

B 类 I 型清道夫受体过表达对 J774 细胞胆固醇转运以及肿瘤坏死因子 α 表达的影响

冯惊涛, 曾德星, 孙琳, 李霞, 纪辉辉, 张青海, 李媛彬, 易光辉

(南华大学心血管疾病研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 病理学与病理生理学; B 类 I 型清道夫受体; 单核-巨噬细胞; 转染; 肿瘤坏死因子 α ; 单核细胞趋化因子 1; 脂质转运抑制剂 4

目的 通过构建人 B 类 I 型清道夫受体真核表达载体、使细胞瞬时过表达 B 类 I 型清道夫受体, 观察其对肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF) α 和单核细胞趋化因子 1(monocyte chemoattractant protein, MCP1) 表达的影响, 初步探讨单核-巨噬细胞 B 类 I 型清道夫受体抗动脉粥样硬化的作用机制。方法 获得人 B 类 I 型清道夫受体 cDNA, 用聚合酶链反应的方法(上下游引物分

别含有 XbaI 和 KpnI 限制性内切酶切位点) 克隆人 B 类 I 型清道夫受体基因全长; 用限制性内切酶 XbaI 和 KpnI 双酶切聚合酶链反应克隆的人 B 类 I 型清道夫受体 cDNA 和真核表达载体 pcDNA3.1(-); DNA 连接酶连接限制性内切酶酶切的人 B 类 I 型清道夫受体基因和 pcDNA3.1(-); 基因测序法检测人 B 类 I 型清道夫受体 cDNA 的碱基序列; 瞬时转染法转染 J774 细胞和 3T3-L1 细胞; 设计人鼠共用 B 类 I 型清道夫受体引物、购买人鼠共抗 B 类 I 型清道夫受体抗体, 用逆转录聚合酶链反应和 western blot 的方法检测各组细胞的 B 类 I 型清道夫受体表达; 用液体闪烁计数法检测流入和流出细胞的[3H]胆固醇量, 用高效液相色谱仪检测细胞的总胆固醇(TC)和 FC 含量, 分析细胞过表达 B 类 I 型清道夫受体的胆固醇转运功能; 用逆转录聚合酶链反应检测细胞肿瘤坏死因子 α 和 MCP1 两种细胞因子的 mRNA 水平, 分析过表达 B 类 I 型清道夫受体对肿瘤坏死因子 α 和 MCP1 两种细胞因子表达的影响。**结果** 构建的人 B 类 I 型清道夫受体真核表达载体 pcDNA3.1(-) + 人 B 类 I 型清道夫受体, 通过基因测序表明其碱基序列正确。与对照组和空载体转染的 J774 细胞相比, pcDNA3.1(-) + 人 B 类 I 型清道夫受体转染的 J774 细胞表达 B 类 I 型清道夫受体升高($n = 3, P < 0.05$); 与空载体转染的 J774 细胞相比, pcDNA3.1(-) + 人 B 类 I 型清道夫受体转染的 J774 细胞的胆固醇双向转运和胆固醇蓄积功能增强。与对照组和空载体转染的 J774 细胞和 3T3-L1 细胞相比, pcDNA3.1(-) + 人 B 类 I 型清道夫受体转染细胞的肿瘤坏死因子 α mRNA 水平明显降低($n = 3, P < 0.05$), 且这一现象可以被 B 类 I 型清道夫受体的抑制剂脂质转运抑制剂 4 (BLT-4) 抑制; 与对照组和空载体转染的 J774 细胞和 3T3-L1 细胞相比, pcDNA3.1(-) + 人 B 类 I 型清道夫受体转染细胞的 MCP1 mRNA 水平没有明显变化。**结论** 用 pcDNA3.1(-) + 人 B 类 I 型清道夫受体转染 J774 细胞使细胞过表达 B 类 I 型清道夫受体; 细胞过表达的人 B 类 I 型清道夫受体具有胆固醇转运功能。B 类 I 型清道夫受体在 J774 细胞和 3T3-L1 细胞的过表达具有下调肿瘤坏死因子 α 的作用; 这一作用可能与 B 类 I 型清道夫受体结合 HDL 后激活磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3k) 和一氧化氮合酶 (NOS) 等信号转导分子有关。

[基金项目] 国家自然科学基金(30570958)资助

[作者简介] 通讯作者易光辉, E-mail 为 ghyi6108@163.com

(此文编辑 胡必利)