

高糖依赖过氧化体增植物激活型受体 γ 介导 THP-1 巨噬细胞 CD36 表达及脂质蓄积

谭玉林^{1,2}, 曾颖¹, 莫中成¹, 易光辉¹

(1. 南华大学心血管疾病研究所 动脉硬化化学湖南省重点实验室 生命科学研究中心, 湖南省衡阳市 421001;

2. 湘南学院免疫学重点学科 病理研究所 病理生理学教研室, 湖南省郴州市 423000)

[关键词] 高糖; CD36; 过氧化体增植物激活型受体 γ ; 脂质蓄积; THP-1 巨噬细胞; 糖尿病; 动脉粥样硬化

[摘要] **目的** 观察高糖诱导 THP-1 巨噬细胞 CD36 表达及脂质蓄积是否由过氧化体增植物激活型受体 γ (PPAR γ) 所介导。**方法** 分别用 20 mmol/L D-葡萄糖(高糖)、高糖 + 10 mmol/L GW9662 (PPAR γ 拮抗剂)、50 mg/L 氧化型低密度脂蛋白 + 高糖、50 mg/L 氧化型低密度脂蛋白 + 高糖 + 10 mmol/L GW9662 共同孵育 THP-1 巨噬细胞 24 h; 采用逆转录聚合酶链反应检测 CD36、PPAR γ mRNA 的表达; 用 Western blot 分别检测 CD36、PPAR γ 蛋白质的表达; 用油红 O 染色观测细胞内脂质蓄积情况, 高效液相色谱分析法检测细胞内总胆固醇水平。**结果** GW9662 明显抑制高糖所诱导的 THP-1 巨噬细胞 CD36 的表达及脂质蓄积, CD36 mRNA 和蛋白质表达明显下降 ($P < 0.05$); 细胞内脂滴明显减少, 总胆固醇含量明显下降 ($P < 0.05$)。**结论** 高糖所诱导的 CD36 表达及脂质蓄积可能是由 PPAR γ 所介导的。本研究将为糖尿病性动脉粥样硬化病变的防治积累有价值的实验资料。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

High Glucose Induces CD36 Expression and Lipid Accumulation Through Peroxisome Proliferator Activated Receptor γ in THP-1 Macrophages

TAN Yu-Lin^{1,2}, ZENG Ying¹, MO Zhong-Cheng¹, and YI Guang-Hui¹

(1. Institute of Cardiovascular Research & Key Laboratory for Atherosclerosis of Hunan Province & Life Science Research Center, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Key Disciplines of Immunology & Institute of Pathology Research & Department of Pathophysiology, Xiangnan University, Chenzhou, Hunan 423000, China)

[KEY WORDS] High Glucose; CD36; Peroxisome Proliferator Activated Receptor γ ; Lipid Accumulation; THP-1 Macrophages; Diabetes Mellitus; Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR γ) on the expression of CD36 and the lipid accumulation induced by high glucose in THP-1 macrophages. **Methods** THP-1 macrophages were incubated with 20 mmol/L D-glucose, 10 mmol/L GW9662, and 50 mg/L oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) for 24 h, combined or respectively. The total cholesterol contents in THP-1 macrophages were determined by high performance liquid chromatography, and the lipid accumulation was detected by oil red O stain. CD36 and PPAR γ mRNA level were determined by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR), respectively. CD36 and PPAR γ protein level were determined by Western blot. **Results** GW9662 significantly inhibited the expression of CD36 and lipid accumulation induced by high glucose in THP-1 macrophages. The expression of CD36 mRNA and protein was significantly suppressed by GW9662 ($P < 0.05$), intracellular lipid decreased obviously and the total cholesterol in THP-1 macrophages was markedly reduced subsequently ($P < 0.05$). **Conclusion** High glucose induces CD36 ex-

[收稿日期] 2014-04-14

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81270360); 湖南省科技厅科技计划重点项目(2014FJ2012); 湖南省卫生厅医药卫生科研计划课题项目(B2014-070)

[作者简介] 谭玉林, 博士研究生, 讲师, 研究方向为动脉粥样硬化发病的分子机制, E-mail 为 yltan1510@126.com。莫中成, 博士, 副教授, 研究方向为动脉粥样硬化发病的分子机制, E-mail 为 zhchmo@hotmail.com。通讯作者易光辉, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化发病的分子机制, E-mail 为 ghyi6108@163.com。

pression and lipid accumulation through the modulation of PPAR γ in THP-1 macrophages.

糖尿病患者的动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 疾病发生率比非糖尿病患者高 2 ~ 3 倍, As 疾病成为糖尿病患者的主要死亡原因, 而高血糖是 As 的一个危险因素^[1,2]。清道夫受体 (scavenger receptor) CD36 属于 B 族清道夫受体^[3], 在单核/巨噬细胞上有丰富表达^[4], 它作为氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 的主要受体而参与脂质代谢, 在脂质代谢中起着重要的作用^[5]; 在 ox-LDL 诱导的 As 形成过程中, CD36 起主要的调节作用^[6]。过氧化体增殖物激活型受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor γ , PPAR γ) 是由配体激活的一类核转录因子。研究证实, PPAR γ 可靶向调控 CD36 基因^[7]。然而, 高糖诱导 THP-1 巨噬细胞 CD36 表达及脂质蓄积的作用机制不明, 本项研究旨在阐明 PPAR γ 在其中的调节作用。

1 材料与方法

1.1 药品和试剂

Trizol 试剂购自美国 Gibco 公司; AMV 第一链 cDNA 合成试剂盒购自 Promega 公司; Taq 酶购自北京天为时代公司; 所有引物由上海生工公司合成; 羊抗人 CD36 和辣根过氧化物酶标记兔抗羊二抗购自美国 Santa Cruz 公司; Blue Ranger 预染蛋白分子量标准、二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 蛋白含量测定试剂和 Western blot 荧光检测试剂盒购自 Hyclone-Pierce 公司; 佛波酯、油红 O 和丽春红染色试剂购自 Sigma 公司; PPAR γ 拮抗剂 GW9662 购自 Cayman 公司; 其他试剂均为进口或国产分析纯。

1.2 低密度脂蛋白的分离、氧化修饰及鉴定

采用超速离心法分离人血浆 LDL (1. 019 ~ 1. 063 kg/L) , 经琼脂糖电泳显示为单一蛋白带。将 LDL 置于含 10 μ mol/L CuSO₄ 的磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered solution, PBS) 溶液 (pH 7. 2) 中, 37 $^{\circ}$ C 温育 24 h。氧化后的 LDL 置于含 200 μ mol 乙二胺四乙酸 (ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA) 的 PBS 中透析 24 h, 再用 PBS 透析 24 h, 过滤除菌后 4 $^{\circ}$ C 保存。在氧化过程中, LDL 中的脂过氧化物增加, 颜色也由淡黄色变为乳白色。琼脂糖电泳显示 ox-LDL 的电泳迁移速率快于未氧化的 LDL。

1.3 细胞株的培养及实验分组

THP-1 细胞株购于中国科学院上海细胞生物学

研究所细胞中心。细胞生长于含 10% 灭活新生小牛血清、 1×10^8 U/L 青霉素的 RPMI 1640 完全培养基中, 置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂、饱和湿度培养箱内培养。每次实验前用 160 nmol/L 佛波酯孵育 THP-1 细胞 24 h, 使其诱导分化为巨噬细胞, 换无血清培养基培养后分组; 实验组分别用 20 mmol/L D-葡萄糖 (高糖)、高糖 + 10 mmol/L GW9662、50 mg/L ox-LDL + 高糖、50 mg/L ox-LDL + 高糖 + 10 mmol/L GW9662 共同孵育 24 h; 对照组为 RPMI 1640 培养基 + 5 μ L 二甲亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 孵育 24 h (n = 3) 。

1.4 逆转录聚合酶链反应检测 CD36、PPAR γ mRNA 的表达

收集对照组和实验组细胞, 用 TRIzol 试剂提取组织总 RNA, 溶于无核糖核酸酶水中, 紫外分光光度计测定 A_{260 nm}/A_{280 nm} 比值在 1. 8 ~ 2. 0 之间。取总 RNA 2 μ g, 用 Promega 公司逆转录试剂盒合成 cDNA, 再取逆转录产物 10 μ L 进行聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 循环。CD36 [基因库 (GenBank) 序列号: NM005506] 的引物序列为: 上游 5'-CTCCCAAAGTGCTGGGATTA-3', 下游 5'-AGC-CTTTGGGGTCTTTCTA-3', 扩增片段长度为 246 bp; PCR 反应条件为: 94 $^{\circ}$ C 4 min 预变性, 94 $^{\circ}$ C 45 s 变性, 53 $^{\circ}$ C 45 s 退火, 72 $^{\circ}$ C 45 s 延伸, 30 个循环, 72 $^{\circ}$ C 10 min 继续延伸。内参照采用磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH), 引物序列为: 上游 5'-TCACCATCTTCCAG-GAGCGAG-3', 下游 5'-TGTGCTGTTGAAGT-CAGAG-3', 扩增片段长度为 697 bp; PCR 反应条件为: 94 $^{\circ}$ C 4 min 预变性, 94 $^{\circ}$ C 30 s 变性, 60 $^{\circ}$ C 30 s 退火, 72 $^{\circ}$ C 30 s 延伸, 30 个循环, 72 $^{\circ}$ C 10 min 继续延伸。PPAR γ (GenBank 序列号: NM138712) 的引物序列: 上游 5'-TTCAGAAATGCCTTGCAGTG-3', 下游 5'-GGGGGTGATGTGTTTGAAGT-3', PCR 扩增产物长度为 308 bp; PCR 反应条件为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 45 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s, 30 个循环, 72 $^{\circ}$ C 继续延伸 10 min。逆转录聚合酶链反应 (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) 结束后, 取产物在 1. 2% 的琼脂糖凝胶中电泳, 加样量均为 10 μ L, 溴化乙锭染色。电泳条带采用 UVP 型凝胶图像分析系统测定和分析待测基因 mRNA 表达的差异。

1.5 免疫印迹法检测 CD36、PPAR γ 蛋白的表达

收集细胞, 经 PBS 洗涤 3 次, 加入裂解液裂解

细胞后,于4℃、12000 g 离心力离心 7 min,小心吸出上清液,用 BCA 法进行蛋白质定量。取 50 μg 蛋白质/泳道加入 1/4 体积 5 × SDS 凝胶加样缓冲液,100℃水浴 10 min 使蛋白变性。60 V 积层胶,120 V 分离胶,电泳分离细胞蛋白质,再用半干转膜仪以 60 ~ 100 mA 转膜 1 h,将蛋白质转移至二氟化树脂 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜上,丽春红染色观察转移效果。5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h 后,加入一抗,4℃孵育 6 ~ 12 h; TBST (tris-buffered saline and tween 20) 洗膜 3 次,每次 5 ~ 10 min; 加入辣根过氧化物酶标记的二抗,4℃孵育 4 ~ 8 h; TBST 洗膜 3 次,每次 5 ~ 10 min。然后用 Western blot 荧光检测试剂激发荧光,显示于 X 光片,显影,定影后用凝胶成像系统进行图像分析。

1.6 油红 O 染色观察 THP-1 细胞内脂质

将 THP-1 细胞培养于放有盖玻片的 6 孔培养板内,待细胞被诱导分化为巨噬细胞后,换无血清培养基,加入 ox-LDL 及 ox-LDL + D-葡萄糖处理 24 h。细胞贴壁生长于培养板,用 PBS 液冲洗 3 次,每次 5 min; 50% 异丙醇固定 1 min,油红 O 染色液染色 10 min,苏木素染色 5 min,再用盐酸酒精分色;水性封片剂封片,显微镜观察;细胞内脂质呈红色,细胞核呈蓝色。图像分析系统收集图像并于显微镜下摄像保存。

1.7 高效液相色谱分析细胞内总胆固醇含量

按齐永秀等^[8]的方法操作,待细胞处理结束后,弃培养基, PBS 洗 3 遍,加入细胞裂解液 200 mL,反复冻融 3 次裂解细胞, BCA 法定量蛋白后, 7.2% 三氯乙酸沉淀蛋白, 800 g 离心力离心 10 min,取上清进行胆固醇检测,以豆甾醇为内标。取 100 mL 上清液,加入 8.9 mol/L 氢氧化钾溶液 200 mL,水解胆固醇酯后为细胞内总胆固醇检测样品。各

样品分别与内标液混匀,用正己烷和无水乙醇抽提后, 1.5 mol/L 三氧化铬进行氧化衍生并真空干燥, 100 μL 乙晴-异丙醇 (80:20) 溶解样品,上样于高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 仪。采用 C-18 柱,柱温 4℃,流速 1 mL/min, 250 nm 紫外光检测,胆固醇以峰面积定量,内标校准,计算值以细胞蛋白含量校正。

1.8 统计学处理

数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析及 *t* 检验,由 SPSS 19.0 统计软件完成, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 PPAR γ 拮抗剂对高糖调节 THP-1 巨噬细胞脂质蓄积的影响

分别用 50 mg/L ox-LDL、50 mg/L ox-LDL + 高糖、50 mg/L ox-LDL + 高糖 + 10 mmol/L GW9662 (PPAR γ 拮抗剂) 孵育 THP-1 巨噬细胞 24 h。采用油红 O 染色观测细胞内脂质蓄积情况。结果发现,加高糖的实验组细胞内脂质明显增多 (图 1; c 与 b 比较),而再加用 PPAR γ 拮抗剂 GW9662 后细胞内脂质明显减少 (图 1; d 与 c 比较)。

2.2 细胞内总胆固醇含量

与对照组 (64.97 ± 11.26 mg/g) 相比, ox-LDL 能使细胞胆固醇酯蓄积增多 (106.54 ± 12.41 mg/g), 而高糖能使 ox-LDL 处理的细胞胆固醇酯蓄积进一步增多 (148.52 ± 11.35 mg/g), GW9662 能使高糖和 ox-LDL 处理的细胞胆固醇酯蓄积减少 (96.31 ± 9.26 mg/g), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$; 图 2)。

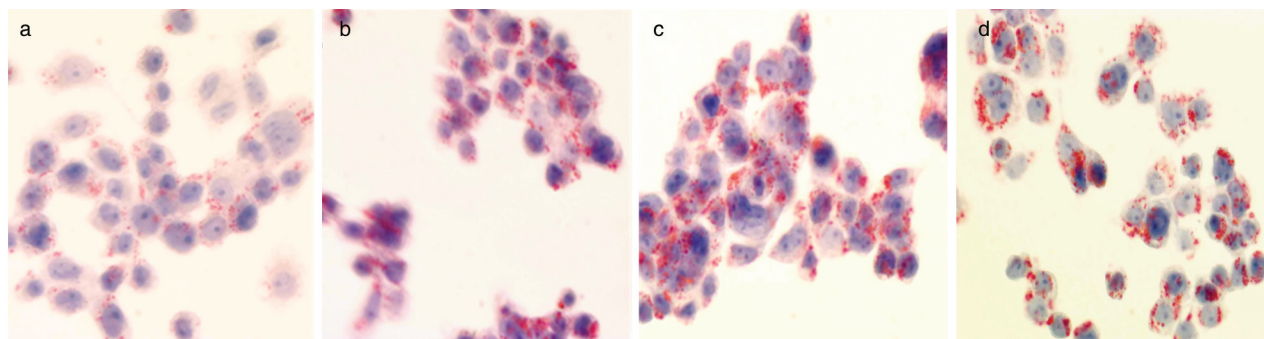


图 1. GW9662 对高糖、ox-LDL 处理 THP-1 巨噬细胞后脂质蓄积的影响 (×40; $n = 3$) 油红 O 染色。a 为对照组, b 为 ox-LDL 组, c 为 ox-LDL + 高糖组, d 为 ox-LDL + 高糖 + GW9662 组。

Figure 1. Effect of GW9662 on the lipid accumulation induced by high glucose in THP-1 macrophages (×40; $n = 3$)

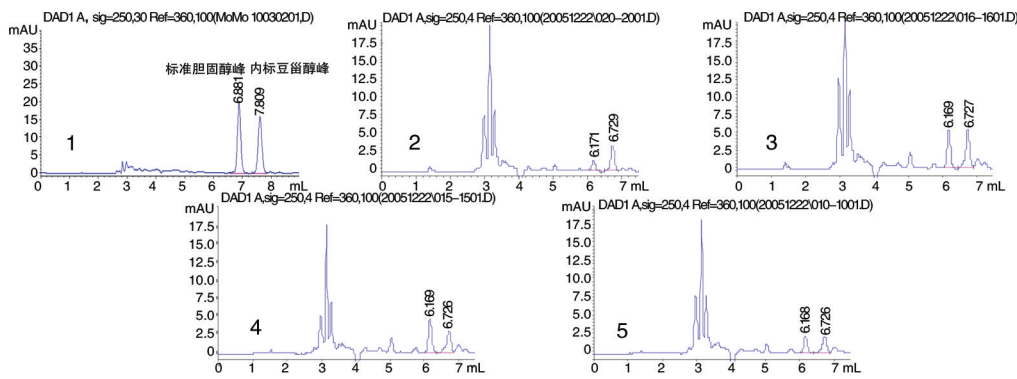


图 2. HPLC 检测 THP-1 巨噬细胞内总胆固醇含量 1 为胆固醇标准品,2 为对照组,3 为 ox-LDL 组,4 为 ox-LDL + 高糖组,5 为 ox-LDL + 高糖 + GW9662 组。

Figure 2. Total cholesterol content in THP-1 macrophages determined by HPLC

2.3 PPAR γ 拮抗剂对高糖调节 THP-1 巨噬细胞 CD36 mRNA 表达的影响

分别用高糖、高糖 + 10 mmol/L GW9662、ox-LDL + 高糖、ox-LDL + 高糖 + 10 mmol/L GW9662 孵育 THP-1 巨噬细胞 24 h。采用逆转录聚合酶链反应检测 CD36 mRNA。结果发现,GW9662 明显抑制高糖以及 ox-LDL 加高糖诱导的 CD36 mRNA 表达 (面积灰度比值分别为 0.43 和 0.55) ($P < 0.05$;图 3)。

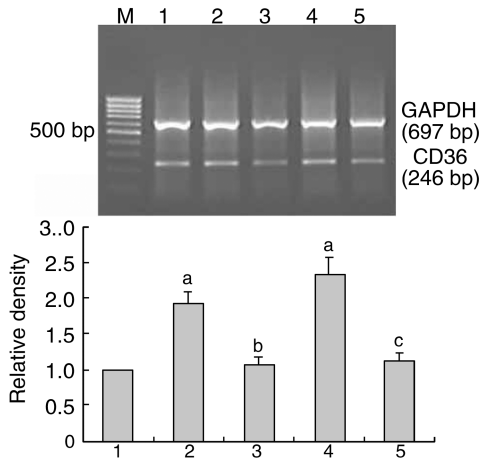


图 3. GW9662 对高糖、ox-LDL 处理 THP-1 巨噬细胞 CD36 mRNA 表达的影响 M 为 DNA 标准品,1 为对照组,2 为高糖组,3 为高糖 + GW9662 组,4 为 ox-LDL + 高糖组,5 为 ox-LDL + 高糖 + GW9662 组。a 为 $P < 0.05$,与对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与高糖组比较;c 为 $P < 0.05$,与 ox-LDL + 高糖组比较。

Figure 3. Effect of GW9662 on the CD36 mRNA expression induced by high glucose in THP-1 macrophages

2.4 THP-1 巨噬细胞 CD36 蛋白的表达

分别用高糖、高糖 + 10 mmol/L GW9662、ox-LDL + 高糖、ox-LDL + 高糖 + 10 mmol/L GW9662 孵育 THP-1 巨噬细胞 24 h。用 Western blot 分别检测 CD36 蛋白质的表达。结果发现,GW9662 明显抑制高糖以及 ox-

LDL 加高糖诱导的 CD36 蛋白质的表达 (面积灰度比值分别为 0.635 和 0.593) ($P < 0.05$;图 4)。

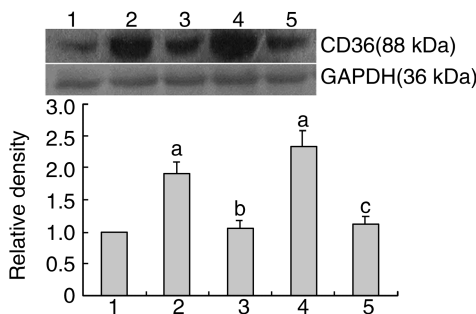


图 4. GW9662 对高糖、ox-LDL 处理 THP-1 巨噬细胞 CD36 蛋白质表达的影响 1 为对照组,2 为高糖组,3 为高糖 + GW9662 组,4 为 ox-LDL + 高糖组,5 为 ox-LDL + 高糖 + GW9662 组。a 为 $P < 0.05$,与对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与高糖组比较;c 为 $P < 0.05$,与 ox-LDL + 高糖组比较。

Figure 4. Effect of GW9662 on the CD36 protein expression induced by high glucose in THP-1 macrophages

2.5 PPAR γ 拮抗剂对高糖调节 THP-1 巨噬细胞 PPAR γ mRNA 表达的影响

分别用高糖、高糖 + 10 mmol/L GW9662、ox-LDL + 高糖、ox-LDL + 高糖 + 10 mmol/L GW9662 孵育 THP-1 巨噬细胞 24 h。采用逆转录聚合酶链反应检测 PPAR γ mRNA。结果发现,GW9662 明显抑制高糖以及 ox-LDL 加高糖诱导的 PPAR γ mRNA 表达 (面积灰度比值分别为 0.41 和 0.63) ($P < 0.05$;图 5)。

2.6 THP-1 巨噬细胞 PPAR γ 蛋白的表达

分别用高糖、高糖 + 10 mmol/L GW9662、ox-LDL + 高糖、ox-LDL + 高糖 + 10 mmol/L GW9662 孵育 THP-1 巨噬细胞 24 h。用 Western blot 分别检测 PPAR γ 蛋白质的表达。结果发现,GW9662 明显抑制高糖以及 ox-

LDL 加高糖诱导的 PPAR γ 蛋白质表达(面积灰度比值

分别为 0.576 和 0.679) ($P < 0.05$; 图 6)。

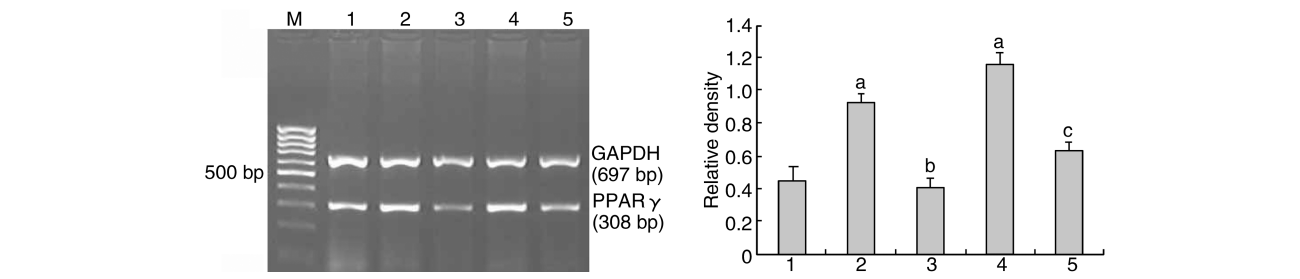


图 5. GW9662 对高糖、ox-LDL 处理 THP-1 巨噬细胞 PPAR γ mRNA 表达的影响 M 为 DNA 标准品,1 为对照组,2 为高糖组,3 为高糖 + GW9662 组,4 为 ox-LDL + 高糖组,5 为 ox-LDL + 高糖 + GW9662 组。a 为 $P < 0.05$,与对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与高糖组比较;c 为 $P < 0.05$,与 ox-LDL + 高糖组比较。

Figure 5. Effect of GW9662 on the PPAR γ mRNA expression induced by high glucose in THP-1 macrophages

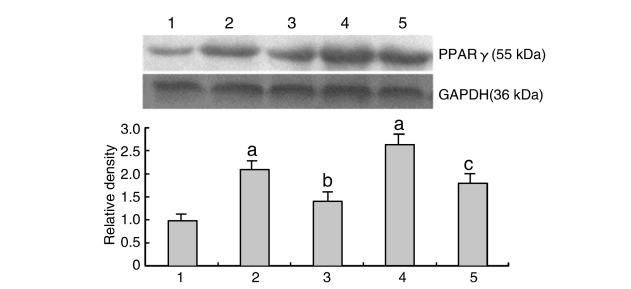


图 6. GW9662 对高糖、ox-LDL 处理 THP-1 巨噬细胞 PPAR γ 蛋白质表达的影响 1 为对照组,2 为高糖组,3 为高糖 + GW9662 组,4 为 ox-LDL + 高糖组,5 为 ox-LDL + 高糖 + GW9662 组。a 为 $P < 0.05$,与对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与高糖组比较;c 为 $P < 0.05$,与 ox-LDL + 高糖组比较。

Figure 6. Effect of GW9662 on the PPAR γ protein expression induced by high glucose in THP-1 macrophages

3 讨论

根据国际糖尿病联合会估计,2013 年全球患有糖尿病的人数有 3.82 亿左右,导致了约 510 万人死亡。现在全球的成年人约 8.3% 患有糖尿病,至 2035 年左右,该病患人数可能会增加至 5.92 亿^[9]。糖尿病是各种严重并发症的发生发展甚至引起死亡的独立危险因素,包括冠状动脉疾病(coronary artery disease, CAD)^[10-12],与 As 关联的代谢紊乱是糖尿病病人严重的血管病变和致死的主要原因^[13]。研究表明,CD36 具有结合和修饰动脉壁内 LDL 的能力,促进荷脂的巨噬细胞形成泡沫细胞并导致 As 病变^[14-16],CD36 在循环的巨噬细胞的激活被认为是 As 病变的一个早期临床标志。巨噬细胞形成泡沫细胞在糖尿病引发 As 形成中起至关重要的作用^[17]。CD36 与 2 型糖尿病患者导致 As 的危险因素密切相关,提示 CD36 可能是代谢综合征、As

的一个潜在标记物^[15]。

过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 是由配体激活的一类核转录因子,属于核受体超家族成员。在细胞内,PPAR γ 与 9-顺式维甲酸受体形成异二聚体,然后被配体激活,通过与目的基因调控区中的 PPAR 应答元件相互作用,激活或抑制目的基因转录。治疗糖尿病的噻唑烷酮类化合物和 15-脱氧前列腺素 J2 均可作为 PPAR γ 的配体。PPAR γ 主要在脂肪组织中表达,介导脂肪细胞的分化过程^[18]。PPAR γ 在血管内皮细胞、血管平滑肌细胞和巨噬细胞等也有丰富的表达,在糖和脂代谢、泡沫细胞形成及炎症反应中发挥重要作用。

PPAR γ 对 CD36 的表达起基础性调节作用,表明 PPAR γ 有调节细胞内脂质平衡的作用^[19]。ox-LDL 的脂质成分可激活 PPAR γ 并增强 CD36 表达,证实 CD36 是 PPAR γ 的靶基因^[7]。

本实验发现,高糖可上调 THP-1 巨噬细胞 CD36 的表达,促进 ox-LDL 诱导的 THP-1 巨噬细胞 CD36 表达上调,并增加细胞内总胆固醇的蓄积,提示高糖作为促进糖尿病性 As 病变的危险因素,CD36 也许在其中起重要作用。本实验观察到,PPAR γ 拮抗剂(GW9662)明显抑制高糖所诱导的 THP-1 巨噬细胞 CD36 表达及脂质蓄积,提示高糖诱导的 CD36 表达上调可能是由 PPAR γ 所介导的。其机制可能是:高糖通过诱导 PPAR γ 表达增加,激活 PPAR γ 信号通路,促使 CD36 表达上调,导致脂质的内流加速,脂质蓄积增加。

尽管在 As 小鼠模型中,抑制 CD36 表达能延缓 As 发展进程,然而在人体内,PPAR γ 信号通路对 CD36 的调节及其对脂质代谢的影响极其复杂。例如,用 PPAR γ 的激动剂(如噻唑二酮)治疗并不促进脂质蓄积^[20],相反,PPAR γ 激活显示能发挥抗 As

的作用。产生这种明显矛盾的原因是 PPAR γ 激活存在第 2 个靶点——肝 X 样受体(liver X receptor, LXR)。PPAR γ 激动剂可通过上调 LXR 诱导 ATP 结合盒转运体 A1(ATP-binding cassette A1, ABCA1) 的转录, ABCA1 是加速胆固醇逆向转运的关键转运体, 可促进胆固醇外流而发挥抗 As 作用^[21,22]。不同配体激活的 PPAR γ 对巨噬细胞有不同的影响, 在激活 PPAR γ 表达的信号通路中可能有不同的辅助转录激活因子或抑制因子参与^[23,24]。

综上所述, 糖尿病高血糖是心血管病的危险因素, 高糖的危害性可能主要是促进 ox-LDL 诱导巨噬细胞 CD36 表达上调, 并增加细胞内胆固醇及胆固醇酯的蓄积, 从而促进 As 的发生发展。CD36 表达增强可能是糖尿病人 As 发生率增高的机制之一, CD36 也许可作为 2 型糖尿病患者 As 发病机制的一个生物标志物, 可作为糖尿病患者心血管事件的预测指标, 继而可能成为糖尿病性 As 病变的防治靶点。PPAR γ 拮抗剂能显著抑制高糖所诱导的 CD36 的表达及脂质蓄积, 提示高糖所诱导的 CD36 表达上调可能是由 PPAR γ 所介导的, 然而在体内, PPAR γ 信号通路的调节作用极其复杂, 有待进一步阐明。

[参考文献]

[1] Roglic G, Unwin N. Mortality attributable to diabetes; estimates for the year 2010[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2010, 87(1): 15-19.

[2] Cioffi G, Rossi A, Targher G, et al. Usefulness of subclinical left ventricular midwall dysfunction to predict cardiovascular mortality in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Am J Cardiol*, 2014, 113(8): 1 409-414.

[3] Neculai D, Schwake M, Ravichandran M, et al. Structure of LIMP-2 provides functional insights with implications for SR-BI and CD36[J]. *Nature*, 2013, 504(7478): 172-176.

[4] Afonso Mda S, Castilho G, Lavrador MS, et al. The impact of dietary fatty acids on macrophage cholesterol homeostasis[J]. *J Nutr Biochem*, 2014, 25(2): 95-103.

[5] Bao Y, Wang L, Xu Y, et al. Salvianolic acid B inhibits macrophage uptake of modified low density lipoprotein (mLDL) in a scavenger receptor CD36-dependent manner[J]. *Atherosclerosis*, 2012, 223(1): 152-159.

[6] Chavez-Sanchez L, Garza-Reyes MG, Espinosa-Luna JE, et al. The role of TLR2, TLR4 and CD36 in macrophage activation and foam cell formation in response to ox-LDL in humans[J]. *Hum Immunol*, 2014, 75(4): 322-329.

[7] Kriska T, Cepura C, Gauthier KM, et al. Role of macrophage PPAR gamma in experimental hypertension[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2014, 306(1): H26-H32.

[8] 齐永秀, 高允生, 费洪荣, 等. 高效液相色谱法测定鸡蛋蛋黄中胆固醇含量[J]. *药物生物技术*, 2005, 12(4): 258-260.

[9] Lamri L, Gripiotis E, Ferrario A. Diabetes in Algeria and challenges for health policy: a literature review of prevalence, cost, management and outcomes of diabetes and its complications[J]. *Global Health*, 2014, 10(1): 11.

[10] Isla Pera P. Chronic complications of diabetes mellitus: Recommendations from the American Diabetes Association 2011--Prevention and management[J]. *Rev Enferm*, 2012, 35(9): 46-52.

[11] Ezenwaka C, Eckel J. Prevention of diabetes complications in developing countries: time to intensify self-management education [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2011, 117(5): 251-253.

[12] Sone H. Prevention and management of atherosclerotic complications of diabetes[J]. *Nihon Ronen Igakkai Zasshi*, 2011, 48(3): 253-256.

[13] Kovacic JC, Castellano JM, Farkouh ME, et al. The relationships between cardiovascular disease and diabetes: Focus on pathogenesis[J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2014, 43(1): 41-57.

[14] Collot-Teixeira S, Martin J, McDermott-Roe C, et al. CD36 and macrophages in atherosclerosis [J]. *Cardiovasc Res*, 2007, 75(3): 468-477.

[15] Handberg A, Levin K, Hojlund K, et al. Identification of the oxidized low-density lipoprotein scavenger receptor CD36 in plasma: a novel marker of insulin resistance [J]. *Circulation*, 2006, 114(11): 1 169-176.

[16] Silverstein RL, Li W, Park YM, et al. Mechanisms of cell signaling by the scavenger receptor CD36: implications in atherosclerosis and thrombosis [J]. *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 2010, 121: 206-220.

[17] Kaplan M, Aviram M, Hayek T. Oxidative stress and macrophage foam cell formation during diabetes mellitus-induced atherogenesis: role of insulin therapy[J]. *Pharmacol Ther*, 2012, 136(2): 175-185.

[18] Cipolletta D, Feuerer M, Li A, et al. PPAR-gamma is a major driver of the accumulation and phenotype of adipose tissue Treg cells[J]. *Nature*, 2012, 486(7404): 549-553.

[19] 曾颖, 孙玉慧, 黄延锦, 等. 过氧化体增殖物激活型受体对巨噬细胞脂质蓄积及 CD36 表达的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(2): 121-124.

[20] Ballesteros I, Cuartero MI, Pradillo JM, et al. Rosiglitazone-induced CD36 up-regulation resolves inflammation by PPAR gamma and 5-LO-dependent pathways[J]. *J Leukoc Biol*, 2014, 95(4): 587-598.

[21] Yu XH, Fu YC, Zhang DW, et al. Foam cells in atherosclerosis [J]. *Clin Chim Acta*, 2013, 424: 245-252.

[22] 卢德赵, 林韬琦, 王萍儿, 等. 丹参酮 A 对泡沫细胞胆固醇平衡的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(5): 402-406.

[23] Majdalawieh A, Ro HS. PPAR gamma 1 and LXR alpha face a new regulator of macrophage cholesterol homeostasis and inflammatory responsiveness, AEBP1[J]. *Nucl Recept Signal*, 2010, 8: e4.

[24] Bogachev O, Majdalawieh A, Pan X, et al. Adipocyte enhancer-binding protein 1 (AEBP1) (a novel macrophage proinflammatory mediator) overexpression promotes and ablation attenuates atherosclerosis in ApoE^{-/-} and LDLR^{-/-} mice[J]. *Mol Med*, 2011, 17(9-10): 1 056-064.

(此文编辑 曾学清)