

致;HHcy组DNMT1及G9a表达显著高于对照组,HHcy组中ERO1 α 甲基化水平及H3K9me2显著高于对照组。各组中ERO1 α 的表达逐渐下降,与Hcy呈浓度依赖关系;其中,与100 μ mol/L Hcy组比较,叶酸组中ERO1 α 的表达升高,差异有统计学意义。分别过表达和沉默ERO1 α 并以Hcy作用后,与对照组相比,ERO1 α 过表达组TC和TG分别下降48.5%和38.1%,沉默组分别增加39.3%和46.4%。分别过表达和沉默DNMT1,结果显示,与对照组比较,过表达DNMT1后ERO1 α 甲基化水平增加15.9%,沉默组则下降55.9%,差异均有显著性。AZC抑制DNMT1并以Hcy干预后,抑制剂组与100 μ mol/L Hcy组比较,ERO1 α DNA甲基化水平降低了51%,H3K9me2水平随之降低;Bix01294干预后,100 μ mol/L Hcy+Bix01294组与100 μ mol/L Hcy组比较ERO1 α 启动子区H3K9me2水平降低,ERO1 α 甲基化水平随之降低。

【结论】 HHcy调控ERO1 α 启动子区DNA甲基化,和组蛋白甲基化相互作用导致ApoE $^{-/-}$ 鼠肝脏脂代谢紊乱。

关键词: 高同型半胱氨酸血症;ERO1 α ;DNA甲基化;组蛋白甲基化

A-S2-31

维生素E经LOX-1/NADPH氧化酶/ROS通路抑制oxLDL诱导的HUVEC细胞损伤

史源¹,邹伊舟¹,姜晨晨¹,杨慧¹,晁凡²,管文敏³;指导教师:韩梅,高慧

1. 青岛大学医学院 2011级临床医学
2. 青岛大学医学院 2010级临床医学
3. 青岛大学医学院 2010级医学影像

【目的】 复制氧化性低密度脂蛋白(oxygenized low density lipoprotein,oxLDL)诱导人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell,HUVEC)损伤模型,建立慢病毒介导的LOX-1-shRNA转染HUVEC细胞模型,从LOX-1/NADPH氧化酶/ROS信号通路研究维生素E(Vit E)对oxLDL诱导的HUVEC细胞氧化损伤的保护作用。

【方法】 以200 μ g/mL oxLDL与HUVEC细胞共孵育24 h,用于复制细胞损伤模型;实验设计分为:正常对照组、oxLDL模型组、药物组(200 μ mol/L Vit E);以MTT检测细胞存活率,DCFH-DA检测细胞内ROS及蛋白质印迹法检测LOX-1、NADPH氧化酶亚基(gp91phox、p47phox、p67phox)蛋白经时改变(3、6、12、24 h);real-time PCR检测24 h后LOX-1、NADPH氧化酶亚基(p22phox、gp91phox、rac1)mRNA的表达,采用慢病毒介导的基因沉默技术抑制LOX-1表达48 h后,用oxLDL诱导24 h,检测LOX-1蛋白、NADPH氧化酶亚基(p47phox、p67phox、gp91phox)蛋白和ROS的含量。采用SPSS 17.0进行统计学分析。

【结果】 与正常组比较,oxLDL处理后细胞生存率仅为50.31%,LOX-1蛋白伴随细胞氧化损伤在3、6、12、24 h表达量显著增加,且在3 h和24 h时呈现两个表达高峰($P < 0.05$),NADPH氧化酶亚基(p47phox、p67phox、gp91phox)蛋白表达水平在各时间点均显著升高(P 均 < 0.01),24 h达高峰,ROS检测结果表明其动态经时改变在3 h和24 h达峰值($P < 0.05$)。Real-time PCR结果显示,LOX-1 mRNA及NADPH氧化酶亚基(gp91phox、p22phox、rac1) mRNA表达水平显著升高($P < 0.01$)。慢病毒介导LOX-1基因沉默后,最佳转染效率为73.23%。oxLDL诱导24 h后,LOX-1及NADPH氧化酶亚基(p47phox、p67phox、gp91phox)蛋白表达下调,ROS生成量相应降低。VitE组下调LOX-1和NADPH氧化酶的mRNA及蛋白质表达并降低ROS生成。

【结论】 oxLDL经LOX-1/NADPH氧化酶/ROS通路诱导HUVEC细胞损伤。200 μ mol/L的VitE可通过抑制LOX-1/NADPH氧化酶/ROS信号通路的活化而发挥对oxLDL诱导的HUVEC细胞损伤的保护作用。

关键词: 维生素E;oxLDL;LOX-1/NADPH氧化酶/ROS;LOX-1-shRNA