

联胺诱导内皮细胞 PDGF-BB 和 bFGF 表达 及其条件培养基对平滑肌细胞增生活性的研究

夏春枝 邓仲端 李丽珠 翟智玲

(同济医科大学病理学教研室, 武汉 430030)

正常动脉壁内环境的稳定依赖于动脉壁细胞之间特别是内皮细胞(EC)和平滑肌细胞(SMC)之间通过产生生长因子(如 PDGF、FGF)、趋化因子及其它细胞因子等来进行的相互调控。正常 EC 及 SMC 均可以极低浓度或无法检测的浓度表达上述生长因子。众所周知,动脉壁细胞之间的相互调控在动脉粥样硬化的发生和发展中起着极其重要的作用,有报道内毒素可促进 EC 释放促有丝分裂物。本实验目的是用巯基氧化剂联胺(diamide)加入培养的人脐静脉 EC,造成其脂质过氧化损伤,以观察其产生的生长因子是否增多;同时观察内皮细胞受损伤后其条件培养基对 SMC 的增生活性。

方法 正常健康的分娩后 4 h 内的新生儿脐带,注入胰蛋白酶,收集 EC,置于 37℃,5% CO₂ 培养箱内培养,培养液为含 10% 胎牛血清的 M199 培养基,等 EC 融合后,加入联胺,1h 后弃去之,PBS 洗涤,换以无血清 DME/F-12 混合培养基,培养 24 h,收集其培养基即为 EC 条件培养基(EC-CM)。让 EC 生长在事先放置在培养瓶内的盖玻片表面,待融合后取出,冷丙酮固定,分别用抗 bFGF 及抗 PDGF-BB 抗体作免疫组织化学染色。用 TJTY 型图像处理系统分别检测这两种生长因子在 EC 表达的积分光密度值。用贴块法培养兔主动脉中膜 SMC,传代后取第 2~3 代生长良好的 SMC 用 EC-CM 培养 24 h 后用同样方法检测 SMC 的 bFGF 表达;用³H-胸腺嘧啶核苷(³H-TdR)掺入法观察(³H-TdR)掺入法观察³H-TdR 掺入 SMC DNA 的量。以检测 EC-CM 对 SMC 的增生活性。

结果 联胺引起 EC 脂质过氧化损伤后,其 bFGF 及 PDGF-BB 表达的积分光密度值分别为(0.13425±0.01 和 0.08811±0.0097),比对照组(0.08262±0.0095 和 0.05904±0.0049)明显增多,经统计学处理,差异有极显著性意义($P<0.01$)。暴露于 EC-CM 的 SMC,其 bFGF 表达的积分光密度值(0.08843±0.013)亦比对照组(0.04669±0.005)明显增多,差异有极显著性意义($P<0.01$)。另外,联胺引起 EC 脂质过氧化损伤后,其 EC-CM 能明显地引起(³H-TdR)掺入 SMC DNA 量(1792.83±146.83)增多,与对照组(1111.37±151.62)相比,差异有极显著性意义($P<0.01$)。

结论 EC 受到联胺所致的过氧化损伤时,其产生的生长因子(bFGF、PDGF-Bb)增多,其 EC-CM 可促使 SMC b-FGF 表达增多,并对 SMC 有明显的促有丝分裂活性。这些在动脉粥样硬化发生发展中具有重要意义。