

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2006)14-03-0208-05

烟酸对冠心病患者外周血单核细胞环一磷酸腺苷与三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 表达的影响

李颖庆, 文红艳, 全智华, 李华波, 杨 薪

(南华大学附属第一医院心血管内科, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 病理学与病理生理学; 烟酸; 细胞培养; 单核细胞; 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1; 环一磷酸腺苷; 蛋白激酶 A 抑制物; 冠状动脉疾病

[摘要] 目的 以冠心病患者的外周血单核细胞为研究对象, 观察烟酸对体外培养的单核细胞中环一磷酸腺苷及 ATP 结合盒转运体 A1 表达的影响, 分析烟酸调节 ATP 结合盒转运体 A1 的表达与环一磷酸腺苷—蛋白激酶 A 途径的相关性。方法 运用逆转录聚合酶链反应和 Western blot 蛋白印迹分别检测 ATP 结合盒转运体 A1 mRNA 与 ATP 结合盒转运体 A1 蛋白的表达, 采用低 pH 值 EIA 法测定细胞内环一磷酸腺苷水平。结果 (1) 各组外周血单核细胞中 ATP 结合盒转运体 A1 的表达及环一磷酸腺苷的水平在 3 h 和 48 h 的变化无明显差异 ($P > 0.05$); (2) 冠心病高脂血症患者单核细胞中 ATP 结合盒转运体 A1 的表达较正常人明显降低 ($P < 0.05$), 而正常血脂组单核细胞中 ATP 结合盒转运体 A1 的表达较正常人无明显差异 ($P > 0.05$); (3) 烟酸单独作用能明显增加冠心病病人单核细胞中 ATP 结合盒转运体 A1 的表达 ($P < 0.05$), 同时使单核细胞中环一磷酸腺苷的含量增加 ($P < 0.05$); (4) 蛋白激酶 A 抑制剂 Ro31-8220 单独作用能明显降低冠心病病人单核细胞中 ATP 结合盒转运体 A1 的表达 ($P < 0.05$), 同时使单核细胞中环一磷酸腺苷的含量降低 ($P < 0.05$); (5) 先用 Ro 31-8220 作用 30 min 后, 再加入烟酸, 则烟酸使单核细胞中 ATP 结合盒转运体 A1 表达上调及环一磷酸腺苷的含量增加的作用被完全抑制 ($P < 0.05$)。结论 烟酸对单核细胞中 ATP 结合盒转运体 A1 表达的影响, 是通过环一磷酸腺苷—蛋白激酶 A 途径发挥作用的, 烟酸上调外周血单核细胞中 ATP 结合盒转运体 A1 表达的作用, 与环一磷酸腺苷—蛋白激酶 A 途径存在明确的相关性。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Correlative Study on the Expression of Cyclic Adenosine Monophosphate and Adenosine Triphosphate Binding Cassette Transporter A1 in Peripheral Blood Mononuclear Cells by the Role of Niacin

LI Ying-Qing, WEN Hong-Yan, QUAN Zhi-Hua, LI Hua-Bo, and YANG Xin

(Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital, Nanhua University, Hengyang 421001, China)

[KEY WORDS] Niacin; Peripheral Blood Mononuclear Cells; Adenosine Triphosphate Binding Cassette Transporter A1; Cyclic Adenosine Monophosphate; Protein Kinase A Inhibitor; Cyclic Adenosine Monophosphate/Protein Kinase A Pathway

[ABSTRACT] **Aim** Take coronary heart disease patient's peripheral blood mononuclear cells (PBMC) as the study object, observing the effect of niacin to the expression of cyclic adenosine monophosphate (cAMP) and adenosine triphosphate binding cassette transporter A1 (ABCA1) in PBMC which incubated in vitro, analysing the correlation of niacin adjusts the expression of ABCA1 and cAMP/protein kinase A (PKA) pathway. **Methods** To detect the expression of ABCA1 mRNA and protein by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) and western blot, to determine the level of cAMP in PBMC by low pH EIA kit. Analysing the expression of ABCA1 change and cAMP level change, discuss the correlation on the expression of ABCA1 and cAMP in PBMC by the role of niacin. **Results** (1) Each group of the expression of ABCA1 and the cAMP level changes in PBMC in 3 h and 48 h does not have the obvious difference ($P > 0.05$). (2) The expression of ABCA1 of coronary heart disease high blood fats patient in PBMC compares the normal person obviously to reduce ($P < 0.05$), but in the normal blood fats group the expression of ABCA1 in PBMC compares the normal person not to have the obvious change ($P > 0.05$). (3) The niacin alone affects obviously increase in coronary heart disease person uninuclear cell the ABCA1 expression ($P < 0.05$), at the same time makes the cAMP content in the PBMC to increase ($P < 0.05$). (4) PKA inhibitor Ro 31-8220 alone affects can obviously reduce in coronary disease person he expression of ABCA1 in PBMCs ($P < 0.05$), at the same time causes the cAMP content in PBMCs to reduce ($P < 0.05$). (5) In the niacin + PKA inhibitor group were preincubated for 30 minutes in the presence of

[收稿日期] 2005-08-01

[修回日期] 2006-03-10

[作者简介] 李颖庆, 硕士研究生, 研究方向为心血管内科学, 联系电话为 13467744127, E-mail 为 hare0914@yahoo.com.cn。通讯作者文红艳, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为心血管疾病的基础与临床, 联系电话 0734-8279407, E-mail 为 why630919@163.com。全智华, 博士研究生, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为心血管疾病的基础与临床, 联系电话 0734-8279009。

PKA inhibitor Ro 31-8220 (900 nmol/L), before niacin (1 000 μmol/L) was added. then the niacin increases the expression of ABCA1 and the cAMP content in PBMCs was suppressed completely ($P < 0.05$). **Conclusion** According to the result analysis of the experiment, the effect that niacin affect the expression of ABCA1 through the pathway of cAMP/ PKA, and there is an explicit correlation that niacin increase the expression of ABCA1 in PBMCs with the pathway of cAMP/PKA.

烟酸作为最早应用于临床的调脂药物,能降低血浆甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)和低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC),同时升高高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC),明显降低脂蛋白(a)的血浆浓度,显著增加心肌梗死后患者的生存率^[1]。ATP 结合盒转运体 A1(adenosine triphosphate binding cassette transporter A1, ABCA1)是细胞膜脂类转运体,能促使细胞内胆固醇和磷脂转运至无脂或贫脂的载脂蛋白 AI,以合成 HDL,促进胆固醇逆转运。报道证实,环一磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)的膜渗透相似物^[2,3]及特异性抑制剂^[4]可通过某些未知的机制刺激巨噬细胞中 ABCA1 的转录;蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA)可直接作用于 ABCA1 中的 ATP 结合域,使其磷酸化,这对于 ABCA1 活性是必需的^[5]。本实验通过对烟酸体外干预冠心病患者外周血单核细胞中 ABCA1 的表达和 cAMP 浓度,并施加 PKA 抑制剂 Ro 31-8220 以阻断 cAMP-PKA 途径的方法,分析烟酸调节 ABCA1 的表达与 cAMP-PKA 途径的相关性。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

AMV 第一链 cDNA 合成试剂盒为上海生物工程有限公司产品;PX2 型普通 PCR 仪为美国 Thermo Hybaid 公司产品;低 pH 值 EIA 试剂盒为 R&D 公司产品;AlphaImager3400 型凝胶图像分析仪为美国 Alpha Innotech 公司产品;总 RNA 提取所用 Trizol RNA 提取液取自美国 Invitrogen 公司产品;UV-1206 型紫外分光光度仪为日本岛津公司产品;ABCA1 和磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH)(作为内参照)引物均由上海生物工程有限公司合成;羊抗人 ABCA1 一抗,β-actin 一抗(美国 Santa Cruz 公司),辣根过氧化物酶标记兔抗羊二抗(武汉博士德公司);烟酸为美国 Sigma 公司产品;PKA 抑制剂 Ro 31-8220 为美国 Upstate 生物技术公司产品;其他试剂均为进口或国产分析纯。

1.2 细胞培养及分组

取本院经冠状动脉造影确诊为冠心病患者和正常志愿者的股动脉血,肝素抗凝。与等体积 D-hank's 液混合后,加在等体积的人淋巴细胞分离液上方,

2 kr/min 室温离心 20 min 后,取中层乳白色膜状层加入离心管中,加入 5 倍体积 D-hank's 液洗涤,然后以 1.5 kr/min × 10 min 离心 2 次,去上清,沉淀者即为单核细胞。加入 5 倍体积 RPMI1640 培养基以 1.5 kr/min × 10 min 离心 1 次,加入 1 mL RPMI1640 培养基混匀,进行细胞计数,并用 2% 苔盼蓝计数活细胞数应 > 95%。以 $(5 \sim 10) \times 10^9$ 个/L 的密度接种于每孔含 2 mL 培养基的 24 孔塑料培养板上,用含 10% FBS 和青霉素与链霉素各 100 ku/L 的 RPMI1640,置 37 °C 含 5% CO₂ 细胞培养箱内培养。实验分三大组:正常人为阴性对照组,将冠心病病人分为高血脂与正常血脂两组,后两大组均设阳性对照、烟酸、PKA 抑制剂和烟酸+ PKA 抑制剂四小组,阳性对照组不加任何干预因素,烟酸组中加入烟酸使其在培养基中的浓度为 1 mmol/L,抑制剂组中加入 PKA 抑制剂 Ro 31-8220 使其在培养基中的浓度为 900 nmol/L,烟酸+ PKA 抑制剂组中提前 30 min 用含 PKA 抑制剂 Ro 31-8220(900 nmol/L)的培养基孵育,然后再加入烟酸(1 mmol/L)。上述各组细胞均孵育细胞 3 h 或 48 h。

1.3 RNA 的提取及逆转录聚合酶链反应扩增

分别收集各组培养 3 h 和 48 h 后细胞 $[(5 \sim 10) \times 10^9$ 个/L],按 Trizol 试剂盒说明书提取 RNA。溶解后用紫外分光光度仪测 RNA 纯度和浓度($A_{260}/A_{280} > 1.8$)。吸取 2 μL RNA 样本在 20 μL 反应体系中参照逆转录试剂盒说明书进行逆转录反应。PCR 扩增体系:取逆转录 cDNA 产物 2 μL, 2 × Master 10 μL, ddH₂O 7 μL, 上游及下游引物各 0.5 μL 至总反应体系为 20 μL。ABCA1 的引物序列为:上游 5'-GTA TTT TTG CAA GGC TAC CAG TTA CAT TTG ACA A-3', 下游 5'-GAT TGG CTT CAG GAT GTC CAT GTT GGA A-3', 扩增片段长度 177 bp; GAPDH 的引物序列为:上游 5'-TCA CCA TCT TCC AGG AGC GAG-3', 下游 5'-TGT CGC TGT TGA AGT CAG AG-3', 扩增长度 672 bp。引物的合成是参照 BLAST 搜索选取。PCR 扩增条件为 94 °C 预变性 5 min 后, 95 °C 变性 40 s → 54 °C 复性 35 s → 72 °C 延伸 30 s, 扩增 36 个循环;末次循环后 72 °C 再延伸 8 min。反应结束后,取反应产物 6 μL 进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,溴化乙锭染色,用 AlphaImager3400 型凝胶图像分析仪摄图,分析各组目的基因及 GAPDH 基因灰度值,以二者的比值代

表 ABCA1 相对表达量。

1.4 ATP 结合盒转运体 A1 蛋白表达的检测

分别收集各组培养 3 h 和 48 h 后细胞[(5~10) × 10⁹ 个/L], 在收获好的细胞中加入祛污裂解液进行细胞裂解, 于 4℃ 离心 10 min, 弃除沉淀, BCA 法进行蛋白定量, 取 50 μg 蛋白加入 4 × SDS 凝胶加样缓冲液中, 100℃ 加热 10 min 以使蛋白质变性。用 6% SDS-聚丙烯酰胺凝胶进行电泳分离, 转 PVDF 膜, 丽春红染色观察转移效果。5% 脱脂牛奶封闭 2 h 按 1:200 加入羊抗人 ABCA1 一抗, 室温孵育 2 h 或 4℃ 孵育过夜, TBST 洗 3 次, 1:2 000 加入辣根过氧化物酶标记兔抗羊二抗, 室温孵育 1 h, TBST 洗 3 次, 用 Western blot 印迹荧光检测试剂盒显示于 X 线片。结果用 AlphaImager3400 型凝胶图像分析仪对胶片扫描, 以对照组面积灰度值为 100% 与实验组进行比较和半定量分析。

1.5 细胞内环一磷酸腺苷的测定

分别收集各组培养 3 h 和 48 h 后细胞[(5~10) × 10⁹ 个/L], 用 PBS 洗涤三次, 以彻底将 RPMI1640 培养基完全移除。将 100 μL 100 mmol/L 的 HCl 加到收集好的细胞中, 孵育 30 min 以上使细胞完全裂解, 600 g 离心 15 min。实验操作的具体过程按试剂盒说明书进行。

1.6 统计学分析

采用 SPSS10.0 统计软件包进行处理, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组内比较采用配对 *t* 检验; 组间比较采用 Dunnett-*t* 检验、SNK-*q* 检验或单因素方差分析(one-way ANOVA)。*P* < 0.05 为差异有显著性统计学意义。

2 结果

2.1 烟酸和蛋白激酶 A 抑制剂对外周血单核细胞中 ATP 结合盒转运体 A1 mRNA 表达的影响

同时提取培养了 3 h 和 48 h 的各组细胞, 抽提细胞总 RNA 后合成 cDNA, 通过 RT-PCR 同时检测各组外周血单核细胞中 ABCA1 mRNA 的表达。结果发现, 同一组不同时间点前后对比, ABCA1 mRNA 的表达差异无显著性; 经烟酸(1 mmol/L) 处理的外周血单核细胞中 ABCA1 mRNA 的表达较空白对照组明显增加; 经 Ro 31-8220(900 nmol/L) 处理的外周血单核细胞中 ABCA1 mRNA 的表达, 仅为空白对照组的 40% 左右; 而在烟酸+ 抑制剂组中, 烟酸上调 ABCA1 mRNA 表达的作用完全被抑制, 其表达也仅为空白对照组的 40% 左右(表 1, 图 1)。

表 1. 各组 ATP 结合盒转运体 A1 mRNA 表达的比较(*n* = 8, $\bar{x} \pm s$)

| 分 组 | 3 h | 48 h |
|------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 正常人对照 | 0.856 ± 0.020 | 0.845 ± 0.028 |
| CHDHL 对照 | 0.780 ± 0.022 ^a | 0.765 ± 0.023 ^a |
| CHDHL-N | 0.984 ± 0.033 ^a | 0.975 ± 0.036 ^a |
| CHDHL-P | 0.405 ± 0.015 ^{ab} | 0.389 ± 0.017 ^{ab} |
| CHDHL-N+ P | 0.411 ± 0.013 ^{ab} | 0.396 ± 0.012 ^{ab} |
| CHDNL 对照 | 0.848 ± 0.016 | 0.836 ± 0.025 |
| CHDNL-N | 0.992 ± 0.014 ^a | 0.983 ± 0.013 ^a |
| CHDNL-P | 0.399 ± 0.014 ^{ab} | 0.382 ± 0.011 ^{ab} |
| CHDNL-N+ P | 0.405 ± 0.018 ^{ab} | 0.409 ± 0.014 ^{ab} |

CHDHL 表示冠心病高血脂, CHDNL 表示冠心病正常血脂, N 表示烟酸, P 表示抑制剂。a 为 *P* < 0.05, 与正常人对照组比较; b 为 *P* < 0.01, 与烟酸组比较。

2.2 烟酸和蛋白激酶 A 抑制剂对外周血单核细胞 ATP 结合盒转运体 A1 蛋白表达的影响

同时提取培养了 3 h 和 48 h 的各组细胞总蛋白质, 经 Western blot 印迹检测。结果表明, 同一组不同时间点前后对比, ABCA1 蛋白的表达无明显差异; 经烟酸(1 000 μmol/L) 处理的外周血单核细胞中 ABCA1 蛋白的表达较空白对照组明显增加; 经 Ro 31-8220(900 nmol/L) 处理的外周血单核细胞中 ABCA1 蛋白的表达, 仅为空白对照组的 40% 左右; 而在烟酸加抑制剂组中, 烟酸上调 ABCA1 蛋白表达的作用完全被抑制, 其表达也仅为空白对照组的 40% 左右, 结果与 ABCA1 mRNA 的表达相一致(图 2)。

表 2. 各组 ATP 结合盒转运体 A1 蛋白表达的比较(*n* = 8, $\bar{x} \pm s$)

| 分 组 | 3 h | 48 h |
|------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 正常人对照 | 0.630 ± 0.004 | 0.615 ± 0.006 |
| CHDHL 对照 | 0.540 ± 0.012 ^a | 0.531 ± 0.013 ^a |
| CHDHL-N | 0.801 ± 0.006 ^a | 0.813 ± 0.018 ^a |
| CHDHL-P | 0.399 ± 0.002 ^{ab} | 0.385 ± 0.017 ^{ab} |
| CHDHL-N+ P | 0.412 ± 0.011 ^{ab} | 0.400 ± 0.014 ^{ab} |
| CHDNL 对照 | 0.623 ± 0.006 | 0.633 ± 0.007 |
| CHDNL-N | 0.788 ± 0.011 ^a | 0.797 ± 0.009 ^a |
| CHDNL-P | 0.388 ± 0.010 ^{ab} | 0.373 ± 0.005 ^{ab} |
| CHDNL-N+ P | 0.412 ± 0.013 ^{ab} | 0.401 ± 0.016 ^{ab} |

CHDHL 表示冠心病高血脂, CHDNL 表示冠心病正常血脂, N 表示烟酸, P 表示抑制剂。A 为 *P* < 0.05, 与正常人对照组比较; b 为 *P* < 0.01, 与烟酸组比较。

2.3 烟酸和蛋白激酶 A 抑制剂对外周血单核细胞中环一磷酸腺苷的影响

为了探讨烟酸上调外周血单核细胞中 ABCA1 表达的作用是否是通过 cAMP/PKA 途径实现的, 实

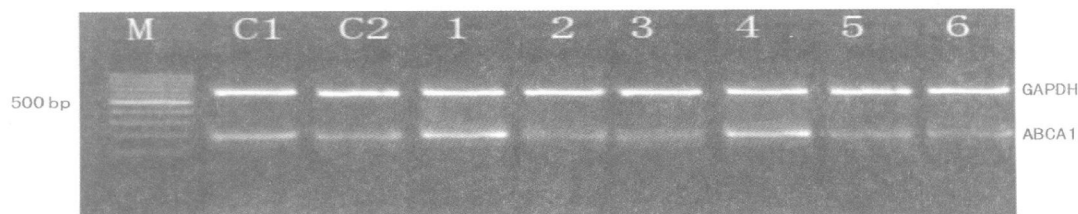


图 1. ATP 结合盒转运体 A1 mRNA 逆转录聚合酶链反应产物的凝胶电泳图 M 为 100 bp Marker, C1 为正常人阴性对照组, C2 为冠心病高血脂阳性对照组, 1 为 3 h 烟酸组, 2 为 3 h 抑制剂组, 3 为 3 h 烟酸+ 抑制剂组, 4 为 48 h 烟酸组, 5 为 48 h 抑制剂组, 6 为 48 h 烟酸+ 抑制剂组。

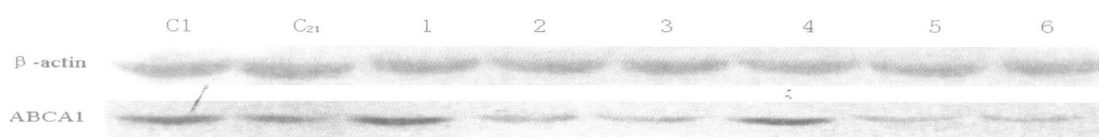


图 2. ATP 结合盒转运体 A1 蛋白表达的凝胶电泳图 C1 为正常阴性对照组, C2 为冠心病高血脂阳性对照组, 1 为 3 h 烟酸组, 2 为 3 h 抑制剂组, 3 为 3 h 烟酸+ 抑制剂组, 4 为 48 h 烟酸组, 5 为 48 h 抑制剂组, 6 为 48 h 烟酸+ 抑制剂组。

验通过酶联免疫法(EIA)分别于 3 h 和 48 h 时检测各组外周血单核细胞中 cAMP 水平。结果表明, 同一组不同时间点前后对比, 细胞中 cAMP 含量的变化无明显差异; 经烟酸(1 mmol/L)处理的外周血单核细胞中 cAMP 水平较空白对照组明显增加; 经 Ro 31-8220 (900 nmol/L) 处理的外周血单核细胞中 cAMP 水平, 仅为空白对照组的 30% 左右(表 3); 在烟酸加抑制剂组中, 烟酸 cAMP 水平的作用完全被抑制, 其表达也仅为空白对照组的 30% 左右(表 3)。

表 3. 各组细胞内 cAMP 的表达水平比较 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

| 分 组 | 3 h | 48 h |
|-----------|-----------------------------|-----------------------------|
| 正常人对照 | 58.23 ± 0.131 | 56.11 ± 0.046 |
| CHDHL 对照 | 53.39 ± 0.032 ^a | 51.08 ± 0.021 ^a |
| CHDHL-N | 105.6 ± 0.112 ^a | 100.3 ± 0.123 ^a |
| CHDHL-P | 16.88 ± 0.082 ^{ab} | 15.79 ± 0.077 ^{ab} |
| CHDHL-N+P | 17.44 ± 0.004 ^{ab} | 16.11 ± 0.012 ^{ab} |
| CHDNL 对照 | 57.68 ± 0.016 | 53.86 ± 0.010 |
| CHDNL-N | 104.8 ± 0.141 ^a | 102.3 ± 0.102 ^a |
| CHDNL-P | 15.82 ± 0.052 ^{ab} | 14.22 ± 0.032 ^{ab} |
| CHDNL-N+P | 16.55 ± 0.081 ^{ab} | 15.75 ± 0.061 ^{ab} |

CHDHL 表示冠心病高血脂, CHDNL 表示冠心病正常血脂, N 表示烟酸, P 表示抑制剂。A 为 $P < 0.05$, 与正常人对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与烟酸组比较。

3 讨论

烟酸作为最早应用于临床的调脂药物, 其最重要的临床价值在于其能提高血浆 HDLC 水平, 但是关于这方面调脂机理的研究却没有见诸报道。动脉粥样硬化(As) 以其在大中动脉形成 As 斑块为病理特点, 继而形成动脉瘤、动脉血栓和动脉管腔狭窄而危及生命。随着长期深入的研究发现, 在 As 斑块形成的早期, 单核巨噬细胞可转变为泡沫细胞, 并且是早期泡沫细胞的主要来源。单核细胞在 As 早期可粘附于动脉内皮表面, 进而向内皮下迁移, 转变为巨噬细胞, 巨噬细胞吞噬脂质而形成泡沫细胞, 并参与脂质条纹和纤维斑块的形成。因此, 在 As 形成的早期, 阻断单核细胞向巨噬细胞及泡沫细胞的转变, 对预防和治疗 As 性心脏病有着至关重要的意义。故而本实验将烟酸干预外周血单核细胞中脂类转运体 ABCA1 的表达做为研究重点, 以初步探究烟酸是通过何种机制影响 ABCA1 变化的。

ATP 结合盒转运体 A1(ABCA1) 已被证实能够将细胞内胆固醇转运到细胞膜的外层, 在那里很容易将载脂蛋白 AI 组装成 HDL 颗粒, 从而提高血浆 HDLC 水平。在胆固醇逆转运的起始阶段, 通过加

强 ABCA1 的转录,能够抑制泡沫细胞的形成,从而发挥抗动脉粥样硬化的作用。事实证明,烟酸能够显著降低细胞内胆固醇的含量,加强细胞清除过量负荷的修饰性 LDL 颗粒的能力,以及加强 HDL 介导的胆固醇流出;而烟酸已被发现能够刺激单核细胞中 ABCA1 的转录。烟酸的效应被证实最早于应用 3 h 开始发挥作用,并至少持续发挥效应至 48 h^[6]。所以本实验选用 3 h 和 48 h 来进行分析。从实验过程所得数据可知,同一处理组不同时间 ABCA1 表达无显著性差异,表明在烟酸有效作用时间内,目的基因稳定表达。同时从实验中我们了解到,冠心病血脂正常者中 ABCA1 的表达与正常人并无显著差异,通过对高血脂冠心病患者 ABCA1 与正常人表达的差异性分析中,就能够明了烟酸对 ABCA1 表达的影响。我们已知烟酸是强有力的前列腺素 D2(prostaglandin D2, PGD2) 合成刺激剂^[7], PGD2 能够增加细胞内 cAMP 水平^[8],已经有报道证实 cAMP 能诱导 ABCA1 的表达,而 ABCA1 也已被证实是胆固醇逆转运的守门者,在本实验中,我们检测了一种 PKA 抑制剂 Ro31-8220 对烟酸诱导 ABCA1 表达的影响作用。烟酸及 Ro31-8220 对单核细胞中 ABCA1 表达及 cAMP 水平的影响,在实验过程中与时间无明确相关性;单核细胞中 ABCA1 的表达与冠心病患者血脂水平呈正变;烟酸通过上调单核细胞中 ABCA1 的表达,是使冠心病患者血脂下降的一条途径;PKA 抑制剂 Ro31-8220 通过抑制 cAMP 增加,而降低单核细胞中 ABCA1 的表达,并通过此途径使烟酸上调 ABCA1 表达的作用完全被抑制。

根据既往的许多研究报道,烟酸是通过降低血浆 cAMP 水平,使甘油三酯酶活性下降,从而抑制脂肪的分解、降低血脂水平的。但我们通过仔细阅读文献发现,烟酸所降低的是脂肪细胞中 cAMP 水平,而对单核细胞中 cAMP 的影响并未有相关研究报道。在本实验中,我们观察到烟酸能够大幅度增加外周血单核细胞中 cAMP 的水平,从而增加 ABCA1 表达;而这一效应能够被 PKA 抑制剂完全阻断。这就有力的证明了烟酸对单核细胞中 ABCA1 表达的影响,可通过 cAMP-PKA 这一途径发挥作用,烟酸上调

外周血单核细胞中 ABCA1 表达的作用,与 cAMP-PKA 途径存在明确的相关性。

当前的国外许多研究揭示了烟酸对在胆固醇逆转运中起关键作用的几种转运体和受体的效应。这种效应已被证实对单核细胞中胆固醇含量的减少,以及 HDL 介导的细胞内胆固醇的流出具有显著的作用。这种新的烟酸外周作用点,也许对烟酸显著上调 HDLC,以及与他汀类药物组合有新的启发。众所周知,由于烟酸的副作用极大影响了其在临床的广泛应用,但其良好的调脂作用仍然使其在临床继续发挥重要作用。这样,本实验通过对烟酸的新效应的发现,所揭示的烟酸通过上调 ABCA1 表达来调节血脂水平这一路径,将有助于临床与他汀类药物配伍应用,联合降脂;同时烟酸使冠心病正常血脂患者 ABCA1 表达上调的作用,是否对改善血脂正常患者粥样斑块具有积极意义,更值得我们进一步研究探讨;综上所述,烟酸所表现出的新效应对临床调节血脂,防治冠心病具有重要指导意义。

[参考文献]

- [1] Canner PL, Berge KG, Wenger NK, Stamler J, Friedmal L, Prineas RJ, et al. Fifteen year mortality in Coronary Drug Project patients: long-term benefit with niacin [J]. *J Am Coll Cardiol*, 1986, **8** (6): 1 245-255
- [2] Oram JF, Lawn RM, Garvin MR, Wede DP. ABCA1 is the cAMP inducible apolipoprotein receptor that mediates cholesterol secretion from macrophages [J]. *J Biol Chem*, 2000, **275** (44): 34 508-511
- [3] Bortnick AE, Rothblat GH, Stoudt G, Hoppe KL, Royer LJ, McNeish J, et al. The correlation of ATP-binding cassette 1 mRNA levels with cholesterol efflux from various cell lines [J]. *J Biol Chem*, 2000, **275** (37): 28 634-640
- [4] Lin G, Bornfeldt KE. Cyclic AMP-specific phosphodiesterase 4 inhibitors promote ABCA1 expression and cholesterol efflux [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, **290** (2): 663-669
- [5] See RH, Caday-Malcolm RA, Singaraja RR, Zhou S, Silverton A, Huber MT, et al. PKA site-specific phosphorylation regulates ABCA1-mediated phospholipid efflux [J]. *J Biol Chem*, 2002, **277** (44): 41 835-842
- [6] Rubie T, Trottmann M, Lorenz RL. Stimulation of CD36 and the key effector of reverse cholesterol transport ATP-binding cassette A1 in monocytoid cells by niacin [J]. *Bilchem Pharmacol*, 2004, **67** (3): 411-419
- [7] Morrow JD, Parsons WG, Roberts LJ. Release of markedly increased quantities of prostaglandin D2 in vivo in humans following the administration of nicotinic acid [J]. *Prostaglandins*, 1989, **38** (2): 263-274
- [8] Boie Y, Sawyer N, Slipetz DM, Metters KM, Abramovitz M. Molecular cloning and characterization of the human prostanoid DP receptor [J]. *J Biol Chem*, 1995, **270** (32): 18 910-916

(此文编辑 胡必利)