

[文章编号] 1007-3949(2008)16-12-0933-05

• 实验研究 •

肺炎衣原体通过上调清道夫受体 A1诱导 THP-1源性泡沫细胞形成

梅春丽, 何平, 成蓓, 刘玮, 王彦富, 万晶晶

(华中科技大学同济医学院附属协和医院老年科, 湖北省武汉市 430022)

[关键词] 病理学与病理生理学; 肺炎衣原体; 清道夫受体 A1; CD36 泡沫细胞形成; 动脉粥样硬化

[摘要] 目的 观察清道夫受体 A1 和 CD36 在肺炎衣原体诱导 THP-1 源性泡沫细胞形成中的作用。方法 给予不同浓度的肺炎衣原体 ($1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ IFU) 感染 THP-1 源性巨噬细胞 0~72 h。运用油红 O 染色观察细胞质内脂滴的变化, 酶荧光法检测细胞内胆固醇酯含量的变化。分别运用逆转录聚合酶链反应和 Western-Blot 检测清道夫受体 A1 和 CD36 的 mRNA 和蛋白表达。结果 高浓度的肺炎衣原体 (5×10^5 和 1×10^6 IFU) 感染负荷低密度脂蛋白的 THP-1 源性巨噬细胞 48 h 后, 细胞质内的脂滴明显增多, 胆固醇酯占总胆固醇百分比明显增加 ($> 50\%$)。在负荷低密度脂蛋白的 THP-1 源性巨噬细胞上, 肺炎衣原体感染呈浓度和时间依赖性地上调清道夫受体 A1 mRNA 和蛋白表达, 但不影响 CD36 mRNA 和蛋白表达。结论 清道夫受体 A1 表达上调是肺炎衣原体诱导 THP-1 源性泡沫细胞形成的机制之一, 这可能为进一步阐明肺炎衣原体感染促进动脉粥样硬化发生发展提供一个新的理论依据。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Chlamydia Pneumoniae Induces THP-1-Derived Foam Cell Formation by Up-regulating the Expression of Scavenger Receptor A1

MEI Chun-Li, HE Ping, CHENG Bei, LU Wei, WANG Yan-Fu, and WAN Jing-Jing

(Department of Gerontology, Union Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China)

[KEY WORDS] Chlamydia Pneumoniae, Scavenger Receptor A1, CD36, Foam Cell Formation, Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the mechanisms of chlamydia pneumoniae (Cpn)-induced human monocytic cell line (THP-1)-derived foam cell formation, the expression of scavenger receptor A (SR-A1) and CD36 were examined.

Methods THP-1-derived macrophages were incubated with or without increasing concentrations of Cpn (1×10^5 to 1×10^6 IFU) for 0 to 72 h. Lipid droplets in cytoplasm were observed by oil red O staining. The contents of intracellular cholesterol ester were detected by enzyme-fluorescence. The expression of SR-A1 and CD36 at mRNA and protein levels were determined by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western-Blot, respectively.

Results Higher concentrations of Cpn infection (5×10^5 and 1×10^6 IFU) for 48 h result in the large accumulation of lipid droplets and the ratio of cholesteryl ester to total cholesterol was much higher than 50% in THP-1-derived macrophages when co-cultured with low density lipoprotein (LDL). Although Cpn infection had no effect on CD36 mRNA and protein expression, it up-regulated the expression of SR-A1 mRNA and protein in concentration- and time-dependent manner in THP-1 macrophages when co-cultured with LDL.

Conclusions Cpn induces THP-1-derived foam cell formation by up-regulating the expression of SR-A1, which may provide a new evidence for the development and progression of atherosclerosis initiated by Cpn infection.

众所周知, 胆固醇酯在巨噬细胞内过度堆积并形成泡沫细胞是动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 的一个典型病理特征。清道夫受体 A1 (scavenger receptor A, SR-A1) 和 CD36 是调控细胞内胆固醇流

入的关键因子, 在泡沫细胞形成中起重要作用^[1,2]。近年来一系列研究显示肺炎衣原体 (chlamydia pneumoniae, Cpn) 感染与心血管疾病密切相关^[3,4]。Cpn 诱导巨噬细胞源性泡沫细胞形成, 进而参与 As 的发生发展。但有关 Cpn 通过何种机制诱导泡沫细胞形成, 至今未有明确报道。因此本实验以人单核细胞株 THP-1 为研究对象, 观察 SR-A1 和 CD36 在 Cpn 诱导泡沫细胞形成中的作用, 初步探讨 Cpn 诱导 THP-1 源性泡沫细胞形成的分子机制。

[收稿日期] 2008-10-14 [修回日期] 2008-12-06

[基金项目] 湖北省自然科学基金 (2006ABA105)

[作者简介] 梅春丽, 博士研究生, 主要从事血脂代谢与动脉粥样硬化研究, E-mail 为 mchc0305@yahoo.com.cn。何平, 博士, 主治医师, 主要从事血脂代谢与动脉粥样硬化研究。通讯作者成蓓, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 主要从事血脂代谢与动脉粥样硬化研究, E-mail 为 chengbe81@yahoo.com.cn。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

人单核细胞株 THP-1(武汉大学生物中心), 人喉上皮癌细胞株 Hep-2(武汉协和医院耳鼻喉科赠予), Cpn 原株 AR-39(购自美国菌种保藏中心, ATCC), 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) (杭州四季青生物制品公司), B iozol(上海华舜生物工程有限公司), B ioRT 逆转录扩增试剂盒 (TOYOBO, 日本), RPM I1640 干粉 (G ibco 公司), 总胆固醇和游离胆固醇测定试剂盒 (北京五洲元业生物工程有限公司), 羊抗人 SR-A1 一抗 (Santa Cruz 公司), 兔抗人 CD36 一抗 (Abcam 公司) 和 β -actin 一抗 (北京中杉生物技术有限公司), 膜蛋白提取试剂盒 (Pierce 公司), 放线菌酮、佛波酯、辣根过氧化物酶标记的羊抗兔和鼠抗羊二抗均购自 S igma 公司。其他试剂均为进口分析或国产纯。

1.2 肺炎衣原体的培养

将 Cpn 原株 AR-39 100 μ L 接种于长满 Hep-2 细胞的培养皿内, 在 25 $^{\circ}$ C 恒温、2 000 r/min 水平离心 1 h 后, 在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养 1 h。吸去原培养液, 换以含 10% FBS 和 2 mg/L 放线菌酮的 RPM I1640 培养液, 在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中继续培养 72 h。在 -70 $^{\circ}$ C、37 $^{\circ}$ C 反复冻融 5 次后移入无菌离心管内, 4 $^{\circ}$ C、2 500 r/min 离心 30 min 弃细胞碎片, 收集上清 (含 Cpn 原体) 分装并冻存在 -70 $^{\circ}$ C 备用。将 Cpn 原株 50 μ L 重新感染 Hep-2 细胞, 培养 72 h 后, 行瑞氏-吉姆萨染色, 利用倒置显微镜观察, 所形成的包涵体数目, 以包涵体形成单位 (inclusion forming units IFU) 表示。

1.3 低密度脂蛋白的分离及鉴定

于本市中心血站取健康人血浆 200 mL, 用密度梯度离心法^[5]获取低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL), Bradford 法测定浓度后过滤除菌, 4 $^{\circ}$ C 保存 (2 周内使用)。0.5% 琼脂糖凝胶电泳及 4%~20% 聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳鉴定提取的 LDL。

1.4 实验分组

THP-1 单核细胞株复苏并按美国典型物培养中心的说明进行培养和传代, 在细胞生长状态良好时加入含 160 mmol/L 佛波酯和 10% FBS 的 RPM I1640 培养液中孵育 48 h 诱导分化为巨噬细胞后再随机分组: 对照组, 仅用含 50 mg/L LDL 的培养基; ④ Cpn 感染不同浓度组: 分别给予浓度为 1×10^5 、 4×10^5 、 5×10^5 和 1×10^6 IFU Cpn 感染巨噬细胞 2 h 后, 再给予含 50 mg/L LDL 的培养液, 上述两组细

胞在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中继续培养 72 h (四 Cpn 感染不同时间组: 给予浓度为 1×10^6 IFU Cpn 感染巨噬细胞 2 h 后, 再给予含 50 mg/L LDL 的培养液孵育 0 h、24 h、48 h 和 72 h。每一组中同一浓度及同一时间点均取 3 个样本。

1.5 油红 O 染色

取出预先放置的盖玻片, 用 PBS 液冲洗两次, 给予 4% 多聚甲醛固定 10~15 min, 油红 O 染液染色 10 min 再用苏木素复染 2~3 min 双蒸水冲洗并封片, 显微镜下观察, 细胞内脂质颗粒呈红色, 细胞核呈蓝色。按 Wada 等^[6]的方法根据细胞内脂滴的面积对泡沫细胞的形成进行分度: “-”代表细胞内脂滴的面积小于细胞核的面积; “+”代表细胞内脂滴的面积等于或大于细胞核的面积, 即为油红 O 染色阳性的细胞 (泡沫细胞)。每一块玻片计数 100 个细胞。

1.6 细胞内胆固醇和胆固醇酯含量的测定

收集各组细胞用 PBS 漂洗 3 次, 用超声破碎细胞, 按试剂盒说明用酶荧光法测定细胞内游离胆固醇 (free cholesterol, FC) 和总胆固醇 (total cholesterol, TC) 含量。以 1~10 mg/L 标准胆固醇绘制标准曲线, 胆固醇酯 (cholesterol ester, CE) 为 TC 与 FC 之差, 以 mg/g 蛋白为单位。CE 占 TC 50% 以上可视为泡沫细胞^[6]。

1.7 逆转录聚合酶链反应检测清道夫受体 A1 和 CD36 mRNA 表达

收集各组细胞按 B iozol 试剂盒说明书提取总 RNA, 取 1.5 μ g 总 RNA 逆转录合成 cDNA, 再取 2.5 μ L 逆转录产物进行 PCR 循环。SR-A1 的引物序列为上游 5'-TTTGATGCTCGCTCAATGAC-3', 下游 5'-CCATGTTGCTCATGTGTTCC-3', 扩增片长 298 bp。PCR 反应条件为 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s \rightarrow 57 $^{\circ}$ C 退火 30 s \rightarrow 72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s 循环 34 次。CD36 的引物序列为上游 5'-GGAAACACCATCATCCAGTA-3', 下游 5'-TGAAGATGCCAAGCGTAACT-3', 扩增片长 338 bp。PCR 反应条件为 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s \rightarrow 56 $^{\circ}$ C 退火 30 s \rightarrow 72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s 循环 33 次。 β -actin 的引物序列为上游 5'-GTCCACCTTCCAGCAGATGT-3'; 下游 5'-CACCTTCACCGTTCCAGTTT-3', 扩增片长 245 bp。PCR 反应条件为 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s \rightarrow 55 $^{\circ}$ C 退火 30 s \rightarrow 72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s 循环 32 次。反应结束后各取反应产物 3 μ L 进行 2% 琼脂糖凝胶电泳 (含 1 mg/L 溴化乙锭), UVP 型凝胶图像分析系统摄图, 以各组目的基因与 β -actin 基因的吸光度峰值比值作半定量分析。

1.8 Western-Blot检测清道夫受体 A1和 CD36蛋白表达

收集各组细胞,按膜蛋白提取试剂盒说明提取膜蛋白,并用 Bradford法测定蛋白质浓度,用 9% SDS-PAGE凝胶进行电泳分离,每孔的上样量为 60 μ g 然后转硝酸纤维素膜 (NC),封闭后分别加入羊抗人 SR-A1(1: 200)、兔抗人 CD36(1: 300)和 β -actin(1: 1 000)一抗,4 $^{\circ}$ C孵育过夜,漂洗后按分别加入 HRP羊抗兔(1: 5 000)和鼠抗羊(1: 5 000)二抗,室温孵育 90 min。用 ECL液进行荧光检测并显示于 X光片上。结果均用 Labwork凝胶图像分析系统对胶片扫描,将各组分别与 β -actin的面积灰度值比较作半定量分析。

1.9 统计学处理

用 SPSS12.0软件进行统计学分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较采用方差齐性检验和单因素方差分析,时间和浓度依赖性的检验进行相关性分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺炎衣原体诱导 THP-1源性泡沫细胞形成

在 Cpn感染不同浓度组中,细胞内脂滴随 Cpn感染浓度的增加逐渐增多,到 5×10^5 和 1×10^6 IFU 时明显增多,符合泡沫细胞的形态特点。随着 Cpn感染浓度 (1×10^5 、 4×10^5 、 5×10^5 和 1×10^6 IFU) 的增加,油红 O染色阳性细胞数逐渐增多(分别为 16 ± 2 、 23 ± 2 、 53 ± 6 和 70 ± 8 个),与对照组 (10 ± 1 个)比较,当 Cpn感染浓度为 5×10^5 和 1×10^6 IFU 时,油红 O染色阳性细胞数显著增多 ($P < 0.05$)。

在 Cpn感染不同时间组中,细胞内脂滴随 Cpn感染时间延长逐渐增多,到 48 h 和 72 h 明显增多。随着感染时间 (0 h、24 h、48 h 和 72 h) 的延长,油红 O染色阳性细胞数逐渐增多(分别为 11 ± 2 、 29 ± 3 、 56 ± 5 和 76 ± 9 个),与 0 h 比较,感染 48 h 和 72 h 时油红 O染色阳性细胞数显著增多 ($P < 0.05$, 图 1)。

在 Cpn感染不同浓度组中,随 Cpn感染浓度的升高细胞内 TC 和 CE 的含量逐渐增加 ($r = 0.95$, $P < 0.05$),与对照组相比,当 Cpn感染浓度为 5×10^5 和 1×10^6 IFU 时,细胞内 CE 占 TC 百分比均大于 50%,符合泡沫细胞的生物化学特点。在 Cpn感染不同时间组中,Cpn感染呈时间依赖性地增加细胞内 TC 和 CE 的含量 ($r = 0.93$, $P < 0.05$),与 0 h 比较,感染 48 h 和 72 h 时细胞内 CE 占 TC 百分比均大于 50% (表 1)。

表 1 肺炎衣原体对 THP-1 源性巨噬细胞内总胆固醇和胆固醇酯含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

分 组	Cpn浓度 (IFU)	感染时间 (h)	TC (mg/g)	CE (mg/g)	CE / TC
对照组	0	72	15.13 ± 1.50	4.38 ± 1.11	28.9%
浓度组	1×10^5	72	20.31 ± 1.18	6.15 ± 0.80	30.3%
	4×10^5	72	36.61 ± 2.22^a	15.71 ± 1.11^a	42.9%
	5×10^5	72	$60.12 \pm 4.07^{a*}$	33.32 ± 1.52^a	55.4% ^a
	1×10^6	72	79.02 ± 5.55^a	52.77 ± 2.33^a	66.8% ^a
时间组	1×10^6	0	12.82 ± 2.21	3.53 ± 0.81	27.6%
	1×10^6	24	41.64 ± 3.07^b	18.42 ± 2.82^b	44.2%
	1×10^6	48	63.39 ± 4.71^b	41.07 ± 5.17^b	64.8% ^b
	1×10^6	72	80.65 ± 4.32^b	54.77 ± 3.25^b	67.9% ^b

a为 $P < 0.05$ 与对照组比; b为 $P < 0.05$ 与 0 h 组比。

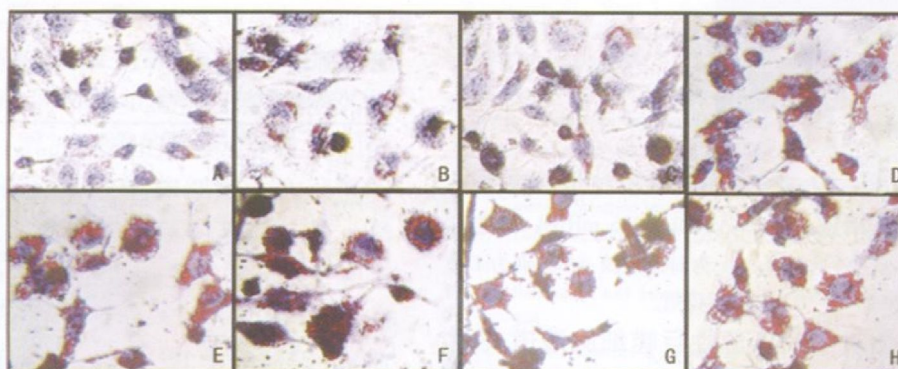


图 1 油红 O 染色观察肺炎衣原体对 THP-1 源性巨噬细胞内脂滴的影响 ($\times 400$) A 为对照组, B~E 分别为 1×10^5 、 4×10^5 、 5×10^5 和 1×10^6 IFU Cpn 感染组, F~H 分别为 Cpn 感染 24 h、48 h 和 72 h 组。

2.2 肺炎衣原体对 THP-1 源性巨噬细胞清道夫受体 A1 和 CD36 mRNA 表达的影响

在 Cpn感染不同浓度组中,随着 Cpn感染浓度

的增加,SR-A1 mRNA 表达逐渐增加 ($r = 0.89$, $P < 0.05$)。与对照组比较, 4×10^5 、 5×10^5 和 1×10^6 IFU Cpn 感染组的 SR-A1 mRNA 表达均明显增加 (P

< 0.05 (图 2 和表 2)。而不同浓度 Cpn 感染组的 CD36 mRNA 表达与对照组比差异均无统计学意义 ($P > 0.05$ (图 2 和表 2))。

在 Cpn 感染不同时间组中, Cpn 呈时间依赖性增加 SR-A1 mRNA 表达 ($r = 0.89$, $P < 0.05$); 与 0 h 组比, 感染 48 h 和 72 h 组的 SR-A1 mRNA 表达均明显增加 ($P < 0.05$ (图 3 和表 2))。与 0 h 组比, 感染 24 h、48 h 和 72 h 组的 CD36 mRNA 表达差异均无统计学意义 ($P > 0.05$ (图 3 和表 2))。

表 2 肺炎衣原体对 THP-1 源性巨噬细胞清道夫受体 A1 和 CD36 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

分 组	Cpn 浓度 (IFU)	感染时间 (h)	SR-A1 mRNA	CD36 mRNA
对照组	0	72	0.631 ± 0.022	1.161 ± 0.090
浓度组	1×10^5	72	0.560 ± 0.031	1.136 ± 0.112
	4×10^5	72	0.832 ± 0.064^a	1.230 ± 0.080
	5×10^5	72	1.016 ± 0.060^a	1.191 ± 0.066
	1×10^6	72	1.192 ± 0.113^a	1.072 ± 0.093
时间组	1×10^6	0	0.381 ± 0.010	1.365 ± 0.103
	1×10^6	24	0.446 ± 0.021	1.310 ± 0.096
	1×10^6	48	0.863 ± 0.043^b	1.392 ± 0.080
	1×10^6	72	1.230 ± 0.092^b	1.341 ± 0.113

a 为 $P < 0.05$ 与对照组比; b 为 $P < 0.05$ 与 0 h 组比。

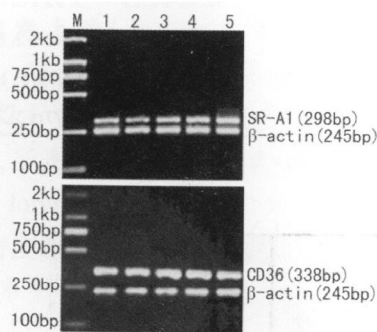


图 2 逆转录聚合酶链反应检测不同浓度肺炎衣原体对 THP-1 源性巨噬细胞清道夫受体 A1 和 CD36 mRNA 表达的影响 M 为相对分子质量 Marker 1 为对照组, 2~5 分别为 1×10^5 、 4×10^5 、 5×10^5 和 1×10^6 IFU Cpn 感染组。

2.3 肺炎衣原体对 THP-1 源性巨噬细胞清道夫受体 A1 和 CD36 蛋白表达的影响

在 Cpn 感染不同浓度组中, Cpn 呈浓度依赖性上调 SR-A1 蛋白表达 ($r = 0.94$, $P < 0.05$); 与对照组比较, 4×10^5 、 5×10^5 和 1×10^6 IFU Cpn 感染组的 SR-A1 蛋白表达均明显增加 ($P < 0.05$)。不同浓度 Cpn 感染组的 CD36 蛋白表达与对照组比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$ (图 4 和表 3))。

Cpn 感染不同时间组中, Cpn 呈时间依赖性增加 SR-A1 蛋白表达 ($r = 0.93$, $P < 0.05$); Cpn 感染 24 h、48 h 和 72 h 组的 SR-A1 蛋白表达与 0 h 组比较均明显增加 ($P < 0.05$)。与 0 h 组比较, Cpn 感染 24 h、48 h 和 72 h 组的 CD36 蛋白表达差异均无统计学意义 ($P > 0.05$ (图 4 和表 3))。

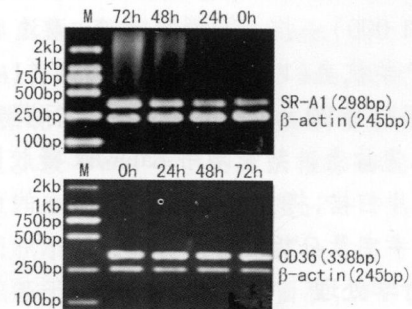


图 3 逆转录聚合酶链反应检测肺炎衣原体感染不同时间对 THP-1 源性巨噬细胞清道夫受体 A1 和 CD36 mRNA 表达的影响

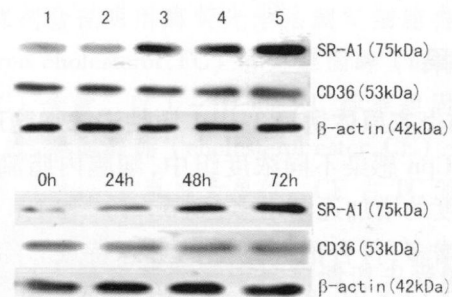


图 4 Western Blot 检测不同浓度肺炎衣原体 (上图) 及肺炎衣原体感染不同时间 (下图) 对 THP-1 源性巨噬细胞清道夫受体 A1 和 CD36 蛋白表达的影响 1 为对照组, 2~5 分别为 1×10^5 、 4×10^5 、 5×10^5 和 1×10^6 IFU Cpn 感染组。

表 3 肺炎衣原体对 THP-1 源性巨噬细胞清道夫受体 A1 和 CD36 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

分 组	Cpn 浓度 (IFU)	感染时间 (h)	SR-A1 蛋白	CD36 蛋白
对照组	0	72	0.410 ± 0.031	0.813 ± 0.049
浓度组	1×10^5	72	0.396 ± 0.022	0.791 ± 0.051
	4×10^5	72	0.786 ± 0.046^a	0.846 ± 0.041
	5×10^5	72	0.793 ± 0.037^a	0.749 ± 0.061
	1×10^6	72	1.346 ± 0.091^a	0.723 ± 0.033
时间组	1×10^6	0	0.181 ± 0.023	0.561 ± 0.027
	1×10^6	24	0.346 ± 0.016^b	0.512 ± 0.023
	1×10^6	48	0.613 ± 0.037^b	0.496 ± 0.017
	1×10^6	72	0.891 ± 0.054^b	0.502 ± 0.013

a 为 $P < 0.05$ 与对照组比; b 为 $P < 0.05$ 与 0 h 组比。

3 讨论

清道夫受体主要存在于巨噬细胞,能结合修饰的 LDL(modified LDL, mLDL)如氧化型 LDL(oxidized LDL, ox-LDL)和乙酰化 LDL(acetylated LDL, ac-LDL)等多种配体。当巨噬细胞与天然的 LDL共同孵育时并不会形成泡沫细胞,这是因为细胞内增高的胆固醇水平可以下调 LDL受体基因的转录^[7]。与 LDL受体途径不同,巨噬细胞通过清道夫受体途径摄取 mLDL,不受细胞内胆固醇水平的负反馈调节,最终导致细胞内胆固醇酯大量堆积,被认为是泡沫细胞形成的主要机制^[14-8]。有两类清道夫受体在泡沫细胞形成中有重要作用,一类是 SR-A1,另一类是 CD36。近年研究显示,75%~90% mLDL是由 SR-A1和 CD36介导摄取的,其中 ox-LDL的摄取主要是由 SR-A1和 CD36介导的,ac-LDL的摄取主要由 SR-A1介导的^[9]。

Cpn是一种严格细胞内寄生的革兰氏染色阴性的微生物,目前仅发现一种血清型即 TWAR株。既往研究显示,Cpn的一个成分衣原体热休克蛋白 60(chlamydia heat shock Oprotein 6Q, hHSP60)促进 LDL氧化成为 ox-LDL^[9-10];在 LDL存在的条件下,Cpn通过非 LDL受体途径诱导巨噬细胞泡沫化,Cpn的另一个成分衣原体脂多糖(chlamydia lipopolysaccharide, LPS)在上述过程中起决定性作用^[11]。这些研究提示清道夫受体途径参与了 Cpn诱导的泡沫细胞形成。本实验结果表明,从形态和生物化学的角度来看,高浓度的 Cpn感染负荷 LDL的 THP-1源性巨噬细胞 48 h后,能诱导泡沫细胞形成,这与既往研究结果类似。同时在 Cpn诱导泡沫细胞形成的过程中,随 Cpn感染浓度的增加和时间的延长,SR-A1 mRNA和蛋白表达有明显增加。提示 Cpn感染负荷 LDL的 THP-1源性巨噬细胞后,通过上调 SR-A1表达,增加脂质的摄取,导致胆固醇酯在细胞内大量堆积并形成泡沫细胞。这可能为 Cpn感染参与 As发生发展提供新的理论依据。然而,在本实验中,Cpn感染不影响 CD36 mRNA和蛋白表达,提示 B类清道夫受体 CD36可能不参与 Cpn诱导的泡沫细胞形成。至于其中的原因,目前尚不清楚。我们推测可能的原因如下:CD36识别的是 ox-LDL上的脂质成分,而 SR-A1识别氧化载脂蛋白部分^[8-9]。虽然 hHSP60可以促进 LDL氧化

为 ox-LDL,但由于 ox-LDL上的成分差异,导致不能被 CD36所识别。④Cpn的其他成分可能也促进包括 ac-LDL等在内的 mLDL形成,进而增加由 SR-A1途径介导的脂质摄入。

既往研究显示,Cpn通过 Toll样受体 2(Toll-like receptor 2, TLR2)诱导巨噬细胞源性泡沫细胞形成^[12]。TLR是一种重要的跨膜蛋白,通过识别病原微生物包括 Cpn在内的多种配体,启动跨膜信号传导过程。有关 TLR2在 Cpn诱导 SR-A1表达和泡沫细胞形成中的作用,有待今后进一步的研究。

综上所述,本研究证实,Cpn感染负荷 LDL的 THP-1源性巨噬细胞后,通过上调 SR-A1表达,增加脂质摄取并诱导泡沫细胞形成。这可能为 Cpn感染在促 As发生发展中的作用提供新的理论依据。

[参考文献]

- [1] Vainio S, Ikonen E. Macrophage cholesterol transport: a critical player in foam cell formation [J]. *Ann Med*, 2003, 35 (3): 146-155
- [2] Collet-Teixeira S, Martin J, McDermott-Roe C, et al. CD36 and macrophages in atherosclerosis [J]. *Cardiovasc Res*, 2007, 75 (3): 468-477.
- [3] Belland RJ, Ouellette SP, Gieffers J, et al. Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis [J]. *J Cell Microbiol*, 2004, 6 (2): 117-127.
- [4] 谢长青, 吴移谋. 肺炎噬衣原体与动脉粥样硬化的关系 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2008, 16 (4): 332-334
- [5] Osto E, Kourouedov A, Mocharla P, et al. Inhibition of protein kinase C beta prevents foam cell formation by reducing scavenger receptor A expression in human macrophages [J]. *Circulation*, 2008, 118 (21): 2174-182
- [6] Wada Y, Sugiyama A, Yamamoto T, et al. Lipid accumulation in smooth muscle cells under LDL loading is independent of LDL receptor pathway and enhanced by hypoxic conditions [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, 22 (10): 1712-1719
- [7] Choudhury RP, Lee M, Greaves DR. Mechanisms of disease: macrophage-derived foam cells emerging as therapeutic targets in atherosclerosis [J]. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, 2005, 2 (6): 309-315
- [8] Tiwari RL, Singh V, Barthwal MK. Macrophages: an elusive yet emerging therapeutic target of atherosclerosis [J]. *Med Res Rev*, 2008, 28 (4): 483-544
- [9] Hirono S, Dzhov E, Hurtado C, et al. Chlamydia pneumoniae stimulates proliferation of vascular smooth muscle cells through induction of endogenous heat shock protein 60 [J]. *Circ Res*, 2003, 93 (8): 710-716
- [10] Dittich R, Dragonas C, Mueller A, et al. Endothelial chlamydia pneumoniae infection promotes oxidation of LDL [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 319 (2): 501-505
- [11] Mahmoudi M, Curzen N, Gallagher PJ. Atherogenesis: the role of inflammation and infection [J]. *Histopathology*, 2007, 50 (5): 535-546
- [12] Cao F, Castrillo A, Tontonoz P, et al. Chlamydia pneumoniae-induced macrophage foam cell formation is mediated by Toll-like receptor 2 [J]. *J Infect Immun*, 2007, 75 (2): 753-755

(此文编辑 许雪梅)