

# 油酰乙醇胺对氧化性低密度脂蛋白诱发的动脉粥样硬化反应的作用

吴漫, 孙文畅, 任杰, 范盎然, 傅瑾\*

(厦门大学医学院, 福建 厦门 361005)

**摘要:** 探讨油酰乙醇胺(OEA)对氧化性低密度脂蛋白( $ox$ -LDL)诱导的人脐静脉内皮细胞(HUVEC)坏死的影响及对 $ox$ -LDL诱导的小鼠巨噬细胞(RAW264.7)内炎症因子表达变化的影响。实验用 $ox$ -LDL诱导HUVEC坏死和RAW264.7细胞内炎症反应;显微镜下观察细胞形态,并收集细胞进行Annexin V/PI-FITC染色,流式细胞分析细胞坏死率;采用实时定量PCR(real-time PCR)和酶联免疫吸附剂检测(ELISA)测定mRNA和蛋白水平表达的变化。结果显示:OEA能缓解 $ox$ -LDL诱导的HUVEC的坏死,并能呈浓度依赖性的上调HUVEC内过氧化物酶体增殖激活受体 $\alpha$ (PPAR- $\alpha$ )和SIRT-1的表达;OEA降低 $ox$ -LDL诱导的RAW264.7肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和CRP mRNA表达的升高,及降低 $ox$ -LDL诱导的促动脉粥样硬化因子M-CSF mRNA表达的升高,同时升高 $ox$ -LDL诱导SIRT-1表达的降低。实验结果表明,OEA通过激活PPAR- $\alpha$ 和抗炎通路对动脉粥样硬化有一定的作用。

**关键词:** 人脐静脉内皮细胞;小鼠巨噬细胞;氧化型低密度脂蛋白;SIRT-1

中图分类号: R 966

文献标志码: A

文章编号: 0438-0479(2011)01-0127-05

动脉粥样硬化是发生在动脉壁的慢性炎症,它是化学修饰后的脂质、单核细胞来源的巨噬细胞、T细胞以及血管壁多种正常细胞(内皮细胞,平滑肌细胞)相互作用的结果,它的发生发展是一个复杂的过程<sup>[1]</sup>。在动脉粥样硬化的发生发展过程中,内皮细胞的损伤及炎性的发生是两个重要的过程。本研究以动脉粥样硬化发生过程中两种主要的细胞:内皮细胞和巨噬细胞作为研究对象,在体外研究油酰乙醇胺(OEA)对动脉粥样硬化的治疗作用,为开发OEA作为治疗动脉粥样硬化的潜在药物提供研究基础。

血浆中的脂质水平与动脉粥样硬化的发生密切相关,低密度脂蛋白(LDL)是一种载脂蛋白,多年来,它一直被认为是动脉粥样硬化的促进因子。研究发现有家族高脂血症的患者如果缺乏LDL受体的话,血浆中的LDL水平会很高,从而易发心血管疾病<sup>[2-3]</sup>。但近年的研究发现,当细胞摄入过量的LDL时,由于LDL受体的反馈调节作用,细胞内脂质的堆积并不能增加;但修饰型的LDL(如 $ox$ -LDL, acety+LDL)不能被LDL受体介导,而被acety+LDL受体或清道夫受体介导。与LDL受体不同的是,这两种受体不受细胞内脂质水平的影响,因此当细胞摄入过量脂质时,该受体并不能

起到调节作用,从而造成脂质的堆积<sup>[4]</sup>。近几年来,许多研究显示,修饰型的LDL才是导致动脉粥样硬化发生的危险因素。动物模型发现动脉粥样硬化斑块中存在 $ox$ -LDL<sup>[5]</sup>, $ox$ -LDL致动脉粥样硬化的机制有很多,目前的研究结果可概括为:1)诱导单核细胞的趋化<sup>[6]</sup>;2)增加单核/巨噬细胞内的脂质堆积<sup>[7]</sup>;3)对细胞的毒性作用<sup>[8]</sup>。

过氧化物酶体增殖物激活受体 $\alpha$ (PPAR- $\alpha$ )是一类配体激活的转录因子,是脂类和糖类代谢中的主要转录调节因子。PPAR- $\alpha$ 在脂质代谢、糖类代谢中起着重要调节作用,同时也表现出抗炎症和抗增殖的作用<sup>[9]</sup>。PPAR- $\alpha$ 与动脉粥样硬化的关系很密切,PPAR- $\alpha$ 的激活能够降低三酰甘油和LDL的水平,还能调节炎症反应<sup>[10]</sup>。人工合成的PPAR- $\alpha$ 配体,如非诺贝特、苯扎贝特等已被作为心血管疾病的药物。其原因目前认为可能与贝特类药物激活PPAR- $\alpha$ 有关<sup>[11]</sup>。OEA是动物磷脂的一个成分,它在受到许多生理性刺激时被合成,属于脂肪酸乙醇胺家族。长期以来,OEA在体内的生物学作用一直未能阐明。近年的研究发现OEA是PPAR- $\alpha$ 的高亲和力内源性配体<sup>[12-13]</sup>。OEA作为PPAR- $\alpha$ 的内源性配体,可以通过激活PPAR- $\alpha$ 抑制肥胖大鼠的食欲并减轻其体质量,在脂质代谢中起到重要作用<sup>[13]</sup>。但是作为PPAR- $\alpha$ 内源性配体,OEA是否也有抗动脉粥样硬化的作用,目前的研究还有待阐

收稿日期: 2010-05-16

\* 通信作者: fuj888@yahoo.com

述。

近几年许多研究显示, SIRT-1 在动脉粥样硬化发生发展的过程中起了很重要的作用, 特别在动脉粥样硬化发生的起始阶段, 可作为动脉粥样硬化发生的特征之一。动物实验显示, 在载脂蛋白 E 敲除小鼠中, 过表达 SIRT-1 能够减少动脉粥样硬化的发生<sup>[14]</sup>。本实验将检测 OEA 对动脉粥样硬化因子的作用, 同时展示 ox-LDL 在动脉粥样硬化发生过程中的作用及 OEA 改善 ox-LDL 诱发动脉粥样硬化反应的分子作用机制。

## 1 材料和仪器

OEA、非诺贝特, 美国 Sigma 公司; ox-LDL 及 LDL, 北京协生生物科技有限责任公司; M200 培养基及 LSGS Kit, Cascade 公司; DMEM 培养基及胎牛血清, Gibco 公司; Trizol, 美国 Invitrogen 公司; 反转录试剂盒, 东洋纺公司; SYBR Green PCR 混合液, 日本 Takara 公司; 小鼠肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) ELISA 试剂盒, 欣博盛公司; Annexin V/PI 凋亡试剂盒, Biovision 公司。

核酸蛋白测定仪, 美国 BECKMAN COULTER 公司; 荧光定量 PCR 仪, 美国 Applied Biosystems 公司; 多功能酶标仪, 美国 Molecular Devices 公司。

## 2 方法

### 2.1 细胞的分离及培养

取正常剖腹产胎儿脐带, 无菌条件下用胰蛋白酶消化脐带静脉, 得到人脐静脉内皮细胞(HUVEC), 常规贴壁细胞培养方法传代培养。细胞培养液为 M200 含体积分数为 10% 的 FBS 和 LSGS Kit。

小鼠巨噬细胞(RAW 264.7) 培养液组成成分: DMEM 含体积分数为 10% 的胎牛血清, 青霉素、链霉素均为 10 U/mL。

### 2.2 OEA 对 ox-LDL 诱导的 HUVEC 坏死的影响

培养液中加入 ox-LDL, 使终质量浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 孵育 24 h 后移除培养液, 加入新的培养液, 并加入 OEA, 使 OEA 终浓度为 50  $\mu\text{mol}/\text{L}$ , 孵育 8 h 后, 倒置显微镜观察细胞形态, 并收集细胞, 按 Annexin V/PI 凋亡试剂盒说明处理后进行流式分析。

### 2.3 不同浓度 OEA 对 HUVEC 的 SIRT-1, PPAR- $\alpha$ mRNA 表达的影响

培养液中加入 OEA 或非诺贝特, 使 OEA 终浓度为 25, 50, 100  $\mu\text{mol}/\text{L}$ , 非诺贝特终浓度为 50  $\mu\text{mol}/\text{L}$ , 孵育 12 h 后, 用 Trizol 提取细胞总 RNA, 测定浓度后, 按照反转录试剂盒说明书取总 RNA 1  $\mu\text{g}$  进行反转录, 取反转录产物 0.5  $\mu\text{g}$  按照实时荧光定量 PCR 试剂盒说明书要求建立反应体系, 充分混合后置于荧光定量 PCR 仪上进行扩增。结果以  $\beta$ -actin 为内参, 采用公式  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  计算 OEA 不同浓度组相对于空白对照组的表达倍数。扩增引物为: SIRT-1, 正义引物 5'-TACCTCCACCTGAGTTGGATGA-3', 反义引物 5'-GTCTACAGCAAGGCCGAGCATAA-3'; PPAR- $\alpha$ , 正义引物 5'-TCCTCGGTGACTTATCCTGTGG-3', 反义引物 5'-CCGACAGAAAGGCACTTGTGA-3';  $\beta$ -actin, 正义引物 5'-TTGCCGACAGGATGCAGAA-3', 反义引物 5'-GCTGATCCACATCTGCTGGAA-3'。

### 2.4 不同浓度 OEA 对 RAW 264.7 的 SIRT-1, TNF- $\alpha$ , CRP, M-CSF mRNA 表达的影响

培养液中加入 ox-LDL, 使终质量浓度为 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 孵育 12 h 后移除培养液, 加入新的培养液, 并加入 OEA, 使 OEA 终浓度为 25, 50, 100  $\mu\text{mol}/\text{L}$ , 孵育 8 h 后收集细胞, 用 Trizol 提取细胞总 RNA, 测定浓度后, 按照反转录试剂盒说明书取总 RNA 1  $\mu\text{g}$  进行反转录, 取反转录产物 0.5  $\mu\text{g}$  按照实时荧光定量 PCR 试剂盒说明书要求建立反应体系, 充分混合后置于荧光定量 PCR 仪上进行扩增。结果以 GAPDH 为内参, 采用公式  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  计算出诱导组, OEA 治疗组相对于空白对照组的表达倍数。扩增引物为: SIRT-1, 正义引物 5'-TGGATGATATGACGCTGTGGCAGA-3', 反义引物 5'-ATTTGTGACACAGACGGCTGGA-3'; TNF- $\alpha$ , 正义引物 5'-AATGGCCTCCCTCTCATCAG-TTCT-3', 反义引物 5'-TGAGATAGCAAATCGGCTGACGGT-3'; CRP, 正义引物 5'-GGGTGTGCTGAA GTACGAT-3', 反义引物 5'-AAACAT-TGGGGCTGAGTGTG-3'; M-CSF, 正义引物 5'-AAAGAA GCCCTGAACCTCCTGGAT-3', 反义引物 5'-AGCAGCAGTCTGAGAAGCTGGATT-3'; GAPDH, 正义引物 5'-TGTGTCCGT CGT GGA-TCTGA-3', 反义引物 5'-TTGCTGTTGAAGTCGCA-GGAG-3'。

### 2.5 不同浓度 OEA 对 RAW 264.7 TNF- $\alpha$ 蛋白表达的影响

培养液中加入 ox-LDL, 使终质量浓度为 50  $\mu\text{g}/$

mL, 孵育 12 h 后移除培养液, 加入新的培养液, 并加入 OEA, 使 OEA 终浓度为 25, 50, 100 μmol/L, 孵育 12 h 后, 收集细胞上清, 按 ELISA 试剂盒说明书测量 TNF-α 蛋白表达的变化.

### 3 结果

#### 3.1 OEA 可减少 ox-LDL 诱导的 HUVEC 的坏死

形态观察显示 OEA 能够显著抑制 ox-LDL 诱导的 HUVEC 的坏死, 结果见图 1.

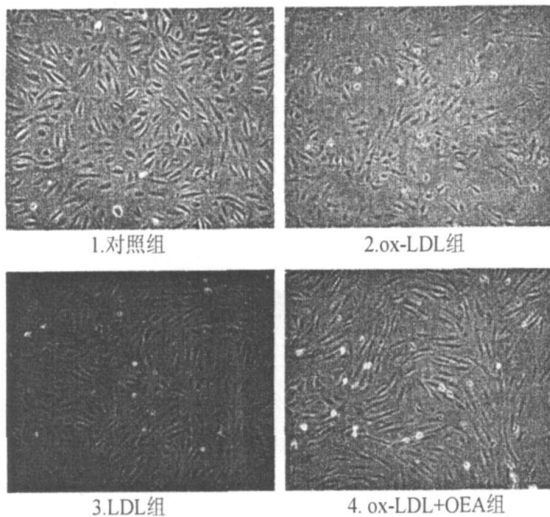
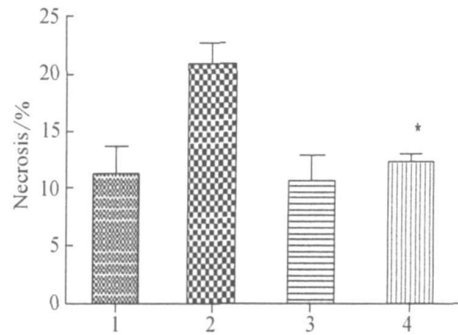


图 1 OEA 对 ox-LDL 诱导的 HUVEC 坏死的影响  
Fig. 1 Effect of OEA on ox-LDL induced necrosis of HUVEC

流式分析的结果显示: OEA 能够显著抑制 ox-LDL 诱导的 HUVEC 的坏死, 结果见图 2. 空白对照组的细胞坏死率为 (11.52 ± 3.15)%, 加入 LDL 诱导的细胞坏死率为 (10.84 ± 2.96)%, 与加入 ox-LDL 诱导的细胞坏死率为 (20.98 ± 2.50)%, 显著高于正常细胞组; 而在 ox-LDL 诱导并且 OEA 治疗的情况下, 细胞坏死率为 (12.48 ± 0.91)%, 相对于 ox-LDL 组的抑制率为 89.9%. 可见 OEA 能够显著抑制 ox-LDL 诱导的 HUVEC 的坏死.

#### 3.2 OEA 对 HUVEC SIRT-1 及 PPAR-α mRNA 表达的影响

Real-time PCR 结果显示: OEA 能够提高 HUVEC 内 SIRT-1 及 PPAR-α mRNA 表达, 结果见表 1, 图 3. 非诺贝特 50 μmol/L 时能够将 SIRT-1 及 PPAR-α 的表达分别提高到 1.19 倍和 1.49 倍, 相同浓度的 OEA 的作用是非诺贝特的 1.15 倍和 1.23 倍.



1. 对照组(正常细胞组); 2. ox-LDL 组; 3. LDL 组; 4. ox-LDL+ OEA 组. 与 ox-LDL 组比, \* .p < 0.05.

图 2 流式检测 OEA 对 ox-LDL 诱导的 HUVEC 坏死的影响 (n= 3, x ± s)

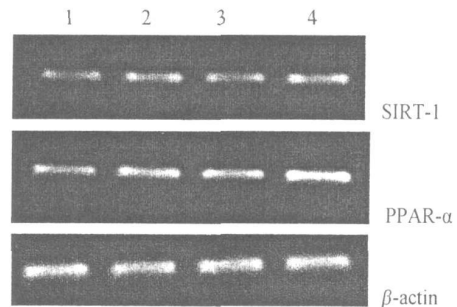
Fig. 2 Effect of OEA on ox-LDL induced necrosis of HUVEC by flow cytometry

表 1 OEA 对 HUVEC 细胞 SIRT-1 及 PPAR-α mRNA 表达的影响 (n= 3, x ± s)

Tab. 1 Effect of OEA on mRNA expression of SIRT-1 and PPAR-α in HUVEC

组别	相对于对照组的倍数	
	SIRT-1 mRNA 的表达	PPAR-α mRNA 的表达
1	1 ± 0	1 ± 0
2	1.19 ± 0.03*	1.49 ± 0.05*
3	1.26 ± 0.04*	1.54 ± 0.01*
4	1.38 ± 0.15**	1.84 ± 0.25**

1. 对照组; 2. 非诺贝特 50 μmol/L; 3. OEA 25 μmol/L; 4. OEA 50 μmol/L. 与对照组比较, \* .p < 0.05; \*\* .p < 0.01.



1. 对照组(正常细胞组); 2. 非诺贝特 50 μmol/L; 3. OEA 25 μmol/L; 4. OEA 50 μmol/L.

图 3 OEA 对 HUVEC 的 SIRT-1 和 PPAR-α mRNA 表达的影响

Fig. 3 Effect of OEA on mRNA expression of SIRT-1 and PPAR-α in HUVEC

#### 3.3 OEA 对 RAW264.7 SIRT-1, TNF-α, M-CSF, CRP mRNA 表达的影响

表 2 OEA 对 RAW264.7 内 SIRT-1、TNF- $\alpha$ 、M-CSF 和 CRP mRNA 表达的影响  
Tab.2 Effect of OEA on mRNA expression of SIRT-1, TNF- $\alpha$ , M-CSF and CRP in RAW264.7

组别	mRNA 表达量			
	SIRT-1	TNF- $\alpha$	M-CSF	CRP
1	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
2	0.354 $\pm$ 0.118	1.844 $\pm$ 0.019	2.832 $\pm$ 0.282	2.446 $\pm$ 0.893
3	0.764 $\pm$ 0.020*	1.544 $\pm$ 0.067**	0.985 $\pm$ 0.043**	0.830 $\pm$ 0.006*
4	0.916 $\pm$ 0.051**	1.334 $\pm$ 0.111**	0.700 $\pm$ 0.181**	0.368 $\pm$ 0.024**
5	1.750 $\pm$ 0.223**	1.247 $\pm$ 0.061**	0.470 $\pm$ 0.032**	0.158 $\pm$ 0.075**
6	1.179 $\pm$ 0.338	0.986 $\pm$ 0.014	0.859 $\pm$ 0.248	0.926 $\pm$ 0.046

1. 对照组(正常细胞组); 2. 诱导组即 ox-LDL 组; 3~ 5. ox-LDL+ OEA(25, 50, 100  $\mu$ mol/L) 组; 6. LDL 组. 与诱导组(ox-LDL) 比较, \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ .

OEA 能够显著抑制 ox-LDL 诱导的 SIRT-1 的降低及 TNF- $\alpha$ 、M-CSF、CRP 的升高(表 2). ox-LDL 组与 LDL 组相比, 能够显著降低 SIRT-1 mRNA 的表达, 升高 TNF- $\alpha$ 、M-CSF、CRP mRNA 的表达. OEA 能够逆转这些变化, 使细胞内的表达回到正常水平.

药物组(OEA 组)与诱导组(ox-LDL 组)相比, SIRT-1 的表达明显升高. OEA(25, 50, 100  $\mu$ mol/L) 组的 SIRT-1 的表达分别是 ox-LDL 组的 1.8, 2.4 和 4.0 倍; OEA(25, 50, 100  $\mu$ mol/L) 组的 TNF- $\alpha$  的表达分别是 ox-LDL 组的 83.7%, 72.3%, 67.6%; OEA(25, 50, 100  $\mu$ mol/L) 组的 M-CSF 的表达分别是 ox-LDL 组的 40.6%, 28.8%, 19.4%; OEA(25, 50, 100  $\mu$ mol/L) 组的 CRP 的表达分别是 ox-LDL 组的 33.9%, 15.0%, 6.45%.

### 3.4 OEA 对 RAW264.7 TNF- $\alpha$ 蛋白表达的影响

ELISA 结果显示 OEA 能够下调由 ox-LDL 诱导的 TNF- $\alpha$  蛋白的表达(表 3). ox-LDL 能够明显诱导 RAW264.7 内 TNF- $\alpha$  蛋白的表达, 诱导组的表达是对照组表达的 2.7 倍. OEA 治疗组(25, 50, 100  $\mu$ mol/L) 都能抑制 ox-LDL 诱导的 TNF- $\alpha$  蛋白的表达, 抑制率分别为 32.5%, 48.7%, 51.7%.

## 4 讨论

本研究表明, OEA 对 ox-LDL 诱导的内皮细胞的损伤有明显保护作用并且在巨噬细胞系内能明显减轻由 ox-LDL 诱导的炎症反应. 说明 OEA 在动脉粥样硬化发展的不同时期都能发挥作用.

本研究检测了在正常内皮细胞中 OEA 的作用.

表 3 OEA 对 RAW264.7 TNF- $\alpha$  蛋白表达的影响  
Tab.3 Effect of OEA on protein expression of TNF- $\alpha$  in RAW 264.7

组别	TNF- $\alpha$ 蛋白表达量/ng
1	338.5 $\pm$ 64.53
2	928.2 $\pm$ 22.07
3	736.7 $\pm$ 29.76**
4	641.2 $\pm$ 13.49**
5	623.1 $\pm$ 21.21**
6	361.6 $\pm$ 66.72*

1. 对照组; 2. 诱导组即 ox-LDL 组; 3~ 5. ox-LDL+ OEA(25, 50, 100  $\mu$ mol/L) 组; 6. LDL 组. 与诱导组(ox-LDL) 相比, \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ .

发现 OEA 能够上调 PPAR- $\alpha$  和 SIRT-1 的表达水平, 进一步验证了 OEA 在内皮细胞中能发挥其作为 PPAR- $\alpha$  激动剂的作用, 但 SIRT-1 表达的升高是否由于 PPAR- $\alpha$  的上调引起的, 在内皮细胞中, 这两个因子的相互关系还需要更进一步的验证. 在进一步的研究中, 可以使用 RNAi 技术对 PPAR- $\alpha$  和 SIRT-1 分别干扰, 然后检测另一个的表达水平, 以确认二者的上下游关系.

在巨噬细胞中, ox-LDL 能够诱导保护因子 SIRT-1 水平的下降, 同时升高炎症因子的表达, 而 LDL 与空白对照组比较没有变化, 验证了之前研究表明的 LDL 必须经过氧化之后才会有诱导动脉粥样硬化的作用. ox-LDL 在早期能够造成内皮的损伤, 在后期能够诱导巨噬细胞内的炎症. 而 OEA 能够逆转这些变化, 使各种因子的水平恢复到正常水平.

总之, OEA 在内皮细胞内能够通过上调 PPAR $\alpha$  和 SIRT-1, 同时在巨噬细胞内能够减少炎症因子的表达, 能对动脉粥样硬化起到治疗作用. 可作为动脉粥样硬化药物进行进一步的研究.

### 参考文献:

- [ 1 ] Glass C K, Witztum J L. Atherosclerosis: the road ahead [J]. *Cell*, 2001, 104( 4 ): 503-516.
- [ 2 ] Goldstein J L, Brown M S. The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis [J]. *Annu Rev Biochem*, 1977, 46: 897-930.
- [ 3 ] Steinberg D. Lipoproteins and atherosclerosis: a look back and a look ahead [J]. *Arteriosclerosis*, 1983, 3( 4 ): 283-301.
- [ 4 ] Goldstein J L, Ho Y K, Basu S K, et al. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76( 1 ): 333-337.
- [ 5 ] Boyd H C, Gow n A M, Wolfbauer G, et al. Direct evidence for a protein recognized by a monoclonal antibody against oxidatively modified LDL in atherosclerotic lesions from a Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit [ J ]. *Am J Pathol*, 1989, 135(5): 815-825.
- [ 6 ] Quinn M T, Parthasarathy S, Fong L G, et al. Oxidatively modified low density lipoproteins: a potential role in recruitment and retention of monocyte/macrophages during atherogenesis [ J ]. *Proc Nail Acad Sci USA*, 1987, 84: 2995-2998.
- [ 7 ] Steinberg D, Parthasarathy S, Carew T E, et al. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity [ J ]. *New England Journal of Medicine*, 1989, 320( 14 ): 915-924.
- [ 8 ] Hessler J R, Robertson A L Jr, Chisolm G M. LDL-induced cytotoxicity and its inhibition by HDL in human vascular smooth muscle and endothelial cells in culture [J]. *Atherosclerosis*, 1979, 32( 3 ): 213-229.
- [ 9 ] Lefebvre P, Chinetti G, Fruchart J C, et al. Sorting out the roles of PPAR $\alpha$  in energy metabolism and vascular homeostasis [ J ]. *J Clin Invest*, 2006, 116( 3 ): 571-580.
- [ 10 ] Patsouris D, Muller M, Kersten S, et al. Peroxisome proliferator activated receptor ligands for the treatment of insulin resistance [ J ]. *Curr Opin Investig Drugs*, 2004, 5( 10 ): 1045-1050.
- [ 11 ] Staels B, Dallongeville J, Auwerx J, et al. Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism [ J ]. *Circulation*, 1998, 98( 19 ): 2088-2093.
- [ 12 ] Guzman M, Lo Verme J, Fu J, et al. Oleylethanolamide stimulates lipolysis by activating the nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor $\alpha$  ( PPAR $\alpha$  ) [ J ]. *J Biol Chem*, 2004, 279( 27 ): 27849-27854.
- [ 13 ] Fu J, Gaetani S, Oveisi F, et al. Oleylethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR $\alpha$  [ J ]. *Nature*, 2003, 425( 6953 ): 90-93.
- [ 14 ] Zhang Qing jun, Wang Zhao, Chen Hou zao, et al. Endothelium-specific over expression of class III deacetylase SIRT1 decreases atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice [ J ]. *Cardiovascular Research*, 2008, 80( 2 ): 191-199.

## Effect of Oleylethanolamide on Atherosclerosis Response Induced by $\alpha$ -LDL

WU Man, SUN Wen-chang, REN Jie, FAN Ang-ran, FU Jin\*

(Medical College of Xiamen University, Xiamen 361005, China)

**Abstract:** The effect of OEA on  $\alpha$ -LDL induced atherosclerosis response was investigated. HUVEC and RAW 264.7 cells treated with  $\alpha$ -LDL were used to induce necrosis and inflammation, respectively. Cell necrosis was detected by Annexin V/PI-FTIC staining and flow cytometer. The expression level of mRNA and protein were detected by quantitative real-time PCR and ELISA. Data showed that, in HUVEC cells, OEA inhibits necrosis induced by  $\alpha$ -LDL through activation of PPAR $\alpha$  and SIRT-1 expression. In RAW 264.7 cells, OEA decreased the expression levels of inflammatory cytokines, including TNF $\alpha$  and CRP, and pro-atherosclerosis factor, M-CSF. Furthermore, OEA treatment reversed the expression of SIRT-1, which was suppressed by  $\alpha$ -LDL. The data suggests that OEA played a certain role on atherosclerosis through activation of PPAR $\alpha$  and anti-inflammatory pathway.

**Key words:** HUVEC; RAW264.7;  $\alpha$ -LDL; SIRT-1