

[文章编号] 1007-3949(2009)17-07-0587-01

• 研究论文摘要 •

PCSK9调控氧化型低密度脂蛋白诱导的 THP-1 源性巨噬细胞凋亡的机制

武春艳, 江璐, 唐志晗, 姜志胜, 刘录山

(南华大学心血管疾病研究所 动脉硬化学湖南省重点实验室, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] PCSK9 THP-1源性巨噬细胞; 凋亡; Caspase通路

目的 研究 PCSK9调控氧化型低密度脂蛋白诱导的 THP-1源性巨噬细胞凋亡的机制, 进而探索 PCSK9在动脉粥样硬化中的作用。**方法** 使用不同浓度的氧化型低密度脂蛋白处理 THP-1源性巨噬细胞不同时间, 应用 Lipofectamine2000转染 PCSK9sRNA 和 PCSK9表达载体进入 THP-1源性巨噬细胞中作用 24 h后再加入 80 mg/L氧化型低密度脂蛋白处理 24 h Western blot检测 Bcl2、Bax、Caspase3蛋白的表达; 加入 Caspase8和 Caspase9抑制剂处理 24 h与各组进行比较, 酶联免疫吸附实验分别检测 Caspase8和 Caspase9的蛋白表达和活性, DNA ladder检测和 Hoechst33258染色观察形态评价细胞凋亡及流式细胞计数凋亡率。**结果** Western blot检测凋亡相关蛋白 Bcl2、Bax、Caspase3蛋白的表达呈时间和浓度依赖性上调 Bax、Caspase3和下调 Bcl2的表达, 以 80 mg/L氧化型低密度脂蛋白处理 24 h作用最明显。PCSK9sRNA呈浓度依赖性下调 Bax、Caspase3和上调 Bcl2的蛋白表达, 以 80 nmol/L作用最明显, 而 PCSK9表达载体组则上调 Bax和 Caspase3和下调 Bcl2的蛋白表达。加入 Caspase8和 Caspase9抑制剂处理 24 h后, Western blot 酶联免疫吸附试验分别检测 Caspase8和 Caspase9的蛋白表达和活性, PCSK9sRNA组和 PCSK9表达载体组 Caspase9的表达和活性下调, 而 Caspase8的蛋白表达和活性无影响。DNA ladder检测 PCSK9表达载体组出现明显的梯状条带。Hoechst33258染色和流式细胞术计数检测细胞凋亡率发现 PCSK9表达载体组可见大量凋亡细胞和流式细胞计数凋亡率明显增加, 而 PCSK9sRNA组细胞凋亡率明显减少。**结论** PCSK9是参与氧化型低密度脂蛋白诱导的 THP-1源性巨噬细胞的凋亡调控的一新的基因; PCSK9通过调节促凋亡蛋白 Bax、Caspase3和抗凋亡蛋白 Bcl2的表达, 从而调控氧化型低密度脂蛋白诱导的 THP-1源性巨噬细胞的凋亡。

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (30700325)和湖南省科技厅科技计划重点项目 (2008FJ2006)

[作者简介] 武春艳, 硕士, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制及防治, Email为 lucywu85@126.com。通讯作者刘录山, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制及防治, Email为 lul2000@163.com。

(此文编辑 李玲玲)