

血管紧张素 II 2 型受体抑制小鼠骨髓源树突状细胞的成熟及活化

唐兵¹, 速晓华¹, 陈劲松¹, 李刚¹, 杨大春¹, 杨永健¹, 朱峻¹, 李兴科², 李德¹

(1. 成都军区总医院心血管内科, 四川省成都市 610038; 2. 重庆大江医院检验科, 重庆市 401321)

[关键词] 血管紧张素 II 2 型受体; 基因转染; 树突状细胞; 细胞成熟; 动脉粥样硬化

[摘要] **目的** 研究血管紧张素 II 2 型受体(AT2R)体外基因转染对小鼠骨髓源树突状细胞(BMDC)成熟活化及部分免疫功能的影响,探讨 AT2R 参与动脉粥样硬化斑块进展的免疫机制。**方法** 取 C57BL/6J 小鼠骨髓,经分离、纯化、分化为 BMDC,先转染带有绿色荧光蛋白报告基因的 AT2R 基因重组腺病毒载体(pAdCMV/AT2R)或空病毒载体(pAd-GFP),再用脂多糖刺激为成熟 BMDC,分 PBS 对照组、脂多糖组、pAd-GFP 组、pAdCMV/AT2R 组及 pAdCMV/AT2R + PD123319 组。采用 RT-PCR、免疫荧光和激光共聚焦技术方法检测 BMDC 中 AT2R mRNA 及蛋白表达;流式细胞术检测 BMDC 表面标志 CD86 和 MHC II 的表达率;液体闪烁计数检测 BMDC 刺激同源 T 淋巴细胞增殖的能力;ELISA 法检测培养基中白细胞介素 12(IL-12)和 γ 干扰素(IFN γ)的水平。**结果** pAdCMV/AT2R 转染 BMDC 后 48~72 h 有 AT2R mRNA 表达,在激光共聚焦显微镜下胞浆及胞核有绿色荧光表达;同时在胞浆有红色荧光 AT2R 表达。与 PBS 对照组比较,pAdCMV/AT2R 组和 pAdCMV/AT2R + PD123319 组 CD86 和 MHC II 的表达、同源 T 淋巴细胞增殖和细胞因子分泌量都显著升高($P < 0.01$),但 pAdCMV/AT2R 组与脂多糖组比较显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),而 pAdCMV/AT2R + PD123319 组与脂多糖组比较差异无显著性($P > 0.05$)。**结论** 体外基因转染 BMDC 能表达 AT2R,AT2R 能抑制 BMDC 成熟诱导的局部免疫炎症反应,且 AT2R 拮抗剂能阻断此效应,推测 AT2R 可能介导稳定斑块及抑制动脉粥样斑块进展的作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Angiotensin II Type 2 Receptor Gene Transfection Inhibit Maturation of Bone Marrow Derived Dendritic Cells from Mice in Vitro

TANG Bing, SU Xiao-Hua, CHEN Jing-Song, LI Gang, YANG Da-Chun, YANG Yong-Jian, ZHU Jun, LI Xing-Ke, and LI De

(Department of Cardiology, General Hospital of PLA Chengdu Military Area Command, Chengdu, Sichuan 610038, China)

[KEY WORDS] Angiotensin II Type 2 Receptor; Gene Transfection; Dendritic Cells; Cell Maturation; Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the influence of angiotensin II type 2 receptor (AT2R) gene transfection on the maturation and some immune functions of bone marrow derived dendritic cells (BMDC) from mice and explore the mechanism of AT2R-induced immunologic function in atherogenesis. **Methods** The cell suspension was made from C57BL/6J mice marrow, purified and differentiated to BMDC. First the BMDC were transfected with pAdCMV/AT2R or control virus pAd-GFP, containing green fluorescent protein reporter gene; Then were stimulated by 100 μ g/L lipopolysaccharide (LPS) into mature DC; In the same time were added to antagonist of AT2R as pAdCMV/AT2R + PD123319 group; PBS as negative control and LPS as positive control. The expressions of AT2R in DC were evaluated by RT-PCR, immunofluorescence staining and confocal microscope. The CD86 and MHC II expressing rates were detected by fluorescence-activated cell sorting (FACS). Liquid scintillation counting(LSC) was used in mixed lymphocyte reactions (MLR) to reflect the ability of BMDC to stimulating homologous T cells proliferation. Cytokines IL-12 and IFN- γ were detected by ELISA.

[收稿日期] 2014-11-14

[修回日期] 2015-02-05

[作者简介] 唐兵,博士研究生,副主任医师,主要从事冠心病发病机制方面的研究,E-mail 为 tangbing6988@163.com。杨永健,主任医师,博士研究生导师,主要从事冠心病及心肌肥厚机制的研究,E-mail 为 yangyongjian38@yahoo.com。通讯作者李德,博士,主任医师,主要从事冠心病及心电生理的研究,E-mail 为 lide660809@yahoo.com.cn。

Results After pAdCMV/AT2R was transduced into BMDC, the expressions of AT2R mRNA significantly increased at 48 hours and 72 hours, green fluorescence localized to cell nuclei and plasm, red fluorescence labling AT2R was present in cell plasm. Compared with PBS negative control, the expressions of CD86, MHC II was significantly up-regulated in pAdCMV/AT2R group and pAdCMV/AT2R + PD123319 group ($P < 0.01$), the stimulating capacity of BMDC obviously enhanced ($P < 0.01$), levels of IFN- γ and IL-12 in the supernatant increased ($P < 0.01$); But compared with LPS positive control, the changes of pAdCMV/AT2R group were significantly decreased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), the changes of pAdCMV/AT2R + PD123319 group were not significantly different ($P > 0.05$). **Conclusion** BMDC can express AT2R stably in vitro, AT2R can inhibit the maturation and immunologic action of BMDC and antagonist of AT2R can hold up the effect, so AT2R may induce inhibition of atherosclerosis.

树突状细胞(dendritic cells, DC)是体内唯一具有显著刺激 T 细胞增殖能力的抗原提呈细胞,在免疫应答诱导中具有独特地位。根据 DC 的来源分为髓系 DC(bone marrow derived dendritic cells, BMDC)和淋巴系 DC, BMDC 与单核细胞、粒细胞有共同祖细胞,与免疫炎症反应密切相关,淋巴系 DC 与 T 细胞、自然杀伤细胞有共同祖细胞,诱发免疫耐受^[1]。动脉粥样硬化是脂质诱导的慢性免疫炎症反应,DC 在动脉粥样硬化发生、发展中的作用近来备受关注^[2],前期研究发现血管紧张素 II 2 型受体(angiotensin II type 2 receptor, AT2R)介导了抑制平滑肌细胞增殖、迁移及新生内膜增生的作用^[3],而在动脉粥样硬化斑块免疫炎症反应中 AT2R 发挥怎样的作用以及作用的机制尚不明确,且 DC 能否表达 AT2R 及 AT2R 对 DC 的免疫活性产生什么样的影响,国内外鲜有报道。本研究取 C57BL/6J 小鼠 BMDC,转染 AT2R 重组腺病毒,观察 AT2R 基因表达对 BMDC 成熟及免疫功能的影响,探讨 AT2R 参与动脉粥样硬化斑块进展的免疫炎症反应机制。

1 材料与方法

1.1 材料及主要试剂

8 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠购自中国人民解放军第三军医大学实验动物中心;带绿色荧光蛋白的空载腺病毒载体 pAd-GFP 由美国 John Hopkins 肿瘤中心 Bert Vogelstein 教授赠送;AT2R 基因编码序列腺病毒载体 pAdCMV/AT2R 由第三军医大学附属西南医院心内科构建,经 PCR 和测序鉴定,载体中含有的 AT2R 基因片段完全正确;逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)试剂盒购自美国 Promega 公司,PCR 引物由上海博亚公司合成;兔 AT2R 多克隆抗体、Cy3-SABC 荧光试剂盒购自美国 SantaCurz 公司;rmGM-CSF 和 rmIL-4 购自 R&D 公司;FITC-anti mouse CD11c + PE-antimouse CD86、PE-antimouse

MHC II 购自 Biolegend 公司; γ 干扰素(IFN- γ)、白细胞介素 12(IL-12) ELISA 试剂盒购自 R&D 公司。CD11c 免疫磁珠购自 Miltenyi Biotec 公司;氚标记的胸腺嘧啶核苷(³H-TdR)购自中国原子能科学研究院同位素研究所;闪烁液和脂多糖(LPS)购自北京莱博生物实验材料研究所。全培养基包括:RPMI 1640 (Gibco 公司),20% 胎牛血清(Gibco 公司),青霉素 100 kU/L,链霉素 100 kU/L,20 μ g/L rmGM-CSF,10 μ g/L rmIL-4。

1.2 骨髓源树突状细胞的培养及鉴定

参照文献[4]方法稍做改进。取小鼠股骨和胫骨,去掉骨两端,用 5 mL 注射器吸取 RPMI 1640 液冲洗髓腔,收集所得液体,200 目尼龙网过滤后,Tris-NH₄Cl 溶解红细胞,细胞悬于 RPMI 1640 培养液中,CD11c 免疫磁珠分离纯化细胞,加 20% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液细胞种植于 50 mL 培养瓶中,置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 孵箱中,过夜后弃去悬浮细胞,再加新鲜全培养基继续培养,隔天半量换液,每次换液均保留细胞悬液直至第 5 天。PBS 清洗后 100 μ L PBS 重悬细胞调整密度为 1×10^9 /L,加入标记抗体 FITC-CD11c + 0.1 μ g,4 $^{\circ}$ C 孵育 20 min, PBS 洗 2 遍,加入 0.5 mL PBS 重悬,流式细胞仪检测 BMDC 特异性表面标志 CD11c 的表达,用小鼠的 IgG 作空白对照。

1.3 血管紧张素 II 2 型受体基因转染 BMDC

将培养成功的 BMDC 以 5×10^6 /孔接种到装有盖玻片的 6 孔细胞培养板中;每孔加入 MOI 为 100 的 pAdCMV/AT2R 或对照病毒 pAd-GFP,37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 孵箱中以最小体积的全培养基转染 4 h,再加入含 Ang II (1×10^{-6} mol/L)的全培养基继续培养 12 h、24 h、48 h、72 h,待细胞贴壁完成后,4% 多聚甲醛固定。

1.4 免疫荧光检测 AT2R 的蛋白表达

用 CY3 红色荧光标记 AT2R,绿色荧光显示 AT2R 基因转染情况。取细胞爬片 PBS 漂洗后,用

正常羊血清封闭,滴加 1:100 兔 AT2R 多克隆抗体(一抗) 37℃ 孵育 1 h,湿盒内 4℃ 反应过夜;PBS 再次清洗后加入 1:100 生物素化抗体(二抗),湿盒内 37℃ 孵育 30 min,加 1:100 Cy3-SABC,避光湿盒内 37℃ 孵育 30 min,用 50% 甘油/碳酸盐缓冲液封片,用激光共聚焦显微镜以 543 nm 激发光波长、100 μm 点孔径观察染色细胞,检测荧光强度。

1.5 RT-PCR 检测 BMDC 中 AT2R mRNA 的表达

用 Tripure (Roche 公司) 一步法提取细胞总 RNA,取 1 μg 总 RNA 逆转录成 cDNA。引物设计:AT2R(1.1 kb) 上游 5'-GGA AGA TCT ATG AAG GAC AAC-3',下游 5'-CCG CTC GAG TTA AAC ACA A-3';GAPDH(752 bp) 上游 5'-GTG CTG AGT ATG TCG TGG AGT-3',下游 5'-GGT GGT CCA GGG TTT CTT AC-3'。反应体系 50 μL,AT2R 反应条件为 94℃ 预变性 5 min 后进入 PCR 循环;94℃ 变性 30 s,50℃ 退火 45 s,72℃ 延伸 2 min,共 33 个循环;72℃ 再延伸 10 min。反应完成后分别取 5 μL PCR 产物在 1.2% 琼脂糖凝胶上进行电泳分析,并用图像分析仪进行量化比较。

1.6 实验分组及细胞处理

将 AT2R 基因转染后的 BMDC 分为 5 组:① PBS 对照组:培养液加 PBS;② 脂多糖组:培养液加 100 μg/L 的脂多糖,刺激不成熟 BMDC 变为成熟 BMDC;③ pAd-GFP 组:培养液加脂多糖和 pAd-GFP;④ pAdCMV/AT2R 组:培养液加脂多糖和 pAdCMV/AT2R;⑤ pAdCMV/AT2R + PD123319 组:培养液加脂多糖、pAdCMV/AT2R 和 PD123319(1×10^{-6} mol/L)。五组均孵育 48 h 后保留细胞悬液。

1.7 流式细胞仪检测

收集细胞调整密度为 1×10^9 /L,每管为 100 μL,加入标记抗体 FITC-CD11c +、PE-CD86 和 PE-CD MHC II 各 0.1 μg,4℃ 孵育 20 min,PBS 洗 2 遍,加入 0.5 mL PBS 重悬,美国 Becton Dickinson 公司流式细胞仪双标检测成熟 BMDC 的表型,以 CD11c + 设门,Cell Quest 软件分析。

1.8 同种混合淋巴反应

参照文献[5]方法进行。取近交系 BALB/c 小鼠脾脏匀浆过滤后,除红细胞培养 2~3 h 后取悬浮细胞,即淋巴细胞作为反应细胞。调整淋巴细胞为 10^5 /孔,BMDC 为 10^4 /孔,在 24 孔培养板中 37℃、5% CO₂ 孵育 96 h,取上清液保存 -70℃ 测细胞因子;在培养结束前 16 h 加入 ³H-TdR (终浓度为 1 mCi/L),用液闪计数器检测每分钟荧光闪烁计数值(cpm)。

1.9 细胞因子的检测

按照 ELISA 试剂盒说明书检测同种混合淋巴反应(MLR)上清液中 IFN-γ 和 IL-12 水平。

1.10 统计学分析

使用 SPSS 10.5 统计软件进行统计分析。数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 骨髓源树突状细胞形态观察及鉴定

倒置显微镜下观察发现培养第 3 天细胞成簇生长,由圆形变为不规则形,并长出一些小刺状结构,细胞质变得丰富;培养第 5 天,毛刺状突起更加明显,胞质更加丰富。

用流式细胞仪检测了培养 5 天后细胞表面 CD11c 的特异性表达,高达 96%,说明纯度高,实验可信(图 1)。

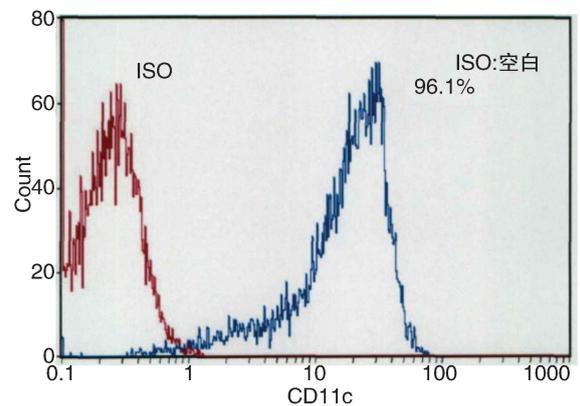


图 1. BMDC 表面分子 CD11c 的特异性表达

Figure 1. The expression of CD11c in BMDC by fluorescence-activated cell sorting

2.2 骨髓源树突状细胞转染 pAdCMV/AT2R 后 AT2R 的表达

pAdCMV/AT2R 组在激光共聚焦显微镜下,以 488 nm 激发光波长观察,BMDC 胞浆及胞核呈绿色荧光,表达绿色荧光蛋白;以 543 nm 激发光波长观察,BMDC 胞浆呈红色荧光,有 AT2R 表达(图 2),随表达时间延长其表达强度不断增加,至 48 h 表达最强;而 pAd-GFP 组仅表达绿色荧光,无红色荧光的 AT2R 表达。

2.3 骨髓源树突状细胞中 AT2R mRNA 的表达

pAdCMV/AT2R 转染后 12 h BMDC 即有 AT2R mRNA 表达,随时间延长表达逐渐增加,48 h 达高

峰,72 h 维持较强表达,而 pAd-GFP 组未见 AT2R mRNA 表达(图 3)。

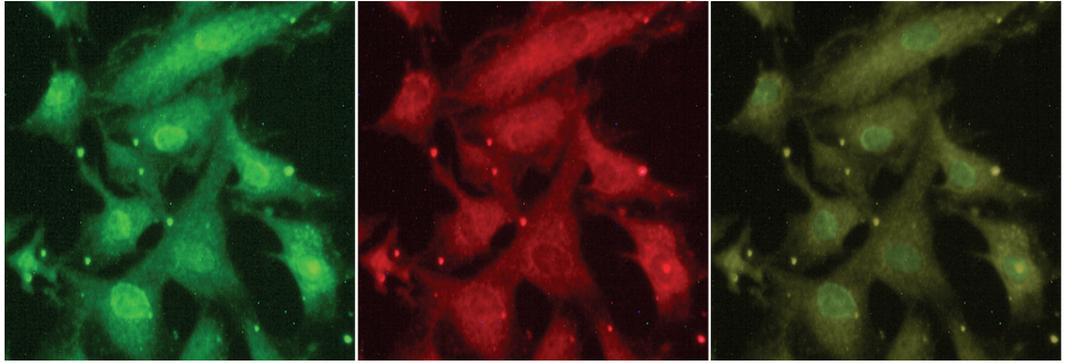


图 2. BMDC 转染 pAdCMV/AT2R 后免疫荧光检测

Figure 2. Immunofluorescence staining of BMDC after pAdCMV/AT2R transfection with confocal microscope

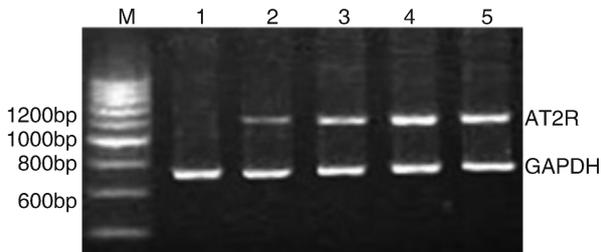


图 3. BMDC 转染 pAdCMV/AT2R 后 AT2R mRNA 表达

M 为 Marker,1 为 pAd-GFP,2~5 依次为 pAdCMV/AT2R 转染后 12 h、24 h、48 h、72 h。

Figure 3. Expression of AT2R mRNA in BMDC after pAd-CMV/AT2R transfection

2.4 骨髓源树突状细胞表面标志物 CD86 和 MHC II 的表达

AT2R 基因转染 BMDC 后予以脂多糖刺激成熟,再给予 AT2R 拮抗剂 PD123319 (1×10^{-6} mol/L),观察 BMDC 表面标志物变化,结果发现与 PBS 对照组比较,脂多糖组、pAd-GFP 组、pAdCMV/

AT2R 组及 pAdCMV/AT2R + PD123319 组的 CD86 和 MHC II 表达率均显著升高 ($P < 0.01$);与脂多糖组比较,pAd-GFP 组及 pAdCMV/AT2R + PD123319 组差异无显著性 ($P > 0.05$),而 pAdCMV/AT2R 组显著降低 ($P < 0.01$;图 4 和表 1)。提示脂多糖是 BMDC 成熟的强诱导剂,AT2R 能抑制脂多糖所诱导的 BMDC 成熟,而 AT2R 抑制剂能阻断此效应。

表 1. 成熟表型 CD86 和 MHC II 的表达

Table 1. Levels of phenotype on BMDC maturation

分 组	CD86	MHC II
PBS 对照组	32.30% ± 4.67%	30.70% ± 2.54%
脂多糖组	97.40% ± 5.86% ^a	86.80% ± 5.31% ^a
pAd-GFP 组	96.30% ± 3.44% ^a	83.20% ± 1.59% ^a
pAdCMV/AT2R 组	70.70% ± 6.39% ^{ab}	55.40% ± 3.71% ^{ab}
pAdCMV/AT2R + PD123319 组	92.90% ± 6.11% ^{ac}	85.40% ± 6.02% ^{ac}

a 为 $P < 0.01$,与 PBS 对照组比较;b 为 $P < 0.01$,与脂多糖组比较;c 为 $P < 0.05$,与 pAdCMV/AT2R 组比较。

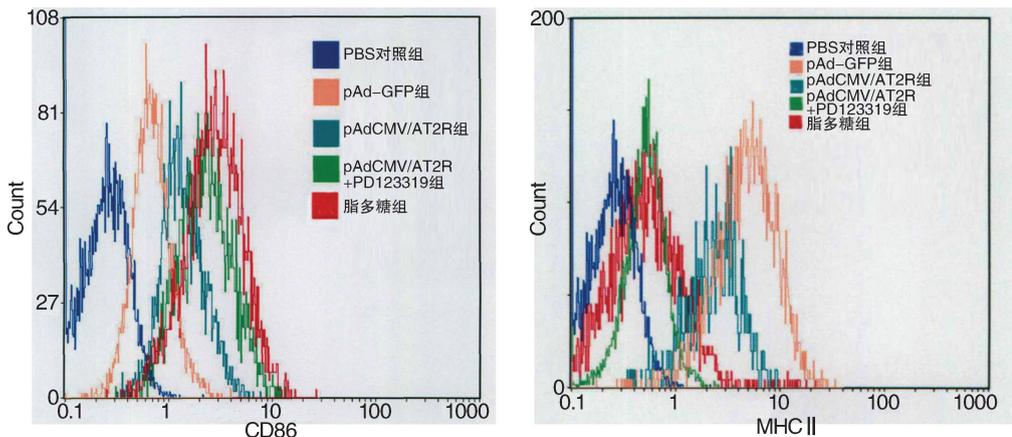


图 4. CD86 和 MHC II 表达的流式波形图

Figure 4. The expression of CD86 and MHC II in BMDC by liquid scintillation counting

2.5 同种混合淋巴反应

$^3\text{H-TdR}$ 掺入法检测各实验组 cpm 值变化和 T 细胞增殖差异,以反映各实验组 BMDC 促进 T 细胞活化的能力不同。结果发现 pAdCMV/AT2R 组、pAdCMV/AT2R + PD123319 组淋巴细胞反应 cpm 值显著高于 PBS 对照组 ($P < 0.01$),但 pAdCMV/AT2R 组较脂多糖组显著降低 ($P < 0.01$),而 pAdCMV/AT2R + PD123319 组与脂多糖组比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。脂多糖组及 pAd-GFP 组的刺激指数 (SI) 都大于 2,结果显示为阳性 (表 2)。说明 AT2R 表达上调能降低 BMDC 刺激 T 淋巴细胞增殖的能力,而 AT2R 抑制剂能增强 BMDC 刺激 T 淋巴细胞增殖的能力。

表 2. 同种异体混合淋巴细胞反应 ($n = 3$)

Table 2. Liquid scintillation counting in mixed lymphocyte reactions ($n = 3$)

分 组	荧光闪烁计数值 (/min)	刺激指数
T 细胞对照组	317.40 ± 53.72	-
PBS 对照组	390.40 ± 114.94	1.23
脂多糖组	1266.50 ± 162.12 ^a	3.99
pAd-GFP 组	1361.60 ± 124.12 ^a	4.29
pAdCMV/AT2R 组	859.80 ± 201.70 ^{ab}	2.71
pAdCMV/AT2R + PD123319 组	1155.60 ± 197.53 ^{ac}	3.64

刺激指数 = 实验组 cpm 值 / 对照组 cpm 值。a 为 $P < 0.01$,与 PBS 对照组比较; b 为 $P < 0.01$,与脂多糖组比较; c 为 $P < 0.05$,与 pAdCMV/AT2R 组比较。

2.6 细胞因子的检测

脂多糖组、pAd-GFP 组、pAdCMV/AT2R 组和 pAdCMV/AT2R + PD123319 组 IFN- γ 和 IL-12 含量显著高于 PBS 对照组 ($P < 0.01$),pAdCMV/AT2R 组较脂多糖组降低 ($P < 0.05$),pAdCMV/AT2R + PD123319 组与脂多糖组比较差异无显著性 ($P > 0.05$; 表 3)。提示 AT2R 表达上调能削减炎症细胞因子的释放,抑制免疫应答。

表 3. ELISA 法检测细胞因子浓度 ($\bar{x} \pm s, n = 3, \text{ng/L}$)

Table 3. Detection of cytokines concentration by ELISA ($\bar{x} \pm s, n = 3, \text{ng/L}$)

分 组	IFN- γ	IL-12
PBS 对照组	247.86 ± 123.52	118.23 ± 179.33
脂多糖组	887.51 ± 382.19 ^a	522.41 ± 201.77 ^a
pAd-GFP 组	792.43 ± 296.52 ^a	593.82 ± 245.66 ^a
pAdCMV/AT2R 组	537.68 ± 205.35 ^{ab}	321.88 ± 186.69 ^{ab}
pAdCMV/AT2R + PD123319 组	734.27 ± 311.26 ^{ac}	483.72 ± 224.54 ^{ac}

a 为 $P < 0.01$,与 PBS 对照组比较; b 为 $P < 0.05$,与脂多糖组比较; c 为 $P < 0.05$,与 pAdCMV/AT2R 组比较。

3 讨 论

血管紧张素 II 是血管紧张素系统的重要效应分子,主要通过其 1 型受体 (angiotensin II type 1 receptor, AT1R) 和 2 型受体 (AT2R) 发挥多种生物学效应。大量研究证实 AT1R 促进平滑肌细胞增殖、迁移及胞外基质的合成而参与高血压、动脉粥样硬化和新生内膜增生的病理过程^[6]; 离体细胞和在体 AT2R 基因转染及基因敲除均证实 AT2R 抑制平滑肌细胞增殖、迁移及胞外基质的合成,介导抑制血管损伤后的新生内膜增生^[1],而关于 AT2R 在动脉粥样硬化进展中的作用研究甚少。Nahmod 等^[7] 研究发现, ApoE^{-/-} 小鼠高脂饮食组动脉粥样硬化血管中 AT2R 的表达高于普通饮食组,在 ApoE^{-/-} / AT2R⁺ 小鼠给予高脂饮食后,动脉粥样斑块的面积低于 ApoE^{-/-} / AT2R⁻ 小鼠,AT2R 可能介导了抑制动脉粥样硬化斑块进程的作用,通过抗氧化机制减少凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 表达,促进内皮性一氧化碳合成酶和血红素氧化酶 1 的释放,增加一氧化碳生成,减少单核细胞和巨噬细胞聚集、抑制胶原合成及细胞增殖,并促进巨噬细胞凋亡。虽然平滑肌细胞、内皮细胞、成纤维细胞表达 AT2R,仅有一离体实验报告 AT2R 在单核细胞或巨噬细胞中表达,双染色显示在动脉粥样硬化病变的平滑肌细胞和巨噬细胞中有 AT2R 表达,是巨噬细胞 AT2R 的直接作用还是平滑肌细胞表达 AT2R 的旁分泌效应尚不明确^[8],有必要研究在动脉粥样硬化始动环节中 AT2R 对免疫炎症细胞的作用。

参与动脉粥样硬化发生、发展的多种致病因素,如缺氧、肿瘤坏死因子 α 、低密度脂蛋白氧化产物,均可促进动脉粥样硬化早期 DC 黏附至血管内皮细胞并趋化至内膜下,在局部摄取和递呈异物抗原,同时表达组织相容性复合物 (MHC II) 类分子、T 淋巴细胞共刺激分子 CD80、CD86、CD58 及黏附分子,从而活化 T 淋巴细胞,损伤血管内皮细胞,激活单核/巨噬细胞、平滑肌细胞产生炎症细胞因子 IL-12 和 IFN- γ 、趋化因子及基质金属蛋白酶等,从而启动动脉粥样硬化的免疫炎症反应^[9-10]。因此,DC 的成熟活化是动脉粥样硬化斑块进展的关键环节,要探索 AT2R 在粥样斑块进程免疫反应中的作用,需要明确 DC 能否表达 AT2R 及 AT2R 对 DC 成熟活化的影响。

本研究在细胞水平观察了 BMDC 转染 AT2R 基因后对 BMDC 成熟活化及刺激 T 细胞能力的影响,结果表明 BMDC 转染 AT2R 基因后 48 ~ 72 h,无论

在 mRNA 水平还是蛋白水平均有较稳定的 AT2R 表达,并且给予脂多糖刺激 BMDC 成熟时,能显著下调 BMDC 表面的共刺激分子 CD86 和 MHC II 的表达,降低 BMDC 对 T 细胞刺激增生的能力,减少炎症细胞因子 IFN- γ 和 IL-12 的分泌,而空载病毒转染 BMDC 予以脂多糖刺激,仍高表达 CD86 和 MHC II,刺激 T 细胞增生的能力及炎症细胞因子分泌未减少,提示脂多糖是 BMDC 成熟及活化的强诱导剂,AT2R 能抑制 BMDC 成熟及其所诱发的炎性反应,同时 AT2R 拮抗剂的应用能阻断 AT2R 上调表达所带来的抑制效应,更进一步证实 AT2R 上调表达能抑制 BMDC 介导的局部免疫炎性反应,是 AT2R 抑制动脉粥样硬化斑块进展机制研究的有力补充。

[参考文献]

- [1] Wei-guo Z, Hui Y, Shan L, et al. PPAR-gamma agonist inhibits Ang II-induced activation of dendritic cells via the MAPK and NF-kappaB pathways[J]. Immunol Cell Biol, 2010, 88(3): 305-312.
- [2] Yang L, Du C, Chen T, et al. Distinct MAPK pathways are involved in IL-23 production in dendritic cells cocultured with NK cells in the absence or presence of angiotensin II[J]. Mol Immunol, 2012, 51(1): 51-56.
- [3] 唐兵,何国祥,李德,等.腺病毒介导的 AT2R 基因转染对大鼠颈动脉新生内膜增生的抑制作用[J].解放军医学,2005,30(12):1 068-071.
- [4] Inaba K, Inaba M, Romani N, et al. Generation of large number of dendritic cells from mouse bone marrow cultures supplemented with granulocyte/macrophage colony2 stimulating factor [J]. J Exp Med, 1992, 176: 1 693-702.
- [5] 许增祥,谢闵,唐雅玲,等.氧化修饰高密度脂蛋白促进 C57BL/6J 小鼠骨髓源性树突状细胞成熟活化[J].中国动脉硬化杂志,2009,17(1):39-42.
- [6] Brugts JJ, van Vark L, Akkerhuis M, et al. Impact of renin-angiotensin system inhibitors on mortality and major cardiovascular endpoints in hypertension: a number-needed-to-treat analysis [J]. Int J Cardiol, 2014, 181C: 425-429.
- [7] Nahmod K, Gentilini C, Vermeulen M. Impaired function of dendritic cells deficient in angiotensin II type 1 receptors[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2010, 334(3): 854-862.
- [8] Matavelli LC, Zatz R, Siragy HM. A nonpeptide angiotensin II type2 receptor agonist prevents renal inflammation in early diabetes [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2015, 14: 223-230.
- [9] Chen C, Meng Y, Wang L. Ubiquitin-activating enzyme E1 inhibitor PYR41 attenuates angiotensin II-induced activation of dendritic cells via the I κ Ba/NF- κ B and MKP1/ERK/STAT1 pathways[J]. Immunology, 2014, 23(1): 457-462.
- [10] Harrison DG, Marvar PJ, Titze JM. Vascular inflammatory cells in hypertension [J]. Front Physiol, 2012, 7(3): 128.

(此文编辑 许雪梅)