

miR-17-5p 对动脉粥样硬化小鼠血管病变及 VLDLR 表达的影响*

谭力力¹, 刘丽敏^{2△}, 张秀春¹, 朴成浩³

1. 沈阳医学院附属第二医院 急诊科(沈阳 110000); 2. 沈阳医学院附属第二医院 心血管内科(沈阳 110000);

3. 沈阳医学院附属第二医院 放射线科(沈阳 110000)

【摘要】 目的 探讨 miR-17-5p 对动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)小鼠血管病变及极低密度脂蛋白受体(VLDLR)表达的影响。**方法** 用高脂饲养 *ApoE*^{-/-} 小鼠 15 周构建 AS 小鼠模型,第 13~15 周尾静脉注射 miR-17-5p 抑制剂 antagomiR-17-5p 20 mg/kg(antagomiR-17-5p 组, *n*=10)干扰小鼠体内的 miR-17-5p 表达,并设 AS 模型组(同时点注射生理盐水, *n*=10)和 NC miRNA 组(同时点注射阴性对照抑制剂, *n*=10),同时取 10 只 C57BL/6 小鼠正常饮食 15 周作为正常对照(NC 组,同时点注射生理盐水)。HE 染色检测各组小鼠动脉血管的病理变化并测量各组小鼠血管形态学改变。通过 Targetscan 靶基因预测数据库预测, *VLDLR* 为 miR-17-5p 的靶基因,免疫荧光观察各组小鼠血管组织中 VLDLR 的分布变化;Real-time PCR 和 Western blot 检测各组小鼠动脉组织中 *VLDLR* mRNA 和蛋白表达变化。**结果** HE 染色结果显示 AS 模型组与 NC 组相比,其血管内皮形成了明显的斑块,平滑肌细胞排列紊乱,内膜增生,而 antagomiR-17-5p 处理的小鼠与 NC miRNA 组相比,病变程度明显减轻。AS 模型组较 NC 组小鼠的内膜面积增加,抑制 miR-17-5p 的作用之后,内膜面积减少;各组小鼠中膜面积差异无统计学意义。血管管腔面积以及内膜/中膜比(I/M)值,AS 模型组和 NC-miRNA 组小鼠比 NC 组减小,而 antagomiR-17-5p 组则缓解了这种作用(*P*<0.05)。免疫荧光显示:AS 模型组 VLDLR 表达下降,antagomiR-17-5p 组较 NC miRNA 组表达增多。AS 模型组中 *VLDLR* 基因的表达量较 NC 组下降(*P*<0.01),而 antagomiR-17-5p 组与 NC miRNA 组相比 *VLDLR* 基因的表达量上调(*P*<0.05)。Western blot 检测的 VLDLR 表达结果类似。**结论** miR-17-5p 抑制剂可能通过上调动脉组织中 VLDLR 的表达,有效缓解 AS 小鼠动脉血管的病理变化,有望成为治疗 AS 的新靶点。

【关键词】 miR-17-5p 动脉粥样硬化 极低密度脂蛋白受体

The Effect of miR-17-5p on Vascular Lesion and Expression of VLDLR in Atherosclerotic Mice TAN Li-li¹, LIU Li-min^{2△}, ZHANG Xiu-chun¹, PIAO Cheng-hao³. 1. Department of Emergency, the Second Hospital of Shenyang Medical College, Shenyang 110000, China; 2. Department of Vasculocardiology, the Second Hospital of Shenyang Medical College, Shenyang 110000, China; 3. Department of Radiology, the Second Hospital of Shenyang Medical College, Shenyang 110000, China

△ Corresponding author, E-mail: lmlu@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of miR-17-5p on vascular lesion and expression of very low density lipoprotein receptor (VLDLR) in atherosclerotic (AS) mice. **Methods** *ApoE*^{-/-} mice were fed with high fat diet for 15 weeks to establish atherosclerotic mice models, and these mice were injected with miR-17-5p inhibitor antagomiR-17-5p 20 mg/kg from week 13 to week 15 to interfere the expression of miR-17-5p. AS model group (injection of normal saline) and NC miRNA group (injection of negative control inhibitors) were set and C57BL/6 mice were fed with normal diet for 15 weeks as normal control group (NC group, injection of normal saline during week 13-15). HE staining was used to detect the pathological changes of arterial vessels in each group and the vascular morphological changes were measured as well, so as to investigate the therapeutic effect of interfering miR-17-5p on AS vascular lesions. According to the prediction of Targetscan target gene prediction database, *VLDLR* as the target gene of miR-17-5p, the distribution of VLDLR in vascular tissues of mice in each group was observed by immunofluorescence. The effect of miR-17-5p on the expression of *VLDLR* mRNA in the arterial tissues of each group was detected by real-time PCR, and the changes of VLDLR protein expression caused by miR-17-5p in the arterial tissues in each group was detected by Western blot. **Results** The results of HE staining showed that compared with the NC group, the AS model group had obvious plaques in vascular endothelium, smooth muscle

* 辽宁省自然科学基金资助项目(No. 2016010726-301)和沈阳市科技局科技计划项目(No. F16-206-9-17、No. F14-158-9-27)资助

△ 通信作者, E-mail: lmlu@126.com

cell disorder and intimal hyperplasia, while the antagomiR-17-5p treated mice had significantly less lesions compared with the NC miRNA group. The intimal area of mice in the AS model group was bigger compared with NC group, but decreased after the inhibition of miR-17-5p. There was no statistically significant difference in the area of the media in each group. Vascular lumen area was smaller and intima/media ratio (I/M) values were lower in the AS model group and the NC miRNA group compared with the NC group, while the antagomiR-17-5p group alleviated this effect ($P < 0.05$). Immunofluorescence showed that the expression of VLDLR in the AS model group was decreased, and that in the antagomiR-17-p group was higher than that in the NC miRNA group. The expression of VLDLR gene in the AS model group was lower than that in the NC group ($P < 0.01$), while the VLDLR gene expression was higher in the antagomiR17-p group than that in the NC miRNA group ($P < 0.05$). The results of VLDLR expression detected by Western blot were similar. **Conclusion** miR-17-5p inhibitors may effectively alleviate the pathological changes of arterial vessels in AS mice by up-regulating the expression of VLDLR in arterial tissues, and may become a new therapeutic target for AS disease.

【Key words】 miR-17-5p Atherosclerotic Very low density lipoprotein receptor

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是一种血管壁的慢性疾病,主要症状为大、中动脉内膜下脂质沉积,内膜增厚,形成粥样斑块。AS 是中风、心肌梗死、缺血性心脏病和其他心脑血管疾病的主要原因^[1-2]。到目前为止,AS 的发病机制尚未完全清楚。近年的研究表明 miRNA 在 AS 的发生过程中具有十分重要的功能。例如,miR-122 影响胆固醇代谢,miR-29b 影响血管平滑肌细胞迁移过程等^[3-4]。近来,CHEN 等^[5]的研究表明 miR-17-5p 的表达水平与冠状动脉粥样硬化的严重程度有关,提示 miR-17-5p 可能参与 AS 的发病过程^[6]。极低密度脂蛋白受体(very low density lipoprotein receptor, VLDLR)是低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)超家族中的成员,在 AS 的发生及进展中发挥作用。通过生物信息学方法可预测得到 miR-17-5p 与 VLDLR 的靶向关系,所以我们推测 miR-17-5p 可通过调节 VLDLR 的表达而影响 AS 的发生。然而,miR-17-5p 在 AS 发生过程中的作用、减轻 AS 的程度以及对 VLDLR 表达的影响尚不十分清楚,有待进一步研究。因此,本实验通过建立 AS 小鼠模型,干扰体内 miR-17-5p 的表达,观察各组小鼠血管病变程度以及 VLDLR 的表达变化,进一步探讨 miR-17-5p 通过调节 VLDLR 干扰 AS 的分子机制,为临床治疗提供新的靶点。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 实验所用的 C57BL/6 小鼠和 *ApoE*^{-/-} 小鼠(雄性,6 周,18~22 g)购自 Vital River 实验动物技术有限公司(北京)。*ApoE* 基因

剔除小鼠模型表现出异常高血脂症状,随着月龄增加出现大量类似 AS 前期的损伤,是常用的 AS 动物模型。

1.1.2 主要试剂、仪器 Exicycler 96 荧光定量 PCR 仪购自韩国 BIONEER 公司;H-2050R 超速冷冻离心机购自长沙湖南湘仪公司;DP73 显微镜购自日本 OLUMPUS 公司;DYY-7C 电泳仪购自北京六一公司;Super M-MLV 反转录酶、高纯总 RNA 快速提取试剂盒购自中国 BioTeke 公司;ab203271 VLDLR antibody 购自英国 abcam 公司;sc-47778 内参抗体 β -actin 购自美国 Santa Cruz 公司;3090-250 RNase 固相清除剂购自中国天恩泽公司;S23025101 曙红 Y、醇溶购自中国国药集团公司;miR-17-5p 拮抗剂购自上海吉马公司。

1.2 方法

1.2.1 动物模型分组和取材 正常对照组(NC 组):C57BL/6 小鼠($n=10$)正常饮食喂养 15 周;AS 组:*ApoE*^{-/-} 小鼠($n=30$)用高胆固醇饮食(质量分数为 1.25%的胆固醇和质量分数为 21%的脂肪)喂养 15 周,从第 13 周起分为 AS 模型组($n=10$)、NC miRNA 组($n=10$)和 miR-17-5p 抑制剂组(antagomiR-17-5p 组, $n=10$)进行干预。NC-miRNA 组:第 13~15 周尾静脉注射 miRNA 阴性对照抑制剂,每周 2 次;antagomiR-17-5p 组:第 13~15 周,尾静脉注射 miR-17-5p 抑制剂 antagomiR-17-5p(20 mg/kg),每周 2 次。AS 模型组和 NC 组第 13~15 周尾静脉注射生理盐水,每周 2 次。

第 15 周末喂养结束后,所有小鼠处死前 12 h 禁食,腹腔注射 10%水合氯醛,麻醉后固定,处死小鼠,解剖得到胸主动脉,部分置于体积分数 4%多聚

甲醛中固定,用于病理染色,部分置于-80℃冻存用于分子生物学等检测。

1.2.2 HE 染色检测小鼠血管的形态学变化 取出的胸主动脉用生理盐水清洗后立即浸入体积分数4%甲醛溶液固定,包埋切片、脱蜡、苏木素染色、盐酸酒精分化、自来水反蓝、伊红染色、脱水、透明、封片后用光学显微镜观察血管的结构变化。通过 IPP 软件(Image Pro plus 6.0)对各组动物进行内膜面积、中膜面积、管腔面积以及内膜/中膜面积比(I/M)等进行测量,比较各组间血管形态学的变化。

1.2.3 免疫荧光检测小鼠血管组织中 VLDLR 表达 石蜡切片脱蜡至水,置于抗原修复液进行修复,山羊血清封闭,一抗(兔抗 VLDLR 多克隆抗体)孵育,湿盒内4℃过夜,滴加二抗(Cy3 标记山羊抗兔)进行孵育,抗荧光淬灭剂封片,于荧光显微镜下观察。以蓝色的细胞核为参照,在蓝色荧光强度相近的情况下,红色的强度增大判定为 VLDLR 表达增高。

1.2.4 实时荧光定量 PCR(real-time PCR)检测小鼠血管组织中 VLDLR mRNA 表达 每只小鼠精确称量胸主动脉组织约 20 mg,加入 TRIzol 1 mL 后提取总 RNA,测定总 RNA 浓度及纯度,采用 VLDLR 特异性逆转录引物及逆转录试剂盒合成 cDNA(上海生工工程有限公司)。随后以 cDNA 为模版进行 real-time PCR 反应。引物序列如下: VLDLR, F: 5'-CCCGTTCTACTCAGTGTATCC C-3', R: 5'-CTGCCATCGTCACAGTCATCC-3', 扩增产物长度 184 bp;内参 β -actin, F: 5'-CTGTG CCCATCTACGAGGGCTAT-3', R: 5'-TTTGAT GTCACGCACGATTTCC-3', 扩增产物长度 155 bp。扩增反应条件:预变性 95℃ 10 min,然后将95℃变性 10 s、60℃退火 20 s、72℃ 30 s 延伸共 40 个循环,最后 4℃冷却 5 min。VLDLR 的相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 来表示,所有数据均重复测量 3

次,每组内取平均值进行比较。

1.2.5 Western blot 检测小鼠血管组织中 VLDLR 蛋白表达变化 每只精确称量胸主动脉约 20 mg,加组织裂解液,提取样本中的总蛋白,BCA 检测蛋白浓度;取总蛋白样品进行 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳,转印至 PVDF 膜,然后将 PVDF 膜经脱脂奶粉封闭 2 h,加入 VLDLR 一抗(1:200),摇床摇晃 2 h,4℃过夜;TBST 洗膜 3 次,二抗孵育 2 h,再次洗膜 3 次,ECL 底物发光,分析条带灰度值,以目的条带与 β -actin 的灰度比值表示 VLDLR 蛋白的相对表达量。

1.2.6 统计学方法 以 $\bar{x}\pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析,两独立样本比较采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血管内膜、中膜面积以及管腔面积变化

见图 1。AS 模型组和 NC miRNA 组、antagomiR-17-5p 组的血管内膜面积和 I/M 值较 NC 组增加,差异有统计学意义 ($P<0.01$), antagomiR-17-5p 组内膜面积和 I/M 值较 NC miRNA 组和 AS 模型组减少,差异有统计学意义 ($P<0.01, P<0.05$)。4 组小鼠动脉血管的中膜面积变化不大,差异无统计学意义。与 NC 组相比, AS 模型组和 NC miRNA 组动脉的管腔面积缩小,差异有统计学意义 ($P<0.05$); antagomiR-17-5p 组的管腔面积高于 NC-miRNA 组和 AS 组,差异有统计学意义 ($P<0.05$),与 NC 组相比差异无统计学意义。

2.2 各组小鼠主动脉血管光镜下的变化

HE 染色显示:对照组血管内皮光滑,无斑块形成,在高倍镜下可以看到内皮细胞排列整齐,形态完整;AS 模型组小鼠与 NC miRNA 组小鼠血管内皮

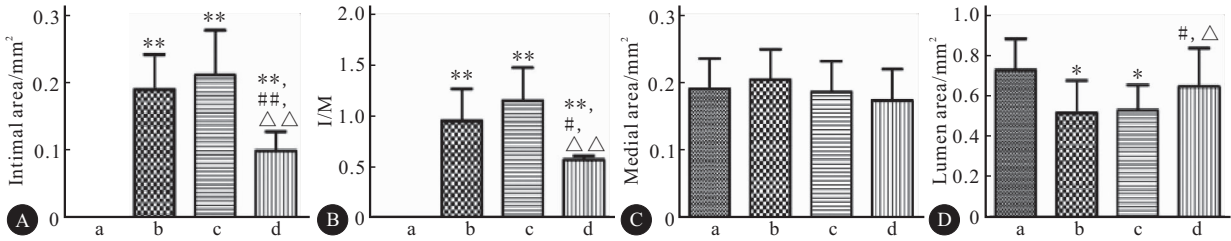


图 1 动脉血管测量
Fig 1 Messurement of artery vessels

A: Intimal area; B: The ratio of intimal to medial area (I/M); C: Medial area; D: Lumen area; a: NC group; b: AS model group; c: NC miRNA group; d: AntagomiR-17-5p group; * $P<0.01$, * $P<0.05$, vs. NC group; $\Delta\Delta P<0.01$, $\Delta P<0.05$, vs. NC-miRNA group; $\#\# P<0.01$, $\# P<0.05$, vs. AS model group

有明显的斑块形成,内皮细胞肿胀,平滑肌细胞排列紊乱,内膜增生严重;antagomiR-17-5p 组小鼠与模型组和 NC miRNA 组相比,病变程度明显减轻。见图 2。

2.3 免疫荧光观察血管 VLDLR 表达

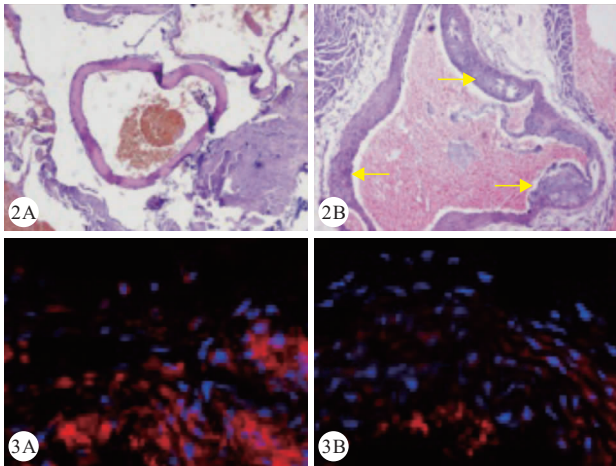


图 2 动脉血管 HE 染色(黄色箭头指示为内膜增厚区域)。×40
图 3 动脉血管中 VLDLR 免疫荧光染色(红色:VLDLR 阳性;蓝色:细胞核)。×400

Fig 2 HE staining of arteries (yellow arrows indicating intimal thickening areas). ×40
Fig 3 VLDLR immunofluorescence staining in arterial blood vessels (Red: VLDLR; Blue: Cell nuclear). ×400

2A, 3A: NC group; 2B, 3B: AS model group; 2C, 3C: NC miRNA group; 2D, 3D: AntagomiR-17-5p group

2.4 各组血管中 VLDLR mRNA 和蛋白水平的变化

以 NC 组的表达量为 1,在 AS 模型组和 NC miRNA 组 VLDLR mRNA 和蛋白表达量下调,与 NC

AS 模型组和 NC miRNA 组细胞中的 VLDLR 表达量少于 NC 组,而在 antagomiR-17-5p 组中, VLDLR 的表达量高于 NC miRNA 组和 AS 组,但仍低于 NC 组,说明抑制 miR-17-5p 的表达,提高了动脉血管中 VLDLR 的表达。见图 3。

图 3 动脉血管中 VLDLR 免疫荧光染色(红色:VLDLR 阳性;蓝色:细胞核)。×400

Fig 3 VLDLR immunofluorescence staining in

组相比,差异有统计学意义($P<0.01$);而 antagomiR-17-5p 组 VLDLR mRNA 和蛋白水平较 NC miRNA 组和 AS 模型组上调($P<0.05$, $P<0.01$),但仍低于 NC 组($P<0.05$)。见附表和图 4。

附表 各组血管组织中 VLDLR mRNA 和蛋白的表达($n=10$)

Table Expressions of VLDLR mRNA and protein ($n=10$)

Item	NC group	AS model group	NC miRNA group	antagomiR-17-5p group
VLDLR mRNA	1.00	$0.27 \pm 0.03^{**}$	$0.30 \pm 0.04^{**}$	$0.68 \pm 0.04^{*,\#\triangle}$
VLDLR protein	1.00	$0.38 \pm 0.02^{**}$	$0.40 \pm 0.01^{**}$	$0.77 \pm 0.01^{*,\#\triangle\triangle}$

* $P<0.01$, * $P<0.05$, vs. NC group; $\triangle P<0.05$, $\triangle\triangle P<0.01$, vs. NC-miRNA group; # $P<0.01$, # $P<0.05$, vs. AS model group

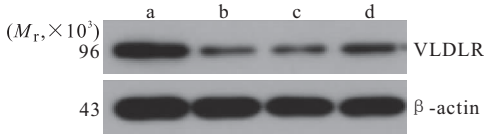


图 4 各组 VLDLR 蛋白的表达

Fig 4 Expression of VLDLR protein

a, b, c, d: Note the same as fig 1

3 讨论

AS 是一种全身炎症性疾病,严重威胁人类健康。脂质斑块的形成可导致血栓、动脉闭塞等疾

病^[1-2,6]。但到目前,AS 的发病机制尚未完全清楚。miRNA 是由内源基因编码的非编码小 RNA,在基因表达和调控中起重要作用,包括细胞增殖、发育、血管生成,胆固醇代谢^[7],肿瘤或细胞死亡。如:miR-31 通过调控血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)、细胞黏附分子-1(ICAM-1)和 E-选择素(E-SEL)的表达影响血管炎症过程^[8]。miR-21 可以逆转 H_2O_2 诱导的血管平滑肌细胞(VSMCs)凋亡^[9]。miRNA 检测方便,一些 miRNA 分子的表达量与疾病发生具有较为明确的相关性^[10]。人为调控 miRNA 表达也是疾病治疗的一个重要发展方向。miR-17-5p 是 miR-17-92 家族一员,已报道具有抗肿瘤血管生

成的作用^[11]。最近 CHEN 等^[5]研究表明 miR-17-5p 表达水平也与冠状动脉粥样硬化严重程度有关,提示 miR-17-5p 可能参与 AS 的发病过程,但其具体机制尚不清楚。基于此,本实验通过建立动物模型,探讨 miR-17-5p 与 AS 的关系以及调控机制,为临床治疗提供新的靶点和方向。

本研究结果显示,给予 antagomiR-17-5p 处理后,可减轻动脉血管病变程度、内膜增生及斑块形成,无论是血管内膜、中膜面积、I/M,还是管腔面积,均较 NC miRNA 组改善。以上结果均说明抑制 miR-17-5p 的表达可降低 AS 程度,减轻血管形态学病变。目前未搜索到类似文献,本研究不仅为今后进一步研究 AS 的发生机制和临床治疗提供了新的理论依据,而且为今后的 RNA 干预奠定了坚实的基础。

VLDLR 是 LDLR^[12]超家族中的成员,主要分布在心肌、骨骼肌以及脂肪组织中。VLDLR 主要生理功能是帮助组织细胞摄取 VLDL,从而参与脂质代谢调节。其配体较多样,包括富含载脂蛋白 E 的 VLDL、中间密度脂蛋白(IDL)、乳糜颗粒、脂蛋白酯酶(LPL)、受体相关蛋白等。病理条件下,巨噬细胞膜上的 VLDLR 通过摄取富含三酰甘油的脂蛋白,促进三酰甘油在细胞中的沉积,影响泡沫细胞的形成,在 AS 的发生及进展中发挥作用。VLDLR 是与 AS 高度相关的蛋白之一,研究表明^[13],过表达 VLDLR 可能会下调 VLDL 和 IDL 的水平,具有抗 AS 的作用。通过生物信息学方法,我们预测 VLDLR 可能为 miR-17-5p 的靶基因。为了进一步验证二者的靶向关系,我们通过免疫荧光检测各组小鼠动脉组织中 VLDLR 的表达。免疫荧光结果显示 AS 模型组小鼠中 VLDLR 的表达量较 NC 组下降,抑制 miR-17-5p 的作用令 VLDLR 的表达水平有所恢复。除此之外,本研究发现抑制 miR-17-5p 可使 VLDLR 的基因和蛋白表达量升高,提示 miR-17-5p 可能是通过调控 VLDLR 的表达量影响 AS 的发病进程。以上结果均显示出 miR-17-5p 作为靶点在治疗 AS 治疗中的应用潜力,可能为临床诊治和科学研究提供新的策略和研究方向。但根据在线预测结果,miR-17-5p 有众多靶基因,本研究选取了和 AS 相关性较高的 VLDLR 进行研究,但对于其他基因是否参与 AS 调控还不清楚,miR-17-5p 是否还存在其他调控 AS 的机制仍需要进一步的研究。

参 考 文 献

[1] WILLIAMS KJ, WU X. Imbalanced insulin action in chronic

over nutrition: clinical harm, molecular mechanisms, and a way forward. *Atherosclerosis*, 2016, 247: 225-282 [2017-03-22]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002191501630048X?via%3Dihub>. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.02.004.

- [2] LEONG XF, JAARIN K. Animal models in cardiovascular research: hypertension and atherosclerosis. *Biomed Res Int*, 2015, 15: 528-757 [2018-04-11]. <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/528757/>. doi: 10.1155/2015/528757.
- [3] WANG L, TANG W, YAN S, *et al*. Efficient delivery of miR-122 to regulate cholesterol metabolism using a non-covalent peptide-based strategy. *Mol Med Rep*, 2013, 8(5): 1472-1478.
- [4] LEE J, LIM S, SONG BW, *et al*. MicroRNA-29b inhibits migration and proliferation of vascular smooth muscle cells in neointimal formation. *J Cell Bioch*, 2014, 116(4): 598-608.
- [5] CHEN J, XU L, HU Q, *et al*. MiR-17-5p as circulating biomarkers for the severity of coronary atherosclerosis in coronary artery disease. *Int J Cardiol*, 2015, 197: 123-124. [2017-03-21]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167527315013388?via%3Dihub>. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.06.037.
- [6] VAN WYNSBERGHE PM, CHAN SP, SLACK FJ, *et al*. Analysis of microRNA expression and function. *Methods Cell Biol*, 2011, 106(4): 219-252.
- [7] RAYNER KJ, SUAREZ Y, DAVALOS A, *et al*. MiR-33 contributes to the regulation of cholesterol homeostasis. *Science*, 2010, 328(5985): 1570-1573.
- [8] ASGERIRSOTTIR SA, SOLINGEN C, KURNIATI NF, *et al*. MicroRNA-126 contributes to renal microvascular heterogeneity of VCAM-1 protein expression in acute inflammation. *Am J Ren Physiol*, 2012, 302(12): 1630-1639.
- [9] LI Z, HASSAN MQ, JAFFERJI M, *et al*. Biological functions of miR-29b contribute to positive regulation of osteoblast differentiation. *J Biol Chem*, 2009, 284(23): 15676-15684.
- [10] BENTWICH I, AVNIEL A, KAROV Y, *et al*. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs. *Nat Genet*, 2005, 37(7): 766-770.
- [11] DOEBELE C, BONAUEA A, FISCHER A, *et al*. Members of the microRNA-17-92 cluster exhibit a cell-intrinsic antiangiogenic function in endothelial cells. *Blood*, 2010, 115(23): 4944-4950.
- [12] PARK SW, MOON YA, HORTON JD. Post-transcriptional regulation of low density lipoprotein receptor protein by proprotein convertase subtilisin/kexin type 9a in mouse liver. *J Biol Chem*, 2004, 279(48): 50630-50638.
- [13] MACDOUGALL ED, KRAMER F, POLINSKY P, *et al*. Aggressive very low-density lipoprotein (VLDL) and LDL lowering by gene transfer of the VLDL receptor combined with a low-fat diet regimen induces regression and reduces macrophage content in advanced atherosclerotic lesions in LDL receptor-deficient mice. *Am J Pathol*, 2006, 168(6): 2064-2073.

(2017-11-06 收稿, 2018-01-04 修回)

编辑 吕 熙