

DOI: 10.3969/j.issn.1005- 8982.2017.03.003

文章编号: 1005- 8982 2017) 03- 0013- 05

缺氧对细胞膜 ABCA1 降解的影响及其机制研究*

莫显刚¹, 洪伟², 王兰¹, 张莉¹, 刘大男³, 代陆军⁴, 蒋金⁴, 郜双林²

(1. 贵州医科大学附属医院 综合病房, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学 医学分子生物学重点实验室, 贵州 贵阳 550004; 3. 贵州医科大学附属医院 心内科, 贵州 贵阳 550004; 4. 贵州医科大学附属医院 病理科, 贵州 贵阳 550004)

摘要:目的 探讨缺氧对细胞膜三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ABCA1)降解的影响及其与钙蛋白酶的相关机制。**方法** 肝 X 受体激动剂 TO- 901317 刺激 RAW264.7 细胞 24 h, 实时定量聚合酶链反应检测 ABCA1 mRNA 表达水平。生物素标记法提取细胞膜蛋白, Western blot 检测细胞膜 ABCA1 蛋白水平表达。Western blot 检测在放线菌酮存在或不存在条件下, TO- 901317 干预的 RAW264.7 细胞经过 12 h 缺氧 (1% O₂) 处理后细胞膜 ABCA1 蛋白水平, Suc- LLVY- 氨基虫荧光素法检测缺氧细胞内钙蛋白酶活性。RAW264.7 细胞给予钙蛋白酶抑制剂 ALLN 干预, 检测细胞膜 ABCA1 蛋白表达及钙蛋白酶活性。**结果** TO- 901317 上调 ABCA1 mRNA 及细胞膜蛋白水平表达。无论放线菌酮存在或不存在情况下, 缺氧均能降低细胞膜 ABCA1 蛋白水平, 升高钙蛋白酶活性。钙蛋白酶抑制剂 ALLN 能部分逆转缺氧诱导细胞膜 ABCA1 蛋白水平降低。**结论** 缺氧可能通过增加钙蛋白酶活性, 从而加速细胞膜 ABCA1 蛋白降解。

关键词: 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1; 缺氧; 钙蛋白酶; 放线菌酮

中图分类号: R543.5; R364

文献标识码: A

Hypoxia enhances degradation of plasma membrane ABCA1 via increased calpain activity*

Xian-gang Mo¹, Wei Hong², Lan Wang¹, Li Zhang¹, Da-nan Liu³,
Lu-jun Dai⁴, Jin Jiang⁴, Shuang-lin Gao²

(1. Comprehensive Ward, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China; 2. Key Laboratory of Medical Molecular Biology, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China; 3. Department of Cardiology, 4. Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of hypoxia on the degradation of plasma membrane ATP binding cassette transporter A1 (ABCA1) and its calpain-related mechanism. **Methods** qRT-PCR was used to detect ABCA1 mRNA level in RAW264.7 cells stimulated by liver X receptor agonist TO-901317 for 24 h. Plasma membrane protein was extracted by the biotin labeling method of surface proteins, and membrane ABCA1 protein level was determined by Western blot. Western blot was applied to detect the plasma membrane ABCA1 protein level from TO-901317-treated RAW264.7 cells after 12-h hypoxia (1% O₂) treatment in the presence or absence of Cycloheximide. Furthermore, the calpain activity in the hypoxic cells was assayed by the method of Suc-LLVY-aminoluciferin. Finally, plasma membrane ABCA1 protein and calpain activity were measured in the RAW264.7 cells after intervention with calpain inhibitor ALLN. **Results** LXR agonist TO-901317 up-regulated ABCA1 mRNA and membrane protein levels. Hypoxia reduced plasma membrane ABCA1 protein in the RAW264.7 cells and increased the calpain activity in the absence or presence of Cyclohex-

收稿日期: 2016-02-24

* 基金项目: 国家自然科学基金 (No. 31260250)

imide. Calpain inhibitor ALLN, in part, reversed the decrease of plasma membrane ABCA1 induced by hypoxia. **Conclusions** Hypoxia might accelerate the degradation of plasma membrane ABCA1 via enhancement of calpain activity.

Keywords: ATP binding cassette transporter A1; hypoxia; calpain; Cycloheximide

三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(adenosine triphosphate binding cassette transporter A1, ABCA1) 将细胞内胆固醇排出, 形成新生性高密度脂蛋白, 是抗动脉粥样硬化的重要膜蛋白^[1]。ABCA1 基因可被肝 X 受体(liver x receptor, LXR) 激动剂转录激活^[2], ABCA1 蛋白也可被钙蛋白酶介导蛋白降解^[3]。动脉粥样硬化斑块中缺氧普遍存在^[4-5], 而且缺氧显著降低巨噬细胞胆固醇外排, 延长缺氧时间, 促进 ABCA1 蛋白水平下调^[6], 但是 ABCA1 基因启动子还存在缺氧反应元件, 亦可被缺氧转录增强^[6]。笔者前期研究也发现, 缺氧诱导因子可增强钙蛋白酶表达及活性^[7]。故推测缺氧可能参与钙蛋白酶介导细胞膜 ABCA1 降解, 但鲜见相关文献报道。本研究上调巨噬细胞内源性 ABCA1 蛋白表达, 抑制新蛋白生成, 探讨缺氧对细胞膜 ABCA1 蛋白水平的影响。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

三气培养箱(美国 Thermo 公司), 超声破碎仪(KQ-500D A, 昆山市超声仪器有限公司), Beckman 21R 型冷冻离心机(美国 Beckman 公司), ABI 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 仪 9300 型, 美国 Thermo 公司), Western blot 电泳仪 164-5051, 美国 Bio-Rad 公司), Synergy HT 多检测酶标仪 美国 BIO-TEK 公司)。RAW264.7 细胞购买于中国科学院上海细胞库, 钙蛋白酶抑制剂 N-acetyl-Leu-Leu-Nor-leucinal, ALLN(美国 Sigma 公司, 货号: 208719), ABCA1 抗体 英国 Abcam 公司, 货号: ab18180), β 肌动蛋白抗体购于 英国 Abcam 公司, 货号: ab82227), 钙蛋白酶活性检测试剂盒(美国 Promega 公司, 货号: G8501), LXR 受体激动剂 TO-901317(美国 Cayman 公司, 货号: 71810), 放线菌酮 美国 Sigma 公司, 货号: C7698), 细胞表面蛋白提取试剂盒 美国 Pierce 公司, 货号: 89881)。

1.2 细胞培养及实验分组

RAW264.7 细胞常规培养于达尔伯克必需基本培养基(dulbecco's minimum essential medium, DMEM)/

F12, 取生长期细胞种植 6 孔板或 75 cm² 培养瓶, 实验分为 3 步: ① 给予或不给予 LXR 受体激动剂 TO-901317(1 μ mol/L), 分为空白对照组、二甲基亚砜(dimethyl sulphoxide, DMSO) 组及 TO-901317 组, 检测干预 24 h 前后 ABCA1 mRNA 及细胞膜蛋白水平; ② 缺氧对细胞膜 ABCA1 蛋白水平影响。取 LXR 受体激动剂干预后 24 h 细胞, 放线菌酮(50 mmol/l) 或缺氧(1% 氧气 O₂) 共孵育 12 h, 分为常氧组、缺氧组、放线菌酮组 + 常氧组、放线菌酮 + 缺氧组, 细胞生物素标记法提取膜蛋白, 检测 ABCA1 含量, 荧光法检测钙蛋白酶活性; ③ 钙蛋白酶抑制剂 ALLN(10 μ mol/L) 对 ABCA1 表达影响, 分为常氧组、缺氧组、缺氧 + ALLN 组、缺氧 + 放线菌酮组、缺氧 + 放线菌酮 + ALLN 组, 检测 ABCA1 含量及钙蛋白酶活性。

1.3 实验方法

1.3.1 qRT-PCR 提取总 RNA, 逆转录为 cDNA, qRT-PCR 25 μ l 反应体系包括 SYBR Green qRT-PCR 反应混合物 12.5 μ l, cDNA 模板 1 μ l, NHE-1、 β 肌动蛋白正反向引物各 0.5 μ l。ABCA1 正向引物: 5'-GGACATGCACAAGGTCCTGA-3', 反向引物: 5'-CAGAAAATCCTGGAGCTTCAAA-3'; β 肌动蛋白正向引物: 5'-GCAGTTGGTTGGAGCAAACAT-3', 反向引物: 5'-AGGGACTTCCTGTAACCACT-3'。聚合酶链反应扩增条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 10 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 58 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 拉伸 30 s, 共 35 个循环。读取样本中 ABCA1 和 β 肌动蛋白的 CT 值。 β 肌动蛋白作为内参照, 目的基因相对表达量采用 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 法进行计算。

1.3.2 生物素标记膜蛋白提取 严格按细胞表面蛋白提取试剂盒(美国 Pierce 公司)说明书提取膜蛋白。培养细胞冷磷酸盐缓冲溶液冲洗 2 次, 加入 Sulfo-NHS-SS-Biotin 溶液 10 ml, 4 $^{\circ}$ C 下振荡孵育 30 min, 终止反应, 刮取细胞加入 50 ml 离心管中, 500 r/min 离心 3 min, 去上清液。加入含蛋白抑制剂的细胞裂解液于沉淀中, 转移至 1.5 ml 离心管, 超声破碎 5 次, 冰上继续裂解 30 min, 4 $^{\circ}$ C、10 444 r/min 离心 2 min, 上清转移至新离心管中。加入含蛋白抑制剂的细胞裂解液于 1.5 ml 离心管中。轻轻插入吸附柱, 向柱中加入

500 μ l Neutr Avidin 琼脂糖珠,加入上述生物素化上清,震荡室温孵育 60 min,加入含蛋白抑制剂洗涤液离心。50 mmol/L 二硫苏糖醇的聚丙烯酰胺凝胶上样缓冲液加入吸附柱,震荡孵育 60 min,吸附柱 3 302 r/min 离心 2 min,收集含样本的聚丙烯酰胺凝胶上样缓冲液。

1.3.3 Western blot 检测细胞膜 ABCA1 蛋白 等量蛋白上样,聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,转移到聚偏氟乙烯膜,5%脱脂牛奶封闭后孵育 I 抗(抗 ABCA1 单抗,1:1 000)过夜,孵育 II 抗,增强化学发光显色。 β 肌动蛋白作为内参照。

1.3.4 钙蛋白酶活性检测 按钙蛋白酶活性检测试剂盒说明书操作步骤进行检测。已处理 RAW264.7 细胞中加入无钙裂解液,取 50 μ l 蛋白上清液用来检测钙蛋白酶活性。每个样品分别加入含钙或无钙的缓冲液,再加入特异性荧光底物 Suc-LLVY- 氨基虫荧光素,37 $^{\circ}$ C 反应 4 h,在 Synergy HT 多检测酶标仪读数(激发/发射波长为 355/460 nm),其活性用含钙样品的读数减无钙样品的读数计算。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组比较用单因素方差分析,若方差齐组间两两比较用 LSD-*t* 检验,所有检验均为双侧检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LXR 受体激动剂 TO-901317 对细胞 ABCA1 表达的影响

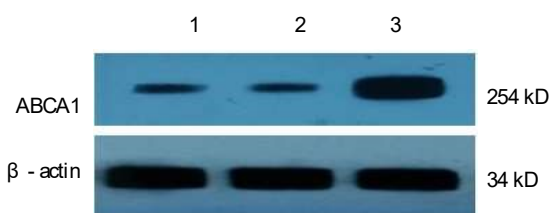
LXR 受体激动剂 TO-901317 干预 24 h,qRT-PCR 检测各组 mRNA 水平,经方差分析,差异有统计学意义($F=41.603,P=0.001$)。DMSO 组与空白对照组 ABCA1 mRNA 水平比较,差异无统计学意义($t=-0.166,P=0.595$);TO-901317 组与 DMSO 组 ABCA1 mRNA 水平比较,差异有统计学意义($t=11.343,P=0.033$),提示 TO-901317 组的 mRNA 水平高于 DMSO 组。Western blot 检测结果显示,各组细胞膜 ABCA1 蛋白水平比较,经方差分析,差异有统计学意义($F=23.340,P=0.003$)。DMSO 组与空白对照组细胞膜 ABCA1 蛋白水平比较,差异无统计学意义($t=0.250,P=0.896$),而 TO-901317 组细胞膜 ABCA1 蛋白水平与 DMSO 组比较,差异有统计学意义($t=8.672,P=0.044$),提示 TO-901317 组细胞膜 ABCA1 水平高于 DMSO 组。故后续实验基于 TO-901317 干预后细胞

进行 ABCA1 降解分析。见表 1 和图 1。

表 1 LXR 受体激动剂对 ABCA1 表达的影响 ($n=3,\bar{x}\pm s$)

组别	ABCA1 mRNA	ABCA1 蛋白
空白对照组	1.000 \pm 0.118	0.152 \pm 0.036
DMSO 组	1.110 \pm 0.082	0.171 \pm 0.033
TO-901317 组	8.671 \pm 1.407 [†]	0.840 \pm 0.157 [†]

注:†与 DMSO 组比较, $P<0.05$



1:空白对照组;2:DMSO组;3:TO-901317组

图 1 TO-901317 对 RAW264.7 细胞膜 ABCA1 蛋白的影响

2.2 缺氧及放线菌酮对细胞膜 ABCA1 蛋白及钙蛋白酶活性的影响

TO-901317 干预后细胞给予放线菌酮或缺氧干预 12 h,各组细胞膜 ABCA1 蛋白水平比较,经方差分析,差异有统计学意义($F=7.809,P=0.013$)。常氧+放线菌酮组与常氧组细胞膜 ABCA1 蛋白水平比较,经 LSD-*t* 检验,差异无统计学意义($t=0.993,P=0.348$);缺氧+放线菌酮组与缺氧组比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义($t=-3.551,P=0.007$),缺氧+放线菌酮组的细胞膜 ABCA1 蛋白水平低于缺氧组;更重要的是,缺氧组与常氧组、缺氧+放线菌酮组与常氧+放线菌酮组分别进行比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义($t=-8.797$ 和 $-11.355,P=0.000$),提示无论是否给予放线菌酮干预,缺氧条件下细胞膜 ABCA1 蛋白水平均低于常氧组。进而钙蛋白酶活性检测显示,各组钙蛋白酶活性比较,经方差分析,差异有统计学意义($F=132.619,P=0.000$)。常氧+放线菌酮组与常氧组、缺氧+放线菌酮组与常氧+放线菌酮组分别进行比较,经 LSD-*t* 检验,差异无统计学意义($t=0.603$ 和 $2.104,P=0.563$ 和 0.068),提示无论常氧还是缺氧,放线菌酮不影响钙蛋白酶活性;但缺氧组与常氧组、缺氧+放线菌酮组与常氧+放线菌酮组分别进行比较,差异有统计学意义($t=24.342$ 和 $22.239,P=0.000$),缺氧组、缺氧+放线菌酮组钙蛋白酶活性分别高于常氧组、常氧+放线菌酮组,提示缺氧增强钙蛋白酶活性。见表 2 和图 2。

2.3 ALLN 对细胞膜 ABCA1 蛋白及钙蛋白酶活性的影响

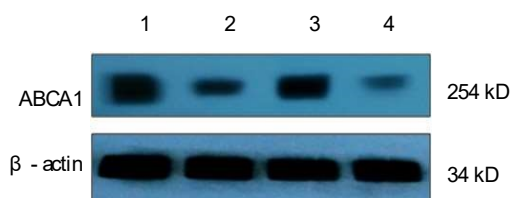
给予 ALLN 干预后,Western blot 检测 ABCA1 蛋白表达,各组蛋白水平比较,经方差分析,差异有统计学意义 ($F=64.604, P=0.000$)。缺氧组与常氧组比较,经 LSD- t 检验,差异有统计学意义 ($t=-11.182, P=0.000$)。缺氧组的细胞膜 ABCA1 蛋白水平低于常氧组;缺氧+ALLN 组与缺氧组比较,经 LSD- t 检验,差异有统计学意义 ($t=6.701, P=0.000$)。缺氧+ALLN 组的细胞膜 ABCA1 蛋白水平高于缺氧组;缺氧+放线菌酮+ALLN 组与缺氧+放线菌酮组比较,经 LSD- t 检验,差异有统计学意义 ($t=7.000, P=0.000$)。缺氧+放线菌酮+ALLN 组 ABCA1 蛋白水平高于于

氧+放线菌酮组。上述结果提示,钙蛋白酶抑制剂 ALLN 可逆转缺氧诱导的细胞膜 ABCA1 蛋白水平降低。钙蛋白酶活性检测结果显示,各组钙蛋白酶活性比较,经方差分析,差异有统计学意义 ($F=576.793, P=0.000$)。缺氧+ALLN 组与缺氧组、缺氧+放线菌酮+ALLN 组与缺氧+放线菌酮组分别进行比较,经 LSD- t 检验,差异有统计学意义 ($t=-29.783$ 和 $-28.898, P=0.000$)。缺氧+ALLN 组、缺氧+放线菌酮+ALLN 组的钙蛋白酶活性分别低于缺氧组、缺氧+放线菌酮组,提示 ALLN 能抑制钙蛋白酶活性。见表 3 和图 3。

表 2 缺氧及放线菌酮对 ABCA1 蛋白及钙蛋白酶活性的影响 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	ABCA1 蛋白	钙蛋白酶活性 /%
常氧组	0.762± 0.095	100.000± 7.022
缺氧组	0.313± 0.035 ¹	326.953± 17.289 ¹
常氧+放线菌酮组	0.711± 0.070	94.233± 9.645
缺氧+放线菌酮组	0.132± 0.018 ^{1,2,3}	306.837± 10.352 ^{1,2,3}

注:1)与常氧组比较, $P<0.05$;2)与缺氧组比较, $P<0.05$;3)与常氧+放线菌酮组比较, $P<0.05$



1:常氧组;2:缺氧组;3:常氧+放线菌酮组;4:缺氧+放线菌酮组

图 2 缺氧及放线菌酮对 RAW264.7 细胞膜 ABCA1 蛋白的影响

表 3 ALLN 对 ABCA1 蛋白及钙蛋白酶活性的影响 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	ABCA1 蛋白	钙蛋白酶活性 /%
常氧组	1.453± 0.170	100.000± 7.022
缺氧组	0.495± 0.073 ¹	326.953± 17.289 ¹
缺氧+ALLN 组	1.069± 0.109 ²	12.683± 9.280 ²
缺氧+放线菌酮组	0.241± 0.027 ²	318.783± 18.238
缺氧+放线菌酮+ALLN 组	0.841± 0.077 ³	13.847± 8.253 ³

注:1)与常氧组比较, $P<0.05$;2)与缺氧组比较, $P<0.05$;3)与常氧+放线菌酮组比较, $P<0.05$



1:常氧组;2:缺氧组;3:缺氧+ALLN 组;4:缺氧+放线菌酮组;5:缺氧+放线菌酮+ALLN 组

图 3 ALLN 对细胞膜 ABCA1 蛋白的影响

3 讨论

缺氧导致细胞 ABCA1 蛋白水平降低及胆固醇外流异常^[4]。本研究从 ABCA1 降解新角度探讨缺氧细胞 ABCA1 蛋白水平下降机制,结果显示,缺氧显著升高钙蛋白酶活性,降低 ABCA1 蛋白水平,这些效应能钙蛋白酶抑制剂部分逆转,提示钙蛋白酶介导 ABCA1 降解是缺氧诱导 ABCA1 蛋白水平降低的重要途径。

缺氧是机体重要的生理及病理生理过程。缺氧诱导因子积聚是细胞对缺氧的重要反应。研究发现,缺氧可以升高细胞内钙离子浓度,同时升高钙蛋白酶活性^[7],钙蛋白酶被钙离子激活是广为接受的观点,故缺氧钙蛋白酶活性升高部分原因是钙离子升高所刺激。新近研究表明,缺氧时钙蛋白酶蛋白表达上调,可能是缺氧诱导钙蛋白酶活性升高的重要原因^[8]。缺氧诱导钙蛋白酶活性升高,不仅仅是影响细胞膜上 ABCA1 蛋白降解,还可能降解其他蛋白,从而参与各种细胞活动及功能^[9]。

本研究钙蛋白酶活性检测提示,缺氧上调钙蛋白酶活性,同时 ABCA1 蛋白水平降低,而且给予钙蛋白酶抑制剂,ABCA1 蛋白水平回升。缺氧诱导 ABCA1 降解,可能至少包括钙蛋白酶介导 ABCA1 降解。钙蛋白酶介导 ABCA1 降解机制明确,但是其意义有待进一步明确,本研究发现可将缺氧诱导与钙蛋白

酶介导 ABCA1 降解联系起来。除缺氧外,还有其他重要因素或因子能升高钙蛋白酶^[9-10],对进一步明确与钙蛋白酶相关 ABCA1 降解具有一定借鉴意义。

本实验主要研究缺氧对细胞膜上 ABCA1 表达的影响。笔者发现,缺氧下调细胞膜上 ABCA1 蛋白水平,该蛋白水平降低与既往研究 ABCA1 基因启动子区域拥有缺氧反应元件,并与 HIF-1 β 相对应的 ABCA1 量升高不一致^[9]。该 mRNA 水平高于膜蛋白水平的差异,可能是归因于转录后调控。首先,缺氧可能降低 mRNA 稳定性^[11]。要形成活性膜蛋白需要从高尔基体转运至细胞膜^[12],该过程可能受到缺氧调节。其次,膜蛋白更新,膜蛋白不断被降解。缺氧能否影响 ABCA1 mRNA 稳定性有待进一步研究。但是本研究利用 LXR 激动剂上调 ABCA1 后给予缺氧,并给予放线菌酮抑制新生蛋白产生,蛋白变化主要反映出 ABCA1 降解,表明缺氧加速 ABCA1 降解。ABCA1 活性形式主要是细胞膜上 ABCA1,而且有文献研究表明,钙蛋白酶在细胞膜附近被激活,可通过细胞骨架蛋白 Ezrin 参与进行^[9]。本研究可在一定程度上解释缺氧时间短,ABCA1 总蛋白无明显变化而胆固醇外流异常,而且在细胞膜 ABCA1 表达下降^[9]。

本研究明确缺氧经钙蛋白酶途径促进 ABCA1 降解,但是缺氧如何促进钙蛋白酶介导 ABCA1 降解,以及如何调控等更详尽机制有待进一步研究。鉴于 ABCA1 在抗动脉粥样硬化中的独特的重要作用^[13],本研究从 ABCA1 降解新角度,为深入探讨缺氧参与动脉粥样硬化新机制提供新思路。

参 考 文 献:

- [1] ORAM J F, LAWN R M, GARVIN M R, et al. ABCA1 is the cAMP-inducible apolipoprotein receptor that mediates cholesterol secretion from macrophages[J]. J Biol Chem, 2000, 275: 34508-34511.
- [2] CHAWLA A, BOISVERT W A, LEE C H, et al. A PPAR gamma-LXR-ABCA1 pathway in macrophages is involved in cholesterol efflux and atherogenesis[J]. Mol Cell, 2001, 7: 161-171.
- [3] WANG N, CHEN W, LINSSEL-NITSCHKE P, et al. A PEST sequence in ABCA1 regulates degradation by calpain protease and stabilization of ABCA1 by apoA-I[J]. J Clin Invest, 2003, 111: 99-107.
- [4] PARATHATH S, MICK S L, FEIG J E, et al. Hypoxia is present in murine atherosclerotic plaques and has multiple adverse effects on macrophage lipid metabolism[J]. Circ Res, 2011, 109: 1141-1152.
- [5] PEDERSEN S F, GRABE M, HAG A M, et al. (18)F-FDG imaging of human atherosclerotic carotid plaques reflects gene expression of the key hypoxia marker HIF-1 α [J]. Am J Nucl Med Mol Imaging, 2013, 3: 384-392.
- [6] UGOCSAI P, HOHENSTATT A, PARAGH G, et al. HIF-1beta determines ABCA1 expression under hypoxia in human macrophages[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2010, 42: 241-252.
- [7] MO X G, CHEN Q W, LI X S, et al. Suppression of NHE1 by small interfering RNA inhibits HIF-1 α -induced angiogenesis in vitro via modulation of calpain activity[J]. Microvasc Res, 2011, 81: 160-168.
- [8] CUI W, ZHOU J, DEHNE N, et al. Hypoxia induces calpain activity and degrades SMAD2 to attenuate TGF β signaling in macrophages[J]. Cell Biosci, 2015, 5: 36.
- [9] YOUN J Y, WANG T, CAI H. An ezrin/calpain/PI3K/AMPK/eNOSs 1179 signaling cascade mediating VEGF-dependent endothelial nitric oxide production[J]. Circ Res, 2009, 104: 50-59
- [10] 苑聪,吴浩,姜志胜,等.胰岛素可通过 calpain 和 proteasome 途径促进 3T3-L1 脂肪细胞三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 的降解[J]. 中华心血管病杂志, 2015, 43: 141-145.
- [11] HOSOGAI N, FUKUHARA A, OSHIMA K, et al. Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation[J]. Diabetes, 2007, 56: 901-911.
- [12] NEUFELD E B, REMALEY A T, DEMOSKY S J, et al. Cellular localization and trafficking of the human abca1 transporter[J]. J Biol Chem, 2001, 276: 27584-27590.
- [13] DEAN M, HAMON Y, CHIMINI G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily[J]. J Lipid Res, 2001, 42: 1007-1017.

(童颖丹 编辑)