

脂联素经肝 X 受体 α 途径对 RAW 264.7 巨噬细胞 ABCG1 表达的影响*

梁 斌¹⁾ 白 瑞¹⁾ 韩耀霞²⁾ 郭晓红²⁾ 肖传实²⁾ 边云飞^{1)**}⁽¹⁾ 山西医科大学第二医院心内科, 太原 030001; ⁽²⁾ 山西医科大学第一医院心内科, 太原 030001)

摘要 泡沫细胞形成是动脉粥样硬化发生的关键环节, 胆固醇逆转运可以防止泡沫细胞形成, ATP 结合盒转运体 G1 (ATP-binding cassette transporter G1, ABCG1) 在胆固醇逆转运中起着很重要的作用, 可将细胞内胆固醇转运至高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL). 肝 X 受体 α (liver X receptor α , LXR α) 可通过调节其靶基因 ABCG1 的表达来调控胆固醇逆转运. 脂联素有很广泛的心血管保护作用, 但对 RAW 264.7 巨噬细胞 ABCG1 表达的影响尚不清楚. 为了研究脂联素对 RAW 264.7 巨噬细胞 ABCG1 表达的影响及其机制, 采用实时荧光定量 PCR、蛋白质印迹法检测 ABCG1 和 LXR α 的表达, 使用液体闪烁计数器检测胆固醇流出率, 并利用 siRNA 干扰技术抑制 LXR α 的表达来研究 LXR α 在脂联素调节 ABCG1 中的作用. 结果表明, 脂联素浓度依赖性和时间依赖性地上调 ABCG1 和 LXR α 的 mRNA 和蛋白质的表达, 促进巨噬细胞胆固醇流出. 经 LXR α siRNA 处理后, 脂联素上调 ABCG1 的作用消失, 胆固醇流出率也相应减少. 上述结果提示, 脂联素经 LXR α 途径促进 RAW 264.7 巨噬细胞 ABCG1 表达和胆固醇流出, 防止泡沫细胞形成, 减轻动脉粥样硬化.

关键词 脂联素, 动脉粥样硬化, 胆固醇逆转运, ATP 结合盒转运体 G1

学科分类号 R541.4, R589.2

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0119

动脉粥样硬化已严重危害人类健康, 其发病机制复杂, 涉及众多因素, 如炎症、氧化应激、脂质代谢异常等. 其中脂质代谢异常在动脉粥样硬化发生、发展中起重要作用. 动脉粥样硬化发生时, 单核细胞透过内皮分化成巨噬细胞, 后吞噬氧化型低密度脂蛋白形成泡沫细胞, 是动脉粥样硬化形成的关键环节^[1]. 研究表明, 人血浆高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 水平与动脉粥样硬化的发生呈负相关^[2]. 而 HDL 拮抗动脉粥样硬化的最主要机制在于参与胆固醇逆转运 (reverse cholesterol transport, RCT) 过程^[3]. 除提供生理需要外, 外周组织中多余的胆固醇通过 HDL 转运到肝脏进行再循环或以胆酸的形式排泄的过程, 称为胆固醇逆转运. RCT 促进外周组织和巨噬细胞等细胞内胆固醇的清除, 降低血浆胆固醇水平, 是机体排出过多胆固醇的唯一途径, 可阻断泡沫细胞形成, 也是目前认为体内抗动脉粥样硬化的主要机制之一. ATP 结合盒转运体 G1 (ATP-binding cassette transporter G1, ABCG1) 是 RCT 中重要的成员, 可使细胞内

的胆固醇流出到 HDL 颗粒^[4]. 肝 X 受体 α (liver X receptor α , LXR α) 是核激素受体蛋白质超家族成员, 在维持体内胆固醇平衡方面起感受器作用. 近年研究表明 LXR α 可通过调节其靶基因 ABCG1 的表达来调控胆固醇逆转运^[5].

脂联素是脂肪细胞分泌的一种内源性生物活性多肽, 近来发现其有广泛的心血管保护作用^[6-7]. 但是脂联素是否可以影响 RAW 264.7 巨噬细胞 ABCG1 的表达, 是否通过 LXR α 途径对 ABCG1 起调节作用, 尚不清楚. 本研究旨在阐明脂联素对 RAW 264.7 巨噬细胞 ABCG1 的影响及其机制, 不仅为动脉粥样硬化的治疗提供依据, 也为全面了解脂联素的心血管保护作用, 为脂联素的临床应用提供理论基础.

* 国家自然科学基金资助项目 (81170198).

** 通讯联系人.

Tel: 13834695435, E-mail: yunfeibian@sina.com

收稿日期: 2015-04-23, 接受日期: 2015-07-20

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

RAW 264.7 巨噬细胞(中国科学院上海细胞库); 脂联素(Sigma 公司); 胎牛血清、DMEM 培养基(Gibco 公司); 兔抗鼠 ABCG1、LXR α 一抗(Santa Cruz 公司); HRP 标记的羊抗兔 IgG 抗体(中杉金桥生物技术有限公司); LXR α -siRNA(武汉浙玛生物构建); Lipofectamin 2000 转染试剂及 Trizol Reagent (Invitrogen 公司); 逆转录试剂盒、Real-time PCR 试剂盒(TAKARA 公司); PCR 仪(ABI 公司); 电泳仪(Bio-Rad 公司).

1.2 细胞培养

RAW 264.7 巨噬细胞用无酚红 DMEM 培养基培养, 含 10% FBS、青霉素 50 mg/L 和链霉素 50 mg/L, 在 5% CO₂、37℃ 的培养箱中培养, 细胞每天换液 1 次, 汇合后用 0.25% 胰酶-EDTA 消化, 按 2×10^4 个细胞/瓶接种至 25 cm² 培养瓶中.

1.3 实验分组

实验采用正常培养的 RAW264.7 细胞, 按照脂联素不同浓度刺激, 分为 4 组: a. control 组, RAW264.7 细胞正常培养; b. 1 mg/L 脂联素处理组, 1 mg/L 脂联素与细胞共同孵育 24 h; c. 5 mg/L 脂联素处理组, 5 mg/L 脂联素与细胞共同孵育 24 h; d. 10 mg/L 脂联素处理组, 10 mg/L 脂联素与细胞共同孵育 24 h. 按照相同浓度脂联素刺激细胞不同时间, 分为 5 组: a. BSA 组, 用 5 g/L BSA 与细胞共同孵育 24 h; b. 脂联素处理 0 h 组, 10 mg/L 脂联素与细胞共同孵育 0 h; c. 脂联素处理 6 h 组, 10 mg/L 脂联素与细胞共同孵育 6 h; d. 脂联素处理 12 h 组, 10 mg/L 脂联素与细胞共同孵育 12 h; e. 脂联素处理 24 h 组, 10 mg/L 脂联素与细胞共同孵育 24 h.

在验证脂联素是否经 LXR α 途径促进 RAW264.7 巨噬细胞 ABCG1 的表达实验部分, 将培养基中融合 60% 的巨噬细胞无血清培养 24 h 后, 细胞生长至对数增殖期. 弃去原培养液, 更换新的无血清培养液并随机分成 4 组(细胞数约 1×10^7 个/组): a. Control 组, RAW264.7 细胞无血清培养; b. LXR α -siRNA 组, 转染 LXR α -siRNA, 培养 24 h; c. Adiponectin 组, 10 mg/L 脂联素与细胞共同孵育 24 h; d. Adiponectin + LXR α -siRNA 组, 10 mg/L 脂联素与细胞共同孵育 24 h 后, 转染 LXR α -siRNA, 培养 24 h.

1.4 实时荧光定量 PCR 检测 ABCG1、LXR α mRNA 水平

取处理好的细胞, 按 Trizol 试剂说明提取细胞 RNA, 然后按照反转录试剂盒 (TAKARA, 日本) 说明反转录为 cDNA. PCR 反应总体积 20 μ l, 其中 SYBR[®] Premix Ex Tap[™] II (2 $\times$) 10.0 μ l, PCR 上下游引物(10 μ mol/L)各 0.8 μ l, ROX Reference Dye (50 $\times$)0.4 μ l, cDNA 2.0 μ l, dH₂O 6.0 μ l. 引物全部由宝生物工程(大连)有限公司合成. ABCG1 引物序列: 上游引物, 5' GTGACGCTGACTATAAGAGA 3', 下游引物, 5' AGG TGATTTCGCAGATGTG 3'; LXR α 引物序列: 上游引物, 5' CTACAA-CCACGAGACAGAA 3', 下游引物, 5' GGCGAT-AAGCAAGGCATA 3'; GAPDH 引物序列: 上游引物, 5' CTAC AATGAGCTGCGTGTGGC 3', 下游引物, 5' CAGGTCCAGACGCAGG ATGGC 3'. PCR 反应条件: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 60℃ 退火 30 s, 40 个循环. 各组 PCR 均重复 3 次, 以 GAPDH 含量作为内对照, 用 2^{- $\Delta\Delta$} 方法计算相对含量.

1.5 蛋白质印迹检测 ABCG1、LXR α 蛋白质水平

取处理好的细胞, 弃去培养基, 用预冷的 PBS 洗 2 次, 加入细胞裂解液, 4℃ 静置 20 min. 12 000 r/min 离心 15 min, 取上清采用 BCA 法进行蛋白质定量. 总蛋白经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离后, 转至 PVDF 膜, 用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, 随后加入 β -actin、ABCG1、LXR α 抗体(1:1 000), 4℃ 过夜. 用 TBS-T 洗 4 次, 每次 10 min. 加入 HRP 标记的二抗(1:1 500), 室温孵育 2 h. 用 TBS-T 漂洗 4 次, 每次 10 min. 取硝酸纤维素膜置于凝胶成像仪中, 配制发光液. 将发光液 3 ml 滴于硝酸纤维素膜的蛋白表面上, 电脑观察蛋白质条带, 并成像记录, 计算灰度值.

1.6 胆固醇流出率测定

在含 15% 胎牛血清的 RPMI-DMEM 培养液中加入 0.37×10^9 Bq/L [³H]标记胆固醇, 与 RAW264.7 细胞共同孵育 48 h 之后, 用 PBS 液洗涤细胞 2 次, 在新培养液中按 1.3 节分组分别加入不同浓度的脂联素培养 24 h, 再用 PBS 液洗涤细胞. 在无血清、含 10 mg/L HDL 的新培养液中继续培养 6 h, 闪烁液裂解细胞后, 用液体闪烁计数器检测培养液和细胞的 [³H]标记胆固醇. 胆固醇流出率 = (培养液 cpm / (培养液 cpm + 细胞 cpm)) $\times$ 100 %.

1.7 LXR α -siRNA 转染 RAW264.7 细胞

RAW264.7 细胞培养至 80%~90% 融合. 弃去培养液, 用 D-Hank's 液洗涤细胞 2 次. 加入 2 ml 含 EDTA 胰酶, 混匀, 37℃ 放置 3~5 min. 吸弃胰酶, 加入 2 ml 含 10% FBS 的 DMEM 培养液, 吹打形成单细胞悬液. 按 1.5×10^6 细胞 / 孔的浓度接种 6 孔板, 混匀后 37℃ 5% CO₂ 培养 24 h. 在 1.5 ml EP 管中加入 250 μ l Opti-MEM I、5 μ l LXR α -siRNA, 取另一个 1.5 ml EP 管, 加入 250 μ l Opti-MEM I、5 μ l lipofectamin2000 混匀, 室温放置 5 min 后将两管混合, 室温放置 20~30 min. 吸去 6 孔板中的培养液, 将转染混合物逐滴加入 6 孔板中, 混匀后, 在培养箱中温育 4~6 h. 吸弃转染液, 加入 2 ml 含 10% FBS 的 DMEM 培养液. 37℃ 5% CO₂ 继续培养 24 h 后, 进行实时荧光定量(real time PCR)和蛋白质印迹(Western blot)检测.

1.8 统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件对所有实验数据进行统计分析, 实验数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采用单因素方差分析各组均数之间的差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结 果

2.1 脂联素促进 RAW 264.7 巨噬细胞 ABCG1 的表达

首先检测了脂联素对 RAW264.7 巨噬细胞 ABCG1 mRNA 和蛋白质表达的影响. 结果发现, 与对照组比较, 用不同浓度的脂联素干预 RAW264.7 巨噬细胞 24 h 后, 随着脂联素浓度的增加 ABCG1 mRNA 和蛋白质的表达增加, 呈浓度依赖性(图 1a, b). 用 10 mg/L 脂联素与细胞共同孵育不同时间, 随着时间的延长, ABCG1 mRNA 和蛋白质的表达逐渐增加, 呈时间依赖性(图 1c, d).

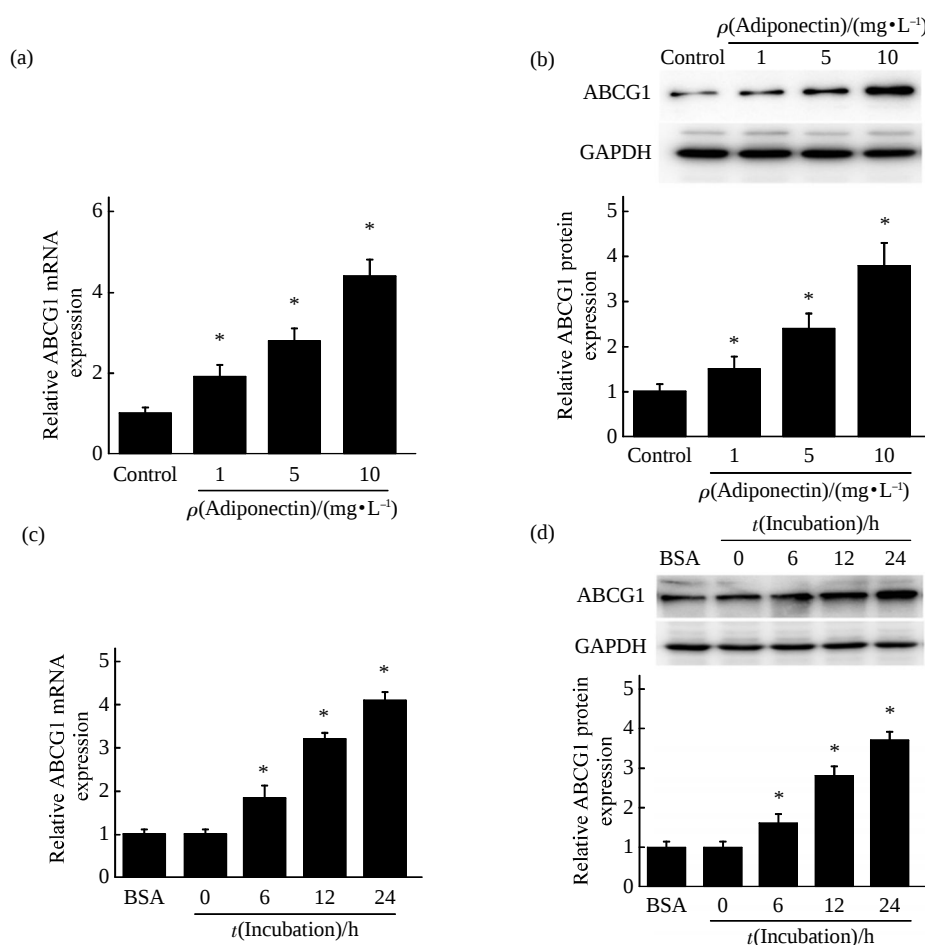


Fig. 1 The effects of adiponectin on ABCG1 expression

(a, b) The RAW 264.7 macrophages were incubated with 1 mg/L, 5 mg/L and 10 mg/L adiponectin for 24 h respectively. (c, d) The RAW 264.7 macrophages were incubated with 5 g/L BSA for 24 h or incubated with 10 mg/L adiponectin for 0 h, 6 h, 12 h, 24 h, respectively. (a, c) ABCG1 gene was measured by Real-time quantitative PCR. (b, d) ABCG1 protein expression was measured by Western blot analyses. Data are the $\bar{x} \pm s$ of three independent experiments. * $P < 0.05$ compared with the control group.

2.2 脂联素增加 RAW 264.7 巨噬细胞的胆固醇外流

ABCG1 介导胆固醇外流至 HDL, 因此我们又检测了脂联素对 RAW 264.7 巨噬细胞胆固醇外流的影响. 发现与对照组比较, 用不同浓度的脂联

素干预 RAW 264.7 巨噬细胞 24 h 后, 随着脂联素浓度的增加胆固醇外流增加, 呈浓度依赖性(图 2a). 用相同浓度的脂联素与细胞共同孵育不同时间, 随着时间的延长, 胆固醇流出率逐渐增加, 呈时间依赖性(图 2b).

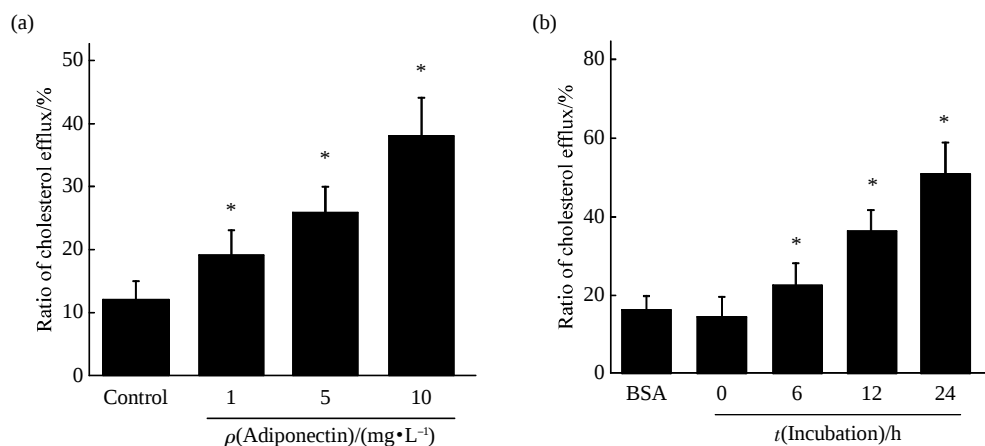


Fig. 2 The effects of adiponectin on the cholesterol efflux

(a) The RAW 264.7 macrophages were incubated with 10 mg/L HDL and 1 mg/L, 5 mg/L and 10 mg/L adiponectin for 24 h respectively. (c) The RAW 264.7 macrophages were incubated with 10 mg/L HDL and 5 g/L BSA for 24 h or incubated with 10 mg/L adiponectin for 0 h, 6 h, 12 h, 24 h, respectively. Cellular cholesterol efflux from RAW 264.7 macrophages was analyzed using liquid scintillation counting assays. Data are the $\bar{x} \pm s$ of three independent experiments. * $P < 0.05$ compared with the control group.

2.3 脂联素促进 RAW 264.7 巨噬细胞 LXR α 表达

为研究脂联素对 RAW 264.7 巨噬细胞 LXR α 的影响, 我们用 PCR 和 Western blot 检测 LXR α 的表达. 与对照组比较发现: 用不同浓度的脂联素干预 RAW 264.7 巨噬细胞 24 h 后, 随着脂联素浓度的增加, LXR α mRNA 和蛋白质的表达增加, 呈浓度依赖性(图 3a, b). 用相同浓度的脂联素与细胞共同孵育不同时间, 随着时间的延长, LXR α mRNA 和蛋白质的表达逐渐增加, 呈时间依赖性(图 3c, d).

2.4 脂联素经 LXR α 途径促进 RAW 264.7 巨噬细胞 ABCG1 的表达及胆固醇流出

为研究脂联素是否通过 LXR α 途径促进 ABCG1 表达, 用 LXR α siRNA 干扰 LXR α 后检测脂联素对 ABCG1 表达的影响. 经 LXR α siRNA 干扰后, LXR α 表达下降了 86% (图 4a). 经 LXR α -siRNA 处理细胞后, 与脂联素组比较, 脂联素 + LXR α siRNA 组 ABCG1 的 mRNA 和蛋白质的表达降低(图 4b, c). 提示 LXR α siRNA 干扰可阻断脂联素促进 ABCG1 表达的作用. 同时, 与脂联素比较, 脂联素加 LXR α -siRNA 组胆固醇流出减少(图 4d).

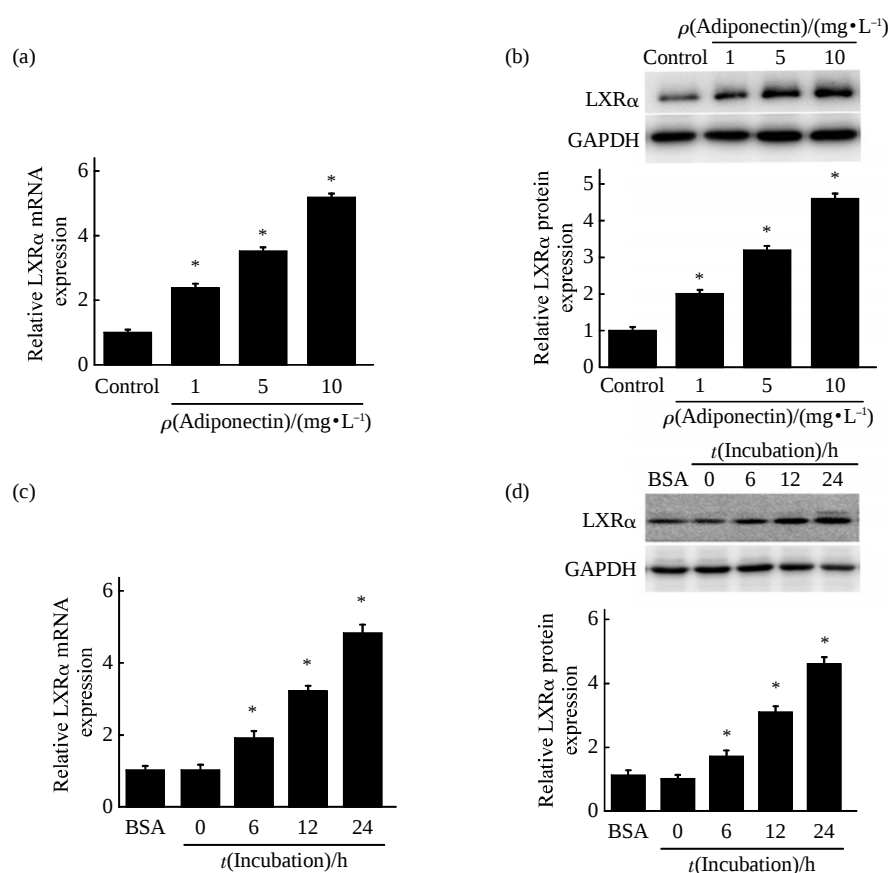


Fig. 3 The effect of adiponectin on LXRα expression

(a, b) The RAW 264.7 macrophages were incubated with 1 mg/L, 5 mg/L and 10 mg/L adiponectin for 24 h respectively. (c, d) The RAW 264.7 macrophages were incubated with 5 g/L BSA for 24 h or incubated with 10 mg/L adiponectin for 0 h, 6 h, 12 h, 24 h, respectively. (a, c) LXRα gene expression was measured by Real-time quantitative PCR. (b, d) LXRα protein expression was measured by Western blot analyses. Data are the $\bar{x} \pm s$ of three independent experiments. * $P < 0.05$ compared with the control group.

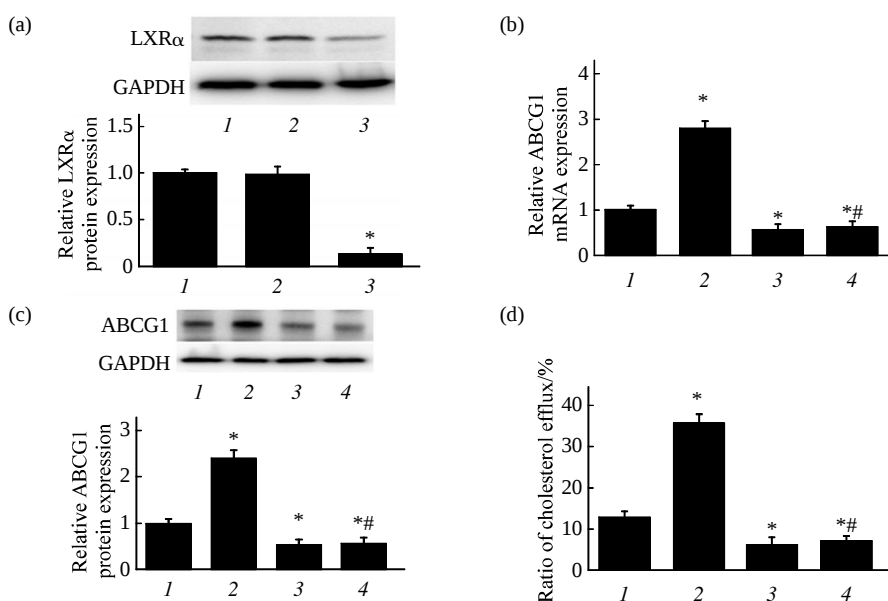


Fig. 4 LXRα is involved in adiponectin up-regulating ABCG1 expression in RAW 264.7 macrophages

(a) The RAW 264.7 macrophages were transfected with control or LXRα siRNA, LXRα protein expression was measured by Western blot analyses. (b~d) The RAW 264.7 macrophages were transfected with control or LXRα siRNA, and then incubated with 10 mg/L HDL and 10 mg/L adiponectin for 24 h. 1: Normal control; 2: Negative control; 3: LXRα-siRNA. (b) ABCG1 gene was measured by Real-time quantitative PCR. 1: Control; 2: Adiponectin; 3: LXRα-siRNA; 4: Adiponectin+LXRα-siRNA. (c) ABCG1 protein expression was measured by Western blot analyses. 1: Control; 2: Adiponectin; 3: LXRα-siRNA; 4: Adiponectin+LXRα-siRNA. (d) Cellular cholesterol efflux from RAW 264.7 macrophages was analyzed using liquid scintillation counting assays. 1: Control; 2: Adiponectin; 3: LXRα-siRNA; 4: Adiponectin+LXRα-siRNA. Data are the $\bar{x} \pm s$ of three independent experiments. * $P < 0.05$ compared with the control group. # $P < 0.05$ compared with the adiponectin group.

3 讨 论

ABCG1 属于 ABC 转运体超家族中一员, 通过水解 ATP 酶供应能量来实现对各种底物的转运。ABCG1 将外周细胞中的胆固醇直接转运至 HDL, 增加细胞内胆固醇外流, 有利于清除细胞内胆固醇, 防止泡沫细胞形成, 抑制动脉粥样硬化形成。脂联素是由脂肪组织分泌的一种重要的有生物学活性的脂肪因子, 在心血管方面有众多保护作用。动脉粥样硬化、糖尿病患者脂联素水平降低^[9]。脂联素可以通过 AMPK 途径抑制肾上腺素刺激引起的心肌细胞肥大^[9]。我们的研究还发现脂联素可通过抑制内质网应激而对心肌缺血再灌注损伤有保护作用^[10]。另外, 脂联素在动脉粥样硬化方面也有保护作用。脂联素可以抑制肿瘤坏死因子诱导的主动脉内皮细胞黏附分子的表达, 减轻动脉粥样硬化病变^[11]。脂联素还可以降低受损血管内膜的厚度, 抑制平滑肌增殖和迁移, 发挥抗动脉粥样硬化的作用^[12]。在本研究中发现, 脂联素可浓度依赖性和时间依赖性地促进 ABCG1 的表达, 进而使胆固醇流出增加, 提示脂联素可以通过促进泡沫细胞内的胆固醇流出而防止泡沫细胞形成, 阻止动脉粥样硬化。

肝 X 受体 α 是核激素受体蛋白质超家族成员, 它与糖代谢、脂质代谢密切相关^[13]。LXR 的激动剂可以上调巨噬细胞 ABCG1 的表达, 是调节 ABCG1 表达重要的转录因子。唐朝克教授团队在此方面做了大量的研究, 发现艾溴利平、TGF- β 1 可以通过 LXR α 途径, 上调 THP-1 巨噬细胞源性的泡沫细胞 ABCG1 的表达, 增加胆固醇流出, 抑制泡沫细胞形成^[14-15]。研究表明, 众多信号转导通路可调节 LXR 来对脂质代谢、胆固醇逆转运起到调控作用, 比如 AMPK 信号转导通路、MAPK 信号转导通路、JAK/STAT 信号转导通路等^[16-18]。我们前期的研究也显示, 血管紧张素 1~7 可通过抑制 JNK 和 p38 MAPK 信号转导, 激活 LXR α 途径, 促进 ABCG1 的表达, 进而导致巨噬细胞增加胆固醇流出, 防止泡沫细胞形成, 减轻动脉粥样硬化病变^[19]。本研究发现, 脂联素可浓度依赖性和时间依赖性地增加 LXR α 的 mRNA 和蛋白质的表达。应用 siRNA 干扰技术, 经 LXR α siRNA 干扰后 LXR α 蛋白表达降低约 86%, 说明了良好的干扰效果。我们检测了给予 LXR α siRNA 干扰后 ABCG1 的表达和胆固醇流出率, 结果发现经 LXR α siRNA 处理可阻断脂联素促进 ABCG1 表达的作用, HDL

介导的胆固醇流出也减少。提示脂联素对 ABCG1 的上调作用, 对胆固醇流出的影响, 是通过 LXR α 途径介导的。但本研究的局限之处在于, 对于脂联素调控 LXR α 上游的信号转导通路未进行探讨, 特别是脂联素对激活 AMPK 信号转导通路有明显的作用, 脂联素、AMPK、LXR α 三者之间的关系如何, 仍需深入研究。

总之, 我们的研究表明, 脂联素可以通过上调 LXR α 表达, 促进 RAW 264.7 巨噬细胞 ABCG1 的表达, 进而增加细胞胆固醇流出率, 防止泡沫细胞形成, 减轻动脉粥样硬化。

参 考 文 献

- [1] Yuan Y, Li P, Ye J. Lipid homeostasis and the formation of macrophage-derived foam cells in atherosclerosis. *Protein Cell*, 2012, **3**(3):173-181
- [2] Lee C H, Tai B C, Lim G H, *et al.* Correlation between high density lipoprotein-cholesterol and remodeling index in patients with coronary artery disease: IDEAS (IVUS diagnostic evaluation of atherosclerosis in Singapore)-HDL study. *Int J Cardiovasc Imaging*, 2011, **28**(1): 33-41
- [3] Escola-Gil J C, Rotllan N, Julve J, *et al.* *In vivo* macrophage-specific RCT and antioxidant and antiinflammatory HDL activity measurements: new tools for predicting HDL atheroprotection. *Atherosclerosis*, 2009, **206**(2): 321-327
- [4] Westertorp M, Bochem A E, Yvan-Charvet L, *et al.* ATP-binding cassette transporters, atherosclerosis, and inflammation. *Circ Res*, 2014, **114**(1): 157-170
- [5] Xu X, Li Q, Pang L, *et al.* Arctigenin promotes cholesterol efflux from THP-1 macrophages through PPAR- γ /LXR- α signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, **441**(2): 321-326
- [6] Lee S, Kwak H B. Role of adiponectin in metabolic and cardiovascular disease. *J Exerc Rehabil*, 2014, **10**(2): 54-59
- [7] Ntaios G, Gatselis N K, Makaritsis K, *et al.* Adipokines as mediators of endothelial function and atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 2013, **227**(2): 216-221
- [8] Li S, Shin H J, Ding E L, *et al.* Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Medical Association*, 2009, **302**(2): 179-188
- [9] Cao T, Gao Z, Gu L, *et al.* AdipoR1/APPL1 potentiates the protective effects of globular adiponectin on angiotensin II - induced cardiac hypertrophy and fibrosis in neonatal rat atrial myocytes and fibroblasts. *PloS One*, 2014, **9**(8): e103793
- [10] Guo J, Bian Y, Bai R, *et al.* Globular adiponectin attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury by upregulating endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase activity and inhibiting endoplasmic reticulum stress. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2013, **62**(2): 143-153

- [11] Ouchi N, Kihara S, Arita Y, *et al.* Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*, 1999, **100**(25): 2473–2476
- [12] Hirai H, Satoh H, Kudoh A, *et al.* Interaction between resistin and adiponectin in the proliferation of rat vascular smooth muscle cells. *Mol Cell Endocrinol*, 2013, **366**(1): 108–116
- [13] Pettersson A M, Stenson B M, Lorente-Cebrian S, *et al.* LXR is a negative regulator of glucose uptake in human adipocytes. *Diabetologia*, 2013, **56**(9): 2044–2054
- [14] Chen S G, Xiao J, Liu X H, *et al.* Ibrilipim increases ABCA1/G1 expression by the LXR α signaling pathway in THP-1 macrophage-derived foam cells. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, **31**(10): 1343–1349
- [15] Hu Y W, Wang Q, Ma X, *et al.* TGF- β 1 up-regulates expression of ABCA1, ABCG1 and SR-BI through liver X receptor α signaling pathway in THP-1 macrophage-derived foam cells. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 2010, **17**(5): 493–502
- [16] Yang J, Craddock L, Hong S, *et al.* AMP-activated protein kinase suppresses LXR-dependent sterol regulatory element-binding protein-1c transcription in rat hepatoma McA-RH7777 cells. *J Cell Biochem*, 2009, **106**(3): 414–426
- [17] Mulay V, Wood P, Manetsch M, *et al.* Inhibition of mitogen-activated protein kinase Erk1/2 promotes protein degradation of ATP binding cassette transporters A1 and G1 in CHO and HuH7 cells. *PLoS One*, 2013, **8**(4): e62667
- [18] Woo J H, Lee J H, Kim H, *et al.* Control of inflammatory responses: a new paradigm for the treatment of chronic neuronal diseases. *Exp Neurol*, 2015, **24**(2): 95–102
- [19] Yang H Y, Bian Y F, Xiao C S, *et al.* Angiotensin-(1-7) stimulates cholesterol efflux from angiotensin II-treated cholesterol-loaded THP-1 macrophages through the suppression of p38 and c-Jun N-terminal kinase signaling. *Mol Med Rep*, 2015, **12**(1):1387–1392

Adiponectin Upregulates ABCG1 Expression Through Liver X Receptor α Signaling Pathway in RAW 264.7 Macrophages*

LIANG Bin¹⁾, BAI Rui¹⁾, HAN Yao-Xia²⁾, GUO Xiao-Hong²⁾, XIAO Chuan-Shi²⁾, BIAN Yun-Fei^{1)**}

¹⁾ Department of Cardiology, The Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China;

²⁾ Department of Cardiology, The First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

Abstract It has been well known that foam cells formation is one of the hallmarks of early atherosclerosis. Reverse cholesterol transport (RCT) pathway can inhibit the foam cells formation. ATP-binding cassette transporter G1 (ABCG1) plays a crucial role in RCT and anti-atherosclerosis, which mediates the efflux of cholesterol to HDL. Liver X receptor α (LXR α) can stimulate cholesterol efflux through ABCG1. It has been well known that adiponectin has cardiovascular protection. In this study, we attempted to clarify the effect of adiponectin on expression of ABCG1, and explored the role of LXR α in the regulation of ABCG1 in RAW 264.7 macrophages. The expression of ABCG1 and LXR α were examined by Real-time quantitative PCR and Western blot analyses. Cellular cholesterol efflux from THP-1 macrophage was analyzed by liquid scintillation counting assays. Our results showed that adiponectin increased ABCG1 expression at both the mRNA and protein levels in a dose-dependent and time-dependent manner. Consequently, adiponectin promoted cholesterol efflux in RAW 264.7 macrophages. Moreover, adiponectin up-regulated the expression of LXR α in a dose-dependent and time-dependent manner in RAW 264.7 macrophages. LXR α small interfering RNA completely abolished the promotion effects of adiponectin. In summary, adiponectin up-regulates ABCG1 expression *via* the LXR α pathway in RAW 264.7 macrophages.

Key words adiponectin, atherosclerosis, ATP-binding cassette transporter G1, reverse cholesterol transport

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0119

*This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (81170198).

**Corresponding author.

Tel: 86-13834695435, E-mail: yunfeibian@sina.com

Received: April 23, 2015 Accepted: July 20, 2015