DOI:10.16016/j.2097-0927.202110042

血管平滑肌 SCAP 过表达抑制自噬促进脂质积聚的机制研究

饶雨涵,李丹阳,侯晓俐,姚盈程,苏 玉,陈压西,阮雄中 400016 重庆,重庆医科大学脂糖代谢性疾病重庆市重点实验室,脂质研究中心

[摘要] **目的** 探讨固醇调节元件结合蛋白裂解活化蛋白(sterol regulatory element binding proteins cleavage activating protein,SCAP)对血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells,VSMCs)泡沫化的影响及其分子机制。**方法** 构建 LV-SCAP 与 LV-Control 血管平滑肌细胞系,免疫印迹法检测 SCAP 及其下游相关蛋白 nSREBP2 表达水平;油红 O 染色观察负荷 LDL 胆固醇后脂滴积聚,酶标仪检测细胞总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglycerides, TG)水平;单丹磺酰尸胺(monodansyl cadaverine,MDC)染色检测自噬小泡聚集;Western blot 检测自噬相关蛋白 LC3b、P62 与 AMPK-mTOR 通路表达;mTOR 抑制剂雷帕霉素处理 LV-SCAP 过表达细胞株,Western blot 与油红 O 染色验证处理后效果。**结果** 与 LV-Control 组相比,LV-SCAP 组 nSREBP2 表达明显上调($P<0.05$),经 LDL 胆固醇负荷后产生的脂滴增多,TC、TG 水平明显增高($P<0.05$);LV-SCAP 组细胞内自噬小泡聚集减少,自噬相关蛋白 LC3b 下调,P62 上调,p-AMPK/AMPK 水平降低,p-mTOR/mTOR 水平升高($P<0.05$)。Rapa 处理结果显示 LC3b 表达增加,P62 水平降低($P<0.05$),油红 O 染色脂滴沉积减少($P<0.05$)。**结论** SCAP 可能通过影响 AMPK-mTOR 信号通路抑制血管平滑肌细胞的自噬过程,促进其泡沫化,进而参与血管动脉粥样硬化的发生发展。

[关键词] SCAP;血管平滑肌细胞;自噬;AMPK-mTOR 信号通路
[中图法分类号] R341; R363.21; R543.5 [文献标志码] A

Overexpression of SCAP inhibits autophagy and promotes lipid accumulation in vascular smooth muscle cells

RAO Yuhan, LI Danyang, HOU Xiaoli, YAO Yincheng, SU Yu, CHEN Yaxi, RUAN Xiongzhong Chongqing Key Laboratory of Lipid and Glucose Metabolism Disease, Center of Lipid Research, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China

[**Abstract**] **Objective** To determine the effect of sterol regulatory element binding proteins cleavage activating protein (SCAP) on foam cell formation in vascular smooth muscle cells (VSMCs). **Methods** LV-SCAP were constructed with LV-SCAP, and LV-Control group served as control. The expression of SCAP and its downstream protein nSREBP2 was detected with Western blotting. Oil red O staining was used to observe lipid accumulation after LDL treatment, and the contents of total cholesterol (TC) and triglycerides (TG) were measured by Microplate Reader. The autophagic vacuoles were detected with monodansyl cadaverine (MDC) staining. The protein levels of autophagy-related proteins LC3b, P62, and AMPK-mTOR pathway were detected by Western blotting. After rapamycin (Rapa), mTOR inhibitor, was used to treat LV-SCAP, Western blotting and oil red O staining were performed again to observe the changes in the autophagy and accumulation of lipid droplets. **Results** Compared with LV-Control group, the protein expression of nSREBP2 was increased after the infection of lentiviral vector ($P<0.05$). LV-SCAP group also presented accelerated accumulation of lipid droplets and increased contents of TC and TG ($P<0.05$), decreased formation of autophagic vacuoles, down-regulation of LC3b and up-regulation of P62, decreased level of

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(81900406)
[通信作者] 李丹阳,E-mail:lidycq@cqmu.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

p-AMPK/AMPK, and increased level of p-mTOR/mTOR ($P<0.05$). Rapa treatment resulted in enhanced expression of LC3b and reduced level of P62 ($P<0.05$), and decreased accumulation of lipid droplets ($P<0.05$). **Conclusion** SCAP inhibits VSMCs autophagy through AMPK-mTOR signaling pathway, and promotes the foam cell formation to participate in the development of atherosclerosis.

[**Key words**] sterol regulatory element binding proteins cleavage activating protein; vascular smooth muscle cells; autophagy; AMPK-mTOR pathway

Supported by the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (81900406). Correspondence author: LI Danyang, E-mail: lidycq@cqmu.edu.cn

心血管相关疾病患病率与病死率在我国逐年上升。其中,动脉粥样硬化(atherosclerosis,AS)是导致患者入院、死亡的重要诱因。在动脉粥样硬化发展过程中,以大量泡沫细胞与大量脂质沉积为特征的粥样斑块的形成是贯穿 AS 进程的标志性现象[1-2]。固醇调控元件结合蛋白裂解活化蛋白(sterol regulatory element binding proteins cleavage activating protein,SCAP)是脂质代谢关键的调节因子,参与维护胞内外脂质代谢稳态,与动脉粥样硬化密切相关[3]。既往研究显示,SCAP 的异常表达可促进巨噬细胞向泡沫细胞的转化和巨噬细胞内的胆固醇的堆积,加快粥样斑块的形成[4-5]。虽然巨噬细胞已经被证明是动脉粥样斑块内的泡沫细胞的主要来源,但近年来越来越多的研究发现,血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells,VSMCs)也可以参与泡沫细胞的形成[6],而 VSMCs 源性泡沫细胞的形成途径尚不明确。本研究构建了 SCAP 过表达血管平滑肌细胞株,旨在观察 SCAP 是否可以影响 VSMCs 向泡沫细胞转化的进程,并初步探讨其参与调控的信号通路和机制。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

鼠血管平滑肌细胞株由北京中原公司代购于 ATCC 细胞库。LV-SCAP^{D443N} 慢病毒购自美国 GeneCopoeia 公司;细胞培养所需的 DMEM-F12 培养基、胎牛血清及青-链霉素购自美国 Hyclone 公司;慢病毒筛选所用的嘌呤霉素购自上海生工生物公司;培养皿以及 24 孔板玻片购自美国 NEST 公司;油红 O 检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;TC、TG 检测试剂盒购自南京建成科技有限公司;MDC 染色检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;SCAP 抗体,SREBP2 抗体购自美国 Abcam 公司;p-AMPK 抗体,AMPK 抗体,p-mTOR 抗体,mTOR 抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司;LC3b 抗体,P62 抗体与 β-actin 抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司;全自动酶标仪购自芬兰雷勃公司;荧光共聚焦显微镜购自德国 Leica;全能蛋白转印系统及凝胶扫描成像系统购自美国 Bio-Bad 公司;正置光学显微镜购自日本 Nikon 公司;超声破碎仪购自德国 Bandelin。

1.2 细胞培养及 LV-SCAP 血管平滑肌细胞构建

VSMCs 采用 DMEM/F-12+10%胎牛血清+100 U/mL 青霉素+100 μg/mL 链霉素完全培养基培养,置于 37 ℃、5%CO_2 培养箱中。在慢病毒干扰前接种至 24 孔板保证感染时密度介于 30%~40%,第 2 天将病毒加入 250 μL 预热的无血清培养基中(同时向另一孔中加入 LV-Control 病毒作为 LV-Control 组),与 25 μL 促转染剂一同加入 24 孔板中,2 h 后补加 250 μL 含 10%FBS 的 DMEM/F-12 培养基,在扩大培养后用含 3.0 μg/mL 嘌呤霉素的完全培养基筛选,之后采用含 1.0 μg/mL 嘌呤霉素的完全培养基稳定扩大培养。

1.3 Western blot 检测目的蛋白表达水平

将 VSMCs 种入细胞培养皿中,PBS 洗涤细胞 3 遍。每 10 cm 皿中加 300 μL RIPA 裂解液(含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂)提取蛋白,按照 BCA 蛋白分析试剂盒测定蛋白浓度,SDS-PAGE 电泳,根据目的蛋白分子量,调定电转时间,3% BSA 溶液封闭 1 h。用 3%BSA 稀释一抗孵育过夜,TBST 清洗 3 遍后选取对应二抗室温孵育 2 h,以目标蛋白与 β-actin 条带的光密度值比值计算相对表达含量。

1.4 细胞油红 O 染色

将细胞种于 24 孔板爬片,4%多聚甲醛室温固定 20 min,PBS 清洗 2 次,1,2-丙二醇孵育 2 min 后加入油红 O 染液染色 30 min,苏木精染细胞核 10 min,甘油明胶封片,高倍(630×)显微镜下观察拍摄。拍摄后随机选取 5 个视野,Image J 分析油红 O 染色面积进行统计分析,实验重复 3 次。

1.5 细胞内 TC、TG 检测

将细胞接种在 10 cm 细胞培养皿中,提取细胞悬液,4 ℃、1 000×*g* 离心 10 min,取沉淀用遇冷的 PBS 清洗 2~3 遍,将沉淀用 200 μL 裂解液混匀,4 ℃超声破碎,将匀浆液置于冰上用检测试剂盒检测细胞内 TC、TG 含量。

1.6 自噬小泡(Monodansylcadaverine,MDC)染色

将细胞种植于共聚焦皿中,用 PBS 清洗 3 遍细胞,向培养皿中加入 500 μL MDC 测试工作液,避光染色 20 min 后洗涤液清洗细胞,封片后在共聚焦显微镜(630×)下观察检测。拍摄后随机选取 5 个视野,采取

Image J 分析自噬小泡的相对荧光强度进行统计分析,实验重复 3 次。

1.7 雷帕霉素(Rapamycin,Rapa)处理平滑肌细胞

将转染了 LV-SCAP 的血管平滑肌细胞种于 6 孔板中,待细胞贴壁后饥饿过夜,第 2 天加入 LDL(200 μg/mL)处理 24 h,以不加 Rapa 处理的单纯 LV-SCAP 处理细胞作为对照组,向实验组中加入 10 μmol/mL Rapa 处理 24 h,收集对照组与 Rapa 组的细胞提取蛋白。

1.8 统计学处理

采用 SPSS 18.0 统计学软件分析数据,结果用 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组之内比较使用 t 检验。GraphPad Prism 4 进行统计及绘图,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

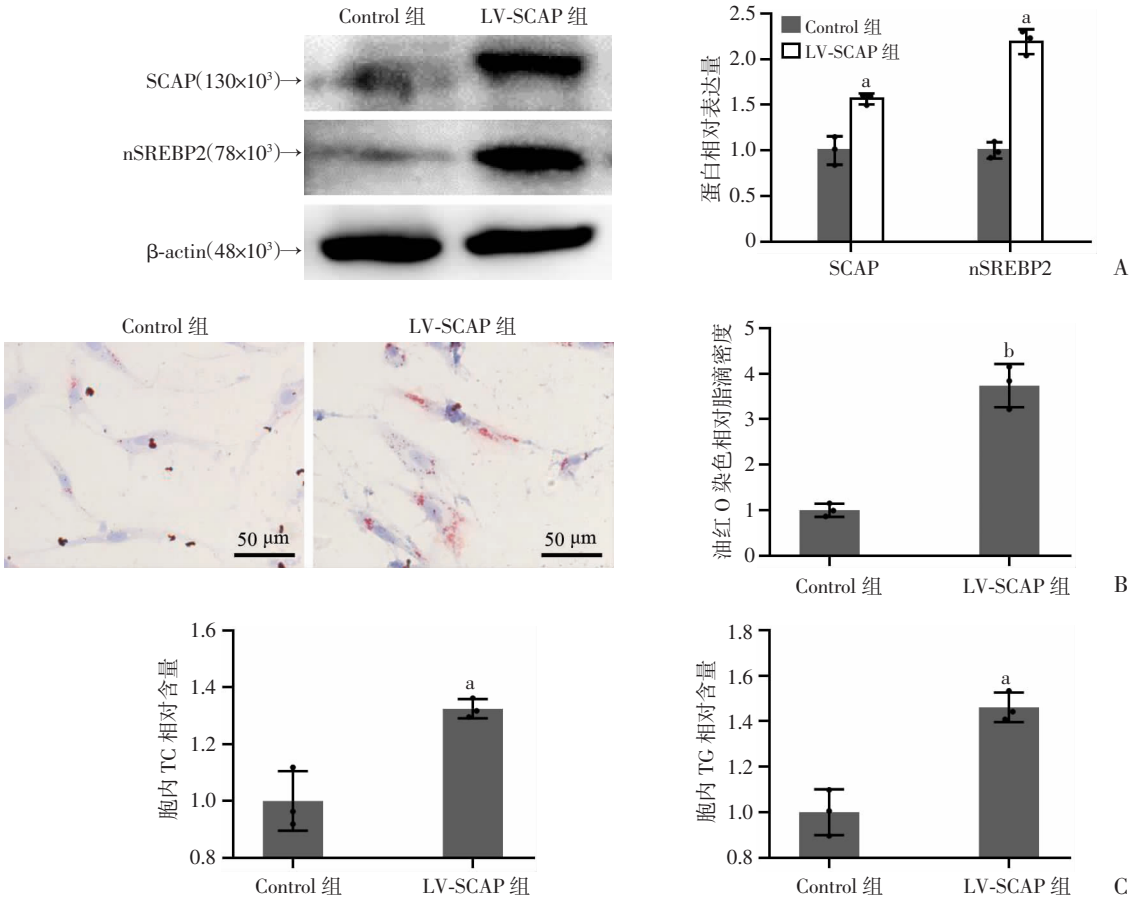
2 结果

2.1 血管平滑肌细胞 SCAP 过表达后对细胞脂质积聚的影响

LV-SCAP^{D443N} 慢病毒处理 VSMC 细胞构建 LV-SCAP 细胞系,Western blot 结果显示 LV-SCAP 组 SCAP 与 nSREBP2 的蛋白表达水平明显上调(图 1A)。负荷 LDL(200 μg/mL)处理 24 h,油红 O 染色后两组均有明显的红染颗粒,但 LV-SCAP 组红染颗粒明显的增多,体积变大(图 1B)。酶标仪检测两组细胞内 TC、TG 水平,发现 LV-SCAP 组细胞内 TC、TG 水平较对照组明显增高(图 1C)。提示 SCAP 过表达可促进细胞内的脂质集聚,从而诱导血管平滑肌泡沫化。

2.2 血管平滑肌细胞 SCAP 过表达对细胞自噬水平的影响

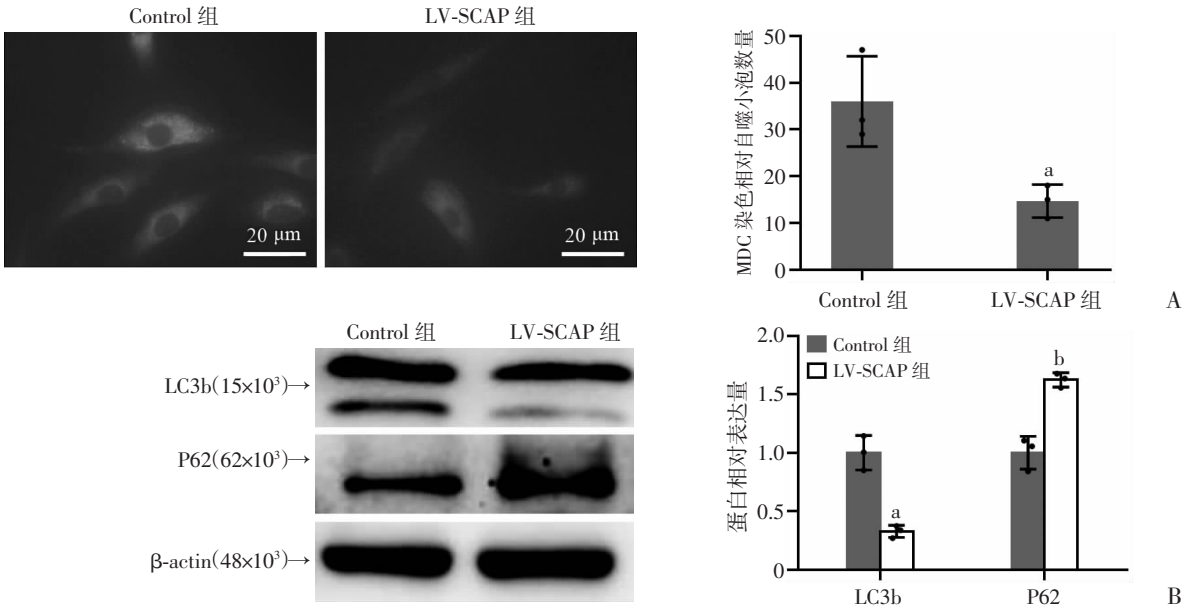
MDC 染色检测在负荷 LDL 后两组细胞内自噬小泡的聚集情况。与对照组相比,LV-SCAP 组点状荧光强度减弱,提示自噬小泡生成减少(图 2A)。Western blot 检测 LDL 负荷后自噬相关蛋白 LC3b、P62 的表达水平,结果显示 SCAP 过表达可显著降低细胞 LC3b 表达,促进 P62 表达(图 2B)。提示 SCAP 过表达可引起自噬相关蛋白表达异常,进而抑制细胞自噬小泡的生成。



a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与 Control 组比较

A:Western blot 检测 SCAP 与 nSREBP2 蛋白表达水平;B:油红 O 染色细胞脂滴积聚情况;C:检测细胞内 TC、TG 的相对含量

图 1 血管平滑肌细胞 SCAP 过表达对细胞脂质积聚的影响($n=3$,$\bar{x}\pm s$)



a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与 Control 组比较

A:MDC 检测胞内自噬小泡的聚集情况;B:Western blot 检测自噬相关蛋白 LC3b 与 P62 的蛋白表达水平

图 2 血管平滑肌细胞 SCAP 过表达对细胞自噬水平的影响($n=3$,$\bar{x}\pm s$)

2.3 血管平滑肌细胞 SCAP 过表达对 AMPK-mTOR 信号通路的影响

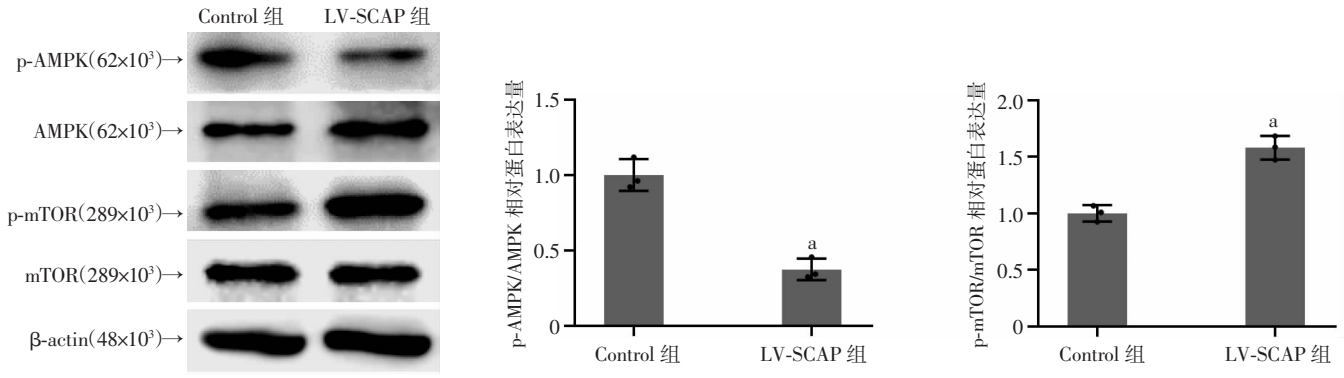
Western blot 结果显示:较之对照组,在 LDL 负荷下 LV-SCAP 组 p-AMPK/AMPK 相对表达量降低,p-mTOR/mTOR 相对表达量增加($P<0.05$,图 3)。提示 SCAP 可能通过影响 AMPK-mTOR 信号通路进而抑制细胞自噬。

2.4 雷帕霉素处理 SCAP 过表达血管平滑肌细胞后细胞自噬及脂质积聚的变化

应用 mTOR 抑制剂雷帕霉素(10 μmol/mL)处理 LDL 负荷后的 LV-SCAP 血管平滑肌细胞系,可以观察到:相比于单纯 LV-SCAP 组,Rapa 处理组 LC3b 蛋白表达水平显著上升而 P62 表达明显下调(图 4A)。油红 O 染色显示 Rapa 处理组胞内脂滴积聚水平明显减弱(图 4B)。提示 mTOR 抑制剂可改善 SCAP 过表达导致的自噬受抑进而改善胞内脂滴积聚。

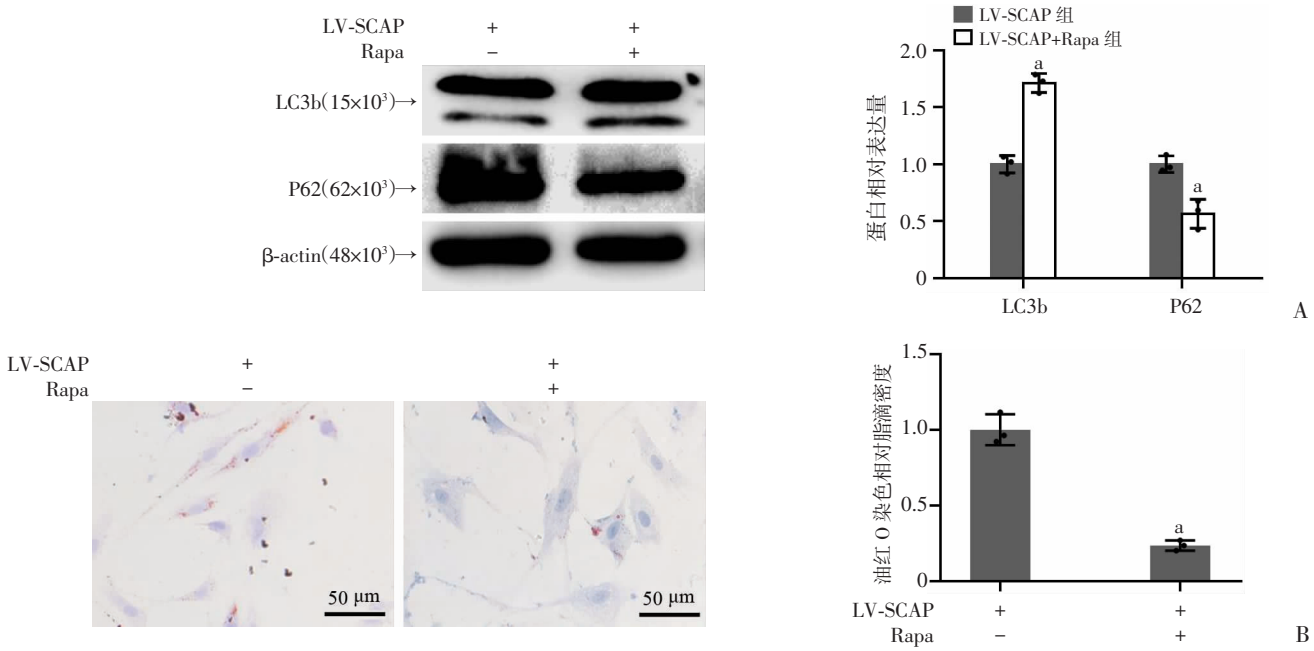
3 讨论

心血管相关疾病是世界上发病率与病死率高的疾病之一,防控形势十分严峻。动脉粥样硬化是引发心血管相关疾病的重要诱因,它起始于富含胆固醇酯的载脂蛋白在血流阻塞后在血管内皮下的聚集。当脂蛋



a:$P<0.05$,与 Control 组比较

图 3 血管平滑肌细胞 SCAP 过表达对 AMPK-mTOR 信号通路的影响($n=3$,$\bar{x}\pm s$)



a:$P<0.05$,与 LV-SCAP 组比较

A:Western blot LC3b、P62 的相对蛋白表达量;B:油红 O 染色检测细胞在 LDL 诱导下的脂质积聚情况

图 4 雷帕霉素处理 SCAP 过表达血管后细胞自噬及脂质积聚的变化($n=3,\bar{x}\pm s$)

白大量在内膜下积聚后会和内皮下的蛋白聚糖结合,脂蛋白的蛋白、脂类成分可迅速的氧化或水解,并在血管内膜下大量滞留[1,7]。氧化后的脂蛋白可引发内皮细胞内大量炎症因子的释放和黏附因子的表达,这样的炎症反应促进细胞在内膜下的募集,加快泡沫细胞的产生。细胞内外异常堆积的胆固醇酯是泡沫细胞的形成基础,泡沫细胞是一类富含脂滴的巨噬细胞或平滑肌细胞的总称。前期实验主要关注巨噬细胞源泡沫细胞[8-9],但近年来,大量研究证实在冠状动脉粥样硬化的斑块内,血管平滑肌细胞源性的泡沫细胞占比可达 50%[10]。因此,探究血管平滑肌细胞转化成为泡沫细胞的机制对动脉粥样硬化的防治十分重要。

SCAP 是定位于内质网膜上的胆固醇调节器,它与 SREBP 形成聚合体协助它由内质网向高尔基体转运[11],本课题组前期已发现 SCAP 的异常表达与 AS 相关,且 SCAP 参与巨噬细胞源泡沫细胞生成过程。因此提出假设 SCAP 可能参与血管平滑肌源泡沫细胞的生成进而影响 AS 的发展。有研究指出,SCAP 的 443 位点突变可引发 SCAP 不受限制的运载 SREBP2 入核,引发胞内脂质异常蓄积与 SCAP 的过表达[12]。在本研究中,采用 LV-SCAP^{D443N} 诱导血管平滑肌细胞构建 SCAP 过表达细胞系,致使 SCAP 与 nSREBP2 蛋白水平明显上调,且 LDL 诱导产生的脂滴明显增多,胞内 TC、TG 水平较对照组显著增高。提示血管平滑肌细胞内 SCAP 表达影响胞内脂质蓄积,对血管平滑肌细胞泡沫化形成有重要意义。

自噬是一类广泛存在于真核细胞内的自我保护机制,细胞可通过自噬消除外来危险因素以及内生代谢产物对细胞的影响。有研究[13-14]指出,自噬参与泡沫细胞的形成,胞内胆固醇还可通过自噬途径进行逆向转运。本研究检测 SCAP 过表达处理后自噬小泡生成水平以及部分自噬蛋白的表达水平,发现 SCAP 过表达后自噬小泡聚集明显减弱,LC3b 作为参与自噬小泡膜结构形成的自噬激活产物的蛋白水平明显下调,而 P62 作为自噬小泡降解标记物则明显上调[15]。证实血管平滑肌细胞内 SCAP 过表达可以抑制自噬小泡的生成,促进其降解,抑制自噬活性。

自噬是一个精细的分解代谢过程,不仅存在复杂的分子机制,还有各种不同的信号通路参与调控其发生发展[16]。常见的参与自噬的信号通路有 AMPK-mTOR、PI3K-Akt-mTOR、CAMP-PRKA -AMPK-SIRT1 等,而在其中 AMPK-mTOR 信号通路的研究最为广

泛[17-18]。AMPK 是细胞内关键的能量感受器,是一种高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶;它可以参与细胞内部代谢的调控,还可以参与细胞内能量代谢物的生成与分解;是细胞生物过程中不可或缺的一类分子[19-20]。AMPK 的磷酸化可以抑制 mTOR 的活性促进自噬的发展,主要参与方式有两种:一是激活 TSC2(tuberous sclerosis complex 2)的磷酸化,促进 TSC1/TSC2 二聚体的形成进一步抑制 mTORC1 活性;二是 AMPK 直接通过磷酸化 RAPTOR(regulatory-associated protein of mTOR)的活性末端来降低 mTORC1 的活性[20-21]。哺乳动物 mTOR 靶蛋白是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是调控细胞代谢、增殖、死亡以及自噬的中心因子,也是细胞自噬的主要上游控制因子[22]。本课题组前期研究发现,SCAP 敲低可一定程度上改变胞内 AMPK 的活性[23]。本研究探讨 SCAP 过表达后对 AMPK-mTOR 信号通路的影响,发现 p-AMPK 活性明显降低而 p-mTOR 活性明显上调,即自噬受到抑制。后续采用 mTOR 抑制剂雷帕霉素处理 LV-SCAP 细胞株时发现它在一定程度上可以逆转 SCAP 过表达引发的自噬功能受损以及脂质积聚增高。这些结果表明血管平滑肌 SCAP 过表达使 AMPK 的磷酸化激活受损、mTOR 活性增强,进而抑制细胞的自噬,最终导致细胞内的脂质外排受阻,这可能是 SCAP 促进血管平滑肌细胞向泡沫细胞发展的重要分子机制。

参考文献:

[1] LIBBY P, BURING J E, BADIMON L, *et al*. Atherosclerosis[J]. Nat Rev Dis Primers, 2019, 5(1): 56. DOI: 10.1038/s41572-019-0106-z.

[2] BENTZON J F, OTSUKA F, VIRMANI R, *et al*. Mechanisms of plaque formation and rupture[J]. Circ Res, 2014, 114(12): 1852-1866. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.114.302721.

[3] GOLDSTEIN J L, BROWN M S. A century of cholesterol and coronaries: from plaques to genes to statins[J]. Cell, 2015, 161(1): 161-172. DOI:10.1016/j.cell.2015.01.036.

[4] JOHNSTON J M, ANGYAL A, BAUER R C, *et al*. Myeloid Tribbles 1 induces early atherosclerosis via enhanced foam cell expansion[J]. Sci Adv, 2019, 5(10): eaax9183. DOI: 10.1126/sciadv.aax9183.

[5] MENG X D, YAO H H, WANG L M, *et al*. Knockdown of GAS5 inhibits atherosclerosis progression via reducing EZH2-mediated ABCA1 transcription in ApoE$^{-/-}$ mice[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 19: 84-96. DOI: 10.1016/j.omtn.2019.10.034.

[6] GROOTAERT M O J, MOULIS M, ROTH L, *et al*. Vascular smooth muscle cell death, autophagy and senescence in atherosclerosis[J]. Cardiovasc Res, 2018, 114(4): 622-634. DOI:10.1093/cvr/cvy007.

[7] GUERRINI V, GENNARO M L. Foam cells: one size doesn't fit all[J]. Trends Immunol, 2019, 40(12): 1163-1179. DOI:10.1016/j.it.2019.10.002.

[8] LIU Z Y, ZHU H P, DAI X Y, *et al*. Macrophage liver kinase B1 inhibits foam cell formation and atherosclerosis[J]. Circ Res, 2017, 121(9): 1047-1057. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311546.

[9] CANFRÁN-DUQUE A, ROTLLAN N, ZHANG X B, *et al*. Macrophage deficiency of miR-21 promotes apoptosis, plaque necrosis, and vascular inflammation during atherogenesis[J]. EMBO Mol Med, 2017, 9(9): 1244-1262. DOI: 10.15252/emmm.201607492.

[10] ALLAHVERDIAN S, CHEHROUDI A C, MCMANUS B M, *et al*. Contribution of intimal smooth muscle cells to cholesterol accumulation and macrophage-like cells in human atherosclerosis[J]. Circulation, 2014, 129(15): 1551-1559. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.005015.

[11] BROWN M S, RADHAKRISHNAN A, GOLDSTEIN J L. Retrospective on cholesterol homeostasis: the central role of scap[J]. Annu Rev Biochem, 2018, 87: 783-807. DOI: 10.1146/annurev-biochem-062917-011852.

[12] YABE D, XIA Z P, ADAMS C M, *et al*. Three mutations in sterol-sensing domain of SCAP block interaction with insig and render SREBP cleavage insensitive to sterols[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(26): 16672-16677. DOI: 10.1073/pnas.262669399.

[13] LIU X P, TANG Y, CUI Y C, *et al*. Autophagy is associated with cell fate in the process of macrophage-derived foam cells formation and progress[J]. J Biomed Sci, 2016, 23(1): 57. DOI:10.1186/s12929-016-0274-z.

[14] HE J P, ZHANG G Y, PANG Q, *et al*. SIRT6 reduces macrophage foam cell formation by inducing autophagy and cholesterol efflux under ox-LDL condition[J]. FEBS J, 2017, 284(9): 1324-1337. DOI:10.1111/febs.14055.

[15] GÓMEZ-SÁNCHEZ R, YAKHINE-DIOP S M, RODRÍGUEZ-ARRIBAS M, *et al*. mRNA and protein dataset of autophagy markers (LC3 and p62) in several cell

lines[J]. Data Brief, 2016, 7: 641-647. DOI:10.1016/j.dib.2016.02.085.

[16] CHEN M L, YI L, JIN X, *et al*. Resveratrol attenuates vascular endothelial inflammation by inducing autophagy through the cAMP signaling pathway[J]. Autophagy, 2013, 9(12): 2033-2045. DOI:10.4161/auto.26336.

[17] LI G, SCULL C, OZCAN L, *et al*. NADPH oxidase links endoplasmic Reticulum stress, oxidative stress, and PKR activation to induce apoptosis[J]. J Cell Biol, 2010, 191(6): 1113-1125. DOI:10.1083/jcb.201006121.

[18] HAN X B, LI H X, JIANG Y Q, *et al*. Upconversion nanoparticle-mediated photodynamic therapy induces autophagy and cholesterol efflux of macrophage-derived foam cells via ROS generation[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(6): e2864. DOI:10.1038/cddis.2017.242.

[19] TAMARGO-GÓMEZ I, MARIÑO G. AMPK: regulation of metabolic dynamics in the context of autophagy[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(12): E3812. DOI: 10.3390/ijms19123812.

[20] KIM J, KUNDU M, VIOLLET B, *et al*. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1[J]. Nat Cell Biol, 2011, 13(2): 132-141. DOI:10.1038/ncb2152.

[21] CHEN H, JI Y S, YAN X, *et al*. Berberine attenuates apoptosis in rat retinal Müller cells stimulated with high glucose via enhancing autophagy and the AMPK/mTOR signaling[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 108: 1201-1207. DOI:10.1016/j.biopha.2018.09.140.

[22] KIM Y C, GUAN K L. mTOR: a pharmacologic target for autophagy regulation[J]. J Clin Invest, 2015, 125(1): 25-32. DOI:10.1172/JCI73939.

[23] LI D Y, CHEN A M, LAN T, *et al*. SCAP knockdown in vascular smooth muscle cells alleviates atherosclerosis plaque formation *via* up-regulating autophagy in ApoE$^{-/-}$ mice[J]. FASEB J, 2019, 33(3): 3437-3450. DOI:10.1096/fj.201800975RRR.

(**收稿**:2021-10-11;**修回**:2022-01-05)

(编辑 张艺霖)