

槟榔碱对泡沫细胞胆固醇流出和 ABCA1 表达的影响

欧阳新平^{1, 2, 3}, 周寿红¹, 田绍文¹, 李兴¹, 何平平⁴, 尹蔚兰¹, 周钰娟⁴, 唐朝克^{2, 3}

(南华大学 1. 医学院生理学教研室, 2. 心血管疾病研究所, 3. 生命科学研究中心, 4. 护理学院, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 槟榔碱; 泡沫细胞; 胆固醇流出; ABCA1; 动脉粥样硬化

[摘要] 目的 探讨槟榔碱对氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导的鼠源性巨噬细胞性泡沫细胞形成的影响及可能机制。方法 采用体外培养的鼠源性巨噬细胞株作为研究对象, 加入 ox-LDL (50 mg/L) 诱导泡沫细胞, 同时加入不同浓度的槟榔碱处理, 油红 O 染色进行形态学观察, 高效液相色谱法测定细胞内总胆固醇(TC)、游离胆固醇(FC)和胆固醇酯(CE)的水平, ³H 标记的胆固醇测定胆固醇流出率。采用实时定量 PCR 和蛋白印迹法分别检测细胞中三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ABCA1) 的表达。结果 ox-LDL 处理 48 h 后, 与正常巨噬细胞相比, 油红 O 染色阳性细胞显著增加, 细胞体积明显增大, 形态多呈圆形或不规则形; 槟榔碱(10^{-6} 、 10^{-5} 和 10^{-4} mol/L) 组油红 O 染色阳性细胞数比泡沫细胞模型组显著减少, 细胞体积明显缩小。与泡沫细胞模型组相比, 槟榔碱(10^{-5} 和 10^{-4} mol/L) 显著性降低细胞内 TC、FC、CE 水平及 CE/TC, 显著性增加细胞胆固醇流出率和 ABCA1 的表达。结论 槟榔碱抑制 ox-LDL 诱导的鼠源性巨噬细胞性泡沫细胞形成, 上调泡沫细胞中 ABCA1 的表达。

[中图分类号] R96

[文献标识码] A

Effect of Arecoline on Cholesterol Efflux and ATP-Binding Cassette Transporter A1 Expression in RAW 264.7 Macrophage-Derived Foam Cells

OUYANG Xin-Ping^{1, 2, 3}, ZHOU Shou-Hong¹, TIAN Shao-Wen¹, LI Xing¹, HE Ping-Ping⁴, YIN Wei-Lan¹, and TANG Chao-Ke^{2, 3}

(1. Department of Physiology, Medical College, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Institute of Cardiovascular Disease, Medical College, University of South China; 3. Life Science Research Center, University of South China; 4. College of Nursing, University of South China)

[KEY WORDS] Arecoline; Foam Cells; Cholesterol Efflux; ATP-Binding Cassette Transporter A1; Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effect of arecoline (Are) on the formation of foam cells induced by the oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) and analyze the possible mechanisms. **Methods** RAW 264.7 macrophages were incubated by ox-LDL (50 mg/L) for 48 h to induce foam cells. Arecoline (10^{-6} mol/L, 10^{-5} mol/L and 10^{-4} mol/L) was added for 48 h at the same time. The cellular lipid accumulation was examined by oil red staining. The cellular contents of total cholesterol (TC) and free cholesterol (FC) were detected by high performance liquid chromatography assays. Cholesterol efflux from macrophages was examined by ³H labeled cholesterol. The expressions of ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) were detected by Real-time PCR and Western blot. **Results** Oil red-staining positive cells were found and macrophages were filled with lipid droplet in foam cells model group. Compared with the foam cells, arecoline (10^{-5} and 10^{-4} mol/L) significantly decreased the amount of oil red-staining positive cells and the contents of lipid droplet of foam cells. Compared with the control macrophages group, the contents of TC, FC, cholesteryl ester (CE) and CE/TC ratio in model group were significantly increased in foam cells model group. Arecoline (10^{-5} and 10^{-4} mol/L) decreased the contents of TC, FC, cholesteryl ester (CE) and CE/TC ratio, and increased significantly cholesterol efflux and expression of ABCA1 compared with foam cells model group. **Conclusion** Arecoline inhibits the formation of foam cell induced by ox-LDL and up-regulates of expression ABCA1 in RAW 264.7 macrophage-derived foam cells.

[收稿日期] 2011-08-09

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81070220)

[作者简介] 欧阳新平, 博士研究生, 讲师, 研究方向为动脉粥样硬化的发病机制与防治, E-mail 为 y1655@163.com。周寿红, 博士, 副教授, 研究方向为心血管生理, E-mail 为 zhoushouhong@126.com。通讯作者唐朝克, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化的发病机制与防治, E-mail 为 tchaoke@yahoo.com.cn。

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 是严重危害人类健康的疾病之一^[1,2]。泡沫细胞的形成是 As 重要的病理生理学基础,单核细胞来源的巨噬细胞以及平滑肌细胞在内膜下吞噬氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 而形成泡沫细胞^[3,4]。逆向胆固醇转运 (reverse cholesterol transport, RCT) 能力的减弱是泡沫细胞形成的重要原因。机体通过 RCT 将外周组织过多的胆固醇转运到肝脏,肝脏将胆固醇分泌到胆汁中排出体外而达到抗 As 目的,而 ABCA1 在 RCT 中发挥着重要的作用^[5-7]。

槟榔碱是棕榈科植物槟榔种子的有效成分^[8]。槟榔碱也是槟榔果中含量最为丰富的生物碱之一,具有驱虫、杀菌、促小肠蠕动和食物消化、抗血栓形成、能改善 2 型糖尿病糖、脂代谢紊乱等作用^[9-12]。近年来研究发现槟榔碱可促进 As 大鼠体内一氧化氮 (nitric oxide, NO) 的释放,提高内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, NOS) 的表达,降低血浆白细胞介素 8 (interleukin-8, IL-8) 水平,抑制细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1),趋化因子受体 CXCR-2 和单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) 的表达^[13]。槟榔碱通过过氧化体增殖物激活型受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor γ , PPAR γ) 抑制 ox-LDL 诱导的巨噬细胞炎症因子表达而发挥抗 As 的作用^[14]。然而槟榔碱对 RCT 的影响及其机制尚不明了。本研究旨在观察槟榔碱对 ox-LDL 诱导的鼠源性巨噬细胞性泡沫细胞形成的影响,并探讨其可能机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

RPMI1640 培养基 (Invitrogen 公司),胰蛋白酶和槟榔碱 (Sigma 公司)。³H 标记的胆固醇和磷脂 (中国原子能研究院同位素研究所);新生牛血清 (杭州四季青公司),ABCA1 一抗以及辣根过氧化物酶标记羊抗兔二抗 (Santa Cruz 公司),BCA 蛋白定量试剂 (Pierce 公司)。总 RNA 提取试剂盒、MLLV 第一链 cDNA 合成试剂盒和 Hot Star Taq Master Mix 试剂盒 (Invitrogen 公司)。所用引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。其他试剂为国产分析纯。

1.2 低密度脂蛋白的制备、氧化和鉴定

健康人的血浆购自湖南省衡阳市中心血站。采

用梯度超速离心法分离制备低密度脂蛋白 (LDL)。取未加抗凝剂的人新鲜全血 200 mL,室温下静置 2 h,弃血凝块,4℃、5 kr/min 离心 30 min,获得血清约 120 mL,加入 NaN₃ 22.4 mg、10% EDTA 防腐和防氧化。血清在离心机上做序列超速离心。然后 4℃、42 kr/min 离心 18 h,吸出上层乳白色液体及次层淡黄色液体;收集下层液体,用溴化钾调整密度为 1.063 g/L,4℃、42 kr/min 离心 20 h,吸出上层黄色液体,即 LDL。LDL 用含 10% 乙二醇四乙酸的 PBS 液于 4℃透析 72 h;再用含 200 μ mol/L CuSO₄ 的 PBS 液,37℃下温育透析 16 h 进行氧化修饰;再用含 200 μ mol/L 乙二醇四乙酸的 PBS 液室温透析 20 h,终止氧化;PBS 液 4℃透析 24 h,充分去除 EDTA。过滤除菌,BCA 试剂定量蛋白含量,调蛋白浓度至 1 g/L 用于实验,4℃保存。LDL 的氧化程度通过测定硫代巴比妥酸反应物质的值来确定。取氧化前后的 LDL,经 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳,0.25% 考马斯亮蓝常规染色,脱色后可见清晰的 LDL 条带,采用 0.5% 琼脂糖凝胶电泳分析鉴定。

1.3 细胞的培养

鼠源性单核巨噬细胞 RAW264.7 细胞系购自中国科学院上海细胞生物研究所细胞库。用含 10% FBS 的 RPMI1640 的细胞培养液培养细胞,于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。培养液中加青霉素 (100 ku/L) 和链霉素 (0.1 g/L)。当细胞生长到 60% ~ 70% 融合时,巨噬细胞在 50 mg/L ox-LDL 中培育 48 h,使细胞转变成泡沫细胞。

1.4 实验分组

实验分为 5 组:对照组 (正常巨噬细胞);泡沫细胞模型组;低、中、高剂量槟榔碱组 (10⁻⁶、10⁻⁵ 和 10⁻⁴ mol/L)。对照组用 RPMI1640 培养液;泡沫细胞模型组在 RPMI1640 培养液中加入 50 mg/L ox-LDL 共同培养 48 h;槟榔碱处理组在 RPMI1640 培养液加入槟榔碱 (10⁻⁶、10⁻⁵ 和 10⁻⁴ mol/L) 和 50 mg/L ox-LDL 共同孵育细胞 48 h。

1.5 油红 O 染色观察细胞内脂质

将细胞培养于预先放有无菌盖玻片的 6 孔培养板,处理结束后,将盖玻片取出,用 PBS 冲洗盖玻片 3 次,每次 5 min,50% 异丙醇固定 1 min,油红 O 染色液染色 10 min,蒸馏水冲洗 3 次,每次 1 min,苏木素染色 5 min,盐酸乙醇分色返蓝后,水性封片剂封固,显微镜下观察并摄像。

1.6 巨噬细胞胆固醇流出测定

细胞经胰酶消化后,轻轻吹打成细胞悬液,将巨

噬细胞浓度调整为 3.0×10^9 个/L,接种于 6 孔细胞培养板,在含有 5% FBS 的 RPMI1640 培养液中加 $0.2 \mu\text{Ci/L}$ ^3H 标记的胆固醇和 ox-LDL (50 mg/L) 共培养 48 h 装载脂质。对照组细胞只用 $0.2 \mu\text{Ci/L}$ ^3H 标记的胆固醇孵育细胞 48 h,槟榔碱处理组用不同浓度的槟榔碱和 $0.2 \mu\text{Ci/L}$ ^3H 标记的胆固醇以及 ox-LDL (50 mg/L) 共孵育细胞 48 h。用 PBS 液洗 3 次。用无血清含 50 mg/L 载脂蛋白 AI (ApoAI) 新培养液中培育细胞 12 h,用液体闪烁计数器检测培养液和细胞中的 ^3H 胆固醇和磷脂含量。胆固醇和磷脂流出率用培养液中 ^3H /总值 ^3H (培养液 + 细胞) $\times 100\%$ 表示。

1.7 高效液相色谱测定细胞内胆固醇酯含量

将收集好的细胞用 1 mL PBS 稀释,冰浴中超声破碎细胞。用 BCA 法测定蛋白含量。将细胞溶解产物分为两份,一份加入等体积新鲜配制的 15% KOH 醇溶液,室温搅拌至细胞溶解产物清亮,用以获取总胆固醇;另一份加入等体积新鲜配制的 8.9 mmol/L KOH 醇溶液,置于 80°C 水浴中 1 h,用以获得游离胆固醇。分别加入 6% 三氯乙酸去除蛋白,再加入等体积的正己烷:异丙醇为 4:1 (V/V) 的混合溶液,将混合物混合搅拌 5 min;然后在 1500 g/min 15°C 下离心 5 min,收集上层有机相,在真空干燥机中 65°C 干燥;冷却后,加入 100 μL 异丙醇:正庚烷:乙晴为 35:13:52 (V/V) 的混合溶液,将样品溶解;1500 r/min 离心 5 min,收集上清液;取 10 μL 进行高效液相色谱分析。采用 C18 柱,以异丙醇:正庚烷:乙晴为流动相进行非梯度洗脱,流速 1 mL/min,柱温保持 4°C ,在 216 nm 波长下检测 10 min。以峰面积定量胆固醇;胆固醇酯经胆固醇酯酶水解,测总胆固醇量,总胆固醇量减去游离胆固醇量为胆固醇酯的量。

1.8 实时定量 PCR 检测 ABCA1 mRNA 表达

收集细胞,按 Trizol 试剂盒说明书提取细胞总 RNA。以提取的总 RNA 为模板,按照逆转录试剂盒说明书进行逆转录反应,合成 cDNA 第一链, -20°C 保存。选取 cDNA 样品进行 10 倍梯度稀释,分别进行实时 PCR 反应,反应体系 25 μL ,含 Hot Star Taq Master Mix ($2 \times$) 12.5 μL , PCR 上下游引物及探针 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 0.3 μL , cDNA 4 μL , 灭菌去离子水补足 25 μL 。PCR 扩增程序为: 95°C 10 min 激活 Hot Star Taq DNA 合成酶,扩增循环 94°C 40 s, 60°C 70 s,共 50 个循环。反应体系加入 96 孔板中,每个

样品设置 3 个复孔。PCR 反应在 ABI7500 实时定量 PCR 系统上进行。ABCA1 引物:上游 5'-AG-GAAACCCAATCCCAGATACCC-3',下游 5'-GCTCG-GAGGAAGTGCTTGAGAAT-3'。 β -actin 引物:上游 5'-CCATCATCTTGCAGGAGCG-3',下游 5'-CTG-GCAGTGAGCTATACTCG-3'。以对照组为 100% 对 ABCA1 mRNA 的表达进行分析。

1.9 Western blot 分析 ABCA1 蛋白的表达

收集处理好的巨噬细胞和泡沫细胞,弃去培养液,用 4°C 预冷的 PBS 洗涤 3 次,吸弃 PBS,置于冰上。加入 200 μL 蛋白裂解缓冲溶液,吸打数次,冰上裂解 20 min。用细胞刮将细胞全部刮下并转移至洁净的 1.5 mL EP 管中。置入预冷的离心机中,于 4°C 、20000 g/min 离心 30 min。小心收集上清至无菌的 1.5 mL EP 管中,即为细胞总蛋白,吸取 10 μL 立即进行细胞总蛋白浓度测定。取 50 μg 蛋白质样本加入 $2 \times$ SDS 凝胶加样缓冲液中,煮沸使蛋白质变性。用 6% SDS-聚丙烯酰胺凝胶进行电泳分离,60 ~ 100 mA 1 h 将蛋白质用半干转膜仪转移至 PVDF 膜上,丽春红染色观察转移效果,并确定蛋白质分子质量标准位置。5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h,加入 1:150 兔抗鼠一抗, 4°C 过夜。TBST 液洗膜 3 次,每次 5 ~ 10 min。加入辣根过氧化物酶标记的二抗, 4°C 4 ~ 8 h, TBST 洗膜 3 次。蛋白质印迹荧光检测试剂盒显示于 X 光片,显影、定影后凝胶图像分析系统对胶片扫描和半定量分析。

1.10 统计学处理

实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异进行方差分析后再用 t 检验。用 SPSS 14.0 统计软件进行统计学分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 槟榔碱对 ox-LDL 诱导的细胞泡沫化的影响

油红 O 染色后光镜下观察显示,对照组巨噬细胞形态多呈梭形,无油红 O 染色阳性细胞,泡沫细胞模型组由于大量摄取 ox-LDL 导致胞内脂质堆积,油红 O 染色阳性细胞遍布,且细胞体积明显增大,形态多呈不规则形;而中、高剂量槟榔碱 (10^{-5} 和 10^{-4} mol/L) 处理组油红 O 染色阳性细胞比泡沫细胞模型组明显减少;而低剂量 (10^{-6} mol/L) 槟榔碱组细胞与泡沫细胞模型组相比无明显变化 (图 1)。

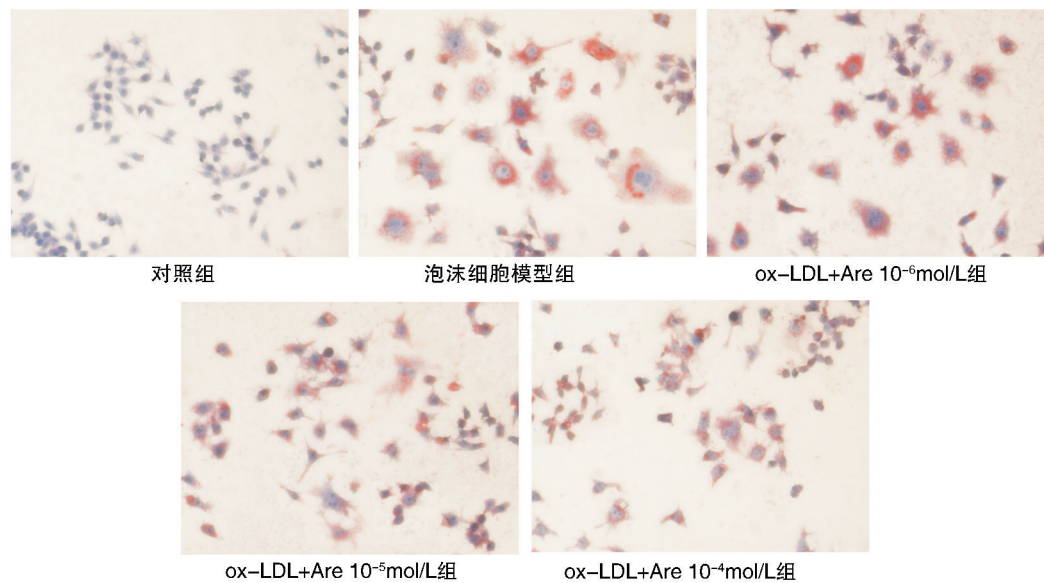


图 1. 槟榔碱对泡沫细胞形成的影响(×400)

Figure 1. Effect of arecaline on the formation of foam cells induced by ox-LDL in RAW 264.7 macrophages

2.2 槟榔碱对细胞内游离胆固醇及胆固醇酯含量的影响

与对照组相比,泡沫细胞模型组细胞内 TC、FC 和 CE 水平显著性增高 ($P < 0.05$), CE/TC 值为 62.57%,与对照组存在显著性差异 ($P < 0.05$)。与

泡沫细胞模型组相比,槟榔碱高剂量、中剂量 (10^{-4} 和 10^{-5} mol/L) 组细胞内 TC、FC 和 CE 水平及 CE/TC 均有显著性减少 ($P < 0.05$)。槟榔碱低剂量 (10^{-6} mol/L) 组 TC、FC 和 CE 与泡沫细胞模型组相比差异无显著性(表 1)。

表 1. 槟榔碱对细胞内游离胆固醇及胆固醇酯含量的影响($\bar{x} \pm s$, mg/g)

Table 1. Effect of arecaline on the level of total cholesterol (TC), free cholesterol (FC) and cholesterol ester (CE) in RAW 264.7 macrophage-derived foam cells

分 组	TC	FC	CE	CE/TC
对照组	147.07 ± 12.54	95.71 ± 7.49	51.36 ± 5.71	34.92%
泡沫细胞模型组	513.67 ± 37.76 ^a	192.28 ± 20.16 ^a	321.39 ± 28.41 ^a	62.57% ^a
槟榔碱 10^{-6} mol/L 组	509.24 ± 51.34	189.98 ± 22.75	319.26 ± 34.05	62.69%
槟榔碱 10^{-5} mol/L 组	396.99 ± 35.44 ^b	171.42 ± 13.15 ^b	225.57 ± 23.83 ^b	56.82% ^b
槟榔碱 10^{-4} mol/L 组	295.03 ± 24.71 ^b	152.71 ± 17.36 ^b	142.32 ± 12.47 ^b	48.24% ^b

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与泡沫细胞模型组比较。

2.3 槟榔碱对细胞内胆固醇流出的影响

与对照组相比,ox-LDL 诱导的泡沫细胞模型组细胞胆固醇流出率显著增加 ($P < 0.05$)。与泡沫细胞模型组相比,槟榔碱 (10^{-5} 和 10^{-4} mol/L) 组细胞胆固醇流出率显著增加 (均 $P < 0.05$), 而槟榔碱 (10^{-6} mol/L) 组与泡沫细胞模型组相比胆固醇流出率差异无显著性(表 2)。

2.4 槟榔碱对巨噬细胞 ABCA1 mRNA 和蛋白表达的影响

与对照组相比,泡沫细胞模型组细胞中 ABCA1 mRNA 和蛋白表达显著增加 ($P < 0.05$); 与泡沫细胞模型组相比,槟榔碱 (10^{-5} 和 10^{-4} mol/L) 组细胞中 ABCA1 mRNA 和蛋白表达显著增加 (均 $P < 0.05$), 而槟榔

碱 (10^{-6} mol/L) 处理组与泡沫细胞模型组相比 ABCA1 mRNA 和蛋白表达差异无显著性(图 2 和表 3)。

表 2. 槟榔碱对细胞内胆固醇流出的影响
Table 2. Effect of arecaline on the rate of cholesterol efflux in RAW 264.7 macrophage-derived foam cells

分 组	胆固醇流出率
对照组	5.87% ± 0.64%
泡沫细胞模型组	16.75% ± 2.15% ^a
槟榔碱组 10^{-6} mol/L 组	17.93% ± 1.93%
槟榔碱组 10^{-5} mol/L 组	27.07% ± 1.96% ^b
槟榔碱组 10^{-4} mol/L 组	38.66% ± 3.27% ^b

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与泡沫细胞模型组比较。

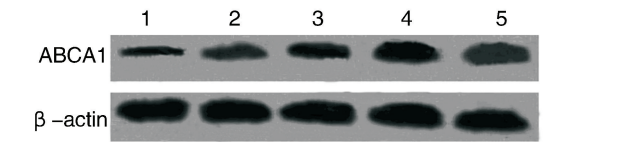


图 2. 槟榔碱对细胞中 ABCA1 表达的影响 1 为对照组,2 为泡沫细胞模型组,3~5 分别为槟榔碱 10⁻⁶、10⁻⁵ 和 10⁻⁴ mol/L 组。

Figure 2. Effect of arecaine on the expression of ABCA1 in RAW 264.7 macrophage-derived foam cells

表 3. 槟榔碱对细胞中 ABCA1 表达的影响
Table 3. Effect of arecaine on the expression of ABCA1 in RAW 264.7 macrophage-derived foam cells

分 组	ABCA1 mRNA	ABCA1 蛋白
对照组	100.00 ± 0.00	0.14 ± 0.03
泡沫细胞模型组	153.74 ± 20.41 ^a	0.35 ± 0.05 ^a
槟榔碱 10 ⁻⁶ mol/L 组	161.02 ± 16.34	0.37 ± 0.06
槟榔碱 10 ⁻⁵ mol/L 组	198.64 ± 23.75 ^b	0.56 ± 0.08 ^b
槟榔碱 10 ⁻⁴ mol/L 组	237.76 ± 25.43 ^b	0.83 ± 0.11 ^b

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与泡沫细胞模型组比较。

3 讨 论

As 是一种多因素的疾病,它涉及到年龄、饮食、感染以及环境等,其发病机制十分复杂,至今尚未完全阐明^[15]。研究显示槟榔碱能抑制破骨细胞炎症因子的表达,槟榔碱能抑制高脂诱导的大鼠血管组织中以及泡沫细胞中黏附分子和趋化因子的表达,促进 NO 的合成与释放,可能具有一定的抗 As 作用^[13,14]。本研究结果显示槟榔碱能有效地降低泡沫细胞内胆固醇酯的含量,减轻细胞泡沫化程度,抑制 ox-LDL 诱导的泡沫细胞形成。

巨噬细胞和平滑肌细胞在内膜下积聚过多的胆固醇和磷脂形成泡沫细胞是 As 发生的重要病理基础。在致病因素的作用下,来自血管壁的平滑肌细胞和来自血液的单核/巨噬细胞,由于细胞表面清道夫受体的表达增加,使细胞吞噬大量修饰的脂蛋白,尤其是 ox-LDL,细胞内胆固醇代谢失衡,胆固醇酯合成增加,分解减少,以脂滴的形式大量聚集在细胞内^[16]。泡沫细胞形成和泡沫细胞死亡所释放出的胆固醇,是动脉粥样斑块的主要成分。

HDL 通过胆固醇的逆向转运具有抗 As 作用,而 ABCA1 在 HDL 的形成和成熟以及胆固醇逆向转运的过程中起关键作用,因此被称为胆固醇逆向转运的“看门人”^[17]。ABCA1 是一种整合膜蛋白,能

结合 ATP 并利用它作为能源,跨膜转运许多分子,如离子、糖类、磷脂和药物等。ABCA1 将细胞内 FC 和磷脂转运出细胞,与结合到细胞表面的载脂蛋白 A I 形成 HDL^[18]。Tangier 患者和家族性 HDL 缺乏症存在各种 ABCA1 突变使胆固醇逆向转运受损而容易形成 As 的斑块^[19]。本研究发现槟榔碱可以显著地上调 ox-LDL 诱导的鼠源性巨噬细胞性泡沫细胞中 ABCA1 的表达,显著性增加泡沫细胞中胆固醇的流出。研究显示 ox-LDL 可以诱导 ABCA1 的表达,在 As 斑块中 ABCA1 的表达增加^[20]。本研究结果表明 ox-LDL 诱导的鼠源性巨噬细胞性泡沫细胞中 ABCA1 的表达较对照的巨噬细胞明显上调,细胞胆固醇的流出增加,这是一种代偿性上调。因此槟榔碱抑制了 ox-LDL 诱导的鼠源性巨噬细胞性泡沫细胞形成可能与槟榔碱能增加 ABCA1 的表达,促进胆固醇的逆向转运,抑制泡沫细胞的形成有关。ABCA1 基因表达受到很多因素的调节,如 cAM、PPPA 激动剂、肝 X 受体/视黄醇 X 受体等^[21,22]。槟榔碱上调 ABCA1 的表达具体通过哪条途径或者信号通路实现的还有待于进一步的研究。

总之,槟榔碱抑制 ox-LDL 诱导的鼠源性巨噬细胞性泡沫细胞形成,上调泡沫细胞中 ABCA1 的表达。

[参考文献]

[1] Jefferis BJ, Papacosta O, Owen CG, et al. Interleukin 18 and coronary heart disease: prospective study and systematic review[J]. Atherosclerosis, 2011, 217 (1): 227-233.

[2] Boyle JJ. Macrophage activation in atherosclerosis: pathogenesis and pharmacology of plaque rupture[J]. Curr Vasc Pharmacol, 2005, 3 (1): 63-68.

[3] Doran AC, Meller N, Mcnamara CA. Role of smooth muscle cells in the initiation and early progression of atherosclerosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008, 28 (5): 812-819.

[4] Schmitz G, Grandl M. Lipid homeostasis in macrophages - implications for atherosclerosis[J]. Rev Physiol Biochem Pharmacol, 2008, 160 (7): 93-125.

[5] Alexander ET, Weibel GL, Joshi MR, et al. Macrophage reverse cholesterol transport in mice expressing ApoA-I Milano[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009, 29 (10): 1496-501.

[6] Cutri B A, Hime NJ, Nicholls SJ. High-density lipoproteins: an emerging target in the prevention of cardiovascular disease[J]. Cell Res, 2006, 16 (10): 799-808.

[7] Aiello RJ, Brees D, Francone OL. ABCA1-deficient mice: insights into the role of monocyte lipid efflux in HDL formation and inflammation[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,

- 2003, 23 (6): 972-980.
- [8] 张春江, 吕飞杰, 陶海腾. 槟榔活性成分及其功能作用的研究进展[J]. 中国食物与营养, 2008, 6 (6): 50-52.
- [9] Lee LM, Chang CK, Cheng KC, et al. Increase of cardiac M2-muscarinic receptor gene expression in type-1 but not in type-2 diabetic rats [J]. Neurosci Lett, 2008, 441 (2): 201-204.
- [10] 王佑权, 周寿红. 槟榔碱对高糖诱导血管内皮依赖性舒张功能损伤的保护作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18 (6): 461-464.
- [11] 陈艳华, 蒋丽琴, 王柏琦. 槟榔碱对 2 型糖尿病大鼠凝血功能和血液流变学的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19 (4): 319-322.
- [12] 姚起鑫, 亓竹青, 王光, 等. 槟榔碱改善 2 型糖尿病大鼠糖、脂代谢紊乱[J]. 中国药理学通报, 2009, 25 (11): 1 477-478.
- [13] 山丽梅, 张锦超, 赵艳玲, 等. 槟榔碱抗动脉粥样硬化分子机制的研究[J]. 中国药理学通报, 2004, 20 (2): 146-151.
- [14] 张伟, 周寿红, 凌红艳, 等. 槟榔碱抑制氧化型低密度脂蛋白诱导的小鼠巨噬细胞炎症因子表达及其机制[J]. 中国动脉硬化杂志, 2009, 17 (4): 269-272.
- [15] Walter M. Interrelationships among HDL metabolism, aging, and atherosclerosis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009, 29 (9): 1 244-250.
- [16] Sekiya M, Osuga J, Igarashi M, et al. The role of neutral cholesterol ester hydrolysis in macrophage foam cells[J]. J Atheroscler Thromb, 2011, 18 (5): 359-364.
- [17] Tall AR, Costet P, Wang N. Regulation and mechanisms of macrophage cholesterol efflux[J]. J Clin Invest, 2002, 110 (7): 899-904.
- [18] Dean M, Hamon Y, Chimini G, et al. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily [J]. J Lipid Res, 2001, 42 (7): 1 007-017.
- [19] Michael Walter, Nicholas RF, Woodring E. The Establishment of telomerase-immortalized tangier disease cell lines indicates the existence of an apolipoprotein A-I-inducible but ABCA1-independent cholesterol efflux pathway [J]. J Biol Chem, 2004, 279 (20): 20 866-0873.
- [20] Albrecht C, Soumian S, Amey JS, et al. ABCA1 Expression in carotid atherosclerotic plaques[J]. Stroke, 2004, 35 (12): 2 801-806.
- [21] Santamarina-Fojo S, Remaley T, Neufeld B. et al. Regulation and intracellular trafficking of the ABCA 1 transporter[J]. J Lipid Res, 2001, 42 (9): 1 339-345.
- [22] Hao XR, Cao DL, Hu YW, et al. IFN-gamma down-regulates ABCA1 expression by inhibiting LXR-alpha in a JAK/STAT signaling pathway-dependent manner [J]. Atherosclerosis, 2009, 203(2): 417-428.

(此文编辑 李小玲)