

· 论 著 ·

砷对巨噬细胞胆固醇流出及 ABCA1、ABCG1、SRBI 基因表达的影响

狄春红¹, 章云衡², 谭晓华², 杨磊²

1. 杭州师范大学附属医院检验科, 浙江 杭州 310015; 2. 杭州师范大学公共卫生学院

摘要: **目的** 分析砷对巨噬细胞胆固醇流出及腺苷三磷酸结合盒家族A亚家族成员1 (ABCA1)、腺苷三磷酸结合盒转运体G1 (ABCG1) 和清道夫受体-BI (SRBI) 基因表达的影响, 为砷致动脉粥样硬化的机制研究提供依据。**方法** 人髓系白血病单核细胞 (THP-1) 加入佛波酯诱导成巨噬细胞, 与小鼠原代巨噬细胞用0、0.625、1.25、2.5和5 $\mu\text{mol/L}$ 的亚砷酸钠处理48 h, 采用荧光定量PCR和免疫印迹法检测 ABCA1、ABCG1 和 SRBI 基因表达水平; 采用同位素示踪法检测胆固醇流出率。用含2.5 $\mu\text{mol/L}$ 亚砷酸钠培养基处理巨噬细胞48 h, 再换无砷培养基培养48 h, 每隔12 h收集细胞, 分析砷对 ABCA1 表达水平和胆固醇流出的时间效应。**结果** 砷以剂量依赖方式抑制 ABCA1、ABCG1 的表达和胆固醇流出; 5 $\mu\text{mol/L}$ 砷处理组 THP-1 细胞和小鼠原代巨噬细胞中 ABCA1 mRNA 相对表达量分别下降69%和72%, ABCG1 mRNA 相对表达量分别下降42%和34%, 胆固醇流出率分别下降55%和59% (均 $P < 0.05$)。砷对 SRBI 的表达无明显影响 (均 $P > 0.05$)。砷以时间依赖方式抑制 THP-1 细胞 ABCA1 表达和胆固醇流出, 砷处理48 h时 ABCA1 mRNA 相对表达量和胆固醇流出率下降至最低, 分别为0 h时的43%和42%; 去除砷影响后 ABCA1 mRNA 相对表达量和胆固醇流出率逐渐恢复。**结论** 砷通过下调巨噬细胞 ABCA1 和 ABCG1 的表达抑制胆固醇流出。

关键词: 砷; 腺苷三磷酸结合盒家族A亚家族成员1; 腺苷三磷酸结合盒转运体G1; 清道夫受体-BI; 巨噬细胞; 胆固醇流出

中图分类号: R114 文献标识码: A 文章编号: 2096-5087 (2021) 10-0977-06

Arsenic on cholesterol efflux and the expression of ABCA1, ABCG1 and SRBI

DI Chunhong*, ZHANG Yunheng, TAN Xiaohua, YANG Lei

*The Clinical Laboratory of Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, Hangzhou, Zhejiang 310015, China

Abstract: Objective To explore the impact of arsenic on cholesterol efflux and the expression of ATP-binding cassette, sub-family A, member 1 (ABCA1), ATP-binding cassette transporter G1 (ABCG1), and scavenger receptor class B member I (SRBI) in macrophages, so as to provide the evidence for the mechanism of arsenic induced atherosclerosis. **Methods** The human myeloid leukemia mononuclear cells (THP-1), induced by phorbol myristate acetate, and mouse primary macrophages were treated with 0, 0.625, 1.25, 2.5 and 5 $\mu\text{mol/L}$ NaAsO₂ for 48 hours. Then the cells treated with 2.5 $\mu\text{mol/L}$ NaAsO₂ were changed to arsenic free mediums for 48 hours and collected every 12 hours to analyze the time effect of arsenic. The expression levels of ABCA1, ABCG1 and SRBI were determined by quantitative polymerase chain reaction and western blotting. Cholesterol efflux rates were measured by ³H isotope tracer. **Results** Arsenic significantly down-regulated the expression levels of ABCA1 and ABCG1, and cholesterol efflux in a dose-dependent manner. The levels of ABCA1 mRNA decreased by 69% and 72%, the levels of ABCG1 mRNA decreased by 42% and 34%, and the rate of cholesterol efflux decreased by 55% and 59% in THP-1 and mouse primary macrophages cells treated with 5 $\mu\text{mol/L}$ NaAsO₂ (all $P < 0.05$). Arsenic had no significant effect on SRBI expression (all $P >$

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2021.10.002

基金项目: 浙江省自然科学基金 (LQ18H190003); 国家自然科学基金 (81772168, 30860241)

作者简介: 狄春红, 硕士, 副主任技师, 主要从事环境与基因研究工作

通信作者: 谭晓华, E-mail: xiaohuatan@hznu.edu.cn

0.05). Arsenic inhibited ABCA1 expression and cholesterol efflux in THP-1 in a time-dependent manner. Compared with cells before the exposure of arsenic, the level of ABCA1 mRNA and the rate of cholesterol efflux in THP-1 bot-tomed at 48 hours by 43% and 42%, and gradually recovered when arsenic was removed. **Conclusions** Arsenic inhib-its cholesterol efflux by down-regulating the expression of ABCA1 and ABCG1 in macrophages.

Keywords: arsenic; ATP-binding cassette, sub-family A, member 1; ATP-binding cassette transporter G1; scavenger re-ceptor class B member 1; macrophage; cholesterol efflux

砷是国际癌症研究机构认定的一类致癌物^[1],也是动脉粥样硬化的危险因素^[2-5]。胆固醇代谢紊乱是动脉粥样硬化的病理基础,巨噬细胞胆固醇稳态调节紊乱,胆固醇流出受阻,使巨噬细胞转变为泡沫细胞,沉积于血管内膜下形成动脉粥样斑块^[6-7]。砷暴露可影响血脂代谢^[2-3],增加血浆胆固醇水平^[8-9],但对胆固醇流出相关基因表达的影响尚不清楚。

胆固醇从外周细胞内排出,与高密度脂蛋白结合,经血液到达肝脏被消化,以降低细胞内胆固醇水平,这一过程为胆固醇逆转运(reverse cholesterol transport, RCT)。腺苷三磷酸结合盒家族 A 亚家族成员 1(ATP-binding cassette, sub-family A, member 1, ABCA1)、腺苷三磷酸结合盒转运体 G1(ATP-binding cassette transporter G1, ABCG1)和清道夫受体-BI(scavenger receptor class B member 1, SRBI)是胆固醇流出的主要通道。ABCA1 是 RCT 的关键基因,调节细胞内胆固醇和磷脂外流的主要蛋白,具有抗动脉粥样硬化的特性^[10-12]。ABCG1 促进胆固醇流出到成熟的高密度脂蛋白微粒上,这是 RCT 的起始和关键限速步骤^[12]。SRBI 介导细胞内游离胆固醇(free cholesterol, FC)流出和细胞外 FC 流入,胆固醇浓度梯度决定着 SRBI 介导的是 FC 的流出还是流入^[13]。前期研究发现 ABCA1 在抗砷细胞中表达上调^[14-15],调控 ABCA1 等基因的表达可能在砷致动脉粥样硬化过程中发挥重要作用。本研究检测砷对巨噬细胞内 ABCA1、ABCG1、SRBI 表达以及胆固醇流出的影响,为砷致动脉粥样硬化的机制研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 亚砷酸钠(NaAsO₂)、佛波酯(phorbol-12-myristate-13-acetate, PMA)、[1, 2-³H]胆固醇、LXR 激活剂 22(R)-羟基胆固醇(22R-OHC)和 RXR 激活剂 9-顺视黄酸(9-cis-RA)、牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)购自 Sigma 公司。BCA 蛋白定量试剂盒购自美国 Pierce 公司;彩色预染蛋白质分子量标准购自美国 Fermentas 公司;TBST 缓冲液、PBS 缓冲液和细胞裂解液购自上海索

莱宝生物科技有限公司;胎牛血清和 RPMI 1640 培养基购自 HyClone 公司;总 RNA 提取试剂盒、Fast Quant 第 1 链合成试剂盒和 SuperReal PreMix Plus 试剂盒均购自天根生化科技(北京)有限公司;ABCA1、ABCG1 和 β -actin 抗体购自 Abcam 公司;SRBI 抗体购自 CST 公司;氧化型低密度脂蛋白(Oxidized-LDL)、载脂蛋白 A-I(apoA-I)、5 \times 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(dodecyl sulfate, sodium salt-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)蛋白上样缓冲液购自上海翊圣生物科技有限公司;PikoRea196 定量 PCR 仪购自 Thermo Fisher 公司;细胞计数器购自美国 Millipore 公司;蛋白电泳和转膜系统为 BioRad 公司产品。

1.2 细胞培养 人髓系白血病单核细胞(human myeloid leukemia mononuclear cells, THP-1)购自中国科学院上海细胞库。THP-1 细胞呈类圆形,悬浮生长,培养于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中,维持细胞密度为(4~8) $\times 10^5$ /mL。收集细胞,调整细胞密度为 2.5 $\times 10^5$ /mL,加入含 10 μ g/L PMA 的 RPMI 1640 培养基,诱导细胞形态逐渐变得不规则,体积增大,细胞表面伸出伪足,贴壁生长,即为巨噬细胞。

原代巨噬细胞从 C57BL/6 小鼠[杭州师范大学实验动物中心,证号 SYXK(浙)2016-0006]腹腔中获取^[16]。乙醚麻醉小鼠后,手提鼠尾将其全浸入 75% 乙醇中 5 min 以消毒表面,倒立小鼠并向腹腔内注射预冷至 4 $^{\circ}$ C 的 RPMI 1640 培养液 5 mL(注意针尖勿伤及内脏),静置 5~7 min。置小鼠于解剖台,用针头固定四肢,在腹股沟区作一横切口,撕裂皮肤以完全暴露但勿伤及腹膜壁。用 75% 乙醇冲洗腹膜壁,用手指从两侧压揉腹膜壁,使细胞液在小鼠腹腔内晃动,使腹腔内的巨噬细胞快速从腹腔浆膜表面释放,形成细胞悬液,再用针头刺入腹腔内,吸取液体,注入预冷的培养瓶内。每只小鼠可产生(2~3) $\times 10^6$ /mL 细胞,主要为巨噬细胞。将细胞悬液于 4 $^{\circ}$ C,离心半径 12 cm,1 000 r/min 离心 10 min,弃上清,放入培养瓶中,再于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 下 RPMI 1640 培养基培养 2 h,弃上清,贴壁的细胞主要

是巨噬细胞。然后用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基继续培养, 得到接近纯净的巨噬细胞。

1.3 实验分组 THP-1 细胞 ABCA1 的本底表达量很低, 其蛋白表达水平几乎不可检测, 因此需要先用 4 mg/L 22R-OHC 和 10 μmol/L 9-cis-RA 上调 ABCA1 的表达。THP-1 细胞和小鼠腹腔来源的巨噬细胞加入 0.625、1.25、2.5 和 5 μmol/L 的 NaAsO₂ 处理 48 h, 用以研究砷与 ABCA1、ABCG1、SRBI 表达水平及胆固醇流出的关系。用含 2.5 μmol/L NaAsO₂ 培养基处理巨噬细胞 48 h, 然后换无砷培养基继续培养 48 h, 分别在 12、24、36、42、48、60、72、84 和 96 h 收集巨噬细胞, 用以研究砷对 ABCA1 表达水平及胆固醇流出的时间效应。

1.4 定量 PCR 检测 ABCA1、ABCG1 和 SRBI mRNA 表达 收集不同浓度砷处理组的巨噬细胞, 按照试剂盒说明书操作抽提总 RNA, 反转录合成 cDNA。反转录体系为 5×ExScript™Buffer 2 μL, prime enzyme mix 0.5 μL, Random 0.5 μL, oligo dT 0.5 μL, total RNA 1 μL, 加 RNase-free water 6.5 μL, 总体积为 10 μL; 反应条件: 37 °C 15 min, 85 °C 5 s, 4 °C 保持。定量 PCR 体系为 2×SYBR Premix Ex Taq™ 12.5 μL, 正向引物、反向引物各 0.5 μL, cDNA 2 μL, 加 ddH₂O 10.5 μL, 总体积为 25 μL; 反应条件: 95 °C 5 s, 57 °C 20 s, 72 °C 15 s, 共 45 个循环。以 β-actin 为内参, 2^{-ΔΔCt} 法计算基因的相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 定量 PCR 引物序列

基因	上游引物	下游引物
ABCA1	5' - AACAGCCATGTTCCTCAG- 3'	5' - GACGCAAACACAAAAGTGGA- 3'
ABCG1	5' - ATAATGGCCACCAACTCACC- 3'	5' - GGGACCTTTCTATTCGGTT- 3'
SRBI	5' - TTCTCGCCCTTCAGGATCT- 3'	5' - GCTCATCAAGCAGCAGGTC- 3'
β-actin	5' -GAGCGGAAATCGTCCGTGACATT-3'	5' -GATGGAGTTGAAGGTAGTTTCGTG-3'

1.5 免疫印迹法检测 ABCA1、ABCG1 和 SRBI 蛋白表达 吸去各处理组细胞培养基, PBS 缓冲液清洗 3 遍。加入细胞裂解液, 放于冰盒内, 置于摇床裂解 30 min。再将黏稠状的细胞裂解物收集于一个微量离心管中, 以离心半径 12 cm, 12 000 r/min 离心 15 min, 取上清。BCA 法测定蛋白浓度, 用细胞裂解液调整到相同的浓度。按 4 : 1 比例加入 5×SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液, 沸水浴加热 3 ~ 5 min 变性。电泳分离、转膜、封闭, 加入一抗孵育过夜。TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min。加入二抗孵育 2 h, 电发光显影。

1.6 同位素示踪胆固醇流出实验 诱导分化的 THP-1 细胞或原代巨噬细胞按 0.4×10⁶/孔接种到 24 孔板, 过夜, 吸去上清, PBS 清洗 3 次。Oxidized-LDL (50 μL, 12.5 μg, 目的是促进胆固醇吸收) 与 [1, 2-³H] 胆固醇 (3.7×10⁴ Bq) 混合 15 min, 然后加入 500 μL 0.1% BSA 的无脂血清培养基, 含 ³H 胆固醇培养基与细胞孵育 24 h。然后吸去上清, PBS 清洗 3 次, 以清除未被细胞吸收的 ³H 胆固醇。加入含 apoA-I (25 mg/L, 目的是促进胆固醇流出) 和不同浓度 (0.625、1.25、2.5 和 5 μmol/L) NaAsO₂ 的无血清 RPMI1640 培养基孵育 18 h。分别收集细胞和培养液, 液体闪烁计数法检测细胞和培养上清液

中 ³H 胆固醇的放射活度, 方法参考文献 [17]。以每分钟计数 (counts per minute, CPM) 表示胆固醇含量, 分别检测培养基与细胞内胆固醇量。胆固醇流出率 (%) = [培养基 CPM / (培养基 CPM + 细胞 CPM)] × 100%。

1.7 统计分析 采用 SPSS 13.0 软件统计分析。定量资料服从正态分布, 采用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 描述; 不同浓度砷处理组分别与未加砷组比较采用独立样本 *t* 检验。检验水准 α=0.05。

2 结果

2.1 砷以剂量依赖方式抑制 THP-1 细胞 ABCA1 和 ABCG1 表达 THP-1 细胞 ABCA1 和 ABCG1 表达水平均随砷浓度增加而降低; 其中 1.25、2.5 和 5 μmol/L 处理组 ABCA1 mRNA 相对表达量与未加砷组比较, 差异均有统计学意义 (*P* < 0.05); 2.5 和 5 μmol/L 处理组 ABCG1 mRNA 相对表达量与未加砷组比较, 差异均有统计学意义 (*P* < 0.05); 5 μmol/L 处理组 ABCA1 和 ABCG1 mRNA 相对表达量分别下降了 69% 和 42%。SRBI 表达水平不受砷浓度的影响, 各处理组 SRBI mRNA 相对表达量与未加砷组比较, 差异均无统计学意义 (*P* > 0.05)。见表 2、图 1。

表 2 不同浓度砷处理组 THP-1 细胞 ABCA1、ABCG1 和 SRBI mRNA 相对表达量 ($\bar{x}\pm s$)

砷浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	ABCA1			ABCG1			SRBI		
	相对表达量	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	相对表达量	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	相对表达量	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
0	1.00±0.09			1.00±0.07			1.00±0.02		
0.625	0.92±0.13	0.828	0.454	0.97±0.10	0.337	0.753	0.97±0.09	0.425	0.625
1.25	0.78±0.09	2.857	0.046	0.92±0.13	0.837	0.449	1.04±0.23	0.334	0.755
2.5	0.52±0.10	5.860	0.004	0.77±0.07	4.075	0.015	0.95±0.18	0.383	0.721
5	0.31±0.12	7.675	0.001	0.58±0.13	4.880	0.008	0.98±0.30	0.123	0.908

注：*t*值、*P*值为不同浓度砷处理组分别与不加砷组比较。

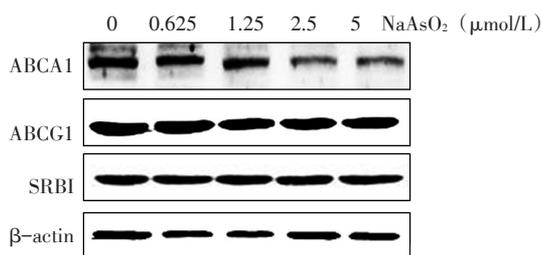


图 1 不同浓度砷处理组 THP-1 细胞 ABCA1、ABCG1 和 SRBI 蛋白表达水平

和 ABCG1 表达 小鼠原代巨噬细胞 ABCA1 和 ABCG1 表达水平随砷浓度增加而降低, 其中 1.25、2.5 和 5 $\mu\text{mol/L}$ 处理组 ABCA1 mRNA 相对表达量与未加砷组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 5 $\mu\text{mol/L}$ 处理组 ABCG1 mRNA 相对表达量与未加砷组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 5 $\mu\text{mol/L}$ 处理组 ABCA1 和 ABCG1 mRNA 相对表达量分别下降了 72% 和 34%。SRBI 表达水平不受砷浓度的影响, 各处理组 SRBI mRNA 相对表达量与未加砷组比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3、图 2。

2.2 砷以剂量依赖方式抑制小鼠原代巨噬细胞 ABCA1

表 3 不同浓度砷处理组小鼠原代巨噬细胞 ABCA1、ABCG1 和 SRBI mRNA 相对表达量 ($\bar{x}\pm s$)

砷浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	ABCA1			ABCG1			SRBI		
	相对表达量	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	相对表达量	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	相对表达量	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
0	1.00±0.10			1.00±0.10			1.00±0.02		
0.625	0.95±0.08	0.592	0.586	1.04±0.20	0.283	0.791	0.97±0.09	0.356	0.740
1.25	0.76±0.06	3.351	0.029	0.96±0.18	0.297	0.781	1.01±0.09	0.233	0.827
2.5	0.45±0.10	6.472	0.003	0.87±0.16	1.319	0.258	0.97±0.20	0.251	0.814
5	0.28±0.07	9.988	0.001	0.66±0.11	4.580	0.010	0.94±0.25	0.383	0.721

注：*t*值、*P*值为不同浓度砷处理组分别与不加砷组比较。

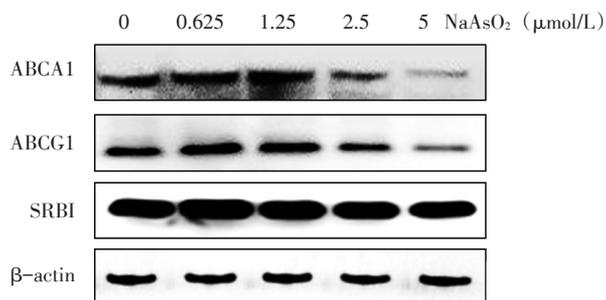


图 2 不同浓度砷处理组小鼠原代巨噬细胞 ABCA1、ABCG1 和 SRBI 蛋白表达水平

组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 5 $\mu\text{mol/L}$ 处理组胆固醇流出率下降了 55%。见表 4。

表 4 不同浓度砷处理组 THP-1 细胞胆固醇流出率 ($\bar{x}\pm s$)

砷浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	胆固醇流出率 (%)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
0	25.81±3.34		
0.625	22.25±1.81	1.622	0.180
1.25	20.38±1.03	2.688	0.054
2.5	15.72±4.53	3.103	0.036
5	11.51±2.44	5.977	0.004

注：*t*值、*P*值为不同浓度砷处理组分别与不加砷组比较。

2.3 砷以剂量依赖方式抑制 THP-1 细胞胆固醇流出 THP-1 细胞胆固醇流出率随砷浓度增加而降低; 其中 2.5 和 5 $\mu\text{mol/L}$ 处理组胆固醇流出率与未加砷

2.4 砷以剂量依赖方式抑制小鼠原代巨噬细胞胆固

醇流出 小鼠原代巨噬细胞胆固醇流出率随砷浓度增加而降低; 其中 1.25、2.5 和 5 $\mu\text{mol/L}$ 处理组胆固醇流出率与未加砷组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 5 $\mu\text{mol/L}$ 处理组胆固醇流出率下降了 59%。见表 5。

表 5 不同浓度砷处理组小鼠原代巨噬细胞胆固醇流出率 ($\bar{x} \pm s$)

砷浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	胆固醇流出率 (%)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
0	24.43 \pm 1.80		
0.625	21.91 \pm 1.96	1.629	0.179
1.25	20.03 \pm 1.80	2.990	0.040
2.5	13.93 \pm 2.97	5.238	0.006
5	10.13 \pm 1.07	11.830	<0.001

注: *t* 值、*P* 值为不同浓度砷处理组分别与不加砷组比较。

2.5 砷以时间依赖方式抑制 THP-1 细胞 ABCA1 表达和胆固醇流出 THP-1 细胞 ABCA1 表达水平随砷处理时间增加而降低, 从 36 h 开始 ABCA1 mRNA 相对表达量与 0 h 比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 48 h 时 ABCA1 mRNA 相对表达量下降至最低, 为 0 h 时的 43%。48 h 后去除砷的刺激, ABCA1 mRNA 相对表达量在 60、72 h 快速恢复, 为 0 h 时的 55% 和 75%, 到 96 h 恢复至 0 h 时的 80%。胆固醇流出率随砷处理时间增加而降低, 从 24 h 开始胆固醇流出率与 0 h 比较 (此时胆固醇流出率为 27.77%), 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。砷处理 48 h 后其胆固醇流出率为砷剂处理前 (0 h) 的 42%; 去除砷的刺激后, 胆固醇流出率开始恢复, 96 h 恢复到砷剂处理前的 75%。见表 6。

3 讨论

本研究检测了砷对 ABCA1、ABCG1 和 SRBI 表达的调控作用以及巨噬细胞胆固醇流出的影响。由于巨噬细胞本底 ABCA1 表达水平较低, 为使实验结果易于检测本研究使用激活剂上调了 ABCA1 的表达水平^[18]。使用激活剂后, 砷仍然使 ABCA1 的 mRNA 和蛋白表达水平明显下降。

砷以剂量依赖方式下调巨噬细胞 ABCA1 和 ABCG1 的表达, 但对 SRBI 的表达没有影响。ABCA1 对砷更为敏感, 1.25 $\mu\text{mol/L}$ 的砷即可显著下调 ABCA1 的表达, 而 ABCG1 则需要更高的砷浓度刺激。ABCA1 和 ABCG1 在胆固醇外流中起重要作用; SRBI 不仅在胆固醇外流中发挥作用, 也在胆固醇内流中发挥作

表 6 不同砷处理时间 THP-1 细胞 ABCA1 mRNA 相对表达量和胆固醇流出率 ($\bar{x} \pm s$)

砷处理时间 (h)	ABCA1 mRNA			胆固醇		
	相对表达量	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	流出率 (%)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
0	1.00 \pm 0.01			27.77 \pm 1.99		
12	0.98 \pm 0.07	0.327	0.760	26.17 \pm 1.27	1.177	0.304
24	0.95 \pm 0.07	1.192	0.299	20.27 \pm 1.83	4.806	0.009
36	0.73 \pm 0.13	3.546	0.024	13.57 \pm 1.48	9.920	0.001
42	0.53 \pm 0.09	9.212	0.001	11.80 \pm 1.90	10.060	0.001
48	0.43 \pm 0.11	8.988	0.001	11.56 \pm 1.89	10.230	0.001
60	0.55 \pm 0.13	5.789	0.004	12.90 \pm 2.46	8.137	0.001
72	0.75 \pm 0.07	5.960	0.004	13.47 \pm 2.87	7.095	0.002
84	0.72 \pm 0.07	7.311	0.002	21.27 \pm 1.89	4.109	0.015
96	0.80 \pm 0.14	2.433	0.071	20.93 \pm 2.68	3.551	0.024

注: 在 48 h 后换不含砷的培养基继续培养。*t* 值、*P* 值为不同砷处理时间组分别与加砷前 (0 h) 比较。

用。采用 ³H 胆固醇示踪法检测砷对胆固醇流出的影响, 结果显示砷抑制巨噬细胞胆固醇流出, 1.25 $\mu\text{mol/L}$ 及以上浓度可显著降低胆固醇流出率。

采用 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 砷处理 THP-1 细胞, 发现砷对 ABCA1 表达及胆固醇流出的影响呈现时间-效应关系。去除砷后, ABCA1 的表达量和胆固醇流出率逐渐恢复到加砷前水平, 提示低浓度砷对胆固醇流出的抑制作用是可逆的。

本研究证实砷对巨噬细胞胆固醇的流出有抑制作用, 而下调 ABCA1 和 ABCG1 的表达可能是砷抑制胆固醇流出的重要机制。

参考文献

- [1] GEBEL T W. Unanswered questions in arsenic toxicology [J]. J Environ Pathol Toxicol Oncol, 2001, 20 (4): 299-309.
- [2] BALAKUMAR P, KAUR J. Arsenic exposure and cardiovascular disorders: an overview [J]. Cardiovasc Toxicol, 2009, 9 (4): 169-176.
- [3] CHEN Y, WU F, GRAZIANO J H, et al. Arsenic exposure from drinking water, arsenic methylation capacity, and carotid intima-media thickness in Bangladesh [J]. Am J Epidemiol, 2013, 178 (3): 372-381.
- [4] LEMAIRE M, LEMARIE C A, MOLINA M F, et al. Exposure to moderate arsenic concentrations increases atherosclerosis in ApoE^{-/-} mouse model [J]. Toxicol Sci, 2011, 122 (1): 211-221.
- [5] STATES J C, SRIVASTAVA S, CHEN Y, et al. Arsenic and cardiovascular disease [J]. Toxicol Sci, 2009, 107 (2): 312-323.
- [6] MURPHY A J, DRAGOLJEVIC D, TALL A R. Cholesterol efflux pathways regulate myelopoiesis: a potential link to altered macrophage function in atherosclerosis [J/OL]. Front Immunol, 2014,

- 5: 1-6.
- [7] LANG J K, CIMATO T R. Cholesterol and hematopoietic stem cells: inflammatory mediators of atherosclerosis [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2014, 3 (5): 549-552.
- [8] CHENG T J, CHUU J J, CHANG C Y, et al. Atherosclerosis induced by arsenic in drinking water in rats through altering lipid metabolism [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2011, 256 (2): 146-153.
- [9] MANNA P, SINHA M, SIL P C. Arsenic-induced oxidative myocardial injury: protective role of arjunolic acid [J]. *Arch Toxicol*, 2008, 82 (3): 137-149.
- [10] SASAKI M, KOMATSU T, IKEWAKI K. Impact of hepatic ABCA1 (ATP-binding cassette transporter A1) deletion on reverse cholesterol transport a new clue in solving complex HDL (high-density lipoprotein) metabolism [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39 (9): 1699-1701.
- [11] BASHORE A C, LIU M, KEY C C, et al. Targeted deletion of hepatocyte Abca1 increases plasma HDL (high-density lipoprotein) reverse cholesterol transport via the LDL (low-density lipoprotein) receptor [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39 (9): 1747-1761.
- [12] WANG X, COLLINS H L, RANALLETTA M, et al. Macrophage ABCA1 and ABCG1, but not SR-BI, promote macrophage reverse cholesterol transport *in vivo* [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117 (8): 2216-2224.
- [13] 路倩, 陈五军. 动脉粥样硬化中胆固醇外流的研究进展 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2012, 39 (4): 319-326.
- [14] TAN X H, YANG L, XIAN L L, et al. ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) promotes arsenic tolerance in human cells by reducing cellular arsenic accumulation [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2014, 41 (4): 287-294.
- [15] 罗燕, 程建兵, 谭晓华, 等. 三磷酸腺苷结合盒转运体 a1 蛋白第二跨膜结构域缺失突变体的构建及其抗砷性研究 [J]. *中国药理学杂志*, 2012, 47 (23): 1877-1882.
- [16] TAVARES L S, RALPH M T, BATISTA J E C, et al. Perspectives for the use of latex peptidases from *Calotropis procera* for control of inflammation derived from *Salmonella* infections [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 171: 37-43.
- [17] LIN G R, BORNFELDT K E. Cyclic AMP-specific phosphodiesterase 4 inhibitors promote ABCA1 expression and cholesterol efflux [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 290 (2): 663-669.
- [18] PADOVANI A M, MOLINA M F, MANN K K. Inhibition of liver x receptor/retinoid X receptor-mediated transcription contributes to the proatherogenic effects of arsenic in macrophages *in vitro* [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30 (6): 1228-1236.
- 收稿日期: 2021-05-17 修回日期: 2021-07-16 本文编辑: 徐文璐

(上接第 976 页)

- [8] ZEMAN M, VECKA M, PERLÍK F, et al. Pleiotropic effects of niacin: current possibilities for its clinical use [J]. *Acta Pharm*, 2016, 66 (4): 449-469.
- [9] WU Y, LI S, WANG W, et al. Associations of dietary vitamin B1, vitamin B2, niacin, vitamin B6, vitamin B12 and folate equivalent intakes with metabolic syndrome [J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2020, 71 (6): 738-749.
- [10] LEE S, LEE H J, KIM S C, et al. Association between nutrients and metabolic syndrome in middle-aged Korean women [J]. *Arch Endocrinol Metab*, 2020, 64 (3): 298-305.
- [11] 杨月欣, 王光亚, 潘兴昌. 中国食物成分表 [M]. 2 版. 北京: 北京大学医学出版社, 2009.
- [12] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 人群健康监测人体测量方法: WS/T 424—2013 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [13] GRUNDY S M, CLEEMAN J I, DANIELS S R, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome [J]. *Circulation*, 2005, 112 (17): 2735-2752.
- [14] 胡浙芳, 章荣华, 黄李春, 等. 四种代谢综合征诊断标准在浙江省城市人群中应用情况的比较 [J]. *中华预防医学杂志*, 2014, 48 (6): 507-511.
- [15] 彭志晴, 陈晗瑞, 王贝贝, 等. 海南省百岁老人膳食维生素摄入与慢性疾病相关性 [J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40 (3): 637-640.
- [16] ZHOU S. Excess vitamin intake: an unrecognized risk factor for obesity [J]. *World J Diabetes*, 2014, 5 (1): 1-13.
- [17] ABDULLAH K M, ALAM M M, IQBAL Z, et al. The therapeutic effect of vitamin B3 on hyperglycemia, oxidative stress and DNA damage in alloxan induced diabetic rat model [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 105: 1223-1231.
- [18] ZHANG Z, LIU M, ZHOU C, et al. Evaluation of dietary niacin and new-onset hypertension among chinese adults [J/OL]. *JAMA Netw Open*, 2021, 4 (1) [2021-07-26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33404619/>. DOI: 10.1001/jamanetw.2020.31669.
- 收稿日期: 2021-06-02 修回日期: 2021-07-26 本文编辑: 田田