

白藜芦醇调节 STIM1 抗动脉粥样硬化的机制

伍志学, 张韧, 林锐珊, 徐进文, 闫福曼, 刘海梅*

(广州中医药大学基础医学院, 广州 510006)

[摘要] **目的:**实验利用 apoE^{-/-}小鼠高脂喂养建立动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)模型,观察基质相互作用因子 1(stromal interaction molecule 1, STIM1)在白藜芦醇抗 AS 中的具体机制。**方法:**雌性 apoE^{-/-}小鼠卵巢切除后高脂喂养建立 AS 模型,实验分为正常组、模型组、白藜芦醇低、中、高剂量(50, 100, 150 mg·kg⁻¹)组及补充雌激素组(0.3 mg·kg⁻¹)。分别检测各组小鼠血清中血脂 4 项,油红 O 染色观察胸主动脉形态改变,蛋白质免疫印迹(Western blot)分析各组小鼠血管组织中 STIM1, 钙释放激活钙通道蛋白 1(Orai1)及雌激素受体 α(ERα)蛋白表达,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)分析各组小鼠血管组织中 STIM1 及 Orai1 mRNA 表达情况。**结果:**与正常组比较,模型组血清中总胆固醇(CHOL),甘油三酯(TG)及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)升高,而高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量明显下降($P < 0.05$),给予白藜芦醇及雌激素后可明显降低高脂饮食所致的 CHOL, TG 及 LDL-C 明显升高,并可明显增加 HDL-C 含量($P < 0.05$)。油红 O 染色显示:正常组血管结构完整、清晰、内膜连续;模型组内膜增厚、可见明显脂质斑块;而加入不同剂量白藜芦醇或雌激素后,内膜增厚减轻且内膜下脂质斑块显著减少。Western blot 及 Real-time PCR 结果显示:与正常组比较,模型组 STIM1, Orai1 蛋白及 mRNA 表达明显升高($P < 0.05$),而加入不同剂量白藜芦醇或雌激素后 STIM1, Orai1 蛋白及 mRNA 表达较模型组均明显下降($P < 0.05$);同时 Western blot 结果还显示,与模型组比较,加入不同剂量白藜芦醇或雌激素后均可增加血管组织中 ERα 表达。**结论:**白藜芦醇可通过增加 ERα 表达,下调 STIM1 及 Orai1 表达,抑制钙池操纵性钙通道(SOCC)介导的钙内流,延缓 AS 发生。

[关键词] 白藜芦醇; 基质交互作用因子 1; 钙释放激活钙通道蛋白 1; 动脉粥样硬化; 雌激素受体 α

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)15-0148-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017150148

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170511.0930.038.html>

[网络出版时间] 2017-05-11 9:30

Resveratrol Regulates STIM1 to Inhibit Atherosclerosis

WU Zhi-xue, ZHANG Ren, LIN Rui-shan, XU Jin-wen, YAN Fu-man, LIU Hai-mei*

(School of Basic Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To study the protective mechanism of resveratrol on atherosclerosis through regulating stromal interaction molecule 1 (STIM1). **Method:** Atherosclerosis (AS) model was established by high-fat diet after ovariectomy in female apoE^{-/-} mice, and then the mice were divided into normal control group, model group, resveratrol low, middle and high dose groups (50, 100, 150 mg·kg⁻¹) and estradiol (E₂) group. The lipid levels in the serum were detected. The changes of morphology in thoracic aorta were measured by oil Red O staining; the protein expression levels of STIM1, calcium release-activated calcium channel modulator 1 (Orai1) and estrogen receptor α (ERα) in thoracic aorta were detected by Western blot; and the STIM1 and Orai1 mRNA expression levels were detected by Real-time PCR. **Result:** As compared with the normal group, the levels of total cholesterol (CHOL), triglyceride (TG) and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were significantly increased, while the level of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) was decreased significantly

[收稿日期] 20170316(005)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81202186)

[第一作者] 伍志学,在读硕士,从事植物性雌激素心血管保护机制研究, Tel:18825760202, E-mail:18635703@qq.com

[通讯作者] * 刘海梅,博士,副教授,从事中医中药心血管保护机制的研究, Tel:020-39358028, E-mail:lhmei99@gzucm.edu.cn

($P < 0.05$) in model group; the levels of CHOL, TG and LDL-C were significantly decreased and the content of HDL-C was increased after the administration of resveratrol and estrogen ($P < 0.05$). Oil red O staining showed that in normal control group, the vascular structure was integrated, clear, and the intima was continuous; in model group, the intima was obviously thick, with visible lipid plaques; while after treatment with resveratrol or estrogen, the thickness of intima and lipid plaques were reduced. Western blot and Real-time PCR results showed that as compared with the normal group, STIM1, Orail protein and mRNA expression levels were increased in model group model group ($P < 0.05$), and were decreased after treatment with resveratrol or estrogen ($P < 0.05$). In addition, ER α expression was increased after treatment with resveratrol or estrogen as compared with the model group.

Conclusion: Resveratrol could delay the AS by up-regulating ER α , down-regulating the expression of STIM1 and Orail and inhibiting Ca²⁺ influx via SOCE.

[**Key words**] resveratrol; stromal interaction molecule 1 (STIM1); calcium release-activated calcium channel modulator 1 (Orail); atherosclerosis; estrogen receptor α (ER α)

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是临床常见的疾病,也是多种缺血性心脑血管疾病及血栓性心脑血管疾病的主要病理基础,严重威胁人类健康。到目前为止,AS的发病机制尚未完全阐明,存在多种学说^[1-3]。钙离子作为重要的细胞内第二信使,参与细胞增殖、凋亡等过程,介导 AS 发生发展,而钙池操纵性钙内流(store-operated calcium enter, SOCE)是介导胞内钙升高的重要途径^[4]。因此以钙池操纵性钙通道(store-operated calcium channel, SOCC)为切入点,明确其在 AS 发生发展中的作用对全面揭示 AS 发病机制具有重要意义。白藜芦醇是一种尚未发现毒副作用的植物性雌激素,结构类似己烯雌酚。已有研究证实,白藜芦醇可通过调节血脂、抗血小板聚集、抗氧化等作用发挥心血管保护作用。本课题组前期的实验研究也显示白藜芦醇可通过抑制诱导型一氧化氮合成酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)表达,抑制一氧化氮(nitric oxide, NO)过度生成发挥抗 AS 效应^[5]。但有关白藜芦醇调节 SOCC 调控细胞内 Ca²⁺ 浓度,发挥抗 AS 效应的报道很少,因此本研究选用雌性 apoE^{-/-} 小鼠卵巢去势后高脂喂养建立 AS 模型,以 SOCC 为切入点,深入探讨白藜芦醇是否可以通过调节 SOCC 诱导的钙内流发挥抗 AS 效应,为全面揭示白藜芦醇的抗 AS 机制提供药理学机制。

1 材料

1.1 动物 4~5 周龄雌性 apoE^{-/-} 小鼠,体重 15~20 g,购自南京大学南京生物医药研究所,合格证号 SKXK(苏)2010-0001。本研究获得广州中医药大学实验动物伦理委员会批准(批准号 2016031),所有实验研究均符合中国伦理委员会有关动物研究指导原则。

1.2 药物及试剂 白藜芦醇(上海 aladdin 公司,批号 R107315);基质相互作用因子 1(STIM1),钙通道蛋白 1(Orail), β -肌动蛋白(β -actin)多克隆抗体(美国 Sigma 公司,批号分别为 082M4790V,520M7090P,122M4770W);雌激素受体 α (ER α)多克隆抗体(美国 Abcam 公司,批号 GR95734-1);羊抗鼠 IgG-HRP(美国 CST 公司,批号 7074S);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(美国 Thermo 公司,批号 NI178745);RIPA 蛋白裂解液(上海碧云天生物有限公司,批号 0013151209);STIM1 与 Orail 引物购于上海生工生物工程有限公司;其他试剂为国产分析纯。

1.3 仪器 AU5800 型生化分析仪[贝克曼库尔特实验系统(苏州)有限公司];CM1860 型冰冻切片机(德国 Leica 公司);CX21FS1 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司);PowerPac 型电泳仪,Trans-blot Turbo 型干转膜系统,iMark 型酶标仪(美国 Bio-Rad 公司);Tanon4200 型全自动化学发光图像分析系统(上海天能科技有限公司);HR/T16M 型台式高速冰冻离心机(湖南赫西仪器装备有限公司)。

2 方法

2.1 去势模型及动脉粥样硬化模型制备 实验前将小鼠随机分为 6 组,分别为正常组:等体积生理盐水灌胃;模型组:等体积生理盐水灌胃;白藜芦醇低剂量治疗组:给予 50 mg·kg⁻¹ 白藜芦醇灌胃;白藜芦醇中剂量治疗组:给予 100 mg·kg⁻¹ 白藜芦醇灌胃;白藜芦醇高剂量治疗组:给予 150 mg·kg⁻¹ 白藜芦醇灌胃;雌激素治疗组:给予 0.3 mg·kg⁻¹ 雌激素灌胃。小鼠适应性喂养 1 周后,除正常组,其余各组均手术去势,切除双侧卵巢^[6]。具体步骤为以 10% 水合氯醛 300 mg·kg⁻¹ 腹腔注射麻醉,无菌条件下行下腹部正中开口,暴露腹腔。沿子宫末端找到

卵巢并结扎切除卵巢组织(正常组只分离卵巢,不做切除),分层缝合,关闭腹腔,术后肌肉注射青霉素。去势手术后 3 d,所有小鼠均高脂饲料喂养。

2.2 血脂测定 高脂饮食 8 周后,摘眼球取血 1 mL,静置后离心分离血清,生化分析仪检测血脂 4 项:总胆固醇(CHOL),甘油三酯(TG),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)。

2.3 血管组织油红 O 染色 高脂饮食 8 周后脱臼处死小鼠,并取其胸主动脉制作冰冻切片,切片厚度约 10 μm。将配置好的油红 O 工作液滴加在组织上染色 10 min,滤纸吸干周围油红 O,将切片置于 60% 异丙醇,显微镜下观察背景变为无色后取出晾干,滴加苏木素染核,自来水冲洗,甘油明胶封片,显微镜拍照。以主动脉根部动脉粥样硬化斑块面积作图进行半定量分析。

2.4 蛋白质免疫印迹(Western blot)检测 Orail, STIM1 ERα 蛋白表达 鼠脱臼处死后取胸主动脉, RIPA 法提取组织蛋白,收集裂解液,离心后取上清液,BCA 法蛋白定量后进行 SDS-PAGE 并电印迹转移至 PVDF 膜上。滴加 1:1 000 兔抗 Orail 多克隆抗体,1:2 000 兔抗 STIM1 多克隆抗体或 1:1 000 兔抗 ERα 多克隆抗体 4 ℃ 孵育过夜,洗涤缓冲液(TBST)洗膜后滴加 HRP 标记的二抗室温孵育 1 h,加入化学发光(ECL)试剂后暗室曝光,蛋白条带用凝胶图像分析仪分析和定量。

2.5 实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)检测 Orail mRNA, STIM1 mRNA 表达 将血管组织研磨后,加

入 Trizol 1 mL 匀浆,三氯甲烷抽提,异丙醇沉淀,75% 乙醇洗涤,无 RNase 水溶解沉淀,测定 RNA 浓度。应用 One Step SYBR 反应试剂盒,按照试剂盒配置反应液,扩增条件为第一阶段反转录反应:42 ℃ 5 min,95 ℃ 10 min,1 个循环;第二阶段 PCR 反应:95 ℃ 5 s,60 ℃ 20 s,40 个循环;第三阶段溶解曲线分析:95 ℃ 0 s,65 ℃ 15 s,95 ℃ 0 s。各引物的序列为 STIM1:上游 5'-ATTGTGTCGCCCTTGTCCAT-3',下游 5'-GGGTCAAATCCCTCTGAGATCC-3',片段长度 103 bp;Orail:上游 5'-GATGAGCC TCAACGAGCACT-3',下游 5'-CCATCGCTACCATGG CGAA-3',片段长度 125 bp;β-actin:上游 5'-AGAGGGAAATCGTGCGTGAC-3',下游 5'-CAATAG TGATGACCTGGCCGT-3',片段长度 138 bp。检测结果进行标准曲线分析,得出 C_t 值,用目的基因的 C_t 值减去 β-actin 的 C_t 值即为 ΔC_t ,以 $2^{-\Delta C_t}$ 作为目的基因的相对含量进行分析。

2.6 统计学分析 采用 SPSS 13.0 进行统计学分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 AS 小鼠血脂水平的影响 与正常组比较,模型组高脂饮食 8 周后血清 TG,LDL-C 水平明显增高,而 HDL-C 水平降低($P < 0.05$);而补充白藜芦醇高剂量组及雌激素组小鼠血清 TC, TG 及 LDL-C 显著下降,同时 HDL-C 水平明显升高($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 白藜芦醇对 AS 小鼠血脂水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常	-	12.550 ± 1.075	0.710 ± 0.135	1.498 ± 0.417	7.435 ± 0.927
模型	-	15.845 ± 1.361 ¹⁾	0.713 ± 0.090	1.053 ± 0.130 ¹⁾	9.068 ± 0.430 ¹⁾
白藜芦醇	50	15.843 ± 1.774	0.635 ± 0.087	1.550 ± 0.151 ²⁾	8.690 ± 0.362
	100	15.123 ± 0.582	0.645 ± 0.028	1.623 ± 0.254 ²⁾	8.643 ± 0.287
	150	13.843 ± 1.08 ²⁾	0.537 ± 0.102 ²⁾	1.802 ± 0.134 ²⁾	5.460 ± 0.456 ²⁾
雌激素	0.3	13.223 ± 1.039 ²⁾	0.653 ± 0.196 ²⁾	1.738 ± 0.147 ²⁾	7.695 ± 0.312 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ (表 2~5 同)。

3.2 对 AS 小鼠胸主动脉形态的影响 高脂喂养 8 周后,取胸主动脉制备冰冻切片,油红 O 染色结果显示:正常组血管结构完整、清晰、内膜连续;模型组内膜增厚、可见明显脂质斑块;而补充不同浓度白藜

芦醇或雌激素后,内膜增厚减轻且内膜下脂质斑块显著减少,提示白藜芦醇可抑制动脉粥样硬化斑块形成。与模型组比较,白藜芦醇各剂量组 AS 小鼠斑块面积明显减少($P < 0.05$)。见图 1,表 2。

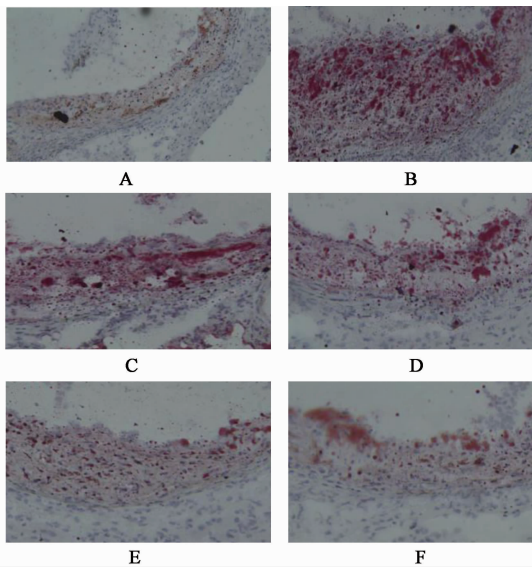


图 1 白藜芦醇对 AS 小鼠胸主动脉形态的影响(油红 O, ×200)

Fig. 1 Effect of resveratrol on oil red O-stained plaques in aortic root of AS mice(oil red O, ×200)

表 2 白藜芦醇对 AS 小鼠胸主动脉根部动脉粥样硬化斑块面积的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effect of resveratrol on quantitative analysis of atherosclerotic lesion area in aortic root of AS mice($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	动脉斑块面积/mm ²
正常	-	0.015 ± 0.001
模型	-	0.093 ± 0.005 ¹⁾
白藜芦醇	50	0.059 ± 0.003 ²⁾
	100	0.047 ± 0.002 ²⁾
	150	0.027 ± 0.002 ²⁾
雌激素	0.3	0.031 ± 0.003 ²⁾

3.3 对 AS 小鼠胸主动脉 STIM1 mRNA 及蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组 STIM1 mRNA 及蛋白表达均明显增强;不同剂量白藜芦醇灌胃后,与模型组比较,其血管组织 STIM1 mRNA 及蛋白表达明显下降($P < 0.05$),以白藜芦醇高剂量组最为明显;与模型组比较,补充雌激素组也可明显降低血管组织中 STIM1 mRNA 及蛋白表达($P < 0.05$)。见表 3,图 2。

3.4 对 AS 小鼠胸主动脉 Orail mRNA 及蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组 Orail mRNA 及蛋白表达增高($P < 0.05$)。而补充白藜芦醇特别是补充高剂量白藜芦醇或雌激素后,与模型组比较,可显著降低 Orail mRNA 及蛋白表达($P < 0.05$),提示白

表 3 白藜芦醇对 AS 小鼠胸主动脉 STIM1 mRNA 及蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Effect of resveratrol on STIM1 mRNA and protein expression in mice aortic arteries($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	STIM1 mRNA	STIM1/β-actin
正常	-	1.000 ± 0.000	321.36 ± 30.53
模型	-	1.140 ± 0.104 ¹⁾	726.79 ± 53.30 ¹⁾
白藜芦醇	50	0.805 ± 0.075 ²⁾	599.73 ± 45.52 ²⁾
	100	0.614 ± 0.038 ²⁾	493.76 ± 54.73 ²⁾
	150	0.413 ± 0.026 ²⁾	397.87 ± 22.46 ²⁾
雌激素	0.3	0.528 ± 0.052 ²⁾	439.25 ± 57.80 ²⁾

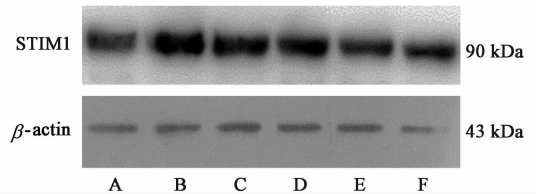


图 2 各组小鼠胸主动脉 STIM1 蛋白的表达

藜芦醇可通过降低 Orail 表达,抑制 SOCC 介导的钙内流发挥抗 AS 效应。见表 4,图 3。

表 4 白藜芦醇对 AS 小鼠胸主动脉 Orail mRNA 及蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Effect of resveratrol on Orail mRNA and protein expression in aortic arteries of AS mice($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	Orail mRNA	Orail/β-actin
正常	-	1.000 ± 0.000	423.57 ± 37.82
模型	-	1.290 ± 0.151 ¹⁾	686.18 ± 44.90 ¹⁾
白藜芦醇	50	1.032 ± 0.083 ²⁾	605.71 ± 40.24
	100	0.917 ± 0.092 ²⁾	580.52 ± 52.52 ²⁾
	150	0.736 ± 0.052 ²⁾	512.52 ± 55.91 ²⁾
雌激素	0.3	0.658 ± 0.074 ²⁾	499.81 ± 45.32 ²⁾

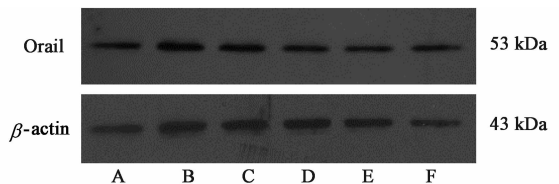


图 3 各组小鼠胸主动脉 Orail 蛋白的表达

3.5 对 AS 小鼠胸主动脉 ERα 蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组 ERα 蛋白表达明显下降($P < 0.05$);与模型组比较,不同剂量白藜芦醇或雌激素灌胃后,其血管组织 ERα 蛋白表达增强,且以高剂量白藜芦醇及雌激素灌胃组 ERα 蛋白表达增

强最为明显 ($P < 0.05$)。见表 5, 图 4。

表 5 白藜芦醇对 AS 小鼠胸主动脉 ER α 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 5 Effect of resveratrol on ER α protein expression in aortic arteries of AS mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	ER α / β -actin
正常	-	518.47 \pm 33.64
模型	-	404.41 \pm 44.59 ¹⁾
白藜芦醇	50	471.81 \pm 49.25
	100	710.30 \pm 64.29 ²⁾
	150	782.89 \pm 68.44 ²⁾
雌激素	0.3	839.92 \pm 55.48 ²⁾

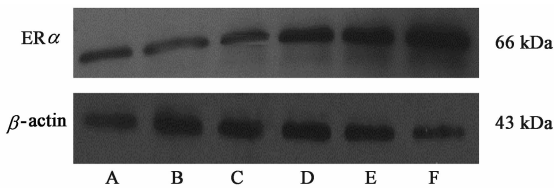


图 4 各组小鼠胸主动脉 ER α 蛋白表达的影响

Fig. 4 ER α protein expression of each group mice aortic arteries

4 讨论

作为冠心病的重要始动因素, AS 的成因涉及多种危险因素的综合作用, 包括内皮细胞的损伤, 血管平滑肌细胞 (VSMC) 的过度增殖、移行、向内膜迁移, 纤维组织增生等。AS 发生是一复杂的病理过程, 存在多种学说, 如脂质浸润学说、平滑肌增殖学说、氧化应激学说、血栓形成学说、炎症反应学说等^[7-8], 但遗憾的是没有一种学说能全面、详细解释 AS 发生、发展过程。因此, 深入探讨 AS 发病机制对临床防治 AS 起到重要作用。

钙离子作为机体重要的第二信使介导了 AS 的发展过程^[9]。SOCC 对细胞内钙的稳态起到重要作用, 直接参与调节血管平滑肌细胞的增殖、迁移、收缩等活动。Orai1 和 STIM1 是构成 SOCC 的主要构成因子。WANG 等^[4] 选用 ApoE^{-/-} 小鼠高脂喂养建立 AS 模型, 探讨 AS 发展过程中内皮祖细胞功能损伤与 SOCC 之间的关系, 高脂喂养 16 周后, AS 组动脉斑块形成明显, 但内皮祖细胞的增殖与迁移功能显著降低。与此同时, 内皮祖细胞中 SOCE 幅度及自发或 VEGF 诱发的钙振荡明显减少。也有研究显示, 尿紧张素 II 是促进血管平滑肌细胞增殖的血管活性肽, 其诱导的 VSMCs 内钙浓度增加与 SOCC 介导的钙内流有关, 在使用 SOCE 阻断剂或基因沉默 STIM1, Orai1 后, 可显著降低尿紧张素 II 诱导的

VSMCs 内钙浓度, 抑制其增殖^[10]。研究结果也显示, 与正常组比较, AS 组 STIM1, Orai1 浓度及蛋白表达明显升高。以上结果提示, STIM1 介导的 SOCE 在 AS 发生发展过程中发挥重要作用。

流行病学研究证实雌激素具有心血管保护作用, 但由于雌激素在保护心血管的同时, 也存在诱发乳腺癌, 子宫内膜癌等副作用, 限制了其临床应用。而白藜芦醇是一类目前尚未发现毒副作用的植物雌激素, 作用类似于雌激素, 但更有优势及其潜力, 主要存在于虎杖、藜芦、葡萄等植物中, 药理作用广泛。研究证实, 白藜芦醇可通过抗细胞凋亡、抗炎、抑制血栓形成等多种途径发挥抗 AS 效应。有研究表明, 白藜芦醇可通过激活血脂代谢有关蛋白, 如 SIRT1, 内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 及 MAPK, 调节血脂代谢^[11], 保护心血管正常结构及功能。在培养的内皮细胞, Toaldo 等^[12] 加入肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 诱导内皮细胞功能紊乱, 在加入 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 白藜芦醇后发现, NO 含量显著降低, TNF- α 诱导的血管内皮生长因子 (VEGF), 白细胞介素-8 (IL-8) 及细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 明显减少, 提示白藜芦醇可有效抑制 TNF- α 诱导内皮细胞功能紊乱。还有研究发现白藜芦醇可通过增加 NO 释放, 增强电压依赖性 K⁺ 通道及 ATP 敏感的 K⁺ 通道抑制外钙内流发挥内皮依赖性及非依赖性舒张血管的作用^[13], 降低心血管发病率。钙离子作为细胞内重要的第二信使, 参与 AS 的发生发展过程。LI 等^[14] 在培养的心室肌细胞中研究发现, 白藜芦醇可降低氧化应激诱导的心律失常及细胞内钙超载, 有效减少活性氧簇 (ROS) 含量, 此过程是通过抑制 L 型钙通道实现的。在培养的 PC3 及 DU145 细胞中, 研究发现白藜芦醇可呈时间依赖性降低 STIM1 表达, 减少 STIM1 与 TRPC1 及 Orai1 结合, 从而减少 SOCC 介导的钙内流; 研究还发现, 实验中应用 SKF-96365 抑制 SOCE, 可明显抑制心室肌细胞的过度增殖^[15]。在实验中选择 ApoE^{-/-} 小鼠, 高脂饮食建立 AS 模型, 观察 STIM1 介导的 SOCC 在 AS 发生发展中的作用, 结果显示, AS 组 STIM1 及 Orai1 表达明显升高, 而补充白藜芦醇后可明显降低血管组织中 STIM1 及 Orai1 表达, 提示白藜芦醇可通过下调 STIM1 介导的 SOCC, 减少外钙内流, 抑制 AS 发生。白藜芦醇是一种天然多酚类化合物, 在结构上与己烯雌酚类似。研究显示, 白藜芦醇可通过上调海马组织 ER α 及 ER β mRNA 表达, 增强海马组织中脑源性神经营养因子表达, 提高认知记忆功能^[16]。在培养的

乳腺癌 MCF-7 细胞中,研究也提示白藜芦醇可通过选择性调节 ER α 表达,抑制炎症反应的发生^[17]。在实验中同样观察了血管组织中 ER α 的表达,结果提示白藜芦醇可通过上调 ER α 抑制 AS 发生。

综上所述,白藜芦醇可通过抑制 STIM1 介导的 SOCE,降低胞浆内钙浓度,发挥抗 AS 效应,此过程可通过 ER α 介导。此研究对明确白藜芦醇的抗 AS 机制提供新的理论依据。

[参考文献]

[1] WANG Y, HAN Z, FAN Y, et al. MicroRNA-9 inhibits NLRP3 inflammasome activation in human atherosclerosis inflammation cell models through the JAK1/STAT signaling pathway [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 41(4): 1555-1571.

[2] Nus M, Mallat Z. Immune-mediated mechanisms of atherosclerosis and implications for the clinic [J]. Expert Rev Clin Immunol, 2016, 12(11): 1217-1237.

[3] Kitada M, Ogura Y, Koya D. The protective role of Sirt1 in vascular tissue: its relationship to vascular aging and atherosclerosis [J]. Aging (Albany NY), 2016, 8(10): 2290-2307.

[4] WANG L Y, ZHANG J H, YU J, et al. Reduction of store-operated Ca²⁺ entry correlates with endothelial progenitor cell dysfunction in atherosclerotic mice [J]. Stem Cells Dev, 2015, 24(13): 1582-1590.

[5] 秦丽, 关莉, 刘海梅, 等. 白藜芦醇通过调节 iNOS 抑制 C57BL/6J 小鼠动脉粥样硬化的机制探讨 [J]. 中国病理生理杂志, 2015, 31(9): 1601-1605.

[6] 梁秀兰. SD 大鼠绝经模型的建立 [J]. 医学综述, 2010, 16(9): 1414-1416.

[7] Domingues N, Estronca L M, Silva J, et al. Omega-3 fatty acid supplement prevents development of intracranial atherosclerosis [J]. Neuroscience, 2016, 334: 226-235.

[8] NIU C, WANG X, ZHAO M, et al. Macrophage foam cell-derived extracellular vesicles promote vascular smooth muscle cell migration and adhesion [J]. J Am Heart Assoc, 2016, 5(10): e004099.

[9] Ozcan L, Tabas I. Calcium signalling and ER stress in insulin resistance and atherosclerosis [J]. J Intern Med, 2016, 280(5): 457-464.

[10] Rodríguez-Moyano M, Díaz I, Dionisio N, et al. Urotensin-II promotes vascular smooth muscle cell proliferation through store-operated calcium entry and EGFR transactivation [J]. Cardiovasc Res, 2013, 100(2): 297-306.

[11] MENG C, LIU J L, DU A L. Cardioprotective effect of resveratrol on atherogenic diet-fed rats [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(11): 7899-7906.

[12] Toaldo I M, Van Camp J, Gonzales G B, et al. Resveratrol improves TNF- α -induced endothelial dysfunction in a coculture model of a Caco-2 with an endothelial cell line [J]. J Nutr Biochem, 2016, 36: 21-30.

[13] CHEN Y, XU C, WEI Y, et al. Endothelium-dependent and-independent relaxation induced by resveratrol in rat superior mesenteric arteries [J]. Exp Ther Med, 2016, 12(4): 2241-2246.

[14] LI W, WANG Y P, GAO L, et al. Resveratrol protects rabbit ventricular myocytes against oxidative stress-induced arrhythmogenic activity and Ca²⁺ overload [J]. Acta Pharmacol Sin, 2013, 34(9): 1164-1173.

[15] Selvaraj S, SUN Y, Sukumaran P, et al. Resveratrol activates autophagic cell death in prostate cancer cells via downregulation of STIM1 and the mTOR pathway [J]. Mol Carcinog, 2015, 55(5): 818-831.

[16] 苗玉莲, 武传龙, 刘金波, 等. 白藜芦醇对高脂饮食去卵巢肥胖大鼠海马组织脑源性神经营养因子水平的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2013, 69(4): 670-675.

[17] Nwachukwu J C, Srinivasan S, Bruno N E, et al. Resveratrol modulates the inflammatory response via an estrogen receptor-signal integration network [J]. Elife, 2014, 3(3): e02057.

[责任编辑 周冰冰]