

ROS 对不同基因型小鼠腹腔巨噬细胞泡沫化的影响

张 暲, 孙延荣, 潘 杰

(山东师范大学生命科学学院, 山东省济南市 250014)

[关键词] 活性氧; 巨噬细胞泡沫化相关基因; 动脉粥样硬化; 氧化型低密度脂蛋白

目的 NADPH 氧化酶(Nox)来源的活性氧(reactive oxygen species, ROS)在巨噬细胞泡沫化过程中发挥重要作用, 然而 Nox 在动脉粥样硬化(As)发生发展中的作用尚存在争议。研究表明, 氧化应激可通过调节核转录因子及胆固醇内流和外流相关受体影响巨噬细胞泡沫化进程, 影响 As 的发生发展。本实验拟探讨 Nox 来源的 ROS 对不同基因型小鼠腹腔巨噬细胞泡沫化的影响及其作用机制。**方法** 同过 ox-LDL 诱导 apoE^{-/-} 和 WT 小鼠腹腔巨噬细胞泡沫化, 并用 Nox 抑制剂二亚苯基碘(diphenyleneiodonium chloride, DPI)抑制 ROS 的产生, 借助形态学、实时定量 RT-PCR 和免疫细胞化学等手段在细胞水平和分子水平检测巨噬细胞泡沫化不同阶段的变化特征。**结果** ox-LDL 处理 24 h, 可诱导两种小鼠腹腔巨噬细胞泡沫化, 且随着时间延长, 泡沫化程度逐渐加重。ApoE^{-/-} 小鼠 Nox 的活化对小鼠腹腔巨噬细胞泡沫化较 WT 小鼠明显。在两种小鼠巨噬细胞中, Nox 活性均可明显被 DPI 抑制, 且 DPI 可明显减少 ox-LDL 诱导小鼠腹腔巨噬细胞 O₂⁻ 和总 ROS 的产生 ($P < 0.05$)。ox-LDL 诱导 48 h, 在两基因型之间, O₂⁻ 和总 ROS 的变化无明显差异 ($P > 0.05$)。在 apoE^{-/-} 小鼠中, 24 h 时, ox-LDL + DPI 组与 ox-LDL 组相比, PPAR α 、ABCA1 和 SR-BI 的 mRNA 水平显著上调 ($P < 0.05$), Nox2、PPAR γ 的 mRNA 水平下调, 而 p47phox、LXR α 、NF- κ B、CD36 和 SR-A mRNA 水平差异无显著性 ($P > 0.05$)。在 WT 小鼠腹腔巨噬细胞中, 与 ox-LDL 处理组相比, 6 h 时, DPI 处理组显著下调 Nox2、PPAR α 、LXR α 、CD36 和 SR-A 的 mRNA 水平 ($P < 0.05$), 显著上调 PPAR γ 、NF- κ B 和 SR-BI 的 mRNA 水平 ($P < 0.05$), ABCA1、p47phox mRNA 水平变化差异无显著性 ($P > 0.05$); 24 h 时, ox-LDL + DPI 处理组与 ox-LDL 处理组相比, p47phox、PPAR α 、PPAR γ 、LXR α 、NF- κ B、CD36、SR-A、ABCA1 和 SR-BI mRNA 水平均被显著上调 ($P < 0.05$), Nox2 mRNA 水平无显著变化 ($P > 0.05$)。在 apoE^{-/-} 和 WT 小鼠腹腔巨噬细胞中, 24 h 时, ox-LDL 可通过 ROS 激活 NF- κ B, 且 DPI 处理组 NF- κ B 活性明显降低 ($P < 0.05$)。24 h 时, ABCA1 和 PPAR γ 蛋白表达无明显差异 ($P > 0.05$)。**结论** Nox 促进了小鼠腹腔巨噬细胞泡沫化进程, 且其对 apoE^{-/-} 的影响明显大于 WT 小鼠。在此过程中, O₂⁻ 等活性氧参与调节巨噬细胞泡沫化相关基因 mRNA 和蛋白水平, 并可通过调节 NF- κ B 和 PPAR 等关键因子来影响巨噬细胞的相应功能。

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30571024)资助

[作者简介] 张暲, 博士, 讲师, 主要从事动能基因与代谢综合症研究。孙延荣, 硕士研究生, 主要从事动脉粥样硬化早期巨噬细胞泡沫化及其调控因子的研究。潘杰, 教授, 博士研究生导师, 主要从事代谢综合征与细胞/炎症因子相关性研究。

(此文编辑 李小玲)