

# 干扰素- $\gamma$ 对 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞胆固醇流出和 ABCA1 表达的影响\*

唐朝克 易光辉 王 佐 王 燕 刘录山 万载阳 袁中华 阮长耿 杨永宗\*\*

(南华大学心血管病研究所, 衡阳 421001)

**摘要** 以 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞为研究对象, 观察干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 对 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞胆固醇流出和三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ABCA1) 表达的影响. 以便探讨 IFN- $\gamma$  在动脉粥样硬化发生发展中的作用. 采用液体闪烁计数器检测细胞内胆固醇流出, 高效液相色谱分析细胞内总胆固醇、游离胆固醇和胆固醇酯含量. 运用逆转录-多聚酶链反应和蛋白质印迹分别检测 ABCA1 mRNA 与 ABCA1 蛋白质的表达, 采用流式细胞术检测细胞平均 ABCA1 荧光强度. 发现 IFN- $\gamma$  引起 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞总胆固醇、游离胆固醇与胆固醇酯呈时间依赖性增加, 而 ABCA1 mRNA 和蛋白质表达、细胞平均 ABCA1 荧光强度以及 apoA-I 介导的胆固醇流出呈时间依赖性减少, 细胞内胆固醇增多. 结果表明 IFN- $\gamma$  抑制 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞 ABCA1 表达及细胞内胆固醇流出, 同时增加细胞内胆固醇聚积.

**关键词** 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1, 流式细胞术, 胆固醇流出, 低密度脂蛋白, 泡沫细胞

**学科分类号** R363

Tangier 病 (TD) 病人高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 降低并且扁桃体及淋巴组织中的巨噬细胞胆固醇聚积. 最近证实 TD 病人的突变基因是 ABCA1<sup>[1]</sup>. 然而, 与 TD 病相反, 胆固醇负荷和 cAMP 水平提高都能上调三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ATP binding cassette transporter A1, ABCA1) 表达, 并导致载脂蛋白介导的胆固醇流出增加.

CD4<sup>+</sup> Th1 细胞浸润后, 在人动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 病变处存在干扰素- $\gamma$  (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ). 因此, 认为 IFN- $\gamma$  可能对动脉粥样硬化病理起作用, 在 As 斑块处的巨噬细胞和平滑肌细胞有脂质聚积并表达 IFN- $\gamma$  受体<sup>[2]</sup>. 然而, IFN- $\gamma$  在 As 发生发展中的作用还未完全阐明. 一方面报道 IFN- $\gamma$  降低巨噬细胞清道夫受体 A、低密度脂蛋白受体相关蛋白和脂蛋白酯酶的表达, 即有抗 As 作用<sup>[3,4]</sup>; 另一方面报道 IFN- $\gamma$  增加内皮细胞血管细胞黏附分子-1 和平滑肌细胞清道夫受体的表达, 即 IFN- $\gamma$  有致 As 作用<sup>[5,6]</sup>. 巨噬细胞激活因子 IFN- $\gamma$  增加乙酰辅酶 A: 胆固醇乙酰基转移酶 (acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase, ACAT) 的活性和表达, 减少巨噬细胞源性泡沫细胞胆固醇流出到 HDL<sub>3</sub><sup>[7]</sup>. 在人动脉粥样硬化斑块和 apoE 与 IFN- $\gamma$  受体双剔除小鼠中发现 As 斑块中存在有 IFN- $\gamma$ <sup>[8]</sup>. 因此, 本文以 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞为研究对象, 观察 IFN- $\gamma$  对 THP-1 巨噬细胞源

性泡沫细胞胆固醇流出和 ABCA1 表达的影响. 以便探讨 IFN- $\gamma$  在 As 发生发展中的作用.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

流式细胞仪 (COULTER EPICS ALTRA HyperSort™ System, 美国), 200 型高效液相色谱仪 (PE 公司), CP100MX 超速离心机 (Tokyo 公司), FJ-2107P 液体闪烁计数器 (国营二六二厂). THP-1 人单核细胞由中国科学院上海生物化学与细胞生物研究所细胞库提供; 逆转录-多聚酶链反应试剂盒为美国 Promega 公司产品; 干扰素- $\gamma$ 、牛血清白蛋白 (BSA)、载脂蛋白 A-I (apoA-I)、佛波酯 (Phorbol myristate acetate, PMA)、乙腈、胆固醇为 Sigma 公司产品; 总 RNA 提取试剂盒 (TRIzol)、ABCA1 和 GAPDH (作为内参) 引物均由上海生物工程公司提供; 羊抗人 ABCA1 一抗和 FITC 标记的兔抗羊二抗 (Santa Cruz 公司), 辣根过氧化物酶标记兔抗羊二抗 (武汉博士德公司), 其他试剂均为进口或国产分析纯.

\* 湖南省科技厅重点资助项目 (01SSY1003).

\*\* 通讯联系人.

Tel: 0734-8281288, E-mail: yzyang@mail.hy.hn.cn

收稿日期: 2003-06-30, 接受日期: 2003-08-28

## 1.2 低密度脂蛋白的分离、修饰及鉴定

低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 分离. 健康人血浆购自衡阳市血站. 按我们以前的方法<sup>[9]</sup>制备低密度脂蛋白, 将 210 ml 血浆置超速离心机作序列超速离心. 提纯的 LDL 在含 200  $\mu\text{mol/L}$  乙二醇四乙酸的 BPS 液中透析 48 h, BCA 法定量蛋白质, 用 PBS 液调节蛋白质浓度至 1 g/L, 并进行修饰及鉴定, 过滤除菌, 4℃ 保存.

## 1.3 细胞培养

THP-1 单核细胞用含 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液, 37℃ 5%  $\text{CO}_2$  培养箱中静置培养. 培养液中青霉素和链霉素各  $1.0 \times 10^5$  U/L, 在每次实验前用 160 nmol/L 佛波酯孵育 THP-1 细胞 24 h, 使其诱导分化成巨噬细胞. 巨噬细胞与 50 mg/L 氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 孵育 48 h, 使细胞转变成泡沫细胞.

## 1.4 胆固醇流出

胆固醇流出检测按文献 [10] 描述的方法进行, THP-1 巨噬细胞用  $0.74 \times 10^4$  Bq/ml [ $^3\text{H}$ ] 胆固醇和 50 mg/L ox-LDL 及含 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液共同孵育 48 h 之后, 用 PBS 液洗涤细胞, 用含 100  $\mu\text{g/L}$  IFN- $\gamma$  和 2 g/L 牛血清白蛋白的 RPMI 1640 培养液孵育细胞 0 h、12 h、24 h、48 h. 再用 PBS 液洗涤细胞, 在无血清的含 10 mg/L 载脂蛋白 A-I 新培养液中孵育细胞 12 h, 用闪烁计数法检测培养液和细胞的 [ $^3\text{H}$ ] 胆固醇. 胆固醇流出率 = {培养液 cpm 值  $\div$  (培养液 cpm 值 + 细胞 cpm 值)}  $\times 100\%$ .

## 1.5 油红 O 染色和脂质染色的半定量分析

将细胞培养于放有消毒盖玻片的 6 孔培养板内, 细胞被处理后, 用 PBS 洗 3 次, 50% 异丙醇固定 1 min, 油红 O 染色液染色 10 min, 苏木素染色 5 min, 1% HCl 分色及返蓝后, 水性封片剂封片. 显微镜下观察, 细胞内脂质呈红色, 细胞核呈蓝色, 图像分析系统收集图像并显微镜下摄像. 按 Wada 方法<sup>[11]</sup>进行脂质染色的半定量分析即根据细胞脂滴的面积进行细胞分类. 细胞脂滴的面积小于细胞核的面积记为 “-”, 细胞脂滴的面积等于或大于细胞核的面积记为 “+” 即为油红 O 染色细胞, 每一块玻片计数 100 个细胞.

## 1.6 高效液相色谱分析

按我们以前描述的方法进行<sup>[12]</sup>. 取样品 10  $\mu\text{l}$  进行高效液相色谱分析. 采用 C18 柱, 以异丙

醇: 正庚烷: 乙腈为流动相进行非梯度洗脱, 流速 1 ml/min, 柱温保持 4℃, 216 nm 检测 8 min. 以峰面积定量胆固醇, 胆固醇酯经胆固醇酯酶水解, 测总胆固醇量, 总胆固醇量减去游离胆固醇量为胆固醇酯的量.

## 1.7 流式细胞术

按文献 [13] 方法进行, 各组细胞经 4% 多聚甲醛室温下固定 30 min, 再用含 1% 小牛血清的 PBS 洗 3 遍, 每次 5 min, 加入含 1% 小牛血清、1.5% ABCA1 一抗的 PBS, 置室温 60 min, 含 1% 小牛血清的 PBS 洗 3 遍, 加 FITC 标记的兔抗羊二抗 (抗体稀释倍数为 1:200), 室温避光反应 30 min. 胰酶消化细胞, 含 1% 小牛血清的 PBS 洗 3 遍后, 移入测试管, 上机检测细胞平均荧光强度. 阴性对照不加 FITC 标记的兔抗羊二抗, 代之以小鼠 IgG. 避光 30 min 后用流式细胞仪检测. 每份标本收集  $10 \times 10^3$  个细胞进行检测.

## 1.8 逆转录聚合酶链反应

THP-1 巨噬细胞 ( $1 \times 10^7$  个/瓶) 在含有 50 mg/L ox-LDL 培养液中培养 48 h, 然后用无血清培养液加 100  $\mu\text{g/L}$  IFN- $\gamma$  培养细胞, PBS 液洗涤细胞, 用 10 mg/L apoA-I 继续培养细胞 12 h, 收集各组细胞. 按 TRIzol 试剂盒说明书提取总 RNA. 取各组细胞总 RNA 2  $\mu\text{g}$  逆转录合成 cDNA, 再取逆转录产物 10  $\mu\text{l}$  进行 PCR. 94℃ 温育 5 min, 94℃ 变性 1 min, 60℃ 复性 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 共 34 个循环, 末次循环 72℃, 延伸 10 min. ABCA1 (GeneBank 序列号: AF285167) 的引物序列: 上游 5' GCTGCTGAAGCCAGGGCATGGG 3', 下游 5' GTGGGGCAGTGGCCATACTCC 3', PCR 扩增产物长度为 306 bp. GAPDH 的引物序列: 上游 5' TCACCATCTTCCAGGAGCGAG 3', 下游 5' TGTC-GCTGTTGAAGTCAGAG 3', PCR 扩增产物长度为 697 bp. 反应结束后, 取反应产物 10  $\mu\text{l}$  进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭染色, UVP 型凝胶图像分析系统摄图, 并分析各组目的基因及 GAPDH 基因灰度值, 以二者的比值代表 ABCA1 的表达.

## 1.9 蛋白质印迹检测 ABCA1 蛋白质的表达

在收获好的细胞中加入三去污剂裂解缓冲液进行细胞裂解, 于 4℃ 离心 10 min, 弃除沉淀, BCA 法进行蛋白质定量, 取 50  $\mu\text{g}$  蛋白质加入  $2 \times$  SDS 凝胶加样缓冲液中, 在 100℃ 加热 10 min 以使蛋白质变性. 用 6% SDS-聚丙烯酰胺凝胶进行电泳分离, 转 PDVF 膜, 丽春红染色观察转移效果, 并确

定蛋白质分子质量标准位置. 封闭液封闭 2 h, 按 1:200 加入羊抗人 ABCA1 一抗, 4℃ 孵育过夜, TBST 洗 3 次, 按 1:2 000 的稀释倍数加入辣根过氧化物酶标记兔抗羊二抗, 室温孵育 1 h, TBST 洗 3 次, 用蛋白质印迹荧光检测试剂盒显示于 X 光片. 结果用 Labwork 凝胶图像分析系统对胶片扫描, 以对照组的面积灰度值为 100% 与实验组进行比较和半定量分析.

1.10 统计学处理

实验所得数据采用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间比较采用方差分析及 *t* 检验, *P* < 0.05 为有显著性差异.

2 结 果

2.1 THP-1 巨噬细胞源性泡沫化

用 50 mg/L ox-LDL 与 THP-1 巨噬细胞共同孵育 48 h 后, 经油红 O 染色, 显微镜下观察, 细胞浆内有大量的脂滴存在, 符合泡沫细胞形态特点. 同时用高效液相色谱分析细胞内总胆固醇、游离胆固醇与胆固醇酯均明显增加, 与巨噬细胞比较均有显著性差异 (*P* < 0.05), 其中细胞内胆固醇酯从 48 mg/g 剧增到 383 mg/g, 说明细胞内有大量胆固醇酯聚集, 胆固醇酯/总胆固醇之比值达到 60% 以上, 已为泡沫化细胞 (图 1).

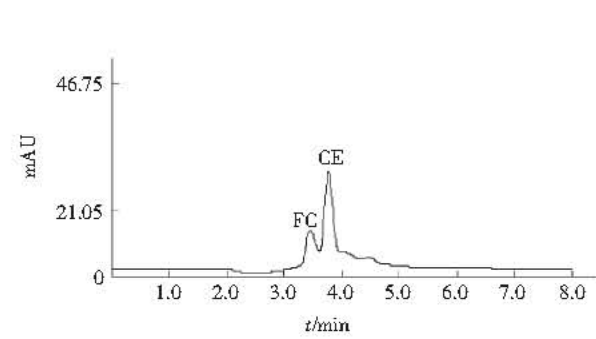


Fig.1 The chromatography picture of cholesterol and cholesterol ester in THP - 1 macrophage - derived foam cell identified by high performance liquid chromatography  
FC: free cholesterol peak, CE: cholesterol ester peak.

2.2 干扰素-γ 对泡沫细胞胆固醇的影响

THP-1 巨噬细胞与 50 mg/L ox-LDL 共同孵育 48 h 后, 加 100 μg/L IFN-γ 孵育 0 h、12 h、24 h 和 48 h. 油红 O 染色, 显微镜下观察, 细胞内脂滴逐渐增多增大, 到 24 h、48 h 时明显地增多变大 (图 2). 油红 O 染色细胞计数分别为 58 ± 6、62 ± 6、82 ± 9、89 ± 9. 24 h、48 h 时分别与 0 h 时比较, 油红 O 染色细胞数明显地增多 (*P* < 0.05). 高效液相色谱分析细胞内总胆固醇、游离胆固醇与胆固醇酯均明显地增加, 24 h、48 h 时分别与 0 h 时比较均有显著性差异 (表 1).

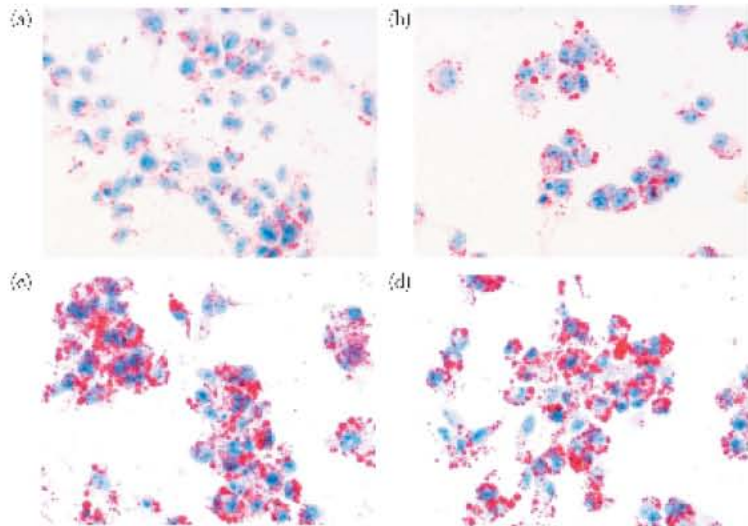


Fig.2 Effect of interferon-γ on lipid in THP-1 macrophage-derived foam cells  
(a) 0 h; (b) 12 h; (c) 24 h; (d) 48 h. *P* < 0.05 compare to 0 h group (×400, *n* = 3).

Table 1 Effects of the level of total, free and esterified cholesterol in THP-1 macrophage-derived foam cells

| Index                                            | 0 h      | 12 h     | 24 h       | 48 h       |
|--------------------------------------------------|----------|----------|------------|------------|
| Total cholesterol (TC) / (mg · g <sup>-1</sup> ) | 509 ± 53 | 553 ± 58 | 643 ± 65 * | 689 ± 71 * |
| Free cholesterol (FC) / (mg · g <sup>-1</sup> )  | 205 ± 26 | 211 ± 24 | 265 ± 22 * | 257 ± 26 * |
| Cholesterol ester (CE) / (mg · g <sup>-1</sup> ) | 304 ± 31 | 315 ± 35 | 378 ± 36 * | 432 ± 45 * |
| CE/TC/%                                          | 59.7     | 60.6     | 58.8       | 62.7       |

\*  $P < 0.05$ , compared to 0 h group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ ).

2.3 干扰素-γ对泡沫细胞胆固醇流出的影响

用 50 mg/L ox-LDL 孵育 THP-1 巨噬细胞使其泡沫化后, 加 IFN-γ 100 μg/L 孵育 0 h、12 h、24 h 和 48 h。检测胆固醇流出。结果显示 IFN-γ 对 THP-1 巨噬细胞泡沫细胞胆固醇流出的影响依时间不同而有所不同。在 0 h、12 h、24 h、48 h 时胆固醇流出分别为 8.3%、7.9%、3.5%、3.1% (图 3)。24 h、48 h 时分别与 0 h 时比较胆固醇流出明显地减少 ( $P < 0.05$ )。

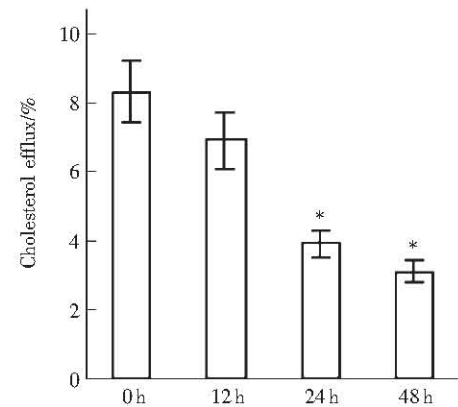


Fig. 3 The effect of interferon-γ on cholesterol efflux in THP-1 macrophage-derived foam cells

\*  $P < 0.05$ , compared to 0 h group.

2.4 干扰素-γ对细胞 ABCA1 mRNA 表达的影响

为了证明 IFN-γ 是否影响 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞 ABCA1 mRNA 表达, 我们用 RT-PCR 检测 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞 ABCA1 mRNA 的表达。结果显示经 IFN-γ 100 μg/L 处理的 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞, 其 ABCA1 mRNA 表达呈时间依赖性减少, 0 h、12 h、24 h、48 h 时目的基

因及 GAPDH 基因灰度值比值分别为 1.16、1.05、0.47、0.39, 如图 4 所示。24 h、48 h 时 ABCA1 mRNA 的表达分别与 0 h 时比较明显地减少 ( $P < 0.05$ )。

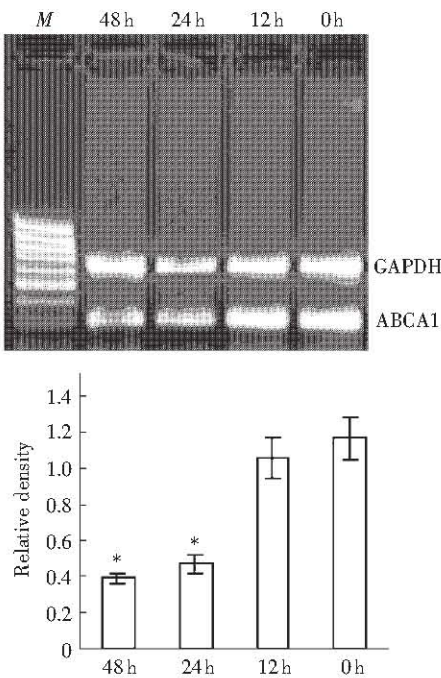


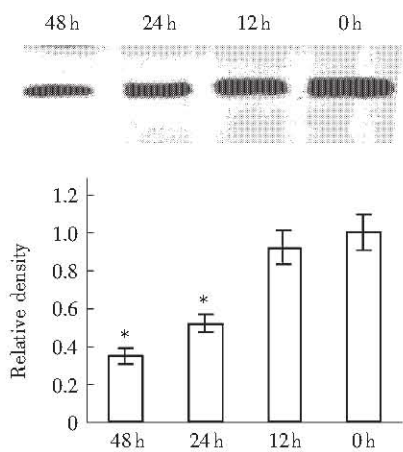
Fig. 4 Effects of IFN-γ on ABCA1 mRNA expression in THP-1 macrophage-derived foam cells

\*  $P < 0.05$ , compared to 0 h group.

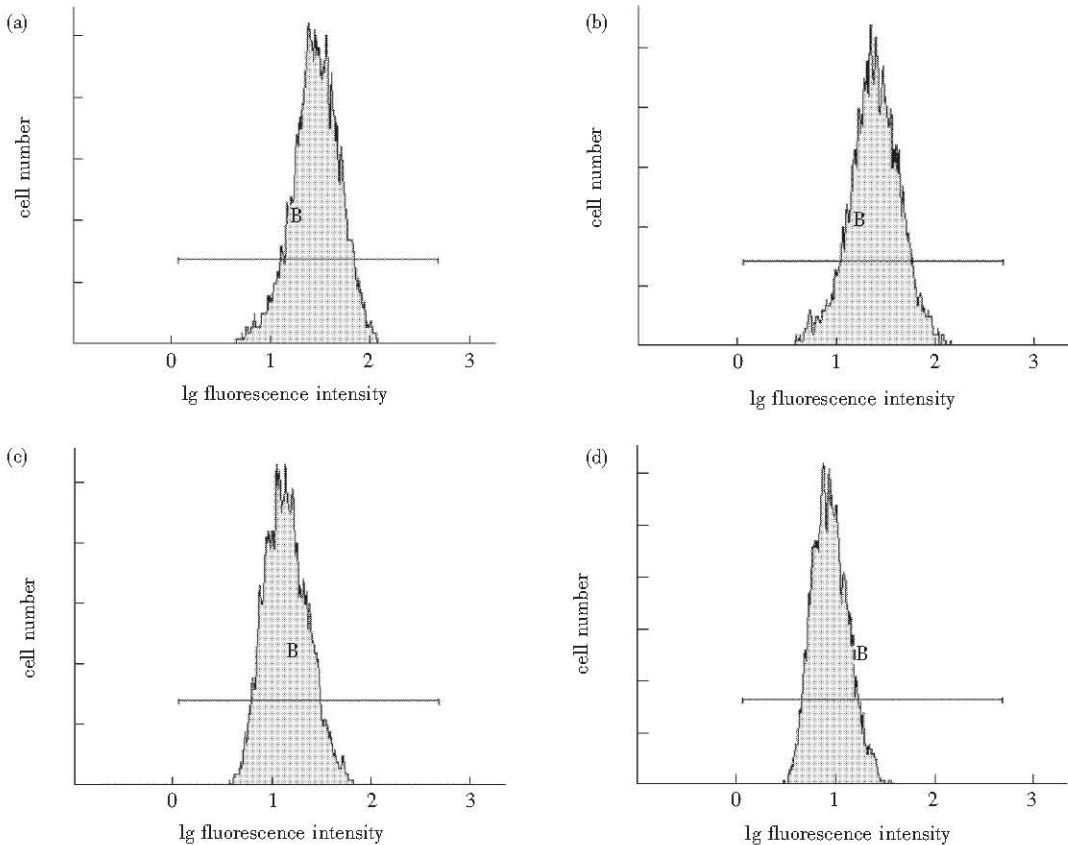
2.5 干扰素-γ对细胞 ABCA1 蛋白质表达的影响

THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞经 IFN-γ 100 μg/L 处理后, 提取细胞总蛋白质经蛋白质印迹检测, 发现 ABCA1 蛋白质表达呈时间依赖性减少。0 h 组的面积灰度值与其他时间组的面积灰度值进行比较, 0 h、12 h、24 h、48 h 时分别为

1.00、0.93、0.52、0.35 (图 5)。24 h、48 h 时 ABCA1 蛋白质的表达分别与 0 h 时比较明显地减少 ( $P < 0.05$ )。结果与 ABCA1 mRNA 表达相一致, 都呈时间依赖性减少。流式细胞仪检测 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞平均 ABCA1 表达的荧光强度。结果显示 IFN- $\gamma$  (100  $\mu\text{g/L}$ ) 对 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞平均 ABCA1 荧光强度的影响依时间不同而有所不同。在 0 h、12 h、24 h、48 h 时平均荧光强度分别为 31.4、27.8、14.9、12.3 (图 6)。24 h、48 h 时分别与 0 h 时比较平均荧光强度明显地减少 ( $P < 0.05$ )。



**Fig. 5** Effects of IFN- $\gamma$  on ABCA1 protein expression in THP-1 macrophage-derived foam cells  
\*  $P < 0.05$ , compared to 0 h group.



**Fig. 6** Effects of IFN- $\gamma$  on the mean ABCA1 fluorescence intensity in THP-1 macrophage-derived foam cells  
(a) 0 h; (b) 12 h; (c) 24 h; (d) 48 h. Each panel is a histogram representing cell numbers (y-axis) versus lg fluorescence intensity (x-axis) for 10 000 viable cells (\*  $P < 0.05$ , compared to 0 h group).

3 讨 论

细胞内胆固醇流出有 3 条不同的途径<sup>[14]</sup>。a. 血浆 HDL 颗粒通过被动扩散促进胆固醇流出, 游

离胆固醇分子自发地从细胞膜释放, 经水相扩散, 通过碰撞结合于 HDL 颗粒; b. 清道夫受体 B- I (SR-B I) 也使胆固醇从细胞流出到 HDL 颗粒, 抑制 HDL 与 SR-B I 结合的抗体可阻碍胆固醇流

出; c. ABCA1 介导的磷脂和胆固醇从细胞主动流出到无脂载脂蛋白如 apoA-I, apoA-I 与 ABCA1 结合并相互作用而导致脂质流出. Tangier 病 (TD) 病人的细胞缺乏第三条途径.

已往研究表明, IFN- $\gamma$  减少 HDL<sub>3</sub> 介导的鼠巨噬细胞源性泡沫细胞胆固醇流出, 增加 ACAT 表达和活性, 增加胆固醇酯聚积<sup>[7]</sup>. 本实验结果显示 IFN- $\gamma$  明显地减少 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞胆固醇流出和 ABCA1 的表达, 增加 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞胆固醇聚积. 这些结果说明, IFN- $\gamma$  作用于胆固醇逆转运过程的起始步骤, IFN- $\gamma$  一方面使胆固醇酯化, 使胆固醇不易流出; 另一方面 IFN- $\gamma$  使 ABCA1 表达下降, ABCA1 主动转出胆固醇减少, 从而细胞内胆固醇聚积增加.

在 TD 缺乏 ABCA1 介导的磷脂和胆固醇从细胞主动流出到无脂载脂蛋白, 巨噬细胞内堆积大量的脂质和胆固醇酯. 巨噬细胞 ABCA1 高表达与载脂蛋白介导途径流出胆固醇的能力相一致. 然而, 在这一过程中 ABCA1 的确切作用还未阐明. 其中一个模型认为 ABCA1 是胆固醇和/或磷脂的转运体, 它与 MDR2 类似, MDR2 是一种 ABC 转运体, 使磷脂和胆固醇分泌到胆汁<sup>[15]</sup>. 在这一模型中, apoA-I 与细胞表面 ABCA1 相互作用, 接着发生胞吞作用, apoA-I 与胆固醇及磷脂发生脂质化形成新生的 HDL 颗粒, 然后被分泌, 这些颗粒能与 HDL 受体如 SR-B I 和 CD36 相互作用, 进一步刺激胆固醇流出. 已证实细胞膜有 ABCA1 表达. cAMP 提高可增加 ABCA1 表达. 此外, 有报道诱导 cAMP 受体可促进 apoA-I 介导的胆固醇流出<sup>[16]</sup>. 这种模型认为, 降低 ABCA1 表达或 ABCA1 功能突变可将减少磷脂和胆固醇流出. 本研究支持 ABCA1 参与 apoA-I 介导的胆固醇流出.

本研究结果显示 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞经 IFN- $\gamma$  处理 48 h 后, apoA-I 介导的胆固醇流出从 8.3% 下降到 3.1%, 推测 IFN- $\gamma$  引起的 apoA-I 介导胆固醇流出下调机制可能主要是由于 ABCA1 表达的大量降低之故. IFN- $\gamma$  降低胆固醇流出到 HDL 的机制似乎是多因素的. 以前研究显示 IFN- $\gamma$  减少 HDL 与游离胆固醇结合. 此外, IFN- $\gamma$  增加 ACAT 活性和表达, 刺激胆固醇酯化, 减少细胞内游离胆固醇<sup>[7]</sup>.

胆固醇和巨噬细胞分化可上调 ABCA1, 细胞内胆固醇增加可诱导 ABCA1 信使水平, 这种效应可被细胞内胆固醇池的耗尽而逆转<sup>[17]</sup>. ABCA1 调

节与巨噬细胞源性泡沫细胞功能状态的相关机制还未阐明. 虽然 IFN- $\gamma$  降低 ABCA1 表达的途径不确定, 但可考虑与 Janus 激酶和 Stat 途径的激活有关<sup>[18]</sup>, IFN- $\gamma$  先激活 Stat 1, 而 Stat 1 活性可被 cAMP 抑制. 进一步研究将聚焦 IFN- $\gamma$  介导 ABCA1 表达调节的关系. Grewal 等<sup>[19]</sup>报道了 2 兄弟病例, 其中兄弟之一没有高脂血症, 但有巨噬细胞泡沫细胞形成增加, 有广泛的黄瘤症临床症状, 有 IFN- $\gamma$  诱导 Stat 1a 基因表达增加. 进一步支持 IFN- $\gamma$  和 Stat 1 在胆固醇转运中的重要性.

本实验结果显示 IFN- $\gamma$  抑制巨噬细胞泡沫细胞胆固醇流出. 这种抑制作用主要通过下调 ABCA1 表达、刺激 ACAT 活性和增加酯化胆固醇而实现. 因此, IFN- $\gamma$  在 As 斑块中具有诱导泡沫细胞形成的潜力. 通过解释 IFN- $\gamma$  的抑制作用机制, 特别是下调 ABCA1 途径, 将有助于治疗药物的开发.

## 参 考 文 献

- 唐朝克, 杨永宗. ABCA1 在动脉粥样硬化发生与发展中的作用. 生命的化学, 2003, **23** (2): 138 ~ 140  
Tang C K, Yang Y Z. Chemistry of Life, 2003, **23** (2): 138 ~ 140
- Hansson G K. Cell-mediated immunity in atherosclerosis. Curr Opin Lipidol, 1997, **8** (5): 301 ~ 311
- Geng Y J, Hansson G K. Interferon-gamma inhibits scavenger receptor expression and foam cell formation in human monocyte-derived macrophages. J Clin Invest, 1992, **89** (4): 1322 ~ 1330
- LaMarre J, Wolf B B, Kittler E L, et al. Regulation of macrophage alpha 2-macroglobulin receptor/low density lipoprotein receptor-related protein by lipopolysaccharide and interferon-gamma. J Clin Invest, 1993, **91** (3): 1219 ~ 1224
- Li H, Cybulsky M I, Gimbrone M A, et al. An atherogenic diet rapidly induces VCAM-1, a cytokine-regulatable mononuclear leukocyte adhesion molecule, in rabbit aortic endothelium. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1993, **13**: 197 ~ 204
- Li H, Freeman M W, Libby P. Regulation of smooth muscle cell scavenger receptor expression *in vivo* by atherogenic diets and *in vitro* by cytokines. J Clin Invest, 1995, **95** (1): 122 ~ 133
- Panousis C G, Zuckerman S H. Regulation of cholesterol distribution in macrophage-derived foam cells by interferon- $\gamma$ . J Lipid Res, 2000, **41**: 75 ~ 83
- Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. N Engl J Med, 1999, **340** (2): 115 ~ 126
- 唐朝克, 杨永宗, 易光辉, 等. 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 在 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞胆固醇流出中的作用. 中国病理生理杂志, 2003, **19** (8): 1084 ~ 1088  
Tang C K, Yang Y Z, Yi G H, et al. Chinese Journal of Pathophysiology. 2003, **19** (8): 1084 ~ 1088
- Guorong Lin, Bornfeldt K E. Cyclic AMP-specific phosphodiesterase 4 inhibitors promote ABCA1 expression and cholesterol efflux. Biochem Biophys Res Commun, 2002, **290** (2): 663 ~ 669
- Wada Y, Sugiyama A, Yamamoto T, et al. Lipid accumulation in smooth muscle cells under LDL loading is independent of LDL receptor pathway and enhanced by hypoxic conditions. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2002, **22** (10): 1712 ~ 1719

- 12 唐朝克, 贺修胜, 易光辉, 等. LX $\alpha$  在泡沫细胞胆固醇流出中的调控作用. 生物化学与生物物理进展, 2003, **30** (6): 940 ~ 944  
Tang C K, He X S, Yi G H, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2003, **30** (6): 940 ~ 944
- 13 唐朝克, 杨峻浩, 易光辉, 等. 油酸对 THP-1 巨噬细胞源性泡沫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. 生物化学与生物物理学报, 2003, **35** (12): 1077 ~ 1082  
Tang C K, Yang J H, Yi G H, *et al.* Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2003, **35** (12): 1077 ~ 1082
- 14 Yancey P G, Bortnick A E, Weibel G K, *et al.* Importance of different pathways of cellular cholesterol efflux. Arterioscler Thromb Vas Biol, 2003, **23**: 712 ~ 719
- 15 Elferink R P, Tytgat G N, Groen A K. Hepatic canalicular membrane 1: The role of mdr2 P-glycoprotein in hepatobiliary lipid transport. FASEB J, 1997, **11**: 19 ~ 28
- 16 Sakr S W, Williams D L, Stoudt G W, *et al.* Induction of cellular cholesterol efflux to lipid-free apolipoprotein A-I by cAMP. Biochim Biophys Acta, 1999, **1438** (1): 85 ~ 98
- 17 Langmann T, Klucken J, Reil M, *et al.* Molecular cloning of the human ATP-binding cassette transporter 1 (hABC1): evidence for sterol-dependent regulation in macrophages. Biochem Biophys Res Commun, 1999, **257** (1): 29 ~ 33
- 18 Wang F, Sengupta T K, Zhong Z, *et al.* Regulation of the balance of cytokine production and the signal transducer and activator of transcription (STAT) transcription factor activity by cytokines and inflammatory synovial fluids. J Exp Med, 1995, **182**: 1825 ~ 1831
- 19 Grewal T, Boudreau M, Roy M, *et al.* Expression of gamma-IFN responsive genes in scavenger receptor over-expressing monocytes is associated with xanthomatosis. Atherosclerosis, 1998, **138** (2): 335 ~ 345

## Effects of IFN- $\gamma$ on ATP Binding Cassette Transporter A1 Expression and Cholesterol Efflux in THP-1 Macrophage-derived Foam Cells \*

TANG Chao-Ke, YI Guang-Hui, WANG Zuo, WANG Yan,

LIU Lu-Shan, WAN Zai-Yang, YUAN Zhong-Hua, RUAN Zhang-Geng, YANG Yong-Zong\*\*

(Institute of Cardiovascular Disease of Nanhua University, Hengyang 421001, China)

**Abstract** In order to study the effect of IFN- $\gamma$  on ATP binding cassette transporter A1 (ABCA1) expression and cholesterol efflux in THP-1 macrophage-derived foam cells, after exposure of the cultured THP-1 macrophage-derived foam cells to IFN- $\gamma$  for different time, cholesterol efflux and ABCA1 mRNA and protein level were determined by FJ-2107P type liquid scintillator and reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot, respectively and the mean ABCA1 fluorescence intensity on THP-1 macrophage-derived foam cells was detected by flow cytometry. It was demonstrated that exposure of the cultured THP-1 macrophage-derived foam cells to IFN- $\gamma$  for different time results in decreasing cholesterol efflux, the expression of ABCA1 mRNA and protein and the mean ABCA1 fluorescence intensity in THP-1 macrophage-derived foam cells in a time-dependent manner. Exposure of the cultured THP-1 macrophage-derived foam cells to IFN- $\gamma$  for different time results in increasing total cholesterol, free cholesterol and cholesterol ester in THP-1 macrophage-derived foam cells in a time-dependent manner. It can be concluded that IFN- $\gamma$  decreases cholesterol efflux and the expression of ABCA1 in THP-1 macrophage-derived foam cells.

**Key words** ATP binding cassette transporter A1, flow cytometry, cholesterol efflux, low density lipoprotein, foam cell

\* This work was supported by a grant from The Special Funds for Department of Science and Technology of Hunan Province (01SSY1003).

\*\* Corresponding author. Tel: 86-734-8281288, E-mail: yzyang@mail.hy.hn.cn

Received: June 30, 2003      Accepted: August 28, 2003