

研究报告

动脉粥样硬化小型猪三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 表达的变化*

唐朝克 冯大明 孙文清 刘录山 易光辉
杨峻浩 王佐 王双 万载阳 杨保堂 杨永宗**

(南华大学心血管病研究所, 衡阳 421001)

摘要 用贵州小香猪建立动脉粥样硬化动物模型, 探讨动脉粥样硬化小型猪三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(ABCA1) 表达的变化. 采用血管内膜损伤法加高脂高胆固醇饲料喂养贵州小香猪, 建立动脉粥样硬化动物模型. 血浆总胆固醇、甘油三酯和高密度脂蛋白胆固醇的浓度均用氧化酶法测定, 采用逆转录聚合酶链反应检测 ABCA1mRNA 水平, 蛋白质印迹和免疫组织化学检测 ABCA1 蛋白质的表达. 喂养 12 个月后, 实验组与正常对照组比较, 空腹血浆总胆固醇、甘油三酯和高密度脂蛋白胆固醇水平升高; 实验组小型猪主动脉、髂动脉、颈总动脉和冠状动脉可见动脉粥样硬化斑块和脂质条纹; 实验组小型猪肝组织、主动脉、小肠组织 ABCA1 表达上调. 结果提示, 采用血管内膜损伤法加高脂高胆固醇饲料喂养小型猪可建立动脉粥样硬化动物模型. 动脉粥样硬化小型猪肝组织、主动脉和小肠组织 ABCA1 表达上调.

关键词 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1, 动脉粥样硬化, 小型猪

学科分类号 R363

血浆高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 水平与心血管疾病事件成负相关. HDL 防止动脉粥样硬化 (As) 发生的主要机制是通过胆固醇逆转运 (RCT) 完成, RCT 过程为外周组织过多的胆固醇被转运到肝脏, 通过肝脏直接将胆固醇排出或转变成胆汁酸后排出. 由于三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ABCA1) 的发现使得对 RCT 途径有了深入理解^[1].

鼠 ABCA1 基因的失活出现与 Tangier 病患者 (TD) 类似临床表现即总血浆胆固醇磷脂和 HDL 降低^[2]. ABCA1 转基因鼠表现出血浆胆固醇 HDL-C、载脂蛋白 (apoA)-I 和载脂蛋白 (apoA)-II 水平升高, 转基因鼠血浆 HDL-C 水平升高是由于降低了 apoA-I 的代谢以及肝 HDL-C 净流动增加之故^[3], 说明 ABCA1 与 RCT 及 HDL 成熟过程密切相关. 为了探讨 ABCA1 在 As 发生发展中的作用, 本实验使用喂饲高脂饲料的贵州小香猪复制 As 动物模型, 探讨动脉粥样硬化小型猪 ABCA1 表达的变化, 为进一步的机制研究奠定基础.

1 动物和主要试剂来源

贵州小香猪, 购自第三军医大学实验动物中心; BCA1 一抗 (sc-5491), 购自 Santa Cruz 公司; 即用型 SABC 免疫组化染色试剂盒, 购自武汉博

士德生物工程有限公司; 血浆总胆固醇、甘油三酯和高密度脂蛋白胆固醇检测试剂盒, 购自浙江东瓯生物工程有限公司; BCA 蛋白含量测定试剂, 购自 Hyclone-Pierce 公司; BlueRanger 预染蛋白分子质量标准, 购自 Hyclone-Pierce 公司; 辣根过氧化物酶标记二抗, 购自 Santa Cruz 公司; 蛋白质印迹荧光检测试剂盒, 购自 Hyclone-Pierce 公司; 丽春红染色试剂, 购自 Sigma 公司; 其他试剂均为国产分析纯.

2 实验方法

2.1 动物模型制作

贵州小香猪共 10 头, 雄雌不分, 3~4 月龄, 随机分为 2 组. a. 正常对照组, 喂普通猪饲料 (control diet, CD); b. 高脂高胆固醇 (HFHC) 组, 喂饲高脂高胆固醇饲料 (普通饲料加 2% 胆固醇和 10% 猪油). 动物分栏喂养, 每日投食两次, 日粮为体重的 2%, 自由饮水. 高脂组动物喂养 2 月后进行血管

*国家自然科学基金资助项目 (30470720) 和湖南省科技厅重点资助项目 (01SSY1003).

** 通讯联系人.

Tel: 0734-8281288, Fax: 0734-8281288, E-mail: yzyanghy@163.com

收稿日期: 2004-10-16, 接受日期: 2004-12-28

内膜损伤, 肌注氯胺酮 8 mg/kg 麻醉, 切开右侧颈总动脉放置 6F 动脉球囊导管 (Metronic 公司生产), 压力 600~800 kPa 180 s, 重复 2 次, 然后在 200~400 kPa 压力下从远端向近端拖拉球囊导管, 并重复 3 次, 术后继续饲以高脂高胆固醇饲料. 正常对照组动物, 喂养 2 月后肌注氯胺酮 8 mg/kg 麻醉, 分离右侧颈总动脉, 但不进行血管内膜损伤. 实验共进行 12 月.

2.2 扫描电镜

为了观测颈总动脉内膜是否受到损伤, 另外肌注氯胺酮 8 mg/kg 麻醉家养猪, 进行血管内膜损伤. 取新鲜颈总动脉约 3 mm³, KRB (Krebs bicarbonate buffer) 缓冲液洗涤, 浸入 5% 戊二醛含 4% 甲醛加 0.1 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.4) 中, 4℃ 固定 48 h, 再浸入 1% 锇酸固定液中固定 24 h, 重复 3 遍. 组织块入 55%~100% 的乙醇中逐级脱水, 液态 CO₂ 干燥, 用离子溅射镀膜法使样品表面均匀地镀上一层 20 nm 的金膜, 最后用 JEOL 扫描电镜进行观测.

2.3 血脂的测定

每 2 个月末称体重并从禁食过夜的小香猪眶静脉窦采集血样, 检测血脂浓度. 血浆总胆固醇(TC)、血浆甘油三脂(TG)、高密度脂蛋白胆固醇的浓度均用氧化酶法测定.

2.4 主动脉脂质条纹染色及分析

于第 12 个月末, 用适量盐酸氯胺酮麻醉动物, 股动脉插管放血, 处死动物. 取出动物的整条主动脉 (从主动脉弓至髂动脉分枝下 1 cm) 和冠状动脉, 清除其外部的脂肪和结缔组织后生理盐水冲洗干净, 10% 福尔马林液固定, 沿动脉纵向剪开, 并使其浸泡在 37℃ 由 5 g/L 苏丹 IV 与 70% 的异丙醇配制的混合液中 15 min, 然后用 70% 的异丙醇冲洗 3 次, 如此处理的血管标本, 其病变区呈深红色. 把动脉平铺于玻璃盘上并照像, 动脉脂纹通过数码成像系统 (GT-800, Seiko Epson 公司) 记录下来, 脂纹与动脉总面积用图象分析软件 (NIH image) 计算, 检测脂纹占动脉总面积的百分比.

2.5 动脉病变的形态学检查

取各组动物动脉, 用 PBS 洗去残血. 把病变区和 CD 组相应区域用 10% 福尔马林液固定后, 常规石蜡包埋, 作 HE 染色, 观察动脉粥样硬化斑块的形成以及血管内膜的变化.

2.6 动脉粥样硬化斑块及肝组织油红 O 染色

取各组动物动脉粥样硬化斑块及肝组织样本

-30℃ 下滴加包埋剂包埋, 用恒冷切片机制备冰冻切片 (12 μm), 用油红 O 染色 10 min, 蒸馏水冲洗 3 次, 每次 1 min, 苏木素复染 5 min, 1% 盐酸酒精分色 1 s, 封片后在光镜下观察动脉粥样硬化斑块及肝组织中脂肪沉积.

2.7 逆转录聚合酶链反应

按 TRIzol 试剂盒说明书提取总 RNA. 取总 RNA 2 μg 逆转录合成 cDNA, 再取逆转录产物 10 μl 进行 PCR 循环. 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) 的引物序列为: 上游 5' GCTGCTGAAGCCAGGGCATGGG 3', 下游 5' GTGGGGCAGTGGCCATACTCC 3', PCR 扩增产物长度为 306 bp. GAPDH 的引物序列为: 上游 5' TCACCATCTTCCAGGAGCGAG 3', 下游 5' TGTCGCTGTTGAAGTCAGAG 3', PCR 扩增产物长度为 697 bp. 反应结束后, 取反应产物 10 μl 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.

2.8 蛋白质印迹检测 ABCA1 蛋白质表达

组织中加入三去污剂裂解缓冲液进行组织细胞裂解, 于 4℃ 离心 10 min, 弃除沉淀, BCA 法进行蛋白质定量, 取 50 μg 蛋白加入 2×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 加入一抗, 4℃ 孵育过夜, TBST 洗 3 次, 1:2 000 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^[4].

2.9 免疫组织化学检测

标本经 10% 甲醛固定, 石蜡包埋, 制备 4 μm 厚连续切片, 常规脱蜡至水, 0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液 pH 6.0 进行微波修复, 再按 SABC 法常规免疫组织化学染色, DAB 显色, 苏木素复染, 脱水, 透明, 封片, 显微镜观察. PBS 代替一抗作阴性对照. 抗原呈细颗粒状或弥漫性着色, 着色强度不同, 分布亦不均匀, 凡能辨认有棕褐色或棕黄色

着色的细胞视为阳性细胞.

2.10 统计学处理

实验所得数据采用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示, 两组间比较采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有显著性意义.

3 结 果

3.1 颈总动脉内膜损伤

为了观测颈总动脉内膜是否受到损伤, 肌注氯胺酮 8 mg/kg 麻醉家养猪, 用球囊导管进行血管内膜损伤. 取新鲜颈总动脉, 用扫描电镜观察血管内皮细胞. 结果发现, 用球囊导管拖拉过的血管, 未见血管内皮细胞, 同时横切血管作 HE 染色, 未见血管内皮; 但未用球囊导管拖拉过的血管, 扫描电镜可观察血管内皮细胞, HE 染色可见血管内皮.

3.2 小香猪体重变化

每 2 个月末称体重, 实验结果显示, 经高脂饲料喂养小型猪体重快速增加, 但实验组与对照组小猪平均体重的差别未达到显著性水平(图 1).

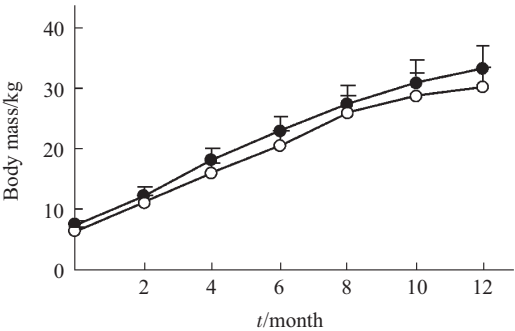


Fig.1 The mean body masses of the two groups throughout the study
○—○: control; ●—●: HFHC.

3.3 动脉粥样硬化小型猪血脂水平的改变

实验前从禁食过夜的小香猪眶静脉窦采集血样, 检测血脂浓度, 以后每 2 个月采集血样, 检测血脂浓度. 实验组小香猪血浆总胆固醇 (TC)、血浆高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 含量与喂养普通饲料的正常对照组比较, 从 2 个月末起有明显增高 ($P<0.05$, 图 2 和图 3). 而血浆甘油三酯 (TG) 水平从 4 个月末开始升高, 到 6 个月末才明显增加 ($P<0.05$, 图 4).

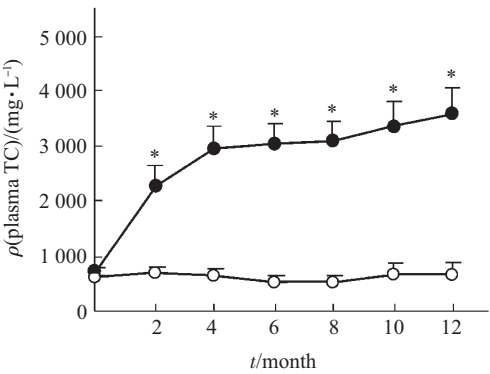


Fig.2 Changes in plasma TC concentrations in high fat/high cholesterol (HFHC) and normal control diet (CD) fed minipigs examined at every 2 months
* $P<0.05$, compared with control group. ○—○: control; ●—●: HFHC.

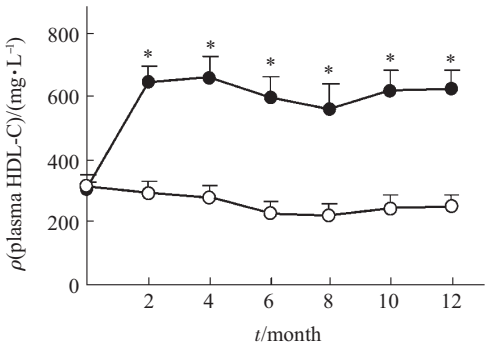


Fig.3 Changes in plasma HDL-C concentrations in high fat/high cholesterol (HFHC) and normal control diet (CD) fed minipigs examined at every 2 months
* $P<0.05$, compared with control group. ○—○: control; ●—●: HFHC.

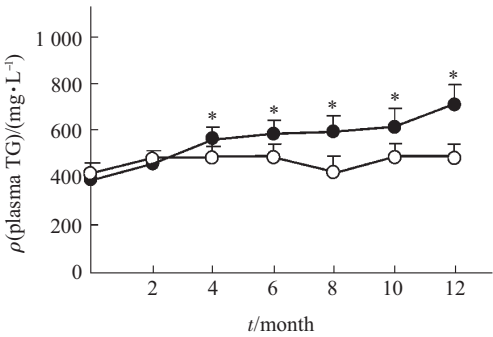


Fig.4 Changes in plasma HDL-C concentrations in high fat/high cholesterol (HFHC) and normal control diet (CD) fed minipigs examined at every 2 months
* $P<0.05$, compared with control group. ○—○: control; ●—●: HFHC.

3.4 动脉粥样硬化斑块和动脉脂质条纹

在高脂高胆固醇组动物的主动脉、颈总动脉、髂动脉和冠状动脉可见 As 斑块和脂质条纹, 该病变区占整个主动脉面积的 $(90.8 \pm 8.3)\%$, 并且每头猪的主动脉、颈总动脉、髂动脉和冠状动脉都有明显的 As 斑块和脂质条纹, 而对照组的主动脉、颈总动脉、髂动脉和冠状动脉没有发现脂质条纹病变 (图 5 和图 6). 高脂高胆固醇组 As 斑块部位石蜡切片, HE 染色后, 光镜下可见稳定性斑块和不稳定性斑块. 图 7a 为稳定性斑块, 斑块由致密的纤维组织构成, 表面比较光滑, 斑块内散在一些泡沫细胞, 大多数斑块无粥样坏死核, 少数斑块深部可见较小的脂质坏死核. 图 8 为不稳定性斑块, 斑块内可见到较大的脂质粥样坏死核, 体积占斑块的 40% 以上, 斑块表面的纤维帽较薄且不光滑, 坏死核边缘部可见较多的泡沫细胞和炎症细胞, 斑块内出血及钙化多见, 斑块肩部较薄易于破裂. 而对照组未见 As 斑块和脂质条纹 (图 5b, 图 6a 和图 7b).



Fig.5 High fat/high cholesterol diet-induced atherosclerosis in Chinese minipigs

(a),(b) representative photographs of pinned-out aorta from HFHC-fed pigs and control fed pigs.

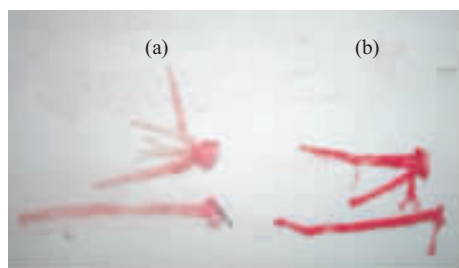


Fig.6 High fat/high cholesterol diet-induced atherosclerosis in Chinese minipigs

(a),(b) representative photographs of pinned-out coronary artery from control fed pigs and HFHC-fed pigs.

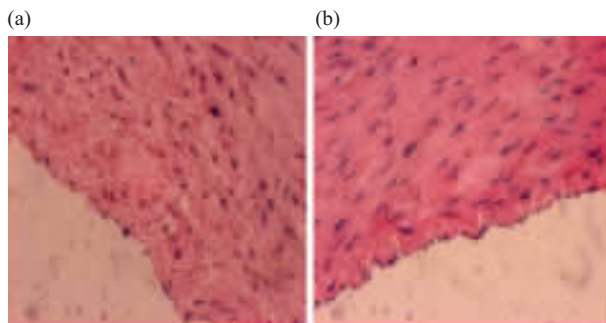


Fig.7 High fat/high cholesterol diet-induced stable atherosclerotic plaque in Chinese minipigs

(a),(b) Sections ($5 \mu\text{m}$ thick) were taken at the carotid from HFHC-fed pigs and control fed pigs and stained with hematoxylin eosin. Magnification is $\times 40$.

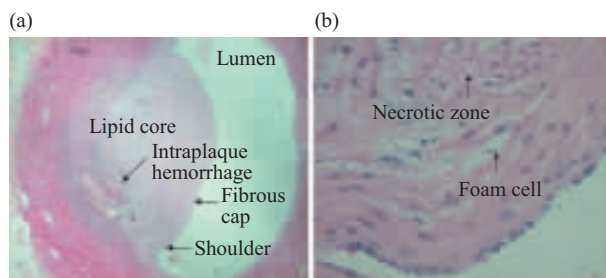


Fig.8 High fat/high cholesterol diet-induced unstable atherosclerotic plaque in Chinese minipigs

Sections ($5 \mu\text{m}$ thick) were taken at the carotid from HFHC-fed pigs and stained with hematoxylin eosin. (a) Magnification is $\times 4$, (b) Magnification is $\times 40$.

3.5 细胞内脂质蓄积

采用油红 O 染色稳定斑块和不稳定斑块及肝组织, 可见斑块内有染成红色的大量脂质滴. 不稳定斑块与稳定斑块比较, 不稳定斑块内脂质滴更多. 实验组小型猪肝脏部分细胞内可见脂质滴 (图 9), 而对照组肝细胞内未见有红色的脂质滴 (图 10).

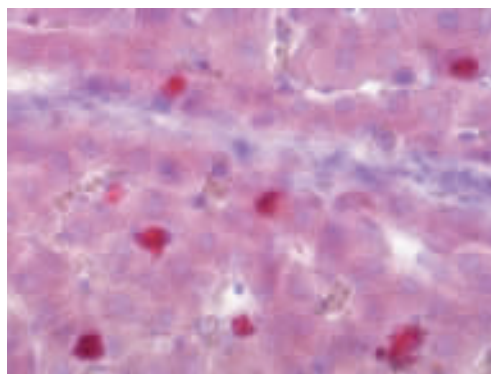


Fig.9 Histological sections of liver from HFHC group of animals stained with oil red O

Magnification is $\times 40$.

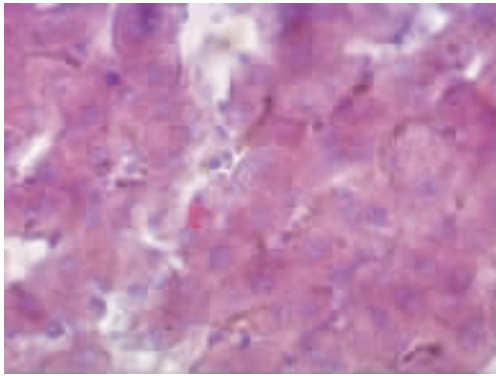


Fig.10 Histological sections of liver from control group of animals stained with oil red O
Magnification is x40.

3.6 动脉粥样硬化小型猪 ABCA1 mRNA 表达的变化

为了观察动脉粥样硬化小型猪肝组织、主动脉和小肠组织 ABCA1 mRNA 表达是否发生改变. 采用 RT-PCT 检测这些组织细胞 ABCA1 mRNA 的表达. 结果显示, 与对照组小型猪比较, 实验组小型猪肝组织、主动脉和小肠组织 ABCA1 mRNA 表达上调 ($P<0.05$). 见图 11 所示.

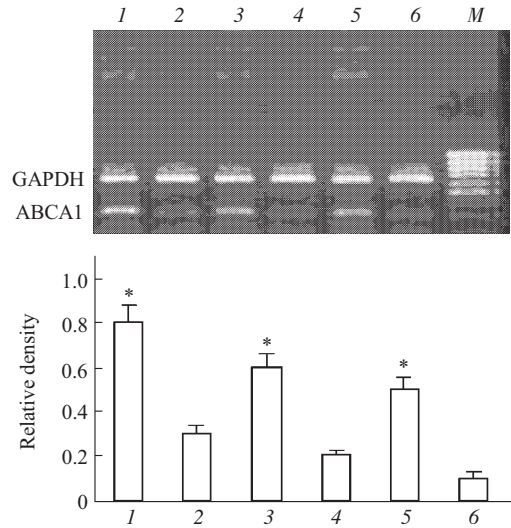


Fig.11 Expression of ABCA1 mRNA in atherosclerotic minipigs

1: ABCA1 mRNA in atherosclerotic minipig livers; 2: ABCA1 mRNA in control group minipig livers; 3: ABCA1mRNA in atherosclerotic minipig aortas; 4: ABCA1 mRNA in control group minipig aortas; 5: ABCA1 mRNA in atherosclerotic minipig intestines; 6: ABCA1 mRNA in control group minipig intestines; M: DNA marker, * $P<0.05$, compared control group ($n=5$).

3.7 动脉粥样硬化小型猪 ABCA1 蛋白质表达的变化

高脂高胆固醇饲料喂养小型猪 12 个月后, 蛋白质印迹检测肝组织、主动脉和小肠组织 ABCA1 蛋白质的表达. 实验结果显示, 与对照组小型猪比较, 高脂高胆固醇饲料喂养的小型猪肝组织、主动脉和小肠组织 ABCA1 蛋白质表达明显增高 ($P<0.05$), 见图 12. 免疫组织化学检测小型猪肝组织、

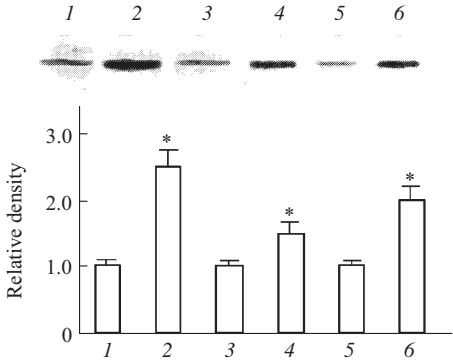


Fig.12 Expression of ABCA1 protein in atherosclerotic minipigs

1: ABCA1 protein in control group minipig livers; 2: ABCA1 protein in atherosclerotic minipig livers; 3: ABCA1 protein in control group minipig aortas; 4: ABCA1 protein in atherosclerotic minipig aortas; 5: ABCA1 protein in control group minipig intestines; 6: ABCA1 protein in atherosclerotic minipig intestines. * $P<0.05$, compared control group ($n=5$).

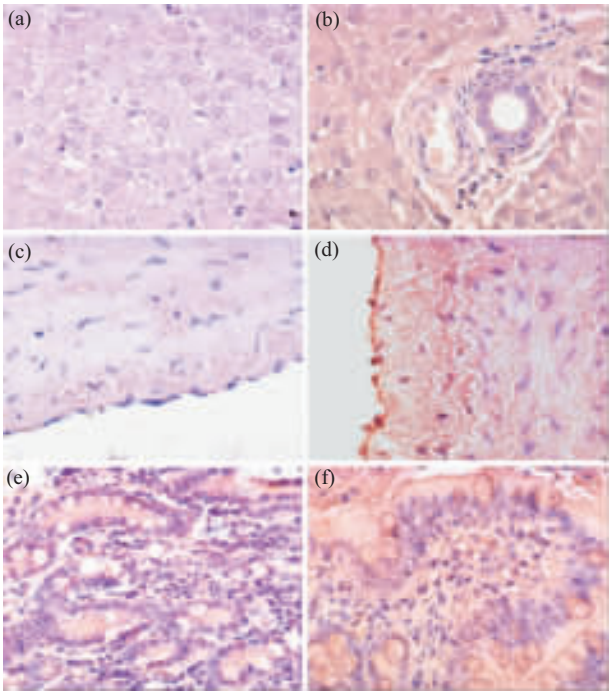


Fig.13 Immunohistochemical analysis of ABCA1 protein expression in minipigs

(a) ABCA1 protein in control group minipig livers; (b) ABCA1 protein in atherosclerotic minipig livers; (c) ABCA1 protein in control group minipig aortas; (d) ABCA1 protein in atherosclerotic minipig aortas; (e) ABCA1 protein in control group minipig intestines; (f) ABCA1 protein in atherosclerotic minipig intestines.

冠状动脉和小肠组织 ABCA1 蛋白质的表达, 结果显示实验组小型猪肝组织、冠状动脉和小肠组织切片上棕褐色或棕黄色着色的细胞明显多于对照组(图 13).

3 讨 论

ABCA1 是一种整合膜蛋白, 它以 ATP 为能源, 促进细胞内游离胆固醇和磷脂的流出. 结合到细胞表面的载脂蛋白 A- I 与经 ABCA1 转运出的游离胆固醇和磷脂结合, 形成新生的 HDL^[9]. 由于 ABCA1 在胆固醇逆转运和 HDL 生成的起始步骤中起重要作用, 被称作 RCT 守门人^[6]. TD 和家族性 HDL 缺乏症 (FHD) 病人存在 ABCA1 各种突变, 这些突变主要发生在 ABCA1 结合区域和 N 端^[7]. HDL 水平较低人群中很可能普遍存在 ABCA1 突变和多态性^[8]. 巨噬细胞内过多胆固醇蓄积导致泡沫细胞形成, 而产生脂质条纹, 复合斑块, 最后斑块破裂^[9-11]. 本实验以喂饲高脂高胆固醇饲料的贵州小香猪复制 As 动物模型, 观察 As 发生发展过程中 ABCA1 的表达情况及其变化规律.

本实验结果显示以高脂高胆固醇饲料喂饲的贵州小香猪, 血浆总胆固醇、甘油三酯及高密度脂蛋白胆固醇含量明显增高, 主动脉、髂动脉、颈总动脉及冠状动脉可见脂质条纹、稳定性斑块和不稳定性斑块, 这些结果说明复制 As 模型成功. As 小型猪肝脏、血管和肌肉内有脂质蓄积, 肝组织、血管和小肠组织 ABCA1 表达上调.

ABCA1 是通过 Tangier 病人和家族性低 a 脂蛋白血症病人的研究而被发现, TD 病人有橙色扁桃腺, 血浆胆固醇, 低密度脂蛋白 (LDL) 和高密度脂蛋白水平都较低, 而甘油三酯升高, 组织胆固醇堆积, 并出现心血管疾病^[4].

研究显示, ABCA1 使磷脂和胆固醇易于流出到载脂蛋白受体, 如载脂蛋白 A- I (apoA- I) 和载脂蛋白 E (apoE), 导致前一 HDL 形成^[12, 13]. ABCA1 不仅存在细胞膜表面, 而且存在于细胞的胞吞物中^[14]. 人 ABCA1 基因长度为 175 kb, 包括 50 个外显子和 49 个内含子^[15]. 最近发现氧化固醇是 ABCA1 基因转录的重要调节者^[16, 17].

最近研究表明, LXRs 通过诱导多种 ABC 转运体来防止固醇在肠和巨噬细胞过多积聚^[18]. 在巨噬细胞通过氧化固醇或 LXR/RXR 激活剂激活 LXR-RXR 异二聚体来刺激 ABCA1 和 ABCG1 的转录. Tangier 病患者 ABCA1 基因常发生突变, 表

现为血液循环中 HDL 水平较低及巨噬细胞和网状内皮细胞大量吞噬胆固醇等特征症^[19]. ABCA1 使细胞内游离胆固醇和磷脂流出到载脂蛋白. 体内外研究表明, ABCA1 基因启动子是 LXR-RXR 异二聚体的一个直接靶点, 胆固醇诱导 ABCA1 和 ABCG1 启动子的调节需要 LXRs^[20].

参 考 文 献

- 1 Brooks-Wilson A, Marcil M, Clee S M, *et al.* Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency. *Nat Genet*, 1999, **22** (4): 336 ~ 345
- 2 McNeish J, Aiello R J, Guyot D, *et al.* High density lipoprotein deficiency and foam cell accumulation in mice with targeted disruption of ATP-binding cassette transporter-1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97** (8): 4245 ~ 4250
- 3 Vaisman B L, Lambert G, Amar M, *et al.* ABCA1 overexpression leads to hyperalphalipoproteinemia and increased biliary cholesterol excretion in transgenic mice. *J Clin Invest*, 2001, **108** (2): 303 ~ 309
- 4 Kolovou G, Daskalova D, Anagnostopoulou K, *et al.* Postprandial hypertriglyceridaemia in patients with Tangier disease. *J Clin Pathol*, 2003, **56**: 937 ~ 941
- 5 唐朝克, 严鹏科, 杨永宗. ABCA1 在巨噬细胞胆固醇流出中的作用. *中国病理生理杂志*, 2003, **19** (10): 1427 ~ 1431
Tang C K, Yan B K, Yang Y Z, *et al.* *Chin J Pathophys*, 2003, **19** (10): 1427 ~ 1431
- 6 Dean M, Hamon Y, Chimini G. The human ATP binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Lipid Res*, 2001, **42** (8): 1007 ~ 1017
- 7 Mott S, Yu L, Marcil M, *et al.* Decreased cellular cholesterol efflux is a common cause of familial hypoalphalipoproteinemia: role of the ABCA1 gene mutations. *Atherosclerosis*, 2000, **152** (2): 457 ~ 468
- 8 Tan J H, Low P S, Tan Y S, *et al.* ABCA1 gene polymorphisms and their associations with coronary artery disease and plasma lipids in males from three ethnic populations in Singapore. *Hum Genet*, 2003, **113** (2): 106 ~ 117
- 9 唐朝克, 易光辉, 王 佐, 等. 干扰素- γ 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. *生物化学与生物物理进展*, 2004, **31** (2): 127 ~ 133
Tang C K, Yi G H, Wang Z, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2004, **31** (2): 127 ~ 133
- 10 唐朝克, 席守民, 尹卫东, 等. 糖尿病小型猪三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 表达的变化. *生物化学与生物物理进展*, 2004, **31** (6): 543 ~ 549
Tang C K, Xi S M, Yin W D, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2004, **31** (6): 543 ~ 549
- 11 Tang C K, Yang J H, Yi G H, *et al.* Effects of oleate on ATP binding cassette transporter A1 expression and cholesterol efflux in THP-1 macrophage-derived foam cells. *Acta Biochem Biophys Sin*, 2003, **35** (12): 1077 ~ 1082
- 12 Tang C K, Tang G H, Yi G H, *et al.* Effect of apolipoprotein A-I on ATP binding cassette transporter A1 degradation and cholesterol efflux in THP-1 macrophage-derived foam cells. *Acta Biochim*

- Biophys Sin, 2004, **36** (3): 218 ~ 226
- 13 Remaley A T, Stonik J A, Demosky S J, *et al.* Apolipoprotein specificity for lipid efflux by the human ABCA1 transporter. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, **280** (3): 818 ~ 823
- 14 Neufeld E B, Remaley A T, Demosky S J, *et al.* Cellular localization and trafficking of the human ABCA1 transporter. *J Biol Chem*, 2001, **276** (29): 27584 ~ 27590
- 15 Santamarina-Fojo S, Peterson K, Knapper C, *et al.* Complete genomic sequence of the human ABCA1 gene: Analysis of the human and mouse ATP-binding cassette A promoter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97** (14): 7987 ~ 7992
- 16 Tang C K, Yi G H, Yang J H, *et al.* Oxidized LDL upregulated ATP binding cassette transporter-1 in THP-1 macrophages. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, **25** (5): 581 ~ 586
- 17 唐朝克, 贺修胜, 易光辉, 等. 肝 X 受体 α 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
- 18 唐朝克, 易光辉, 阮长耿, 等. ABC 转运体超家族对胆固醇吸收和血浆植物甾醇水平的调节作用. *生物化学与生物物理进展*, 2004, **31** (5): 398 ~ 401
- Tang C K, Yi G H, Ruan C G, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2004, **31** (5): 398 ~ 401
- 19 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
- 20 Ulven S M, Dalen K T, Gustafsson J, *et al.* Tissue-specific autoregulation of the LXR gene facilitates induction of apoE in mouse adipose tissue. *J Lipid Res*, 2004, **45** (11): 2052 ~ 2062

Change of ATP Binding Cassette Transporter A1 Expression in Atherosclerotic Chinese Minipigs*

TANG Chao-Ke, FENG Da-Ming, SUN Wen-Qing, LIU Lu-Shan, YI Guang-Hui, Yang Jun-Hao, WANG Zuo, Wang Shuang, WANG Zai-Yang, YANG Bao-Tang, YANG Yong-Zong**

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

Abstract In order to establish an animal model of atherosclerosis in minipigs and investigate the change of ATP binding cassette transporter A1 (ABCA1) expression in atherosclerotic minipigs, Chinese minipigs were fed a normal control diet (CD) or a high fat/high cholesterol diet (HFHC) and carotid overstretch balloon injury for 12 months. Plasma total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), and triglycerides (TG) were determined by commercially enzymatic methods. ABCA1 mRNA and protein level were determined by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR), Western blot and immunohistochemistry, respectively. At the end of 12 months, plasma total cholesterol, HDL cholesterol and triglyceride in atherosclerotic minipigs were increased. It is obvious that atherosclerotic plaques and lipid stripes in aorta, iliaca arteria and coronary artery of atherosclerotic minipigs ATP binding cassette transporter A1 expression in liver, aorta and small intestine of atherosclerotic minipigs was upregulated. HFHC may induce atherosclerosis and upregulation of ATP binding cassette transporter A1 expression in atherosclerotic minipigs.

Key words ATP binding cassette transporter A1(ABCA1), atherosclerosis, minipigs

*This work was supported by grants from The National Natural Sciences Foundation of China (30470720) and Special Funds for Department of Science and Technology of Hunan Province (01SSY1003).

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

Received: October 16, 2004 Accepted: December 28, 2004