基础研究 文章编号:0253-3626(2010)11-1609-04

人胆固醇酯水解酶在 RAW 264.7 巨噬细胞内瞬时表达对胆固醇代谢的影响

冯 旭,罗俊生,关 宁,霍晓川,王 瑞
(辽宁医学院附属第一医院神经外科,锦州 121001)

【摘 要】目的:以 RAW 264.7 小鼠单核巨噬细胞为研究对象,探讨人胆固醇酯水解酶(Human cholesteryl ester hydrolase,hCEH)在鼠巨噬细胞内瞬时表达,对细胞内胆固醇代谢产生的影响。方法:利用 FuGENE HD 转染试剂将 pEGFP-N_1-hCEH 质粒,转染 RAW 264.7 小鼠单核巨噬细胞。24 h 后将巨噬细胞与氧化型低密度脂蛋白(Oxidized low density lipoprotein,oX-LDL)(100 mg/L),共同孵育 48 h。荧光显微镜观察及 Western blot 检测细胞内 CEH 的表达,油红 O 染色观察细胞内脂滴堆积情况,高效液相色谱检测细胞内游离胆固醇(Free cholesterol,FC)和胆固醇酯(Cholesterol esters,CE)含量。结果:转染 72 h 后,荧光细胞数最多,转染率接近 40%。Western blot 检测显示,hCEH 蛋白在鼠巨噬细胞内大量表达并部分抑制鼠胆固醇酯水解酶(Cholesteryl ester hydrolase,CEH)表达。转染 hCEH 组与 ox-LDL 诱导组相比,油红 O 染色阳性细胞数显著减少,细胞内总胆固醇、游离胆固醇和胆固醇酯含量明显下降。结论:hCEH 基因在 RAW 264.7 小鼠单核巨噬细胞内成功表达,减少细胞内胆固醇水平,抑制泡沫细胞的形成。

【关键词】胆固醇酯水解酶;氧化低密度脂蛋白;泡沫细胞;胆固醇代谢
【中国图书分类法分类号】Q786;R543.5 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-07-28

Effect of transient expression of human cholesteryl ester hydrolase on the cholesterol metabolism in RAW 264.7 macrophage

FENG Xu, et al
(*Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital, Liaoning Medical College*)

【Abstract】*Objective*: To study the effect of transient expression of human cholesteryl ester hydrolase (hCEH) on the cholesterol metabolism in RAW 264.7 macrophages. *Methods*: RAW 264.7 macrophages were transfected transiently with pEGFP-N_1-CEH under the stimulation of FuGENE HD. After 24 h, macrophages were loaded with oxidized low density lipoprotein (100 mg/L) for 48 h. The expression of pEGFP-N_1-CEH was detected with GFP fluorescence and Western blot. The cellular lipid accumulation was examined by oil red O staining. High performance liquid chromatography was used for qualitative and quantitative analysis of intracellular cholesterol and cholesterol esters. *Results*: There were the most number of fluorescent cells after 72 h. The transfection rate was about 40%. The protein expression level of human CEH significantly increased and partly inhibited expression of mouse CEH protein in mouse macrophage. Compared with ox-LDL group, oil red O-positive cells of hCEH transfection group were greatly reduced. The cellular contents of total cholesterol, free cholesterol and cholesterol ester of hCEH transfection group were also obviously decreased. *Conclusion*: The gene of hCEH expresses in mouse macrophages cell line RAW 264.7, and inhibits atherosclerotic foam cell formation through reducing intracellular cholesterol level.

【Key words】Cholesteryl ester hydrolase; Oxidized low density lipoprotein; Foam cell; Cholesterol metabolism

动脉粥样硬化是一个复杂的病理过程,巨噬细胞源性泡沫细胞的形成是其显著特征[1]。胆固醇酯(Cholesterol esters,CE)在巨噬细胞内大量聚集是泡沫细胞形成重要步骤,如果能抑制泡沫细胞形成,不仅能抑制动脉粥样硬化斑块形成,而且能够提高斑块稳定性,减少动脉粥样硬化性脑梗死的临床发病率[2]。国外有研究表明,胆固醇酯水解酶(Cholesteryl ester hydrolase,CEH)介导的巨噬泡沫细胞内 CE 水解作用,能够促进 CE 水解为游离胆固醇(Free cholesterol,FC)[3]。细胞内FC 的外流是通过与细胞膜上外流相关信号通路(胆固醇运载体 ABCA1、ABCG1 等)结合后转运给外源性胆固醇受体(ApoA-I、HDL 等)实现的[4,5]。巨噬细胞内的 FC 通过细胞外

作者介绍:冯 旭(1984-),男,硕士,
研究方向:脑血管病基础与临床。
通讯作者:罗俊生,男,教授,E-mail:luojunshengljs@sina.com。
基金项目:国家自然科学基金(编号:30971023);辽宁省自然科学基金(编号:20092190)。

胆固醇受体被传送到肝脏转变成胆汁胆固醇和胆汁酸来进行最终的清除，这种 FC 从巨噬细胞定向转运到肝脏的过程叫做“胆固醇逆行转运(Reverse cholesterol transport，RCT)”，是胆固醇向体外代谢的主要途径[6]，而 CEH 介导的水解作用是 RCT 中的限速步骤[7]。近期研究表明，CEH 在肝脏内的过度表达能促进胆固醇逆行转运，从而增强体内胆固醇的清除[8]。由此，我们推测 CEH 在脑动脉粥样硬化的形成过程中可能起到关键性的作用。

目前，国内对 CEH 的研究鲜有报道，我实验室前期已成功构建人胆固醇酯水解酶(Human cholesteryl ester hydrolase，hCEH)真核表达载体 pEGFP-N_1-hCEH。本实验通过转染 RAW 264.7 小鼠单核巨噬细胞，研究 hCEH 对细胞内胆固醇代谢的影响，以期明确 CEH 在影响脑动脉粥样硬化斑块形成过程中的作用。为把 CEH 作为防治动脉粥样硬化性脑梗死的新靶点，提供理论依据及线索。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

RAW 264.7 小鼠单核巨噬细胞株(中国科学院上海细胞生物学研究所)，胎牛血清，DMEM 培养基(美国 GIBCO 公司)，氧化型低密度脂蛋(Oxidized low density lipoprotein，ox-LDL)(北京协生生物科技有限公司)，表达载体 pEGFP-N_1-hCEH(本实验室先前构建)，FuGENE HD 转染试剂 (Roche 公司)，CE，标准胆固醇(上海生工生物工程有限公司)，兔抗鼠 CEH(mCEH)一抗、FITC- 标记的羊抗兔二抗和羊抗人 CEH(hCEH)一抗、辣根过氧化物酶标记的驴抗羊二抗(Santa Cruz 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养、传代及泡沫化处理 RAW 264.7 小鼠单核巨噬细胞生长于 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中，贴壁生长，培养条件为 37℃、5%CO_2。每 24~48 h 传代一次。取对数生长期细胞进行实验，在每次实验前将细胞密度调整为 1×10^6 个/ml，加入 6 孔培养板中。应用 ox-LDL(终浓度为 100 mg/L)处理 48 h，诱导巨噬细胞泡沫化。

1.2.2 CEH 转染巨噬细胞 转染前 1 d 将细胞计数，接种在不含抗生素的完全培养基中，到转染当天细胞密度为 50%~80%。将 2 μg 质粒加入到无血清 DMEM 培养基中，体系为 100 μl(六孔板)，充分混匀孵育 10 min。然后将 FuGENE HD 转染试剂在室温化冻后混匀，按照转染试剂(μl)：DNA(μg)比例 8：2(最佳转染效率的比例)加入 100 μl 体系中，混匀并孵育 30 min。逐滴加入培养细胞的六孔板中，1~3 d 观察结果。同时设立转染 pEGFP-N_1 组(vector 组)作为对照。

1.2.3 Western blot 检测 CEH 蛋白质的表达 转染 72 h 后将细胞用细胞刮刀刮下，收集至 EP 管内。用 TBS 漂洗后加入 RIPA 缓冲液(1%NP40，0.5% 脱氧胆酸钠，1%SDS，0.1% PMSF)裂解细胞，考马斯亮蓝法测定蛋白质浓度。加热变性，SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳，转膜，5% 脱脂奶粉封闭过夜，加入 1:200 倍稀释的兔抗鼠 CEH 一抗或羊抗人 CEH 一抗，杂交 2 h，β-actin 作为内参。TBST 洗膜后加入 FITC- 标记的羊抗兔二抗或辣根过氧化物酶标记的驴抗羊二抗，温育 1 h，TBST 洗膜后进行 BCIP/NBT 显色，采用 Chemi-genius 凝胶成像系统分析目的蛋白的表达量。

1.2.4 油红 O 染色和脂质染色的半定量分析 将贴壁的巨噬细胞以 PBS 冲洗 3 次，放在 4℃、10%甲醛中固定 10 min，用油红 O 方法染色：水洗 5 min，60%异丙醇中放置 5 min，新过滤的油红 O 染色 10 min，60% 异丙醇分化 5 min，水洗 5 min，Mayer 氏苏木精明矾染液染色 5 min，1%HCl 分色及反蓝后，水洗 5 min 并照相。按 Wada 方法[9]进行脂质染色的半定量分析，即根据细胞脂滴的面积进行细胞分类。如果细胞脂滴的面积小于细胞核的面积记为“-”，细胞脂滴的面积等于或大于细胞核的面积记为“+”，此即为油红 O 染色细胞；每孔随机计数一个视野(×400)的细胞。

1.2.5 高效液相色谱(High performance liquid chromatog raphy，HPLC)法 待细胞处理结束后，弃去培养基，磷酸盐缓冲液洗 3 遍，加入 1 ml 0.9% NaCl 溶液重新稀释细胞，反复冻融，冰浴中超声裂解细胞。高效液相色谱法参照 Cullen 和王佐等人的方法[10,11]，测定细胞 FC 和 CE 的含量。胆固醇用外标法峰面积定性定量，单位为 mg/g 蛋白。色谱条件为色谱柱：C18；流动相：异丙醇：正庚烷：乙腈(35：12：52，v/v)，非梯度洗脱；流速：1 ml/min；检测波长：210 nm，检测到第 8 min；柱温：20℃。用 CE 酶水解 CE 得总胆固醇(Total cholesterol，TC)量，以 HPLC 测定胆固醇并定量，以总胆固醇量减去 FC 量代表 CE 的含量，mg/g 细胞蛋白为单位。

1.3 统计学处理

试验数据以均数 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示，由 SPSS 13.0 统计软件完成；以 $P<0.05$ 为差异具有显著性意义。两组样本间比较采用 t 检验，多个样本均数和样本均数间的多重比较采用单因素方差分析及 SNK 检验。

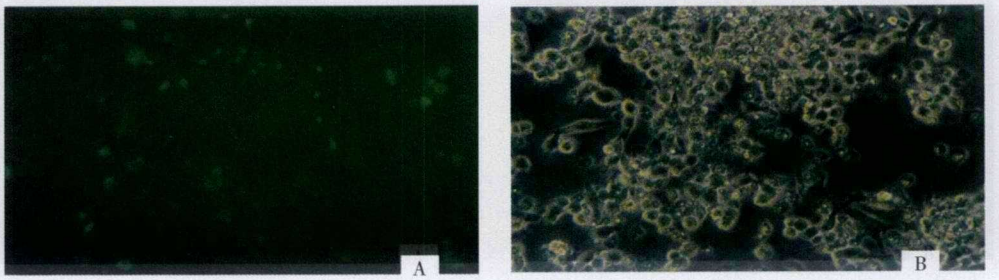
2 结 果

2.1 人 CEH 在 RAW264.7 小鼠单核巨噬细胞中的表达

pEGFP-N_1-hCEH 转染 RAW 264.7 小鼠单核巨噬细胞后，24 h 可以在显微镜下观察到少量荧光表达细胞，48 h 后表达量明显增加，72 h 荧光细胞数最多，接近 40%(图 1)。

2.2 Western blot 检测 CEH 蛋白表达

为了检测 hCEH 在 RAW 264.7 小鼠单核巨噬细胞内的表达，及 hCEH 对 mCEH 的影响，我们应用 Western blot 技术检测转染 pEGFP-N_1-hCEH 后 hCEH 和 mCEH 蛋白在小鼠单核巨噬细胞的表达。试验结果可见 hCEH 蛋白大量表达(图 2)，vector 组无条带。mCEH 蛋白在转染 hCEH 组和 vector 组的相对表达量(以 β-actin 为内参)分别为：0.58 ± 0.93 和 0.93 ± 0.92；两组相比，mCEH 蛋白在 hCEH 组表达量明显下降($P<0.001$)，说明 hCEH 在鼠巨噬细胞内大量表达



A. 转染 pEGFP-N_1-hCEH 72 h 荧光照片（×400）；B. 同一视野普通光镜下巨噬细胞（×400）

图 1　绿色荧光融合蛋白 EGFP-hCEH 的表达

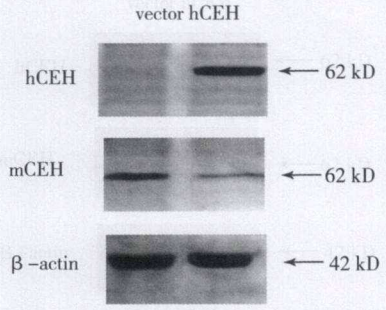


图 2　Western blot 分析 CEH 蛋白的表达

表 1　油红 O 染色阳性细胞的相对含量（$\bar{x} \pm s$，n=4）

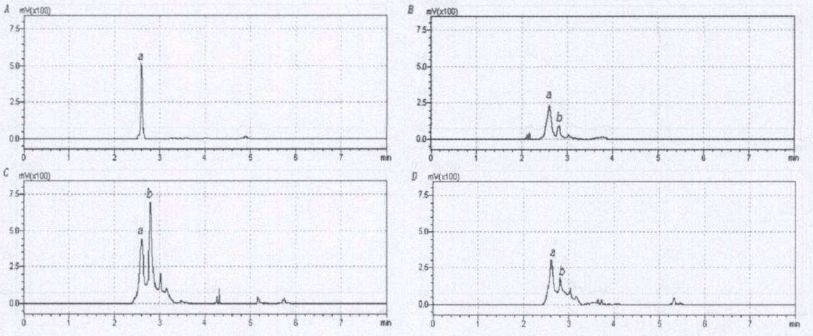
分组	列数	阳性细胞百分率（%）
正常对照组	6	6.65 ± 2.10
ox-LDL 诱导组	6	86.7 ± 3.19#
vector 组	6	84.83 ± 1.69▲
转染 hCEH 组	6	15.68 ± 2.60■

与正常对照组相比：#P<0.001；与 ox-LDL 诱导组相比：▲P>0.05；与 vector 组比较：■P<0.001



正常对照组　　ox-LDL 诱导组　　转染 hCEH 组

图 3　油红 O 染色示 CEH 表达对 RAW 264.7 小鼠单核巨噬细胞泡沫的化影响（×400）



A. 0.2 mg/L 标准胆固醇；B. 正常细胞对照组；C. ox-LDL 诱导组；D. 转染 hCEH 组；a.（游离）胆固醇峰；b. 胆固醇酯峰

图 4　高效液相色谱分析巨噬细胞内胆固醇和 CE 含量

且部分抑制了 mCEH 的表达。

2.3　RAW264.7 小鼠单核巨噬细胞泡沫化

ox-LDL 诱导 48 h 后，油红 O 染色结果显示：正常对照组，细胞形态呈椭圆形或不规则形状，油红 O 染色阳性细胞少，细胞核蓝染，胞质略显红色。ox-LDL 诱导组，油红 O 染色阳性细胞遍布，胞质大量红染，细胞核蓝染，且细胞体积部分增大，细胞呈圆形或不规则形（图 3）。通过比较阳性细胞数量可以看出（表 1），阳性细胞比率由 6.65% ± 2.10%增加到 86.7% ± 3.19%，增加约 10 倍以上。HPLC 检测结果显示（图 4、表 2）：ox-LDL 诱导组的 TC、FC、CE 值，显著高于正常对照组，CE 含量由（3.10 ± 0.66）mg/g 增加到（63.01 ± 6.19）mg/g，CE 与 TC 之比大于 60%。以上结果说明巨噬细胞泡沫化效果明显。

2.4　hCEH 在 RAW264.7 小鼠单核巨噬细胞内表达对胆固醇代谢的影响

油红 O 染色和 HPLC 检测结果显示（表 1、表 2）vector 组与 ox-LDL 诱导组差别均无统计学意义。说明转染空载体不

表 2 高效液相色谱分析各组细胞结果($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

分组	CE	FC	TC	CE/TC(%)
正常对照组	3.10 ± 0.66	11.43 ± 2.15	14.53 ± 2.79	21.28 ± 0.99
ox-LDL 诱导组	63.01 ± 6.19#	36.11 ± 4.08#	99.12 ± 9.40#	63.57 ± 2.05#
vector 组	59.30 ± 3.93▲	34.30 ± 1.55▲	93.60 ± 5.03▲	63.32 ± 1.23▲
转染 hCEH 组	9.34 ± 1.35■	19.59 ± 2.96■	28.92 ± 4.26■	32.31 ± 1.16■

与正常细胞组比较:#$P<0.001$;与 ox-LDL 诱导组比较:▲$P>0.05$;与 vector 组较:■$P<0.001$

影响巨噬细胞泡沫化。转染 hCEH 组与 vector 组相比(图 3、表 1):油红 O 染色阳性细胞比例明显减少,接近正常细胞。HPLC 检测结果显示,细胞内 CE、FC 和 TC 含量均明显下降,差异均有显著性(表 2)。FC 含量由(34.30 ± 1.55) mg/g 下降到(19.59 ± 2.96) mg/g 说明 FC 流出增加。CE/TC 由 63.32% ± 1.23%最终降至 32.31% ± 1.16%,说明转染 hCEH 可以有效抑制细胞泡沫化,减少 CE 在细胞内聚集并加强 FC 的流出。

3 讨 论

巨噬细胞源性泡沫细胞的形成是一个多环节的复杂过程。一方面,巨噬细胞对 LDL 起修饰作用。巨噬细胞通过细胞内多种酶(如脂肪氧化酶)和活性氧(如超氧负离子)作用于 LDL 而产生一定程度的氧化修饰。巨噬细胞大量吞噬被自身细胞核金属离子修饰的 LDL, 表现出一定的泡沫化倾向[12,13]。另一方面,巨噬细胞通过清道夫受体,CD36 受体或其它受体的作用,对 ox-LDL 的大量吞噬促成了巨噬细胞源性泡沫细胞的形成[14]。本实验用 ox-LDL 孵育巨噬细胞,当终末浓度为 100 mg/L 时,泡沫化效果较好,泡沫化率接近 90%。

单核巨噬细胞吞噬的脂质成分主要为胆固醇,胆固醇在细胞内以两种方式存在:CE 和 FC。CE 在巨噬细胞内聚集可使巨噬细胞泡沫化,导致泡沫细胞的形成;FC 是细胞膜的主要组成成分,其过度增加可使细胞膜的流动性发生变化,引起膜蛋白的功能障碍,影响细胞的代谢和功能[15]。人们认识 CE 在巨噬细胞内的水解作用已经超过了 40 年[16],1989 年首次报道了在鼠巨噬细胞中,激素敏感性脂肪酶(Hormone-sensitive lipase, HSL)可催化 CE 的水解活性[17]。上调鼠类巨噬细胞 HSL 可以增加 CE 的水解活性,促进细胞内胆固醇流出[18]。然而另有研究指出,在缺乏 HSL 基因的鼠腹膜巨噬细胞中,可以保持正常的 CE 水解活性并可促进 CE 的水解,提示其它的酶类,在鼠巨噬细胞中具水解活性[19,20]。且过表达 HSL 的转基因小鼠虽然可特异性增加 CE 的水解,但没有增加 A-CAT 活性和胆固醇流出,导致 FC 在细胞内大量积累,增加了动脉粥样硬化的形成[21]。最近的实验指出,在敲除低密度脂蛋白受体,且巨噬细胞中特异性高表达 CEH 的转基因小鼠中,可以减少动脉粥样硬化的发生[22]。

因此相比 HSL,上调 CEH 的表达可以更好的加强对 CE 的水解作用,促进 FC 流出,可以有效的达到抑制泡沫细胞形成的作用。目前鲜有 hCEH 转染鼠巨噬细胞的报道,本实验成功将人 CEH 转染 RAW 264.7 小鼠单核巨噬细胞,并且证明 hCEH 的表达可以部分抑制 mCEH 的表达。且证明了 hCEH 在鼠巨噬细胞内特异性高表达,可明显降低 CE 的聚积,加强 FC 的流出,抑制泡沫细胞的形成。这为鼠巨噬泡沫细胞模型引入 hCEH 研究奠定理论基础,也为鼠动脉粥样硬化模型的相关研究,提供细胞学实验依据。

参 考 文 献

[1] de Boer O J, van der Wal A C, becker A E. Atherosclerosis, inflammation, and infection[J]. Pathol, 2000, 190 (3): 237-243.

[2] Tiwari R L, Singh V, Barthwal M K. Macrophages: An elusive yet emerging therapeutic target of atherosclerosis[J]. Med Res Rev, 2008, 28(4): 483-544.

[3] Ghosh S, St. Clair R W, Rudel L L. Mobilization of cytoplasmic CE droplets by overexpression of human macrophage cholesteryl ester hydrolase[J]. Lipid Res, 2003, 44(10): 1833-1840.

[4] Duong P T, Weibel G L, Lund-Katz S, et al. Characterization and properties of prebeta-HDL particles formed by ABCA1-mediated cellular lipid efflux to ApoA-I[J]. Lipid Res, 2008, 49(5): 1006-1014.

[5] Yvan-Charvet L, Pagler T A, Wang N, et al. SR-BI inhibits ABCG1-stimulated net cholesterol efflux from cells to plasma HDL[J]. J Lipid Res, 2008, 49(1): 107-114.

[6] Patricia G, Yancey, Anna E, et al. Importance of different pathways of cellular cholesterol efflux[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23(5): 712-719.

[7] Rothblat G H, de la Llera-Moya M, Favari E, et al. Cellular cholesterol flux studies: methodological considerations[J]. Atherosclerosis, 2002, 163(1): 1-8.

[8] Zhao B, Song J, Ghosh S. Hepatic overexpression of cholesteryl ester hydrolase enhances cholesterol elimination and in vivo reverse cholesterol transport[J]. Lipid Res, 2008, 49(10): 2212-2217.

[9] Wada Y, Sugiyama A, Yamamoto T, et al. Lipid accumulation in smooth muscle cells under LDL loading is independent of LDL receptor pathway and enhanced by hypoxic conditions[J]. Arterioscler Thromb V asc Biol, 2002, 22 (10): 1712-1719.

[10] Cullen P, Fobker M, Kampk T, et al. An improved method for qualification of cholesterol and cholesterol esters in human monocyte-derived macrophages by high performance liquid chromatography with identification of unassigned cholesterol esters by means of secondary ion mass spectrometry[J]. Journal of Lipid Research, 1997, 38(6): 401-409.

基础研究 文章编号:0253-3626(2010)11-1613-06

MAPKs 通路在高氧肺损伤发病机制中的作用

谭利平,许 峰,匡凤梧

(重庆医科大学附属儿童医院 PICU,重庆 400014)

【摘 要】目的:观察丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen activated protein kinases,MAPKs)信号通路细胞外信号调节激酶(Extracellular signal-regulated kinase,ERK)、C-jun 氨其末端激酶 (C-Jun N-terminal kinase,JNK)、p38MAPKs 在高氧肺损伤肺组织的分布以及表达,应用信号途径抑制剂,研究 MAPKs 信号在高氧诱导肺损伤发生发展中的作用。方法:幼年 Wistar 大鼠随机分为如下各组(n=6):空气对照组(A)、高氧暴露 3、7、14 d 组(O_3、O_7、O_{14} 组)、高氧 7 d+ERK 抑制剂 PD98059(O_7+PD)组、高氧 7 d+p38 抑制剂 SB203580(O_7+SB)组、高氧 7 d+JNK 抑制剂 SP600125(O_7+SP)组及相应空气 + 抑制剂组。其中,PD98059 0.3 mg/kg 及 SB203580 0.2 mg/kg 由大鼠尾静脉注入,SP600125 15 mg/kg 经腹腔注射。光镜下观察肺组织形态学改变并进行肺损伤病理评分;测定肺湿/干重比(Wet/drg ratio,W/D)、肺泡灌洗液(Bronchoalvedar lavage fluid,BALF)蛋白含量及肺通透系数;免疫组化检测磷酸化MAPKs 在肺组织的分布,Western blot 检测 MAPKs 蛋白含量变化。结果:与空气暴露组比较,高氧暴露各组肺组织可见不同程度损伤,O_7 及 O_{14} 组肺 W/D、BALF 蛋白含量、肺通透系数明显增加($P<0.05$);而抑制剂组中 O_7+SB、O_7+SP 组肺泡结构较 O_7 组有明显改善,肺损伤病理学评分降低,同时 W/D、总蛋白、肺通透系数较也明显下降($P<0.05$);MAPKs 阳性细胞在高氧组表达明显增多,分布广泛;各相应抑制剂组中其阳性细胞显著减少;Western blot 结果显示,高氧组 ERK、p38、JNK 蛋白含量明显高于空气组,在高氧各组中以 O_7 组 ERK 及 O_{14} 组 p38、JNK 表达最强,各信号通路抑制剂均能有效抑制相应 MAPKs 蛋白的表达。结论:高浓度氧可激活肺组织 ERK、p38、JNK 信号途径; p38 及 JNK 可能促进了高氧肺损伤的发生发展。

【关键词】高氧;肺损伤;MAPKs 信号途径;信号通路抑制剂

【中国图书分类法分类号】R563 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-04-25

作者介绍:谭利平(1972-),女,主治医师,博士,研究方向:急性肺损伤。

通讯作者:许 峰,男,教授,E-mail:xufeng9899@yahoo.com.cn。

基金项目:国家自然科学基金(编号:30370618)。

[11] 王 佐,李全忠,杨向东,等.高效液相色谱分析氧化型低密度脂蛋白处理 U937 细胞内胆固醇及胆固醇酯[J].中国动脉粥样硬杂志,1998,6(4):317-320.

[12] Heinecke W,Baker L,Rosen H,et al.Ironand copper promote modification of low density lipoprotein by human arterial smooth muscle cells in culture[J]. Clin.Invest,1986,74(5):1890-1894.

[13] McNally M,Chisolm G,Morel D,et al.Activated human monocytes oxidize lowdensity lipop-rotein by a lipoxygenase-dependent pathway[J]. Immunol,1990,145(1):254-259.

[14] Parthasarathy S,Printz D,Boyd D,et al.Macrophage oxidation of low density lipoprotein generates a modified form recognized by the scavenger receptor[J]. Arteriosclerosis,1986,6(5):505-510.

[15] Wielkoszyński T,Gawron K,Strzelczyk J,et al.Cellular toxicity of oxycholesterols[J]. Bioessays,2006,28(4):387-398.

[16] Goodman D S.Cholesterol ester metabolism[J].Physiol Rev,1965,45(9):747-839.

[17] Small C A,Goodacre A,Yeaman J. Hormone-sensitive lipase is responsible for the neutral cholesterol ester hydrolase activity in macrophages[J]. FEBS Lett,1989,247(2):205-208.

[18] Escary J L,Choy H A,Reue K,et al.Hormone-sensitive lipase overexpression increases cholesteryl ester hydrolysis in macrophage foam cells[J].Arteriosclerosis,Thrombosis,and Vascular Biology,1998,18(6):991-998.

[19] Osuga J,Ishibashi S,Oka T,et al.Targeted disruption of hormone-sensitive lipase results in male sterility and adipocyte hypertrophy,but not in obesity[J]. Proc Natl Acad. Sci. USA,2000,97(2):787-792.

[20] Contreras J A.Hormone-sensitive lipase is not required for cholesteryl ester hydrolysis in macrophages[J].Biochem Biophys Res Commun,2002,292(4):900-903.

[21] Escary J L,Choy A,Reue K,et al.Paradoxical effect on atherosclerosis of hormone-sensitive lipase overexpression in macrophages[J].Lipid Res,1999,40(7):397-404.

[22] Zhao B,Song J,Chow W N,et al.Macrophage-specific transgenic expression of cholesteryl ester hydrolase significantly reduces atherosclerosis and lesion necrosis in Ldlr-/-mice[J].Clin.Investig,2007,117(10):2983-2992.

(责任编辑:关蕴良)