

棕榈酸对 EA.hy926 细胞炎症反应相关基因表达的影响及机制

满永宏¹, 杨晓柳², 赵 晴¹, 赵 岩¹, 王卫娜¹, 张 伟¹, 王宇卿¹, 张东献³

(1. 南阳医学高等专科学校科研实验中心, 河南省南阳市 473061; 2. 南阳医学高等专科学校第二附属医院, 河南省南阳市 473061; 3. 海南医学院管理学院, 海南省海口市 571199)

[关键词] 棕榈酸; 炎症反应; 内皮细胞; 动脉粥样硬化

[摘要] 目的 观察棕榈酸(PA)对内皮细胞株 EA.hy926 细胞炎症反应的影响,检测相关基因表达的变化并探讨其可能的信号途径。方法 体外培养内皮细胞株 EA.hy926,分为白蛋白对照组和 PA 处理组。改良 MTT 法检测 PA 孵育对 EA.hy926 细胞活性的影响,实时荧光定量 PCR 法检测白细胞介素 1(IL-1)、白细胞介素 6(IL-6)、白细胞介素 8(IL-8)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 和人单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)mRNA 水平,ELISA 法检测 IL-6、IL-8 和 TNF- α 浓度,Western blot 检测磷酸化核因子 κ B (NF- κ B) p65、NF- κ B p65、核因子 κ B 抑制蛋白(I κ B α)水平。结果 与白蛋白对照组相比,20、50、100 μ mol/L PA 处理组的 IL-1、IL-6、IL-8 mRNA 水平显著升高($P<0.05$),50、100 μ mol/L PA 处理组的 TNF- α 、MCP-1 mRNA 水平显著升高($P<0.05$),20、50、100 μ mol/L PA 处理组细胞培养上清液中 IL-6 和 IL-8 的浓度显著升高($P<0.05$),I κ B 蛋白水平显著降低($P<0.05$),NF- κ B p65 磷酸化水平显著升高($P<0.05$)。结论 PA 能够导致 EA.hy926 细胞炎症反应,其机制可能与激活 NF- κ B 信号途径有关。

[中图分类号] R5;R363

[文献标识码] A

Effect and mechanism of palmitic acid on gene expression related to vascular inflammatory response in EA.hy926 cells

MAN Yonghong¹, YANG Xiaoliu², ZHAO Qing¹, ZHAO Yan¹, WANG Weina¹, ZHANG Wei¹, WANG Yuqing¹, ZHANG Dongxian³

(1. Scientific Research and Experiment Center, Nanyang Medical College, Nanyang, Henan 473061; 2. The Second Affiliated Hospital of Nanyang Medical College, Nanyang, Henan 473061; 3. School of Management, Hainan Medical College, Haikou, Hainan 571199, China)

[KEY WORDS] palmitic acid; inflammatory response; endothelial cells; atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effect of palmitic acid (PA) on inflammatory response of endothelial cell line EA.hy926 in vitro, and to detect the expression of related genes and explore their possible signaling pathways. **Methods** Endothelial cell line EA.hy926 was cultured in vitro and divided into albumin control group and PA intervention group. The effect of PA incubation on EA.hy926 cell viability was detected by modified MTT assay. mRNA of interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1) were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. The levels of IL-6, IL-8 and TNF- α were detected by ELISA, and the levels of phosphorylated nuclear factor- κ B (NF- κ B) p65, NF- κ B p65 and nuclear factor- κ B inhibitor protein (I κ B α) were detected by Western blot. **Results** Compared with the albumin control group, the mRNA levels of IL-1, IL-6 and IL-8 in PA (20 μ mol/L, 50 μ mol/L, 100 μ mol/L) intervention group significantly increased ($P<0.05$). The mRNA levels of TNF- α and MCP-1 in PA (50 μ mol/L, 100 μ mol/L) intervention group sig-

[收稿日期] 2018-12-06

[修回日期] 2019-02-05

[基金项目] 国家自然科学基金项目(U1404827、U1504828 和 81603283)

[作者简介] 满永宏, 硕士, 副教授, 研究方向为动脉粥样硬化的分子机制及有效干预, E-mail 为 man-yh@foxmail.com。通信作者王宇卿, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为中药效应物质的鉴定及其活性研究, E-mail 为 wyq2013@163.com。通信作者张东献, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化的分子机制及有效干预, E-mail 为 dongxianzh@foxmail.com。

nificantly increased ($P < 0.05$). The levels of IL-6, IL-8 and TNF- α in supernatant increased significantly ($P < 0.05$), the level of I κ B α protein decreased significantly ($P < 0.05$), and the phosphorylation level of NF-kappa B p65 increased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion** PA intervention induces inflammatory response in EA. hy926 cells, which may be related to activation of NF-kappa B signaling pathway.

游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)是人体能量代谢和脂类合成的重要底物,还与胞内信号转导密切相关。但是血液高浓度 FFA 能引起血管炎症反应,从而导致动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)^[1]。过量的 FFA 还能刺激自由基的生成,进而破坏重要的大分子并导致细胞损伤和凋亡^[2],干预 FFA 诱导的血管炎症反应和凋亡则能阻止 As 的发展。棕榈酸(palmitic acid, PA)是血液中主要的饱和游离脂肪酸,内皮细胞暴露于 PA 能导致细胞坏死^[3]和炎症细胞因子(IL-6)的分泌^[4]。因此,内皮细胞的 PA 暴露是研究游离脂肪酸导致血管炎症反应机制的合适模型。本研究使用 PA 来检测 FFA 对内皮细胞株 EA. hy926 的损伤及对其炎症反应相关基因表达的影响,探讨在此过程中 NF- κ B 信号通路的变化及意义。

1 材料和方法

1.1 主要试剂、仪器

内皮细胞株 EA. hy926 购自中国医学科学院基础医学研究所(编号:3111C000 1CCC 000475),经短串联重复序列(STR)鉴定和数据分析,符合 EA. hy926(ATCC[®] CRL-2922)的 STR 特征(广州凯普生物科技有限公司)。白蛋白(Cat NO. A7030, Sigma 公司),PA(Lot SLBQ8869V, Sigma 公司),DMEM 培养基(高糖)(北京鸿跃创新科技有限公司),溴化噻唑蓝四氮唑(MTT)(北京酷来搏科技有限公司),IL-6/IL-8/TNF- α ELISA 试剂盒(北京达科为生物技术有限公司),NF- κ B p65 抗体、Phospho-NF- κ B p65 抗体、I κ B α 、Actin 抗体、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG、SDS-PAGE 上样缓冲液(6 \times)、超敏 ECL 化学发光试剂盒(碧云天生物技术研究所),彩色预染蛋白质相对分子质量标准(北京索莱宝科技有限公司),SDS-PAGE 变性丙烯酰胺凝胶快速制备试剂盒、定量 PCR 引物(生工生物工程(上海)股份有限公司),SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II(Tli RNaseH Plus)、PrimeScript[™] 1st Strand cDNA Synthesis Kit(宝生物工程(大连)有限公司),Ultrapure RNA Kit(康为世纪生物科

技有限公司)。CO₂ 培养箱(Thermo 公司)、酶标仪(Biotek)、实时荧光定量 PCR 仪(ABI 公司)、Nano-Drop List 分光光度计(Thermo 公司)、化学发光成像仪(Gene 公司)。

1.2 细胞培养、分组及处理

EA. hy926 是稳定型内皮细胞株,为贴壁依赖性细胞,使用 DMEM(高糖)培养基,添加 10% FBS、青霉素(100 kU/L)和链霉素(100 g/L),在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下进行培养。当细胞汇合度达到 100% 时,采用 0.25% 胰蛋白酶消化,按 1:3 进行传代。接种 96 孔细胞培养板时,取对数生长期 EA. hy926 细胞,用 2% FBS 完全培养基制备细胞悬液(细胞密度为 2×10^5 /L),每孔 50 μ L 细胞悬液。接种完成 2 h 后,加入 50 μ L 培养液,白蛋白对照组最终培养液含 1% 白蛋白,PA 组最终培养液分别含 5 μ mol/L、10 μ mol/L、20 μ mol/L、50 μ mol/L、100 μ mol/L、200 μ mol/L、500 μ mol/L PA,继续孵育 12 h 和 24 h。接种 6 孔细胞培养板时,取对数生长期 EA. hy926 细胞,用 10% FBS 完全培养基制备细胞悬液(细胞密度为 7.5×10^5 个/L),使最终培养板反应孔内细胞密度达到 1.5×10^5 个/L。培养 24 h 后,换成 2% FBS 完全培养基,分别加入 1% 白蛋白和 PA(20 μ mol/L、50 μ mol/L、100 μ mol/L),继续孵育 12 h 后,收集上清,提取细胞总 RNA 和总蛋白质。

1.3 棕榈酸-白蛋白复合物的制备

取 41 mg PA 溶于 1.6 mL NaOH(0.1 mol/L),在 70 $^{\circ}$ C 水浴中反应 1 h,每隔 15 min 混匀一次。取 50 μ L 上述 PA 溶液,加入到 950 μ L 10% 白蛋白溶液中,55 $^{\circ}$ C 水浴中反应 1 h,即为 PA 母液(5 mmol/L)。PA 母液经 0.22 μ mol/L 过滤除菌,分装后存放于 -20 $^{\circ}$ C。使用前先恢复至室温,37 $^{\circ}$ C 水浴中孵育 10 min,冷却后,用 10% 白蛋白稀释至固定浓度,再用完全培养基按 1:10 稀释处理细胞,使白蛋白在培养液中的最终浓度为 1%。

1.4 MTT 检测

采用改良 MTT 法^[5]检测白蛋白和 PA 对 EA. hy926 细胞活性的影响,具体方法为:当 96 孔细胞培养板内白蛋白对照组和 PA 组细胞的孵育时间到达 12 h 和 24 h 后,每孔加入 20 μ L MTT 溶液(5

g/L),在细胞培养箱内继续孵育 4 h,然后每孔加入 100 μ L MTT 三联溶解液^[5],在 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 8 h,再振荡混匀后,使用酶标仪测定 OD 值(490 nm)。细胞活性分析公式为:细胞活性(%)= $\text{OD540}_{\text{PA组}} / \text{OD540}_{\text{白蛋白对照组}} \times 100\%$ 。

1.5 实时荧光定量 PCR 检测

当 6 孔细胞培养板内白蛋白对照组和 PA 组细胞孵育时间到达 12 h 后,立即提取细胞总 RNA,溶于无 RNAase 水中。使用分光光度计测定每个样品的 RNA 浓度,然后用无 RNAase 水将各样品 RNA 调整至同一浓度。取 400 ng RNA 反转录合成 cDNA 模板,然后采用实时荧光定量 PCR(嵌合法)检测白细胞介素 1(interleukin 1, IL-1)、白细胞介素 6(interleukin 6, IL-6)、白细胞介素 8(interleukin 8, IL-8)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor, TNF- α) 和人单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1) mRNA 水平,所用引物序列为:IL-1 上游 5'-ATGCACCTGTACGATCACTG-3',下游 5'-ACAAAGGACATGGAGAACACC-3'; IL-6 上游 5'-GGAGACTTGCCTGGTGAAG-3',下游 5'-CTGGCTTGTTCCTCACTACTC-3'; IL-8 上游 5'-TGGCTCTCTTGGCAGCCTTC-3',下游 5'-GTTCTTTAGCACTCCTTGGC-3'; TNF- α 上游 5'-CCAGGGACCTCTCTCTAATCA-3',下游 5'-TCAGCTTGAGGGTTTGCTAC-3'; MCP-1 上游 5'-TGTCCCAAAGAAGCTGTGATC-3',下游 5'-ATTCTTGGGTTGTGGAGTGAG-3'; Actin 上游 5'-TGGCAGCCAGCACAATGAA-3',下游 5'-CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA-3'。扩增循环反应条件选择仪器默认条件,具体为:95 $^{\circ}$ C 20 s 后进入循环阶段,95 $^{\circ}$ C 3 s,60.0 $^{\circ}$ C 30 s,40 个循环,然后采用融解曲线法检测产物特异性,最后使用仪器配套软件进行数据分析。

1.6 酶联免疫吸附法(ELISA)检测

6 孔细胞培养板内白蛋白对照组和 PA 组细胞的孵育时间到达 12 h 后,收集细胞培养液,13 000 g 4 $^{\circ}$ C 离心 10 min,取上清,采用 ELISA 试剂盒,根据产品说明书所列程序检测培养基上清中 TNF- α 、IL-6、IL-8 的浓度。

1.7 Western blot 检测

6 孔细胞培养板内白蛋白对照组和 PA 组细胞孵育时间到达 12 h 后,采用 Western 及 IP 细胞裂解液处理细胞(120 μ L/孔),4 $^{\circ}$ C 裂解 30 min。使用高速离心机 4 $^{\circ}$ C 13 000 g 离心 10 min 去除沉淀,收集上清。按比例加入上样缓冲液,95 $^{\circ}$ C 加热 3 min,然后使用 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质,再转

膜至醋酸纤维膜。一抗稀释液 4 $^{\circ}$ C 封闭 60 min,然后与 Actin、NF- κ B p65、phosphor-NF- κ B p65、I κ B α 一抗(1:1000)4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;洗涤后,与二抗(辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG)室温孵育 1.0 h;再次洗涤后,用超敏 ECL 化学发光试剂盒显色,采用化学发光成像仪拍照,使用 Image J(V1.52i)分析结果。

1.8 统计学分析

计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间数据分析采用单因素方差分析(ANOVA), $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结 果

2.1 PA 对 EA.hy926 细胞活性的影响

采用改良 MTT 法检测白蛋白对照组和 PA 对 EA.hy926 细胞活性的影响,结果表明,500 μ mol/L PA 孵育 EA.hy926 细胞 12 h 后,细胞活性降至(69.33% \pm 3.79%),与白蛋白对照组相比差异有显著性($P < 0.05$);而 200 μ mol/L 和 500 μ mol/L PA 孵育 EA.hy926 细胞 24 h 后,细胞活性分别降至(81.67% \pm 9.71%)和(33.33% \pm 2.52%),与白蛋白对照组相比差异有显著性($P < 0.05$),说明白蛋白孵育 12 h 和 24 h 对细胞活性无影响,而 PA 孵育 12 h 和 24 h 能够降低 EA.hy926 细胞活性,且与 PA 剂量和孵育时间相关(表 1)。由于 100 μ mol/L 及低于此浓度的 PA 不明显地影响 EA.hy926 细胞活性,因此,以下实验均以 1% 白蛋白做为对照,分别采用 20 μ mol/L、50 μ mol/L 和 100 μ mol/L PA 处理 EA.hy926 细胞。

表 1. 不同浓度 PA 对 EA.hy926 细胞活性的影响($n=3$)

Table 1. Effects of different concentrations of PA on the activity of EA.hy926 cells ($n=3$)

分 组	细胞活性(%)	
	孵育 12 h	孵育 24 h
白蛋白对照组	100.00 \pm 0.00	100.00 \pm 0.00
5 μ mol/L PA 组	100.70 \pm 1.53	97.67 \pm 1.16
10 μ mol/L PA 组	101.00 \pm 1.73	102.00 \pm 4.00
20 μ mol/L PA 组	101.70 \pm 0.58	100.00 \pm 1.73
50 μ mol/L PA 组	101.70 \pm 3.22	111.00 \pm 11.27
100 μ mol/L PA 组	101.70 \pm 3.06	107.30 \pm 9.29
200 μ mol/L PA 组	96.00 \pm 2.65	81.67 \pm 9.71 ^a
500 μ mol/L PA 组	69.33 \pm 3.79 ^a	37.33 \pm 2.52 ^a

a 为 $P < 0.05$,与白蛋白对照组相比。

2.2 PA 对 EA. hy926 细胞血管炎症反应相关基因 mRNA 水平的影响

采用实时荧光定量 PCR 法(嵌合法)检测 PA 对 EA. hy926 细胞血管炎症反应相关基因(IL-1、IL-6、IL-8、TNF- α 、MCP-1) mRNA 水平的影响。结果表明,PA 能剂量依赖性上调 EA. hy926 细胞 IL-1、IL-6、IL-8、TNF- α 和 MCP-1 的 mRNA 水平,其中 100

$\mu\text{mol/L}$ PA 孵育 EA. hy926 细胞 12 h 后,IL-1、IL-6、IL-8、TNF- α 和 MCP-1 的 mRNA 较白蛋白对照组分别升高(10.35 \pm 0.75)、(23.17 \pm 1.85)、(13.30 \pm 1.18)、(4.51 \pm 0.62)、(2.72 \pm 0.15)倍($P<0.05$;表2)。上述结果说明,PA 能够通过上调 EA. hy926 细胞 IL-1、IL-6、IL-8、TNF- α 转录,促进炎症反应和单核细胞对血管壁的吸附。

表 2. 不同浓度 PA 对 EA. hy926 细胞血管炎症反应相关基因转录的影响($n=3$)

Table 2. Effects of different concentrations of PA on transcription of genes related to vascular inflammatory response in EA. hy926 cells ($n=3$)

分 组	IL-1	IL-6	IL-8	TNF- α	MCP-1
白蛋白对照组	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00
20 $\mu\text{mol/L}$ PA 组	4.00 \pm 0.17 ^a	4.60 \pm 0.31 ^a	3.23 \pm 0.30 ^a	1.27 \pm 0.54	1.21 \pm 0.09
50 $\mu\text{mol/L}$ PA 组	7.97 \pm 0.62 ^{ab}	10.60 \pm 1.01 ^{ab}	6.58 \pm 0.58 ^{ab}	3.27 \pm 0.29 ^{ab}	2.10 \pm 0.15 ^{ab}
100 $\mu\text{mol/L}$ PA 组	10.35 \pm 0.75 ^{abc}	23.17 \pm 1.85 ^{abc}	13.30 \pm 1.18 ^{abc}	4.51 \pm 0.62 ^{abc}	2.72 \pm 0.15 ^{abc}

a 为 $P<0.05$,与白蛋白对照组相比;b 为 $P<0.05$,与 20 $\mu\text{mol/L}$ PA 组相比;c 为 $P<0.05$,与 50 $\mu\text{mol/L}$ PA 组相比。

2.3 PA 对 EA. hy926 细胞培养液上清中 IL-6、IL-8、TNF- α 浓度的影响

采用 ELISA 法检测 PA 对 EA. hy926 细胞培养液上清中 IL-6、IL-8、TNF- α 浓度的影响,结果表明随着 PA 浓度升高,培养液上清中 IL-6、IL-8 和 TNF- α 的浓度升高,其中 100 $\mu\text{mol/L}$ PA 孵育 EA. hy926

细胞 12 h 后,培养液上清中 IL-6、IL-8 和 TNF- α 浓度分别达到(70.69 \pm 4.79) ng/L、(405.00 \pm 36.01) ng/L、(53.88 \pm 5.98) ng/L,与白蛋白对照组相比差异有显著性($P<0.05$;表3),说明 PA 能够剂量依赖性促进 EA. hy926 分泌 IL-6、IL-8 和 TNF- α 。

表 3. 不同浓度 PA 对 EA. hy926 细胞分泌 IL-6、IL-8、TNF- α 的影响($n=3$)

Table 3. Effects of different concentrations of PA on the secretion of IL-6, IL-8 and TNF-alpha by EA. hy926 cells ($n=3$)

分 组	IL-6(ng/L)	IL-8(ng/L)	TNF- α (ng/L)
白蛋白对照组	19.28 \pm 2.07	134.90 \pm 18.95	20.98 \pm 3.95
20 $\mu\text{mol/L}$ PA 组	29.35 \pm 2.63 ^a	213.50 \pm 31.99 ^a	20.72 \pm 2.41
50 $\mu\text{mol/L}$ PA 组	40.76 \pm 2.55 ^{ab}	238.70 \pm 9.44 ^a	31.4 \pm 4.40
100 $\mu\text{mol/L}$ PA 组	70.69 \pm 4.79 ^{abc}	405.00 \pm 36.01 ^{abc}	53.88 \pm 5.98 ^{abc}

a 为 $P<0.05$,与白蛋白对照组相比;b 为 $P<0.05$,与 20 $\mu\text{mol/L}$ PA 组相比;c 为 $P<0.05$,与 50 $\mu\text{mol/L}$ PA 组相比。

2.4 PA 对 EA. hy926 细胞 NF- κ B 信号通路的影响

不同浓度 PA 处理 EA. hy926 细胞 12 h 后,提取总蛋白,分别检测 phosphor-p65、p65、I κ B 的含量变化,结果表明随着 PA 浓度升高,p65 的磷酸化水平上升,同时 I κ B 含量下降,其中 100 $\mu\text{mol/L}$ PA 孵育 EA. hy926 细胞 12 h 后,phosphor-p65/p65 升高至(107.60% \pm 6.40%),I κ B/Actin 降低至(13.69% \pm 1.54%),与白蛋白对照组相比差异有显著性,说明 PA 处理能够剂量依赖性地激活 EA. hy926 细胞 NF- κ B 信号通路(图1)。

3 讨 论

在本研究中,我们证明 PA 通过激活 NF- κ B 信号途径诱导了 EA. hy926 细胞炎症反应。结果表明,PA 可促进 EA. hy926 细胞 I κ B 的降解,增加 p65 的磷酸化,进而上调血管炎症反应相关基因(IL-1、IL-6、IL-8、TNF α 和 MCP-1)的表达。

血管炎症反应涉及炎症因子的表达失衡。已证实 TNF- α 是促炎症细胞因子,而 IL-6 则同时具有促炎症反应和抗炎反应性质^[6]。IL-8 和 MCP-1

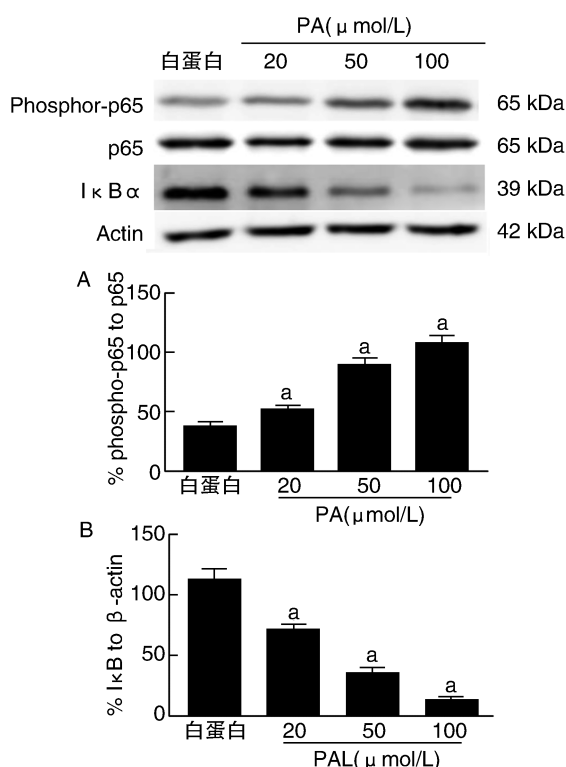


图 1. 不同浓度 PA 对 EA. hy926 细胞 phosphor-p65、p65、IκBα 水平的影响 a 为 $P < 0.05$, 与白蛋白对照组比较。

Figure 1. Effects of different concentrations of PA on the levels of phosphor-p65, p65 and IκBα in EA. hy926 cells

能够诱导血液白细胞向血管壁募集以及这些细胞向内皮细胞下区迁移,这些事件对动脉粥样硬化斑块的形成至关重要^[7]。IL-1α 能显著地加强 FFA 的促炎特性,因为 IL-1α 是炎症和免疫反应的有效介质^[8]。PA 还能够诱导微血管内皮细胞、人动脉内皮细胞表达 TNF-α 和 IL-6^[9]。与这些报道相似,本研究观察到在 PA 能够上调 EA. hy926 细胞的 IL-1、IL-6、IL-8、TNF-α、THP-1 mRNA 水平,促进 EA. hy926 细胞分泌 IL-6、IL-8、TNF-α 细胞因子,尽管没能进一步检测培养液中 IL-1 和 THP-1 的含量,但是根据已发表的文献和现有实验数据,可以证明 PA 能够诱导 EA. hy926 细胞炎症反应。

血管炎症反应与 NF-κB 信号途径的激活有关, NF-κB 信号途径的激活可以增加多种促炎细胞因子和黏附因子的表达^[10]。IκBα 是 NF-κB 信号途径的抑制性蛋白,它与 p65 蛋白在细胞质中形成非活性复合物。活化 IKKβ 可以磷酸化 IκBα,使 IκBα 解离并通过泛素-蛋白酶体途径降解,从而释放出游离 p65 并发生磷酸化,磷酸化 p65 进入细胞核,激活 NF-κB 信号途径^[11]。在我们的研究中,PA 处理能够显著降低 EA. hy926 细胞总蛋白 IκBα/Actin 比

例,并提高 phosphor-p65/p65 比例,证明 NF-κB 信号途径的激活。说明 NF-κB 参与 PA 诱导的 EA. hy926 细胞炎症反应。此外, Werman 等人^[12]发现 IL-1α 前体具有一种新的细胞内功能,该功能也可能在 PA 诱导的细胞因子表达中发挥作用:在内毒素刺激的 IL-1α 过表达细胞中,内毒素通过 Toll 样受体起作用(SFA 也通过同样的方式),IL-1α 前体直接进入细胞核内增强炎症因子(IL-6、IL-8)的表达。该信号途径是否参与 PA 诱导的 EA. hy926 细胞炎症因子表达,值得进一步研究。

总之,本研究分析了 PA 对内皮细胞株 EA. hy926 内皮功能的影响,检测了血管炎症反应相关基因表达的变化及可能的信号途径,为进一步研究 FFA 的致病机制提供了数据基础。

[参考文献]

- [1] Artwohl M, Roden M, Waldhausl W, et al. Free fatty acids trigger apoptosis and inhibit cell cycle progression in human vascular endothelial cells[J]. FASEB J, 2004, 18: 146-148.
- [2] Lobo V, Patil A, Phatak A, et al. Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health[J]. Pharmacogn Rev, 2010, 4: 118-126.
- [3] Khan MJ, Rizwan Alam M, Waldeck-Weiermair M, et al. Inhibition of autophagy rescues palmitic acid-induced necroptosis of endothelial cells[J]. J Biol Chem, 2012, 287: 21110-21120.
- [4] Staiger H, Staiger K, Stefan N, et al. Palmitate-induced interleukin-6 expression in human coronary artery endothelial cells[J]. Diabetes, 2004, 53: 3209-3216.
- [5] 周建军, 乐秀芳, 韩家娴, 等. 评价抗癌物质活性的改良 MTT 方法[J]. 中国医药工业杂志, 1993, 24(10): 455-457.
- [6] 欧学兰, 杨春艳, 魏锦秋, 等. 洋葱精油对 ox-LDL 诱导人脐静脉内皮细胞损伤的保护作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2018, 26(7): 698-704, 730.
- [7] Von Scholten BJ, Reinhard H, Hansen TW, et al. Markers of inflammation and endothelial dysfunction are associated with incident cardiovascular disease, all-cause mortality, and progression of coronary calcification in type 2 diabetic patients with microalbuminuria[J]. J Diabetes Complications, 2016, 30(2): 248-255.
- [8] Lord PC, Wilmoth LM, Mizel SB, et al. Expression of interleukin-1 alpha and beta genes by human blood polymorphonuclear leukocytes[J]. J Clin Invest, 1991, 87(4): 1312-1321.
- [9] Krogmann A, Staiger K, Haas C, et al. Inflammatory response of human coronary artery endothelial cells to saturated long-chain fatty acids[J]. Microvasc Res, 2011, 81(1): 52-59.
- [10] 饶璇, 李元建. 内皮细胞损伤与修复的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2017, 25(5): 531-535.
- [11] Jacobs MD, Harrison SC. Structure of an Ikappa B alpha/NF-kappaB complex[J]. Cell, 1995: 749-758.
- [12] Werman A, Werman-Venkert R, White R, et al. The precursor form of IL-1alpha is an intracrine proinflammatory activator of transcription[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(8): 2434-2439.

(此文编辑 许雪梅)