

## • 研究简报 •

## 巨噬细胞在泡沫细胞化过程中的代谢活性变化

谭健苗 杨永宗 杨小毅 袁中华

(衡阳医学院心血管病研究所, 衡阳 421001)

## The Change of Metabolism Activity in the Course of Macrophage-derived Foam Cell Formation

TAN Jian-Miao, YANG Yong-Zong, YANG Xiao-Yi and YUAN Zhong-Hua

(Institute of cardiovascular Diseases, Hengyang Medical College, Hengyang 421001, China)

**ABSTRACT** In this study the change of metabolism activity was measured from macrophage to macrophage-derived foam cell by incubating mouse peritoneal macrophages in oxidized low density lipoprotein, using tetrazolium dye assay. The result revealed that the metabolism activity ascended first, then descended, and the peak was at about 3 hours with macrophage in 500 mg/L oxidized low density lipoprotein.

**KEY WORDS** Oxidized low density lipoprotein; Macrophage; Foam cell; Metabolism activity

**摘要** 本实验在氧化型低密度脂蛋白作用于小鼠腹膜巨噬细胞的基础上,应用四氮唑蓝比色分析法,探讨巨噬细胞在向巨噬细胞源性泡沫细胞转化过程中的代谢活性的变化规律。结果表明在该过程中巨噬细胞的代谢活性先增高后降低,500 mg/L 氧化型低密度脂蛋白条件下的峰值在 3 h 左右。

**关键词** 氧化型低密度脂蛋白; 巨噬细胞; 泡沫细胞; 代谢活性

巨噬细胞(macrophage)是早期动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)损伤中的泡沫细胞的主要来源。近年来研究表明,氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein,

OLDL)与巨噬细胞相互作用是泡沫细胞形成的重要机制,巨噬细胞通过清道夫受体大量吞噬 OLDL 而逐步演变为巨噬细胞源性泡沫细胞。本实验旨在探讨该过程中巨噬细胞代谢活性随时间变化的规律及其意义。

## 1 材料与方法

按序列超速离心方法<sup>[1]</sup>制备低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL),用 Lowry 方法<sup>[2]</sup>测得 LDL 的蛋白质含量为 5.76 g/L,按谭健苗等<sup>[1]</sup>的方法氧化 LDL,参考 Genevieve R 等<sup>[3]</sup>方法收集小鼠(昆明种,雄性,10 周龄,衡阳医学院实验动物部提供)腹膜巨噬细胞,以  $10^5$ /L 的密度接种在 96 孔培养板上,每孔 200  $\mu$ l,计 8 孔/组 $\times$ 7 组,在 5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 12 h。

作以下分组设计:第①组加 RPMI1640 培养基(Life Technologies Inc USA)作对照;第②~⑦组加 500 mg/L OLDL 的 RPMI1640 培养液,分别于第 1、2、3、6、12、24 h 用 RPMI1640 培养基冲洗、换液。弃培养液,各孔加入 100 mg/L 四氮唑蓝(3,4,5-dimethylthiazol-2-yl-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide, MTT, Fluka Co)的 RPMI1640 培养液 40 ml 在 CO<sub>2</sub> 培养箱中继续培养。6 h 后取出,每孔加入酸化异丙醇 100  $\mu$ l,振荡 10 min,在 DG3022 型酶联免疫检测仪上测定 570 nm 的吸光度。

## 2 结果

巨噬细胞的 MTT 代谢活性随 OLDL 作用时间变化而变化。在 500 mg/L 浓度下,MTT 活性先增高,3 h 达最大值,随后逐渐下降,时效关系曲线接近编态分布(Table)。

## 3 讨论

离体培养活细胞代谢 MTT 而产生紫蓝色  
Table. MTT Activities of Macrophages after OLDL

## Action.

Action time (hour)	MTT activity (A <sub>570</sub> )
0	0.17±0.07*
1	0.21±0.07
2	0.22±0.03
3	0.30±0.10**
6	0.28±0.05
12	0.25±0.01
24	0.04±0.01*

This table shows the MTT activity of macrophage change with the time; First ascended, then descended after the peak which was at about 3 hours in 500 mg/L OLDL. The student's t test was used to compare the groups between \* and \*\*, and the statistical value  $P < 0.01$  ( $n=8$ ).

的 MTT 甲膳(formazan)沉淀物,从而在酶联免疫检测仪上检测出来<sup>[4~5]</sup>。细胞数的多少、细胞的代谢活性均能影响 MTT 甲膳的形成。巨噬细胞系单核巨噬细胞系统的终末细胞,无其它体细胞所具有的增殖能力,在细胞均匀种植在培养板上的条件下,实验测得 A<sub>570</sub> 的差异可能主要是由细胞的代谢活性所决定的。

本实验结果反映了巨噬细胞在转化为巨噬细胞源性泡沫细胞的早期其代谢活性明显增高,达峰值后又逐渐下降,在后期仅有微弱的 MTT 代谢能力。杨永宗等<sup>[6]</sup>发现,在家兔实验性 As 过程中主动脉耗氧量是先升高后降低,这与本实验结果是相互支持的。

氧化型低密度脂蛋白在 As 形成中的作用日益受到研究者的关注,OLDL 可通过多种机制对动脉壁细胞产生毒性效应,成为 As 形成,特别是早期 As 形成的中心环节<sup>[7]</sup>。在 As 形成的早期,巨噬细胞趋向和聚集于 OLDL 周围,通过清道夫受体、FC 受体<sup>[8]</sup>、CD36 受体<sup>[9]</sup>等大量摄取和吞噬 OLDL,可能产生凋亡过程<sup>[10]</sup>,这对于清除过量的脂质、防御 OLDL 对局部血管壁的损伤有着积极的保护意义。不同年龄层次的尸解均能发现血管壁的脂纹样病变,即支持这一观点。我们的实验结果显示巨噬细胞在

向泡沫细胞转变过程中的早期代谢活性有一定增强,提示该过程为一加强的保护性反应,有利于降低局部的脂质浓度,减轻 As 形成的倾向性。当然,巨噬细胞吞噬、代谢和清除脂质的能力亦有限度,当细胞内脂质堆积至一定程度时,即引起细胞的病理性转变,表现为超微结构、成分的变化及代谢能力的下降等,最终演变为 As 损伤中的巨噬细胞源性泡沫细胞。

## 参考文献

- 1 谭健苗,杨小毅,杨永宗. 巨噬细胞在泡沫细胞化过程中的 Ca<sup>2+</sup>变化. 中国动脉硬化杂志, 1995, 3 (3): 224~228.
- 2 Lowry OH, Rosebrough, Nira J, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 1951, **193**: 265~270.
- 3 Genevieve R. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids prevent the development of atherosclerotic lesions in mice, modulation of macrophage secretory activities. *Arterioscl Thromb*, 1993, **13**: 10~20.
- 4 Yu D, Yu LL. Optimal conditions of chemotherapeutic sensitivity in K562 cell line using tetrazolium dye assay. *Acta Pharmac. Sinica*, 1993, **14** (2): 137~140.
- 5 Francois D, Rita L. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J Immun Methods*, 1986, **89**: 271~277.
- 6 杨永宗,涂玉林. 动脉粥样硬化家兔主动脉耗氧量的变化. 中华心血管病杂志, 1980, **8** (4): 312~315.
- 7 Alan D, Simon ER. Lipoprotein oxidation as a mediator of atherogenesis: insights from pharmacological studies. *Cardiovas Res*, 1995, **29** (3): 297~311.
- 8 Lawrence WS, White RT, Carmen MB, et al. A macrophage FC receptor for IgG is also a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem*, 1992, **267**: 22 446~45
- 9 Andrew CN, Frieda S, Pearce A, et al. Oxidized LDL binds to CD36 on human monocyte derived macrophages and transfected cell lines; evidence implicating the lipid moiety of the lipoprotein as the binding site. *Arterioscl Thromb Vasc Biol*, 1995, **15** (2): 269~275.
- 10 Isabells EB. Necrosis and apoptosis induced by oxidized low density lipoprotein occur through two calcium-dependent pathways in lymphoblastoid cells. *Res commun*, 1994, **8**: 1 075~80.

(1996-03-07 收到)