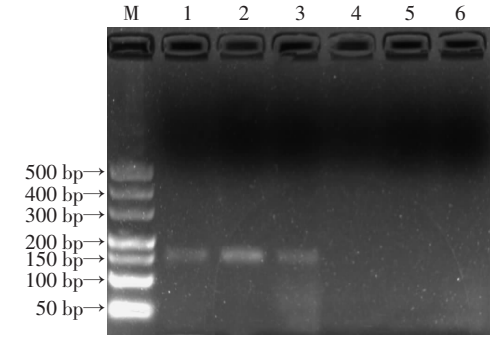
1.3 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 TLR4 基因敲除小鼠鉴定及原代 VSMCs 鉴定

RT-PCR 法检测所示(图 1),野生型小鼠(C57BL/6J)在 150 bp 处有一条带,但 TLR4 敲除小鼠(C57BL/10ScNj)在 150 bp处未见条带,说明 TLR4 该基因完全敲除掉。采用组织块贴块法培养小鼠胸主动脉 VSMCs,普通光镜(图 2)及激光共聚焦显微镜下(图 3)见 VSMCs 呈带状三角形、菱形等。α-SMA 和 SM-22α 是标记 VSMCS 的肌动蛋白,经免疫荧光双标染色鉴定,见细胞质分别呈现绿色荧光(α-SMA)及红色荧光(SM-22α),证实培养的细胞为 VSMCs,且目的细胞达 95% 以上,符合实验要求。



M:DNA 标准;1 ~ 3:野生型小鼠(C57BL/6J)尾组织 DNA;4 ~ 6:TLR4 基因敲除小鼠(C57BL/10ScNj)尾组织 DNA

图 1 RT-PCR 鉴定野生型小鼠及 TLR4 敲除小鼠

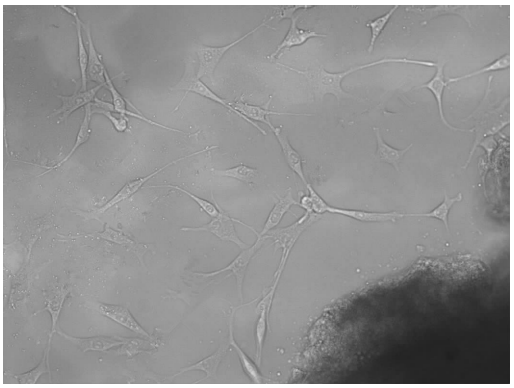


图 2 光镜观察培养第 7 天原代血管平滑肌细胞 (×100)

2.2 油红 O 染色观察 Wild type 和 TLR4$^{-/-}$ VSMCs 脂质沉积

oxLDL 刺激培养细胞 48 h,经油红 O 染色,Wild type VSMCs 中见大量暗红色颗粒,为油红 O 染色阳性脂滴;TLR4$^{-/-}$ VSMCs 中仅见少许暗红色颗粒(图 4)。

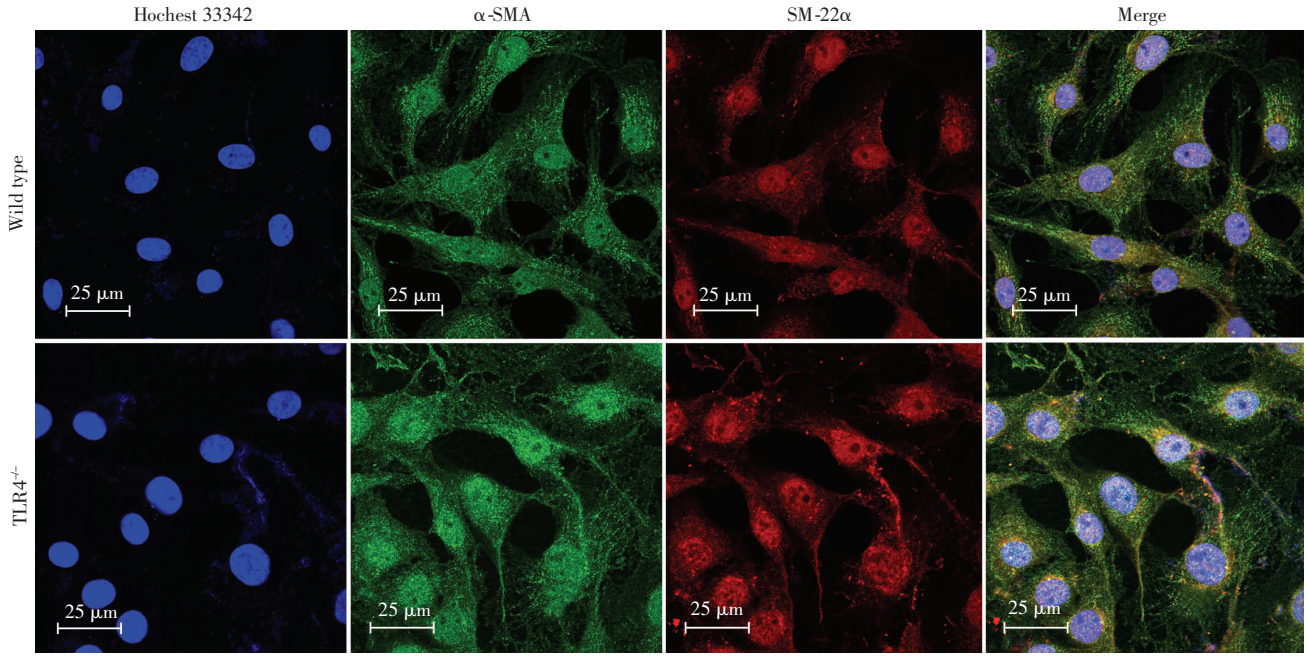


图3 细胞免疫荧光双标染色鉴定 VSMCs

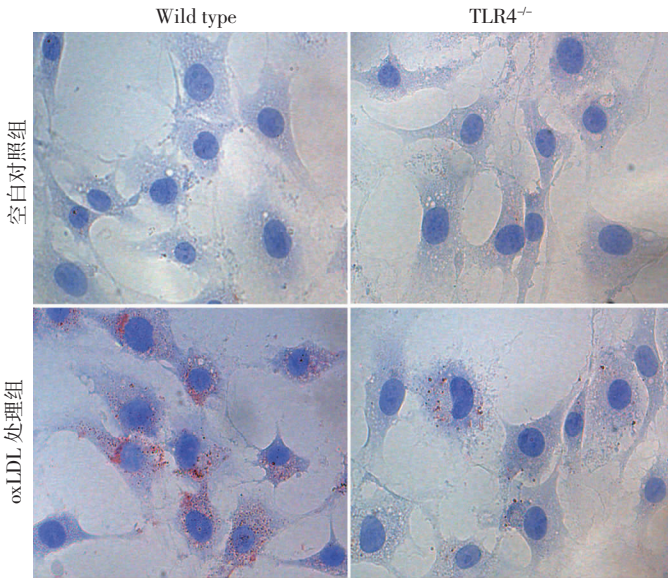


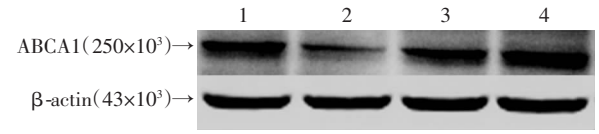
图4 油红 O 染色观察 Wild type 及 TLR4$^{-/-}$ VSMCs 中脂质沉积 （×400）

2.3 分光光度计法定量检测 Wild type 和 TLR4$^{-/-}$ VSMCs 中脂质含量

oxLDL 刺激培养细胞 48 h，油红 O 染色后，经异丙醇萃取，结果显示，Wild type oxLDL 组 VSMCs 中光密度为 Wild type 空白对照组的 2.3 倍，有统计学差异（$P<0.01$）；TLR4$^{-/-}$ oxLDL 组 VSMCs 中光密度与 TLR4$^{-/-}$ 空白对照组相比无统计学差异（$P>0.05$）。

2.4 ABCA1 表达下调致 VSMCs 脂质沉积

oxLDL 组刺激培养细胞 48 h 后，Wild type VSMCs 中 ABCA1 mRNA 及蛋白表达较 Wild type 空白对照组分别下降 61%（$P<0.05$），44%（$P<0.01$），有统计学差异；而 TLR4$^{-/-}$ VSMCs 中 ABCA1 mRNA 及蛋白表达分别为 TLR4$^{-/-}$ 空白对照组的 2.3 倍、1.7 倍（$P<0.05$），有统计学差异，见图 5。

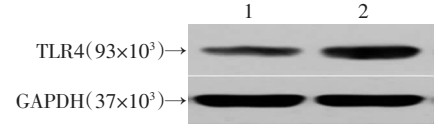


1：Wild type 空白对照组；2：Wild type oxLDL 组；3：TLR4$^{-/-}$ 空白对照组；4：TLR4$^{-/-}$ oxLDL 组

图5 Western blot 检测 Wild type 及 TLR4$^{-/-}$ VSMCs 中 ABCA1 的蛋白表达

2.5 TLR4 及其调节的炎性反应参与 ABCA1 表达异常

oxLDL（50 μg/mL）组刺激培养 Wild type VSMCs 48 h 后，TLR4 mRNA 及蛋白表达分别为 Wild type 空白对照组的 1.4 倍（$P<0.05$）、1.5 倍（$P<0.01$）（图 6），有统计学差异。此外，oxLDL 刺激培养细胞 24 h 后，Wild type VSMCs 中 NF-κB 核转位明显增多；TLR4$^{-/-}$ VSMCs 中无明显 NF-κB 核转位（核位置处见大量绿色荧光为 NF-κB 核转位，图 7）。同时经 RT-qPCR 检测，Wild type oxLDL 组及 TLR4$^{-/-}$ oxLDL 组 VSMCs 中 IL-1β mRNA 表达分别是 Wild type 空白对照组的 3.9 倍，TLR4$^{-/-}$ 空白对照组的 1.2 倍（$P<0.05$）。Wild type oxLDL 组 VSMCs 中 TNF-α mRNA 表达为 Wild type 空白对照组的 1.7 倍（$P<0.05$），而 TLR4$^{-/-}$ oxLDL 组 VSMCs 中 TNF-α mRNA 表达较 TLR4$^{-/-}$ 空白对照组无明显改变（图 7）。



1：Wild type 空白对照组；2：Wild type oxLDL 组

图6 Western blot 检测 Wild type VSMCs 中 TLR4 的蛋白表达

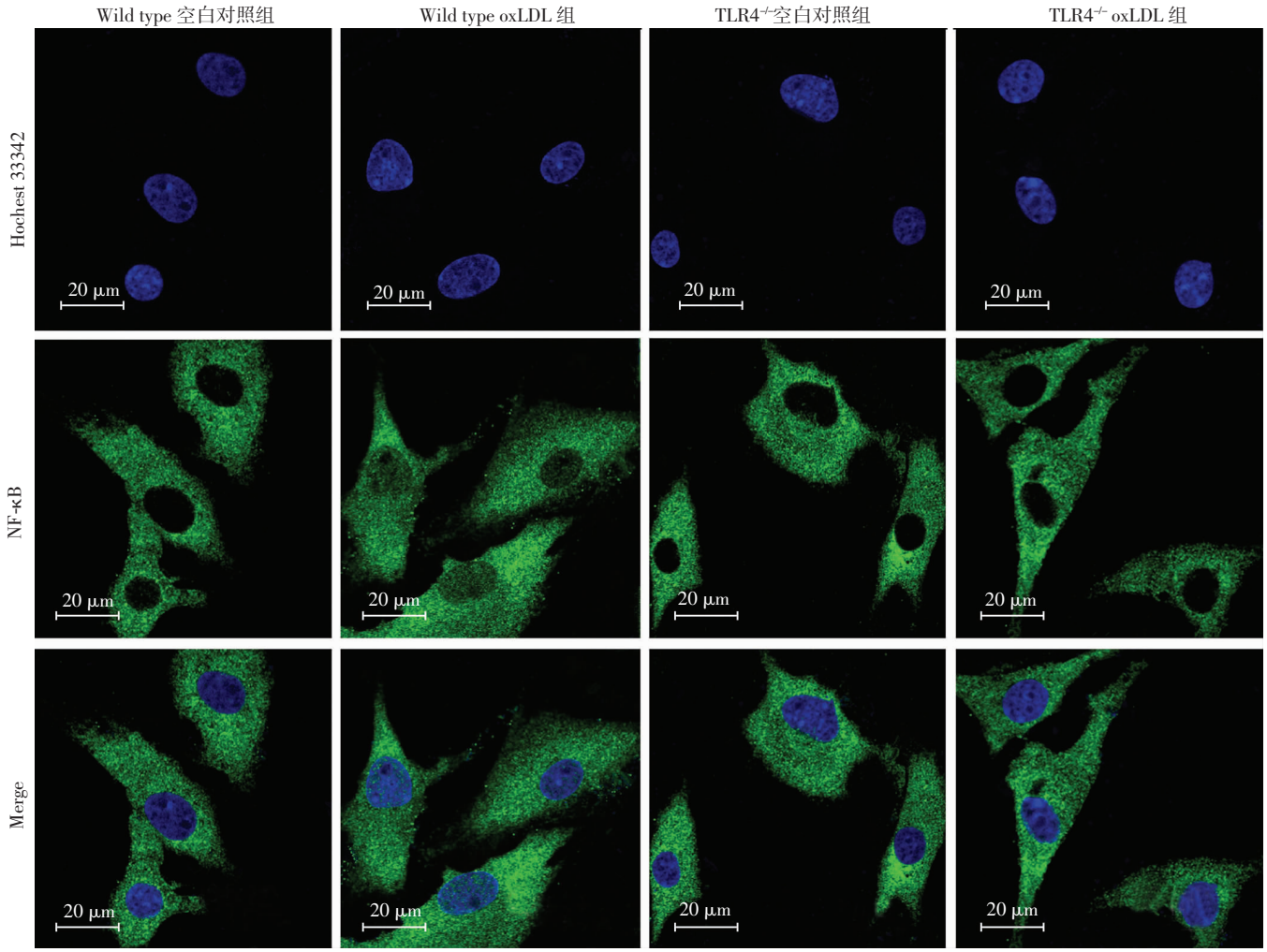


图 7　细胞免疫荧光染色鉴定 Wild type 及 TLR4$^{-/-}$ VSMCs 中 NF-κB 核转位

3　讨论

动脉粥样硬化是多因素的、动态的、高变异性的血管慢性炎症性疾病，伴有多种炎症信号的激活及炎症介质的增多，是导致冠状动脉粥样硬化性心脏病和卒中死亡的主要原因。早在 1976 年，动脉粥样硬化形成机制就已被描述。慢性氧化应激和炎症反应是动脉粥样硬化的 2 个基本病因。泡沫细胞是由巨噬细胞或血管平滑肌细胞摄取脂质成分，脂质沉积于细胞内形成脂质小体，使得细胞外观呈现泡沫样改变。泡沫细胞的沉积是动脉粥样硬化的重要标志，也是构成粥样斑块的主要成分。细胞内过剩脂质流出障碍是泡沫细胞形成的重要机制，在这一过程中，细胞膜上的脂质转运体 ABCA1 在胆固醇逆转运中扮演着重要的角色，能将过剩的胆固醇从细胞内转运至细胞外。ABCA1 基因突变可引起 Tangier's 病和家族性低高密度脂蛋白胆固醇血症。oxLDL 可抑制 VSMCs 中 ABCA1 的表达，导致细胞内胆固醇含量明显升高。在我们的实验中，oxLDL 组刺激培养细胞 48 h 后，Wild type VSMCs 中 ABCA1 蛋白表达较对照组下降高达 44%，经油红 O 染色见细胞内大量脂滴形成，光密度为对照组的 2.3 倍，进一步证实 ABCA1 表达下调与平滑肌源性泡沫细胞形成密切相关。

前期研究证实，TLR4 是启动免疫反应和炎症反应的重要膜受体，参与动脉粥样硬化的发生与发展，而 TLR4 缺陷则可在早期减轻 ApoE$^{-/-}$ 小鼠血管脂质沉积达 30%[9]。TLR4 还参与调节 VSMCs 的多种病理过程，在动脉粥样硬化病变的 VSMC 中，TLR4 表达显著升高。大量流行病调查研究资料显示，TLR4 可促进 VSMCs 由收缩表型转化为炎症表型[10]，分泌大量的细胞因子和炎症介质，如 IL-6、粘附分子、单核细胞趋化蛋白 MCP-1 等，加重炎症进程及促进局部炎症反应。

VSMCs 的表型转换更易聚集胆固醇而发生泡沫样变[11]。TLR4 是调节炎性反应的一个重要上游分子，通过 MyD88 激活 NF-κB，引起 NF-κB 发生核转位，致使各种促炎性细胞因子如 IL-1、IL-6、TNF-α 等的释放增多。在巨噬细胞中，LPS 及其调节的炎症反应可下调 ABCA1 的表达，并抑制胆固醇外流[7-8]。由此说明，TLR4 及其调节的炎性反应能促进平滑肌源性泡沫细胞的形成，但其具体机制是否因下调细胞中ABCA1，尚少见文献报道。

在我们的实验中，使用 Wild type VSMCs 和 TLR4$^{-/-}$ VSMCs 2 种细胞进行建模，旨在证实 TLR4 及其调节的炎性反应是否参与平滑肌源性细胞形成过程中 ABCA1 表达异常。既往文献报道，oxLDL 能上调人肥大细胞中 TLR4 表达[12]，mmLDL 能上调巨噬细胞中 TLR4 表达[13]。我们的实验结果显示，oxLDL 组刺激培养细胞后，Wild type VSMCs 中 TLR4 蛋白表达较对照组升高 1.5 倍，TLR4 表达上调引起 NF-κB 核转位明显增多，炎症介质 TNF-α、IL-1β 大量释放，但 VSMCs 中 ABCA1 表达明显下降。相比之下，TLR4$^{-/-}$ VSMCs 经 oxLDL 刺激后未见明显 NF-κB 核转位，且 TNF-α、IL-1β 表达无明显升高，但 ABCA1 蛋白表达较 TLR4$^{-/-}$ 空白对照组反馈性升高 1.7 倍，故细胞内未见油红 O 染色阳性颗粒。以上研究结果说明 TLR4 基因敲除后能逆反 oxLDL 诱导的 ABCA1 表达下调，能部分减缓 VSMCs 源性泡沫细胞的形成。该实验结果证实了之前的猜测。

综上所述，本研究证实 TLR4 及其调节的炎性反应参与下调平滑肌源性泡沫细胞 ABCA1 表达，这为动脉粥样硬化的防治增添了新的靶点。在接下来的研究工作中，将进一步研究 TLR4 下调 VSMCs 中 ABCA1 的机制。

参考文献：

[1] Stoletov K, Fang L, Choi S H, *et al*. Vascular lipid accumulation, lipoprotein oxidation, and macrophage lipid uptake in hypercholesterolemic zebrafish[J]. Circ Res, 2009, 104(8): 952-960.

[2] Ji Y, Liu J, Wang Z, *et al*. Angiotensin Ⅱ induces inflammatory response partly *via* toll-like receptor 4-dependent signaling pathway in vascular smooth muscle cells[J]. Cell Physiol Biochem, 2009, 23(4/6): 265-276.

[3] Luechtenborg B, Hofnagel O, Weissen-Plenz G, *et al*. Function of scavenger receptor class A type Ⅰ/Ⅱ is not important for smooth muscle foam cell formation[J]. Eur J Cell Biol, 2008, 87(2): 91-99.

[4] Ruan X Z, Moorhead J F, Tao J L, *et al*. Mechanisms of dysregulation of low-density lipoprotein receptor expression in vascular smooth muscle cells by inflammatory cytokines[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2006, 26(5): 1150-1155.

[5] Zhu X, Owen J S, Wilson M D, *et al*. Macrophage ABCA1 reduces MyD88-dependent Toll-like receptor trafficking to lipid rafts by reduction of lipid raft cholesterol[J]. J Lipid Res, 2010, 51(11): 3196-3206.

[6] Choi H Y, Rahmani M, Wong B W, *et al*. ATP-binding cassette transporter A1 expression and apolipoprotein A-I binding are impaired in intima-type arterial smooth muscle cells[J]. Circulation, 2009, 119(25): 3223-3231.

[7] McGillicuddy F C, de-la-Llera-Moya M, Hinkle C C, *et al*. Inflammation impairs reverse cholesterol transport *in vivo*[J]. Circulation, 2009, 119(8): 1135-1145.

[8] Nicolaou G, Erridge C. Toll-like receptor-dependent lipid body formation in macrophage foam cell formation[J]. Curr Opin Lipidol, 2010, 21(5): 427-433.

[9] Higashimori M, Tatro J B, Moore K J, *et al*. Role of toll-like receptor 4 in intimal foam cell accumulation in apolipoprotein E-deficient mice[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(1): 50-57.

[10] Pi Y, Zhang L L, Li B H, *et al*. Inhibition of reactive oxygen species generation attenuates TLR4-mediated proinflammatory and proliferative phenotype of vascular smooth muscle cells[J]. Lab Invest, 2013, 93(8): 880-887.

[11] Nagao S, Murao K, Imachi H, *et al*. Platelet derived growth factor regulates ABCA1 expression in vascular smooth muscle cells[J]. FEBS Lett, 2006, 580(18): 4371-4376.

[12] Meng Z, Yan C, Deng Q, *et al*. Oxidized low-density lipoprotein induces inflammatory responses in cultured human mast cells *via* Toll-like receptor 4[J]. Cell Physiol Biochem, 2013, 31(6): 842-853.

[13] Bae Y S, Lee J H, Choi S H, *et al*. Macrophages generate reactive oxygen species in response to minimally oxidized low-density lipoprotein: toll-like receptor 4- and spleen tyrosine kinase-dependent activation of NADPH oxidase 2[J]. Circ Res, 2009, 104(2): 210-218.

（**收稿**：2013-10-24；**修回**：2013-12-15）

（编辑　栾　嘉）