

肥大细胞对平滑肌源性泡沫细胞 iv 型胶原和 Ⅳ型胶原表达的影响

甘 露, 刘录山, 唐朝克, 万载阳, 危当恒, 万腊香, 杨永宗

(南华大学心血管病研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 病理学与病理生理学; 肥大细胞; 泡沫细胞; 胶原; 动脉粥样硬化

目的 检测大鼠腹腔肥大细胞(mast cell, MC)对平滑肌源性泡沫细胞 iv 型胶原和 Ⅳ型胶原表达的影响。**方法** SD 大鼠体重约 200 g, 雌雄不限, 供采集 MC 和原代培养平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)。采用梯度密度离心分离 MC, 提取 MC 上清液(含 MC 释放的各种炎症介质)。用 MC 上清液和氧化型低密度脂蛋白(oxLDL)处理 SMC, 实验分四组: 对照组 SMC 在 5 mL 含 10% 小牛血清的 DMEM 中培养 48 h; oxLDL 组 SMC 在 5 mL 含 10% 小牛血清的 DMEM 中(含 oxLDL, 终浓度为 100 mg/L)培养 48 h; MC 上清液组 SMC 在 5 mL 含 10% 小牛血清的 MC 上清液(由含 1×10^6 个 MC 的细胞悬液提取)中培养 48 h; MC 上清液+ oxLDL 组 SMC 在 5 mL 含 10% 小牛血清的 MC 上清液(由含 1×10^6 个 MC 的细胞悬液提取)中(含 oxLDL, 终浓度为 100 mg/L)培养 48 h。采用油红 O 染色检测 SMC 泡沫化。RT-PCR 检测 SMC iv 型胶原和 Ⅳ型胶原 mRNA 的表达, PCR 引物序列 iv 型胶原为 5'-GAC ACT GAA CCC TTT GTA ATG-3' 和 5'-GTG AAA CTC CCG TCT GCT-3', 扩增片段长度为 399 bp; Ⅳ型胶原引物序列为 5'-AGC GGA GAA TAC TGG GTT-3' 和 5'-TGT AAT GTT CTG GGA GGC-3', 扩增片段长度为 288 bp; 内参照采用 β -actin, 引物序列为 5'-GTG GGG CGC CCC AGG CAC CA-3' 和 5'-CTC CTT AAT GTC ACG CAC GAT TTC-3', 扩增片段长度为 548 bp。免疫细胞化学染色检测 SMC iv 型胶原和 Ⅳ型胶原蛋白表达。**结果** 油红 O 染色显示 MC 上清液可加速 SMC 泡沫化。RT-PCR 结果发现, 与对照组 SMC 相比, 用 oxLDL 或 MC 上清液分别单独处理 SMC 48 h 后, iv 型胶原和 Ⅳ型胶原的 mRNA 表达均降低, 用 oxLDL 和 MC 上清液同时处理 SMC 48 h 后, iv 型胶原和 Ⅳ型胶原的 mRNA 表达降低更明显。免疫细胞化学染色显示, 对照组 SMC 细胞浆内有大量棕色颗粒, 颗粒粗大而染色深, 说明对照组 iv 型胶原和 Ⅳ型胶原的蛋白表达为强阳性; 用 oxLDL 或 MC 上清液分别单独处理 SMC 8 h 后, 细胞浆内棕色颗粒少而染色浅, 说明 iv 型胶原和 Ⅳ型胶原的蛋白表达均明显降低; 用 oxLDL 和 MC 上清液同时处理 SMC 48 h 后, iv 型胶原和 Ⅳ型胶原的蛋白表达降低更明显。**结论** MC 在体外抑制 SMC iv 型胶原和 Ⅳ型胶原表达, 并且能协同 oxLDL 对 iv 型胶原和 Ⅳ型胶原表达的抑制作用。因此 MC 释放的炎症介质也许参与了动脉粥样斑块纤维帽的重构。