

高密度脂蛋白及其亚型氧化修饰后对人脐静脉内皮细胞损伤及 TFPI-1 表达的影响

彭湘萍, 姜志胜, 任重, 赵战芝, 黄宜娥, 唐志晗, 刘录山

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

[关键词] 高密度脂蛋白; 氧化型高密度脂蛋白; 人脐静脉内皮细胞; 细胞损伤; 组织因子途径抑制物 1

目的 观察高密度脂蛋白(HDL)及其亚型氧化修饰后对人脐静脉内皮细胞的损伤作用和对组织因子途径抑制物 1(TFPI-1)表达的影响并初步探讨其机制。**方法** (1)人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells hUVEC)分别与 300 mg/L ox-HDL、ox-HDL2 和 ox-HDL3 共孵育 24 h, 用普通光镜和 Hoechst 33258 荧光染色观察 hUVEC 细胞形态和核形态的变化, 用 MTT 比色法检测细胞存活状况。(2)hUVEC 分别经不同浓度(0、10、20、40 和 80 mg/L) ox-HDL、ox-HDL2 和 ox-HDL3 孵育 24 h 逆转录聚合酶链反应(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)和 Western Blot 分别检测细胞 TFPI-1 mRNA 及蛋白表达。(3)血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1(LOX-1)单克隆抗体(LOX-1 mAb)或核因子 KB 抑制剂(BAY 11-7085)预处理内皮细胞 2 h 再分别加入 ox-HDL、ox-HDL2 和 ox-HDL3 孵育 24 h 后, RT-PCR 与 Western Blot 检测细胞 TFPI-1 mRNA 及蛋白表达变化情况。**结果** (1)与对照组比较, 经 ox-HDL、ox-HDL2 和 ox-HDL3(300 mg/L)处理 24 h 后, 细胞数目减少, 圆形细胞明显增多, 细胞间隙增宽, 细胞边界不清, 部分脱落; Hoechst 33258 染色荧光显微镜下发现有大量的细胞核浓缩呈高亮度蓝色荧光的凋亡细胞; MTT 结果显示, 细胞存活率下降, 差异有显著性($P < 0.05$)。(2)ox-HDL、ox-HDL2 和 ox-HDL3 能抑制 hUVEC TFPI-1 mRNA 和蛋白表达, 其中在 ox-HDL 为 40 mg/L 时减少最明显, mRNA 表达下降了 28%, 蛋白表达下降了 35%; ox-HDL2 为 80 mg/L 时减少最明显, mRNA 表达下降了 27%, 蛋白表达下降了 27%; ox-HDL3 为 40 mg/L 时减少最明

显, mRNA 表达下降了 49%, 蛋白表达下降了 47%; 作用程度为 oxHDL3 > oxHDL > oxHDL2。 (3) LOX-1 单克隆抗体 (LOX-1 mAb) 与核因子 KB 抑制剂 (BAY 11-7085) 预处理后, oxHDL、oxHDL2 和 oxHDL3 抑制 TFPI-1 mRNA 及蛋白表达的作用下降, 差异有显著性 ($P < 0.05$)。 **结论** (1) HDL 及其亚型氧化修饰后可导致内皮细胞受损。 (2) HDL 及其亚型氧化修饰后能抑制 hUVEC TFPI-1 mRNA 和蛋白表达, 且作用程度 oxHDL3 > oxHDL > oxHDL2。 (3) HDL 及其亚型氧化修饰后对内皮细胞 TFPI-1 表达的作用与 LOX-1/核因子 KB 信号途径有关。

[基金项目] 国家自然科学基金 (30570766)、湖南省教育厅重点科研项目 (05A043) 及教育部和南华大学留学归国人员科研启动基金

[作者简介] 通讯作者姜志胜, E-mail 为 zsjiang2005@163.com。

(此文编辑 许雪梅)