

本文引用: 刘兰, 杨丽, 王语婷, 等. PLIN2 通过上调 ACSL3 表达促进 THP-1 源性巨噬细胞脂质蓄积[J]. 中国动脉硬化杂志, 2025, 33(7): 587-594. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2025.07.005.

[文章编号] 1007-3949(2025)33-07-0587-08

· 实验研究 ·

PLIN2 通过上调 ACSL3 表达促进 THP-1 源性巨噬细胞脂质蓄积

刘 兰¹, 杨 丽², 王语婷¹, 刘新都¹, 袁中华¹

1. 南华大学药学院药理学教研室, 湖南省衡阳市 421001; 2. 郴州市第三人民医院病理科, 湖南省郴州市 423000

[摘要] [目的] 研究脂肪分化相关蛋白是否通过 PI3K/Akt 上调酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 3 (ACSL3) 表达促进巨噬细胞脂质蓄积。[方法] 实验分为 24 h 组、不同 PLIN2 表达组、HA-PLIN2+SC97 组、HA-PLIN2+LY294002 组。用 Western blot 检测细胞中 PLIN2、Akt、p-Akt 和 ACSL3 的蛋白表达, RT-qPCR 检测细胞内 PLIN2 mRNA 水平, 油红 O 染色法观察细胞内脂质蓄积程度。[结果] 过表达 PLIN2 组巨噬细胞中 Akt、p-Akt 和 ACSL3 的蛋白表达量显著增高 ($P<0.05$), p-Akt 核移位增加, 且 PLIN2 与 Akt 的荧光标记重合。在 PLIN2 过表达的巨噬细胞中加入 PI3K/Akt 激动剂 SC97 后, ACSL3 的表达量显著增加 ($P<0.05$), 细胞内脂质蓄积程度增加; 在 PLIN2 过表达的巨噬细胞中加入 PI3K/Akt 抑制剂 LY294002 后, ACSL3 的表达量显著减少 ($P<0.05$), 细胞内脂质蓄积程度减少。[结论] PLIN2 通过 PI3K/Akt 上调 ACSL3 表达, 从而促进巨噬细胞脂质蓄积。

[关键词] 脂肪分化相关蛋白; PI3K/Akt 信号通路; 巨噬细胞; 脂质蓄积; 酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 3

[中图分类号] R5;R363

[文献标识码] A

PLIN2 promotes lipid accumulation in THP-1 derived macrophages by upregulating ACSL3 expression

LIU Lan¹, YANG Li², WANG Yuting¹, LIU Xindu¹, YUAN Zhonghua¹

1. Department of Pharmacology, School of Pharmaceutical Science, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Pathology Department of the Third People's Hospital of Chenzhou City, Chenzhou, Hunan 423000, China

[ABSTRACT] **Aim** To investigate whether adipose differentiation-related proteins promote macrophage lipid accumulation by upregulating acyl-CoA synthetase long-chain family member 3 (ACSL3) expression through PI3K/Akt.

Methods The experiments were divided into 24 h group, different PLIN2 expression groups, HA-PLIN2+SC97 group and HA-PLIN2+LY294002 group. Western blot was used to detect the protein expression of PLIN2, Akt, p-Akt and ACSL3 in cells, RT-qPCR was used to detect the mRNA level of PLIN2 in cells, and oil red O was used to observe the degree of lipid accumulation in cells. **Results** The protein expression levels of Akt, p-Akt and ACSL3 in macrophages overexpressing PLIN2 were significantly increased ($P<0.05$), and p-Akt nuclear translocation was increased, with fluorescence labeling of PLIN2 and Akt overlapping. After adding the PI3K/Akt agonist SC97 to macrophages overexpressing PLIN2, the expression level of ACSL3 significantly increased ($P<0.05$), and the degree of intracellular lipid accumulation increased; After adding the PI3K/Akt inhibitor LY294002 to macrophages overexpressing PLIN2, the expression level of ACSL3 significantly decreased ($P<0.05$), and the degree of intracellular lipid accumulation decreased. **Conclusion**

PLIN2 upregulates ACSL3 expression through PI3K/Akt, thereby promoting macrophage lipid accumulation.

[KEY WORDS] adipose differentiation-related protein; PI3K/Akt signaling pathway; macrophage; lipid accumulation; acyl-CoA synthetase long-chain family member 3

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 是一种常见的以脂质代谢异常为特征的疾病, 脂质蓄积是 As 发

生的一个关键机制。泡沫细胞的形成是 As 进展的重要标志^[1]。脂滴是一种以中性脂质 (如甘油三酯

[收稿日期] 2025-02-19

[修回日期] 2025-04-01

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81973326)

[作者简介] 刘兰, 硕士研究生, 研究方向为心血管活性分子的药理作用, E-mail:3069842346@qq.com。通信作者袁中华, 博士, 教授, 研究方向为心血管活性分子的药理作用, E-mail:yzh555@163.com。

和胆固醇)为核心的细胞器,其主要功能是储存和供应脂质^[2]。PLIN2(一种脂肪分化相关蛋白)属于PAT家族,在脂滴的形成过程中发挥着重要的作用^[3]。研究显示,当PLIN2呈现过表达状态时,细胞内脂滴和甘油三酯含量有所蓄积^[4],但PLIN2促进脂质蓄积的具体作用机制尚不明确。PI3K/Akt是调控脂肪细胞分化和形成过程的重要信号通路,降低该信号通路的表达水平,可缩小ApoE^{-/-}小鼠的斑块面积,减缓As病变更程度^[5]。酰基辅酶A合成酶长链家族成员(acyl-CoA synthetase long-chain family member, ACSL)在哺乳动物的生长、迁移及代谢过程中扮演着重要的角色。其中,ACSL3是ACSL家族中表达量最为丰富的成员^[6]。脂滴相关蛋白ACSL3与Rab18存在相互作用,研究发现PLIN2与Rab18能够稳定脂滴,靶向促进ACSL3招募到脂滴以进行酰基辅酶A合成,提示PLIN2或许可以调控ACSL3的表达^[7]。本课题组前期研究显示,PLIN2促进巨噬细胞脂质蓄积。本研究在此基础上进一步探讨PLIN2是否通过PI3K/Akt信号通路调控ACSL3的表达,从而影响巨噬细胞脂质蓄积,旨在揭示PLIN2在巨噬细胞中调控脂质蓄积的具体机制。

1 材料和方法

1.1 主要材料

THP-1细胞购自上海生科院细胞生物医学研究所;RPMI1640培养基购自天津海克隆贸易有限公司;氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)购自广州奕源生物科技有限公司;PI3K/Akt激动剂SC79、SDS-PAGE蛋白上样缓冲液及RIPA裂解液购自上海碧云天有限公司;BCA试剂盒购自康为世纪生物科技有限公司;PAGE凝胶快速制备试剂盒购自上海雅酶生物医药科技有限公司;鼠抗Akt、鼠抗p-Akt、兔抗PLIN2、兔抗ACSL3及鼠抗GAPDH购自武汉三鹰生物技术有限公司;Flag-Mus-ADFP、pCDH-CMV-MCS-EF1-mcherry-T2A-puro慢病毒载体质粒、pMD2.G及psPAX2包装质粒购自广州艾基生物技术有限公司;其他试剂均为进口或国产分析纯。

1.2 细胞培养与分组

在37℃、5%CO₂的细胞培养箱中培养THP-1细胞和293T细胞,待细胞密度生长到80%,进行分瓶传代操作,THP-1细胞经佛波酯诱导成巨噬细胞。实验共分为三步:第一步:将细胞分为对照组和24 h

组,其中24 h组用ox-LDL孵育24 h,构建巨噬细胞源性泡沫细胞模型。第二步:加入50 mg/L ox-LDL孵育细胞24 h,然后构建过表达及沉默表达PLIN2慢病毒载体,将细胞分为5组:对照组、HA-PLIN2组(将Flag-Mus-ADFP转染入细胞)、shRNA-PLIN2组(将pHG-Mus-ADFP-sh转染入细胞)、HA-Con组(将pCDH-CMV-MCS-EF1-mcherry-T2A-puro转染入细胞)、shRNA-Con组(将pHG-shNC-2转染入细胞)。第三步:在过表达PLIN2的巨噬细胞中,分别用PI3K/Akt激动剂SC97和PI3K/Akt抑制剂LY294002预处理细胞24 h,并分为对照组、HA-PLIN2组、HA-PLIN2+SC97组、HA-PLIN2+LY294002组。

1.3 质粒提取与鉴定

(1) Flag-Mus-ADFP、pHG-Mus-ADFP-sh表达载体的扩增与提取。从超低温冰箱中取出含有Flag-Mus-ADFP、pCDH-CMV-MCS-EF1-mcherry-T2A-puro、pHG-Mus-ADFP-sh及pHG-shNC-2质粒的菌液,待菌液溶解后充分混匀,接种到含琼脂培养基的培养皿上,放入摇床培养12 h,挑选出阳性单菌落,将菌落置于LB液体培养基中,于37℃、220 r/min振荡培养过夜,提取目标质粒,对各质粒的浓度及纯度进行测定并记录数据。(2) pMD2.G和psPAX2包装质粒载体的扩增与提取。取出冻存的质粒甘油菌,在37℃水浴箱中轻轻晃动,直至菌液完全溶解,用灭菌处理的接种环蘸取这两种菌液,在LB固体培养基中进行划板操作,将培养基置于培养箱中过夜,次日,用接种环挑取单菌落,将其混入装有液体培养基的试管中,将试管置于摇床上振荡过夜,当培养基出现浑浊时,提取这两种质粒,并对其浓度与纯度进行测定。

1.4 细胞转染

将Flag-Mus-ADFP、pCDH-CMV-MCS-EF1-mcherry-T2A-puro、pHG-Mus-ADFP-sh及pHG-shNC-2转染至293T细胞中。将细胞接种至6孔板中,置于培养箱中培养过夜。量取4支250 μL的DMEM培养液,分别用于稀释Flag-Mus-ADFP、pCDH-CMV-MCS-EF1-mcherry-T2A-puro、pHG-Mus-ADFP-sh及pHG-shNC-2质粒(各5 μg)。各组用移液枪吸取10 μL Lip3000转染试剂,分别加入到250 μL的DMEM培养液中。在室温环境下放置含有转染试剂的质粒溶液5 min,轻轻混匀,随后在室温下静置20 min。将充分混匀的液体均匀添加至6孔板中,在恒温培养箱内孵育4 h,将培养基替换为high-DMEM+10%胎牛血清的培养基,转染效果用RT-qPCR方法检测。

1.5 Western blot 检测

将配好的裂解液添加至巨噬细胞中,置于冰上裂解 30 min,用刮刀刮取细胞,高速离心 10 min,得到总蛋白,用 BCA 法测定蛋白浓度。制备 SDS-PAGE 凝胶,将分离的蛋白转移至 PVDF 膜上,转膜,用脱脂牛奶封闭 PVDF 膜 6 h。加入对应的一抗,于 4 °C 摆床振荡过夜,孵育完成后用 TBST 洗膜 3 次,每次 10 min。加入相应的二抗,于 37 °C 摆床孵育 2 h,用 TBST 洗膜,最后进行显影操作。

1.6 油红 O 染色

在避光条件下配制油红 O 工作液。弃去 24 孔板中的细胞培养基,用 PBS 清洗 2 次。在室温下用 4% 多聚甲醛固定 30 min,用 PBS 清洗 3 次,每次 10 min。在 24 孔板中加入油红 O 染液,30 min 后吸出染液并用 PBS 清洗。用苏木精对细胞核染色 5 s, PBS 洗涤。在显微镜下进行拍照并保存图像。

1.7 细胞免疫荧光

用 4% 多聚甲醛组织固定液处理细胞 30 min,用 PBS 洗涤。用 0.2% Triton X-100 处理 24 孔板中的细胞 5 min,PBS 清洗。用 5% 胎牛血清封闭 1 h,孵育相应的一抗,置于 4 °C 环境中过夜,PBS 清洗。在常温条件下孵育二抗,PBS 清洗。用 1 mg/L DAPI 染核 5 min,PBS 清洗。最后用抗荧光淬灭剂封片,在避光条件下用荧光显微镜拍照并保存图像。

1.8 RT-qPCR 检测

提取各组细胞中的总 RNA,去除混杂在其中的

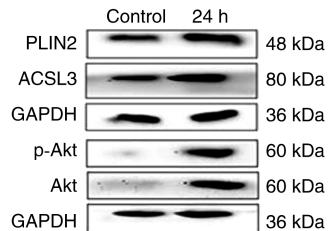


图 1. ox-LDL 对巨噬细胞中 PLIN2、ACSL3 蛋白表达及 p-Akt/Akt 的影响($n=3$)

a 为 $P<0.05$,与对照组比较。

Figure 1. Effect of ox-LDL on the protein expression of PLIN2, ACSL3 and p-Akt/Akt in macrophages($n=3$)

DNA 和 DNA 酶。以总 RNA 为模板,反转录合成第一链 cDNA。反应程序设定为 95 °C 预变性 15 min,进入正式循环:95 °C 变性 10 s,55 °C 退火 20 s,72 °C 延伸 30 s,重复此循环 40 次。选用 GAPDH 为内参,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 PLIN2 mRNA 的相对表达量。

1.9 统计学分析

采用 Graph Pad Prism 8.0 软件和 Image-Pro Plus 软件对实验数据进行统计分析及绘制图表。数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组数据间的比较用 t 检验,多组数据间的比较用单因素方差分析和 LSD-t 检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 ox-LDL 对巨噬细胞中 PLIN2、p-Akt/Akt 和 ACSL3 蛋白表达及脂质蓄积的影响

用 50 mg/L ox-LDL 处理 24 h,THP-1 细胞中 PLIN2 蛋白表达量达到峰值^[8],故选择此条件进行实验。Western blot 结果显示,与对照组相比,24 h 组 PLIN2、ACSL3 蛋白表达及 p-Akt/Akt 比值(p-Akt 是 Akt 激活后的形式,p-Akt/Akt 比值能反映信号通路激活状态)均增加($P<0.05$;图 1)。油红 O 染色结果显示,细胞核被染为蓝色,中性脂质被染成红色,与对照组相比,24 h 组细胞脂质蓄积增加($P<0.05$;图 2)。

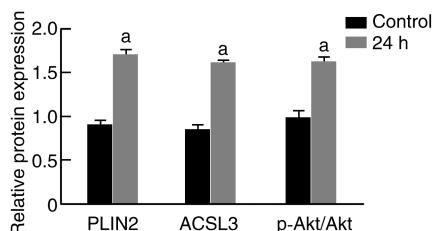


图 1. ox-LDL 对巨噬细胞中 PLIN2、ACSL3 蛋白表达及 p-Akt/Akt 的影响($n=3$)

a 为 $P<0.05$,与对照组比较。

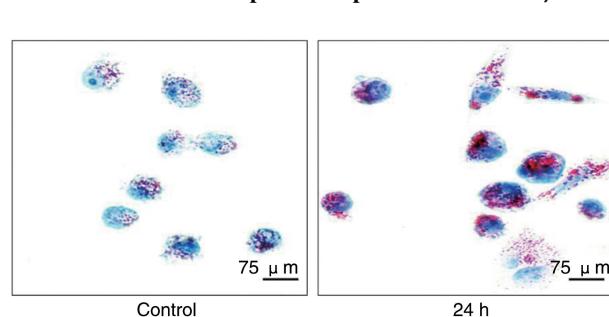
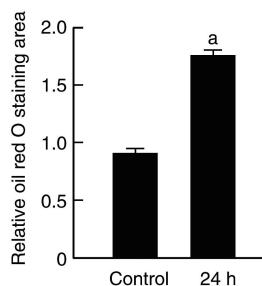


图 2. ox-LDL 对巨噬细胞脂质蓄积的影响($n=5$)

a 为 $P<0.05$,与对照组比较。

Figure 2. Effect of ox-LDL on lipid accumulation in macrophages($n=5$)



2.2 PLIN2 对巨噬细胞中 p-Akt/Akt 和 ACSL3 表达的影响

将巨噬细胞分为对照组、HA-PLIN2 组、shRNA-PLIN2 组、HA-Con 组及 shRNA-Con 组,用 RT-qPCR 检测细胞中 PLIN2 mRNA 水平,Western blot 检测蛋

白表达。结果显示,与对照组相比,HA-PLIN2 组 PLIN2 mRNA 和蛋白表达增加,Akt、ACSL3 蛋白表达及 p-Akt/Akt 比值亦增加,shRNA-PLIN2 组 PLIN2 mRNA 和蛋白表达减少,Akt、ACSL3 蛋白表达及 p-Akt/Akt 比值亦减少(均 $P < 0.05$;图 3 和图 4)。

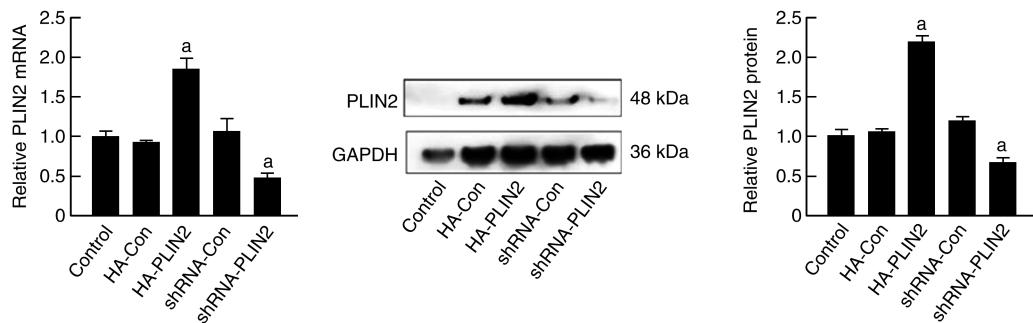


图 3. 转染不同表达 PLIN2 的巨噬细胞中 PLIN2 的 mRNA 和蛋白表达($n=3$)

a 为 $P < 0.05$,与对照组比较。

Figure 3. The expression of PLIN2 mRNA and protein in macrophages transfected with different expression of PLIN2 ($n=3$)

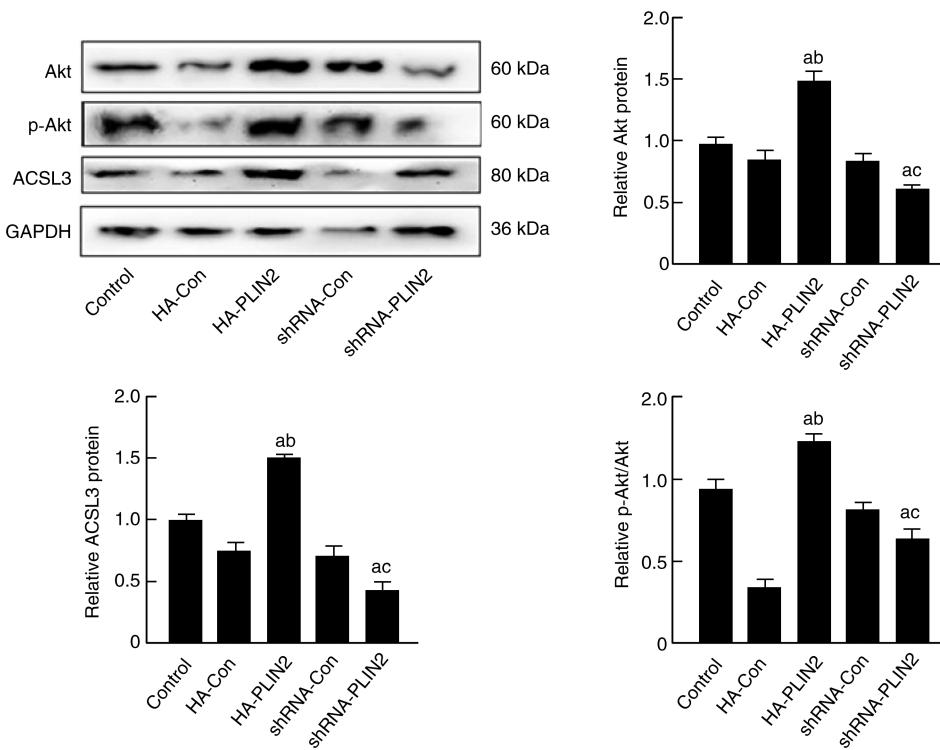


图 4. 不同表达的 PLIN2 对巨噬细胞中 Akt、p-Akt 和 ACSL3 表达的影响($n=3$)

a 为 $P < 0.05$,与对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与 HA-Con 组比较;c 为 $P < 0.05$,与 shRNA-Con 组比较。

Figure 4. Effect of different expression of PLIN2 on the expression of Akt, p-Akt and ACSL3 in macrophages($n=3$)

2.3 过表达 PLIN2 对巨噬细胞中 Akt 和 p-Akt 的影响

免疫荧光法观察显示,红色为 PLIN2,蓝色为细胞核,绿色为 PLIN2 与 Akt 的荧光标记重合,说明两

者在细胞内存在共定位现象(图 5)。与对照组相比,HA-PLIN2 组细胞中 Akt 和 p-Akt 荧光强度均显著增强。以上结果表明,过表达 PLIN2 能上调 Akt 和 p-Akt 的表达,并促进 p-Akt 核稳定(图 6)。

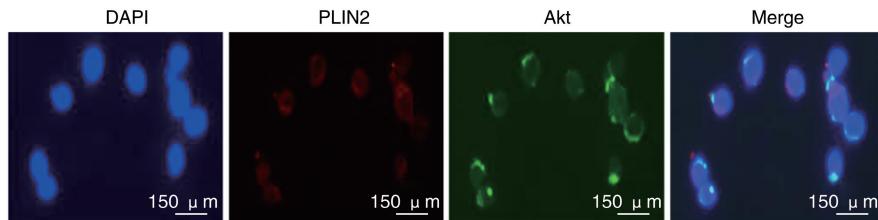


图 5. 巨噬细胞内 PLIN2 与 Akt 共定位

Figure 5. Colocalization of PLIN2 and Akt in macrophages

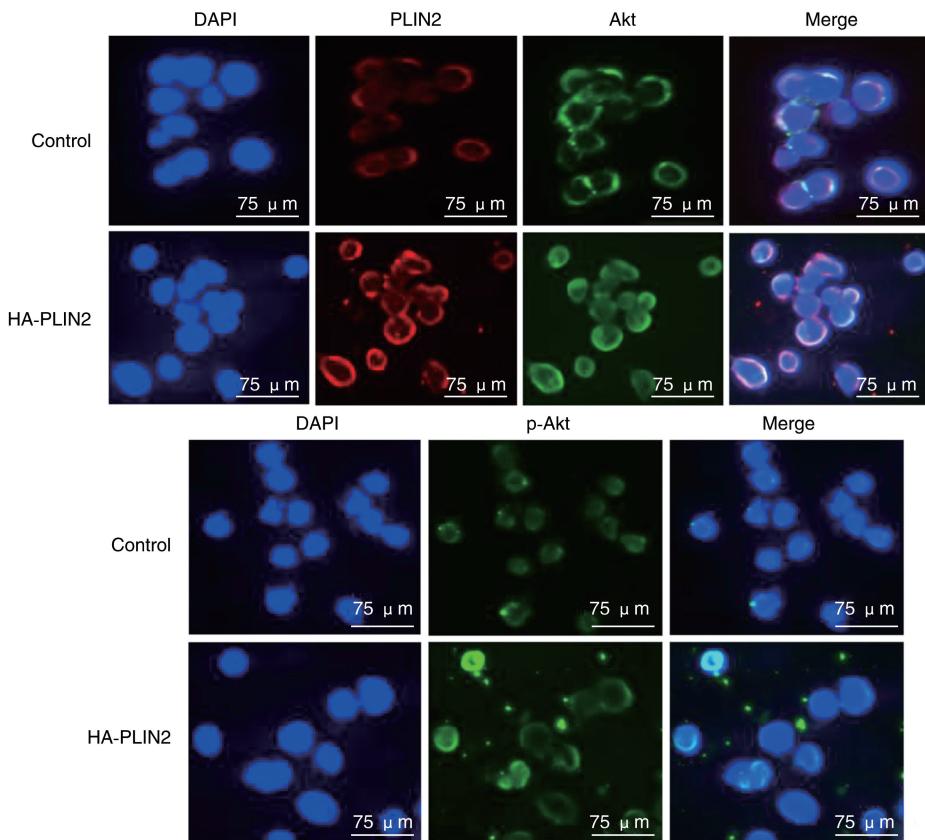


图 6. 过表达 PLIN2 对 Akt 和 p-Akt 表达及 p-Akt 核移位的影响

Figure 6. Effect of PLIN2 overexpression on the expression of Akt and p-Akt and the nuclear translocation of p-Akt

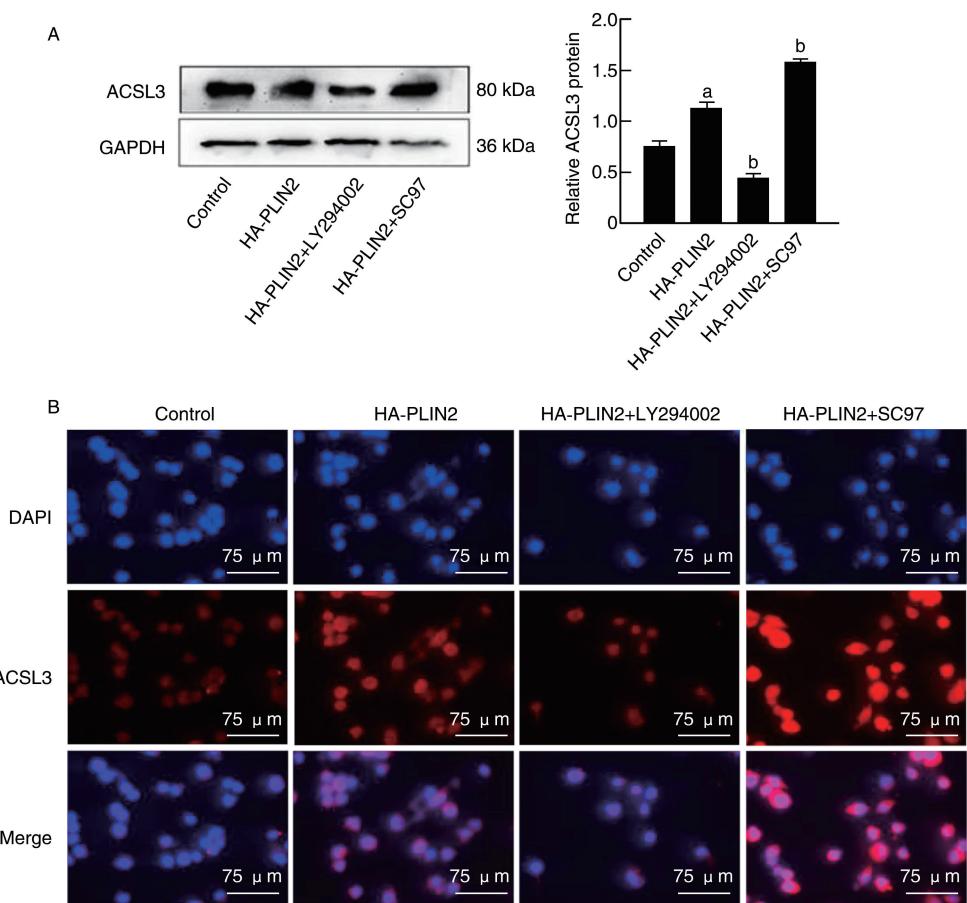
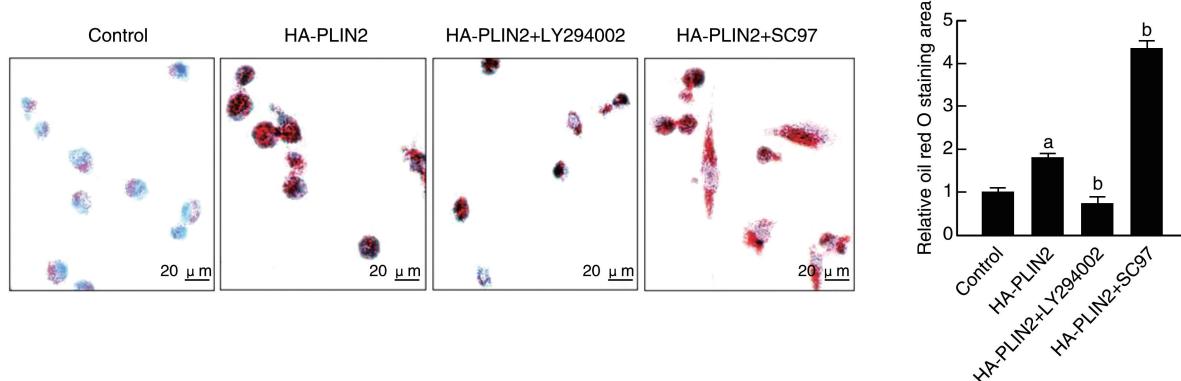
2.4 SC97 和 LY294002 对过表达 PLIN2 的巨噬细胞中 ACSL3 表达及脂质蓄积的影响

Western blot 结果显示,与对照组相比,HA-PLIN2 组 ACSL3 蛋白表达增加;与 HA-PLIN2 组相比,HA-PLIN2+LY294002 组 ACSL3 蛋白表达降低,HA-PLIN2+SC97 组 ACSL3 蛋白表达增加(均 $P < 0.05$;图 7A)。免疫荧光观察发现,蓝色为细胞核,红色为 ACSL3;与对照组相比,HA-PLIN2 组 ACSL3 的荧光强度增强;与 HA-PLIN2 组相比,HA-PLIN2+LY294002 组 ACSL3 的荧光强度减弱,HA-PLIN2+SC97 组 ACSL3 的荧光强度增强(图 7B)。油红 O 染色显示,与对照组相比,HA-PLIN2 组细胞脂质蓄积增加;与 HA-PLIN2 组相比,HA-PLIN2+LY294002

组细胞脂质蓄积减少,HA-PLIN2+SC97 组细胞脂质蓄积增加(均 $P < 0.05$;图 8)。

3 讨 论

As 是一种慢性血管炎症性疾病,是多种心血管疾病的病理生理学基础。As 可导致心肌缺血缺氧、冠状动脉狭窄等问题,严重威胁人类健康。其中,脂质代谢紊乱是引发 As 的关键危险因素之一。脂滴蛋白 PAT 家族位于脂滴表面,其成员包括 PLIN1、PLIN2、TIP47、PLIN4 及 PLIN5^[9],在脂滴的生物合成、维持甘油三酯含量及保护脂滴免于脂解等方面发挥着至关重要的作用。PLIN2 缺失可显著

图 7. 巨噬细胞中 ACSL3 的表达($n=3$)a 为 $P<0.05$, 与对照组比较;b 为 $P<0.05$, 与 HA-PLIN2 组比较。Figure 7. The expression of ACSL3 in macrophages ($n=3$)图 8. 巨噬细胞脂质蓄积的变化($n=3$)a 为 $P<0.05$, 与对照组比较;b 为 $P<0.05$, 与 HA-PLIN2 组比较。Figure 8. The changes of lipid accumulation in macrophages ($n=3$)

降低小鼠肝脏中甘油三酯和胆固醇水平^[10]。PLIN2 蛋白在人类和小鼠的巨噬细胞源性泡沫细胞中显著高表达^[11]。病理研究显示, PLIN2 在 As 病变血管中的表达显著高于正常血管。在缺乏维生素 D 的小鼠模型中, 脂滴染色的光密度值显著增强, 伴

随脂滴相关蛋白 PLIN2 和 PPAR γ 的表达上调。基因敲除实验证实, PLIN2 缺陷小鼠能够有效地抑制由高脂饮食引起的肥胖表型, 并且减少炎症因子和内质网应激标志物的表达, 从而缓解与肥胖相关的脂肪组织炎症和肝脏脂肪变性, 最终抑制 As 的病理

进程^[12]。PLIN2 通过多种途径参与细胞中的脂质代谢。例如,PLIN2 在 NASH 模型中主要通过 LXR/PLIN2/SREBP-1c 通路促进脂质合成与储存,而氧化苦参碱通过调控 LXR/PLIN2/SREBP-1c 通路抑制 PLIN2 表达与功能,最终减少肝脏脂质蓄积^[13]。PLIN2 的表达能够激活 Wnt/ β -连环蛋白信号途径,进而调控脂肪前体细胞的分化过程及脂质合成^[14]。此外,PLIN2 与 PLIN5 通过与 PPAR γ 结合,增强其转录活性,从而促进脂滴成熟和脂质储存。萝卜硫素通过干扰 PLIN2/PLIN5/PPAR γ 轴的功能,减少脂质蓄积^[9]。另有研究报道,PLIN2 通过激活缺氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor-1 α ,HIF-1 α)转录活性、上调分泌型磷蛋白 1 (secreted phosphoprotein 1,SPP1) 表达,增强脂肪酸摄取、抑制分解并稳定脂滴结构^[15]。PLIN2 蛋白不仅参与 As 的病理发生过程,还在斑块稳定性的调控中发挥关键作用。与正常血管相比,As 斑块中 PLIN2、乙酰辅酶 A 乙酰转移酶 1 (acetyl CoA acetyltransferase 1,ACAT1) 和 CD36 的 mRNA 水平显著上调,且 PLIN2 主要定位于富含胆固醇酯的泡沫细胞中。有研究通过斑块稳定性分析发现,与稳定性斑块相比,易损斑块中的 PLIN2 表达水平及脂质蓄积量均呈现显著差异^[16]。机制研究表明,脂质核心的过度增大会引发斑块纤维帽的生物力学稳定性显著下降,而这种具有高破裂风险的易损斑块是急性心血管事件(如心肌梗死、缺血性脑卒中)的主要病理基础。然而,目前 PLIN2 促进脂质蓄积的具体机制尚不明确。

脂肪酸作为维持生物体正常生理功能的必需营养素,其代谢需经特定酶促反应激活后方可进入能量生成或生物合成通路。越来越多的研究表明,ACSL 家族是脂肪酸代谢的关键调控酶,通过催化长链脂肪酸的活化反应,在维持脂质代谢稳态中发挥核心作用。该家族由 6 个成员组成,每个亚型都具有其独特的功能,其中 ACSL3 是 ACSL 家族中表达最多和功能复杂的重要成员。ACSL3 是一种脂滴相关蛋白,可能通过促进脂滴的形成和成熟参与细胞内脂质代谢^[17]。内质网应激能诱导 ACSL3 上调,且 ACSL3 是脂质蓄积所必需的。ACSL3 shRNA 或 ACSL3 抑制剂 triacsin C 处理细胞后细胞内脂滴的含量显著降低,甚至可以抵消其他 ACSL 家族成员导致的脂质上调^[18]。在人颈动脉 As 斑块内,血管平滑肌细胞和巨噬细胞中 ACSL3 表达增加,这加速了 As 的发生与发展^[19]。ACSL3 与 As 的发展进程紧密相连,极有潜力成为未来防治 As 的全新切入点。

PI3K/Akt 可抑制脂噬,加剧泡沫细胞形成,促进 As 的发生发展^[20]。有研究表明,在 As 大鼠模型中,黄酮类化合物可有效对抗 As 的发生,在此过程中,As 大鼠主动脉组织中 EGFR、PI3K/Akt 及 GSK-3 β 的 mRNA 和蛋白表达显著下调。有研究指出,增加 PLIN2 表达有利于激活 PI3K/Akt/mTOR 通路^[21]。Western blot 检测结果显示 ox-LDL 可上调 p-PI3K 和 p-Akt 蛋白表达。由此推测在巨噬细胞中 PLIN2、PI3K/Akt 与 ACSL3 之间可能存在相互作用,其具体作用机制有待于进一步探究。

本研究成功制备了过表达和沉默 PLIN2 的巨噬细胞模型。过表达 PLIN2 的巨噬细胞中 ACSL3 蛋白水平增加,说明 PLIN2 可促进 ACSL3 表达。为了进一步研究 PLIN2 能否通过 PI3K/Akt 调控 ACSL3,本研究对过表达 PLIN2 的巨噬细胞分别用 PI3K/Akt 激动剂 SC97 和抑制剂 LY294002 处理。结果发现,与 HA-PLIN2 组相比,加入 PI3K/Akt 激动剂后,ACSL3 蛋白表达增加,说明 PI3K/Akt 与过表达 PLIN2 有协同效应,能上调 ACSL3 的表达;加入 PI3K/Akt 抑制剂后,ACSL3 蛋白表达明显降低,说明 PI3K/Akt 抑制剂能显著逆转过表达 PLIN2 对 ACSL3 的促进作用。由以上实验结果可知,PLIN2 通过上调 PI3K/Akt 信号通路,上调 ACSL3 的表达。在免疫荧光实验中,通过观察不同组的荧光强度,也得出了一致的结论。已有研究证实,上调 PLIN2 的表达会使细胞内脂质蓄积水平升高^[22],但 PLIN2 是否也可通过上调 PI3K/Akt 信号通路影响脂质蓄积呢? 在油红 O 实验中,通过观察不同组细胞内的脂质蓄积状况,得到了肯定的答案。

本研究揭示 PLIN2 通过 PI3K/Akt 信号通路上调 ACSL3 表达,促进巨噬细胞脂质蓄积。本研究仍存在一定的局限:首先,实验主要在体外细胞中进行,缺乏体内模型的数据支持,因此 PLIN2 在生理或病理状态下的实际效果尚不明确。其次,关于 ACSL3 是否直接导致脂质蓄积仍存在一定争议。现有研究显示,ACSL3 在脂质蓄积中扮演着关键角色,但其作用机制并不单一,不能简单地归结为直接介导。一方面,ACSL3 与脂质蓄积存在紧密关联。作为一种脂滴相关蛋白,ACSL3 主要定位于细胞膜、内质网及脂滴表面,能够促进脂滴的形成与成熟,增加脂滴数量,进而参与脂质蓄积过程。另外,ACSL3 还参与调节脂肪酸的摄取与代谢,通过促进脂肪酸转化为酰基辅酶 A,影响脂质合成。另一方面,ACSL3 对脂质蓄积的调控可能并非直接作用,可能通过与其他蛋白相互作用或参与信号通路间接影响脂质蓄积。例如,ACSL3 与小 GTP 结合蛋

白 Rab18 相互作用,促进 Rab18 在脂滴上的定位,进而影响脂滴的形成。此外,ACSL3 的表达还受到肝 X 受体(liver X receptor, LXR)的调控,LXR 通过调节 ACSL3 的表达影响脂质代谢^[13]。总之,ACSL3 在脂质蓄积中起重要作用,但其机制复杂,可能涉及多种间接途径。未来需要进一步研究 ACSL3 与其他分子的相互作用及其在脂质代谢中的具体机制,以明确其是否直接介导脂质蓄积。

[参考文献]

- [1] PERVAIZ N, MEHMOOD R, AITHABATHULA R V, et al. Smooth muscle cell-specific CD47 deletion suppresses atherosclerosis [J]. Life Sci, 2025, 361: 123315.
- [2] HAYAKAWA M, TAYLOR J N, NAKAO R, et al. Lipid droplet accumulation and adipophilin expression in follicular thyroid carcinoma[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2023, 640: 192-201.
- [3] GRISETI E, BELLO A A, BIETH E, et al. Molecular mechanisms of perilipin protein function in lipid droplet metabolism[J]. FEBS Lett, 2024, 598(10): 1170-1198.
- [4] PLEWES M R, TALBOTT H A, SCHOTT M B, et al. Unraveling the role of lipid droplets and perilipin 2 in bovine luteal cells[J]. FASEB J, 2024, 38(11): e23710.
- [5] BA X, HUANG Y, SHEN P, et al. WTD attenuating rheumatoid arthritis via suppressing angiogenesis and modulating the PI3K/AKT/mTOR/HIF-1 α pathway[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 696802.
- [6] MA Y, ZHANG X, ALSAIDAN O A, et al. Long-chain acyl-CoA synthetase 4-mediated fatty acid metabolism sustains androgen receptor pathway-independent prostate cancer [J]. Mol Cancer Res, 2021, 19(1): 124-135.
- [7] DENG Y, ZHOU C, MIRZA A H, et al. Rab18 binds PLIN2 and ACSL3 to mediate lipid droplet dynamics[J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids, 2021, 1866(7): 158923.
- [8] 杨丽,蒋思怦,张荣,等. Rab18 通过 JAK2/STAT3 下调 PLIN2 并减少 THP-1 巨噬细胞脂质蓄积[J]. 中国病生理杂志, 2022, 38(5): 769-778.
YANG L, JIANG S P, ZHANG R, et al. Rab18 down-regulates PLIN2 through JAK2/STAT3 pathway and attenuates lipid accumulation in THP-1 macrophages[J]. Chin J Pathophysiol, 2022, 38(5): 769-778.
- [9] TIAN S, LEI P, TENG C, et al. Targeting PLIN2/PLIN5-PPAR γ : sulforaphane disturbs the maturation of lipid droplets[J]. Mol Nutr Food Res, 2019, 63(20): e1900183.
- [10] LIBBY A E, BALES E, ORLICKY D J, et al. Perilipin-2 deletion impairs hepatic lipid accumulation by interfering with sterol regulatory element-binding protein (SREBP) activation and altering the hepatic lipidome[J]. J Biol Chem, 2016, 291(46): 24231-24246.
- [11] 莫雅婷,杨扬,朱平,等. 脂滴及脂滴包被蛋白在心血管疾病中的研究进展[J]. 中国医学科学院学报, 2022, 44(3): 463-471.
DIAN Y T, YANG Y, ZHU P, et al. Lipid droplets and perilipins in cardiovascular diseases [J]. Acta Acad Med Sin, 2022, 44 (3): 463-471.
- [12] 张瑞,李晓歌,袁旭,等. 脂肪分化相关蛋白对泡沫细胞形成中脂质蓄积的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2018, 26(9): 966-972.
ZHANG R, LI X G, YUAN X, et al. Effect of adipose differentiation-related protein on lipid accumulation in foam cell formation [J]. Chin J Arterioscler, 2018, 26(9): 966-972.
- [13] XIONG J, CHEN G, HE Y, et al. Oxymatrine reduces hepatic lipid synthesis in rat model of nonalcoholic steatohepatitis by regulating Sirt1/AMPK and LXR/Plin2/SREBP-1c pathways[J]. Chem Biol Interact, 2025, 407: 111370.
- [14] LIU X, LU X, SONG K, et al. Natural functions of PLIN2 mediating Wnt/LiCl signaling and glycogen synthase kinase 3 (GSK3)/GSK3 substrate-related effects are modulated by lipid[J]. Mol Cell Biol, 2015, 36(3): 421-437.
- [15] LUO H, SHE X, ZHANG Y, et al. PLIN2 promotes lipid accumulation in ascites-associated macrophages and ovarian cancer progression by HIF1 α /SPP1 signaling[J]. Adv Sci (Weinh), 2025, 12(12): e2411314.
- [16] MAKINO A, HULLIN-MATSUDA F, MURATE M, et al. Acute accumulation of free cholesterol induces the degradation of perilipin 2 and Rab18-dependent fusion of ER and lipid droplets in cultured human hepatocytes [J]. Mol Biol Cell, 2016, 27 (21): 3293-3304.
- [17] YANG Y, ZHU T, WANG X, et al. ACSL3 and ACSL4, distinct roles in ferroptosis and cancers[J]. Cancers (Basel), 2022, 14(23): 5896.
- [18] CHANG Y S, TSAI C T, HUANGFU C A, et al. ACSL3 and GSK-3 β are essential for lipid upregulation induced by endoplasmic reticulum stress in liver cells[J]. J Cell Biochem, 2011, 112(3): 881-893.
- [19] MOHANRAJ R, KAGEYAMA A, MATSUI H, et al. Palmitic acid induces osteoblastic differentiation in vascular smooth muscle cells through ACSL3 and NF- κ B, novel targets of eicosapentaenoic acid [J]. PLoS One, 2013, 8(6): e68197.
- [20] LIN J, WANG X, GU M, et al. Geniposide ameliorates atherosclerosis by restoring lipophagy via suppressing PARP1/PI3K/AKT signaling pathway[J]. Phytomedicine, 2024, 129: 155617.
- [21] PAULOIN A, CHANAT E. Prolactin and epidermal growth factor stimulate adipophilin synthesis in HC11 mouse mammary epithelial cells via the PI3-kinase/Akt/mTOR pathway[J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1823(5): 987-996.
- [22] 萧云,喻思扬,黄琨,等. 载脂蛋白 A-I 结合蛋白对血管新生及心血管疾病的作用研究[J/OL]. 中国动脉硬化杂志, 1-11 [2025-04-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/43.1262.R.20250217.1238.004.html>.
XIAO Y, YU S Y, HUANG K, et al. Research on the role of apolipoprotein A-I binding protein in angiogenesis and cardiovascular diseases[J/OL]. Chin J Arterioscler, 2025; 1-11 [2025-04-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/43.1262.R.20250217.1238.004.html>.

(此文编辑 文玉珊)