

LXR α 激动剂通过 NF- κ B 途径抑制巨噬细胞 NLRP3 炎症小体活化导致成熟 IL-1 β 升高

周丽, 贾乙, 李晓辉

(中国人民解放军第三军医大学药学院药物研究所, 重庆市 400038)

[关键词] NLRP3 炎症小体; LXR α 激动剂; 白细胞介素 1 β ; 核因子 κ B p65

[摘要] **目的** 探讨肝 X 受体 α (LXR α) 激动剂对巨噬细胞中 Nod 样受体蛋白 3 (NLRP3) 炎症小体活化导致成熟白细胞介素 1 β (IL-1 β) 水平升高的影响及其机制, 为探索同时具有抗炎和调脂能力的防治动脉粥样硬化药物新靶点提供实验支持。**方法** THP-1 细胞经佛波酯活化成为人源性巨噬细胞, 在培养基中加入胆固醇晶体 (1 μ g/L) 为模型组, 其它各组在模型组基础上分别加入高剂量 (30 μ mol/L)、中剂量 (10 μ mol/L)、低剂量 (3.3 μ mol/L) 的 LXR α 激动剂 GW3965 以及 GW3965 10 μ mol/L + GGPP 10 μ mol/L、GGPP 10 μ mol/L、GW3965 10 μ mol/L + ABCA1 抗体 (1:200)、GW3965 10 μ mol/L + 载脂蛋白 E 抗体 (1:200), 48 h 后提取总 RNA、总蛋白、核蛋白和培养基蛋白。利用 real-time PCR 和 Western blot 对相应指标的 mRNA 和蛋白水平进行检测。**结果** 模型组成熟 IL-1 β 蛋白水平、NLRP3 和 Caspase-1 的 mRNA 和蛋白水平与对照组有显著差异 ($P < 0.05$); 与模型组相比, GW3965 中、高剂量组上述指标均有显著减低 ($P < 0.05$), LXR α 抑制剂 GGPP 能显著抑制 GW3965 的作用 ($P < 0.05$), 载脂蛋白 E 抗体及 ABCA1 抗体均对 GW3965 中剂量的活性无显著影响, 单独使用 GGPP 处理的细胞各项指标与模型组无显著差异。**结论** LXR α 激动剂能够显著抑制巨噬细胞模型中由胆固醇晶体激活 NLRP3 炎症小体导致的 IL-1 β 水平升高, 且此作用与抑制核因子 κ B (NF- κ B) 信号通路有关。

[中图分类号] R965

[文献标识码] A

LXR α Agonist Attenuates the Up-regulation of IL-1 β Expression Caused by NLRP3 Inflammasome via NF- κ B

ZHOU Li, JIA Yi, and LI Xiao-Hui

(Department of Pharmaceutics, Pharmaceutical College, Institute of Materia Medica, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

[KEY WORDS] NLRP3 Inflammasome; LXR α Agonist; Interleukin-1 β ; Nuclear Factor- κ B p65

[ABSTRACT] **Aim** To explore the role and mechanism of liver X receptor α (LXR α) agonist on increased cleaved interleukin-1 β (IL-1 β) expression caused by Nod-like receptor protein-3 (NLRP3) inflammasome in macrophages.

Methods THP-1 cells were activated into macrophages by phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA), and then were divided into different groups: model group (1 μ g/L cholesterol crystal), GW3965 high, middle and low concentration groups (added 30 μ mol/L, 10 μ mol/L, 3.3 μ mol/L GW3965 based on model group), GW3965 + GGPP group (10 μ mol/L GW3965 plus 10 μ mol/L GGPP), GGPP group (10 μ mol/L GGPP), ABCA1 antibody and apolipoprotein E (ApoE) antibody groups (10 μ mol/L GW3965 plus 1:200 ABCA1 or ApoE respectively). Total RNA, total protein, nuclear protein and supernatant protein were extracted after 48 h treatment. mRNA levels of ABCA1, NLRP3, Caspase-1 and IL-1 β were detected by real-time PCR, and the protein levels of ABCA1, NLRP3, Caspase-1, nuclear NF- κ B p65, IL-1 β and cleaved IL-1 β were measured by Western blot. **Results** Compared with control group, cleaved IL-1 β , NLRP3 and Caspase-1 levels were significantly increased after the stimulation of cholesterol crystal ($P < 0.05$) in model group. The treatments of middle and high

[收稿日期] 2014-07-06

[修回日期] 2014-10-22

[基金项目] 国家自然科学基金(81102448)

[作者简介] 周丽, 硕士研究生, 研究方向为炎症免疫在动脉粥样硬化形成中的作用机制, E-mail 为 zhouli1007@126.com。贾乙, 博士, 副教授, 研究方向为炎症免疫在动脉粥样硬化形成中的作用机制, E-mail 为 jiayi1979@163.com。通讯作者李晓辉, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为心血管炎症免疫药理学, E-mail 为 lps008@aliyun.com。

concentration GW3965 attenuated the alterations ($P < 0.05$). Compared with GW3965 middle concentration group, there were significant statics differences of the above biomarker levels in GW3965 + GGPP group, but not in ABCA1 antibody or ApoE antibody group. **Conclusion** LXR α agonist GW3965 can attenuate the increased level of cleaved IL-1 β caused by NLRP3 Inflammasome, and NF- κ B p65 pathway may be involved in the mechanism.

动脉粥样硬化能导致多种严重的致死性心血管疾病,并严重威胁人类健康。除传统危险因素外,非感染性炎症在动脉粥样硬化发生、发展过程中具有重要作用的观点已经被广泛认可^[1]。作为机体固有免疫反应途径之一的 Nod 样受体蛋白 3 (Nod-like receptor protein-3, NLRP3) 炎症小体通路能在蛋白水平上促进促炎因子白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 和白细胞介素 18 (interleukin-18, IL-18) 的成熟和释放,在多种炎症疾病的发病中起重要作用。临床流行病学研究^[2] 及动物实验^[3] 结果均证明病变局部的 NLRP3 炎症小体激活与动脉粥样硬化的发生、发展与转归有密切的关系,且已证实胆固醇晶体是动脉粥样硬化病变局部 NLRP3 炎症小体的主要激活因素。

转录调节因子肝 X 受体 α (liver X receptor α , LXR α) 激活后可以通过上调载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE)、ATP 结合盒转运子 A1 (ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)、ATP 结合盒转运子 G1 (ATP-binding cassette transporter G1, ABCG1) 等多种靶基因的表达,从而增加组织中胆固醇向肝脏的逆向转运及排泄,该方式在动物模型上能抑制动脉粥样硬化的形成^[4],基因敲除实验也证明了 LXR α 具有强大的抗动脉粥样硬化能力^[5]。同时,也有研究发现 LXR α 激动剂可以抑制炎症因子 C 反应蛋白的表达^[6]。故其具有与现临床常用的降脂药物完全不同的新靶点,并能够同时增加胆固醇逆向转运和抗炎,极具成为新型抗动脉粥样硬化药物的潜力。但其能否抑制 NLRP3 炎症小体活化导致的炎症反应尚未见报道。故本研究采用胆固醇晶体激活巨噬细胞 NLRP3 炎症小体为模型,研究 LXR α 激动剂 GW3965 对 IL-1 β 表达水平的作用,并对其机制进行初步探讨。

1 材料和方法

1.1 试剂与仪器

佛波酯 (P8139)、LXR α 激动剂 GW3965 (G6295) 和 LXR α 抑制剂 GGPP (G6025) 购自美国 Sigma Aldrich 公司;胆固醇购自上海 Sangon Biotech 公司;T-PER 总蛋白提取试剂 (78510) 及 NE-PER 核

蛋白提取试剂盒 (78833) 购自 Thermo Scientific 公司;BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (P0012) 购自碧云天生物技术研究所;NLRP3 (sc-34408)、Caspase-1 (sc56036)、NF- κ B p65 (sc-109)、IL-1 β (sc-7884)、成熟 IL-1 β (sc-23460)、ABCA1 (sc-53482)、ApoE (sc-241832) 及 β -actin (sc-47778) 抗体购自美国 Santa Cruz 公司;总 RNA 提取试剂盒 (DP419) 购自天根生化科技(北京)有限公司;逆转录试剂盒 (1708891)、real-time PCR 试剂盒 (SYBR Green, 1725204)、化学发光成像系统 (Chemidox XRS) 购自 Bio-Rad 公司;荧光定量 PCR 仪 (Realplex) 购自 Eppendorf 公司。

1.2 胆固醇晶体制备

采用 Rajam ki 等方法^[7],将胆固醇粉末溶于 95% 乙醇中并加热至 60 $^{\circ}$ C,搅拌使充分溶解,趁热过滤,置于室温使胆固醇晶体(透亮、细长型 1~5 mm)充分析出,干燥后用研钵充分研磨使晶体粒径在 1~10 μ m 内,收集晶体置于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中储存备用。

1.3 细胞培养与分组

THP-1 细胞培养于含 10% 胎牛血清、1% 双抗(青霉素和链霉素)的 RPMI1640 培养基中,于 5% CO₂ 的 37 $^{\circ}$ C 培养箱内培养。取对数生长期的细胞在 6 孔板中用佛波酯诱导 24 h 形成贴壁的巨噬细胞后,给予相应处理:对照组、模型组(胆固醇晶体 1 μ g/L)、GW3965 高剂量组(模型组 + GW3965 30 μ mol/L)、GW3965 中剂量组(模型组 + GW3965 10 μ mol/L)、GW3965 低剂量组(模型组 + GW3965 3.3 μ mol/L)、10 μ mol/L GW3965 + 10 μ mol/L GGPP 组、10 μ mol/L GGPP 组、ABCA1 组(GW3965 10 μ mol/L + 1:200 ABCA1 抗体)、ApoE 组(GW3965 10 μ mol/L + 1:200 ApoE 抗体)。为检测 GW3965 对脂多糖导致巨噬细胞中核 NF- κ B p65 和成熟 IL-1 β 蛋白水平的作用,给予诱导成功的巨噬细胞 100 μ g/L 脂多糖做为脂多糖模型组,其余各组在脂多糖模型组基础上的给药方式与上述一致。每组重复 3 次。

1.4 real-time PCR 检测 ABCA1、NLRP3、Caspase-1 及 IL-1 β mRNA 水平

取给药刺激 48 h 后的巨噬细胞进行裂解,利用总 RNA 提取试剂盒提取总 RNA 后检测其 OD_{260/280} 值在 1.8 ~ 2.0,取 1 μ g 总 RNA 进行逆转录得 cDNA。根据美国生物技术信息中心(NCBI)人类 mRNA 序列

用 Primer 5.0 设计引物,引物序列及参数见表 1,由 Invitrogen(上海)贸易有限公司合成。PCR 条件:采用 SYBR Green 染料法进行实时 PCR 检测。根据试剂盒要求配制反应体系,反应条件为 95℃ 预变性 30 s,95℃ 变性 5 s,60℃ 退火/延伸 10 s,共 40 个循环,循环完成后进行熔解曲线分析。各样本结果均用其相应的 β -actin 标化,用相对 $\Delta\Delta Ct$ 法进行数据分析。

表 1. 引物序列

Table 1. Primer sequences

基因	引物序列
ABCA1	正向 5'-GAACATTACAGCAGATCAAGAAATCC-3'
	反向 5'-ACTTTGGGAGAGAGAGGTTGTGA-3'
NLRP3	正向 5'-ATTACCGCCCGAGAAAGG-3'
	反向 5'-TCGCAGCAAAGATCCACACAG-3'
Caspase-1	正向 5'-TCCAGGAGGGAATATGTGG-3'
	反向 5'-CTTGTTTCTCTCCACGGCA-3'
IL-1 β	正向 5'-TTCAAGGGGACATTAGCCAG-3'
	反向 5'-TGTGCTGCTTCATTTCAT-3'
β -actin	正向 5'-GTGAAGGTGACAGCAGTCGGTT-3'
	反向 5'-GAAGTGGGTGGCTTTTAGGA-3'

1.5 Western blot 检测巨噬细胞中相应指标的蛋白表达水平

给药 48 h 后提取巨噬细胞总蛋白、细胞核蛋白及培养基蛋白(利用 Millipore 超滤管 UFC900396 进行浓缩),BCA 法测定蛋白浓度后进行 SDS-PAGE 电泳,湿法转 PVDF 膜后 5% 脱脂奶粉封闭 1 h,一抗(1:500) 4℃ 孵育过夜,洗膜后室温孵育二抗 1 h,洗膜后加 ECL 化学发光底物(Thermo,34078),利用

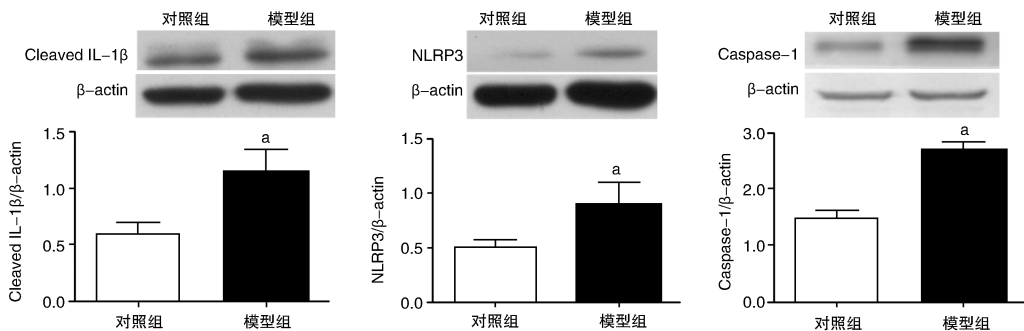


图 2. 胆固醇结晶对巨噬细胞成熟 IL-1 β 、NLRP3 及 Caspase-1 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 3$) a 为 $P < 0.05$,与对照组比较。
Figure 2. Effects of cholesterol crystal on cleaved IL-1 β , NLRP3 and Caspase-1 protein expression in macrophage($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

2.2 GW3965 抑制胆固醇晶体导致的巨噬细胞 NLRP3 炎症小体激活

与模型组相比,GW3965 中、高剂量组能在 mRNA 和蛋白水平显著升高 ABCA1 的表达($P < 0.05$),并能显著降低 NLRP3、Caspase-1 及 IL-1 β 的

成像系统进行图像采集及计算条带光密度值。

1.6 统计学方法

计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胆固醇晶体激活巨噬细胞 NLRP3 炎症小体通路

加入胆固醇晶体 48 h 后,巨噬细胞分泌的成熟 IL-1 β 蛋白水平较对照组显著升高($P < 0.05$),模型组细胞内 NLRP3 和 Caspase-1 mRNA 水平和蛋白水平均较对照组明显升高(图 1 和 2)。

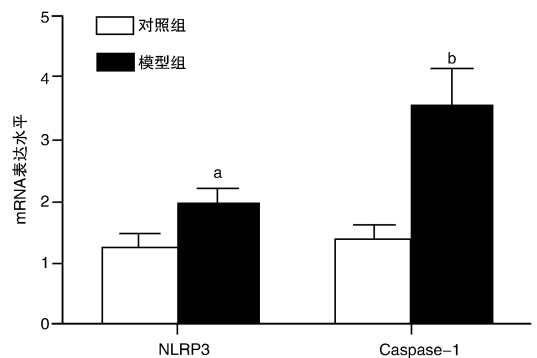


图 1. 胆固醇结晶对巨噬细胞 NLRP3 和 Caspase-1 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 3$) a 为 $P < 0.05$,b 为 $P < 0.01$,与对照组比较。

Figure 1. Effects of cholesterol crystal on NLRP3 and Caspase-1 mRNA expression in macrophage($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

mRNA 和蛋白水平以及巨噬细胞分泌的成熟 IL-1 β 蛋白水平($P < 0.05$),GGPP 能抑制中剂量 GW3965 的相关调控作用。单独使用 GGPP 处理后,各项指标蛋白水平与模型组无显著差异(图 3-5)。

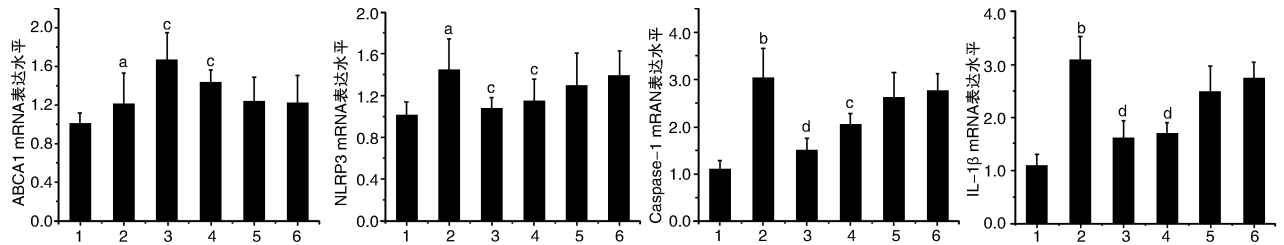


图 3. GW3965 对胆固醇晶体刺激巨噬细胞模型中 ABCA1、NLRP3、Caspase-1 及 IL-1β mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

1 为对照组,2 为模型组,3 为 30 μmol/L GW3965 组,4 为 10 μmol/L GW3965 组,5 为 3.3 μmol/L GW3965 组,6 为 10 μmol/L GW3965 + 10 μmol/L GGPP 组。a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; c 为 $P < 0.05$, d 为 $P < 0.01$, 与模型组比较。

Figure 3. Effects of GW3965 on ABCA1, NLRP3, Caspase-1 and IL-1β mRNA expression in macrophage stimulated by cholesterol crystal ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

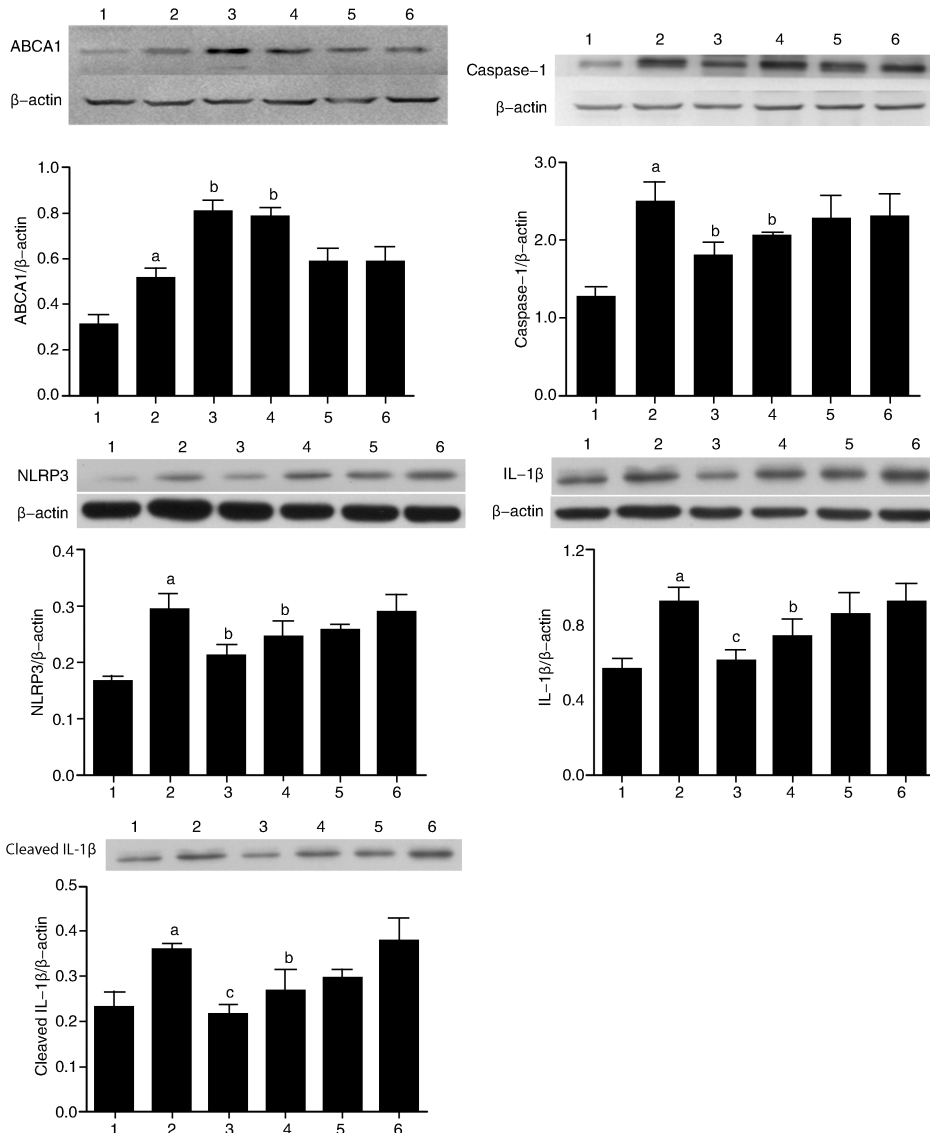


图 4. GW3965 对胆固醇晶体刺激巨噬细胞模型中 ABCA1、NLRP3、Caspase-1、IL-1β 及成熟 IL-1β 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

1 为对照组,2 为模型组,3 为 30 μmol/L GW3965 组,4 为 10 μmol/L GW3965 组,5 为 3.3 μmol/L GW3965 组,6 为 10 μmol/L GW3965 + 10 μmol/L GGPP 组。a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, c 为 $P < 0.01$, 与模型组比较。

Figure 4. Effects of GW3965 on ABCA1, NLRP3, Caspase-1, IL-1β and cleaved IL-1β protein expression in macrophage stimulated by cholesterol crystal ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

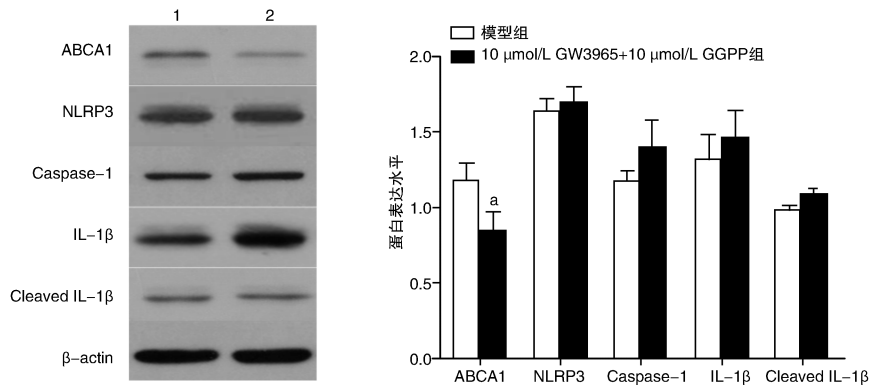


图 5. GGPP 对胆固醇晶体刺激巨噬细胞模型中 ABCA1、NLRP3、Caspase-1、IL-1β 及 Cleaved IL-1β 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$) 1 为模型组, 2 为 10 μmol/L GW3965 + 10 μmol/L GGPP 组。a 为 $P < 0.05$, 与模型组比较。

Figure 5. Effects of GGPP on ABCA1, NLRP3, Caspase-1, IL-1β and cleaved IL-1β protein expression in macrophage stimulated by cholesterol crystal ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

2.3 GW3965 抑制胆固醇晶体导致的巨噬细胞中胞核 NF-κB p65 水平增高

模型组胞核 NF-κB p65 水平较对照组显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 中剂量 GW3965 能显著降低胞核 NF-κB p65 水平 ($P < 0.05$), 同时给予 GGPP 能抑制该活性; ABCA1 抗体组和 ApoE 抗体组胞核 NF-κB p65 水平与 GW3965 组相比没有显著差异 (图 6)。

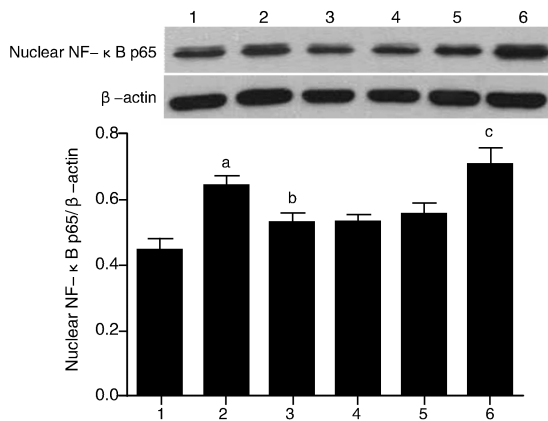


图 6. 不同处理对胆固醇晶体刺激巨噬细胞模型中胞核 NF-κB p65 蛋白水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$) 1 为对照组, 2 为模型组, 3 为 10 μmol/L GW3965 组, 4 为 10 μmol/L GW3965 + ABCA1 抗体组, 5 为 10 μmol/L GW3965 + ApoE 抗体组, 6 为 10 μmol/L GW3965 + 10 μmol/L GGPP 组。a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与模型组比较。

Figure 6. Effects of different factors on nuclear NF-κB p65 protein level in macrophage stimulated by cholesterol crystal ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

2.4 GW3965 抑制脂多糖导致的巨噬细胞中胞核 NF-κB p65 和成熟 IL-1β 水平增高

与脂多糖组相比, GW3965 高、中剂量组胞核核 NF-κB p65 和成熟的 IL-1β 蛋白水平有显著差异 (P

< 0.05), 10 mol/L GW3965 + 10 mol/L GGPP 组与脂多糖组没有显著差异 (图 7)。

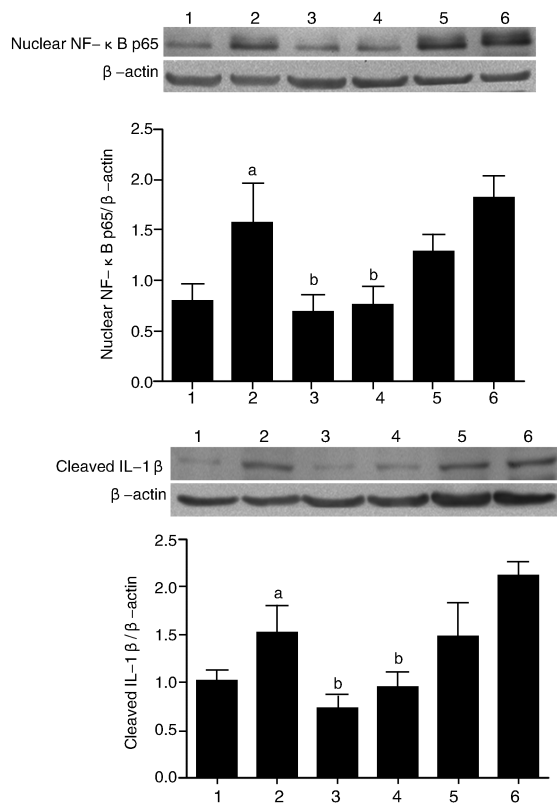


图 7. GW3965 对脂多糖刺激巨噬细胞模型中胞核 NF-κB p65 和成熟 IL-1β 蛋白水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$) 1 为对照组, 2 为脂多糖组, 3 为 30 μmol/L GW3965 组, 4 为 10 μmol/L GW3965 组, 5 为 3.3 μmol/L GW3965 组, 6 为 10 μmol/L GW3965 + 10 μmol/L GGPP 组。a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与脂多糖组比较。

Figure 7. Effects of GW3965 on nuclear NF-κB p65 and cleaved IL-1β protein levels in macrophage stimulated by LPS ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

3 讨论

在目前降脂药物广泛应用的情况下,动脉粥样硬化导致的各类心血管疾病发病率及死亡率依然高居各类疾病首位,提示除传统的高血脂等危险因素外,仍存在其他危险因素。大量研究提示,炎症尤其是非感染性局部炎症在动脉粥样硬化形成中具有重要作用^[1,8]。NLRP3 炎症小体是 NLR 的亚家族成员,被激活后与凋亡相关的斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing CARD, ASC) 以及 Caspase-1 形成蛋白复合体即“炎症小体”,进而活化 Caspase-1,切割 IL-1 β 、IL-18 等细胞因子的前体,使其成熟并释放^[9,10],其中促炎因子 IL-1 β 与动脉粥样硬化关系最为密切。随着对 NLRP3 炎症小体在动脉粥样硬化中作用研究的深入,实验证实在病变的极早期即存在胆固醇结晶激活 NLRP3 炎症小体的现象^[3],还有研究证实 NLRP3 炎症小体的激活还能上调 Caspase-1 依赖的形式编程性细胞死亡,进而降低动脉粥样硬化斑块稳定性^[11]。故 NLRP3 炎症小体的激活与动脉粥样硬化的发生、发展与转归均有密切的关系。本实验结果也证实胆固醇结晶能够激活体外培养的巨噬细胞 NLRP3 炎症小体通路,导致成熟 IL-1 β 释放增加,引起非感染性炎症反应。

与现有以降低血清低密度脂蛋白胆固醇及甘油三酯水平为目的的抗动脉粥样硬化药物作用靶点不同,LXR 激动剂可以通过增加从周围组织向肝脏的胆固醇逆转运及排泄等途径达到防治动脉粥样硬化的效果,被视为极具开发潜力的新型抗动脉粥样硬化药物。而且,有研究发现 LXR 激动剂具有显著的抗炎活性,如可以减轻脂肪组织中炎症反应^[12]、降低动脉粥样硬化病变部位炎症反应导致的标准化摄取值增高^[13]等,但尚未见对其在 NLRP3 炎症小体激活导致 IL-1 β 水平增高中作用的报道。

本研究中,GW3965 能够显著增加 ABCA1 在 mRNA 和蛋白水平的表达,表明了其 LXR α 激动剂的作用。GW3965 可以剂量依赖性地显著抑制巨噬细胞因 NLRP3 活化导致的成熟 IL-1 β 水平升高,而且 LXR α 抑制剂 GGPP 能够阻遏此作用,进一步证明该抗炎作用确与激活 LXR α 相关。而单独使用 GGPP 对模型组进行处理后,各项炎症指标较对照组没有显著差异,说明在巨噬细胞自身的炎症反应调节通路中,LXR α 并不是主要的负反馈调节机制。

此外,结果还发现 GW3965 不仅可以降低 NLRP3 和 Caspase-1 的表达水平以减少成熟 IL-1 β 的切割和释放,同时还能在转录水平降低 IL-1 β 的表

达量,提示其作用不仅仅局限于对 NLRP3 和 Caspase-1 表达的调控。GW3965 能够显著降低核内 NF- κ B p65 水平,从而抑制 IL-1 β 转录,进而降低细胞内 IL-1 β 蛋白水平。我们还在脂多糖刺激 THP-1 源性巨噬细胞模型中进行验证,结果显示 GW3965 也能显著抑制 NF- κ B p65 的活化及成熟 IL-1 β 表达水平的增高。提示 LXR α 激动剂 GW3965 的抗炎作用是通过抑制 NF- κ B p65 途径达到的。

LXR α 激动剂可以在转录水平增高其下游基因的表达,包括 HDL、ApoE 和 ABCA1 等,而研究证实这些产物都具有一定的抗炎作用。如 HDL 能够通过 ATF3 途径抑制巨噬细胞的炎症反应^[14,15]、ApoE 在神经系统疾病中具有调节免疫活性减轻炎症反应的作用^[16]以及 ABCA1 能够通过上调抗炎因子 IL-10 表达^[17]和下调 G-CSF 表达^[18]等途径发挥显著的抗炎作用。在本实验中,尽管巨噬细胞可以通过将胆固醇酯转运至新生 HDL 中生成 HDL,但因巨噬细胞本身并不具备合成新生 HDL 的能力,故可以排除 HDL 的作用;为验证其作用是否与上调 ApoE 和 ABCA1 水平有关,我们在培养基中加入了 ApoE 和 ABCA1 抗体。结果发现这两组成熟 IL-1 β 表达水平与模型组相比没有统计学差异,NF- κ B p65 水平也没有显著改变,提示在本实验中 GW3965 的抗炎作用与增高 ApoE 或 ABCA1 表达水平无关。

LXR α 除了能与其反应元件结合激活下游基因转录外,还能通过以下机制起到抑制基因转录的作用,包括:上调某些具有抑制转录作用的蛋白的表达;与其它转录因子竞争基因上的结合部位;与其它转录因子竞争与 RXR 的结合;LXR/RXR 异二聚体与其它转录因子竞争相同的辅激活物;LXR/RXR 异二聚体在 LXRE 序列上的交叠^[19]。而本研究中 GW3965 通过哪种途径达到抑制 NF- κ B 活性的作用尚有待在将来的实验中进一步探索。

综上所述,本研究证实了 LXR α 激动剂 GW3965 能够抑制胆固醇晶体刺激巨噬细胞引起 NLRP3 炎症小体活化导致的成熟 IL-1 β 升高,其作用机制与抑制 NF- κ B 途径有关。本研究为进一步阐明 LXR α 激动剂的抗炎作用机制提供了实验依据,为研发以 LXR α 为靶点同时具有增强胆固醇逆转运和抗炎能力的新型抗动脉粥样硬化药物提供了理论基础。尽管现有 LXR α 小分子激动剂由于副作用等原因尚缺乏成为新型抗动脉粥样硬化药物的条件,但随着其新型激动剂的发现,会为动脉粥样硬化药物的防治提供新的选择。

[参考文献]

- [1] Libby P. Inflammation in atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32 (9): 2 045-051.
- [2] Dehghan A, Yang Q, Peters A, et al. Association of novel genetic loci with circulating fibrinogen levels: a genome-wide association study in 6 population-based cohorts[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2009, 2 (2): 125-133.
- [3] Duewell P, Kono H, Rayner KJ, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals[J]. *Nature*, 2010, 464 (7293): 1 357-361.
- [4] Lo Sasso G, Murzilli S, Salvatore L, et al. Intestinal specific LXR activation stimulates reverse cholesterol transport and protects from atherosclerosis[J]. *Cell Metab*, 2010, 12 (2): 187-193.
- [5] Bischoff ED, Daige CL, Petrowski M, et al. Non-redundant roles for LXRA and LXRbeta in atherosclerosis susceptibility in low density lipoprotein receptor knockout mice[J]. *J Lipid Res*, 2010, 51 (5): 900-906.
- [6] Blaschke F, Takata Y, Caglayan E, et al. A nuclear receptor corepressor-dependent pathway mediates suppression of cytokine-induced C-reactive protein gene expression by liver X receptor[J]. *Circ Res*, 2006, 99 (12): e88-99.
- [7] Rajam ki K, Lappalainen J, O rni K, et al. Cholesterol crystals activate the NLRP3 inflammasome in human macrophages: a novel link between cholesterol metabolism and inflammation[J]. *PLoS One*, 2010, 5 (7): e11765.
- [8] 霍晓川, 关宁, 罗俊生, 等. 胆固醇酯水解酶与动脉粥样硬化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2013, 21 (7): 656-662.
- [9] 贾乙, 周丽, 李晓辉. Nod样受体蛋白3炎症小体与动脉粥样硬化关系的研究现状与进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22 (1): 79-84.
- [10] Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes[J]. *Cell*, 2010, 140 (6): 821-832.
- [11] Lin J, Shou X, Mao X, et al. Oxidized low density lipoprotein induced Caspase-1 mediated pyroptotic cell death in macrophages: implication in lesion instability[J]. *PLoS One*, 2013, 8 (4): e62148.
- [12] Archer A, Stolarczyk E, Doria ML, et al. LXR activation by GW3965 alters fat tissue distribution and adipose tissue inflammation in ob/ob female mice[J]. *J Lipid Res*, 2013, 54 (5): 1 300-311.
- [13] RVucic E, Calcagno C, Dickson SD, et al. Regression of inflammation in atherosclerosis by the LXR agonist R211945: a noninvasive assessment and comparison with atorvastatin[J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2012, 5 (8): 819-828.
- [14] 米宁, 季之欣, 武彩娥. 脂质对炎症的影响[J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2012, 32 (5): 421-426.
- [15] De Nardo D, Labzin LI, Kono H, et al. High-density lipoprotein mediates anti-inflammatory reprogramming of macrophages via the transcriptional regulator ATF3[J]. *Nat Immunol*, 2014, 15 (2): 152-160.
- [16] Shin S, Walz KA, Archambault AS, et al. Apolipoprotein E mediation of neuro-inflammation in a murine model of multiple sclerosis[J]. *J Neuroimmunol*, 2014, 271 (1-2): 8-17.
- [17] Ma L, Dong F, Zaid M, et al. ABCA1 protein enhances Toll-like receptor 4 (TLR4)-stimulated interleukin-10 (IL-10) secretion through protein kinase A (PKA) activation[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287 (48): 40 502-512.
- [18] Dai C, Yao X, Vaisman B, et al. The ABCA1 transporter attenuates ovalbumin-induced neutrophilic airway inflammation[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2014, Epub ahead of print.
- [19] Be towski J. Liver X receptors (LXR) as therapeutic targets in dyslipidemia[J]. *Cardiovasc Ther*, 2008, 26 (4): 297-316.

(此文编辑 文玉珊)