

THP-1 源性巨噬细胞载脂蛋白 E mRNA 的表达(摘要)

张国兵, 江智文, 陈灏珠¹, 顾青², 田毓华², 易苗英²

(上海市第一人民医院心内科, 上海 200080; 1. 上海市中山医院心血管研究所;

2. 上海市第一人民医院中心实验室)

[主题词] 载脂蛋白 E; THP-1 细胞; mRNA

[中图分类号] R33

[文献标识码] A

1 材料与方法

THP-1 细胞(中科院细胞所); 佛波醇酯(Sigma 公司); 载脂蛋白 E PCR 引物: 5' - ACA-GAATTCGCCCCGGCCTGGTACAC - 3'; ④ 5' - TAAGCCTGGCACGGCTGTCCAAGGA - 3'。

将 THP-1 细胞接种至 12 孔板, 实验组(加 10^{-7} mol/L 佛波醇酯)4 孔; 对照组(不加佛波醇酯)4 孔。四天后收集细胞抽提细胞总 RNA, 取总 RNA 500 ng, 逆转录生成 cDNA; 取逆转录产物 5 μ L, PCR 扩增, 循环 30 次: 95 $^{\circ}$ C 1 min \rightarrow 63 $^{\circ}$ C 1 min \rightarrow 72 $^{\circ}$ C 1 min。扩增产物经 2.5% 琼脂糖凝胶电泳, 凝胶扫描系统检测扩增产物的量。

2 结果

光镜下 THP-1 细胞呈球形, 悬浮生长并无限繁殖。加佛波醇酯后 96 h 见细胞全部贴壁生长, 呈不规则形状, 失去增殖活性, 提示巨噬细胞分化形成。逆转录-多聚酶链反应结果显示作为内参照的 β -actin 表达稳定, 而巨噬细胞载脂蛋白 E mRNA 的表达明显高于 THP-1 单核细胞。半定量分析证实分化后的巨噬细胞载脂蛋白 E mRNA 表达的量显著

高于 THP-1 细胞($P < 0.01$)。

3 讨论

单核-巨噬细胞源性泡沫细胞的形成是动脉粥样硬化的特征性病变, 这一过程中单核细胞分化为巨噬细胞的同时伴随载脂蛋白 E 表达的增加, 已为很多实验所证实。THP-1 细胞是单核细胞性细胞株, 具有正常单核细胞的众多生理特性, 包括粘附、分化及分泌载脂蛋白 E 等。有研究显示佛波醇酯刺激的 6 天里 THP-1 细胞载脂蛋白 E mRNA 的表达量逐步增加, 上清液中载脂蛋白 E 浓度于第 3 天开始逐步增加; 而无佛波醇酯刺激的 THP-1 细胞不能检出载脂蛋白 E mRNA 的表达。本实验以 10^{-7} mol/L 佛波醇酯刺激 THP-1 细胞, 于加药后第 4 天光镜观察证实巨噬细胞已充分形成时测定载脂蛋白 E mRNA 表达的情况, 结果与大多数文献相似, 随着巨噬细胞的分化成熟, 载脂蛋白 E 的 mRNA 表达显著增加。研究显示动脉粥样硬化病变内巨噬细胞分泌的载脂蛋白 E 可在不依赖循环脂质水平改变的情况下, 主要通过局部机制实现抗动脉粥样硬化作用。因此, 单核细胞分化为巨噬细胞后载脂蛋白 E 表达增加可能参与了载脂蛋白 E 的局部抗动脉粥样硬化作用。

(此文 2000-02-18 收到, 2000-07-17 修回)

(此文编辑 朱雯霞)

[作者简介] 张国兵, 男, 1971 年生, 江苏常州人, 博士, 主要研究动脉粥样硬化和脂蛋白的相关性。江智文, 男, 上海市人, 教授, 主任医师, 硕士研究生导师, 主要研究动脉粥样硬化的病理生理机制。