

# 自噬与动脉粥样硬化关系的研究进展

李亮 裴芊芊 董丽华\*

(河北医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 河北省医学生物技术重点实验室, 神经与血管生物学省部共建教育部重点实验室, 石家庄 050017)

**摘要** 自噬是将细胞内的受损、变性、衰老的蛋白质或细胞器运输到溶酶体进行降解, 以实现自身的代谢需要及细胞器更新的生物学过程。在动脉粥样硬化过程中, 自噬参与了细胞存活和死亡的调控。病变早期, 通过自噬可抑制血管内皮细胞(vascular endothelial cell, VEC)的凋亡, 延缓粥样斑块的发展; 而在动脉粥样硬化后期, 由于自噬的过度激活导致血管细胞自噬性死亡, 胶原蛋白合成减少, 纤维帽薄弱而引发斑块破裂。该文综述了自噬对动脉粥样硬化影响的最新研究成果, 以期为进一步了解动脉粥样硬化的机制提供参考。

**关键词** 自噬; 动脉粥样硬化; 血管内皮细胞; 血管平滑肌细胞; 巨噬细胞

## Progress of Autophagy Related to Atherosclerosis

Li Liang, Pei Qianqian, Dong Lihua\*

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Institute of Basic Medicine, Key Laboratory for Medical Biotechnology of Hebei Province, Key Laboratory of Neural and Vascular Biology, Ministry of Education, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

**Abstract** Autophagy is a reparative, life-sustaining process to degrade and recycle cytoplasmic contents via the lysosomal system for maintaining cellular homeostasis. Autophagy is involved in the regulation of cell survival and death in atherosclerosis. A moderate amount of autophagy has a protective effect for atherosclerosis, but excessive autophagy can lead to cell death that is not conducive to the stability of the plaque. Therefore, we summarize the progress on the role of autophagy in atherosclerosis, which may provide avenues for further understanding of the mechanism of atherosclerosis.

**Keywords** autophagy; atherosclerosis; vascular endothelial cell; vascular smooth muscle cell; macrophage

自噬(autophagy)是细胞受到刺激后吞噬错误折叠的蛋白质或者受损的细胞器, 最终将吞噬物在溶酶体内进行降解的过程<sup>[1]</sup>。按照细胞内物质进入溶酶体途径的不同, 自噬可分为3类: 微自噬(microautophagy)、巨自噬(macroautophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)。通常所说的自噬即指巨自噬。正

常的自噬过程对细胞内环境的稳定及细胞生命活动的顺利进行十分重要。最近研究发现, 自噬在调节动脉粥样化形成和动脉粥样硬化斑块的稳定中发挥重要作用<sup>[2-3]</sup>。本文从自噬的分子机制及对细胞生长调控的影响角度阐述了其与动脉粥样硬化的关系, 以期为进一步了解动脉粥样硬化的机制提供参考。

收稿日期: 2015-06-07 接受日期: 2015-11-02

国家自然科学基金(批准号: 31100989)、河北省高等学校优秀青年基金(批准号: Y2011209)和中国博士后科学基金第55批面上项目(批准号: 2014M551045)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0311-86265639, E-mail: donglihua@hebm.edu.cn

Received: June 7, 2015 Accepted: November 2, 2015

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31100989), the Outstanding Youth Foundations of the Department of Education of Hebei Province (Grant No.Y2011209) and the 55<sup>th</sup> Postdoctoral Science Foundation of China (Grant No.2014M551045)

\*Corresponding author. Tel: +86-311-86265639, E-mail: donglihua@hebm.edu.cn

网络出版时间: 2015-12-30 17:09:56 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20151230.1709.002.html>

## 1 自噬的分子机制

目前, 在酵母菌中已经发现了30多个自噬相关基因(*autophagy-related gene*, *Atg*), 其中至少有11个 *Atg*基因(*Atg1*、*Atg3*、*Atg4*、*Atg5*、*Atg6*、*Atg7*、*Atg8*、*Atg9*、*Atg10*、*Atg12*、*Atg16*)已在哺乳细胞中发现其直系同源基因<sup>[4]</sup>。例如, 在哺乳细胞中, *Atg6*被命名为*Beclin1*, *Atg8*被命名为微管相关蛋白轻链3(*microtubule-associated protein light chain 3*, *LC3*)。根据其在自噬过程中表现出的功能差异, *Atg*可分为5类: *Atg1*复合物[*Atg1/ULK1(unc51-like kinase 1)*]、*Atg9/mAtg9*、III型磷脂酰肌醇3激酶(*phosphatidylinositol 3 kinase*, *PI3K*)复合物、*Atg5-Atg12-Atg16L*复合物及*Atg8/LC3*复合物。

自噬在进化上是高度保守的过程, 包括信号刺激、自噬体形成、自噬体与溶酶体的融合、内容物的降解及降解产物的释放<sup>[5]</sup>。在营养物质充足的情况下, 生长因子激活I型PI3K, 从而通过Akt/PKB(*protein kinase B*)通路激活哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(*mammalian target of rapamycin*, *mTOR*)。活化的*mTOR*抑制了*Atg1/ULK1*, 从而抑制自噬。而在饥饿或*mTOR*抑制剂(如雷帕霉素)存在的情况下, *mTOR*受到抑制, *ULK1-Atg13-FIP200(FAK family kinase-interacting protein)*复合体激活并从细胞质转移到内质网, 诱导自噬发生。自噬诱导期主要受I、III型PI3K调节, I型PI3K的激活可以抑制自噬发生, 而III型PI3K则在细胞能量供应不足及氨基酸缺乏情况下, 参与初期自噬体的形成, 促进自噬发生。III型PI3K具有脂质激酶活性, 可以促进磷脂酰肌醇3-磷酸(*phosphatidylinositol 3-phosphate*, *PIP3*)脂质斑块形成。这些脂质斑块从细胞质中招募蛋白质促进自噬体的生物合成。自噬体形成期主要受两种泛素样蛋白系统的调节: *Atg5-Atg12-Atg16L*复合物和*Atg8/LC3*复合物<sup>[6]</sup>。*Atg12*通过E1泛素激活酶*Atg7*和E2泛素结合酶*Atg10*与泛素样蛋白*Atg5*结合, 然后, *Atg16L*与*Atg12-Atg5*结合形成一个大的多聚复合体。第二种泛素样蛋白系统是*Atg8*, 也称为*LC3*。*LC3*前体合成以后, 立即被*Atg4*水解为活化的胞质可溶性的*LC3-I*, 随后*Atg7*催化E2泛素结合酶*Atg3*, 促进*LC3-I*与磷脂酰乙醇胺(*phosphatidylethanolamine*, *PE*)结合形成*LC3-II*。细胞内*LC3*的含量及*LC3-I*向*LC3-II*转化量可以看作是自噬发生的依据<sup>[7]</sup>。自噬体一旦形成后, *Atg12-Atg5-Atg16L*复

合体就脱离下来, *Atg4*通过水解*LC3*与磷脂酰乙醇胺(*phosphatidylethanolamine*, *PE*)之间的硫酯键, 使*LC3*离开自噬体外膜, 重新回到细胞质, 从而使自噬体与溶酶体融合。在自噬体与溶酶体的融合过程中, 小GTP结合蛋白*Rab7*和溶酶体相关膜蛋白1(*lysosomal-associated membrane protein 1*, *LAMP1*)起到重要作用<sup>[8-9]</sup>。此外, 最近研究发现, *Atg14*能够促进自噬体与溶酶体融合<sup>[10]</sup>, *Atg14*首先通过卷曲螺旋结构直接与可溶性N-乙基马来酰亚胺敏感性附件蛋白质受体(*soluble N-ethylmaleimide sensitive factor attachment protein receptor*, *SNARE*)核心区域内突触融合蛋白17(*syntaxin 17*, *STX17*)结合, 从而增加*STX17-SNAP29(synaptosomal-associated protein 29)*复合物的稳定性, 最终与溶酶体膜上的囊泡相关膜蛋白8(*vesicle-associated membrane protein 8*, *VAMP8*)相结合, 诱导自噬体与溶酶体融合。在自噬溶酶体内, 溶酶体水解酶裂解自噬体内膜及其内容物。

## 2 自噬在细胞生长调控中的作用

自噬在维持细胞增殖、凋亡与分化等方面起着重要作用。*mTOR*信号通路是调控细胞生长与增殖的一个关键通路, 并且该通路作为主要的调控因子参与细胞自噬过程。*mTOR*的Ser2159/Thr2164磷酸化可以促进*mTOR*复合体1(*mTOR complex 1*, *mTORC1*)介导的细胞生长和G<sub>1</sub>期细胞进程<sup>[11]</sup>。腺苷酸活化蛋白激酶(*AMP-activated protein kinase*, *AMPK*)是自噬的重要正调控因子, *AMPK*可以通过磷酸化细胞周期抑制剂p27<sup>Kip1</sup>来激活自噬反应<sup>[12]</sup>。*AMPK*还可以通过直接磷酸化Raptor, 使Raptor脱离*mTORC1*复合体, 进而抑制*mTORC1*的活性<sup>[13-14]</sup>。最近的研究表明, 沉默信息调节因子2相关酶1(*silent mating type information regulation 2 homolog 1*, *SIRT1*)可以通过激活*AMPK*和抑制*mTOR*活性, 从而激活肿瘤细胞内p70S6K1, 抑制肿瘤细胞生长<sup>[15-16]</sup>。此外, 细胞自噬可以清除胞质分裂中重要的环状结构—中间体环, 提示自噬在胞质分裂中可能发挥重要功能<sup>[17]</sup>。自噬功能缺陷抑制细胞增殖引起G<sub>2</sub>/M期阻滞, 造成M期延长, 细胞出现多核现象<sup>[18]</sup>。进一步的机制研究发现, *RhoA*是自噬维持基因组稳定性的分子靶点<sup>[19]</sup>。在人肺癌组织中, 自噬缺陷与*RhoA*蛋白质高表达呈正相关关系。抑制自噬可以增加活化的*RhoA*在中间体的聚集, 因而自噬可能作为一种保障机制来维持胞质分

裂的进行和基因组完整性<sup>[19]</sup>。支架蛋白Beclin1调节自噬蛋白活化分子1(activating molecule in Beclin 1 regulated autophagy protein 1, AMBRA1)是自噬信号通路调节蛋白之一,也是mTOR的下游靶蛋白,其可以通过促进c-Myc发生去磷酸化和降解,抑制细胞增殖。AMBRA1促进c-Myc与蛋白磷酸酶2A(protein phosphatase 2A, PP2A)之间的相互作用,当mTOR被抑制时,PP2A活性增强,加剧c-Myc的去磷酸化降解,从而降低细胞分裂率<sup>[20]</sup>。

Beclin1作为一种BH3-only蛋白,是调节细胞自噬和凋亡机制的重要分子。Beclin1可以与Bcl-2/Bcl-xL结合,进而减少Beclin1与III型PI3K复合物的形成,抑制自噬的发生<sup>[21]</sup>。而且,只有在Beclin1-Bcl-2/Bcl-xL复合体定位于内质网时才具有抑制自噬的作用<sup>[22]</sup>。最近的研究发现,哺乳动物Ste20样激酶1(mammalian Ste20-like kinase 1, Mst1)可以通过磷酸化Beclin1协同调节心肌细胞的自噬与凋亡<sup>[23]</sup>。Mst1可以使Beclin1 BH3结构域上Thr108发生磷酸化,从而提高Beclin1与Bcl-2/Bcl-xL之间的相互作用,抑制了Atg14L-Beclin1-Vps34复合物中PI3K的活性,进而阻止自噬的发生。此外,Mst1通过Beclin1封闭Bcl-2/Bcl-xL,使Bax成为游离且具有活性的状态,诱导细胞凋亡的发生<sup>[23]</sup>。p53作为一种肿瘤抑制基因也参与了细胞自噬的调控。DNA损伤时,p53被激活,mTOR被抑制,诱导自噬小体形成,引起自噬的发生<sup>[24]</sup>。DNA损伤相关自噬调节因子(DNA damage-regulated autophagy modulator, DRAM)作为p53的靶基因,p53结合于DRAM的启动子上激活DRAM,抑制了p53介导的自噬,进而促进细胞凋亡<sup>[25]</sup>。此外,高迁移率族蛋白1(high mobility group box 1, HMGB1)和p53可以形成复合物来调节肿瘤细胞自噬和凋亡之间的平衡。p53是HMGB1/Beclin1复合体的负调节因子,在p53缺失的细胞中, HMGB1诱导细胞发生自噬,促进肿瘤细胞生存<sup>[26]</sup>。

### 3 自噬在动脉粥样硬化中的作用

在细胞和动物模型中,与动脉粥样硬化密切相关的血管内皮细胞(vascular endothelial cell, VEC)、血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)及巨噬细胞(macrophage)中都存在着不同程度的自噬反应。电子显微镜分析显示,人类动脉粥样硬化斑块中存在血管细胞自噬样特性,如髓鞘样结构、

空泡形成增多,细胞质中泛素化包涵体聚集<sup>[27]</sup>。在粥样斑块溶解产物及纤维帽中的VSMC中,LC3-II含量表达增加,而在非动脉粥样硬化的血管中检测不到LC3-II的表达,表明在动脉粥样硬化中自噬被诱导<sup>[28]</sup>。最近许多研究表明,自噬在动脉粥样硬化调节中具有双刃剑作用。

#### 3.1 自噬在动脉粥样硬化中的保护作用

当受到氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)、晚期糖基化产物(advanced glycation endproducts, AGE)蓄积、活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)、抗炎和抗氧化活性化合物(姜黄素、维生素D、白藜芦醇)等动脉粥样硬化危险因素刺激时<sup>[29-31]</sup>, VEC发生自噬反应,降解细胞内受损结构,保护自身免受炎症和氧化应激损伤<sup>[32]</sup>。生物体内特定的系统或者组织如果存在自噬基因缺陷,可能会产生畸形甚至死亡。自噬能够促进血管性血友病因子(von Willebrand factor, vWF)的成熟和分泌,Atg7基因敲除的小鼠体内vWF释放减少,导致出血时间延长<sup>[33]</sup>。因此,自噬对于机体内稳态的维持至关重要。最近研究发现,miR-216a在VEC中具有诱导ox-LDL聚集及单核细胞黏附作用。在衰老的VEC中,上调miR-216a抑制Beclin1和Atg5的表达,而下调miR-216a抑制ox-LDL合成,减轻动脉粥样硬化的发生。可见,miR-216a可能是内皮功能障碍和自噬相互作用的调控因子<sup>[34]</sup>。人类或小鼠衰老的VEC也会引起一氧化氮的生物利用度降低,增加氧化应激和炎症反应。衰老时Beclin1、LC3-II的表达下降,自噬不足可能是老年性动脉功能障碍的潜在因素<sup>[35]</sup>。

VSMC作为血管壁中层的重要细胞组成部分,其分化、增殖、迁移和自噬对于动脉粥样硬化的发生有重要影响<sup>[36]</sup>。例如,VSMC在动脉粥样硬化各个时期均有影响,在动脉粥样硬化早期,抑制VSMC增殖阻碍粥样斑块形成,粥样斑块晚期,抑制VSMC凋亡则有利于斑块稳定<sup>[37]</sup>。7-脱氢胆固醇作为氧化脂蛋白的主要组成部分,通过上调Nox4以及下调Atg4b基因水平,诱导VSMC发生自噬。雷帕霉素可以减轻ApoE基因敲除小鼠内质网应激、细胞凋亡和动脉粥样硬化<sup>[38]</sup>。Martinet等<sup>[39]</sup>发现,虽然他汀类药物和7-脱氢胆固醇两者均能诱导VSMC死亡,然而,7-脱氢胆固醇和低浓度的他汀类药物和联合使用并没有诱导VSMC死亡,反而提高了细胞的生存能力。7-脱氢胆固醇诱导VSMC发生自噬,进一步抑

制他汀类药物诱导半胱天冬氨酸蛋白酶(caspase)活化, 最终阻碍VSMC凋亡。所以, 适度自噬能够维持VSMC的正常生存。很多细胞因子和生长因子借助自噬途径对VSMC的表型变化进行调控。如血小板源生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)诱导自噬的发生, 降解收缩蛋白, 调控VSMC从收缩型转变为合成型, 增加了细胞的生存能力<sup>[40]</sup>。

自噬参与巨噬细胞胆固醇逆向转运, 促进泡沫细胞中脂滴向溶酶体的转运, 溶酶体中酸性脂肪酶依赖性脂解诱导游离胆固醇的生成及转运。然而, 在自噬基因*Atg5*缺乏的巨噬细胞中, 胆固醇逆向转运受到抑制<sup>[41]</sup>。在巨噬细胞源性泡沫细胞中, mTOR和磷酸化的mTOR蛋白表达上调, 而阻断mTOR表达可以抑制泡沫细胞的形成<sup>[42]</sup>。Guezennec等<sup>[43]</sup>发现, *wip1*基因缺失可抑制巨噬细胞转变为泡沫细胞, 从而防止动脉粥样硬化斑块的形成。这个过程与*Atm*(ataxia telangiectasia mutated)-mTOR信号通路和选择性自噬调控胆固醇外流相关。因此, 自噬促进泡沫细胞胆固醇外流, 从而促进动脉粥样硬化斑块的消退<sup>[44]</sup>。Liao等<sup>[45]</sup>研究发现, 在高脂喂养LDL受体(LDL receptor, *LDLR*)基因敲除小鼠动脉粥样硬化模型中, 巨噬细胞特异性敲除自噬基因*Atg5*后, 动脉粥样硬化斑块中巨噬细胞的自噬能力降低、细胞凋亡明显增加, 使其无法正常清除坏死细胞, 加重了斑块内组织的坏死。另外, 在巨噬细胞中, 凝集素样氧化低密度脂蛋白受体1(lectin like oxidized low density lipoprotein receptor 1, LOX1)可能通过ROS-NF- $\kappa$ B信号通路诱导自噬, 吞噬受损线粒体和清除线粒体产生的ROS, 从而抑制炎症小体NLRP3(NOD-, LRR, and pyrin domain-containing 3)活化, 即抑制ROS生成或者诱导自噬可以减少NLRP3的表达, 减缓动脉粥样硬化的发展<sup>[46]</sup>。

### 3.2 自噬在动脉粥样硬化中的损害作用

在动脉粥样硬化导致的缺血性VEC损伤中, 自噬过度活化, 细胞组成成分过度降解, 从而细胞死亡。急性或慢性持续氧化应激时, ROS增加会破坏溶酶体膜, 溶酶体膜的氧化损伤可能导致溶酶体水解酶的释放, 造成细胞质中蛋白质和细胞器降解, 促进凋亡发生。大量积聚的ROS可强烈激活自噬, 同时过度激活的自噬也可降解过氧化氢酶而导致ROS的进一步积聚, 形成一个恶性循环。Muller等<sup>[47]</sup>发现, 持续或者高浓度的ox-LDL可以增加自噬标记蛋

白Beclin1、LC3-II表达, 上调胞质内钙离子浓度, 诱导内质网应激, 活化促凋亡介质JNK(c-Jun N-terminal kinase)和C/EBP同源蛋白(C/EBP homologous protein, CHOP), 造成VEC凋亡。凋亡的VEC具有促凝血作用, 可以增强血小板的黏附性, 在斑块破裂后促进血栓的形成。因此, 自噬产生的负面效应可能与其被过度激活有关, 而过度的自噬又可导致细胞死亡加剧动脉粥样硬化的发展。

在严重氧化应激时, 自噬参与了VSMC中蜡样色素沉着的形成<sup>[48]</sup>。溶酶体中蜡样色素大量聚集, 破坏溶酶体水解酶功能, 诱导凋亡发生<sup>[49]</sup>。溶酶体水解酶功能下降致使线粒体大量聚集, 进一步促进ROS和蜡样色素沉着的生成, 加剧细胞死亡<sup>[50]</sup>。过度自噬诱导VSMC死亡, 导致基质金属蛋白酶大量分泌, 降解细胞外基质, 不利于斑块稳定性的维持<sup>[51]</sup>。音猬因子(sonic hedgehog, Shh)对VSMC增殖、血管生成及血管再生有重要影响, Shh过表达通过激活Akt信号通路诱导VSMC自噬, 进而促进细胞增殖, 自噬抑制剂3-甲基腺嘌呤可以抑制小鼠血管新生内膜的形成<sup>[52]</sup>。

巨噬细胞自噬在动脉粥样硬化斑块稳定及破裂进程中发挥重要调控作用, 巨噬细胞表达Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)识别病原体, 并通过诱导细胞自噬消除细胞内的病原体。咪喹莫特是TLR7的配体, 家兔体内注射咪喹莫特, 可以诱导颈总动脉巨噬细胞发生自噬性细胞死亡, 并引发细胞因子释放增多、血管黏附分子表达上调、T淋巴细胞浸润和巨噬细胞大量聚集, 从而导致斑块面积增大<sup>[53]</sup>。近期发现, 高胆固醇血症的*LDLR*基因敲除小鼠同*NLRPC*或*ACS*基因敲除骨髓重组, 与同野生型骨髓重组相比, 硬化斑块更小更稳定。应用NLRP3抑制剂Arglbin治疗动脉粥样硬化小鼠, 具有明显的抗炎和抗动脉粥样硬化效果<sup>[54]</sup>。过量的胆固醇是动脉粥样硬化的诱导因素, 也是巨噬细胞发生自噬的潜在因素。胆固醇超负荷积累形成胆固醇晶体, 导致溶酶体功能障碍, 诱导炎症小体NLRP3聚集, IL-1 $\beta$ 分泌增多, 造成胆固醇代谢紊乱, 从而加剧动脉粥样硬化, 形成一个恶性循环<sup>[55]</sup>。7-脱氢胆固醇激活自噬反应会随着时间增加而减弱, 此时, 细胞分泌的炎症因子将增多且细胞更易死亡, 吞噬细胞识别清除死亡细胞的能力进一步降低, 细胞内有害物质得不到有效清除, 从而促进斑块坏死, 加速动脉粥样硬化斑

块破裂<sup>[38]</sup>。

#### 4 结语

动脉粥样硬化是老龄化相关性疾病之一,目前,临床已经验证mTOR抑制剂如雷帕霉素及其衍生物联合降胆固醇他汀类药物能有效地抑制斑块的增长,促进斑块的稳定性。自噬很有可能是通过启动或阻止细胞凋亡、坏死的发生,从而实现其对细胞命运的双重调节作用,但这方面的机制尚未阐明。在动脉粥样硬化的发生发展过程中,自噬对动脉粥样硬化血管组成细胞的影响同样具有双重性,正常水平的自噬可以保护血管细胞免受环境刺激的影响,自噬过度可能导致细胞凋亡,其具体的情况可能跟疾病的进程有关。目前,自噬诱导剂替代治疗还处于初期研究阶段,随着研究的不断完善,可能会成为更加安全、长期、有效的动脉粥样硬化的治疗方案<sup>[56]</sup>。综上所述,对动脉粥样硬化中自噬的研究具有重要的应用价值。

#### 参考文献 (References)

- Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: Renovation of cells and tissues. *Cell* 2011; 147(4): 728-41.
- Schrijvers DM, de Meyer GR, Martinet W. Autophagy in atherosclerosis: A potential drug target for plaque stabilization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31(12): 2787-91.
- Liu H, Cao Y, Tong T, Shi J, Zhang Y, Yang Y, *et al.* Autophagy in atherosclerosis: A phenomenon found in human carotid atherosclerotic plaques. *Chin Med J* 2015; 128(1): 69-74.
- Yorimitsu T, Klionsky DJ. Autophagy: Molecular machinery for self-eating. *Cell Death Differ* 2005; 12(Suppl 2): 1542-52.
- Mizushima N. Autophagy: Process and function. *Genes Dev* 2007; 21(22): 2861-73.
- He C, Klionsky DJ. Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy. *Annu Rev Genet* 2009; 43: 67-93.
- Ichimura Y, Imamura Y, Emoto K, Umeda M, Noda T, Ohsumi Y. *In vivo* and *in vitro* reconstitution of Atg8 conjugation essential for autophagy. *J Biol Chem* 2004; 279(39): 40584-92.
- Kimura S, Noda T, Yoshimori T. Dissection of the autophagosome maturation process by a novel reporter protein, tandem fluorescent-tagged LC3. *Autophagy* 2007; 3(5): 452-60.
- Jager S, Bucci C, Tanida I, Ueno T, Kominami E, Saftig P, *et al.* Role for Rab7 in maturation of late autophagic vacuoles. *J Cell Sci* 2004; 117(Pt 20): 4837-48.
- Diao J, Liu R, Rong Y, Zhao M, Zhang J, Lai Y, *et al.* ATG14 promotes membrane tethering and fusion of autophagosomes to endolysosomes. *Nature* 2015; 520(7548): 563-6.
- Ekim B, Magnuson B, Acosta-Jaquez HA, Keller JA, Feener EP, Fingar DC. mTOR kinase domain phosphorylation promotes mTORC1 signaling, cell growth, and cell cycle progression. *Mol Cell Biol* 2011; 31(14): 2787-801.
- Bungard D, Fuerth BJ, Zeng PY, Faubert B, Maas NL, Viollet B, *et al.* Signaling kinase AMPK activates stress-promoted transcription via histone H2B phosphorylation. *Science* 2010; 329(5996): 1201-5.
- Shir-Shapira H, Sharabany J, Filderman M, Ideses D, Ovadia-Shochat A, Mannervik M, *et al.* Structure-function analysis of the *Drosophila melanogaster* Caudal transcription factor provides insights into core promoter-preferential activation. *J Biol Chem* 2015; 290(34): 20747.
- Gwinn DM, Shackelford DB, Egan DF, Mihaylova MM, Mery A, Vasquez DS, *et al.* AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. *Mol Cell* 2008; 30(2): 214-26.
- Zhang ZY, Hong D, Nam SH, Kim JM, Paik YH, Joh JW, *et al.* SIRT1 regulates oncogenesis via a mutant p53-dependent pathway in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2015; 62(1): 121-30.
- Zhou ZW, Li XX, He ZX, Pan ST, Yang Y, Zhang X, *et al.* Induction of apoptosis and autophagy via sirtuin1-and PI3K/Akt/mTOR-mediated pathways by plumbagin in human prostate cancer cells. *Drug Des Devel Ther* 2015; 9: 1511-54.
- Pohl C, Jentsch S. Midbody ring disposal by autophagy is a post-abscission event of cytokinesis. *Nat Cell Biol* 2009; 11(1): 65-70.
- Belaid A, Cerezo M, Chargui A, Corcelle-Termeau E, Pedeutour F, Giuliano S, *et al.* Autophagy plays a critical role in the degradation of active RHOA, the control of cell cytokinesis, and genomic stability. *Cancer Res* 2013; 73(14): 4311-22.
- Belaid A, Cerezo M, Chargui A, Corcelle-Termeau E, Pedeutour F, Giuliano S, *et al.* Autophagy plays a critical role in the degradation of active RHOA, the control of cell cytokinesis, and genomic stability. *Cancer Res* 2013; 73(14): 4311-22.
- Cianfanelli V, Fuoco C, Lorente M, Salazar M, Quondamatteo F, Gherardini PF, *et al.* AMBRA1 links autophagy to cell proliferation and tumorigenesis by promoting c-Myc dephosphorylation and degradation. *Nat Cell Biol* 2015; 17(5): 706.
- Maiuri MC, Criollo A, Tasdemir E, Vicencio JM, Tajeddine N, Hickman JA, *et al.* BH3-only proteins and BH3 mimetics induce autophagy by competitively disrupting the interaction between Beclin 1 and Bcl-2/Bcl-X(L). *Autophagy* 2007; 3(4): 374-6.
- Radogna F, Dicato M, Diederich M. Cancer-type-specific crosstalk between autophagy, necroptosis and apoptosis as a pharmacological target. *Biochem Pharmacol* 2015; 94(1): 1-11.
- Maejima Y, Kyo S, Zhai P, Liu T, Li H, Ivessa A, *et al.* Mst1 inhibits autophagy by promoting the interaction between Beclin1 and Bcl-2. *Nat Med* 2013; 19(11): 1478-88.
- Tasdemir E, Maiuri MC, Galluzzi L, Vitale I, Djavaheri-Mergny M, D'Amelio M, *et al.* Regulation of autophagy by cytoplasmic p53. *Nat Cell Biol* 2008; 10(6): 676-87.
- Liu K, Lou J, Wen T, Yin J, Xu B, Ding W, *et al.* Depending on the stage of hepatosteatosis, p53 causes apoptosis primarily through either DRAM-induced autophagy or BAX. *Liver Int* 2013; 33(10): 1566-74.
- Livesey KM, Kang R, Vernon P, Buchser W, Loughran P, Watkins SC, *et al.* p53/HMGB1 complexes regulate autophagy and apoptosis. *Cancer Res* 2012; 72(8): 1996-2005.
- Perrotta I. The use of electron microscopy for the detection of autophagy in human atherosclerosis. *Micron* 2013; 50: 7-13.

- 28 Martinet W, De Meyer GR. Autophagy in atherosclerosis: A cell survival and death phenomenon with therapeutic potential. *Circ Res* 2009; 104(3): 304-17.
- 29 Han J, Pan XY, Xu Y, Xiao Y, An Y, Tie L, *et al.* Curcumin induces autophagy to protect vascular endothelial cell survival from oxidative stress damage. *Autophagy* 2012; 8(5): 812-25.
- 30 Chen ML, Yi L, Jin X, Liang XY, Zhou Y, Zhang T, *et al.* Resveratrol attenuates vascular endothelial inflammation by inducing autophagy through the cAMP signaling pathway. *Autophagy* 2013; 9(12): 2033-45.
- 31 Uberti F, Lattuada D, Morsanuto V, Nava U, Bolis G, Vacca G, *et al.* Vitamin D protects human endothelial cells from oxidative stress through the autophagic and survival pathways. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99(4): 1367-74.
- 32 Muller C, Salvayre R, Negre-Salvayre A, Vindis C. Oxidized LDLs trigger endoplasmic reticulum stress and autophagy: Prevention by HDLs. *Autophagy* 2011; 7(5): 541-3.
- 33 Torisu T, Torisu K, Lee IH, Liu J, Malide D, Combs CA, *et al.* Autophagy regulates endothelial cell processing, maturation and secretion of von Willebrand factor. *Nat Med* 2013; 19(10): 1281-7.
- 34 Menghini R, Casagrande V, Marino A, Marchetti V, Cardellini M, Stoeckl R, *et al.* MiR-216a: A link between endothelial dysfunction and autophagy. *Cell Death Dis* 2014; 5: 1029.
- 35 LaRocca TJ, Henson GD, Thorburn A, Sindler AL, Pierce GL, Seals DR. Translational evidence that impaired autophagy contributes to arterial ageing. *J Physiol* 2012; 590(14): 3305-16.
- 36 Salabei JK, Hill BG. Autophagic regulation of smooth muscle cell biology. *Redox Biol* 2015; 4: 97-103.
- 37 Ouimet M. Autophagy in obesity and atherosclerosis: Interrelationships between cholesterol homeostasis, lipoprotein metabolism and autophagy in macrophages and other systems. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1831(6): 1124-33.
- 38 He C, Zhu H, Zhang W, Okon I, Wang Q, Li H, *et al.* 7-Ketocholesterol induces autophagy in vascular smooth muscle cells through Nox4 and Atg4B. *Am J Pathol* 2013; 183(2): 626-37.
- 39 Martinet W, Schrijvers DM, Timmermans JP, Bult H. Interactions between cell death induced by statins and 7-ketocholesterol in rabbit aorta smooth muscle cells. *Br J Pharmacol* 2008; 154(6): 1236-46.
- 40 Salabei JK, Cummins TD, Singh M, Jones SP, Bhatnagar A, Hill BG. PDGF-mediated autophagy regulates vascular smooth muscle cell phenotype and resistance to oxidative stress. *Biochem J* 2013; 451(3): 375-88.
- 41 Ouimet M, Franklin V, Mak E, Liao X, Tabas I, Marcel YL. Autophagy regulates cholesterol efflux from macrophage foam cells via lysosomal acid lipase. *Cell Metab* 2011; 13(6): 655-67.
- 42 Wang X, Li L, Niu X, Dang X, Li P, Qu L, *et al.* mTOR enhances foam cell formation by suppressing the autophagy pathway. *Dna Cell Biol* 2014; 33(4): 198-204.
- 43 Le Guezennec X, Brichkina A, Huang YF, Kostromina E, Han W, Bulavin DV. Wip1-dependent regulation of autophagy, obesity, and atherosclerosis. *Cell Metab* 2012; 16(1): 68-80.
- 44 Ouimet M, Marcel YL. Regulation of lipid droplet cholesterol efflux from macrophage foam cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32(3): 575-81.
- 45 Liao X, Sluimer JC, Wang Y, Subramanian M, Brown K, Pattison JS, *et al.* Macrophage autophagy plays a protective role in advanced atherosclerosis. *Cell Metab* 2012; 15(4): 545-53.
- 46 Ding Z, Liu S, Wang X, Dai Y, Khaidakov M, Romeo F, *et al.* LOX-1, oxidant stress, mtDNA damage, autophagy, and immune response in atherosclerosis. *Can J Physiol Pharmacol* 2014; 92(7): 524-30.
- 47 Muller C, Salvayre R, Negre-Salvayre A, Vindis C. HDLs inhibit endoplasmic reticulum stress and autophagic response induced by oxidized LDLs. *Cell Death Differ* 2011; 18(5): 817-28.
- 48 Lee FY, Lee TS, Pan CC, Huang AL, Chau LY. Colocalization of iron and ceroid in human atherosclerotic lesions. *Atherosclerosis* 1998; 138(2): 281-8.
- 49 Kurz T, Terman A, Brunk UT. Autophagy, ageing and apoptosis: the role of oxidative stress and lysosomal iron. *Arch Biochem Biophys* 2007; 462(2): 220-30.
- 50 Luo C, Li Y, Wang H, Feng Z, Li Y, Long J, *et al.* Mitochondrial accumulation under oxidative stress is due to defects in autophagy. *J Cell Biochem* 2013; 114(1): 212-9.
- 51 Mei Y, Thompson MD, Cohen RA, Tong X. Autophagy and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1852(2): 243-51.
- 52 Li H, Li J, Li Y, Singh P, Cao L, Xu LJ, *et al.* Sonic hedgehog promotes autophagy of vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012; 303(11): H1319-31.
- 53 De Meyer I, Martinet W, Schrijvers DM, Timmermans JP, Bult H, De Meyer GR. Toll-like receptor 7 stimulation by imiquimod induces macrophage autophagy and inflammation in atherosclerotic plaques. *Basic Res Cardiol* 2012; 107(3): 269.
- 54 Abderrazak A, Couchie D, Mahmood DF, Elhage R, Vindis C, Laffargue M, *et al.* Anti-inflammatory and antiatherogenic effects of the NLRP3 inflammasome inhibitor arglabin in ApoE2.Ki mice fed a high-fat diet. *Circulation* 2015; 131(12): 1061-70.
- 55 Cai Z, Shen L, He B. Moving with and beyond CANTOS: How to put out the fire of inflammation in atherosclerosis? *Int J Cardiol* 2015; 195: 45-7.
- 56 Xie M, Kong Y, Tan W, May H, Battiprolu PK, Pedrozo Z, *et al.* Histone deacetylase inhibition blunts ischemia/reperfusion injury by inducing cardiomyocyte autophagy. *Circulation* 2014; 129(10): 1139-51.