

血管紧张素(1-7)和血管紧张素Ⅱ对 THP-1 源性泡沫细胞胆固醇外流的影响

柴婵娟, 杨慧宇, 杨志明, 梁 斌, 阎 丰, 武 瑞, 边云飞

(山西医科大学第二医院心内科, 山西省太原市 030001)

[关键词] 血管紧张素(1-7); 血管紧张素Ⅱ; B 族 I 型清道夫受体; ATP 结合盒转运体 A1; 胆固醇逆转运

[摘要] **目的** 观察血管紧张素(1-7)[Ang(1-7)]及血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)对 THP-1 源性泡沫细胞 B 族 I 型清道夫受体(SR-B I)、ATP 结合盒转运体 A1(ABCA1)表达及胆固醇外流的影响。**方法** 将 THP-1 单核细胞加入 100 nmol/L 佛波酯(PMA) 48 h 诱导分化为 THP-1 源性巨噬细胞,加入氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)建立泡沫细胞模型。随机分为五组:空白对照组、AngⅡ组、Ang(1-7)组、Ang(1-7) + AngⅡ组及 AngⅡ + Ang(1-7) + A-779 组[A-779 为 Ang(1-7)受体特异性阻滞剂]。分别运用 RT-PCR 及 Western blot 方法检测 SR-B I mRNA、ABCA1 mRNA 及其蛋白的表达,用液体闪烁计数仪检测胆固醇流出率的变化。**结果** 与空白对照组相比,加用 AngⅡ组 SR-B I mRNA、ABCA1 mRNA 及其蛋白的表达均明显减弱且胆固醇外流减少($P < 0.05$);与 AngⅡ组比较,加用 Ang(1-7)促进 SR-B I mRNA、ABCA1 mRNA 及其蛋白的表达,胆固醇外流增加($P < 0.05$);与 AngⅡ + Ang(1-7)组比较,AngⅡ + Ang(1-7) + A-779 组 SR-B I mRNA、ABCA1 mRNA 及其蛋白的表达减弱、胆固醇外流减少($P < 0.05$),但与 AngⅡ组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** AngⅡ抑制 THP-1 源性泡沫细胞 SR-B I、ABCA1 的表达并减少胆固醇外流,而 Ang(1-7)通过其特异性受体 MAS 受体可减弱 AngⅡ的作用,促进胆固醇外流,从而对动脉粥样硬化的进展起到抑制作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effects of Ang (1-7) and Ang II on the Cholesterol Efflux in THP-1 Derived Foam Cells

CHAI Chan-Juan, YANG Hui-Yu, YANG Zhi-Ming, LIANG Bin, YAN Feng, WU Rui, and BIAN Yun-Fei

(Department of Cardiology, the Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China)

[KEY WORDS] Angiotensin-(1-7); Angiotensin II; Scavenger Receptor Class B Type I; ATP-Binding Cassette Transporter A1; Reverse Cholesterol Transport

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of angiotensin(1-7)[Ang(1-7)] and angiotensin II (Ang II) on scavenger receptor class B type I (SR-B I), ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) and cholesterol efflux in THP-1 derived foam cells. **Methods** Human monocytic cell line (THP-1) were induced into macrophages by 100 nmol/L phorbol myristate acetate(PMA) for 48 h, and treated with oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) to construct the foam cells, then were randomly allocated into five groups: control group, Ang II group, Ang(1-7) group, Ang(1-7) + Ang II group and Ang II + Ang(1-7) + A-779 group. The mRNA and protein expression of SR-B I, ABCA1 were determined by RT-PCR and Western blot, the intracellular cholesterol efflux rate was detected by liquid scintillator. **Results** Compared with the control group, Ang II decreased SR-B I and ABCA1 in both protein and mRNA, and inhibited the cholesterol efflux($P < 0.05$). Those effects could be attenuated by cotreatment with Ang(1-7) ($P < 0.05$). However when incubated with A-779, an inhibitor of Ang(1-7), the effects of Ang(1-7) on promoting the expression of SR-B I, ABCA1

[收稿日期] 2014-02-21

[基金项目] 山西省科技攻关资助项目(20100311098-4)

[作者简介] 柴婵娟, 硕士, 主治医师, 研究方向为冠心病基础与临床, E-mail 为 chai0917@163.com。杨慧宇, 博士, 副主任医师, 研究方向为冠心病基础与临床。通讯作者杨志明, 硕士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为冠心病基础与临床, E-mail 为 zhimingyang800@sina.com。

and the cholesterol efflux were significantly abolished($P < 0.05$). **Conclusion** In THP-1 derived foam cells, Ang(1-7) via its specific receptor MAS attenuates the reduction of the expression of SR-B I and ABCA1 induced by Ang II, and increases the cholesterol efflux.

高密度脂蛋白(highdensitylipoprotein, HDL)主要通过促进胆固醇逆转运(reversecholesteroltransport, RCT)发挥抗动脉粥样硬化的作用。清道夫受体 SR-BI 是 高 密 度 脂 蛋 白 的 高 亲 和 力 受 体, 具 有 特 异的 脂 质 转 运 功 能, 可 介 导 高 密 度 脂 蛋 白 从 外 周 组 织 接 受 过 量 的 胆 固 醇, 并 在 高 密 度 脂 蛋 白 内 部 把 胆 固 醇 转 变 为 胆 固 醇 酯, 经 代 谢 排 出 体 外 或 生 成 激 素, 故 SR-BI 在 清 除 体 内 多 余 胆 固 醇 的 过 程 中 起 到 重 要 作 用^[1]。胆 固 醇 逆 转 运 过 程 复 杂, 涉 及 的 蛋 白、受 体 及 分 子 较 多, 其 中 ATP 结 合 盒 转 运 体 A1(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)被 认 为 是 极 其 重 要 的 膜 受 体 之 一, 它 主 要 分 布 在 单 核 巨 噬 细 胞 膜 表 面, 是 胆 固 醇 从 外 周 组 织 移 向 肝 脏 整 个 过 程 的 起 始 步 骤, 它 在 清 除 过 多 游 离 胆 固 醇, 防 止 泡 沫 细 胞 的 形 成 具 有 重 要 作 用^[2,3]。血 管 紧 张 素 II(angiotensin II, Ang II)是 肾 素-血 管 紧 张 素 系 统(renin-angiotensin system, RAS)的 主 要 活 性 成 分 之 一, 可 逆 转 巨 噬 细 胞 内 胆 固 醇 外 流, 促 进 巨 噬 细 胞 的 浸 润 和 泡 沫 细 胞 的 形 成。而 Ang(1-7)是 RAS 中 的 新 成 员, 通 过 MAS 受 体 介 导 产 生 抗 血 管 内 皮 细 胞 增 殖、抑 制 炎 症 因 子 等 拮 抗 Ang II 的 作 用。目 前 有 关 Ang II 及 Ang(1-7)对 泡 沫 细 胞 SR-BI、ABCA1 表 达 及 胆 固 醇 外 流 的 影 响 鲜 有 报 道。本 实 验 以 THP-1 源 性 泡 沫 细 胞 为 研 究 对 象, 通 过 观 察 Ang(1-7)和 Ang II 对 细 胞 SR-BI、ABCA1 表 达 及 胆 固 醇 外 流 的 影 响, 初 步 探 讨 RAS 对 泡 沫 细 胞 胆 固 醇 逆 转 运 的 影 响 及 其 在 动 脉 粥 样 硬 化 中 的 作 用 机 制。

1 材料与方法

1.1 主要材料

佛波酯(PMA)、Ang II、Ang(1-7)、A-779[Ang(1-7)受体特异性阻滞剂]、ApoA I 等试剂购于美国 Sigma 公司,人 THP-1 单核细胞购于中科院上海细胞库,引物购于大连宝生物有限公司,油红 O 试剂购于北京索莱宝公司,RPMI1640 培养基、胰蛋白酶购于美国 GIBCO 公司,甲醇、异丙醇、乙腈购自天津市河东区红岩试剂厂,总 RNA 提取试剂盒(Trizol)购自美国 Promega 公司,PCR Mark 购自上海生物工程有限公司,胎牛血清购自杭州四季青公司,兔抗鼠抗人 ABCA1、人 SR-B I 多克隆抗体一抗购自美国 Santa Cruz 公司,羊抗兔、羊抗鼠二抗购自武

汉博士德公司,硝酸纤维素膜购自 S & S 公司,[³H]标记胆固醇购自 Perkin-Emer 公司。

1.2 细胞培养与诱导

THP-1 单核细胞用含有 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基,37℃、5% CO₂ 培养箱中静置培养,用 100 nmol/L PMA 孵育单核细胞 48 h,使其诱导分化成巨噬细胞,光镜观察细胞停止增殖,由悬浮生长变为贴壁生长,且伸出伪足,呈巨噬细胞外形,换液后加入终浓度为 50 mg/L 的氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL),培养 48 h 诱导成泡沫细胞。

1.3 泡沫细胞模型的鉴定

采用 Lillie 氏油红 O 染色法。将 THP-1 源性泡沫细胞接种于六孔板中,PBS 洗三次,加 10% 甲醛固定 15 min,PBS 洗三次,60% 异丙醇漂洗 30 s,滤纸过滤 5 次,室温放置 10 min,稀释油红 O 储存液,油红:去离子水为 3:2,染色 15 min,经 60% 异丙醇分化 30 s,水洗 2 min,用稀释 1 倍的明矾苏木素染液淡染细胞核 30 s,水洗返蓝,显微镜下观察并摄像。

1.4 实验分组与处理

将建立的泡沫细胞分为:①空白对照组,即 THP-1 源性泡沫细胞组;②Ang II 组(10² nmol/L Ang II);③Ang(1-7)组[10² nmol/L Ang(1-7)];④Ang(1-7) + Ang II 组,在加入 10² nmol/L Ang(1-7) 1 h 后加入 10² nmol/L Ang II;⑤Ang II + Ang(1-7) + A-779 组,在加入 10² nmol/L Ang(1-7) 1 h 后加入 10² nmol/L Ang II 与 10² nmol/L A-779。细胞按以上分组药物干预 48 h 后离心收集细胞,并保存于 -70℃ 冰箱中待用。每组设 5 个复管,用于 SR-B I、ABCA1 蛋白及基因表达及胆固醇外流的检测。

1.5 RT-PCR 方法检测 SR-B I mRNA、ABCA1 mRNA 的表达

使用 Trizol 抽提试剂常规提取细胞总 RNA,核酸紫外分析仪确定样品中 RNA 纯度(A_{260/280} 为 1.7~1.8)与含量,取 1 μg 各组细胞总 RNA 按 Frementas 公司试剂盒说明逆转录合成 cDNA,再取 1 μL 逆转录产物进行 PCR。SR-B I PCR 反应条件为 94℃ 预变性 5 min,94℃ 变性 20 s,58℃ 退火 20 s,72℃ 延伸 20 s,72℃ 再延伸 5 min;继续扩增至 32 个循环。ABCA1 PCR 反应条件为 94℃ 预变性 5 min,94℃ 变性 1 min,61℃ 退火 30 min,72℃ 延伸 1 min,最后 72℃ 终止 5 min,共 38 个循环。GAPDH PCR

反应条件为 94℃ 预变性 5 min,94℃ 变性 1 min,55℃ 退火 30 min,72℃ 延伸 1 min,最后 72℃ 终止 5 min,共 30 个循环。SR-B I 引物序列(191 bp)为上游 5'-CTGTGGGTGAGATCATGTGG-3',下游 5'- GT-TCCACTTGTCCACGAGGT-3'。ABCA1 引物序列(439 bp)为上游 5'-ACAACCAAACCTCACAC-TACTG-3',下游 5'-ATAGATCCCATTACAGACAACG-3';人 GAPDH 引物序列(307 bp)为上游 5'-TGAACGGGAAGCTCACTGG-3',下游 5'- TCCAC-CACCCTGTTGCTGGA-3'。反应结束后,取 5 μL PCR 扩增产物加 2 μL 的 6 × 上样缓冲液,于 1.5% 琼脂糖凝胶板稳压电泳(60 V × 1 h),UVP 凝胶成像分析系统扫描摄图,以同管 GAPDH 为内参照,分析各组 SR-B I mRNA、ABCA1mRNA 的相对表达量。

1.6 Western blot 方法检测 SR-B I、ABCA1 蛋白的含量

使用 MBST 裂解液裂解细胞,4℃ 离心收集后弃除沉淀。配取 10% 浓缩胶与 6% 分离胶用于检测 SR-B I 蛋白,配取 8% 浓缩胶与 6% 分离胶用于检测 ABCA1 蛋白,上样量 50 μg,均用 SDS-PAGE 垂直凝胶电泳分离不同分子量的蛋白质,浓缩胶 80 V 30 min,分离胶 120 V 90 min,当溴酚蓝条带至凝胶底部时,停止电泳。电转移于 NC 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。封闭液封闭过夜,按 1:1000 分别加入兔抗人 SR-B I 多克隆抗体、鼠抗人 ABCA1 一抗,4℃ 孵育过夜,TBST 洗 3 次,按 1:10000 的稀释倍数分别加入辣根过氧化物酶标记羊抗兔 IgG 及羊抗鼠二抗,室温孵育 2 h,TBST 洗 3 次。增强化学发光法,X 片放射自

显影,数码凝胶图像定量分析系统成像、条带密度扫描,以同管 β-actin 为内参照,分别测定各样本 SR-B I、ABCA1 蛋白的相对表达量。

1.7 液体闪烁计数法检测细胞内胆固醇外流

胆固醇流出检测按文献[3]描述的方法操作,将泡沫细胞用 0.37 × 10⁹ Bq /L[³H] 胆固醇及含 10% 小牛血清的 RPMI1640 培养液共同孵育 48 h 之后,用无菌 PBS 液洗涤细胞 3 次,将细胞计数并分别加入空白对照组、Ang II 组、Ang(1-7)组、Ang II + Ang(1-7)组、Ang II + Ang(1-7) + A-779 组;在含有 0.3% BSA 的 RPMI1640 培养基中静置培养 48 h,再用 PBS 液洗涤细胞 3 次,在无血清的含 10 mg/L ApoA I 的培养液中继续培养 12 h,用闪烁计数法检测培养液和细胞的 [³H] 胆固醇。胆固醇流出率 = [培养液 cpm 值/(培养液 cpm 值 + 细胞 cpm 值)] × 100% (cpm 即每分钟计数)。

1.8 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 SPSS11.5 统计软件对实验数据进行单因素方差分析,多重比较采用 LSD-t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 细胞形态

THP-1 单核细胞呈圆型、悬浮生长,诱导转化为巨噬细胞,变为贴壁生长,形态不规则,伸出伪足;再用 50 mg/L ox-LDL 与巨噬细胞共同孵育 48 h 后,经油红 O 染色,显微镜下观察,细胞质内有大量的红色脂质颗粒存在,符合泡沫细胞形态特点(图 1)。

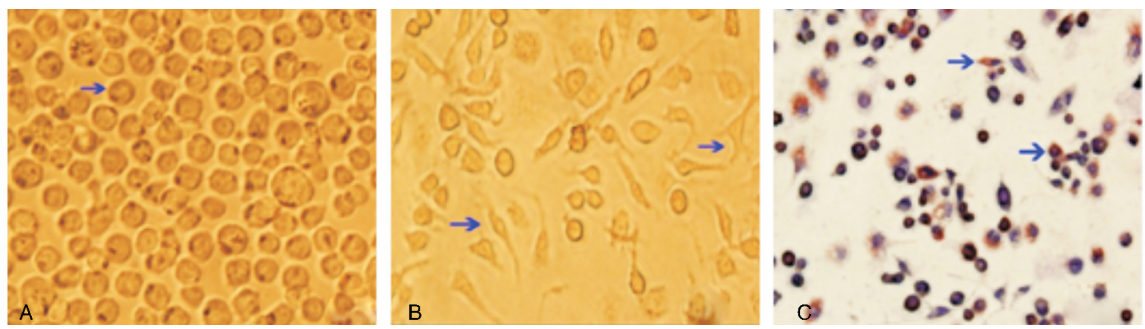


图 1. 油红 O 染色观察细胞形态变化(40 × 10) A 为 THP-1 单核细胞,B 为巨噬细胞,C 为泡沫细胞。蓝色箭头所指为具有代表性的单核细胞、巨噬细胞、泡沫细胞。

Figure 1. Morphological changes of cells were observed by oil red O staining(40 × 10)

2.2 Ang II 与 Ang(1-7) 对 THP-1 源性泡沫细胞 SR-B I mRNA、ABCA1 mRNA 表达的影响

在 THP-1 源性泡沫细胞中,与空白对照组比

较,Ang II 组 SR-B I mRNA、ABCA1 mRNA 的表达显著减弱($P < 0.05$),Ang(1-7)组 SR-B I mRNA、ABCA1 mRNA 表达明显增加($P < 0.05$);与 Ang II

组比较, Ang II + Ang(1-7) 组 SR-B I mRNA、ABCA1 mRNA 表达明显增加($P < 0.05$), 但与 Ang(1-7) 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$); 与 Ang II + Ang(1-7) 组比较, Ang II + Ang(1-7) + A-779 组 SR-B I mRNA、ABCA1 mRNA 的表达明显减弱($P < 0.05$), 但与 Ang II 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$; 图 2、图 3 和表 1)。

图 2. Ang II 与 Ang(1-7) 对 THP-1 源性泡沫细胞 SR-B I mRNA 表达的影响 M 为 Marker, 1 为空白对照组, 2 为 Ang II 组, 3 为 Ang(1-7) 组, 4 为 Ang II + Ang(1-7) 组, 5 为 Ang II + Ang(1-7) + A-779 组。

Figure 2. Effect of Ang II and Ang(1-7) on the expression of SR-B I mRNA

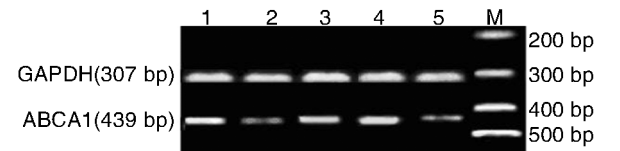


图 3. Ang II 与 Ang(1-7) 对 THP-1 源性泡沫细胞 ABCA1 mRNA 表达的影响 M 为 Marker, 1 为空白对照组, 2 为 Ang II 组, 3 为 Ang(1-7) 组, 4 为 Ang II + Ang(1-7) 组, 5 为 Ang II + Ang(1-7) + A-779 组。

Figure 3. Effect of Ang II and Ang(1-7) on the expression of ABCA1 mRNA

2.3 Ang II 与 Ang(1-7) 对 THP-1 源性泡沫细胞 SR-B I、ABCA1 蛋白表达的影响

与空白对照组比较, Ang(1-7) 组 SR-B I、AB-

Table 1. Effect of Ang II and Ang(1-7) on the expression of SR-B I ,ABCA1 in THP-1 derived foam cells($\bar{x} \pm s, n = 5$)				
分 组	SR-B I mRNA	SR-B I 蛋白	ABCA1 mRNA	ABCA1 蛋白
空白对照组	0.748 \pm 0.033	0.922 \pm 0.016	0.732 \pm 0.037	0.573 \pm 0.032
Ang II 组	0.681 \pm 0.036 ^a	0.774 \pm 0.027 ^a	0.591 \pm 0.049 ^a	0.482 \pm 0.024 ^a
Ang(1-7) 组	0.884 \pm 0.032 ^{ab}	1.151 \pm 0.022 ^{ab}	0.803 \pm 0.078 ^{ab}	0.681 \pm 0.039 ^{ab}
Ang II + Ang(1-7) 组	0.823 \pm 0.040 ^{ab}	1.117 \pm 0.034 ^{ab}	0.829 \pm 0.074 ^{ab}	0.685 \pm 0.056 ^{ab}
Ang II + Ang(1-7) + A-779 组	0.685 \pm 0.029 ^{ac}	0.806 \pm 0.029 ^{ac}	0.583 \pm 0.039 ^{ac}	0.533 \pm 0.037 ^{ac}

a 为 $P < 0.05$, 与空白对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 Ang II 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 Ang II + Ang(1-7) 组比较。

2.4 Ang II 与 Ang(1-7) 对 THP-1 源性泡沫细胞胆固醇外流的影响

与空白对照组比较, Ang(1-7) 增加巨噬细胞胆

CA1 表达明显增加($P < 0.05$), 而 Ang II 组显著抑制细胞表面 SR-B I、ABCA1 蛋白的表达($P < 0.05$); 与 Ang II 组比较, Ang II + Ang(1-7) 组 SR-B I、ABCA1 蛋白的表达明显增加($P < 0.05$), 但与 Ang(1-7) 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$); 与 Ang II + Ang(1-7) 组比较, Ang II + Ang(1-7) + A-779 组 SR-B I、ABCA1 蛋白的表达明显减弱($P < 0.05$), 但与 Ang II 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$; 图 4、图 5 和表 1)。

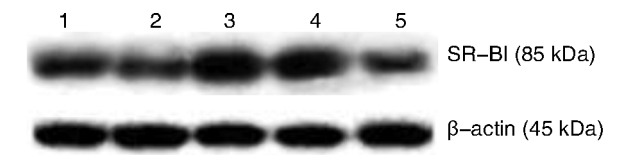


图 4. Ang II 与 Ang(1-7) 对 THP-1 源性泡沫细胞 SR-B I 蛋白表达的影响 1 为空白对照组, 2 为 Ang II 组, 3 为 Ang(1-7) 组, 4 为 Ang II + Ang(1-7) 组, 5 为 Ang II + Ang(1-7) + A-779 组。

Figure 4. Effect of Ang II and Ang(1-7) on the expression of SR-B I protein

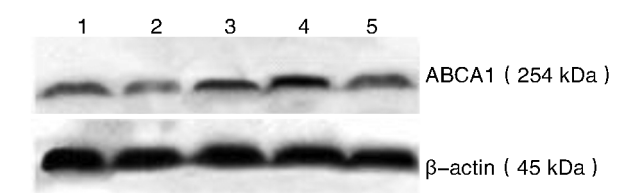


图 5. Ang II 与 Ang(1-7) 对 THP-1 源性泡沫细胞 ABCA1 蛋白表达的影响 1 为空白对照组, 2 为 Ang II 组, 3 为 Ang(1-7) 组, 4 为 Ang II + Ang(1-7) 组, 5 为 Ang II + Ang(1-7) + A-779 组。

Figure 5. Effect of Ang II and Ang(1-7) on the expression of ABCA1 protein

表 1. Ang II 与 Ang(1-7) 对 THP-1 源性泡沫 SR-B I、ABCA1 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

7) 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 加入 A-779 后, 与 Ang II + Ang(1-7) 组比较, 胆固醇流出率明显减少 ($P < 0.05$), 但与 Ang II 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$; 表 2)。

表 2. 各组细胞内胆固醇流出率
Table 2. The cholesterol efflux rate in different groups

分 组	n	胆固醇流出率 (%)
空白对照组	5	14.024 ± 0.477
Ang II 组	5	9.071 ± 0.259 ^a
Ang(1-7) 组	5	17.890 ± 0.874 ^{ab}
Ang II + Ang(1-7) 组	5	17.688 ± 0.225 ^{ab}
Ang II + Ang(1-7) + A-779 组	5	9.509 ± 0.478 ^{ac}

a 为 $P < 0.05$, 与空白对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 Ang II 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 Ang II + Ang(1-7) 组比较。

3 讨 论

胆固醇逆转运是指依赖高密度脂蛋白将胆固醇从周围组织, 包括动脉壁单核/巨噬细胞的胆固醇, 转运到肝脏进行再循环、降解或以胆酸的形式排泄。因此, 胆固醇逆转运对于清除血及外周组织中过多的胆固醇, 防治动脉粥样硬化的作用尤为重要。SR-B I 是高密度脂蛋白的高亲和力受体, 具有清道夫受体功能, 能介导高密度脂蛋白选择性摄取胆固醇、影响血高密度脂蛋白胆固醇水平以及介导非酯化胆固醇在脂蛋白和细胞之间的双向运动, 在清除血管壁细胞及血循环中多余胆固醇的过程中起重要作用。当来自外周组织中含胆固醇酯的高密度脂蛋白与肝细胞及类固醇生成组织细胞表面的 SR-B I 特异结合后, 高密度脂蛋白中的胆固醇酯从其疏水中心被吸入细胞内, 被细胞摄取的胆固醇酯继而合成胆汁酸排出体外或合成类固醇物质, 而后失去胆固醇酯的高密度脂蛋白颗粒与 SR-B I 分离并重新进入血循环^[4]。ABCA1 是近年来发现的巨噬细胞胆固醇转运相关蛋白, 它首先与高密度脂蛋白表面的 ApoA I 结合, 介导巨噬细胞内的胆固醇流出, 流出的胆固醇与 ApoA I 再次结合进入高密度脂蛋白的内核, 并被带到肝脏代谢, 从而有助于清除过多的胆固醇酯, 此外, ABCA1 结构中特有的核苷酸结合区位点与 ATP 结合, 使 ATP 发生水解而为胆固醇的跨膜转运提供必要的能量^[5]。高密度脂蛋白在胆固醇逆转运过程中被认为是防止泡沫细胞和动脉粥样硬化的关键。ABCA1、SR-B I 及 ABCG1 对高密度脂蛋白介导的巨噬细胞胆固醇逆转

运是必不可少 的关键因子, 研究显示在肝脏 SR-B I 明显促进了巨噬细胞进行胆固醇逆向转运^[6,7]。但也有研究显示, 在体内 SR-B I 并不参与介导巨噬细胞胆固醇外流^[8]。

Ang II 与 Ang-(1-7) 均可由血管紧张素 I 在血管紧张素转化酶的作用下产生, 其中 Ang II 主要通过 AT1 受体介导发挥促进细胞增殖、心肌细胞肥大、间质纤维化、水钠潴留及动脉粥样硬化的作用, 而 Ang(1-7) 主要通过 MAS 受体发挥拮抗 Ang II 的作用。已有研究显示 Ang(1-7) 通过 ERK1/2 通路拮抗 Ang II 诱导的平滑肌细胞增殖及迁移^[9], Ang(1-7) 还可通过拮抗 Ang II 诱导的心肌肥大及心肌纤维化, 进而抑制心肌重构^[10]。前期研究显示, 在人 THP-1 单核巨噬细胞, Ang II 经核因子 κ B 信号途径介导诱导基质金属蛋白酶 9 表达, 而 Ang(1-7) 通过 MAS 受体可抑制该作用。Ang(1-7) 可拮抗 Ang II 诱导的巨噬细胞 ABCA1、SR-B I 表达减少, 促进胆固醇逆转运, 进而减少泡沫细胞的形成^[11-13]。但在已形成的泡沫细胞中, Ang II 与 Ang-(1-7) 对 SR-B I、ABCA1 的表达及胆固醇流出率的影响如何国内未见相关报道。

本实验成功建立泡沫细胞模型后, 分别加用各组药物干预, 研究显示, 与空白对照组相比, Ang II 抑制 THP-1 源性泡沫细胞 SR-B I、ABCA1 的表达并减少胆固醇外流, 而 Ang(1-7) 则促进 SR-B I、ABCA1 的表达, 增加胆固醇外流; Ang(1-7) 可拮抗 Ang II 对 SR-B I、ABCA1 表达的抑制作用, 增加胆固醇流出率; 当加入 Ang(1-7) 特异性受体 MAS 受体拮抗剂 A-799 后, Ang(1-7) 抑制 Ang II 的作用完全消失, 提示 Ang(1-7) 通过 MAS 受体介导发挥拮抗 Ang II 的作用。上述实验表明 Ang(1-7) 可促进泡沫细胞 SR-B I、ABCA1 的表达, 增加胆固醇外流, 从而为人们在治疗动脉粥样硬化方面提供了新的科研思路。但是, Ang(1-7)/MAS 轴通过哪些路径发挥拮抗 Ang II 抑制 SR-B I 及 ABCA1 的表达, 以及通过哪些具体机制促进胆固醇外流有待进一步研究, 深入研究 Ang(1-7) 与 Ang II 之间的相互关系及作用机制, 可能将为防治动脉粥样硬化提供更为广阔的临床思路。

[参考文献]

[1] Mineo C, Shaul PW. Functions of scavenger receptor class B, type I in atherosclerosis[J]. Curr Opin Lipidol, 2012, 5: 487-493.
[2] 李 涛, 向 蕾, 涂 剑. 肝 X 受体-胆固醇逆转运与炎症

的共同平台[J]. 中国动脉硬化杂志, 2014, 22(4): 417-420.

[3] Smith LE, Segrest JP, Davidson WS. Helical domains that mediate lipid solubilization and ABCA1-specific cholesterol efflux in apolipoproteins C-I and A-II [J]. J Lipid Res, 2013, 7: 1 939-948.

[4] Pagler TA, Rhode S, Neuhofer A, et al. SR-B I -mediated high density lipoprotein (HDL) endocytosis leads to HDL resecretion facilitating cholesterol efflux[J]. J Biol Chem, 2006, 16: 11 193-204.

[5] Lee JY, Parks JS. ATP-binding cassette transporter AI and its role in HDL formation[J]. Curr Opin Lipidol, 2005, 16: 19-25.

[6] Truong TQ, Aubin D, Falstraull L, et al. SR-B I , CD36, and caveolin-1 contribute positively to cholesterol efflux in hepatic cells[J]. Cell Biochem Funct, 2010,28(6): 480-489.

[7] Zhang Y, Da Silva JR, Reilly M, et al. Hepatic expression of scavenger receptor class B type I (SR-B I) is a positive regulator of macrophage reverse cholesterol transport in vivo [J]. J Clin Invest, 2005, 115(10): 2 870-874.

[8] Wang X, Collins HL, Ranalletta M, et al. Macrophage

ABCA1 and ABCG1, but not SR-B I , promote macrophage reverse cholesterol transport in vivo[J]. J Clin Invest, 2007,117(8): 2 216-224.

[9] Zhang F, Hu Y, Xu Q, et al. Different effects of angiotensin II and angiotensin-(1-7) on vascular smooth muscle cell proliferation and migration[J]. PLoS One, 2010, 5 (8): e12 323.

[10] Grobe JL, Mecca AP, Lingis M, et al. Prevention of angiotensin II-induced cardiac remodeling by angiotensin-(1-7) [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007, 292 (2): H736-742.

[11] 柴婵娟, 杨志明, 吴蕊, 等. Ang(1-7)与Ang II对THP-1巨噬细胞ABCA1表达及胆固醇外流的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2012, 20(9): 777-781.

[12] 柴婵娟, 杨志明, 李芳, 等. 血管紧张素-(1-7)与血管紧张素II对THP-1巨噬细胞高密度脂蛋白受体表达的影响[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2012, 20(4): 417-420.

[13] 梁斌, 蒋晓, 边云飞, 等. MicroRNA在胆固醇逆转运中的调节作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2014, 22(2): 196-199.

(此文编辑 许雪梅)