

球囊血管成形术后纤溶酶原激活物抑制剂-1 基因的表达

陈晓文, 戚文航

(上海第二医科大学附属瑞金医院心内科, 上海 200025)

[关键词] 纤溶酶原激活物抑制剂 1; 纤溶活性; 血管损伤; 兔; 基因表达

[摘要] 为观察球囊血管成形术后血浆纤溶酶原激活物抑制剂-1 活性的变化及其基因表达情况。利用球囊损伤方法复制了兔髂动脉球囊血管成形术, 分别于术前、术后 3 h、第 1 周末、第 2 周末和第 4 周末用发色底物法测定了血浆纤溶酶原激活物抑制剂 1 活性, 反转录聚合酶联反应技术测定了不同时期局部血管壁内纤溶酶原激活物抑制剂 1 表达情况。结果发现, 血管成形术后 3 h 血浆纤溶酶原激活物抑制剂 1 活性升高, 术后 1 周达高峰, 于术后 4 周回到术前水平; 血管局部纤溶酶原激活物抑制剂 1 基因在术前就有少量表达, 术后 3 h 明显增加达高峰, 术后 4 周达术前水平。此结果提示, 血管成形术后, 局部纤溶酶原激活物抑制剂 1 表达增加, 可能在血管对损伤的反应中起重要作用。

[中图分类号] R363.2

[文献标识码] A

动脉血管球囊损伤后引起一系列组织学和病理学变化, 包括附壁血栓形成, 多种细胞因子和生长因子介导的局部血管重建和再塑, 血管平滑肌细胞迁移、增殖和凋亡, 以及细胞外基质的分泌和堆积。这也是一系列基因异常表达所引起的血管功能与结构改变的过程。本文利用兔球囊损伤模型探讨动脉球囊损伤是否导致局部血管壁中血浆纤溶酶原激活物抑制剂 1 (plasminogen activator inhibitor type-1, PAI-1) 基因表达的改变, 以及这一变化所产生的影响。

1 材料与方法

1.1 动物模型的建立

纯种新西兰大白兔 24 只, 雄性, 体重 2.0~ 2.5 kg, 随机分为血管成形术前、术后 3 h、7 天、28 天四组, 每组 6 只。高脂饲料喂养, 其中胆固醇 1 g/天, 猪油 10 g/天。参照文献[1], 于 7~ 10 天后行髂动脉内膜剥脱术, 球囊血管成形术于髂动脉内膜剥脱术后 5~ 6 周进行。

1.2 标本获取与检测

于血管成形术前及术后 3 h、7 和 28 天分批处死实验动物, 血管标本立即至液氮中保存。总 RNA 用 Trizol 试剂抽提。测定 RNA 纯度和浓度后进行

反转录聚合酶联反应。PAI-1 引物根据国际互联网 cDNA 文库检索到原始序列自行设计, 由上海生物工程公司合成, 组织中的活性用发色底物法测定。 β -肌动蛋白(β -actin)由中国科学院上海细胞生物学研究所提供。

1.3 统计学处理

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 *t* 检验和方差分析。

2 结果

2.1 血浆纤溶酶原激活物抑制剂 1 活性变化

球囊血管成形术后 3 h 血浆 PAI-1 活性开始升高(与术前相比 $P < 0.01$), 于术后 1 周时达到峰值(与术前相比 $P < 0.01$), 以后逐渐下降, 于术后 4 周时恢复术前水平(表 1)。

表 1. 血浆纤溶酶原激活物抑制剂 1 活性的变化

分 组	活性(kAu/L)
术前	7.9 ± 0.9
术后 3 h	11.8 ± 1.1 ^b
术后 1 周	26.2 ± 3.7 ^b
术后 2 周	15.6 ± 1.9 ^b
术后 4 周	8.5 ± 1.5

b: 与术前相比 $P < 0.01$

2.2 兔髂动脉壁内纤溶酶原激活物抑制剂 1 mRNA

[作者简介] 陈晓文, 女, 1971 年出生, 医学博士, 现为上海第二医科大学瑞金医院心内科主治医师。戚文航, 男, 1937 年出生, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 中华医学会上海市分会心血管病专业委员会主任委员。

的表达

球囊损伤后一天血管壁中 PAI-1 表达即明显增加(与术前相比 $P < 0.01$),持续约一周,以后逐渐恢复至术前水平(表 2)。

表 2. 纤溶酶原激活物抑制剂 1 与肌动蛋白中 mRNA 比值的变化

分组	mRNA 比值
术前	0.35 ± 0.17
术后 1 天	1.18 ± 0.21 ^b
术后 1 周	0.86 ± 0.09 ^b
术后 2 周	0.66 ± 0.12 ^b
术后 4 周	0.47 ± 0.09

b: 与术前相比 $P < 0.01$

3 讨论

本实验发现,血管球囊损伤后 3 h,血浆 PAI-1 活性开始增加,在术后 1 周时达高峰,比术前升高 2~3 倍,并且以后一直维持较高活性,直到术后第 4 周才降至术前水平。相应地,球囊扩张处局部血管壁内 PAI-1 mRNA 表达在术后 1 天比术前增加 2~4 倍,并在以后 2 周内均保持较高表达,直到第 4 周。这和 Sawa 等^[2]利用 Northern 斑点杂交结果相似。由于局部损伤处 PAI-1 基因表达增高将近两周,这可持续促进局部纤维蛋白沉着,血栓形成,并经凝血有关的分裂原途径刺激血管平滑肌细胞增殖。

动物研究发现,新内膜中 PAI-1 表达是与血管损伤的严重程度相平行^[3]。球囊损伤处局部血管壁内 PAI-1 的高表达可能与以下几方面有关:首先局部损伤后活化的血小板、单核细胞和血管平滑肌细胞等释放的各种生长因子如血小板源生长因子(PDGF),转化生长因子(TGF- β)等都可通过自分泌或旁分泌途径使局部血管壁内 PAI-1 表达增加^[4]。其次,由组织因子介导的血管局部凝血系统激活,产生凝血酶,也可使局部 PAI-1 表达增加^[5]。最后,局部球囊损伤,产生炎症反应,巨噬细胞浸润,不仅自己产生 PAI-1,而且还可刺激内皮细胞和平滑肌细胞产生 PAI-1^[6]。总之,上述一种或几种因素共同作用,导致局部血管壁内 PAI-1 基因表达增加。

实验中对兔髂动脉行球囊扩张,损伤可达血管内膜和中膜。动物实验表明即使是轻微的、仅累及内膜的局部损伤都可导致局部 PAI-1 表达增加^[3]。这一持续的高表达可加剧局部血栓事件的发生,不仅导致血管急性闭塞,而且还可通过促进新内膜增生加剧后

期血管狭窄发生^[2]。新内膜增生是以细胞外基质堆积为特征。通常,基质蛋白的降解是通过纤溶酶或蛋白酶途径进行。而 PAI-1 恰恰抑制了纤溶酶活化。干扰了纤溶酶途径的细胞外基质蛋白降解,从而使细胞外基质堆积,促使内膜增生,导致血管狭窄发生^[7]。

综上所述,我们利用兔髂动脉损伤模型证实动脉球囊损伤后,局部血管壁内 PAI-1 基因表达 1 天内迅速增加,并维持较长时间,同时血浆 PAI-1 活性也处于较高水平。这一改变通过一系列环节影响损伤后内膜增生过程。目前已有较多临床研究发现患者经球囊扩张术后,体内 PAI-1 活性增高与术后 6 月再狭窄发生有密切关系^[8]。因此,通过药物分子生物学技术来减少局部 PAI-1 基因的表达,可能对血管成形术后新内膜增生产生有益的干涉,有可能加强其长期效益。

参考文献

- [1] 贾新未,霍勇,朱国英. 血管成形术后血管重塑动态变化的实验研究[J]. 中华心血管病杂志, 1997, 25 (2): 132-134
- [2] Sawa H, Lundgren C, Sobel BE, et al. Increased intramural expression of plasminogen activator inhibitor type 1 after balloon injury: A potential progenitor of restenosis [J]. *J Am Coll Cardiol*, 1994, 24: 1742-1748
- [3] Sawa H, Sobel BE, Fujii S. Potentiation by hypercholesterolemia of the induction of aortic intramural synthesis of plasminogen activator inhibitor type 1 by endothelial injury [J]. *Circ Res*, 1993, 73: 671-680
- [4] Fujii S, Hopkins WE, Sobel BE. Mechanisms contributing to increased synthesis of plasminogen activator inhibitor type 1 in endothelial cell by constituents of platelets and their implications for thrombolysis [J]. *Circulation*, 1991, 83: 645-651
- [5] Noda-Heiny H, Fujii S, Sobel BE. Induction of vascular smooth muscle cell expression of plasminogen activator inhibitor-1 by thrombin [J]. *Circ Res* 1993, 72: 36-43
- [6] Tipping PG, Davenport P, Grilicchio M, et al. Atheromatous plaque macrophages produce plasminogen activator inhibitor type 1 and stimulate its production by endothelial cells and vascular smooth muscle cells [J]. *Am J Pathol*, 1993, 124: 875-885
- [7] Hasenstab D, Forough R, Clowes AW. Plasminogen activator inhibitor type 1 and tissue inhibitor of metalloproteinases-2 increase after arterial injury in rats [J]. *Circ Res*, 1996, 80: 490-496
- [8] Roller RE, Janisch S, Carroll V, et al. Changes in the fibrinolytic system in patients with peripheral arterial occlusive disease undergoing percutaneous transluminal angioplasty [J]. *Thromb Res*, 1999, 94 (4): 341-347

(此文 2000-03-28 收到, 2001-03-03 修回)

(此文编辑 胡必利)