

阿司匹林对氧化型低密度脂蛋白诱导 内皮细胞炎症损伤的抑制作用

齐若梅, 赵金晶, 吴伟, 鲍利

(卫生部北京老年医学研究所, 北京市 100730)

[关键词] 药理学; 氧化型低密度脂蛋白; 阿司匹林; 炎症蛋白; 内皮细胞

目的 非甾体类抗炎药物阿司匹林对氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)诱导血管内皮细胞炎症损伤的抑制作用。**方法** (1) ox-LDL 的制备: 取新鲜人血清用梯度离心法分离低密度脂蛋白, 用 5 μ mol/L 硫酸铜氧化型低密度脂蛋白 24 h 后, 添加 EGDA 终止反应, 透析后 4℃保存供试验使用。(2) 培养血管内皮细胞: 取新生儿脐带分离脐静脉血管内皮细胞。培养基中含 10% 特级胎牛血清、内皮生长因子、抗生素等, 取第三代~ 第五代的培养细胞用于实验。(3) Western blot 分析: 诱导型一氧化氮合酶表达、内皮型一氧化氮合酶、细胞间粘附分子 1, 促有丝分裂蛋白激酶磷酸化使用特异性抗体, 用 Western blot 方法确认。(4) 核因子 KB 活化使用免疫荧光染色方法确认。**结果** 首先我们确认了氧化型低密度脂蛋白能够刺激内皮细胞产生炎症反应, 增加一些验证蛋白的表达。在前期的研究中我们发现 ox-LDL 能够诱导内皮细胞细胞间粘附分子 1、COX-2 高表达, 非甾体类抗炎药物阿司匹林有效地抑制了这一炎症反应。进而我们探讨了阿司匹林是否对 ox-LDL 诱导内皮细胞诱导型一氧化氮合酶、内皮型一氧化氮合酶、促有丝分裂蛋白激酶以及核因子 KB 活化的影响。诱导型一氧化氮合酶增加能够加重动脉粥样硬化的局部炎症反应。在这个研究中我们分别将 1 mmol/L, 2.5 mmol/L, 5 mmol/L 阿司匹林添加到内皮细胞培养基中 1 h, 然后加入 ox-LDL 300 mg/L 刺激细胞 16 h, 可以看到 ox-LDL 刺激明显增加了诱导型一氧化氮合酶表达, 阿司匹林以浓度依赖方式有效抑制了诱导型一氧化氮合酶高表达, 5 mmol/L 阿司匹林几乎完全抑制了诱导型一氧化氮合酶表达上调。同时我们观察了阿司匹林对内皮型一氧化氮合酶的影响, 结果显示 ox-LDL 刺激细胞后降低了内皮型一氧化氮合酶在内皮细胞的表达水平, 阿司匹林处理的细胞浓度依赖型低增加了内皮型一氧化氮合酶的表达。p38 促有丝分裂蛋白激酶磷酸化的实验结果表明 ox-LDL 增加内皮细胞促有丝分裂蛋白激酶磷酸化水平, 5 mmol/L 阿司匹林部分抑制 p38 促有丝分裂蛋白激酶磷酸化反应。由于核因子 KB 活化在细胞炎症反应过程中是一个关键环节, 我们观察了阿司匹林对 ox-LDL 诱导内皮细胞炎症反应过程中是否媒介核因子 KB 活化通道。核因子 KB 在活化的过程中由细胞浆向细胞核转, 与相应的靶基因结合从而启动炎症反应。用免疫荧光染色方法检测核因子 KB 向细胞核的移行。结果显示阿司匹林有效阻止了 ox-LDL 刺激引起的核因子 KB 向核内转移。**结论** 非甾体类抗炎药物阿司匹林能够有效抑制 ox-LDL 刺激内皮细胞炎症蛋白的表达, 其中包括诱导型一氧化氮合酶、COX-2 和细胞间粘附分子 1。阿司匹林能够抑制核因子 KB 活化, 从而抑制炎症蛋白表达。阿司匹林部分抑制 p38 促有丝分裂蛋白激酶的磷酸化反应, 表明促有丝分裂蛋白激酶参与 ox-LDL 诱导内皮细胞氧化损伤反应, 阿司匹林的抑制作用与促有丝分裂蛋白激酶部分相关, 其机制有待于进一步探讨。

(此文编辑 胡必利)