

核因子 κ B 通过 Sortilin 促进荷脂 THP-1 巨噬细胞泡沫化

高安博, 彭田红, 钟丽园, 孙莎, 陈熙, 万炜, 谢巍, 李素云, 吕运成

(南华大学医学院 应用解剖与生殖医学研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] Sortilin; 核因子 κ B; 巨噬细胞; 脂质蓄积; 泡沫化

[摘要] **目的** 探究核因子 κ B(NF- κ B)是否通过分选蛋白 Sortilin 影响荷脂 THP-1 巨噬细胞脂质代谢和泡沫化。**方法** NF- κ B 激活剂 PMA 或其特异性抑制剂 PDTC 孵育荷脂 THP-1 巨噬细胞, qRT-PCR 检测 Sortilin mRNA 水平, Western blot 检测 Sortilin 蛋白表达; 沉默荷脂 THP-1 巨噬细胞 Sortilin 同时加入 PMA 孵育, 胞内胆固醇流出行液体闪烁计数器检测, 胞内脂质含量行高效液相色谱法检测, 胞内脂滴情况用油红 O 染色显示。**结果** PMA 孵育处理荷脂 THP-1 巨噬细胞后 Sortilin mRNA 水平及蛋白表达上调, PDTC 孵育处理后 Sortilin mRNA 水平及蛋白表达下调; PMA 孵育处理荷脂 THP-1 巨噬细胞内脂质流出减少, 脂质蓄积程度增加, 泡沫细胞形成加剧, 而 PMA 与 Sortilin shRNA 共处理后, 其胞内脂质流出增多, 胞内脂质蓄积程度减轻, 泡沫细胞形成受抑。**结论** NF- κ B 通过促进 Sortilin 表达, 导致巨噬细胞内脂质流出受抑, 胞内脂质蓄积程度加重, 从而加剧泡沫细胞形成。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

NF- κ B regulates Sortilin expression to promote the transformation of lipid-laden THP-1 macrophage to foam cell

GAO Anbo, PENG Tianhong, ZHONG Liyuan, SUN Sha, CHEN Xi, WAN Wei, XIE Wei, LI Suyun, LV Yuncheng
(Clinical Anatomy & Reproductive Medicine Application Institute, School of Medicine, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] Sortilin; nuclear factor kappa B; macrophage; lipid accumulation; foam cell formation

[ABSTRACT] **Aim** To explore whether nuclear factor kappa B (NF- κ B) manipulates Sortilin expression to regulate lipid metabolisms and foam cell formation of lipid-laden THP-1 macrophage. **Methods** The levels of Sortilin mRNA and protein were detected by quantitative real-time PCR (qRT-PCR) and Western blot in lipid-laden THP-1 macrophage incubated with NF- κ B activator phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) or its specific inhibitor ammonium pyrrolidinedithiocarbamate (PDTC). Under the lipid-laden THP-1 macrophage treated with Sortilin shRNA and together with PMA, cholesterol efflux from macrophage was measured by liquid scintillation counting apparatus, intracellular lipid contents were detected by high performance liquid chromatography, and the intracellular lipid droplets were stained with oil red O.

Results PMA treatment increased the levels of Sortilin mRNA and protein in lipid-laden THP-1 macrophage, whereas PDTC incubation decreased macrophage Sortilin expression. When lipid-laden THP-1 macrophage was treated with PMA alone, the cholesterol efflux of macrophages was reduced, the intracellular lipid accumulation was increased, and foam cell formation was increased. Reversely, the cholesterol efflux of lipid-laden macrophage was increased, the intracellular lipid accumulation was decreased, and foam cell formation was reduced under the treatment with Sortilin shRNA and supplemented with PMA. **Conclusion** NF- κ B promotes Sortilin expression to inhibit the cholesterol efflux from lipid-laden macrophage and accelerates the accumulation of intracellular lipid and the formation of foam cell.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)早期病理生理改变是以脂质沉积于动脉内膜下和巨噬细胞源

性泡沫细胞形成为主要特征,其中巨噬细胞脂质代谢紊乱所致的泡沫细胞形成在 As 发展进程中起着

[收稿日期] 2018-03-16

[修回日期] 2018-04-16

[基金项目] 国家自然科学基金(81770460);加拿大萨斯喀彻温省卫生研究基金会博士后基金(SHRF4144);衡阳市科学技术发展计划项目(2017KJ268,2017KJ182);南华大学博士启动资金(2014XQD37)

[作者简介] 高安博,硕士研究生,研究方向为动脉粥样硬化的病因及发病学,E-mail 为 513904562@qq.com。通信作者吕运成,博士,副教授,硕士研究生导师,研究方向为动脉粥样硬化的病因及发病学,E-mail 为 anthony0723@163.com。

重要作用^[1-2]。因此,探索在巨噬细胞脂质代谢过程中发挥调控作用的分子机制对抑制巨噬细胞泡沫化及 As 的发生发展具有重要意义^[3]。作为新发现的脂质代谢调控因子分选蛋白 Sortilin 在巨噬细胞脂质代谢紊乱以及 As 的发生发展过程中起到明显的促进作用。国内外研究提示,巨噬细胞 Sortilin 能影响多种脂质代谢基因的表达与功能,最终引起巨噬细胞内脂质蓄积而加速泡沫细胞形成,从而促进 As 进展,但目前对其表达调控的机制却知之甚少^[4-5]。核因子 κ B (nuclear factor kappaB, NF- κ B) 在巨噬细胞脂质代谢和 As 的发生发展中发挥着重要作用^[6]。NF- κ B 激活后转位进入巨噬细胞核,通过调节其下游多种脂质相关靶基因的表达,引起巨噬细胞脂质代谢紊乱,加速泡沫细胞的形成,并参与 As 病理生理过程的分子信号转导^[7-8]。本文以荷脂 THP-1 巨噬细胞为研究对象,首先观察干预 NF- κ B 后对荷脂 THP-1 巨噬细胞 Sortilin 表达的影响,进一步激活 NF- κ B 并沉默 Sortilin 后,分析 NF- κ B 通过 Sortilin 影响荷脂 THP-1 巨噬细胞的胆固醇流出和胞内脂质含量,探讨 NF- κ B 对 Sortilin 表达的调控机制,并初步阐明 NF- κ B 通过 Sortilin 促进巨噬细胞内脂质蓄积。

1 材料和方法

1.1 主要材料

单核细胞(THP-1)购自美国模式菌种收集中心(ATCC);佛波酯(phorbol myristate acetate, PMA)和吡咯烷二硫代氨基甲酸铵(ammonium pyrrolidinedithiocarbamate, PDTC)购自 Sigma 公司;低内毒素胎牛血清及 RPMI1640 培养基购自 Solarbio 科技有限公司;氧化型低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, ox-LDL)购自北京协生生物公司;Sortilin 抗体购自 Abcam 公司;NF- κ B/p65 抗体购自 Cell Signaling Technology (CST) 公司; β -actin 抗体购自博士德生物;Sortilin shRNA 和 riboFECTTM CP 转染试剂购自广州市锐博生物公司。

1.2 细胞培养与处理

用完全培养基(10%胎牛血清+90%RPMI1640 培养液)静置培养 THP-1 细胞于 37℃、5%CO₂ 培养箱中。160 nmol/L PMA 于每次实验前孵育诱导 THP-1 细胞 24 h,使其分化成巨噬细胞,孵育完成后移除 PMA 并更换完全培养基,同时加入 50 mg/L ox-LDL 孵育 48 h,促使 THP-1 巨噬细胞荷脂成为 THP-1 源性泡沫细胞后备用。

1.3 Sortilin shRNA 转染

参照国家生物技术信息中心(national center for biotechnology information, NCBI)收录的 Sortilin 基因序列(Gene ID:6272),设计人 Sortilin 基因的短发夹 RNA(short hairpin RNA, shRNA)序列为 5'-GAG-GCATTGTCTATTCCAA-3'。用 riboFECTTM CP 转染试剂将 shRNA 转染至荷脂 THP-1 巨噬细胞(2×10^6 细胞/孔),转染浓度为 50 nmol/L。严格遵循转染试剂盒说明书完成转染操作。

1.4 实时荧光定量 PCR 检测 Sortilin mRNA

收集实验处理后细胞,严格遵照 Trizol 试剂盒(购自上海生工公司)说明提取总 RNA, RNA 浓度以紫外分光光度计重复测量 3 次,取光密度(optical density, OD)260 nm/280 nm 介于 1.8~2.1 的样本用于反转录合成互补 DNA(complementary DNA, cDNA),所有引物均由 Primer 5.0 软件设计,宝日医(Takara)生物公司进行合成。Sortilin 引物正义链为 5'-GGGGACCAAACAACATCATC-3',反义链为 5'-AAGGGCTCATGACCACAGTC-3',PCR 扩增产物长度 458 bp; β -actin 引物正义链为 5'-TCAGGTCATCAC-TATCGGCAAT-3',反义链为 5'-AAAGAAAGGCTGTA-AAACG CA-3',PCR 扩增产物长度为 432 bp。荧光定量 PCR 分析严格按照 SYBR Green 荧光定量试剂盒的说明进行,反应条件:94℃温育预变性 5 min, 94℃变性 45 s, 62℃退火 30 s, 72℃延伸 30 s, 共 40 个循环。结果根据 Sortilin 和 β -actin 的阈值(Ct 值),利用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行基因相对表达分析,计算 Sortilin mRNA 的表达水平。

1.5 Western blot 检测 Sortilin 蛋白表达

收集处理后细胞,加入适量 RIPA 裂解液(购自奥维亚生物公司),冰上裂解 30 min 后于 4℃、12000 r/min 离心 10 min,保留上清,4:1 比例加入上样缓冲液(5×)(购自上海碧云天生物科技有限公司),100℃蛋白质变性 10 min, -20℃冷藏备用。10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶行蛋白分离,恒压 80 V 电泳 30 min 后转恒压 120 V 电泳 60 min;电泳完毕后根据 Marker 显示,切取相应胶带进行转膜,恒压 13 V 转 0.45 μ m 聚偏二氟乙烯印迹膜 45 min。封闭液封闭 2 h,鼠源性一抗(1:2000)4℃孵育 8 h, TBST 漂洗 3 次,每次 10 min,辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠二抗(1:1000)室温孵育 1 h, TBST 漂洗 3 次。Tanon MP 软件扫描获取目的蛋白及内参蛋白的条带图像,将目的蛋白条带光密度值与内参相对比并行半定量分析。

1.6 液体闪烁计数法检测胞内胆固醇流出

PMA 孵育 THP-1 诱导其成为巨噬细胞后,加 50 mg/L ox-LDL 和 1 μ Ci/L [3 H]胆固醇入用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)洗涤后的细胞中共浴标记 48 h 后,将细胞静置培养于含 2 g/L 牛血清白蛋白的 RPMI1640 培养液中 24 h,重悬经 PBS 再次洗涤的细胞置于 10 mg/L 载脂蛋白 A I (apolipoprotein A I, ApoA I) 的新鲜培养基中孵育培养 12 h。培养液和细胞内 [3 H]胆固醇含量行闪烁计数法检测,用培养液每分钟记数(counts per minute, CPM)除以总 CPM(培养液 CPM + 细胞 CPM),再乘以 100% 来表示胆固醇的流出。

1.7 高效液相色谱检测胞内胆固醇含量

各组分别加入 50 mg/L ox-LDL 孵育 48 h 行脂质流出实验后收集细胞。巨噬细胞内的总胆固醇(total cholesterol, TC)水平、游离胆固醇(free cholesterol, FC)水平和胆固醇酯(cholesterol ester, CE)水平采用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)进行测定,结果以内参蛋白校准,统计所得峰面积,并计算胆固醇酯与总胆固醇的比值。

1.8 油红 O 染色

将 THP-1 细胞接种于盖有无菌免洗盖玻片的 6 孔板中,诱导其分化成为泡沫细胞行脂质流出实验后, PBS 洗涤细胞 3 次, 4% 多聚甲醛固定细胞 10 min, PBS 洗涤 1~2 min, 油红 O 工作液室温染色 20 min, 以去离子水清洗 2 次, 苏木素(购自上海碧云天生物科技有限公司)染核 10 min 后去离子水清洗 5~7 min, 0.5% 盐酸酒精快速分化并以清水返蓝后, 在 40 倍显微镜下观察并拍照, 显示的鲜红色颗粒为脂滴, 蓝色核团为细胞核。

1.9 统计学分析

以上所有实验均重复 3 次。SPSS22.0 统计软件分析实验所得数据并采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用组间比较的方差分析及两两比较的 LSD-*t* 检验进行分析。 $P < 0.05$ 判定差异有显著性。

2 结果

2.1 NF- κ B 对荷脂 THP-1 巨噬细胞 Sortilin mRNA 水平的影响

为观察 NF- κ B 是否影响 THP-1 巨噬细胞 Sortilin mRNA 的水平, 将 THP-1 巨噬细胞分为 3 组: Control 组: 加入 10 μ L DMSO; PMA 组: 加入 50 μ g/L PMA; PDTC 组: 加入 50 μ mol/L PDTC, 每组均

处理 24 h。qRT-PCR 结果显示, 与 Control 组相比, PMA 组巨噬细胞 Sortilin mRNA 的水平明显升高, PDTC 组巨噬细胞 Sortilin mRNA 的水平则明显降低(图 1), 提示 NF- κ B 可上调 THP-1 巨噬细胞 Sortilin mRNA 的水平。

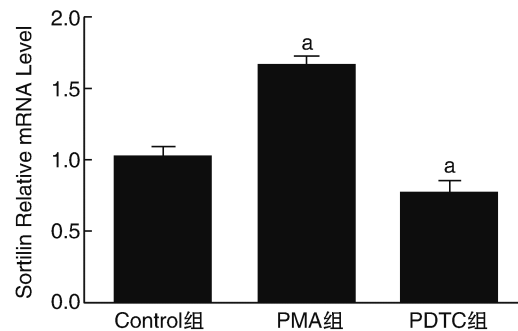


图 1. 干预 NF- κ B 后 THP-1 巨噬细胞 Sortilin mRNA 水平的变化 a 为 $P < 0.05$, 与 Control 组比较。

Figure 1. Alterations of Sortilin mRNA levels in THP-1 macrophage under the intervention of NF- κ B

2.2 NF- κ B 对荷脂 THP-1 巨噬细胞 Sortilin 蛋白表达的影响

实验分组同“结果 2.1”。处理 24 h 后, Western blot 结果表明, 与 Control 组相比, PMA 组巨噬细胞 Sortilin 蛋白的表达明显增加, PDTC 组巨噬细胞 Sortilin 蛋白的表达明显降低(图 2), 提示 NF- κ B 可上调 THP-1 巨噬细胞 Sortilin 蛋白的表达。

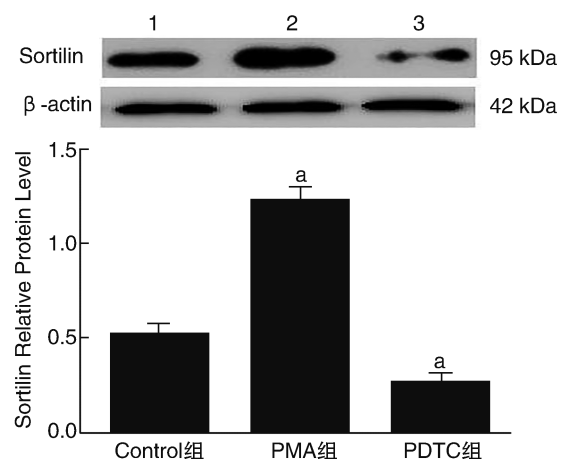


图 2. 干预 NF- κ B 后 THP-1 巨噬细胞 Sortilin 蛋白表达的变化 1 为 Control 组, 2 为 PMA 组, 3 为 PDTC 组。a 为 $P < 0.05$, 与 Control 组比较。

Figure 2. Alterations of Sortilin protein levels in THP-1 macrophage under the intervention of NF- κ B

2.3 NF- κ B 通过 Sortilin 对荷脂 THP-1 巨噬细胞脂质流出的影响

研究表明,NF- κ B 可通过抑制 THP-1 巨噬细胞内胆固醇流出,从而促进胞内脂质蓄积^[7]。为探究 NF- κ B 是否通过 Sortilin 影响荷脂 THP-1 巨噬细胞内脂质流出,将荷脂 THP-1 巨噬细胞分为 5 组:Control 组:加入 2 μ L DMSO;Scramble shRNA 组:转染 Scramble shRNA;Sortilin shRNA 组:转染 Sortilin shRNA;PMA+Sortilin shRNA 组:加入 50 μ g/L PMA 并转染 Sortilin shRNA;PMA 组:加入 50 μ g/L PMA。Western blot 结果表明,与 Control 组相比,Sortilin shRNA 组 Sortilin 的蛋白表达明显降低;与 PMA 组相比,PMA+Sortilin shRNA 组 Sortilin 的蛋白表达也显著下降,提示成功抑制 Sortilin 表达(图 3)。各组细胞均同时加入 50 mg/L ox-LDL 和 1 μ Ci/L [³H] 胆固醇孵育标记 48 h 后,将各组细胞分别重悬于含 10 mg/L ApoA I 的培养基中,孵育 12 h 后收集细胞和培养液,液体闪烁计数器行分析检测。结果表明,与 Control 组相比,Sortilin shRNA 组巨噬细胞胆固醇流出明显增多,PMA 组巨噬细胞胆固醇流出明显减少;与 PMA 组相比,PMA+Sortilin shRNA 组巨噬细胞胆固醇流出则明显增多。提示 NF- κ B 可通过 Sortilin 抑制 THP-1 巨噬细胞内脂质流出,促进胞内脂质蓄积(图 4)。

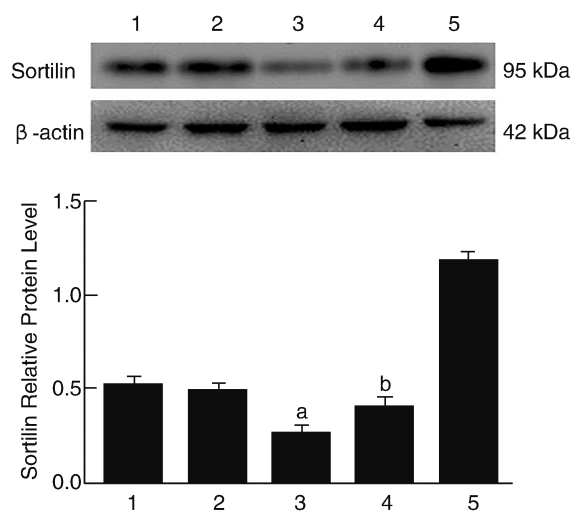


图 3. 激活 NF- κ B 并沉默 Sortilin 对 THP-1 巨噬细胞 Sortilin 蛋白表达的影响 1 为 Control 组,2 为 Scramble shRNA 组,3 为 Sortilin shRNA 组,4 为 PMA+Sortilin shRNA 组,5 为 PMA 组。a 为 $P<0.05$,与 Control 组比较;b 为 $P<0.05$,与 PMA 组比较。

Figure 3. Alterations of Sortilin protein levels in THP-1 macrophage under NF- κ B activation and Sortilin silence

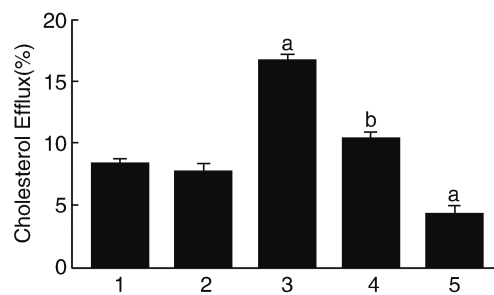


图 4. 激活 NF- κ B 并沉默 Sortilin 对 THP-1 巨噬细胞胆固醇流出的影响 1 为 Control 组,2 为 Scramble shRNA 组,3 为 Sortilin shRNA 组,4 为 PMA+Sortilin shRNA 组,5 为 PMA 组。a 为 $P<0.05$,与 Control 组比较;b 为 $P<0.05$,与 PMA 组比较。

Figure 4. Alterations of Sortilin-mediated cholesterol efflux in macrophage under NF- κ B activation and Sortilin silence

2.4 NF- κ B 通过 Sortilin 对荷脂 THP-1 巨噬细胞脂质含量的影响

实验分组同“结果 2.3”。各组细胞分别加入 50 mg/L ox-LDL 孵育 48 h 后进行脂质流出实验,采用 HPLC 检测所收集细胞内胆固醇的含量。结果显示,与 Control 组相比,Sortilin shRNA 组巨噬细胞内 TC、FC 和 CE 的含量明显减少,而 PMA 组结果则相反;与 PMA 组相比,PMA+Sortilin shRNA 组巨噬细胞内 TC 和 CE 的含量明显减少(表 1)。这些数据证实 NF- κ B 可通过 Sortilin 增加 THP-1 巨噬细胞内胆固醇含量,促进胞内脂质蓄积。

表 1. 激活 NF- κ B 并沉默 Sortilin 对荷脂 THP-1 巨噬细胞内胆固醇含量的影响($n=3$)

Table 1. Alterations of cholesterol contents in lipid-laden THP-1 macrophage under NF- κ B activation and Sortilin silence ($n=3$)

分 组	TC (mg/g protein)	FC (mg/g protein)	CE (mg/g protein)	CE/TC (%)
Control 组	345.86±21.65	159.27±17.33	186.59±16.39	53.95
Scramble shRNA 组	346.09±20.41	160.86±16.52	185.23±17.18	53.52
Sortilin shRNA 组	326.47±18.79 ^a	156.09±14.92 ^a	170.38±16.36 ^a	52.19
PMA+Sortilin shRNA 组	361.50±21.33 ^b	171.83±15.58	189.67±18.45 ^b	52.47
PMA 组	380.82±20.56 ^a	176.09±14.71 ^a	204.73±17.54 ^a	53.76

a 为 $P<0.05$,与 Control 组比较;b 为 $P<0.05$,与 PMA 组比较。

2.5 NF- κ B 通过 Sortilin 对荷脂 THP-1 巨噬细胞内脂滴的影响

实验分组同“结果 2.3”。各组细胞分别加入 50 mg/L ox-LDL 孵育 48 h 后进行脂质流出实验,采用油红 O 染色判别胞内脂滴情况。结果表明,与

Control 组相比,PMA 组巨噬细胞内脂滴肥大,数量增多,THP-1 巨噬细胞泡沫化明显,而 Sortilin shRNA 组巨噬细胞胞内脂滴瘦小,数量稀少,THP-1 巨噬细胞泡沫化明显减轻;与 PMA 组相比,PMA+

Sortilin shRNA 组巨噬细胞胞内脂滴瘦小,数量减少,THP-1 巨噬细胞泡沫化减轻(图 5)。结果证实 NF- κ B 可通过 Sortilin 促进胞内脂质蓄积,加速 THP-1 巨噬细胞泡沫化进程。

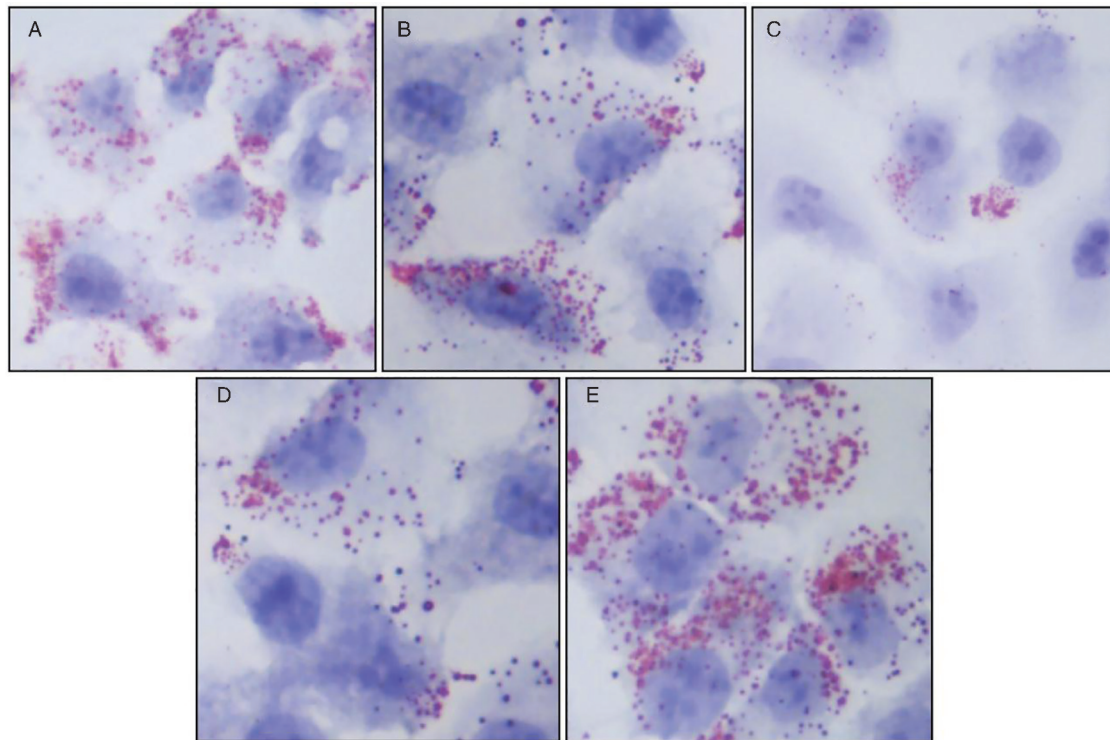


图 5. 激活 NF- κ B 并沉默 Sortilin 对荷脂 THP-1 巨噬细胞内脂滴的影响 (40 \times) A 为 Control 组,B 为 Scramble shRNA 组,C 为 Sortilin shRNA 组,D 为 PMA+Sortilin shRNA 组,E 为 PMA 组。

Figure 5. Alterations of lipid droplets in THP-1 macrophage under NF- κ B activation and Sortilin silence (40 \times)

3 讨论

巨噬细胞脂质代谢紊乱失衡、泡沫细胞形成是加剧 As 发生发展的重要因素^[1,9]。研究表明,泡沫细胞的形成归咎于巨噬细胞不断摄取大量胆固醇,而其胞内胆固醇的流出受阻又可进一步加剧 As 的进程^[10-11]。本研究结果发现,激活 NF- κ B 可明显上调 THP-1 巨噬细胞 Sortilin 的表达,相反,使用 NF- κ B 特异性抑制剂 PDTC 则明显下调 THP-1 巨噬细胞 Sortilin 的表达;进一步探究激活 NF- κ B 促进巨噬细胞脂质蓄积的机制发现,NF- κ B 可通过 Sortilin 抑制巨噬细胞内胆固醇流出,从而促进胞内脂质蓄积,加速泡沫细胞的形成。

作为囊泡分拣因子 10 (vacuolar protein sorting 10, Vps10p) 结构域受体家族中的一员,Sortilin 参与巨噬细胞脂质代谢调控并与 As 的发生发展密切相关。Patel 等^[12]发现,敲除低密度脂蛋白受体 (LDL-receptor, LDLR) 的 As 模型鼠中同时敲除 Sortilin,其

巨噬细胞内 TC 含量下降 28%,FC 和 CE 分别下降 25% 及 32%。钟等^[13]发现,过表达 THP-1 巨噬细胞 Sortilin 后可抑制巨噬细胞内脂质流出,促进胞内脂质蓄积并加速巨噬细胞泡沫化进程。而与上述研究结果相一致的是,本研究通过激活 NF- κ B,发现巨噬细胞 Sortilin 表达明显升高,且伴有巨噬细胞内脂质蓄积和明显的泡沫化现象。而进一步激活 NF- κ B 并同时沉默 Sortilin 后,我们还发现 THP-1 巨噬细胞胆固醇流出明显增加,胞内脂质蓄积和泡沫化程度显著降低,说明 Sortilin 在 NF- κ B 促进巨噬细胞脂质蓄积这一病理生理过程中发挥重要作用。

近年来研究表明,体内脂质代谢重要调控因子 Sortilin 受到多种因子的严密调控。Zhang 等^[14]采用 microRNA-182 模拟物刺激血管平滑肌细胞发现 Sortilin 蛋白表达明显减少。Li 等^[15]发现特异性抑制胰岛素通路关键蛋白磷脂酰肌醇激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K) 表达后脂肪细胞 Sortilin 蛋白表达亦出现明显下降,而在抑制蛋白激酶 B

(protein kinase B, AKT)磷酸化后,脂肪细胞 Sortilin 蛋白表达同样出现明显下降。但在这些实验研究中 Sortilin mRNA 水平并无明显变化,提示 microRNA-182、PI3K 及 AKT 均在转录后水平调控 Sortilin 表达。而本研究发现 NF- κ B 不仅促进巨噬细胞 Sortilin 蛋白的表达,且明显上调 Sortilin mRNA 水平。NF- κ B 很可能是激活后转位入核,与 Sortilin 基因的启动子或增强子上特定定位点特异性结合,从而在转录水平促进 Sortilin 的表达。故本实验研究发现 NF- κ B 在转录水平上调荷脂 THP-1 巨噬细胞 Sortilin 表达,从而导致胆固醇流出受抑、胞内脂质蓄积程度加重,进而加速巨噬细胞泡沫化进程。

巨噬细胞脂质代谢的失衡在泡沫细胞形成的整个过程中起决定性作用,因此促进脂质流出是调节巨噬细胞脂质代谢稳态的关键,对 As 的防治尤其在抑制巨噬细胞泡沫化方面具有重要意义^[3,16]。本研究发现 NF- κ B 可通过促进 Sortilin 的表达,从而抑制 THP-1 巨噬细胞内脂质流出、加剧泡沫化,对于其中具体的分子机制,我们推测存在两个方面的可能性。一方面本实验发现 NF- κ B 通过促进 Sortilin 表达,从而抑制巨噬细胞脂质流出,加剧泡沫细胞形成。而上调的 Sortilin 是否通过影响巨噬细胞转运蛋白三磷酸腺苷结合盒转运体 A1/G1 (ATP-binding cassette transporter A1/G1, ABCA1/G1)或 B 类 I 型清道夫受体 (scavenger receptor class B type I, SR-B I) 等抑制巨噬细胞脂质流出有待进一步研究^[17-19]。另一方面 Sortilin 可能促进巨噬细胞摄取胆固醇等脂质。Patel 等^[12]发现巨噬细胞 Sortilin 可直接摄取胞外 LDL,促进巨噬细胞脂质蓄积,加剧泡沫细胞形成,且这一过程不依赖于 LDLR 以及巨噬细胞自身的胞吞作用。本研究仅初步探讨了 NF- κ B 对 Sortilin 表达的调控机制,并初步阐明了 NF- κ B 通过 Sortilin 促进巨噬细胞内脂质蓄积,对于 NF- κ B 通过 Sortilin 抑制巨噬细胞胆固醇流出的具体分子机制有待进一步研究。

总之,本文探讨了 NF- κ B 通过 Sortilin 对巨噬细胞脂质代谢的调控作用。NF- κ B 促进 Sortilin 表达,从而巨噬细胞内脂质流出受抑,胞内脂质蓄积程度加剧,泡沫细胞形成加速。基于此,本课题组以后将探讨 NF- κ B 通过 Sortilin 对 As 动物模型血管壁内的脂质沉积和斑块面积的影响,以期进一步评价 NF- κ B 通过 Sortilin 对体内 As 病变进展的影响,为血管壁脂质病理性沉积的干预和 As 性心血管疾病的防治提供新的治疗策略。

[参考文献]

[1] 阎雨,何阳阳,方莲花,等.巨噬细胞在动脉粥样硬化中的研

究进展[J].中国药学杂志,2014,49(1):7-10.

- [2] 杜海燕,郑英明,林阳.动脉粥样硬化代谢标志物群的研究进展[J].心肺血管病杂志,2015,34(2):154-156.
- [3] Gao A, Cayabyab FS, Chen X, et al. Implications of sortilin in lipid metabolism and lipid disorder diseases[J]. DNA Cell Biol, 2017, 36(12): 1050-1061.
- [4] Zhong LY, Cayabyab FS, Tang CK, et al. Sortilin: a novel regulator in lipid metabolism and atherogenesis[J]. Clin Chim Acta, 2016, 460(2016): 11-17.
- [5] Goettsch C, Kjolby M, Aikawa E. Sortilin and its multiple roles in cardiovascular and metabolic diseases[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2018, 38(1): 19-25.
- [6] Yu XH, Zheng XL, Tang CK. Nuclear factor- κ B activation as a pathological mechanism of lipid metabolism and atherosclerosis[J]. Adv Clin Chem, 2015, 70: 1-30.
- [7] Plotkin JD, Elias MG, Dellinger AL, et al. NF- κ B inhibitors that prevent foam cell formation and atherosclerotic plaque accumulation[J]. Nanomedicine, 2017, 13(6): 2037-2048.
- [8] Zhai XT, Zhang ZY, Jiang CH, et al. Nauclea officinalis inhibits inflammation in LPS-mediated RAW 264.7 macrophages by suppressing the NF- κ B signaling pathway[J]. J Ethnopharmacol, 2016, 183: 159-165.
- [9] 王美琪,张胜男,孙勇.巨噬细胞的自噬在动脉粥样硬化中的作用[J].心肺血管病杂志,2017,36(10):826-828.
- [10] 张良,韩丹,赵诗萌,等. OX-LDL 与单核巨噬细胞相互作用促进动脉粥样硬化形成[J].中国比较医学杂志,2013,23(4):31-36.
- [11] Jeong SJ, Lee MN, Oh GT. The role of macrophage lipophagy in reverse cholesterol transport. endocrinology and metabolism[J]. Endocrinol Metab, 2017, 32(1): 41-46.
- [12] Patel KM, Strong A, Tohyama J, et al. Macrophage sortilin promotes LDL uptake, foam cell formation, and atherosclerosis[J]. Circ Res, 2015, 116(5): 789-796.
- [13] 钟丽园,彭田红,高安博,等. 分拣受体 Sortilin 促进巨噬细胞内脂质蓄积[J].中国动脉硬化杂志,2018,26(2):139-143.
- [14] Zhang Z, Jiang W, Yang H, et al. The miR-182/SORT1 axis regulates vascular smooth muscle cell calcification in vitro and in vivo[J]. Exp Cell Res, 2018, 362(2): 324-331.
- [15] Li J, Chen C, Li Y, et al. Inhibition of insulin/PI3K/AKT signaling decreases adipose Sortilin 1 in mice and 3T3-L1 adipocytes[J]. Biochim Biophys Acta, 2017, 1863(11): 2924-2933.
- [16] Chistiakov DA, Melnichenko AA, Myasoedova VA, et al. Mechanisms of foam cell formation in atherosclerosis[J]. J Mol Med, 2017, 95(11): 1153-1165.
- [17] Jiang T, Ren K, Chen Q, et al. Leonurine prevents atherosclerosis via promoting the expression of abca1 and abcg1 in a PPAR gamma/LXRalpha signaling pathway-dependent manner[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 43(4): 1703-1717.
- [18] Linton MF, Tao H, Linton EF, et al. SR-BI: A multifunctional receptor in cholesterol homeostasis and atherosclerosis[J]. Trends Endocrinol Metab, 2017, 28(6): 461-472.
- [19] 谈春芝,谭玉林,姚峰,等. 白细胞介素 4 对 THP-1 巨噬细胞三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 表达和胆固醇流出的影响[J].中国动脉硬化杂志,2015,23(12):1203-1209.

(此文编辑 许雪梅)