DOI:10.16016/j.2097-0927.202208218

脂多糖通过上调 CYP1A1 环氧化酶活性抑制巨噬细胞精氨酸酶-1 的表达

田李星[1],朱俊宇[2],万凌辉[3],梁华平[2] 831200 新疆 呼图壁,陆军军医大学(第三军医大学)边防卫勤训练大队军事预防医学教研室[1],基础医学教研室[3];400042 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)陆军特色医学中心战伤感染与特需药品研究室[2]

[摘要] **目的** 探索细胞色素 P450 1A1(cytochrome P450 1A1, CYP1A1)对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导时巨噬细胞中精氨酸酶-1(Arginase-1,Arg-1)的调控作用及机制。**方法** 使用 LPS 刺激小鼠单核巨噬细胞细胞系 RAW264.7(RAW),分为 0 h 组、12 h 组、24 h 组(每组设 3 复孔, $n=3$),采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)及蛋白免疫印迹实验(Western blot)检测 CYP1A1、Arg-1 mRNA 及蛋白表达;构建阴性对照和高表达、敲除 CYP1A1 的 RAW(NC/RAW、CYP1A1/RAW、CYP1A1 KO/RAW)细胞系以及突变 CYP1A1 羟化酶活性的 RAW(CYP1A1m/RAW)细胞系,分为 NC/RAW+LPS 组、CYP1A1 KO/RAW+LPS 组、CYP1A1/RAW+LPS 组、CYP1A1m/RAW+LPS 组,使用 LPS 刺激后检测 Arg-1 mRNA、蛋白表达及信号转导和转录活化因子 6(signal transducer and activators of transcription-6, STAT6)活化水平;使用 STAT6 抑制剂 AS1517499 作用 CYP1A1 敲除 RAW 细胞,设立 NC/RAW+PBS+LPS 组、NC/RAW+AS1517499+LPS 组、CYP1A1 KO/RAW+PBS+LPS 组、CYP1A1 KO/RAW+AS1517499+LPS 组,检测 Arg-1 mRNA、蛋白表达;使用 CYP1A1 环氧化酶活性抑制剂甲二氢愈创木酸(Nordihydroguaiaretic Acid, NDGA)及 12(S)-羟基二十碳四烯酸[12(S)-HETE]作用 RAW 细胞,设立 RAW+PBS+LPS 组、RAW+12(S)-HETE+LPS 组、RAW+NDGA+LPS 组,检测 Arg-1 mRNA、蛋白表达及 STAT6 活化水平。**结果** LPS 可诱导 RAW 中的 CYP1A1 及 Arg-1 呈错峰高表达($P<0.05$);CYP1A1 高表达可抑制 LPS 诱导时 RAW 中 Arg-1 表达($P<0.05$)及 STAT6 活化,敲除则可增强上述效应($P<0.05$),而 STAT6 抑制剂 AS1517499 可消除 CYP1A1 敲除带来的增强效应($P<0.05$);突变 CYP1A1 的羟化酶活性或使用其代谢产物 12(S)-HETE 刺激均不影响 Arg-1 表达($P>0.05$),而使用 CYP1A1 环氧化酶抑制剂 NDGA 可增强 Arg-1 表达($P<0.05$)及 STAT6 活化。**结论** CYP1A1 可通过抑制 LPS 诱导时巨噬细胞中 STAT6 活化水平以降低 Arg-1 表达,但此效应与 CYP1A1 羟化酶活性及其致炎产物 12(S)-HETE 无关,而可能与 CYP1A1 环氧化酶活性有关。

[关键词] 细胞色素 P450 1A1;脂多糖;巨噬细胞;精氨酸酶-1
[中图法分类号] R345; R364.5; R392.3 [文献标志码] A

LPS inhibits arginase-1 expression in macrophages by up-regulating activity of cytochrome P450 1A1 epoxidase

TIAN Lixing[1], ZHU Junyu[2], WAN Linghui[3], LIANG Huaping[2] [1]Department of Military Preventive Medicine, [3]Department of Basic Medicine, Frontier Medical Service Training Brigade, Army Medical University (Third Military Medical University), Hutubi, Xinjiang Uygur Autonomous Region, 831200; [2]Department of Wound Infection and Drug, Army Medical Center of PLA, Chongqing, 400042, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the regulative effect and mechanism of cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) on regulating lipopolysaccharide (LPS)-induced arginase-1 (Arg-1) expression in macrophages.

[基金项目] 陆军军医大学科技创新能力提升专项项目(2021XQN11);重庆市自然科学基金面上项目(cstc2021jcyj-msxmX0234)
[通信作者] 梁华平,E-mail:13638356728@163.com

2097-0927/Copyright © 2023, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Methods After mouse macrophage-like cell line RAW264.7 (RAW) was treated with 10 mg/L LPS for 0, 12 and 24 h, respectively ($n=3$ for each time point), the expression of CYP1A1 and Arg-1 at mRNA and protein levels were measured by RT-PCR and Western blotting. Negative control RAW (NC/RAW) cells, CYP1A1-overexpression RAW (CYP1A1/RAW) cells, CYP1A1-knockout RAW (CYP1A1 KO/RAW) cells and CYP1A1 hydroxylase-activity mutant RAW (CYP1A1m/RAW) cells were constructed, respectively, and then the cells were treated with LPS and further detected with RT-PCR and Western blotting for the expression and activation levels of Arg-1 and signal transducer and activators of transcription-6 (STAT6). Then STAT 6 inhibitor AS1517499 was added to treat the CYP1A1 KO/RAW cells and NC/RAW cells, and the mRNA and protein expression of Arg-1 was measured again after LPS or PBS treatment. CYP1A1 epoxidase inhibitor, nordihydroguaiaretic acid (NDGA) and 12(S)-HETE were introduced to treat normal RAW cells, the mRNA and protein levels of Arg-1 and activity of STAT6 were detected after LPS or PBS treatment. **Results** LPS-induced CYP1A1 and Arg-1 were highly expressed in staggering peaks in RAW cells ($P<0.05$). Overexpression of CYP1A1 inhibited LPS-induced Arg-1 expression and STAT6 activation in RAW cells, while CYP1A1 knockout enhanced above effects ($P<0.05$). STAT6 inhibitor AS1517499 abolished the enhancement of CYP1A1 knockout ($P<0.05$). CYP1A1 hydroxylase-activity mutation or 12(S)-HETE simulation had no effect on the expression of Arg-1 ($P>0.05$), while CYP1A1 epoxidase-activity inhibitor NDGA enhanced Arg-1 expression and STAT6 activation ($P<0.05$). **Conclusion** CYP1A1 can inhibit Arg-1 expression by reducing STAT6 activation in LPS-induced macrophages, and CYP1A1 hydroxylase-activity or its proinflammatory metabolism 12(S)-HETE has no effect on this regulation, while CYP1A1 epoxidase-activity may be involved in this effect.

[**Key words**] cytochrome P450 1A1; lipopolysaccharide; macrophages; arginase-1

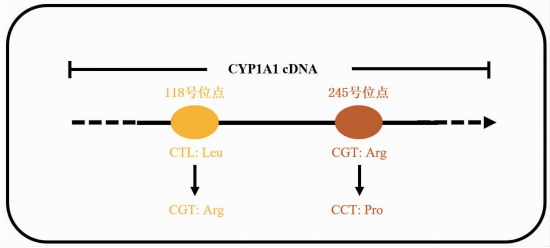
Supported by the Special Project of Science and Technology Innovation Capacity Promotion of Army Medical University (2021XQN11) and the General Program of Natural Science Foundation of Chongqing (cstc2021jcyj-msxmX0234). Corresponding author: LIANG Huaping, E-mail: 13638356728@163.com

细胞色素 P450 1A1(cytochrome P450 1A1,CYP1A1)属于细胞色素 P450 超家族,其同时具有羟化酶及环氧化酶活性[1],以往研究主要关注其在肿瘤代谢中的调控作用[2],近年来陆续有学者开始研究其对免疫调控,尤其是在炎症反应中的调控作用[3-6]。巨噬细胞是机体重要的免疫效应细胞,其可在宿主防御、炎症反应、过敏疾病、肿瘤调控以及组织修复等多种病理生理进程中发挥重要作用。当机体面对病原体入侵或其他致炎因素打击时,巨噬细胞可分别向促炎型(1 型)及抑炎型(2 型)极化,并通过分泌炎症因子、吞噬病原体等手段消除致病因素,同时生成精氨酸酶-1(Arginase-1,Arg-1)等 2 型极化因子。研究发现,Arg-1 作为巨噬细胞 2 型极化的重要标志物,主要受信号转导和转录活化因子 6(signal transducer and activators of transcription-6,STAT6)调控,其可抑制炎症反应并促进机体修复[7-10]。我们前期研究发现,CYP1A1 可通过其羟化酶活性生成 12(S)-羟基二十碳四烯酸[12(S)-HETE]促使脂多糖(lipopolysaccharide,LPS)诱导的巨噬细胞向 1 型极化并分泌过量炎症因子以加重炎症反应[11],提示 CYP1A1 可参与调控巨噬细胞极化,但 CYP1A1 对炎症时巨噬细胞的 2 型标志物 Arg-1 的调控却未见报道。本研究拟探讨 CYP1A1 对炎症时巨噬细胞中 Arg-1 的调控作用及机制,为治疗炎症性疾病寻找新的靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞来源

小鼠单核巨噬细胞细胞系 RAW264.7(RAW)由陆军军医大学陆军特色医学中心提供;阴性对照 RAW(NC/RAW)、CYP1A1 过表达 RAW(CYP1A1/RAW)、CYP1A1 敲除 RAW(CYP1A1 KO/RAW)以及 CYP1A1 过表达但突变其羟化酶活性位点的 RAW(CYP1A1m/RAW)(图 1,第 118 号位点由 CTL 突变为 CGT,第 245 号位点由 CGT 突变为 CCT)均委托广州赛业公司制作并插入嘌呤霉素抗性基因。以上经过基因编辑的细胞均培养在含 10%胎牛血清、1%青-链霉素、5 mg/L 嘌呤霉素的 RPMI1640 培养基中以待后续实验进一步使用。



CYP1A1 cDNA 代表细胞色素 P450 1A1 的全长 cDNA,Leu 代表异亮氨酸,Arg 代表精氨酸,Pro 代表脯氨酸

图 1 CYP1A1 羟化酶活性位点突变模式

1.2 主要试剂

LPS(99%纯度)购自美国 Sigma 公司;12(S)-HETE(99%纯度)购自美国 Cayman 公司;CYP1A1 多克隆抗体购自武汉三鹰公司;Arg-1、STAT6、STAT6 磷酸化、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)单克隆抗体均购自美国 CST 公司。STAT6 抑制剂(AS1517499)购自美国 Selleck 公司;去甲二氢愈创木酸(Nordihydroguaiaretic Acid, NDGA)购自上海陶素公司;基因检测所用的反转录(RT)及实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)试剂盒均购自日本 TaKaRa 公司。TRIZOL 裂解液购自美国 Sigma 公司;RIPA 蛋白裂解液、磷酸盐缓冲盐(PBS)购自中国碧云天公司。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组设计

1.3.1.1 LPS 对 RAW 中 CYP1A1 及 Arg-1 表达影响实验 细胞分为 3 组,包括 0 h 组、12 h 组、24 h 组(每组设 3 复孔, $n=3$),使用 10 mg/L LPS 分别刺激 RAW 细胞 0、12、24 h。

1.3.1.2 CYP1A1 对 LPS 刺激时 RAW 中 Arg-1 表达和 STAT6 活化影响实验 细胞分为 3 组,包括 NC/RAW+LPS 组、CYP1A1 KO/RAW+LPS 组、CYP1A1/RAW+LPS 组,分别给予 10 mg/L LPS 刺激 24 h。

1.3.1.3 STAT6 抑制剂对 CYP1A1 敲除时 Arg-1 表达影响实验 细胞分为 4 组,包括 NC/RAW+PBS+LPS 组、NC/RAW+AS1517499+LPS 组、CYP1A1 KO/RAW+PBS+LPS 组、CYP1A1 KO/RAW+AS1517499+LPS 组,分别给予等量 PBS 及 21 nmol/L AS1517499 预作用 2 h,再接续使用等量 PBS 及 10 mg/L LPS 刺激 24 h。

1.3.1.4 CYP1A1 羟化酶活性对 LPS 诱导的 Arg-1 表达影响实验 细胞分为 3 组,包括 NC/RAW+LPS 组、CYP1A1/RAW+LPS 组、CYP1A1m/RAW+LPS 组,分别给予 10 mg/L LPS 刺激 24 h。

1.3.1.5 CYP1A1 羟化酶活性产物对 LPS 诱导的 Arg-1 表达影响实验 细胞分为 2 组,包括 RAW+PBS+LPS 组、RAW+12(S)-HETE+LPS 组,分别给予等量 PBS 及 100 nM 12(S)-HETE 预作用 2 h,再接续使用等量 PBS 及 10 mg/L LPS 刺激 24 h。

1.3.1.6 CYP1A1 环氧化酶活性抑制剂 NDGA 对 LPS 诱导的 Arg-1 表达影响实验 细胞分为 2 组,包括 RAW+PBS+LPS 组、RAW+NDGA+LPS 组,分别给予等量 PBS 及 30 μmol/L NDGA 预作用 2 h,再接续使用等量 PBS 及 10 mg/L LPS 刺激 24 h。

1.3.2 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)

用 1 mL TRIZOLl 裂解液收集各组细胞,参照 TaKaRa 试剂盒说明书提取细胞总 RNA,定量至 500 mg/L 后取 1 μg 总 RNA,反转录为 cDNA 后上机扩增。本研究所用探针及引物均由上海生工生物工程有限公司设计合成。以 β-肌动蛋白(β-actin)为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 CYP1A1 及 Arg-1 的 mRNA 表达量。

1.3.3 蛋白免疫印迹实验(Western blot)

将收集所得细胞悬液以 500×g 参数离心 5 min 得细胞团块,使用 RIPA 蛋白裂解液提取总蛋白,用 BCA 试剂盒进行蛋白定量。将定量后的蛋白煮沸 5 min 后上样,电泳 40 min 后以 110 V 参数电转 90 min,放入 4%脱脂牛奶或 4%牛血清白蛋白(BSA)封闭 1 h, PBS 洗净后一抗孵育过夜(4 ℃),次日室温孵育二抗 1 h,使用化学发光成像系统曝光。

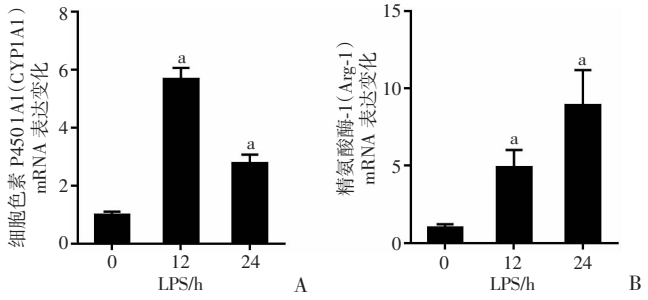
1.4 统计学分析

本研究采用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计学分析。计量资料符合正态分布,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-t 检验;$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LPS 可诱导 RAW 中 CYP1A1 及 Arg-1 错峰表达

由图 2A 结果可知,LPS 刺激 12 h 时 CYP1A1 mRNA 表达水平到达顶峰($P<0.05$),而 Arg-1 mRNA 则在 24 h 时表达明显升高($P<0.05$)(图 2B)。CYP1A1 及 Arg-1 的蛋白表达变化规律与 mRNA 变化相似,CYP1A1 蛋白于 12 h 时表达最高(图 3A),而 Arg-1 蛋白则于 24 h 时表达最高(图 3B)。以上结果提示,CYP1A1 与 Arg-1 呈错峰表达,即 CYP1A1 表达升高时 Arg-1 表达不明显,CYP1A1 表达降低时 Arg-1 表达升高,提示 CYP1A1 表达与 Arg-1 表达可能呈负相关变化。



a:$P<0.05$,与 0 h 组比较

图 2　LPS 刺激 12、24 h 后 RAW 中 CYP1A1(A)与 Arg-1(B) mRNA 表达水平($n=3,\bar{x}\pm s$)

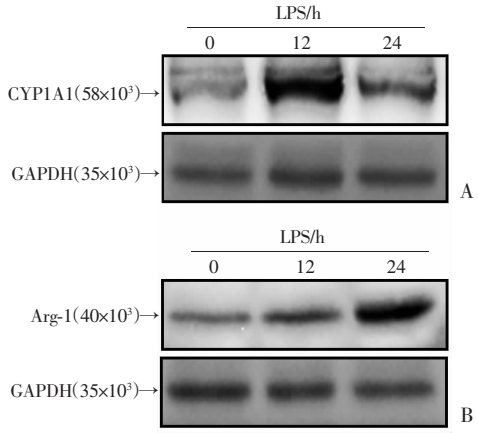


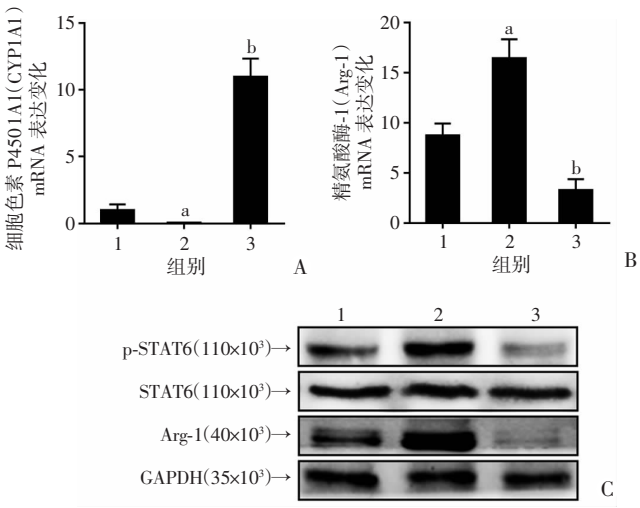
图 3　LPS 刺激 12、24 h 后 RAW 中 CYP1A1(A)与 Arg-1(B) 蛋白表达水平

2.2　CYP1A1 可负性调控 LPS 刺激时 RAW 中 Arg-1 表达和 STAT6 活化

通过对 CYP1A1 mRNA 进行检测,我们确认 CYP1A1 修饰后的 RAW 细胞系构建成功(图 4A)。与阴性对照组(NC/RAW+LPS)相比,CYP1A1 过表达(CYP1A1/RAW+LPS)可阻遏 RAW 中 Arg-1 mRNA($P<0.05$)(图 4B)及蛋白表达(图 4C),并抑制 STAT6 磷酸化水平,但对 STAT6 蛋白表达并无影响(图 4C)。与之相反的是,敲除 CYP1A1(CYP1A1 KO/RAW+LPS)可促使 LPS 刺激时 RAW 中 Arg-1 mRNA($P<0.05$)(图 4B)及蛋白表达(图 4C),并增强 STAT6 磷酸化水平(图 4C)。以上结果说明,炎症反应时 CYP1A1 可负性调控巨噬细胞中 Arg-1 表达及 STAT6 活化,即 CYP1A1 高表达可阻遏 Arg-1 表达和 STAT6 活化,而 CYP1A1 敲除可增强 Arg-1 表达和 STAT6 活化。

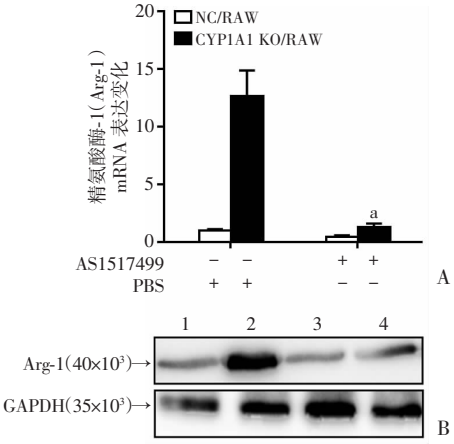
2.3　STAT6 抑制剂可减弱 CYP1A1 敲除导致的 Arg-1 表达增加

与 PBS 对照组(CYP1A1 KO/RAW+PBS+LPS)相比,使用 STAT6 抑制剂 AS1517499 (CYP1A1 KO/RAW+ AS1517499+LPS)可显著逆转 CYP1A1 敲除导致的 Arg-1 mRNA($P<0.05$)(图 5A)及蛋白表达上调(图 5B),说明炎症反应时 CYP1A1 很可能通过调控 STAT6 活化水平进而调节 Arg-1 表达。



1:NC/RAW;2:CYP1A1 KO/RAW;3:CYP1A1/RAW;a:$P<0.05$,CYP1A1 KO/RAW+LPS 组与 NC/RAW+LPS 组相比;b:$P<0.05$,CYP1A1/RAW+LPS 与 NC/RAW+LPS 组相比

图 4　LPS 刺激 24 h 后 NC/RAW、CYP1A1 KO/RAW 及 CYP1A1/RAW 中 CYP1A1(A)与 Arg-1(B) mRNA 表达水平($n=3,\bar{x}\pm s$)以及 Arg-1、STAT6 蛋白表达及 STAT6 磷酸化水平(C)



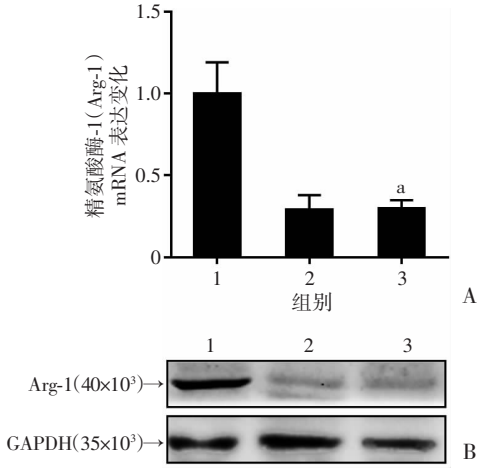
1:NC/RAW+PBS;2:CYP1A1 KO/RAW+PBS;3:NC/RAW+AS1517499;4:CYP1A1 KO/RAW+AS1517499;a:$P<0.05$,CYP1A1 KO/RAW+ AS1517499+LPS 组与 CYP1A1 KO/RAW+PBS+LPS 组相比

图 5　LPS 及 AS1517499 作用 24 h 后 NC/RAW 及 CYP1A1 KO/RAW 中 Arg-1 mRNA 表达水平(A)($n=3,\bar{x}\pm s$)以及 Arg-1 蛋白表达水平(B)

2.4　CYP1A1 羟化酶活性及其产物对 LPS 诱导的 Arg-1 表达无明显影响

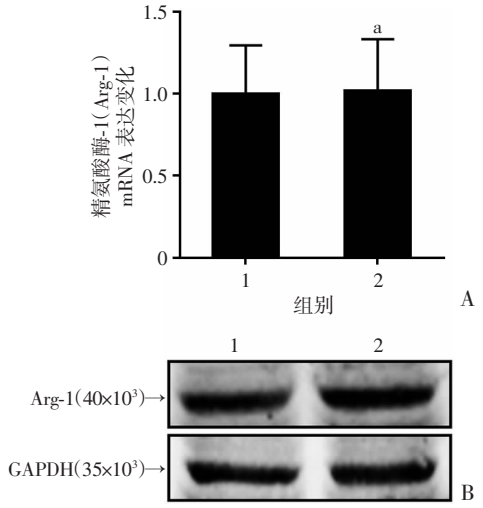
实验表明,与单纯高表达 CYP1A1 组(CYP1A1/

RAW + LPS) 相比,突变 CYP1A1 羟化酶活性(CYP1A1m/RAW+LPS)对 Arg-1 的 mRNA($P>0.05$)(图 6A)及蛋白表达并无明显影响(图 6B)。进一步检测发现,与 PBS 对照组(RAW+PBS+LPS)相比,CYP1A1 的羟化酶活性产物 12(S)-HETE(RAW+12(S)-HETE+LPS)对 Arg-1 的 mRNA($P>0.05$)(图 7A)及蛋白表达也无明显影响(图 7B)。以上结果说明,CYP1A1 很可能并非通过其羟化酶活性或其致炎产物 12(S)-HETE 调控 LPS 诱导的 Arg-1 表达。



1:NC/RAW;2:CYP1A1/RAW;3:CYP1A1m/RAW; a:$P>0.05$, CYP1A1m/RAW+LPS 组与 CYP1A1/RAW+LPS 组相比

图 6 LPS 刺激 24 h 后 NC/RAW、CYP1A1/RAW 及 CYP1A1m/RAW 中 Arg-1 mRNA 表达水平(A)($n=3$, $\bar{x}\pm s$)以及 Arg-1 蛋白表达水平(B)

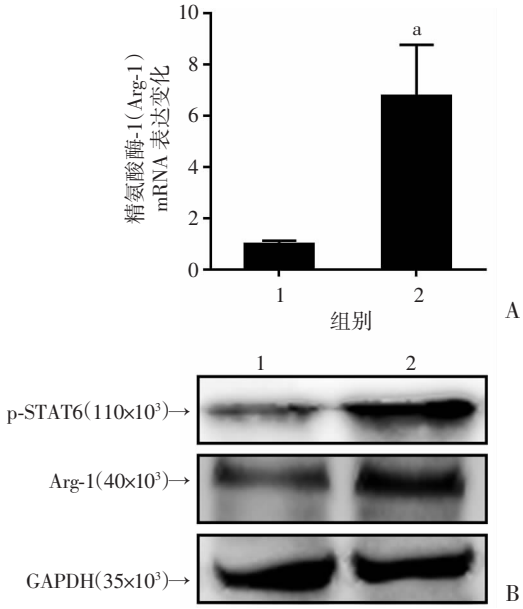


1:+PBS;2:+12(S)-HETE;a:$P>0.05$,RAW+12(S)-HETE+LPS 组与 RAW+PBS+LPS 组相比

图 7 12(S)-HETE 及 LPS 刺激 24 h 后 RAW 中 Arg-1 mRNA 表达水平(A)($n=3$,$\bar{x}\pm s$)以及 Arg-1 蛋白表达水平(B)

2.5 CYP1A1 环氧化酶活性抑制剂 NDGA 可促进 LPS 诱导的 Arg-1 表达

检测发现,与 PBS 对照组(RAW+PBS+LPS)相比,CYP1A1 环氧化酶活性抑制剂 NDGA(RAW+NDGA+LPS)可增强 LPS 诱导的 Arg-1 mRNA($P<0.05$)(图 8A)及蛋白表达(图 8B),同时强化 STAT6 活化水平(图 8B)。以上结果说明,CYP1A1 很可能通过其环氧化酶活性调控 LPS 诱导的 Arg-1 表达。



1:+PBS;2:+NDGA;a:$P<0.05$, RAW+NDGA+LPS 组与 RAW+PBS+LPS 组相比

图 8 NDGA 及 LPS 刺激 24 h 后 RAW 中 Arg-1 mRNA 表达水平(A)($n=3$, $\bar{x}\pm s$)以及 Arg-1 蛋白表达水平和 STAT6 活化水平(B)

3 讨论

3.1 炎症反应时 CYP1A1 可调控巨噬细胞极化方向

巨噬细胞作为机体重要的免疫效应细胞,在面对病原体入侵时,其可通过分泌炎症因子、吞噬病原体等途径清除有害致病因素。炎症反应早期,巨噬细胞主要向 1 型促炎型极化,分泌一氧化氮(nitric oxide, NO)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)等炎症因子以杀灭病原体。炎症反应中后期,巨噬细胞开始向 2 型抗炎型极化,主要生成以 Arg-1 为代表的一系列 2 型极化标志物,发挥抑制炎症、促进修复的作用。正常状态下,上述极化过程应处于动态平衡,若过度向 1 型极化则可能导致炎症因子失控释放,诱发全身炎症反应综合征;若过度向 2 型极化则可能导致免疫麻痹而无法及时清除病原体。因此,如何科学调控

上述极化过程,对发挥巨噬细胞正向功能,抑制其负向作用具有重要意义。我们前期研究发现,炎症反应时CYP1A1可促进巨噬细胞向1型极化而合成分泌大量促炎因子[11],但其对Arg-1等2型极化指标的调控作用及机制仍然未知。本研究在此基础上,首次明确了LPS诱导下CYP1A1对巨噬细胞中Arg-1的抑制效应及机制,为开发巨噬细胞极化失衡时的调控策略奠定了基础。

3.2 CYP1A1可降低STAT6活化水平以调低Arg-1表达

Arg-1是巨噬细胞向2型极化时合成的标志物,也是重要的抗炎因子。有研究报道,在巨噬细胞中高表达Arg-1可有效抑制巨噬细胞感染呼吸道合胞病毒时所释放的NO水平[7]。在血管平滑肌细胞中过表达Arg-1可有效降低LPS诱导时细胞合成分泌TNF-α及NO的水平[8]。给予IPEC-J2细胞精氨酸作用可显著增强其中Arg-1的活性并抑制LPS诱导时IPEC-J2细胞出现的过度炎症反应,而使用Arg-1抑制剂则可削弱这种抑炎效应[9]。还有文献报道,条件性敲除小鼠髓样细胞中的Arg-1可显著增加小鼠感染铜绿假单胞菌时的死亡率,并促进巨噬细胞释放大量的TNF-α及白介素-6等炎症介质[10]。以上结果表明,Arg-1可作为抑制炎症时细胞过度释放促炎因子的干预靶点。在本研究中我们发现,CYP1A1可能通过抑制STAT6活化水平以下调Arg-1的表达,这为下步开发炎症时Arg-1的上调手段提供了思路。

3.3 CYP1A1可能通过其环氧化酶活性调控巨噬细胞极化

CYP1A1是一种主要存在于肝脏及肠道当中的代谢酶,其可参与代谢多种内外源性有害异物,如药物和环境污染物,并生成细胞毒性物质,导致DNA损伤而诱发肿瘤[2]。作为单加氧酶CYP1A1同时具有羟化酶活性及环氧化酶活性[1],并且现已证实其羟化酶活性可参与调控免疫反应。有研究报道,CYP1A1的诱导剂四氯二苯并-p-二恶英可活化普通肝脏细胞中的激活蛋白-1(Activator Protein-1, AP-1)通路以促进炎症反应,但在CYP1A1羟化酶作用失活的情况下上述效应消失[12]。12(S)-HETE是CYP1A1羟化酶活性的代谢产物之一,其已被证实可通过活化丝裂原活化蛋白激酶通路并参与调控多种促炎反应[13-19]。我们在前期研究中发现,CYP1A1可通过其羟化酶活性诱导12(S)-HETE合成增加并加重脓毒症的病理进程[11]。以上结果表明,CYP1A1的羟化酶活性在炎症反应的发生发展过程中具有十分重要的调控作用,但其环氧化酶活性在炎症反应中的作用仍鲜见报道。本研究首次证实,CYP1A1对LPS诱导时Arg-1的抑制作用并非通过其羟化酶活性实现,而更可能是其环氧化酶活性发挥作用,因此可针对CYP1A1的环氧化酶活性开发相关抑制剂以治疗过度炎症反应。

总而言之,本研究发现,LPS刺激时巨噬细胞中高表达的CYP1A1可能通过抑制STAT6的活化以阻遏Arg-1的表达,从而延迟巨噬细胞向抗炎型极化的进程,但上述调控作用与CYP1A1的羟化酶活性或其致炎产物12(S)-HETE无关,而可能与其环氧化酶活性相关。以上结果进一步丰富了巨噬细胞极化过程的调控途径,为寻找炎症性疾病的干预新靶点奠定了基础。

参考文献:

[1] EL-SHERBENI A A, EL-KADI A O. Repurposing resveratrol and fluconazole to modulate human cytochrome P450-mediated arachidonic acid metabolism[J]. Mol Pharm, 2016, 13(4): 1278-1288. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.5b00873.

[2] DANIELSON P B. The cytochrome P450 superfamily: biochemistry, evolution and drug metabolism in humans[J]. Curr Drug Metab, 2002, 3(6): 561-597. DOI: 10.2174/1389200023337054.

[3] SCHIERING C, WINCENT E, METIDJI A, *et al*. Feedback control of AHR signalling regulates intestinal immunity[J]. Nature, 2017, 542(7640): 242-245. DOI: 10.1038/nature21080.

[4] DIVANOVIC S, DALLI J, JORGE-NEBERT L F, *et al*. Contributions of the three CYP_1 monooxygenases to pro-inflammatory and inflammation-resolution lipid mediator pathways[J]. J Immunol, 2013, 191(6): 3347-3357. DOI: 10.4049/jimmunol.1300699.

[5] XU B J, YANG H, SUN M, *et al*. 2, 3′, 4, 4′, 5-pentachlorobiphenyl induces inflammatory responses in the thyroid through JNK and aryl hydrocarbon receptor-mediated pathway[J]. Toxicol Sci, 2016, 149(2): 300-311. DOI: 10.1093/toxsci/kfv235.

[6] ZHANG W Y, WANG H, QI S P, *et al*. CYP1A1 relieves lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in bovine mammary epithelial cells[J]. Mediators Inflamm, 2018, 2018: 4093285. DOI: 10.1155/2018/4093285.

[7] SANTIAGO-OLIVARES C, RIVERA-TOLEDO E, GÓMEZ B. Nitric oxide production is downregulated during respiratory syncytial virus persistence by constitutive expression of arginase 1[J]. Arch Virol, 2019, 164(9): 2231-2241. DOI: 10.1007/s00705-019-04259-0.

[8] WANG X P, CHEN Y G, QIN W D, *et al*. Arginase I attenuates inflammatory cytokine secretion induced by

lipopolysaccharide in vascular smooth muscle cells[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(8): 1853-1860. DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.229302.

[9] QIU Y Q, YANG X F, WANG L, *et al*. L-arginine inhibited inflammatory response and oxidative stress induced by lipopolysaccharide via arginase-1 signaling in IPEC-J2 cells[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(7): 1800. DOI: 10.3390/ijms20071800.

[10] HAYDAR D, GONZALEZ R, GARVY B A, *et al*. Myeloid arginase-1 controls excessive inflammation and modulates T cell responses in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia[J]. Immunobiology, 2021, 226(1): 152034. DOI: 10.1016/j.imbio.2020.152034.

[11] TIAN L X, TANG X, ZHU J Y, *et al*. Cytochrome P450 1A1 enhances inflammatory responses and impedes phagocytosis of bacteria in macrophages during sepsis[J]. Cell Commun Signal, 2020, 18(1): 70. DOI: 10.1186/s12964-020-0523-3.

[12] PUGA A, BARNES S J, CHANG C, *et al*. Activation of transcription factors activator protein-1 and nuclear factor-kappaB by 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin[J]. Biochem Pharmacol, 2000, 59(8): 997-1005. DOI: 10.1016/s0006-2952(99)00406-2.

[13] SEPP-LORENZINO L, ROSEN N, LEBWOHL D E. Insulin and insulin-like growth factor signaling are defective in the MDA MB-468 human breast cancer cell line[J]. Cell Growth Differ, 1994, 5(10): 1077-1083.

[14] BLEICH D, CHEN S, WEN Y, *et al*. The stress-activated c-Jun protein kinase (JNK) is stimulated by lipoxygenase pathway product 12-HETE in RIN m5F cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1997, 230(2): 448-451. DOI: 10.1006/bbrc.1996.5981.

[15] ZHANG X J, CHENG X, YAN Z Z, *et al*. An ALOX12-12-HETE-GPR31 signaling axis is a key mediator of hepatic ischemia-reperfusion injury[J]. Nat Med, 2018, 24(1): 73-83. DOI: 10.1038/nm.4451.

[16] MUÑOZ-GARCIA A, THOMAS C P, KEENEY D S, *et al*. The importance of the lipoxygenase-hepoxilin pathway in the mammalian epidermal barrier[J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1841(3): 401-408. DOI: 10.1016/j.bbalip.2013.08.020.

[17] VOORHEES J J. Leukotrienes and other lipoxygenase products in the pathogenesis and therapy of psoriasis and other dermatoses[J]. Arch Dermatol, 1983, 119(7): 541-547.

[18] WOLLARD P M, CUNNIGHAM F M, MURPHY G M, *et al*. A comparison of the proinflammatory effects of 12(R)- and 12(S)-hydroxy-5, 8, 10, 14-eicosatetraenoic acid in human skin[J]. Prostaglandins, 1989, 38(4): 465-471. DOI: 10.1016/0090-6980(89)90129-9.

[19] KRAGBALLE K, VOORHEES J J. Arachidonic acid in psoriasis. Pathogenic role and pharmacological regulation[J]. Acta Derm Venereol Suppl (Stockh), 1985, 120: 12-17.

(收稿:2022-08-30;修回:2023-07-31)

(编辑 栾 嘉)