

血管平滑肌细胞分泌氧化应激 诱导因子的纯化与确定

廖端芳, Jin ZG, Baas AS, Daum G, Gygi SP, Aebersold R, Berk BC

J Biol Chem, 2000, 275 (1): 189- 196

[关键词] 氧化应激; 血管平滑肌细胞; 细胞外信号调节激酶; 氧化应激诱导因子

[摘要] 活性氧通过促进血管平滑肌细胞(VSMC)增殖已被认为是动脉粥样硬化和高血压的病因之一。我们以前的实验显示,超氧阴离子生成剂 LY83583 激活 VSMC 细胞外信号调节激酶(ERK1/2),并呈现出两个效应峰值特征。早期效应出现在 LY83583 作用后 10 min,晚期效应出现在 LY83583 作用后 2 h。LY83583 通过激活 ERK1/2 诱导 VSMC 增殖。我们推测,LY83583 作用的第一相是其进入细胞后产生超氧阴离子所致,因为超氧阴离子产生抑制剂 Tiron 只取消 LY83583 的第一相作用;而第二相作用可能是由于 LY83583 刺激 VSMC 释放 ERK1/2 激活因子所为。我们将这种因子命名为氧化应激诱导因子(secreted oxidative stress-induced factors, SOXF)。为了证实此一假设,我们采用 SP Sepharose、Heparin Sepharose、Phenyl Sepharose、Gel Filtration 等一系列亲和层析和凝胶过滤技术,以分离获得的成分是否能激活 ERK1/2 为监测指标,从受 LY83583 刺激 2 h 的 VSMC 条件培养基中分离出 SOXF 蛋白。然后通过毛细管色谱(CCG)技术和 Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry 技术分析发现热休克蛋白 90- a (HSP90- a) 和 Cyclophilin B 是主要的 SOXF。免疫印迹分析发现,VSMC 受 LY83583 刺激后特异地分泌 HSP90- a,而不是 HSP90- b。随后的实验发现,条件培养基中的 HSP90- a 通过免疫沉淀移去后,其 ERK1/2 激活作用明显减弱。采用人类重组 HSP90- a 可再现条件培养基的 ERK1/2 激活功能。上述结果显示氧化应激可诱导 VSMC 释放激活 ERK1/2 的蛋白因子,这些因子介导了活性氧的血管作用。