

这点^[15]。本研究通过对 7 篇 RCT 文献的研究分析,初步确定了联用法舒地尔注射液在 COPD 合并肺动脉高压患者的临床治疗上的有效性。

3. 本研究的局限性和对未来研究的启示:本研究的纳入文献在方法学质量方面存在随机分组方法不明,分配隐藏不清楚,未正确使用盲法等不足,总体质量不高,影响了该系统评价的可靠性;另一方面本研究所有的纳入文献均为中文文献,并且每项研究病例数相对较少,导致合并结果的证据强度较弱。因此在临床上应该正确的认识和合理的应用此类分析,并且要不断收集新的研究资料而使结论得以更新。

综上所述,对既往发表的临床研究的 Meta 分析结果显示法舒地尔注射液治疗 COPD 合并肺动脉高压疗效优于单纯常规基础治疗,可改善患者临床症状及 PaO₂、PASP,值得临床推广使用,但客观的 Meta 分析结论需要高质量的随机对照临床试验,因此,要进一步验证法舒地尔注射液治疗 COPD 合并肺动脉高压的临床疗效,尚需进行更多设计严谨、多中心大样本的随机对照试验证实得出更为科学可靠的结论。

参考文献

- 1 吴松林. 短暂性脑缺血发作的研究进展[J]. 脑与神经疾病杂志, 2002, 10(6): 378-379
- 2 Mouchaers KT, Schaliij I, de Boer MA, *et al.* Fasudil reduces monocrotaline - induced pulmonary arterial hypertension: comparison with bosentan and sildenafil [J]. *Eur Respir J*, 2010, 36(4): i800-807
- 3 Ziino AJ, Ivanovska J, Belcastro R, *et al.* Effects of rho - kinase inhibition on pulmonary hypertension, lung growth, and structure in neonatal rats chronically exposed to hypoxia [J]. *Pediatr Res*, 2010, 67(2): 177-182
- 4 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺

- 疾病诊治指南(2007 修订版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2007, 30(1): 8-17
- 5 荆志成. 2010 年中国肺动脉高血压诊治指南[J]. 中国医学前沿杂志: 电子版, 2011, 3(2): 62-81
- 6 倪敏霞, 武晓云, 杨华. Rho 激酶抑制剂法舒地尔治疗 COPD 合并肺动脉高压的疗效观察[J]. 宁夏医学杂志, 2010, 32(12): 1195-1196
- 7 刘同赏, 于连玲, 张华. Rho 激酶抑制剂治疗低氧性肺动脉高压的研究[J]. 中国保健营养, 2010, 55(5): 2273-2274
- 8 卢坤琴, 陈龙. 法舒地尔对 COPD 合并慢性肺源性心脏病肺动脉高压疗效的临床研究观察[J]. 临床肺科杂志, 2012, 17(7): 1336-1337
- 9 李翠萍, 王石. 法舒地尔对 AECOPD 相关性肺动脉高压患者的临床近期疗效分析[J]. 中国医药科学, 2014, 4(19): 44-46
- 10 程爱花, 赵文静, 叶喜科. 法舒地尔治疗继发性肺动脉高压疗效分析[J]. 河北医药, 2012, 33(4): 0541-0542
- 11 向繁, 陈俊, 印季. 盐酸法舒地尔治疗肺动脉高压的临床疗效观察[J]. *PJCCPVD*, 2012, 20(8): 1306-1307
- 12 仇爱民, 祁凤亮, 陶章. 法舒地尔在慢性肺源性心脏病患者中的临床疗效[J]. 临床肺科杂志, 2013, 18(1): 59-60
- 13 Galie N, Hoeper MM, Humbert M, *et al.* Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS), endorsed by the International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT) [J]. *Eur Heart J*, 2009, 30(20): 2493-2537
- 14 Doe Z, Fukumoto Y, Takaki A, *et al.* Evidence for Rho - kinase activation in patients with pulmonary arterial hypertension[J]. *Circ J*, 2009, 73(9): 1731-1739
- 15 Ishikura K, Yamada N, Ito M, *et al.* Beneficial acute effects of Rho - kinase inhibitor in patients with pulmonary arterial hypertension[J]. *Circ J*, 2006, 70(2): 174-178 (收稿日期: 2015-01-08)

(修回日期: 2015-02-02)

¹³¹I - zaptuzumab 对体外培养肿瘤细胞存活的影响

郝振亮 蔡 炯 郑德先

摘 要 目的 为提高单克隆抗体治疗肿瘤效果, 研究测试放射性核素¹³¹I 标记的单克隆抗体 zaptuzumab 对体外培养肿瘤细胞的杀伤作用。**方法** 实验采用 3 种肿瘤细胞, 分别是人 A549 肺腺癌、人 H460 大细胞肺癌和人 MGC-803 胃腺癌细胞。每组细胞采用 4 种不同的处理: 分别是生理盐水、zaptuzumab、¹³¹I - zaptuzumab 和 ¹³¹I。处理 12h 后用 MTS 法测定细胞活性, 用 ANOVA 分析各组之间的统计学差异, 了解 ¹³¹I - zaptuzumab 对肿瘤细胞存活的影响。**结果** ¹³¹I - zaptuzumab 的处理使人 A549 肺腺癌细胞的存活率降低 37.9%, 而 zaptuzumab 和 ¹³¹I 处理分别使人 A549 肺腺癌细胞的存活率降低 8.7% 和 1.9%; ¹³¹I - zaptuzumab

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30500573、30670741)

作者单位: 100730 中国医学科学院北京协和医院核医学科(郝振亮、蔡炯); 中国医学科学院基础医学研究所(郑德先)

通讯作者: 蔡炯, 电子信箱: jiongcai@sina.com

的处理使人 H460 大细胞肺癌的存活率降低 53.4%, 而 zaptuzumab 和 ^{131}I 处理使人 H460 大细胞肺癌细胞的存活率降低 15.1% 和 18.1%; ^{131}I - zaptuzumab 使人 MGC - 803 胃腺癌存活率降低 13.4%, 而 zaptuzumab 和 ^{131}I 处理使存活率降低 10.2% 和 8.4%。
结论 ^{131}I - zaptuzumab 与 zaptuzumab 相比, 能够更有效地杀伤人 A549 肺腺癌和 H460 大细胞肺癌细胞, 提示靶向死亡受体 5 的放射免疫治疗的可行性。

关键词 放射性同位素碘 zaptuzumab A549 H460 MTS

中图分类号 R73 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.09.010

Effect of ^{131}I - zaptuzumab on the Survival of Tumor Cells in vitro. Hao Zhenliang, Cai Jiong, Zheng Dexian. Department of Nuclear Medicine, PUMC Hospital, PUMC & CAMS, Beijing 100730, China

Abstract Objective To improve the therapy effect of monoclonal antibody on tumor, we tested the killing effect of monoclonal antibody zaptuzumab carrying therapeutic nuclide ^{131}I on tumor cells *in vitro*. **Methods** Three different tumor cell lines including human lung adenocarcinoma A549 cells, human large cell lung cancer H460 cells and human gastric adenocarcinoma MGC - 803 cells were used in this experiment. The cells were treated with saline, zaptuzumab, ^{131}I - zaptuzumab and ^{131}I respectively for 12h at 37℃ in the cell incubator. The cell viability was determined by MTS method. ANOVA t - test was used to analyze the difference between different groups for valuating the effect of ^{131}I - zaptuzumab on the survival of tumor cells. **Results** The survival ratio of human lung adenocarcinoma A549 cells after ^{131}I - zaptuzumab treatment reduced 37.9%, while those treated with zaptuzumab reduced 8.7% and those treated with ^{131}I reduced 1.9%. The survival ratio of human large cell lung cancer H460 cells after ^{131}I - zaptuzumab treatment reduced 53.4%, while those treated with zaptuzumab reduced 15.1% and those treated with ^{131}I reduced 18.1%. The survival ratio of human gastric adenocarcinoma MGC - 803 cells after ^{131}I - zaptuzumab treatment reduced 13.4%, while those treated with zaptuzumab reduced 10.2% and those treated with ^{131}I reduced 8.4%. **Conclusion** Compared with zaptuzumab, ^{131}I - zaptuzumab has stronger anti - tumor activity to human lung adenocarcinoma A549 cells and large cell lung cancer H460 cells. These data indicate that the feasibility of radioimmunotherapy targeting death receptor 5.

Key words Radioiodine isotope; Zaptuzumab; A549; H460; MTS

肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体 TRAIL (tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand) 可以激活肿瘤细胞表面的死亡受体 (death receptor), 引起肿瘤细胞的凋亡^[1, 2]。死亡受体 5 (death receptor 5, DR5) 具有细胞内死亡域 DD (death domain), 可以选择性诱导肿瘤细胞凋亡, 因此在肿瘤治疗中有应用前景^[1, 3]。zaptuzumab 是 DR5 的激活型嵌合单克隆抗体, 对 DR5 具有高特异性^[4]。但和其他 DR5 抗体如 conatumumab、lexatumumab、tigatuzumab 一样, zaptuzumab 本身杀伤肿瘤的效果可能因为抵抗机制的出现而降低^[5~8]。为了增强抗体治疗肿瘤的效果, 临床上可以采用核素标记抗体, 靶向导入射线定点清除肿瘤细胞^[9]。本研究采用临床常用的放射性核素 ^{131}I 标记 zaptuzumab, 研究测试放射性核素 ^{131}I 标记的单克隆抗体 zaptuzumab 对体外培养肿瘤细胞的杀伤作用。

材料与方法

1. 材料: ^{131}I 由原子高科公司提供, zaptuzumab 抗体由中国医学科学院基础医学研究所制备^[4, 8], NAP - 5 排阻层析柱、薄层层析纸 ITLC - SG 购自美国 GE 公司。氯胺 T 为北京化学试剂公司产品。人肺腺癌细胞株 A549、人 H460 大细胞肺癌细胞株和人 MGC - 803 胃腺癌细胞由中国医学科学院基

础医学研究所提供。DMEM、RPMI1640 培养基由中国医学科学院基础医学细胞中心提供。MTS [3 - (4, 5 - dimethylthiazol - 2 - yl) - 5 (3 - carboxymethoxyphenyl) - 2 - (4 - sulfonyl) - 2H - tetrazolium, inner salt] 为 Promega 公司产品。

2. ^{131}I - zaptuzumab 的制备: 取 50μl zaptuzumab (浓度 4.7mg/ml), 依次加入 40μl 0.5mol/L pH 7.4 的 PBS 溶液, 加入 37MBq 的碘化钠 (^{131}I Na) 溶液, 取 50μl 氯胺 T (1mg/ml) 加入, 室温放置 10min。用 25μl $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (1mg/ml) 终止反应。过 NAP - 5 排阻层析柱纯化, 用 ITLC - SG 薄层层析纸点样, PBS 为流动相层析, 用同位素扫描仪测定 ^{131}I - zaptuzumab 的放射性化学纯度。用剂量仪测定活度, 用 Branford 测定抗体浓度。

3. 细胞培养: 于 37℃, 5% CO_2 的培养箱内 DMEM 培养基加青霉素、链霉素和小牛血清 (10%) 培养人肺腺癌细胞株 A549 和人 MGC - 803 胃腺癌细胞; 在 RPMI1640 培养基加青霉素、链霉素和小牛血清培养人 H460 大细胞肺癌细胞。待达到 90% 融合后用胰酶分解, 计数。每孔加入 100μl 细胞, 含 8×10^3 个细胞, 37℃ 培养 24h 后进行不同药物处理。

4. 药物处理: 每种细胞采用 5 种不同的处理方式, 每种处理设 10 个平行样: 分别是 20μl 生理盐水 (生理盐水组)、1μg/20μl zaptuzumab (Ab 组)、10μCi / (1μg: 20μl) ^{131}I - zaptuzumab (^{131}I - Ab 组)、10μCi/20μl ^{131}I (^{131}I 组) 和 1μg/20μl zaptuzumab + 10μCi/20μl ^{131}I (^{131}I + Ab 组)。处理 12h 后用 MTS 法测定细胞活性。

5. MTS 活性分析:每孔加 20 μ l MTS 溶液,继续孵育 1h 后选择 492nm 波长比色,在酶联免疫监测仪上测定各孔光吸收值,记录结果。

6. 统计学方法:用 ANOVA 分析各组之间的统计学差异。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. ^{131}I - zaptuzumab 的制备: ^{131}I - zaptuzumab 的标记率在 95% 以上,纯化后的放射性化学纯度达到 99% 以上。纯化产物的蛋白质浓度为 50 μ g/ml,活度为 500 μ Ci/ml,即 10mCi/mg。计算出比活度为 66.5GBq/ μ mol。

2. ^{131}I - zaptuzumab 对人 A549 肺腺癌细胞的毒性:在本研究设定的条件下, ^{131}I - zaptuzumab 的处理使人 A549 肺腺癌细胞的存活率降低 37.9%,差异有统计学意义($P = 0.003$),而 zaptuzumab 和 ^{131}I 处理分别使人 A549 肺腺癌细胞的存活率降低 8.7% 和 1.9%,差异没有统计学意义($P = 0.360$ 和 $P = 0.853$)。和 zaptuzumab、 ^{131}I 处理相比, ^{131}I - zaptuzumab 的处理使人 A549 肺腺癌细胞的存活率极显著降低($P = 0.002$ 和 $P = 0.001$),详见图 1。

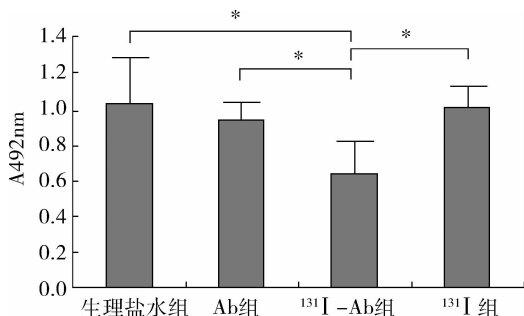


图 1 比较 zaptuzumab、 ^{131}I - zaptuzumab 和 ^{131}I 处理对人 A549 肺腺癌细胞的细胞毒性

* $P < 0.01$

3. ^{131}I - zaptuzumab 对人 H460 大细胞肺癌细胞的毒性:在本研究设定的条件下, ^{131}I - zaptuzumab 的处理使人 H460 大细胞肺癌细胞的存活率降低 53.4%,差异有统计学意义($P = 0.000$),而 zaptuzumab 和 ^{131}I 处理分别使人 H460 大细胞肺癌细胞的存活率降低 15.1% 和 18.1%,差异没有统计学意义($P = 0.094$ 和 $P = 0.071$)。和 zaptuzumab、 ^{131}I 处理相比, ^{131}I - zaptuzumab 的处理使人 H460 大细胞肺癌细胞的存活率降低,差异有统计学意义($P = 0.000$ 和 $P = 0.001$),详见图 2。

4. ^{131}I - zaptuzumab 对人 MGC - 803 胃腺癌细胞的毒性:在本研究设定的条件下, ^{131}I - zaptuzumab 的

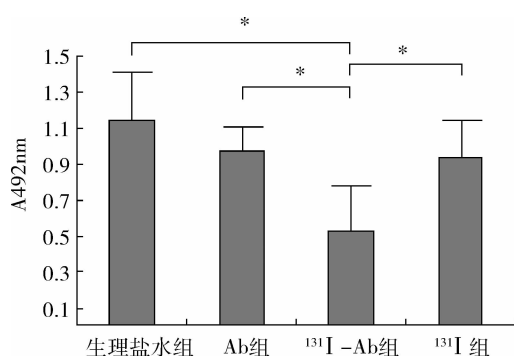


图 2 比较 zaptuzumab、 ^{131}I - zaptuzumab 和 ^{131}I 处理对人 H460 大细胞肺癌细胞的细胞毒性

* $P < 0.01$

处理使人 MGC - 803 胃腺癌细胞的存活率降低 13.4%,但差异无统计学意义($P = 0.0735$),而 zaptuzumab 和 ^{131}I 处理分别使人 MGC - 803 胃腺癌细胞的存活率降低 10.2% 和 8.4%,差异无统计学意义($P = 0.152$ 和 $P = 0.232$)。和 zaptuzumab、 ^{131}I 处理相比, ^{131}I - zaptuzumab 的处理未引起人 MGC - 803 胃腺癌细胞的存活率的显著变化($P = 0.791$ 和 $P = 0.486$),详见图 3。

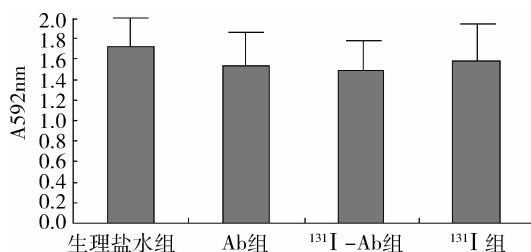


图 3 比较 zaptuzumab、 ^{131}I - zaptuzumab 和 ^{131}I 处理对人 MGC - 803 胃腺癌细胞的细胞毒性

5. ^{131}I - zaptuzumab 对人 Jurkat 急性 T 淋巴细胞白血病细胞的毒性:在本研究设定的条件下, ^{131}I - zaptuzumab 的处理使人 Jurkat 急性 T 淋巴细胞白血病细胞的存活率降低 25.4%,差异有统计学意义($P = 0.0262$),而 zaptuzumab 和 ^{131}I 处理分别使 Jurkat 急性 T 淋巴细胞白血病细胞的存活率降低 4.17% 和 19.4%,差异无统计学意义($P = 0.727$ 和 $P = 0.098$)。和 ^{131}I 处理相比, ^{131}I - zaptuzumab 的处理未引起人 Jurkat 急性 T 淋巴细胞白血病细胞的存活率的显著变化($P = 0.444$)。但和 zaptuzumab 或 zaptuzumab 加 ^{131}I 处理相比, ^{131}I - zaptuzumab 的处理引起人 Jurkat 急性 T 淋巴细胞白血病细胞的存活率的显著变化($P = 0.025$ 和 $P = 0.023$)。见图 4。

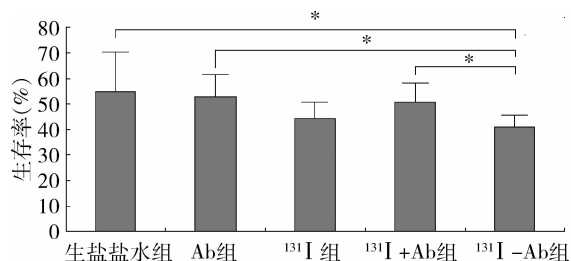


图4 比较 zaptuzumab、¹³¹I-zaptuzumab 和 ¹³¹I 处理对人 Jurkat 急性 T 淋巴细胞白血病细胞的细胞毒性

* $P < 0.05$

6. ¹³¹I-zaptuzumab 对 4T-1 鼠乳腺癌细胞的毒性:在本研究设定的条件下,¹³¹I-zaptuzumab 的处理使 4T-1 鼠乳腺癌细胞的存活率降低 13.1%,差异无统计学意义($P=0.123$),而 zaptuzumab 和 ¹³¹I 处理分别使 4T-1 鼠乳腺癌细胞的存活率升高 14.7% 和降低了 11.1%,差异无统计学意义($P=0.252$ 和 $P=0.134$)。和 ¹³¹I 或 zaptuzumab 加 ¹³¹I 处理相比,¹³¹I-zaptuzumab 的处理未引起 4T-1 鼠乳腺癌细胞的存活率的显著变化($P=0.747$ 和 $P=0.248$)。但和 zaptuzumab 处理相比,¹³¹I-zaptuzumab 的处理引起 4T-1 鼠乳腺癌细胞的存活率的差异有统计学意义($P=0.005$)。见图 5。

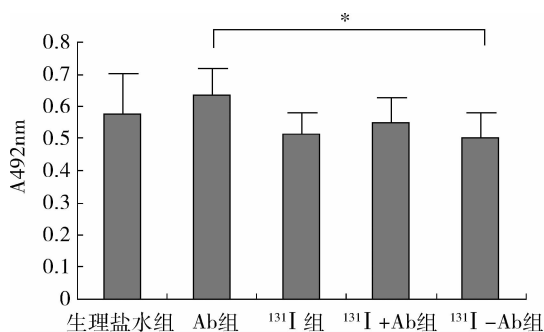


图5 比较 zaptuzumab、¹³¹I-zaptuzumab 和 ¹³¹I 处理对 4T-1 鼠乳腺癌细胞的细胞毒性

* $P < 0.01$

讨 论

目前国外有多种 DR5 单抗进入临床进行肿瘤的治疗,如 tigatuzumab、conatumumab、drozitumab、lexatumumab 和 LBY135 等。zaptuzumab 是我国自己研制的 DR5 单抗,它具有很强的抗肿瘤活性,而对正常细胞的无毒性,特别是 zaptuzumab 可以和化疗药物协同杀伤肿瘤,而不增加不良反应^[4,8]。理论上,TRAIL 或者 DR5 抗体激动剂诱导的细胞凋亡不依赖 p53,可以适用于 p53 突变的肿瘤患者。但国外临床实验表明,

激活死亡受体治疗肿瘤的效果并不好,这可能和肿瘤患者的死亡受体细胞内传导途径等抵抗机制有关,特别和 c-FLIP 的介入有关。c-FLIP 蛋白在结构与序列上与 caspase-8、10 很相似,其 N-端含有与 caspase-8 相似的 2 个相互串联的 DED, c-FLIP 通过其 N-端的 2 个 DED 竞争性结合 FADD 和(或) caspase-8、10,阻断 caspases 级联反应,从而阻断 TRAIL-R 等细胞表面死亡受体介导的凋亡信号传导,起到抑制凋亡的作用^[10]。

本细胞实验表明,¹³¹I-zaptuzumab 对人 A549 肺癌细胞的毒性大于 zaptuzumab 和 ¹³¹I 的总和(37.9%、8.7%、1.9%);¹³¹I-zaptuzumab 对人 H460 大细胞肺癌细胞的毒性大于 ¹³¹I 和 zaptuzumab 的总和(53.4%、15.1%、18.1%);¹³¹I-zaptuzumab 对人 MGC-803 胃腺癌细胞的毒性和 zaptuzumab、¹³¹I 相近(13.4%、10.2%、8.4%);¹³¹I-zaptuzumab 对人 Jurkat 急性 T 淋巴细胞白血病细胞的毒性大于 ¹³¹I 和 zaptuzumab 的总和(25.4%、4.17%、19.4%)。推测放射性核素 ¹³¹I 发射 β 粒子直接杀伤肿瘤细胞或启动线粒体内源凋亡途径^[11,12],从而增强了 zaptuzumab 的抗癌效果。不同细胞系的杀伤效果不尽相同,这可能与不同细胞系的受体表达水平有密切关系。目前,放射免疫治疗只用于淋巴瘤,实体瘤的放射免疫治疗研究较少,选择单克隆抗体是关键。本研究提示 DR5 单克隆抗体 zaptuzumab 也许是放射免疫治疗实体瘤如肺癌的一个不错的选择。

参考文献

- Wang S. TRAIL: a sword for killing tumors[J]. Curr Med Chem, 2010, 17(29):3309-3317
- Fox NL, Humphreys R, Luster TA, et al. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) receptor-1 and receptor-2 agonists for cancer therapy[J]. Expert Opin Biol Ther, 2010, 10(1):1-18
- Ashkenazi A, Dixit VM. Apoptosis control by death and decoy receptors[J]. Curr Opin Cell Biol, 1999, 11(2):255-260
- Qiu Y, Zhang Z, Shi J, et al. A novel anti-DR5 chimeric antibody and epirubicin synergistically suppress tumor growth[J]. IUBMB Life, 2012, 64(9):757-765
- Paz-Ares L, Bálint B, de Boer RH, et al. A randomized phase 2 study of paclitaxel and carboplatin with or without conatumumab for first-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer[J]. J Thorac Oncol, 2013, 8(3):329-337
- Merchant MS, Geller JL, Baird K, et al. Phase I trial and pharmacokinetic study of lexatumumab in pediatric patients with solid tumors[J]. J Clin Oncol, 2012, 30(33):4141-4147
- Reck M, Krzakowski M, Chmielowska E, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial of docetaxel and carboplatin with or without conatumumab in patients with advanced non-small-cell lung cancer[J]. J Clin Oncol, 2013, 31(15):1815-1823

- le-blind, placebo-controlled phase 2 study of tigatuzumab (CS-1008) in combination with carboplatin/paclitaxel in patients with chemotherapy-naïve metastatic/unresectable non-small cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2013, 82(3): 441-448
- 8 Li M, Wu Y, Qiu Y, *et al.* 2A peptide-based, lentivirus-mediated anti-death receptor 5 chimeric antibody expression prevents tumor growth in nude mice[J]. *Mol Ther*, 2012, 20(1): 46-53
- 9 Friedberg JW, Unger JM, Burack WR, *et al.* R-CHOP with iodine-131 tositumomab consolidation for advanced stage diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): SWOG S0433[J]. *Br J Haematol*, 2014, 166(3): 382-389
- 10 Kim Y, Suh N, Sporn M, *et al.* An inducible pathway for degradation of FLIP protein sensitizes tumor cells to TRAIL-induced apoptosis[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(25): 22320-22329
- 11 Sharkey RM, Karacay H, Goldenberg DM. Improving the treatment of non-Hodgkin lymphoma with antibody-targeted radionuclides[J]. *Cancer*, 2010, 116(4Suppl): 1134-1145
- 12 Russo E, Guerra A, Marotta V, *et al.* Radioiodide induces apoptosis in human thyroid tissue in culture[J]. *Endocrine*, 2013, 44(3): 729-734
- (收稿日期:2015-02-02)
(修回日期:2015-02-27)

促酰化蛋白对 3T3-L1 脂肪细胞炎性反应的影响

杨姗姗 胡秀芬 温宇

摘要 目的 观察 3T3-L1 成熟脂肪细胞胰岛素抵抗状态下促酰化蛋白(acylation stimulating protein, ASP)对炎性因子(IL-6、MCP-1、MIP-1 α 和 TNF- α)分泌水平以及炎性信号因子(JNK1、IKK β)蛋白表达的影响。方法 3T3-L1 成熟脂肪细胞分别给予不同浓度(0、0.125、0.5、1.0mmol/L)油酸(C18:1)或棕榈酸(C16:0)温育过夜,诱导胰岛素抵抗,在此基础上给予 ASP 刺激,用 ELISA 测定 IL-6、MCP-1、MIP-1 α 和 TNF- α 4 种细胞炎性因子的分泌水平,采用 Western blot 法检测 JNK1 和 IKK β 蛋白表达。结果 油酸诱导的胰岛素抵抗下,ASP 刺激的脂肪细胞 IL-6 和 MCP-1 的分泌水平轻度下调,但差异无统计学意义;而 ASP 刺激的脂肪细胞 MIP-1 α 和 TNF- α 的分泌水平显著下降,MIP-1 α 和 TNF- α 的分泌分别下调 57% ($P < 0.05$) 和 48% ($P < 0.05$) (1.0mmol/L 油酸组)。棕榈酸诱导的胰岛素抵抗下,ASP 刺激的脂肪细胞 IL-6 分泌水平呈下降趋势,最大下调 50% IL-6 ($P < 0.05$);22% MCP-1 ($P > 0.05$),35% MIP-1 α ($P > 0.05$) 和 38% TNF- α ($P > 0.05$) 的分泌。高浓度(1.0mmol/L)油酸和棕榈酸诱导的脂肪细胞胰岛素抵抗状态下,ASP 刺激的炎性信号蛋白 JNK1 蛋白表达显著下调,分别为 34% ($P < 0.05$) 和 54% ($P < 0.01$)。但 IKK β 蛋白表达差异无统计学意义。结论 在脂肪酸诱导的脂肪细胞胰岛素抵抗状态下,ASP 在一定程度上调节炎性因子分泌,参与调节 JNK、IKK/NF- κ B 信号通路中重要信号分子的功能,ASP 参与了脂肪细胞脂毒性-炎性反应的调控。

关键词 脂肪细胞 胰岛素抵抗 促酰化蛋白 脂毒性 炎性反应

中图分类号 R3 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.09.011

Acylation Stimulating Protein Regulates the Inflammation in 3T3-L1 Adipocytes. Yang Shanshan, Hu Xiufen, Wen Yu. Department of Pediatrics, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Hubei 430030, China

Abstract Objective To study the changes of ASP on the inflammatory factors expression in 3T3-L1 adipocytes under the conditions which produce insulin resistance by free fatty acids. **Methods** 3T3-L1 preadipocytes were induced differentiated by cocktail hormones containing 10 μ g/ml insulin, 1 μ mol/L dexamethasone and 0.5mmol/L isobutylmethylxanthine. Then 0mmol/L (FFA-free DMEM/F12), 0.125mmol/L, 0.5mmol/L and 1.0mmol/L oleate or palmitate was added to cultured 3T3-L1 adipocytes overnight. Both non-FFA treated and FFA treated 3T3-L1 cells were cultured with 1.0 μ mol/L ASP for 2 hours. Then the cultured media and cell proteins were extracted. Interleukin (IL)-6, monocyte chemoattractant protein (MCP)-1, macrophage inflammatory protein (MIP)-1 α , and tumor necrosis factor (TNF)- α concentrations were measured using mouse ELISA kits according to the manufacturer's instructions. The c-Jun nterminal kinase (JNK)1 and inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase (IKK) β protein expression was measured by western blot. **Results** Oleate did not change ASP-stimulated IL-6 and MCP-1 secretion significantly in 3T3-L1 adipocytes, but high dose

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目(30800385);教育部新教师基金资助项目(200804871059)

作者单位:430030 武汉,华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科(杨姗姗、胡秀芬、温宇);430015 武汉市儿童医院(杨姗姗)

通讯作者:温宇,副主任医师,电子信箱:2721837622@qq.com