

血管平滑肌细胞自噬对小鼠主动脉夹层形成的影响

陈琳¹, 程玲霞¹, 杨帆¹, 刘英¹, 胡迎春¹, 钟武^{1,2}

(1. 西南医科大学附属医院急诊医学部, 四川 泸州 646000; 2. 泸州市人民医院, 四川 泸州 646000)

摘要:【目的】研究血管平滑肌自噬对小鼠主动脉夹层形成的影响。【方法】①构建小鼠主动脉夹层模型: 60只C57BL/6小鼠被随机分为三组: 阴性对照组、实验(AD)组、氯喹(CQ)干预组, 实验组与CQ组使用 β -氨基丙腈(BAPN)喂养联合人血管紧张素- II (Ang- II)皮下注射16 d构建小鼠主动脉夹层的模型, 同时干预组每天腹腔注射CQ, 对照组给予生理盐水。②Yes相关蛋白(YAP)、自噬相关蛋白及血管平滑肌细胞相关标志蛋白的检测: 采用蛋白质免疫印迹法、免疫组织化学染色法对小鼠主动脉样本中YAP、微管相关蛋白1轻链3(LC3)、P62及血管平滑肌细胞不同表型相关标志蛋白进行检测。【结果】①实验组主动脉夹层的发生率为60%, 干预组小鼠未见明显主动脉夹层形成征象。②与对照组相比, 实验组与干预组小鼠主动脉中合成型血管平滑肌细胞(VSMC)标志蛋白骨桥蛋白(OPN)、LC3含量明显增高, 同时, 收缩型VSMC标志蛋白 α -SMA及YAP蛋白的表达下降($P < 0.05$)。【结论】在BAPN联合Ang- II构建的小鼠主动脉夹层模型中, YAP蛋白调控VSMC表型转化, 且该过程受到自噬的调节, 自噬可能作为YAP蛋白调控VSMC表型转化致小鼠主动脉夹层形成的关键。

关键词: 小鼠; 主动脉夹层; 自噬; 血管平滑肌细胞; Yes相关蛋白

中图分类号: R543 文献标志码: A 文章编号: 1672-3554(2021)02-0226-09

Impact of Autophagy in Vascular Smooth Muscle Cells on Mouse Aortic Dissection

CHEN Lin¹, CHENG Ling-xia¹, YANG Fan¹, LIU Ying¹, HU Ying-chun¹, ZHONG Wu^{1,2}

(1. Department of Emergency Medicine, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 2. Luzhou People's Hospital, Luzhou 646000, China)

Correspondence to: ZHONG Wu; E-mail: zhongwu2876@sina.com

Abstract: 【Objective】 To identify the role of autophagy in vascular smooth muscle cells (VSMC) and the formation of aortic dissection (AD) using a murine model. 【Methods】 ① Sixty C57BL/6 mice were randomly divided into three groups: control group, model group and chloroquine (CQ) group. The model and CQ groups were fed β -aminopropionitrile (BAPN) and injected with human angiotensin- II (Ang- II) for 16 days. The CQ group had chloroquine injected into the abdominal cavity of the mice daily while the control group was injected with normal saline using the same method. ② YAP, LC3, p62 and different phenotype related marker proteins were measured by western blot and immunohistochemistry staining. 【Results】 ① The incidence of AD was 60% in the model group, while there was no case found in the CQ group. ② LC3 and synthetic related marker proteins of VSMC were significantly and highly expressed in the model and CQ groups, whereas the expression of VSMC contractile phenotype proteins and YAP inversely decreased ($P < 0.05$). 【Conclusion】 Results demonstrate that autophagy regulates the phenotypic transformation of VSMC via YAP protein pathways.

Key words: mouse; aortic dissection; autophagy; vascular smooth muscle cell; YAP

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2021, 42(2): 226-234]

收稿日期: 2020-12-14

基金项目: 四川省卫生健康委基金(17PJ127); 西南医科大学附属医院博士科研启动基金(19085)

作者简介: 陈琳, 在读硕士生, 研究方向: 血管损伤, E-mail: chenshulin1995@163.com; 钟武, 通信作者, E-mail: zhongwu2876@sina.com

急性主动脉夹层(acute aortic dissection, AAD)是一种致命的血管疾病,近来研究表明血管功能及其状态与AAD发病密切相关^[1],而血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)作为血管功能的重要调节剂,被认为对血管病变的发生和发展至关重要,而VSMC从收缩表型到合成表型的转化被认为可能在AAD疾病进展中发挥重要作用^[2-5]。自噬作为一种高度保守的分解代谢过程,可以通过多种细胞通路影响细胞的存活与功能^[6-7]。最近的研究表明,自噬在VSMC表型转化的过程中发挥关键作用^[8]。相关文献显示,在血管疾病发生发展过程中,不仅可以激活自噬以防止由于氧化应激导致的细胞死亡^[9],自噬也可能通过去除难以水解的蛋白质和细胞器来促进细胞存活。有研究证实,PDGF-BB(血小板衍生生长因子)体外诱导VSMC表型转换的过程被认为是通过自噬介导的,同时还观察到了Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)表达的改变^[10]。YAP作为Hippo-YAP信号转导途径的关键下游效应物,被证实是在调控VSMC细胞增殖、细胞凋亡和表型转化的过程中有重要作用^[11]。有研究^[12-13]发现,在Stanford A型主动脉夹层患者的升主动脉壁中,YAP的表达降低,在动物的Stanford A型主动脉夹层模型中观察到类似的现象。因此,我们设想Hippo-YAP蛋白可能参与VSMC的表型转化从而导致主动脉夹层的发生,并且该过程可能受到自噬的调节。在本研究中,我们成功构建出新型小鼠主动脉夹层模型,具有周期短、模拟效果确切、经济、稳定可重复等优点(本实验组程玲霞等的研究,已被杂志接收未见刊),为后续实验提供动物基础;通过检测自噬相关蛋白LC3、P62及VSMC各表型标志蛋白在该模型中的表达情况,为进一步探究自噬在急性主动脉夹层的发病过程中的作用提供基础和依据。

1 材料与方 法

1.1 材料及分组

清洁级3~4周龄的雄性C57BL/6小鼠购自斯贝福(北京)生物科技有限公司,体质量15~20 g,许可号:SCXK(京)2019-0010。将60只健康状况良好的小鼠随机分为3组:实验组(AD组): β -氨基丙腈(β -aminopropionitrile, BAPN)喂养联合人血管紧张素-Ⅱ(angiotensin-Ⅱ, Ang-Ⅱ)建立小鼠主动

脉夹层的模型($n=20$);干预组(CQ组):同实验组采取同样方式建立小鼠主动脉夹层的模型,同时全程注射自噬的抑制剂氯喹(chloroquine, CQ; $n=20$);阴性对照组(正常组):注射生理盐水作为阴性对照($n=20$)。

1.2 动物模型

本实验所有小鼠喂养于西南医科大学附属医院清洁级实验室,实验小鼠的处置均符合《实验动物管理条例》,动物实验经西南医科大学伦理委员会审查批准,医学实验动物伦理审核批件号:201810146。①各组小鼠首先进行无限制饮水喂养1周,记录每天每组小鼠饮水量,一周后根据饮水量计算出小鼠每日饮水总量;②按每日0.1 g/kg的摄入量称取BAPN溶于小鼠饮用水中,给予AD组与CQ组小鼠喂养16 d,正常组小鼠以普通饮用水喂养;③将人Ang-Ⅱ溶于灭菌注射用水中,AD组与CQ组按每天每只小鼠1.5 mg/kg的剂量进行皮下注射7 d,第8~14天两组每日注射剂量减半,即0.75 mg/kg的剂量进行皮下注射,第15、16天每日注射剂量较前再次减半,正常组注射生理盐水;④CQ组小鼠按40 mg/(kg·d)的剂量进行CQ腹腔注射16 d,余下两组注射生理盐水作为对照。

1.3 标本采集

建模过程中死亡小鼠即刻解剖(1 h内),存活小鼠在模型建立的第17 d统一取材。采用10 g/mL质量浓度的水合氯醛对存活小鼠进行腹腔内注射麻醉,麻醉成功后,碘伏消毒胸腹部,取出小鼠主动脉,切取一部分放入40 g/L多聚甲醛中固定,剩余部分保存于液氮中。

1.4 实验方法

1.4.1 组织病理学检测 取出40 g/L多聚甲醛中固定的小鼠主动脉样本,常规石蜡包埋;连续切片,制成厚度为3 μ m的切片,进行苏木精-伊红染色(HE染色),高倍镜下观察并拍照。

1.4.2 Western Blot检测 从小鼠主动脉样本中提取蛋白,选择十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)进行电泳,用聚偏氟乙烯(PVDF)膜对PAGE胶转膜,转膜后封闭、孵育一抗、二抗,完成后滴加发光液显影并拍照,以GAPDH为内参计算灰度值。

1.4.3 免疫组织化学染色法检测 石蜡切片常规脱蜡水化、修复,依次完成过氧化物酶活性阻断、非特异性蛋白封闭、一抗孵育、HRP标记的二抗孵育、

DAB 镜下显色、苏木青复染,切片经梯度酒精脱水干燥,中性树脂胶封固,晾干后观察。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 23.0 进行统计学分析。数据行正态分布和方差齐性检验,3 组间计量资料的比较采用单因素方差分析,方差分析差异有统计学意义时两两比较采用 Bonferroni 法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

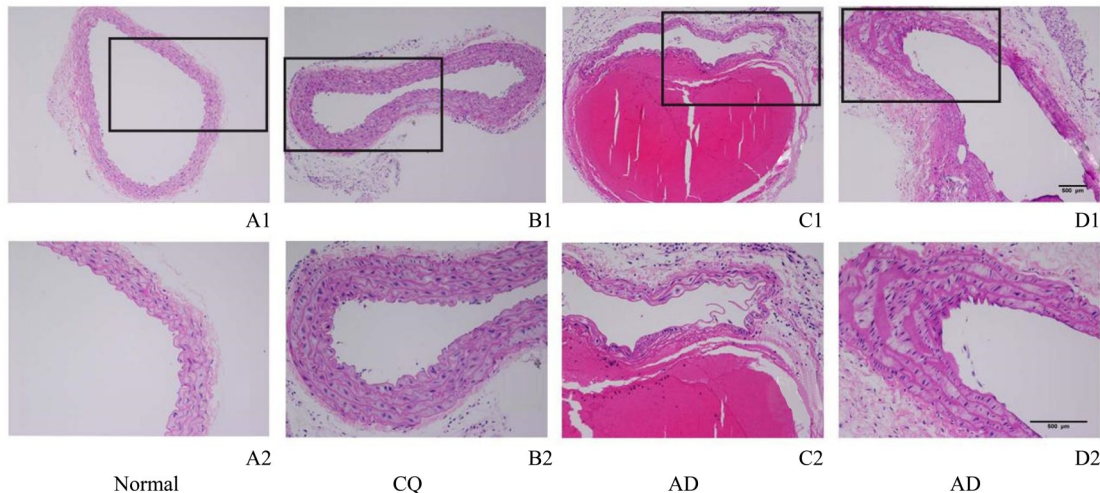
2.1 实验各组小鼠建模成功率及死亡率

在本实验小鼠模型建立的过程中,实验组(AD 组)共有 12 只形成了主动脉夹层,建模成功的比例

为 60%,3 只形成了主动脉瘤,比例为 15%,其中 10 只小鼠死亡,均死于主动脉夹层的急性破裂出血,死亡比例为 50%,2 只在建模第 1 周内死亡,8 只在建模第 2 周内死亡。干预组(CQ 组)同阴性对照组(正常组)建模全程无小鼠死亡,解剖未发现主动脉夹层及主动脉瘤征象。

2.2 实验各组小鼠主动脉 HE 染色

取各组小鼠主动脉样本进行 HE 染色,结果发现:干预组(CQ 组)同阴性对照组(正常组)小鼠血管壁层次清晰,未见明显病理改变,但干预组(CQ 组)血管壁可见少许增厚。实验组(AD 组)小鼠血管壁可见弹力纤维排列紊乱、断裂,可见明显真假腔,主动脉瘤可见中膜明显增厚,瘤样扩张(图 1)。



A1: HE staining of aorta in normal group, $\times 100$; A2: $\times 200$; B1: HE staining of aorta in CQ group, $\times 100$; B2: $\times 200$; C1: HE staining of aortic dissection in AD group, $\times 100$; C2: $\times 200$; D1: HE staining of aortic aneurysm in AD group, $\times 100$; D2: $\times 200$. Fig. A shows that aorta of normal mouse. Fig. B shows that there were some thickness of aorta in CQ group. Fig. C shows that aortic dissection was formed in AD group. Fig. D shows that aortic aneurysm was formed in AD group.

图 1 实验各组小鼠主动脉 HE 染色结果

Fig. 1 HE staining results of aorta in each group

2.3 实验各组小鼠平滑肌细胞表型转化相关蛋白表达的变化比较

与阴性对照组(正常组)相比,实验组(AD 组)小鼠中平滑肌 α -肌动蛋白(α -SMA)表达明显降低,同时骨桥蛋白(OPN)表达明显增强,且 YAP 蛋白的表达也显著降低($P < 0.05$)。而干预组(CQ 组)小鼠与阴性对照组(正常组)相比, α -SMA 与 OPN 的表达改变无明显差别,且 YAP 蛋白表达的改变也不明显($P > 0.05$; 图 2)。

3 组小鼠 α -SMA 蛋白表达的灰度值检测比较,

经单因素方差分析,3 组间差异有统计学意义($F = 13.076$, $P = 0.006$);采用 Bonferroni 法进一步作两两比较,发现 AD 组与对照组比较差异有统计学意义($P = 0.011$),与 CQ 组比较差异有统计学意义($P = 0.003$),而 CQ 组与对照组比较差异无统计学意义($P = 0.256$)。

3 组小鼠 OPN 蛋白表达的灰度值检测比较,经单因素方差分析,3 组间差异有统计学意义($F = 13.335$, $P = 0.006$);采用 Bonferroni 法进一步作两两比较,发现 AD 组与对照组比较差异有统计学意义

($P=0.004$),与CQ组比较差异有统计学意义($P=0.005$),而CQ组与对照组比较差异无统计学意义($P=0.849$)。

3组小鼠YAP蛋白表达的灰度值检测比较,经单因素方差分析,3组间差异有统计学意义($F=10.088, P=0.012$);采用Bonferroni法进一步作两两比较,发现AD组与对照组比较差异有统计学意义($P=0.004$),与CQ组比较差异有统计学意义($P=0.029$),而CQ组与对照组比较差异无统计学意义($P=0.169$;图2)。

2.4 实验各组小鼠YAP蛋白及自噬相关蛋白表达的变化比较

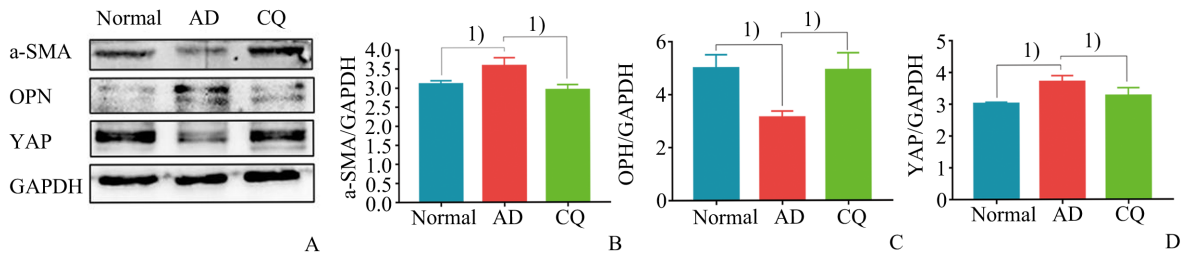
与正常组相比,AD组小鼠中YAP表达明显降低,同时LC3-I与P62蛋白的表达也明显减弱,但LC3-II/LC3-I的表达明显增强($P<0.05$)。CQ组与正常组相比,LC3与P62的表达改变无明显差别,且YAP蛋白表达的改变也不明显($P>0.05$)。与AD组相较,CQ组小鼠LC3-I与P62表达明显增强,LC3-II的表达明显减弱,且YAP蛋白的表达显著增强(图3)。

3组小鼠LC3蛋白表达的灰度值检测比较,经单因素方差分析,3组间差异有统计学意义($F=5.153, P=0.050$);采用Bonferroni法进一步作两两比较,发现AD组与对照组比较差异有统计学意义($P=0.032$),与CQ组比较差异有统计学意义($P=0.032$),而CQ组与对照组比较差异无统计学意义($P=0.988$)。

3组小鼠P62蛋白表达的灰度值检测比较,经单因素方差分析,3组间差异有统计学意义($F=6.153, P=0.035$);采用Bonferroni法进一步作两两比较,发现AD组与对照组比较差异有统计学意义($P=0.041$),与CQ组比较差异有统计学意义($P=0.016$),而CQ组与对照组比较差异无统计学意义($P=0.476$;图3)。

2.5 实验各组小鼠主动脉免疫组织化学染色

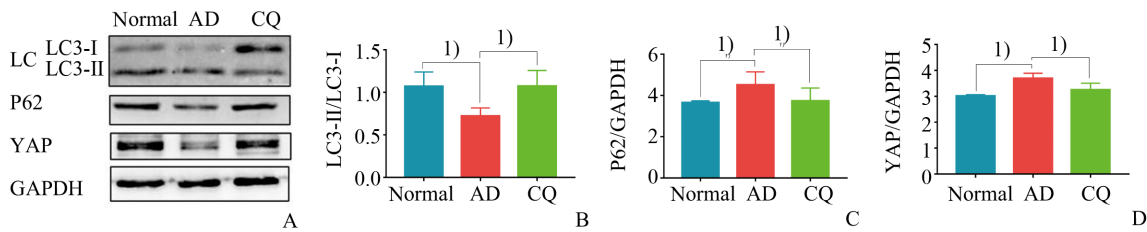
与正常对照组相比,AD组小鼠中OPN表达阳性率较高,且同时 α -SMA的阳性率减少,而CQ组未见明显改变。同时,AD组对于YAP蛋白的表达阳性率下降,而对LC3蛋白表达升高,CQ组未见明显改变(图4~6)。



A: Expression of phenotype transformation related proteins and YAP in mouse smooth muscle cells. B: Gray value analysis of expression of α -SMA ($n=3, F=13.076, P=0.006$); C: Gray value analysis of expression of OPN ($n=3, F=13.335, P=0.006$); D: Gray value analysis of expression of YAP ($n=3, F=10.088, P=0.012$). 1) $P<0.05$.

图2 小鼠平滑肌细胞表型转化相关蛋白与YAP的表达情况

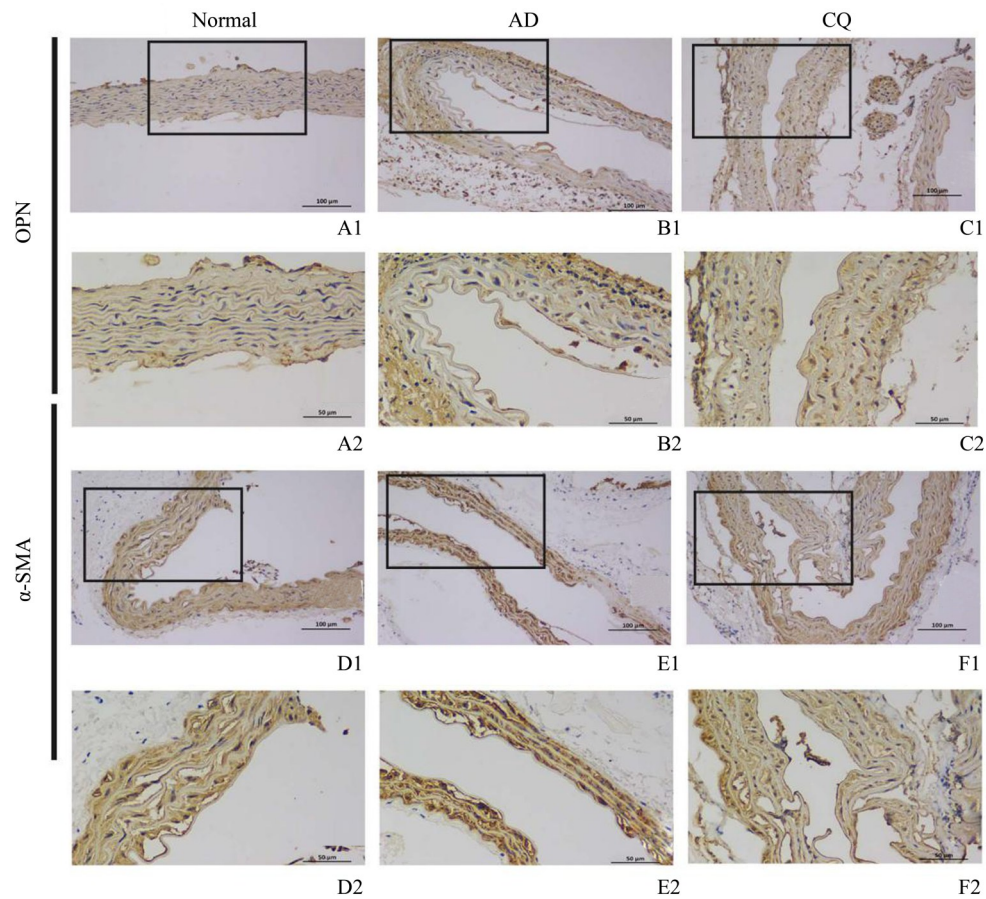
Fig. 2 Expression of phenotype transformation related proteins and YAP in mouse smooth muscle cells



A: Expression of autophagy related proteins and YAP in mouse smooth muscle cells. B: Gray value analysis of expression of LC3-II/LC3-I ($n=3, F=5.153, P=0.050$); C: Gray value analysis of expression of P62 ($n=3, F=6.153, P=0.035$); D: Gray value analysis of expression of YAP ($n=3, F=10.088, P=0.012$). 1) $P<0.05$.

图3 小鼠自噬相关蛋白与YAP的表达情况

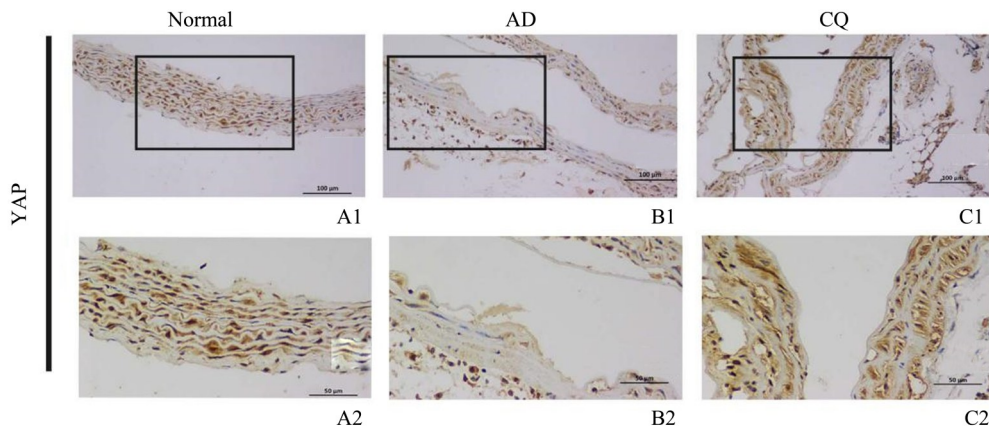
Fig. 3 Expression of autophagy related proteins and YAP in mouse smooth muscle cells



A1: Immunohistochemical staining of aorta in normal group to detect OPN, $\times 200$; A2: $\times 400$; B1: Immunohistochemical staining of aorta in AD group to detect OPN, $\times 200$; B2: $\times 400$; C1: Immunohistochemical staining of aorta in CQ group to detect OPN, $\times 200$; C2: $\times 400$; D1: Immunohistochemical staining of aorta in normal group to detect α -SMA, $\times 200$; D2: $\times 400$; E1: Immunohistochemical staining of aorta in AD group to detect α -SMA, $\times 200$; E2: $\times 400$; F1: Immunohistochemical staining of aorta in CQ group to detect α -SMA, $\times 200$; F2: $\times 400$. Fig. A, B, C show that the expression of OPN increased in AD group and decreased in CQ group; Fig. D, E, F show that the expression of α -SMA increased in CQ group and decreased in AD group.

图4 各组小鼠主动脉表型转化相关蛋白的免疫组织化学染色

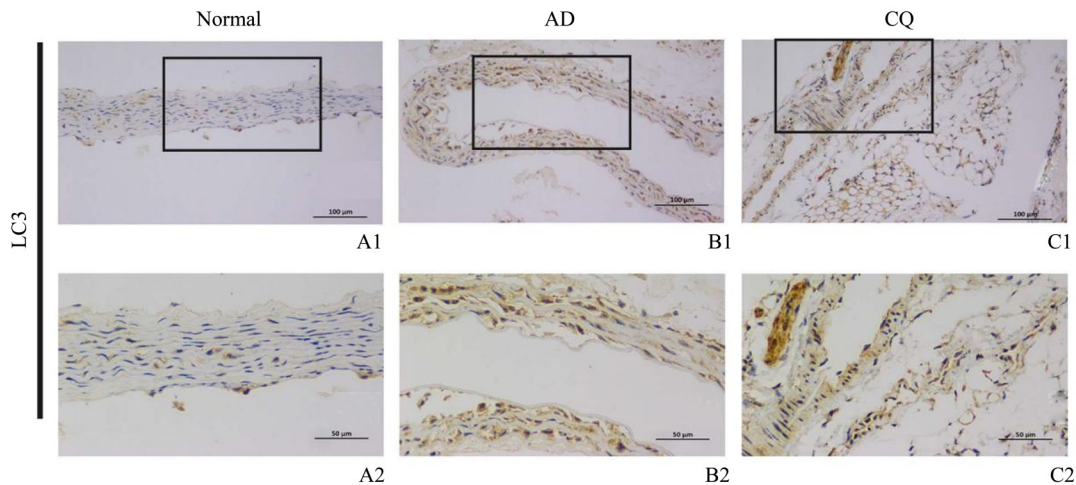
Fig. 4 Immunohistochemistry staining of phenotype transformation related proteins in aorta of mouse in each group



A1: Immunohistochemical staining of aorta in normal group to detect YAP, $\times 200$; A2: $\times 400$; B1: Immunohistochemical staining of aorta in AD group to detect YAP, $\times 200$; B2: $\times 400$; C1: Immunohistochemical staining of aorta in CQ group to detect YAP, $\times 200$; C2: $\times 400$. Fig. A, B, C show that the expression of YAP increased in CQ group and decreased in AD group.

图5 各组小鼠主动脉YAP蛋白的免疫组织化学染色

Fig. 5 Immunohistochemistry staining of YAP protein in aorta of mouse in each group



A1: Immunohistochemical staining of aorta in normal group to detect LC3, $\times 200$; A2: $\times 400$; B1: Immunohistochemical staining of aorta in AD group to detect LC3, $\times 200$; B2: $\times 400$; C1: Immunohistochemical staining of aorta in CQ group to detect LC3, $\times 200$; C2: $\times 400$. Fig. A, B, C show that the expression of LC3 increased in AD group and decreased in CQ group.

图6 各组小鼠主动脉LC3蛋白的免疫组织化学染色

Fig. 6 Immunohistochemistry staining of LC3 protein in aorta of mouse in each group

3 讨论

3.1 主要发现

急性主动脉夹层具有起病急骤、病死率极高的特点,探索AAD的形成机制对临床治疗有重要意义,但其机制尚不完全明确。现有的研究表明AAD可能与血管功能障碍有关,主要倾向于血管平滑肌细胞(VSMC)的功能障碍^[14-18]。VSMC在健康的血管中主要表现为收缩型,其几乎不分泌细胞外基质蛋白,并且增殖和迁移能力的的能力较差,此时细胞表达一系列收缩蛋白,例如平滑肌 α -肌动蛋白(α -SMA)。有研究表明,在血管病变的发生和发展中,VSMC会由收缩型向合成型转化,高表达骨桥蛋白(OPN),分泌弹性蛋白酶、金属蛋白酶等,从而导致血管壁张力显著降低,促使血管疾病,例如主动脉夹层的发生。但VSMC的表型转化与主动脉夹层的关系尚不完全明确,其确切的分子机制更是少有研究。最近研究表明,YAP可以通过促进VSMC凋亡导致AD的发生^[19],YAP可以诱导VSMC增殖、迁移及表型转化,参与血管壁的重构^[20]。在研究表型转化的过程中,还有些实验观察到了自噬现象^[21-22]。因此,我们认为Hippo-YAP信号通路可能是VSMC表型转换的中心调节器,这种调节作用可能受到自噬的介导。

本实验选用BAPN持续饮用水喂养,同时皮下

小剂量注射Ang-Ⅱ建立小鼠主动脉夹层模型,HE染色结果显示此种建模方法能成功诱导小鼠主动脉夹层形成。此外,实验结果显示实验组相对于阴性对照组小鼠有更高的死亡率,这与小鼠主动脉夹层极易发生主动脉破裂导致小鼠死亡有关。在使用自噬的抑制剂处理小鼠后,其主动脉夹层的形成率大大降低,这表明自噬可能在主动脉夹层的形成过程中起关键作用。

3.2 综合证据

β -氨基丙腈是一种赖氨酰氧化酶抑制剂,与Ang-Ⅱ联合使用是目前最常用的小鼠主动脉夹层诱导模型^[23-24]。BAPN可以破坏弹力蛋白和胶原蛋白的交联和成熟,造成主动脉前夹层状态^[25],而Ang-Ⅱ的非血压依赖作用可以促发胸主动脉夹层的发生^[26]。有文献表明,将BAPN溶于小鼠每日饮用水中,联合Ang-Ⅱ皮下注射可以成功构建出小鼠主动脉夹层模型^[27-28]。氯喹是一种基础公共卫生体系必备药物,可通过阻断溶酶体的功能在自噬后期阻止自噬体的降解^[29-30];有研究表明,CQ较其他自噬抑制剂能在更短的时间内触发自噬通量的最大阻塞^[31]。目前的研究对于使用氯喹抑制自噬在动物模型中的剂量暂缺统一标准,实验组前期研究结果表明40 mg/kg的浓度抑制自噬的效果更佳。本实验采用BAPN喂养联合Ang-Ⅱ皮下注射的方法,成功构建出小鼠主动脉夹层模型,并使用氯喹

抑制干预组的自噬。

为了验证小鼠主动脉夹层形成的关键机制,本实验对小鼠的主动脉进行取材,利用 Western Blot 和免疫组化探究小鼠主动脉夹层形成的分子机制。研究发现,与阴性对照组相比,实验组小鼠的收缩型 VSMC 标志蛋白 α -SMA 的表达明显降低,同时合成型 VSMC 标志蛋白 OPN 的表达明显增强,这说明在主动脉夹层形成的过程中,VSMC 发生了表型转化。而干预组相较于对照组并未发现两种蛋白表达的明显改变,这表明自噬的抑制剂在主动脉夹层形成的过程中可以一定程度的延缓 VSMC 的表型转化,但确切分子机制不明。

本实验为了研究小鼠 VSMC 表型转化的机制,利用 Western Blot 和免疫组化测定 3 组小鼠 YAP 蛋白的表达。结果表明,相较于对照组,实验组小鼠主动脉样本中 YAP 蛋白的表达明显下降,而干预组的表达变化不明显。因此,我们推测,在小鼠主动脉夹层形成的过程中,伴随着 VSMC 的表型转化,同时 Hippo-YAP 信号转导途径组分的下调表达与 VSMC 的表型转化有相关性,而自噬的抑制剂在某种程度上可以延缓这种转变。

为了验证自噬在调节 VSMC 表型转化过程中的作用,我们测定了 3 组小鼠主动脉样本中自噬相关蛋白的表达。WB 及免疫组化实验结果显示,以阴性对照组为参考,实验组小鼠主动脉样本中 P62

蛋白的表达明显减弱,同时 LC3-II 与 LC3-I 的比值明显上升,表明在实验组小鼠形成主动脉夹层的过程中自噬被明显激活;而在使用自噬抑制剂的干预组小鼠中,观察到 LC3 与 P62 的表达改变无明显差别。我们的研究结果表明,在诱导小鼠主动脉夹层的形成过程中,确实发生了 VSMC 的表型转化,同时伴随 Hippo-YAP 信号转导途径主要下游效应物 YAP 蛋白的表达降低及自噬现象的激活,在使用自噬抑制剂处理小鼠后,VSMC 表型转化的过程被抑制,YAP 蛋白的下降也被延缓。

3.3 结论

由此,我们推测,Hippo-YAP 蛋白可能参与调节血管平滑肌细胞的表型转化,并且这种作用可能受到自噬的调节。本研究不仅成功构建出小鼠主动脉夹层的动物模型,并通过 HE 染色评价建模成功率,同时采用 WB 和免疫组化双重验证相关蛋白的表达,即表明了 VSMC 表型转化的发生,还揭示了 Hippo-YAP 蛋白的调节作用,同时观察到自噬现象对于 VSMC 表型转化与 YAP 蛋白的表达均有调节作用。不足的是,本实验虽然揭示了自噬调控血管平滑肌细胞表型转化的机制,但缺乏相关分子生物学实验支撑,并且自噬通过何种方式调控 Hippo-YAP 对小鼠 VSMC 表型转化的作用,仍有待进一步的实验研究阐明。

参考文献

- [1] Guo RW, Yang LX, Li MQ, et al. Stim1- and Orail-mediated store-operated calcium entry is critical for angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell proliferation[J]. Cardiovasc Res, 2012, 93(2): 360-370.
- [2] Liu K, Fang C, Shen Y, et al. Hypoxia-inducible factor 1 α induces phenotype switch of human aortic vascular smooth muscle cell through PI3K/AKT/AEG-1 signaling[J]. Oncotarget, 2017, 8(20): 33343-33352.
- [3] Pahk K, Joung C, Jung SM, et al. Visualization of synthetic vascular smooth muscle cells in atherosclerotic carotid rat arteries by F-18 FDG PET[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 6989.
- [4] Owens GK, Kumar MS, Wamhoff BR. Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease[J]. Physiol Rev, 2004, 84(3): 767-801.
- [5] Pei C, Qin S, Wang M, et al. Regulatory mechanism of human vascular smooth muscle cell phenotypic transformation induced by NELIN[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(5): 7310-7316.
- [6] Song TF, Huang LW, Yuan Y, et al. LncRNA MALAT1 regulates smooth muscle cell phenotype switch via activation of autophagy[J]. Oncotarget, 2018, 9(4): 4411-4426.
- [7] Xu XJ, Zhao WB, Feng SB, et al. Celastrol alleviates angiotensin II-mediated vascular smooth muscle cell senescence via induction of autophagy[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(5): 7657-7664.

- [8] 袁广胜, 吴海东, 陈胜利, 等. 细胞自噬调控颅内动脉瘤血管平滑肌细胞表型转化的体外研究 [J]. 中国免疫学杂志, 2019, 11: 1337-1340.
- Yuan GS, Wu HD, Chen SL, et al. Autophagy regulates phenotypic modulation of vascular smooth muscle cells in intracranial aneurysms [J]. Chin J Immunol, 2019, 11: 1337-1340.
- [9] Salabei JK, Hill BG. Autophagic regulation of smooth muscle cell biology [J]. Redox Biol, 2015, 4: 97-103.
- [10] Salabei JK, Cummins TD, Singh M, et al. PDGF-mediated autophagy regulates vascular smooth muscle cell phenotype and resistance to oxidative stress [J]. Biochem J, 2013, 451(3): 375-388.
- [11] Shi Y, Liu B, Wang C, et al. MST1 down-regulation in decreasing apoptosis of aortic dissection smooth muscle cell apoptosis [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(7): 2044-2051.
- [12] He J, Bao Q, Yan M, et al. The role of Hippo/yes-associated protein signalling in vascular remodelling associated with cardiovascular disease [J]. Br J Pharmacol, 2018, 175(8): 1354-1361.
- [13] Jiang WJ, Ren WH, Liu XJ, et al. Disruption of mechanical stress in extracellular matrix is related to Stanford type A aortic dissection through down-regulation of Yes-associated protein [J]. Aging (Albany NY), 2016, 8(9): 1923-1939.
- [14] 黎明, 钟诗龙, 罗建方, 等. 主动脉夹层与肌球蛋白重链 11 基因多态性的关系 [J]. 实用医学杂志, 2011, 27(18): 3306-3308.
- Li M, Zhong SL, Luo JF, et al. The correlation between single nucleotide polymorphism in myosin heavy chain 11 gene (Rsl050113) is and aortic dissection [J]. J Pract Med, 2011, 27(18): 3306-3308.
- [15] 侯小东, 丁凡, 尤涛, 等. 炎症反应与急性 A 型主动脉夹层术前并发肺损伤的相关性 [J]. 实用医学杂志, 2017, 33(15): 2532-2535.
- Hou XD, Ding F, You T, et al. Correlation of inflammatory response in patients with acute type A aortic dissection complicated with pulmonary injury [J]. J Pract Med, 2017, 33(15): 2532-2535.
- [16] Huan W, Zhang J, Li Y, et al. Involvement of DHX9/YB-1 complex induced alternative splicing of KLF5 mRNA in phenotypic transformation of vascular smooth muscle cells [J]. Am J Physiol-cell Ph, 2019, 317(2): C262-C269.
- [17] Xu F, Ahmed AS, Kang X, et al. MicroRNA-15b/16 attenuates vascular neointima formation by promoting the contractile phenotype of vascular smooth muscle through targeting YAP [J]. Arterioscl Thromb Vas, 2015, 35(10): 2145-2152.
- [18] Meng YH, Tian C, Liu L, et al. Elevated expression of connective tissue growth factor, osteopontin and increased collagen content in human ascending thoracic aortic aneurysms [J]. Vascular, 2014, 22(1): 20-27.
- [19] 刘涛, 徐娟, 张立, 等. 上调 Yes 相关蛋白 1 表达抑制动脉夹层血管平滑肌细胞凋亡的研究 [J]. 中华实验外科杂志, 2018, 35(10): 1834-1838.
- Liu T, Xu J, Zhang L, et al. Yes-associated protein 1 up-regulation inhibits apoptosis of aortic dissection vascular smooth muscle cells [J]. Chin J Exp Surg, 2018, 35(10): 1834-1838.
- [20] 李海洋, 姜文剑, 张宏家. Hippo-YAP 信号通路调控升主动脉瘤发病机制的研究进展 [J]. 心肺血管病杂志, 2015, 34(10): 800-803.
- Li HY, Jiang WJ, Zhang HJ. Hippo-YAP signaling pathway regulates the pathogenesis of ascending aortic aneurysm [J]. J Cardiovasc Pulm Dis, 2015, 34(10): 800-803.
- [21] Tan JY, Jia LQ, Shi WH, et al. Rab5 mediated autophagy regulates the phenotype and behavior of vascular smooth muscle cells [J]. Mol Med Rep, 2016, 14(5): 4445-4453.
- [22] He K, Sun H, Zhang J, et al. Rab7 mediated autophagy regulates phenotypic transformation and behavior of smooth muscle cells via the Ras/Raf/MEK/ERK signaling pathway in human aortic dissection [J]. Mol Med Rep, 2019, 19(4): 3105-3113.
- [23] Zheng HQ, Rong JB, Ye FM, et al. Induction of thoracic aortic dissection: a mini-review of β -aminopropionitrile-related mouse models [J]. J Zhejiang Univ

- Sci B, 2020, 21(8): 603–610.
- [24] Qi X, Wang F, Chun C, et al. A validated mouse model capable of recapitulating the protective effects of female sex hormones on ascending aortic aneurysms and dissections (AADs) [J]. *Physiol Rep*, 2020, 8(22): e14631.
- [25] Logghe G, Trachet B, Aslanidou L, et al. Propagation-based phase-contrast synchrotron imaging of aortic dissection in mice: from individual elastic lamella to 3D analysis[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2223.
- [26] 杨俊, 邬光敏, 付品婷, 等. 胸主动脉夹层动物模型研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2020, 29(12): 1503–1508.
- Yang J, Wu GM, Fu PT, et al. Research progress of animal models of thoracic aorta dissection [J]. *Chin J Gen Surg*, 2020, 29(12): 1503–1508.
- [27] 李雪. 主动脉夹层动物模型的建立及炎症细胞对主动脉夹层的影响[D]. 合肥:安徽中医药大学, 2017: 10–31.
- Li X, The pivotal role of monocyte/macrophage during the formation of AD [D]. Hefei: Anhui University of Chinese Medicine, 2017:10–31.
- [28] Ren W, Liu Y, Wang X, et al. The complement C3a-C3aR axis promotes development of thoracic aortic dissection via regulation of MMP 2 expression [J]. *J Immunol*, 2018, 200(5): 1829–1838.
- [29] Pliyev BK, Memshikov M. Differential effects of the autophagy inhibitors 3-methyladenine and chloroquine on spontaneous and TNF- α -induced neutrophil apoptosis [J]. *Apoptosis*, 2012, 17(10): 1050–1065.
- [30] He S, Zhou Q, Luo B, et al. Chloroquine and 3-methyladenine attenuates periodontal inflammation and bone loss in experimental periodontitis [J]. *Inflammation*, 2020, 43(1): 220–230.
- [31] Chicote J, Yuste VJ, Boix J, et al. Cell death triggered by the autophagy inhibitory drug 3-methyladenine in growing conditions proceeds with DNA damage [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 580343.

(编辑 祁方昉)