

炎症致巨噬细胞和血管平滑肌细胞低密度脂蛋白受体反馈调控差异的研究*

叶强^{1,2}, 雷寒^{2△}, 范忠才¹, 郑文武¹, 郑舒展¹ (1. 泸州医学院附属医院心血管内科, 四川泸州 646000; 2. 重庆医科大学附属第一医院心血管内科 400016)

【摘要】 目的 探讨在生理及炎症应激条件下, 人单核细胞系 (THP-1) 巨噬细胞和血管平滑肌细胞 (VSMCs)、低密度脂蛋白受体 (LDLr) 的负反馈调控的细胞特异性差别及其可能的机制。方法 脂多糖 (LPS) 加入 THP-1 巨噬细胞和 VSMCs 培养基中诱导炎症应激, 酶学法检测细胞内胆固醇水平, 反转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 法检测 LDLr、SCAP、固醇调控元件结合蛋白 2 (SREBP2) mRNA 水平。结果 生理条件下, LDL 负荷增加细胞内胆固醇水平, 进而减少 THP-1 巨噬细胞和 VSMCs LDLr mRNA 水平。VSMCs IC₅₀ 为 11.25 μg/mL, 低于 THP-1 巨噬细胞的 18.125 μg/mL。0~400 ng/mL LPS 呈剂量依赖性上调两种细胞 LDLr mRNA 水平, 但 VSMCs LDLr 曲线比 THP-1 巨噬细胞 LDLr 曲线平坦, 200 ng/mL LPS 处理下, THP-1 巨噬细胞 LDLr mRNA 上调倍数远高于 VSMCs (0.33 和 0.04)。LDLr 阻断剂肝素钠减少两种细胞内由 LPS 诱导的胆固醇沉积。生理条件下, LDL 负荷减少 SREBP2 和 SCAP mRNA 水平, 而 LPS 增加 SREBP2 和 SCAP mRNA 水平。结论 炎症应激在两种细胞中均扰乱细胞内胆固醇水平介导的 LDLr 负反馈调控, THP-1 巨噬细胞 LDLr 上调程度更大, 这可能是炎症应激下 THP-1 巨噬细胞更易泡沫化的一个原因。

【关键词】 巨噬细胞; 血管平滑肌细胞; 脂多糖; 低密度脂蛋白受体; 固醇调控元件结合蛋白 2; SREBP 裂解激活蛋白; 泡沫细胞

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.16.001 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)16-2193-03

Investigation of differences in LDLr feedback regulation in macrophages and vascular smooth muscle cells under inflammatory stress* YE Qiang^{1,2}, LEI Han^{2△}, FAN Zhong-cai¹, ZHENG Wen-wu¹, ZHENG Shu-zhan¹ (1. Department of Cardiology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000, China; 2. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate cell-specific regulation of LDLr in THP-1 macrophages and human VSMCs under physiological and inflammatory conditions and its potential mechanisms. **Methods** Inflammatory stress was induced by adding LPS to human THP-1 macrophages and human VSMCs. Intracellular total cholesterol (TC), free cholesterol (FC) and cholesterol ester (CE) were examined by an enzymic assay. Total cellular RNA was isolated from cells for detecting LDLr, SREBP-2 and SCAP mRNA levels using real-time PCR. **Results** LDL loading increased intracellular cholesterol level, thereby reduced LDLr mRNA level in both THP-1 macrophages and VSMCs under physiological conditions. The IC₅₀ in VSMCs was 11.25 μg/mL, which is much lower than 18.125 μg/mL in THP-1 macrophages. With the increase in concentration of LPS (0–400 ng/mL), the LDLr mRNA levels were up-regulated in both cells, but the curve of LDLr mRNA in VSMCs showed more flat than that of THP-1 macrophages. Under the treatment of 200 ng/mL of LPS, the upregulation fold (URF) of the LDLr mRNA in THP-1 macrophages was much higher than that of VSMCs (0.33 VS 0.04). LDLr blocking agent heparin decreased lipid droplets induced by LPS significantly in THP-1 macrophages and VSMCs. LDL loading reduced the SREBP2 and SCAP mRNA level under physiological conditions. Exposure to LPS caused over-expression of SREBP2 and SCAP despite a high concentration of LDL in the culture medium. **Conclusion** Inflammatory stress disrupts LDLr negative feedback regulation induced by intracellular cholesterol in both cell types, to a greater degree in THP-1 macrophages, which could be one reason why THP-1 macrophages are more prone to become foam cells under inflammatory stress.

【Key words】 macrophages; vascular smooth muscle cells; lipopolysaccharide; low-density lipoprotein receptor; sterol regulatory element binding protein2; SREBP cleavage-activating protein; foam cells

低密度脂蛋白受体 (LDLr) 是结合血浆 LDL 胆固醇及调控血浆胆固醇浓度的主要受体。LDLr 活性受依赖于细胞内胆固醇水平的负反馈系统的严密调控, 细胞内胆固醇处于稳态水平, 故生理条件下天然 LDL 孵育细胞不能致细胞泡沫化^[1]。

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (30670869); 四川省卫生厅基金项目 (2011-110335); 四川省泸州市科技局基金项目 (2011-I-S37 (6/7)); 泸州医学院基金项目 (2010-108); 泸州医学院附属医院基金项目 (2011-43)。

作者简介: 叶强, 男, 博士, 主治医师, 主要从事炎症与胆固醇代谢, 动脉硬化发生机制的研究。

△ 通讯作者, E-mail: leihan@cqmu.edu.cn.

LDLr 抑制 50% 所需 LDL 浓度定义为 IC₅₀ (Inhibition Concentration 50), 代表 LDLr 下调敏感性。

本课题组以往研究显示, 炎症应激可以扰乱人肾脏系膜细胞和肝脏细胞 LDLr 反馈调控, 允许胆固醇摄入增加, 导致过多胆固醇沉积。同时实验显示, 肝细胞和肾脏系膜细胞对胆固醇摄取有不同的能力和敏感性。生理条件下, 肾脏系膜细胞 LDLr 对胆固醇负荷诱导的下调反应比肝细胞敏感, 而肝细胞 LDLr 对下调表现出抵抗表型。然而, 炎症应激改变了 LDLr 调控从敏感到抵抗的表型, 从而增加了肾脏系膜细胞 LDL 摄入阈值, 使肾脏系膜细胞从功能上类似肝细胞最大化摄入 LDL, 导致泡沫化^[2-8]。巨噬细胞和血管平滑肌细胞均为脂质代谢的外周细胞, 也是参与动脉硬化的主要细胞类型。然而, LDLr 调控差异在外周细胞中仍不是很清楚。本研究探讨生理条件下, 人单核细胞系 (THP-1) 巨噬细胞和血管平滑肌细胞 LDLr 负反馈调控的差异, 以及炎症应激怎样以细胞特异性方式改变 LDLr 反馈调控。

1 材料与与方法

1.1 材料 THP-1 购于美国典藏生物中心 (ATCC), No: TIB-202; 人原代冠状动脉平滑肌细胞 (VSMCs) 购于 TCS cell works (Buckinghamshire, UK); 细胞生长培养基 DMEM/F12、RPMI1640、胎牛血清 (FCS) 购于北京 Hyclone 公司。小牛血清清蛋白 (BSA)、青霉素、链霉素、LPS (Escherichia coli)、佛波酯 (PMA)、四乙酸乙二胺 (EDTA)、叔丁基对甲酚 (BHT) 和二甲基亚砷 (DMSO) 均购于美国 Sigma 公司。LDL 采用两步法密度梯度超速离心方法, 从人新鲜液体血浆中自行制备; 细胞内胆固醇测定试剂购于美国 Sigma 公司; 总 RNA 提取试剂盒及荧光定量 PCR 试剂盒购于大连 Takara 公司; 逆转录试剂盒购于美国 ABI 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及分组 THP-1 生长至对数期, 加入 PMA 诱导分化为巨噬细胞, 实验培养基 (为含抗氧化剂 EDTA 及 BHT 的无血清培养基) 培养 24 h, 进入实验分组; VSMCs 在生长培养基中生长至实验所需数量后, 用实验培养基处理 24 h, 进入实验分组, 对照组: 实验培养基继续培养; 高脂组: 实验培养基中加入 LDL, 终浓度为 0~200 μg/mL; 高脂加 LPS 刺激组: 实验培养基中加入 LDL, 再加入 LPS, 终浓度为 0~1 000 ng/mL; 以上各组细胞培养 24 h 后收获。

1.2.2 总 RNA 提取及反转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 根据 RNAiso 试剂盒操作说明分别提取实验 THP-1 单核细胞、THP-1 巨噬细胞和 VSMCs 细胞总 RNA, 500 ng 总 RNA 作为模板, 选用 ABI 逆转录试剂盒, 逆转录体系 20 μL, 含: 50 mmol/l KCl, 10 mmol/L Tris. HCl, 5 mmol/L MgCl₂, 每种 dNTP 浓度为 1 mmol/L, 2.5 μmol/L 六碱基随机引物, 20 U RNasin 和 50 U Moloney 小鼠白血病病毒; 逆转录在 DNA Thermal Cycler (Eppendorf) 中进行, 参数为: 25 °C 10 min, 37 °C 120 min, 85 °C 5 s; cDNA 合成后, 用 SYBR Green I PCR Master Mix (Takara) 在 Opticon 2 RT-PCR Detector (Bio-Rad) 进行荧光定量 PCR 反应, 热循环条件包括 50 °C 2 min, 95 °C 5 min, 95 °C 20 s, 55 °C 20 s, 共 40 个循环, 95 °C 1 min, 55~95 °C 每增加 0.5 °C 读板, 作溶解曲线。实验在细胞水平重复 4 次。β-actin 作为参照基因。RRI-PCR 结果以 CT 值来表示起始模板的数量, CT 值越小起始模板的数量越大。本实验均用比较 CT 值法 -ΔΔCT 来表示基因的表达水平, 计算公式如下: 实验组相对于对照组基因表达水平的倍数 = -exp(ΔΔCT), 其中 ΔΔCT = 实验组 ΔCT - 对照组 ΔCT, ΔCT =

靶基因 CT 值 - β-actin CT 值。引物序列: LDLr 上游 5'-GTG TCA CAG CGG CGA ATG-3', 下游 5'-CGC ACT CTT TGA TGG GTT CA-3'; SREBP2 上游 5'-CCG CCT GTT CCG ATG TAC AC -3', 下游 5'-TGC ACA TTC AGC CAG GTT CA-3'; SCAP 上游 5'-GGG AAC TTC TGG CAG AAT GAC T-3', 下游 5'-CTG GTG GAT GGT CCC AAT G-3'; β-actin 上游 5'-CCT GGC ACC CAG CAC AAT-3', 下游 5'-GCC GAT CCA CAC ACG GAG TAC T-3'; 所有引物由 ABI 公司 Primer Express Software version 2.0 System 设计。

1.2.3 细胞内胆固醇浓度测定 测定 THP-1 巨噬细胞和 VSMCs 内胆固醇浓度采用酶染色法, 细胞经实验条件处理 24 h 后, 用磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗涤 2 次, 氯仿/甲醇 2:1 混合物提取细胞内脂质, 后真空干燥, Lowry 法测定细胞总蛋白含量, 酶法测定总胆固醇浓度 (TC), 游离胆固醇浓度 (FC), 经公式胆固醇酯 (CE) = TC - FC, 计算出胆固醇酯水平, 最后结果用细胞蛋白含量校正。

1.3 统计学方法 统计学分析由 SPSS17.0 统计软件处理, 计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用两样本比较 t 检验, 以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 生理条件下, THP-1 单核细胞、THP-1 巨噬细胞和 VSMCs LDLr mRNA 水平的比较 生理条件下, THP-1 单核细胞的 LDLr mRNA 水平最高 (1), 经佛波酯 (PMA) 诱导分化为巨噬细胞后, 其 LDLr mRNA 表达水平下降 (0.26 ± 0.11), VSMCs LDLr mRNA 水平 (0.12 ± 0.05) 较 THP-1 巨噬细胞低, 差异均有统计学意义 (P < 0.05)。

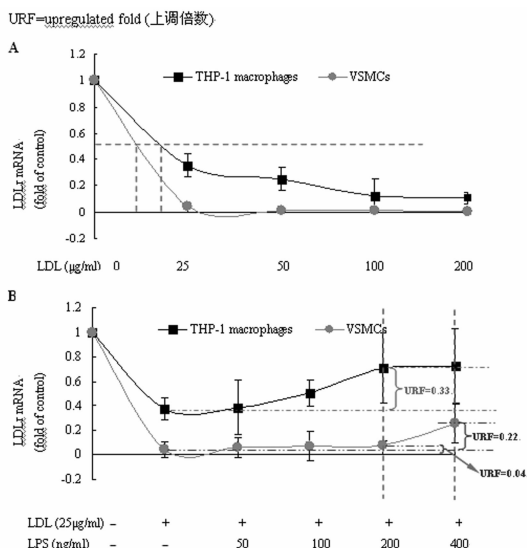


图 1 LDL 及 LPS 负荷对巨噬细胞和血管平滑肌细胞 LDLr mRNA 水平的影响

2.2 LDL 和 LPS 对 THP-1 巨噬细胞和 VSMCs LDLr mRNA 水平的影响 实验数据提示, LDL 呈浓度依赖性抑制 THP-1 巨噬细胞和 VSMCs LDLr mRNA 表达水平 (图 1A)。用直线回归方程计算两种细胞 LDLr mRNA 被抑制 50% 的 LDL 浓度即 IC₅₀, VSMCs 的 IC₅₀ 为 11.25 μg/mL, 而 THP-1 巨噬细胞 IC₅₀ 为 18.125 μg/mL, 提示在生理条件下, 当 LDL 负荷时 VSMCs LDLr mRNA 反馈调控较 THP-1 巨噬细胞敏感迅速。图 1B 显示, 当给予 THP-1 巨噬细胞和 VSMCs 不同浓度 LPS 处理后, LDL 对 LDLr mRNA 反馈抑制效应被逆转, LPS 呈浓度依赖性上调 LDLr mRNA 水平。通过计算发现,

200 ng/mL LPS 使 THP-1 巨噬细胞 LDLr mRNA 上调 0.33 倍,而相同浓度 LPS 仅使 VSMCs LDLr mRNA 上调 0.04 倍,400 ng LPS 使 VSMCs LDLr mRNA 上调 0.22 倍。这些数据提示,在 LPS 刺激下,THP-1 巨噬细胞 LDLr mRNA 比 VSMCs 更容易上调。本实验确定,25 μg/mL LDL 作为后续实验中两种细胞抑制 LDLr mRNA 有效浓度,200 ng/mL LPS 作为 THP-1 巨噬细胞有效炎症刺激浓度,400 ng/mL 作为 VSMCs 有效炎症刺激浓度。

2.3 细胞内胆固醇水平测定结果 当细胞培养基中仅有 25 μg/mL LDL 存在时,两种细胞内胆固醇水平轻度增加,当同时有 200、400 ng/mL LPS 存在时,细胞内胆固醇水平显著增加。应用 LDLr 阻断剂肝素钠 (heparin) 后,两种细胞内胆固醇水平显著减少,而清道夫受体阻断剂聚肌苷酸钠 [Poly(D)] 不能减少巨噬细胞内胆固醇沉积 (图 2A)。同时通过计算发现,200 ng/mL LPS 使巨噬细胞内胆固醇酯水平增加 3.21 μg/mg,而 400 ng/mL LPS 使 VSMCs 内胆固醇酯水平增加 1.44 μg/mg,提示在 LPS 刺激下,THP-1 巨噬细胞通过 LDLr 途径聚集更多胆固醇酯。

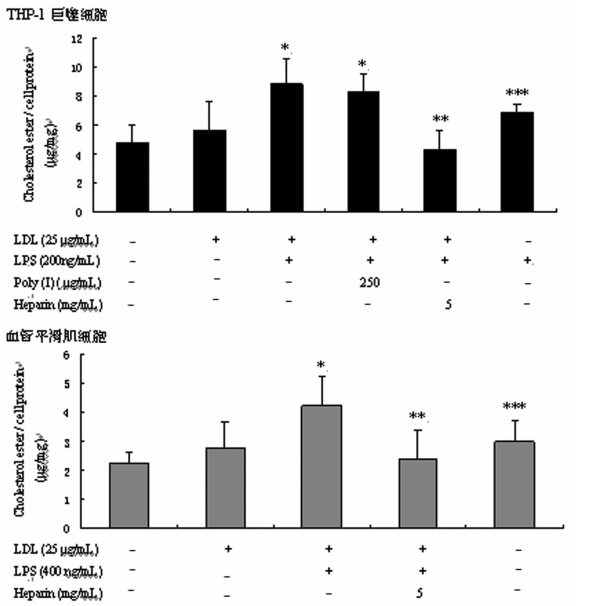
2.4 LPS 对 THP-1 巨噬细胞及 VSMCs SREBP2 和 SCAP mRNA 水平的影响 25 μg/mL LDL 抑制 THP-1 巨噬细胞 SREBP2 和 SCAP mRNA 水平 (0.71 ± 0.61 和 0.76 ± 0.32),200 ng/mL LPS 打破 25 μg/mL LDL 对上述两种基因的反馈抑制效应,上调其表达 (1.69 ± 0.31 和 1.21 ± 0.52);25 μg/mL LDL 抑制 VSMCs SREBP2 和 SCAP mRNA 水平 (0.25 ± 0.09 和 0.53 ± 0.13),400 ng/mL LPS 打破 25 μg/mL LDL 对 SREBP2 和 SCAP mRNA 的反馈抑制效应,上调其表达 (0.41 ± 0.20 和 1.01 ± 0.38)。比较分析显示,25 μg/mL LDL 负荷下,巨噬细胞 SREBP2 和 SCAP mRNA 受抑制程度不及 VSMCs,而 LPS 刺激下,巨噬细胞 SREBP2 和 SCAP mRNA 表达升高程度大于 VSMCs,这一结果同两种细胞 LDLr mRNA 水平及细胞内胆固醇水平比较结果一致。

化为泡沫细胞。Rosenfeld 和 Ross^[9] 应用放射自显影技术和细胞特异性标志物的免疫染色法,发现在 WHHL 兔的进展期斑块上有 30% 细胞为巨噬细胞表型,而 45% 细胞为平滑肌细胞表型。

本研究观察 THP-1 单核细胞、THP-1 巨噬细胞和 VSMCs LDLr mRNA 水平差别,发现单核细胞 LDLr mRNA 水平最高,其次为巨噬细胞,最低者为 VSMCs。研究发现,生理条件下 THP-1 巨噬细胞和 VSMCs 的 LDLr 对 LDL 负荷有不同的敏感性和反应能力。如图 1A 示,VSMCs 的 IC₅₀ 比 THP-1 巨噬细胞低,提示 VSMCs 的 LDLr 下调比 THP-1 巨噬细胞的 LDLr 敏感,即摄入外源性胆固醇能力弱于巨噬细胞,摄入胆固醇仅用于保证细胞基本功能,不易泡沫化,而巨噬细胞的 LDLr 对下调不敏感,允许更多胆固醇进入细胞;加入炎症刺激物 LPS 后,在两种细胞均能观察到 LPS 克服 LDL 负荷对 LDLr mRNA 反馈抑制效应,LDLr mRNA 表达均增高,提示 LPS 诱导的炎症应激打破了 LDL 负荷下的 LDLr 负反馈调控,允许过多的 LDL 经 LDLr 途径进入细胞内,致泡沫细胞形成 (图 2)。本研究还发现,200 ng/mL LPS 使 THP-1 巨噬细胞 LDLr mRNA 上调 0.33 倍,而相同浓度 LPS 仅上调 VSMCs mRNA 0.04 倍,提示 THP-1 巨噬细胞的 LDLr 对 LPS 诱导的上调效应比 VSMCs 敏感。进一步细胞内胆固醇测定证实,200 ng/mL LPS 刺激下,THP-1 巨噬细胞内胆固醇酯增加 3.21 μg/mg,400 ng/mL LPS 仅增加 VSMCs 内胆固醇酯 1.44 μg/mg,这一结果与两种细胞 LDLr 对 LPS 的上调效应的差异一致。为了排除清道夫受体途径参与细胞内胆固醇聚集,分别使用清道夫受体阻断剂聚肌苷酸钠 Poly(D) 和 LDLr 抑制剂肝素钠 (heparin)。实验发现 Poly(D) 不能减少 LPS 诱导的细胞内胆固醇聚集,而肝素钠抑制 LPS 诱导的胆固醇沉积 (图 2);同时培养基中含有强力抗氧化剂 BHT 和 EDTA,因而细胞内胆固醇沉积可以除外清道夫受体和氧化 LDL 参与,这些数据提示 LDLr 是炎症应激下 THP-1 巨噬细胞和 VSMCs 内胆固醇聚集的主要途径之一;并且 THP-1 巨噬细胞和 VSMCs 对于 LDL 和 LPS 负荷具有明显细胞差异性,即 LDLr 在细胞膜上表达水平高低不是决定胞内胆固醇水平的因素,LDLr 反馈调控的差异性才是决定胞内胆固醇水平的关键。

继续研究 LPS 逆转高浓度 LDL 对 LDLr 反馈抑制的分子机制,发现调控 LDLr 表达的两个重要分子 SREBP2 和 SCAP 的 mRNA 水平同样可以被高浓度 LDL 抑制;但是相同浓度 LDL 负荷时,VSMCs 的 SCAP 和 SREBP2 mRNA 被抑制程度更大,而 LPS 同样可以逆转高浓度 LDL 对 SCAP 和 SREBP2 的 mRNA 抑制,上调两种基因表达,但 THP-1 巨噬细胞的上调幅度更大 (图 2)。这些数据提示,LPS 诱导的炎症应激彻底打破了细胞内胆固醇负反馈调控,上调 SCAP 和 SREBP2 表达,可能导致 SCAP 过多从内质网转位至高尔基体,进而上调 LDLr 表达,促进天然 LDL 进入胞内,致泡沫细胞形成。

综上所述,生理条件下,THP-1 巨噬细胞和血管平滑肌细胞对胆固醇负荷有不同能力和敏感性,巨噬细胞由于其 LDLr 对 LDL 负荷不敏感,因而对 LDL 摄取能力较强,而 VSMCs 对 LDL 负荷敏感,LDLr 表达迅速下调。LPS 诱导的炎症应激显著增加巨噬细胞 LDLr 表达,致泡沫细胞形成。VSMCs LDLr 对 LPS 诱导的上调效应不敏感,这可能是炎症应激下巨噬细胞更容易泡沫化的原因。



注:与 LDL 组比较,* P<0.05;下 LDL+LPS 比较,** P<0.05;与对照组比较,*** P<0.05。

图 2 LPS 对巨噬细胞和平滑肌细胞内胆固醇水平的影响

3 讨论

传统观念认为,巨噬细胞是泡沫细胞的主要来源,因为巨噬细胞表达清道夫受体;然而本研究发现平滑肌细胞也可以转

参考文献

[1] Nohturfft A, Yabe D, Goldstein JL, et (下转第 2198 页)

景,被广泛地被运用于人类疾病研究和药物筛选。鉴于酿酒酵母与白色念珠菌的同源性,本研究构建酵母 Rli1 基因杂合缺失酵母菌株,通过克隆形成实验,发现 Rli1 基因杂合缺失酵母菌株对氟康唑表现出明显的抗药性(图 3)。同时,Rli1 基因杂合缺失酵母菌株在含有氟康唑的培养基中的生物代谢活性明显高于野生型菌株(图 4)。表明 Rli1 基因的 Knockdown 很可能激活了酵母对氟康唑的耐药机制。

进一步对复制寿命(表示单个酵母细胞在死亡之前出芽的总数)的研究发现,Rli1 基因杂合缺失酵母菌株的复制寿命相对于野生型菌株并没有增加(图 5),表明菌株耐药性的增加与酵母本身出芽的能力无关。

综上所述,本研究通过 Rli1 基因杂合缺失的二倍体酵母菌株,发现 Rli1 基因的低表达会导致酵母菌株对氟康唑耐药性的增加,这对于深入研究氟康唑杀灭真菌的作用机制、酵母样真菌的耐药机制以及 Rli1 基因的功能提供了有益线索。

参考文献

[1] Schmitt MJ, Breinig F. The viral killer system in yeast: from molecular biology to application[J]. FEMS Microbiol Rev, 2002, 26(3): 257-276.

[2] Kispal G, Sipos K, Lange H, et al. Biogenesis of cytosolic ribosomes requires the essential iron-sulphur protein Rli1p and mitochondria[J]. EMBO J, 2005, 24(3): 589-598.

[3] Le Roy F, Bisbal C, Silhol M, et al. The 2-5A/RNase L/RNase L inhibitor (RLI) [correction of (RNI)] pathway regulates mitochondrial mRNAs stability in interferon alpha-treated H9 cells[J]. J Biol Chem, 2001, 276(51): 48473-48482.

[4] Laxman S, Tu B. The essential ATP-binding cassette protein RLII functions in translation by promoting preinitiation complex assembly[J]. J Biol Chem, 2004, 279(40): 42157-42168.

[5] Zimmerman C, Klein KC, Kiser PK, et al. Identification of a host protein essential for assembly of immature HIV-1 capsids[J]. Nature, 2002, 415(6867): 88-92.

[6] Steffen KK, Kennedy BK, Kaerberlein M. Measuring replicative life span in the budding yeast[J]. J Vis Exp, 2009(28): 1209.

[7] Ribeiro MA, Paula CR. Up-regulation of ERG11 gene among fluconazole-resistant *Candida albicans* generated in vitro: is there any clinical implication? [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2007, 57(1): 71-75.

[8] Heilmann CJ, Schneider S, Barker KS, et al. An a643T mutation in the transcription factor Upc2p causes constitutive ERG11 upregulation and increased fluconazole resistance in *Candida albicans*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(1): 353-359.

[9] Feng LJ, Wan Z, Wang XH, et al. Relationship between antifungal resistance of fluconazole resistant *Candida albicans* and mutations in ERG11 gene[J]. Chin Med J, 2010, 123(5): 544-548.

[10] Niimi M, Niimi K, Takano Y, et al. Regulated overexpression of CDR1 in *Candida albicans* confers multidrug resistance[J]. J Antimicrob Chemother, 2004, 54(6): 999-1006.

[11] 许辉,李若瑜,刘伟. 真菌耐药性产生的新机制:热休克蛋白 90 的作用[J]. 中国真菌学杂志, 2009, 4(1): 55-58.

[12] López-Ribot JL. *Candida albicans* biofilms: more than filamentation[J]. Curr Biol, 2005, 15(12): 453-455.

[13] 谭宏月,李平,胡婵,等. 白念珠菌新型耐药基因 MXR1 的敲除与鉴定[J]. 中国真菌学杂志, 2013, 8(2): 69-73.

[14] 索桂英,付萍. 白念珠菌氟康唑耐药机制的研究进展[J]. 皮肤病与性病, 2013, 35(2): 90-91.

(收稿日期:2013-12-23 修回日期:2014-02-28)

(上接第 2195 页)

al. Regulated step in cholesterol feedback localized to budding of SCAP from ER membranes[J]. Cell, 2000, 102(3): 315-323.

[2] Chen Y, Ruan XZ, Li Q, et al. Inflammatory cytokines disrupt LDL-receptor feedback regulation and cause statin resistance: a comparative study in human hepatic cells and mesangial cells[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2007, 293(3): F680-F687.

[3] Ma KL, Ruan XZ, Powis SH, et al. Inflammatory stress exacerbates lipid accumulation in hepatic cells and fatty livers of apolipoprotein E knockout mice[J]. Hepatology, 2008, 48(3): 770-781.

[4] Ruan XZ, Moorhead JF, Varghese Z. Lipid redistribution in renal dysfunction[J]. Kidney Int, 2008, 74(4): 407-409.

[5] Chen YX, Ruan XZ, Huang AL, et al. Mechanisms of dysregulation of low-density lipoprotein receptor expression in HepG2 cells induced by inflammatory cytokines[J].

Chin Med J (Engl), 2007, 120(24): 2185-2190.

[6] Zhao L, Chen Y, Tang R, et al. Inflammatory stress exacerbates hepatic cholesterol accumulation via increasing cholesterol uptake and de novo synthesis[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2011, 26(5): 875-883.

[7] Xu ZE, Chen Y, Huang A, et al. Inflammatory stress exacerbates lipid-mediated renal injury in ApoE/CD36/SRA triple knockout mice[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2011, 301(4): 713-722.

[8] Qiang Ye, Han Lei, Zhongcai Fan, et al. Difference in LDL receptor feedback regulation in macrophages and vascular smooth muscle cells: foam cell transformation under inflammatory stress[J]. Inflammation, 2014, 37(2): 555-565

[9] Rosenfeld ME, Ross R. Macrophage and smooth muscle cell proliferation in atherosclerotic lesions of WHHL and comparably hypercholesterolemic fat-fed rabbits[J]. Arteriosclerosis, 1990, 10(5): 680-687.

(收稿日期:2014-01-16 修回日期:2014-04-20)