

脱氢表雄酮通过抑制血管细胞粘附分子 1 的表达 发挥抗动脉粥样硬化作用

班振英, 程恒辉, 周 颖, 胡晓静, 瞿智玲, 阮秋蓉

(华中科技大学同济医学院基础医学院病理生理学系, 湖北省武汉市 430030)

[关键词] 病理学与病理生理学; 脱氢表雄酮; 动脉粥样硬化; 血管细胞粘附分子 1; 氧化型低密度脂蛋白; THP-1 单核细胞; 逆转录聚合酶链反应

[摘要] 目的 研究脱氢表雄酮能否通过抑制血管细胞粘附分子 1 的表达发挥抗动脉粥样硬化作用以及维甲酸受体激动剂对这一作用有无影响。方法 高脂饮食构建动脉粥样硬化模型并加脱氢表雄酮干预, 10 周后检测各组兔血清脂质水平及主动脉斑块情况。采用免疫组织化学及逆转录聚合酶链反应方法观察脱氢表雄酮对高脂喂饲兔主动脉壁血管细胞粘附分子 1 表达的影响。体外培养 THP-1 单核细胞, 采用免疫细胞化学及逆转录聚合酶链反应方法观察不同浓度脱氢表雄酮对氧化型低密度脂蛋白诱导的 THP-1 细胞表达血管细胞粘附分子 1 的影响。结果 脱氢表雄酮干预的高脂喂饲兔主动脉内膜厚度及粥样斑块面积相对动脉粥样硬化模型组兔分别降低 59% 和 48%; 同时兔主动脉血管细胞粘附分子 1 蛋白的表达在脱氢表雄酮干预后 (0.1920 ± 0.0034) 较高脂喂饲兔 (0.3846 ± 0.0198) 显著减弱, 血管细胞粘附分子 1 mRNA 的表达 (0.6856 ± 0.0286) 与高脂喂饲兔 (1.0893 ± 0.1089) 相比也明显减少。体外培养的 THP-1 细胞中, 加入不同浓度的脱氢表雄酮均可降低氧化型低密度脂蛋白诱导细胞的血管细胞粘附分子 1 表达, 在脱氢表雄酮浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 时 THP-1 细胞中血管细胞粘附分子 1 mRNA 的表达 (0.2988 ± 0.0312) 较氧化型低密度脂蛋白诱导组 (0.6236 ± 0.0237) 下降明显。加入全反式维甲酸对脱氢表雄酮的作用没有显著影响 ($P > 0.05$)。结论 脱氢表雄酮能够抑制高脂喂饲兔主动脉壁及氧化型低密度脂蛋白诱导的 THP-1 细胞内血管细胞粘附分子 1 的表达, 这可能是其发挥抗动脉粥样硬化作用的机制之一, 而补充维甲酸受体激动剂对这一过程中血管细胞粘附分子 1 的表达没有明显影响。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effect of Dehydroepiandrosterone Retarding Atherosclerosis Formation by Inhibiting the Expression of Vascular Cell Adhesion Molecule-1

BAN Zhen-Ying, CHENG Heng-Hui, ZHOU Ying, HU Xiao-Jing, QU Zhi-Ling, and RUAN Qiu-Rong

(Department of Pathology, School of Basic Medical Sciences, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

[KEY WORDS] Dehydroepiandrosterone; Atherosclerosis; Vascular Cell Adhesion Molecule-1; Oxidized Low Density Lipoprotein; THP-1 Monocytes; Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction

[ABSTRACT] Aim To investigate whether dehydroepiandrosterone (DHEA) can retard atherosclerosis formation by inhibiting the expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and whether all-trans retinoic acid can promote this action.

Methods The rabbits were fed with high cholesterol diets for 10 weeks. Then serum lipid levels of all rabbits were measured and the aorta was sampled for morphological observation. Using immunohistochemistry and reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR), the effect of DHEA on the expression of VCAM-1 protein and mRNA were determined in the aorta of high cholesterol-fed rabbits. In vitro cultured THP-1 monocytes, the expression of VCAM-1 protein and mRNA intervened by DHEA in different density were determined by immunocytochemistry and RT-PCR.

Results The thickness of the aortic tunica intima and the aorta atherosclerosis plaque area in the rabbits intervened by DHEA were lowered by 59% and 48% compared with high cholesterol-fed rabbits. The expressions of VCAM-1 protein in the rabbits intervened by DHEA (0.1920 ± 0.0034) were reduced significantly compared with high cholesterol-fed rabbits (0.3846 ± 0.0198). And the expression of VCAM-1 mRNA in the rabbits intervened by DHEA (0.6856 ± 0.0286) were also reduced significantly compared with high cholesterol-fed rabbits (1.0893 ± 0.1089). In vitro cultured THP-1 monocytes, when DHEA in different dose was added into the medium simultaneously, oxidized low density lipoprotein (ox-LDL)-induced VCAM-1 expression was decreased. The expressions of VCAM-1 mRNA in the THP-1

[收稿日期] 2006-07-03

[修回日期] 2006-09-30

[基金项目] 国家自然科学基金资助(30300135)和湖北省自然科学基金资助(2005ABA166)

[作者简介] 班振英, 硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制, E-mail 为 banzhenying@hotmail.com。通讯作者阮秋蓉, 教授, 博士研究生导师, 主要从事动脉粥样硬化研究, 联系电话为 027-83692619, E-mail 为 Ruanqiuorong@sina.com。程恒辉, 硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制。

monocytes intervened by DHEA(0.2988 ± 0.0312) were reduced significantly compared with ox-LDL-induced THP-1 monocytes (0.6236 ± 0.0237) when DHEA is $5 \mu\text{mol/L}$. After all-trans retinoic acid was added, the change of each index wasn't obvious ($P > 0.05$).

Conclusions DHEA showed inhibiting effects on the VCAM-1 expression in both the aorta of high cholesterol fed rabbits and ox-LDL-induced THP-1 monocytes. That may be one of the mechanisms of antiatherosclerotic action of DHEA. But all-trans retinoic acid have no obvious effect on the VCAM-1 expression in this action.

脱氢表雄酮(dehydroepiandrosterone, DHEA)是由肾上腺皮质分泌的一种弱雄激素,其浓度在青春期末达高峰而后随年龄的增加而迅速递减^[1,2]。流行病学研究发现,血中低水平的DHEA与动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)及心脑血管意外的发生有关^[3],但关于其抗As作用的具体机制还不十分清楚。研究表明高脂饮食可以增加As相关炎症因子的释放,同时氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)可使血液中的单核细胞分化为巨噬细胞,后者分泌一系列的细胞因子,包括血管细胞粘附分子1(vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1),进一步参与As的形成和发展^[4,5]。本研究拟观察DHEA对As动物及ox-LDL诱导的THP-1单核细胞表达VCAM-1的影响,同时观察全反式维甲酸(维甲酸受体激动剂)能否特异性地增强DHEA抗As的作用,以期As的防治提供新的实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物模型构建与分组

日本大耳白兔30只,雄性,体重 $2.0 \sim 2.5 \text{ kg}$ (华中科技大学同济医学院实验动物中心提供)。随机分成5组($n=6$),分笼喂养自由饮水,各组分别添加以下饮食喂养10周:高脂组:1%胆固醇+3%猪油;④高脂+DHEA组:1%胆固醇+3%猪油+DHEA(每天 0.1 g/kg);④高脂+DHEA+全反式维甲酸组(简称全反式维甲酸组):1%胆固醇+3%猪油+DHEA(每天 0.1 g/kg)+全反式维甲酸(每天 0.6 mg/kg);单DHEA组:DHEA(每天 0.1 g/kg);

正常组:基础饲料喂养。DHEA购自Fluka公司,货号30770;全反式维甲酸:山东良福集团制药有限公司生产,国药准字H10970054。胆固醇粉购自湖南衡阳生物化学厂,猪油为市售。

1.2 血液生物化学指标检测

各组动物喂养10周后禁食12 h,以3%戊巴比妥钠 2 mL/kg 行耳缘静脉注射麻醉,开胸直接心脏取血约 5 mL ,分离血清以全自动生物化学分析仪测定总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)及低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)水平。

1.3 组织病理学观察

由主动脉弓至腹主动脉段分离主动脉,将外膜结缔组织及脂肪组织剥离干净,纵向剖开固定于4%多聚甲醛。苏丹Ⅲ染色,观察As病变程度。各组主动脉常规石蜡包埋,间断均匀切片后行HE染色,普通光镜观察病理学改变并采用HMIAS-2000图像处理系统进行形态学指标测量。测量参数包括斑块面积(μm^2)、内膜厚度(μm)、中膜厚度(μm)及内膜中膜厚度比值。

1.4 细胞培养与分组

THP-1单核细胞(购自中国科学院上海细胞生物研究所)悬浮培养于PRMI1640培养基(含 2 mmol/L 谷氨酰胺、 15 mmol/L HEPES、 1.0 mmol/L 丙酮酸钠和10%胎牛血清, Gibco公司产品)中。细胞培养于5% CO_2 培养箱内,每2~3天传代一次,保持细胞密度在 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$ 之间。将生长良好的细胞换用无血清DMEM/F12培养基(Gibco公司)培养12 h后随机分为7组。正常组:单纯DMEM/F12培养基;④ox-LDL刺激组:DMEM/F12培养基+ 25 mg/L ox-LDL(华中科技大学同济医学院生物化学与分子生物学系馈赠);④ox-LDL+低浓度DHEA组:DMEM/F12培养基+ 25 mg/L ox-LDL+ $0.1 \mu\text{mol/L}$ DHEA(Fluka公司产品);ox-LDL+中浓度DHEA组:DMEM/F12培养基+ 25 mg/L ox-LDL+ $1 \mu\text{mol/L}$ DHEA;ox-LDL+高浓度DHEA组:DMEM/F12培养基+ 25 mg/L ox-LDL+ $5 \mu\text{mol/L}$ DHEA;ox-LDL+DHEA+全反式维甲酸组:DMEM/F12培养基+ 25 mg/L ox-LDL+ $5 \mu\text{mol/L}$ DHEA+ $1 \mu\text{mol/L}$ 全反式维甲酸(Sigma公司产品);⑧单DHEA组:DMEM/F12培养基+ $1 \mu\text{mol/L}$ DHEA。各组细胞在药物作用24 h后按不同的实验方法收集和保存。

1.5 免疫组织化学及免疫细胞化学

固定后的各组主动脉标本石蜡包埋切片后常规免疫组织化学SP法染色。3% H_2O_2 室温孵育;微波抗原修复;山羊血清工作液封闭;滴加兔抗鼠VCAM-1多克隆抗体(购自武汉博士德公司);滴加生物素标记的二抗工作液;辣根过氧化物酶标记链酶卵白素工作液及DAB显色剂;苏木素复染。以HMIAS-2000高清晰度图像处理系统采集各组图片,观察各组主动脉VCAM-1蛋白表达情况。

生长状态良好的各组 THP-1 单核细胞均匀涂片,以 1:1 乙醇+ 丙酮固定后自然风干,常规免疫细胞化学 SP 法染色(SP 试剂盒购自北京中杉生物制品有限公司),一抗为兔抗人多克隆抗体(购自 Santa Cruz 公司),HMIAS-2000 高清晰度图像处理系统采集各组细胞片并观察血管细胞粘附分子 1 蛋白表达情况。

1.6 逆转录聚合酶链反应

冻存的主动脉标本采用 Trizol(购自 Invitrogen 公司)一步法提取总 RNA。每组取 4 μ g 总 RNA 逆转录合成 cDNA。取 1 μ L cDNA 进行 PCR,20 μ L 总体积其中含 0.2 mmol/L 引物,0.2 mmol/L dNTP,1.5 mmol/L MgCl₂ 和 1 Utaq 酶以及相应 Buffer(逆转录及 PCR 各试剂均购自 Omega 公司)。所用兔 VCAM-1 引物序列如下:正义 5'-GAAR CAC TCT TAC CTG TGC ACA GC-3',反义 5'-CCA TCC TCA TAG CAA TTA AGG TGA G-3',扩增产物长 567 bp;内参照甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)引物序列如下:正义 5'-GCG CCT GGT CAC CAG GGC TGC TT-3',反义 5'-TGC CGA AGT GGT CGT GGA TGA CCT-3',扩增产物长 465 bp。反应参数:变性 95 $^{\circ}$ C 1 min $\rightarrow$ 退火 63 $^{\circ}$ C 1 min $\rightarrow$ 延伸 72 $^{\circ}$ C 1 min,30 个循环。各组取 4 μ L 扩增产物进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳。

收集生长良好的各组 THP-1 细胞按 Trizol 一步法提取总 RNA,每组取 4 μ g 总 RNA 逆转录合成 cDNA,再取 2 μ L cDNA 进行 PCR。VCAM-1 引物序列如下:正义 5'-TGA GCG GGA AGG TGA GCA CTC AGG-3',反义 5'-CAG GAT GGA GGA AGG GCT GCA CAA-3',扩增产物长 509 bp。内参照 GAPDH 引物序列如下:正义 5'-GCT GGG GCT CAC CTG AAG GG-3',反义 5'-GGA TGA CCT TGC CCA CAG CC-3',扩增产物长 384 bp(各引物均由 Invitrogen 公司合成)。反应参数:变性 94 $^{\circ}$ C 1 min $\rightarrow$ 退火 61 $^{\circ}$ C 45 s $\rightarrow$ 延伸 72 $^{\circ}$ C 1 min,35 个循环。各组均取 4 μ L 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳。

采用 SQ9636 型扫描系统扫描记录电泳结果,以 HMIAS-2000 型图像分析系统检测各组目的基因及内参的积分吸光度值(A),并以两者比值作为各组 VCAM-1 mRNA 的相对表达量。

1.7 统计学处理

各组数据采用 SPSS12.0 统计学软件进行分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间统计学差异显著性采用方差分析(ANOVA),组间两两比较采用 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血液生物化学指标的比较

高脂组兔 TC 和 LDLC 水平明显高于正常组($P < 0.05$),加入 DHEA 干预后 LDLC 有所下降($P < 0.05$)。同时加入全反式维甲酸喂饲兔的 TC 和 LDLC 水平较高脂+ DHEA 组进一步降低($P < 0.05$)。而单 DHEA 组与正常组兔之间血脂水平没有明显差异(表 1)。

表 1. 各组动物血脂水平的比较($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

分 组	总胆固醇	甘油三酯	HDL	LDL
正常组	0.96 $\pm$ 0.16 ^a	0.77 $\pm$ 0.10	0.44 $\pm$ 0.12	0.39 $\pm$ 0.08 ^a
高脂组	18.84 $\pm$ 0.15	1.01 $\pm$ 0.43	0.45 $\pm$ 0.16	14.67 $\pm$ 2.95
高脂+ DHEA 组	18.70 $\pm$ 0.81	0.88 $\pm$ 0.44	0.49 $\pm$ 0.06	9.67 $\pm$ 0.90 ^a
全反式维甲酸组	11.62 $\pm$ 0.73 ^b	0.59 $\pm$ 0.17 ^a	0.48 $\pm$ 0.17	6.52 $\pm$ 1.93 ^b
单 DHEA 组	0.78 $\pm$ 0.17	0.59 $\pm$ 0.10	0.35 $\pm$ 0.17	0.30 $\pm$ 0.15

a 为 $P < 0.05$, 与高脂组比较, b 为 $P < 0.05$, 与高脂+ DHEA 组比较。

2.2 主动脉斑块大体观察

正常组和单 DHEA 组兔主动脉壁薄且内膜光滑,无脂纹及斑块形成;高脂组动物主动脉内壁经苏丹 Ⅲ 染色后可见大量红褐色脂质斑块附着,内膜面不光滑且明显增厚。靠近主动脉弓处尤为严重,融和成片。DHEA 组及全反式维甲酸组兔主动脉壁也均有不同程度的脂质斑块附着,但面积较小且分散,厚度较薄,比高脂组明显减轻(图 1)。



图 1. 各组主动脉粥样硬化斑块大体照片(苏丹 Ⅲ 染色)

A 为高脂组, B 为高脂+ DHEA 组, C 为全反式维甲酸组, D 为单 DHEA 组, E 为正常组。

2.3 组织学观察及形态学测量分析

主动脉切片 HE 染色后光镜下可见,正常组和单 DHEA 组兔动脉内皮细胞完整,中层平滑肌细胞排列整齐。高脂组兔主动脉内膜明显增厚,内皮下间隙增宽,内膜下可见大量泡沫细胞的聚集。

DHEA 组及全反式维甲酸组兔主动脉内膜也有不同程度的增厚, 内皮下间隙增宽不及高脂组兔明显, 主

动脉内膜下可见泡沫细胞和平滑肌细胞聚集但较高脂组有所减轻(图 2)。各组形态学指标测量见表 2。

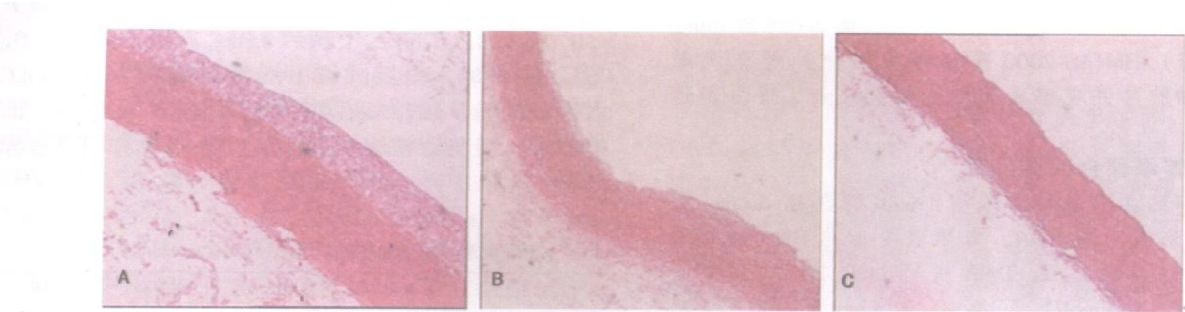


图 2. 兔主动脉 HE 染色结果(×100) A 为高脂组, B 为高脂+ DHEA 组, C 为正常组。

表 2. 各组主动脉形态学指标的比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

分 组	中膜厚度 (μm)	内膜厚度 (μm)	斑块面积 (μm^2)	内膜中膜比
正常组	279 $\pm$ 60	2.10 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.07 $\pm$ 0.02 ^a
高脂组	275 $\pm$ 50	127.19 $\pm$ 49.81	193 544 $\pm$ 8104	0.46 $\pm$ 0.13
高脂+ DHEA 组	311 $\pm$ 71	74.55 $\pm$ 19.22 ^a	81 270 $\pm$ 8659 ^a	0.25 $\pm$ 0.08 ^a
全反式维甲酸组	295 $\pm$ 44	68.53 $\pm$ 20.29 ^a	104 704 $\pm$ 9 313 ^a	0.21 $\pm$ 0.03 ^a
单 DHEA 组	260 $\pm$ 41	2.10 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.08 $\pm$ 0.01

a 为 $P<0.05$, 与高脂组比较, b 为 $P<0.05$, 与高脂+ DHEA 组比较。

2.4 血管细胞粘附分子 1 蛋白表达的比较

由图 3 可见, 高脂组兔主动脉内皮细胞胞浆及胞膜中可见明显棕黄色颗粒, 提示增厚的内膜中有大量 VCAM-1 表达。DHEA 组及全反式维甲酸组兔主动脉内膜也有不同程度增厚, 但厚度及棕黄色颗粒表达相对于高脂组均明显降低。正常组及单 DHEA 组兔主动脉壁仅有少量基础性着色。各组兔主动脉 VCAM-1 蛋白表达的比较见表 3。

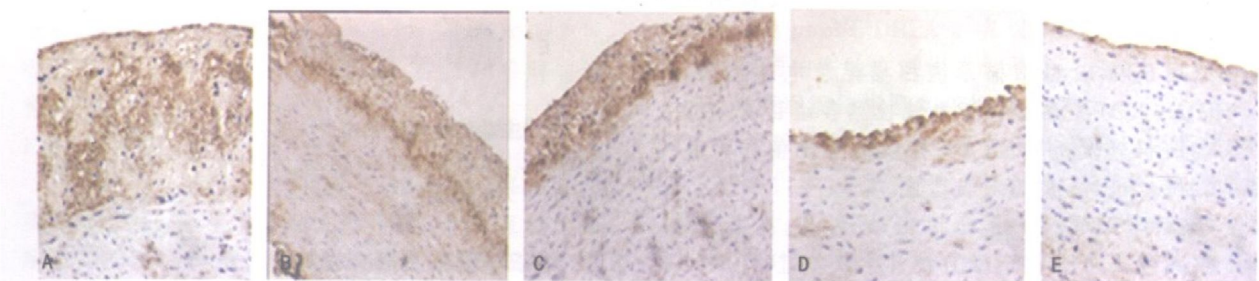


图 3. 免疫组织化学显示各组主动脉血管细胞粘附分子 1 表达(SP 法 ×200) A 为高脂组, B 为高脂+ DHEA 组, C 为全反式维甲酸组, D 为单 DHEA 组, E 为正常组。

由图 4 可见, ox-LDL 诱导组 THP-1 单核细胞表达血管细胞粘附分子 1 明显增加, 表现为分布于胞膜和胞质的棕黄色颗粒较正常组明显增多, 颜色加深。DHEA 干预后 VCAM-1 表达较 ox-LDL 诱导组细胞明显减弱。

表 3. 各组兔主动脉血管细胞粘附分子 1 蛋白表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

分 组	平均吸光度值
正常组	0.0671 $\pm$ 0.0062 ^a
高脂组	0.3846 $\pm$ 0.0198
高脂+ DHEA 组	0.1920 $\pm$ 0.0034 ^a
全反式维甲酸组	0.1883 $\pm$ 0.0132 ^b
单 DHEA 组	0.0985 $\pm$ 0.0038

a 为 $P<0.05$, 与高脂组比较, b 为 $P<0.05$, 与高脂+ DHEA 组比较。

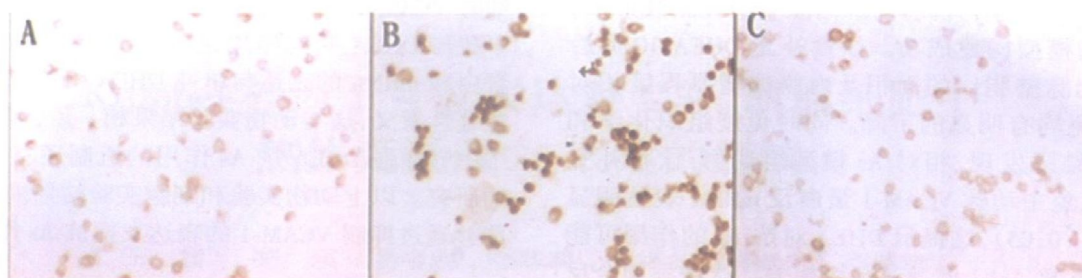


图 4. THP-1 细胞血管细胞粘附分子 1 蛋白表达的情况 ($\times 200$) 组。

A 为正常组, B 为 α -LDL 诱导组, C 为 α -LDL+ 5 μ mol/L DHEA

2.5 各组兔主动脉血管细胞粘附分子 1 mRNA 表达的比较

高脂组兔主动脉 VCAM-1 mRNA 表达(1.0893 ± 0.1089)明显高于正常组(0.2988 ± 0.0312), DHEA 组 VCAM-1 mRNA 表达(0.6856 ± 0.0286)较高脂组有所下降, 而同时全反式维甲酸组 VCAM-1 mRNA 表达与前者相比差异没有显著性($P > 0.05$) (图 5)。

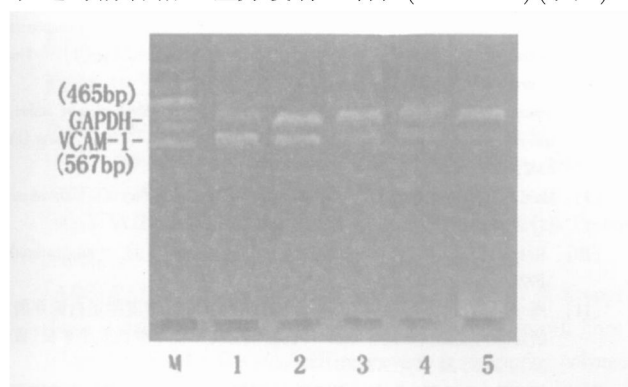


图 5. 电泳显示各组兔主动脉血管细胞粘附分子 1 mRNA 表达情况 M 为 Marker, 1 为高脂组, 2 为高脂+ DHEA 组, 3 为全反式维甲酸组, 4 为单 DHEA 组, 5 为正常组。

2.6 各组 THP-1 细胞血管细胞粘附分子 1 mRNA 表达的比较

氧化型 LDL 诱导 THP-1 细胞表达 VCAM-1 mRNA(0.6236 ± 0.0237)较正常组(0.1693 ± 0.0068)明显增加, 但加入不同浓度的 DHEA 干预后其表达有所下降, 在 DHEA 浓度为 5 μ mol/L 时 THP-1 细胞 VCAM-1 mRNA 表达(0.2988 ± 0.0312)下降较明显($P < 0.05$)。而同时全反式维甲酸组与 α -LDL+ 5 μ mol/L DHEA 组相比差别没有显著性意义。

3 讨论

动脉粥样硬化是一种慢性炎症性疾病, 其发病

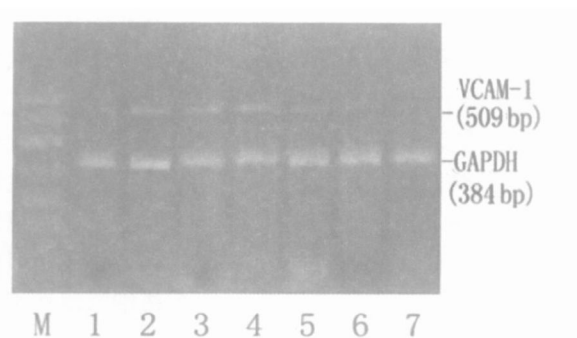


图 6. 电泳显示各组 THP-1 细胞血管细胞粘附分子 1 mRNA 表达情况 M 为 Marker, 1 为正常组, 2 为 α -LDL 诱导组, 3 为 α -LDL+ 0.1 μ mol/L DHEA 组, 4 为 α -LDL+ 1 μ mol/L DHEA 组, 5 为 α -LDL+ 5 μ mol/L DHEA 组, 6 为 α -LDL+ 5 μ mol/L DHEA+ 全反式维甲酸组, 7 为单 DHEA 组。

过程主要涉及损伤的内皮细胞、平滑肌细胞和单核巨噬细胞之间的相互作用, 以及局部产生的大量粘附分子和趋化因子等的网络调控。研究表明, 高脂血症及 α -LDL 均可诱导 VCAM-1 的表达, 在 As 的发生发展中起着重要作用。

脱氢表雄酮是血清中含量最多的一类类固醇激素, 其浓度在青春期达高峰而后随年龄的增加而迅速递减, 这一特点使得人们开始关注其与老年性疾病 As 的关系。近年来有研究发现 DHEA 可以通过抗细胞分裂抑制细胞增殖而达到抗 As 的作用^[6]。DHEA 在体内是由细胞色素 P450 芳香酶降解为雌酮后发挥作用的^[7,8]。细胞色素 P450 芳香酶具有多个启动子, 在血管平滑肌细胞和 THP-1 细胞中主要由启动子 iv.6 发挥作用, 维甲酸受体被激活后可通过 iv.6 启动子增强细胞色素 P450 的表达。由此推测补充维甲酸受体激动剂可以特异性地增强参与动脉粥样硬化的细胞内的雌激素水平, 从而促进 DHEA 的抗 As 作用。

本研究动物实验结果表明, 高胆固醇喂饲兔 TC

和 LDLC 水平显著升高, 动脉内膜有明显脂纹形成, 说明动物模型构建成功。饮食补充 DHEA 10 周后发现主动脉壁脂纹的面积及内膜的增厚程度相对 As 模型兔均有明显的下降。同时免疫组织化学和 RT-PCR 结果发现, 相对 As 模型组动物, 饮食补充 DHEA 后兔主动脉 VCAM-1 蛋白及 mRNA 表达明显降低 ($P < 0.05$), 这提示 DHEA 对抗 As 的作用可能与其抑制 VCAM-1 的表达密切相关。饮食添加全反式维甲酸后, 与 DHEA 组兔相比在血脂水平、形态学各指标及 VCAM-1 表达水平上差异均无显著统计学意义 ($P > 0.05$), 表明饮食补充全反式维甲酸并没有增强 DHEA 的抗 As 作用。此结果与 Maiti 等^[9]的研究结果相矛盾, 其原因可能与饮食补充全反式维甲酸能够引起高脂血症有关。

大量实验证明单核/巨噬细胞参与 As 的全过程, 它既对血管壁其他细胞产生的调节分子发生反应, 其自身又可分泌多种细胞因子^[10]。THP-1 细胞为人单核细胞株, 具有与人外周血单核细胞相似的特性, 在国内外广泛应用于 As 中单核细胞源性细胞因子的研究。本实验体外培养 THP-1 单核细胞结果发现: 浓度为 25 mg/L 的 ox-LDL 作用于 THP-1 细胞 24 h 后, 可以显著促进 VCAM-1 蛋白和 mRNA 的表达 ($P < 0.05$) (由于扩增的是不同种属来源的 VCAM-1 基因, 因此动物实验和细胞实验电泳结果中 VCAM-1cDNA 及所选用 GAPDH 的长度均不同)。同时在培养基中加入不同浓度的 DHEA 后 VCAM-1 蛋白和 mRNA 的表达均有所降低, 此作用在 DHEA 浓度为 5 μ mol/L 时表现明显 ($P < 0.05$)。由此证明 DHEA 能够抑制 ox-LDL 对 THP-1 细胞 VCAM-1 的促表达作用。同时我课题组另有实验也已证明 DHEA 能够抑制 ox-LDL 对脐静脉内皮细胞和血管平滑肌

细胞 VCAM-1 的促表达作用^[11, 12]。而加入全反式维甲酸与 DHEA 共同作用组 THP-1 细胞的 VCAM-1 蛋白和 mRNA 的表达与单纯 DHEA 组相比差别没有显著性意义, 这与动物实验结果相一致, 因此全反式维甲酸增强 DHEA 抗 As 作用的机制还有待进一步的研究。以上动物实验和细胞实验结果提示, DHEA 能够通过抑制 VCAM-1 的表达发挥抗 As 作用。

[参考文献]

- [1] Corrigan B. DHEA and sport[J]. *Clin J Sport Med*, 2002, **12** (4): 236-241
- [2] Zdrojewicz Z, Ciszko B. Dehydroepiandrosterone (DHEA)-structure, clinical importance and the role in human body[J]. *Postępy Hig Med Dosw*, 2001, **55** (6): 835-854
- [3] Vatalas IA, Dionyssiou Asteriou A. Adrenal C19 steroids and lipoprotein levels in healthy men[J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2001, **1** (6): 388-393
- [4] Han SN, Le ka LS, Lichtenstein AH, Ausman LM, Schaefer EJ, Meydani SN. Effect of hydrogenated and saturated, relative to polyunsaturated, fat on immune and inflammatory responses of adults with moderate hypercholesterolemia[J]. *J Lipid Res*, 2002, **43** (3): 445-452
- [5] Chien S. Molecular and mechanical bases of focal lipid accumulation in arterial wall[J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2003, **83**: 131-151
- [6] 赵志明, 黄志新, 王 晶, 郝亚荣, 李庚山. 去氢表雄酮对培养的人脐静脉血管内皮细胞抗氧化能力的影响[J]. *医学新知杂志*, 2001, **11** (2): 76-77
- [7] Labrie F, Luu-The V, Labrie C, Simard J. DHEA and its transformation into androgens and estrogens in peripheral target tissues: intracrinology[J]. *Front Neuroendocrinol*, 2001, **22** (3): 185-212
- [8] Nawata H, Yanase T, Goto K, Okabe T, Ashida K. Mechanism of action of antraring DHEA-S and the replacement of DHEA-S[J]. *Mech Ageing Dev*, 2002, **123** (8): 1 101-106
- [9] Maiti S, Chen X, Chen G. All-trans retinoic acid induction of sulfotransferases[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2005, **96** (1): 44-53
- [10] Reape TJ, Groot PH. Chemokines and atherosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 1999, **147** (2): 213-225
- [11] 周 英, 宋雪芳, 阮秋蓉. 脱氢表雄酮对氧化低密度脂蛋白诱导的人脐静脉内皮细胞表达 VCAM-1 的影响[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2005, **34** (4): 398-400
- [12] 胡晓静, 阮秋蓉, 朱 敏, 瞿智玲. 脱氢表雄酮对氧化性低密度脂蛋白诱导的血管平滑肌细胞中 VCAM-1 表达的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006, **14** (7): 577-580

(此文编辑 朱雯霞)