

Adipophilin促进 RAW 264.7 细胞内 ACAT1 高表达

袁中华, 黄谔非, 姜志胜, 易光辉, 唐朝克, 王佐, 杨向东, 任重, 万载阳

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

[关键词] Adipophilin; 蛋白激酶 C; 乙酰辅酶 A, 胆固醇酰基转移酶; 逆转录病毒载体; 动脉粥样硬化

目的 通过建立高表达 adipophilin 基因的 RAW 264.7 细胞株, 观察高表达 adipophilin 细胞内 ACAT1 表达的变化, 探讨 adipophilin 是否通过 PKC 信号途径作用于 ACAT1, 阐明 adipophilin 促进泡沫细胞形成的机制。**方法** 构建 pQCXIP-HA-Adi 逆转录病毒载体, 并用酶切和 PCR 鉴定。将该重组质粒用梭华-Sofast 基因转染试剂转染 PA317 包装细胞, 获得 pQCXIP-HA-Adi 逆转录病毒。再用病毒感染 RAW 264.7 细胞, Puromycin 筛选, 获得稳定高表达 adipophilin 的 RAW 264.7 细胞株。应用 RT-PCR 和 Western Blot 检测经感染后细胞内 adipophilin 和 ACAT1 的表达。并应用 Atorvastatin 和 PKC 抑制剂 Calphostin C 分别处理高表达 adipophilin 基因的 RAW 264.7 细胞, 观察 ACAT1 表达的改变。**结果** 酶切和 PCR 反应结果显示 pQCXIP-HA-Adi 逆转录病毒载体构建成功。转染 PA317 细胞后病毒释放, 用病毒感染 RAW 264.7 细胞, 经 RT-PCR 和 Western Blot 检测证实 RAW 264.7 细胞中 adipophilin mRNA 和蛋白表达明显升高。pQCXIP-HA-Adi 病毒感染组 ACAT1 mRNA 和蛋白表达明显增高, pQCXIP 病毒感染组 ACAT1 的表达无明显变化。无血清培养及加入 Atorvastatin 之后, 即在去除外源性和内源性胆固醇底物对 ACAT1 表达影响的情况下, 高表达 adipophilin 组细胞内 ACAT1 表达仍升高。当加入或者不加氧化型低密度脂蛋白的情况下, 与 PKC 抑制剂 Calphostin C 共孵育之后, 经 RT-PCR 和 Western Blot 检测发现 ACAT1 表达明显降低。**结论** 高表达 adipophilin 可明显上调 RAW 264.7 细胞 ACAT1 的表达。Adipophilin 通过 ACAT1 促进细胞内脂质蓄积的过程中, 可能有 PKC 的参与。

[基金项目] 教育部留学回国人员科研启动基金项目 (教外司留 [2008] 890 号) 和南华大学留学归国启动基金项目 (5-XQD-2007-7)

[作者简介] 袁中华, 教授, 博士, 硕士研究生导师, 研究方向为泡沫细胞形成的分子机制, E-mail 为 yzh5555@163.com。

(此文编辑 李小玲)