

氧化修饰的低密度脂蛋白和极密度脂蛋白对兔腹腔巨噬单核细胞趋化蛋白-1 mRNA 表达的影响

王国平 邓仲端 瞿智玲

(同济医科大学病理学教研室, 武汉 430030)

近年来的研究表明,单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)在动脉粥样硬化发病机制中具有极为重要的作用。动脉壁内几种细胞都能表达 MCP-1 及 MCP-1 mRNA,并在一定的条件下增强或减弱。本文的目的是观察兔腹腔巨噬细胞 MCP-1 mRNA 的表达及低密度脂蛋白(LDL)、氧化 LDL(oxLDL)、极低密度脂蛋白(VLDL)及氧化 VLDL(oxVLDL)对其影响,以阐明 oxLDL 和 oxVLDL 在动脉粥样硬化病机制中的作用。

方法: 本文在无菌条件下收集兔腹腔巨噬细胞,加入含 10% 胎牛血清的 M199 培养液,置 37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 2 h,使之附壁。然后弃去培养液,用温 PBS 洗涤后加入无血清培养基 D8900,并在培养基中分别加入终浓度为 25 mg · L⁻¹ 的 LDL、oxLDL、VLDL、oxVLDL,培养 24 h 后收集培养基,同时参照异硫氰酸胍法提取兔腹腔巨噬细胞总 RNA,用 ³²P-末端标记 MCP-1 寡核苷酸探针,进行 slot blot 分析;用狭缝杂交点样器将总 RNA 样本点于硝酸纤维素微孔滤膜上,将此滤膜置真空干燥 2 h 后放在预杂交液中在 60℃ 下预杂交 4 h,然后置于杂交液中杂交 18 h。用清洗液(0.2×SSC 和 0.1% SDS)在 60℃ 下洗膜 4 次,凉干后在-70℃ 下对感光胶片曝光 40 h。常规显影定影后,用 TJTY-300 型医用图象处理系统进行检测各样本的积分光密度值,以观察兔腹腔巨噬细胞 MCP-1 mRNA 的表达情况。

结果 兔腹腔巨噬细胞能表达 MCP-1 mRNA。LDL、VLDL 对其表达有一定的影响(分别比对照组增加 0.8 倍和 0.9 倍),而 oxLDL、oxVLDL 则能明显地增强巨噬细胞表达 MCP-1 mRNA(分别比对照组增加 6 倍和 7.7 倍)。提示血液单核细胞既是 MCP-1 的靶细胞,在受到这些趋化因子的吸引后迁入内皮下间隙,在此处被激活分化为巨

噬细胞,而这些巨噬细胞本身又能表达并分泌 MCP-1,参与单核细胞的趋化过程。OLDL 和 OVLDL 能明显增强巨噬细胞 MCP-1 mRNA 的表达,表明二者能明显促进单核细胞的趋化过程,从而在动脉粥样硬化病机制中起主要作用。