

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2003)11-04-0314-05

核因子 κB 的反义和诱骗性寡核苷酸对大鼠球囊损伤后血管狭窄和新生内膜形成的影响

周 俊, 陆国平, 戚文航

(上海第二医科大学附属瑞金医院心内科, 上海市 200025)

[关键词] 病理生理学; 核因子 κB 对血管狭窄和新生内膜的作用; 免疫组织化学检测; 血管再狭窄; 反义寡核苷酸; 诱骗寡核苷酸; 大鼠

[摘要] 探讨核因子 κB p65 亚基的反义和诱骗性寡核苷酸单独或联合作用对大鼠颈动脉球囊损伤细胞间粘附分子、单核细胞趋化因子的作用。SD 大鼠随机分为 7 组, 每组分为 6 个时相点(6 h 和 1、3、5、7、14 d), 每个时相点 3 只大鼠。制作血管球囊损伤模型。相应时间点处死动物。模型组、正义组、诱骗对照组血管内膜面积、中膜面积、内膜/中膜在第 5 天增加, 14 d 达到高峰。管腔面积随时相点减小。反义组、诱骗组、反义组+诱骗组干预后, 血管上述病理指标明显改善($P < 0.05$), 反义组+诱骗组较反义组、诱骗组治疗效果更明显($P < 0.05$)。内皮细胞间粘附分子、单核细胞趋化因子 mRNA 表达在血管损伤后 6 h 即可检测到, 3、5、7 d 后持续表达增加, 14 d 后表达降低。免疫组织化学检测显示, 内皮细胞间粘附分子 1、单核细胞趋化因子 1 蛋白质表达在 6 个时相点均为阳性染色, 14 d 达到高峰; 反义组、诱骗组、反义组+诱骗组治疗后, 与模型组、正义组、诱骗对照组相比, 内皮细胞间粘附分子、单核细胞趋化因子 mRNA 表达和蛋白合成在各时相点均降低($P < 0.05$)。免疫印迹法检测核蛋白抽提物显示, 核因子 κB p65 在血管损伤后 6 h 有一定蛋白表达, 1 d 后蛋白表达明显增加, 至 7 d 达高峰, 14 d 后蛋白表达略降低。反义组、诱骗组、反义组+诱骗组干预后, 各时相点蛋白质表达均较模型组、正义组、诱骗对照组减弱($P < 0.05$)。核因子 κB 调控内皮细胞间粘附分子、单核细胞趋化因子基因表达和蛋白质合成; 球囊损伤后血管壁细胞增殖在不同时相点有动态变化; 脂质体介导局部转染反义、诱骗性寡核苷酸可抑制核因子 κB 激活对下游基因的调控, 两者联合作用效果更为显著。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Role of the Antisense and Decoy Oligonucleotide of Nuclear Factor- κB in the Vessel Stenosis and Neointima Formation in Balloon-injured Rat Artery

ZHOU Jun, LU Guo-Ping, and QI Wen-Hang

(Department of Cardiology, Affiliated Ruijin Hospital, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200025, China)

[KEY WORDS] Vascular Restenosis; Antisense Oligonucleotide; Decoy Oligonucleotide; Rat; Nuclear Factor- κB ; Neointima

[ABSTRACT] **Aim** To examine the effect of the antisense or/and decoy oligonucleotide of nuclear factor- κB (NF- κB) on balloon-injured intercellular adhesive molecular-1 (ICAM-1) and monocytes chemotactic protein-1 (MCP-1) in the carotid artery of rats in vivo. **Methods** Sprague-Dawley rats underwent balloon dilation injury of the left carotid artery. Rats were divided into 7 groups ($n = 18$) and each group included 6 time points (6 hours and 1, 3, 5, 7, 14 days) ($n = 3$). Uninjured artery of the same rat was used to be control. **Results** In model group, sense group and scramble group, vessel intima area, media area and intima/media ratio increased after 5 days and reached the maximum after 14 days. Whereas lumen area decreased with different time points. Antisense group, decoy group, antisense plus decoy group improved these observational index ($P < 0.05$).

The effect of antisense plus decoy group was more obvious than that of antisense group and decoy group alone. ICAM-1 and MCP-1 mRNA expression were examined after 6 hours of artery injury, but not evident after 1 day. They increased expression continuously after 3, 5 and 7 days and decreased after 14 days. Comparing with model group, sense group and scramble group, antisense group, decoy group and antisense plus decoy group all lowered ICAM-1 and MCP-1 mRNA expression in every time point ($P < 0.05$). Immunohistochemistry studies revealed ICAM-1 and MCP-1 protein were positive stain within six time points and maximal after 14 days. In antisense group, decoy group and antisense plus decoy group, ICAM-1 and MCP-1 protein synthesis

[收稿日期] 2002-09-20 [修回日期] 2003-02-11

[基金项目] 上海市教委重点学科基金(8990207)资助

[作者简介] 周俊, 女, 1970 年出生, 浙江宁波人, 博士, 主治医师, 上海第二医科大学附属瑞金医院心内科(200025), 主要研究方向是冠心病及再狭窄的防治; E-mail: zhoujun1130@sohu.com。陆国平, 男, 1952 年出生, 博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 曾留学美国康乃尔大学和堪萨斯大学 3 年余, 主要从事心血管病研究, 在国内外杂志上发表论文近 30 篇, 现为瑞金医院心内科副主任。戚文航, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 主要从事心血管疾病的临床及科研工作, 发表论著 100 余篇。

decreased in every time point comparing with model group, sense group and scramble group. Western blot studies showed NF- κ B p65 was disperse positive stain after 6 hours of injury and increased after 1 day and reached the peak, but protein expression was weak after 14 days. Antisense group, decoy group and antisense plus decoy group treatment inhibited protein synthesis more significantly than those of model group, sense group and scramble group ($P < 0.05$). **Conclusions** NF- κ B modulated genes expression and protein synthesis of ICAM-1 and MCP-1; Cellular proliferation in vessel wall was dynamic change after balloon angioplasty injury; Antisense and decoy oligonucleotide of NF- κ B by local lipofectamine transfer inhibited NF- κ B activating genes modulation and the combined effect were remarkable than alone.

球囊血管成形术已广泛用于治疗冠状动脉粥样硬化病。血管成形术后再狭窄却成为心血管医生面临的重要挑战。大量研究证实,血管壁的机械性损伤所致的炎性和增殖效应是造成再狭窄的主要原因,多种生长因子、细胞因子、粘附分子等参与其病理生理过程。单纯抑制某种特定的因子并不能完全抑制病灶形成。因此,阻断调节细胞增殖、分化、迁移等最终共同通路的关键基因成为有效防止再狭窄的研究方向。核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)/Rel 家族中的转录因子 NF- κ B 在多种细胞类型中表达,主要有 p50 和 p65 两个亚基组成的异二聚体,调节多种与细胞生长、分化、死亡通路相关基因的表达。NF- κ B 激活一系列与血管壁病理生理相关的靶基因,包括细胞因子、化学因子、白细胞粘附分子等。细胞间粘附分子 1(intercellular adhesive molecular-1, ICAM-1)、单核细胞趋化因子 1(monocytes chemotactic protein-1, MCP-1)在细胞增殖、血管新生内膜形成中相互影响、相互作用,共同参与血管病理生理过程。本研究探讨球囊损伤后不同时相点细胞增殖情况;通过脂质体介导局部转染 NF- κ B p65 反义和诱骗性寡核苷酸,观察 NF- κ B 对 ICAM-1、MCP-1 这两种编码基因的调控及血管增殖的影响。

1 材料与方法

1.1 动物

表 1. 引物及寡核苷酸序列

Table 1. Sequence of primers and oligonucleotide

项 目	上游序列	下游序列
β -actin (532 bp)	5' AAG GAT TCC TAT GTG GGC 3'	5' CAT CTC TTG CTC GAA GTC 3'
ICAM-1 (386 bp)	5' TCG GTG CTC AGG TAT CCA 3'	5' GCG GCT CAG TGT CTC ATT 3'
MCP-1 (306 bp)	5' TAA TGC CCC ACT CAC CTG3'	5' TGA GGT GGT TGT GGA AAA 3'
反义 NF- κ B	5' GGG AAA CAG ATC GTC CAT GGT-3'	
正义 NF- κ B	5' ACC ATG GAC GAT CTG TTT CCG-3'	
诱骗 NF- κ B	5' GGA GGG AAA TCC CTT CAA GG 3'	5' CCT TGA AGG GAT TTC CCT CC 3'
诱骗对照 NF- κ B	5' GGC TAA GTC AGG TAC GGC AA 3'	5' TTG CCG TAC CTG ACT TAG CC 3'

β -actin: 逆转录聚合酶链反应目的基因的内参照物。

雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 126 只,体重 350 $\pm$ 30 g,清洁级,由中国科学院上海动物实验中心提供。

1.2 试剂和仪器

总 RNA 提取试剂盒(美国 Gibco 公司);鸟类成髓细胞瘤病毒(avian myeloblastosis virus, AMV)逆转录酶、随机引物、脱氧核苷三磷酸(deoxynucleosine triphosphate, dNTP)、RNA 酶抑制剂、嗜热真细菌 DNA 聚合酶(thermus aquaticus, Taq)(美国 Promega 公司);琼脂糖(美国 AMRESCO 公司);阳离子脂质体、无血清培养基(美国 Gibco 公司);ICAM-1/p65 鼠单克隆抗体、MCP-1 羊单克隆抗体(Santa Cluz 公司);丙烯酰胺(Sigma 公司);甲叉一双丙烯酰胺(上海金璐贸易有限公司);TEMED 和过硫酸铵(美国 AMRESCO 公司);Western Blotting 试剂盒(Roche 公司);其余试剂均为国产试剂纯。-70℃低温冰箱(REVCO 公司);紫外照相机(美国 FOTODYNE 公司);紫外分光光度计(瑞典 Pharmacia 公司);低温高速离心机(德国 Heraeus 公司);微型水平电泳槽(上海万达生物工程公司);Western Blotting 电泳槽(美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 引物合成和寡核苷酸合成

根据文献及国际互联网 cDNA 文库检索、设计,由上海生物工程公司合成(表 1,Table1)。

1.4 动物分组

SD 大鼠 126 只随机分为 7 组, 每组分为 6 个时相点(6 h 和 1、3、5、7、14 d), 每个时相点 3 只大鼠。正常组: 除球囊损伤外, 其余手术操作同其它组; 反义组; 正义组; 诱骗组; 诱骗对照组; 反义+ 诱骗组; 模型组。用同系动物的右颈总动脉作对照, 相应时间点处死动物。根据实验需要进行原位灌注固定或迅速取出血管, 液氮冷冻, -70°C 保存。

1.5 大鼠颈动脉球囊损伤模型^[1]

常规消毒、麻醉后, 颈正中切开, 游离一段左颈总动脉, 血管夹暂时阻断左颈总动脉近心、远心端血流; 用 1 条 2F 球囊导管从左颈外动脉插入左颈总动脉; 25 mL 生理盐水扩张球囊, 以滚动方式进入到左颈总动脉远端, 回撤, 重复 3 次。从导管末端将 50 mL 的寡核苷酸-脂质体复合物局部注射至损伤的血管节段内, 使药液在局部作用 15 min。颈外动脉结扎, 恢复血流, 缝合颈部伤口。

1.6 在体寡核苷酸转染

室温下分别将相应寡核苷酸与脂质体按 1:5 充分混合成复合物。在制作血管球囊损伤模型的同时, 从左颈外动脉给予寡核苷酸-脂质体复合物。

1.7 病理形态学检查

损伤处颈动脉常规固定、包埋、切片; 脱蜡后, 使用苏木精染色、弹力纤维染色; 计算机面积测量仪测定血管每一段新生内膜面积、中膜面积和管腔面积; 每个血管取 5 段的平均值。

1.8 组织总 RNA 抽提

采用异硫氰酸胍一步法提取, 紫外分光光度计测量 $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 比值, 如大于 1.8 且小于 2.0, 说明 RNA 无降解。 -80°C 保存 RNA 产物。

1.9 逆转录聚合酶链反应

按照引物及目的基因碱基数, 借助分析软件, 确定目的基因多聚酶链反应扩增的变性、退火、延伸温度及时间, 确定循环次数。扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳后, 凝胶分析系统观察、分析实验结果。

1.10 免疫组织化学检查

使用 ICAM-1 鼠单克隆抗体、MCP-1 羊单克隆抗体作为初级抗体, 链霉素抗生物素蛋白-辣根过氧化物共轭的抗鼠或抗羊多克隆抗体作为二抗, 使用 3,3'-三氯二氨联苯胺(DAB) 免疫化学染色, 苏木素复染; 应用光学显微镜、计算机图像分析系统测定每 40 倍物镜视野中阳性细胞比率, 计算阳性细胞水平指数。

1.11 免疫印迹法检测蛋白合成

组织总蛋白和核蛋白提取及定量; 每份标本上

样 200 μg , 进行变性的十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS) - 聚丙烯酰胺凝胶电泳; 半干法将蛋白转移至硝酸纤维素膜上。恒流转膜后, 脱脂奶粉室温封闭 1~2 h, 加入稀释的一抗, 4°C 过夜。封闭后, 加入稀释的二抗(辣根过氧化物酶标记的羊抗兔或羊抗小鼠 IgG 抗体), 室温下置摇床 1 h。漂洗后使用增强的化学发光法放射自显影。用密度扫描仪测定条带的吸光度(absorbance, A) 值, 以此代表目的蛋白的相对表达量。

1.12 统计学分析

所有数据采用 SPSS 10.0 软件包进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用方差分析。

2 结果

2.1 大鼠颈动脉球囊损伤后病理形态学改变

球囊损伤后 3 d, 正义组、诱骗对照组、模型组中膜有平滑肌细胞增生, 损伤内膜靠管腔处有增殖细胞, 但统计学上无明显意义。球囊损伤后 5、7 d, 正义组、诱骗对照组、模型组内膜面积、中膜面积、内膜/中膜较正常组、反义组、诱骗组、反义+ 诱骗组显著升高($P < 0.05$), 管腔面积减小, 14 d 后达到高峰; 反义+ 诱骗组较反义组、诱骗组内膜/中膜比值降低更明显, 管腔面积增加更明显($P < 0.05$) (表 2, Table 2)。

表 2. 球囊损伤后不同时间点血管面积

Table 2. Vessel area at different time points after balloon-injured artery (mm^2 , $\bar{x} \pm s$)

时间	管腔面积	内膜面积	中膜面积	内膜/中膜
6 h	0.53 ± 0.04	—	0.12 ± 0.02	—
1 d	0.54 ± 0.02	—	0.13 ± 0.01	—
3 d	0.50 ± 0.06	—	0.14 ± 0.04	—
5 d	0.43 ± 0.03^a	0.02 ± 0.01	0.14 ± 0.03	13%
7 d	0.35 ± 0.05^b	0.14 ± 0.01^b	0.17 ± 0.02^b	82% ^b
14 d	0.28 ± 0.02^b	0.15 ± 0.03^b	0.18 ± 0.02^b	83% ^b

a: $P < 0.05$, 与损伤后 6 h 的时间点相比; b: $P < 0.05$, 与损伤后 5 d 相比。—: 不能测出。

2.2 内皮细胞间粘附分子 1、单核细胞趋化因子 1 mRNA 表达

正常组大鼠动脉均有 ICAM-1、MCP-1 mRNA 微弱表达, 球囊损伤后 6 h, ICAM-1、MCP-1 mRNA 表达明显增加, 但球囊损伤后 1 d 表达减少, 3、5、7 d ICAM-1、MCP-1 mRNA 表达持续而明显的增高, 14 d 后表达略为降低。反义组、诱骗组、反义+ 诱骗组

ICAM-1、MCP-1 mRNA 在 6 h 和 1、3、5、7、14 d 较正义组、诱骗对照组、模型组表达减少 ($P < 0.05$), 反义 + 诱骗组 14 d 后 ICAM-1、MCP-1 mRNA 与正常组无差异; 反义 + 诱骗组较反义组、诱骗组 ICAM-1、MCP-1 mRNA 表达更为减少 ($P < 0.05$); ICAM-1、MCP-1 mRNA 表达在反义组、诱骗组之间无差异 (图 1, 图 2; Figure 1, Figure 2)。

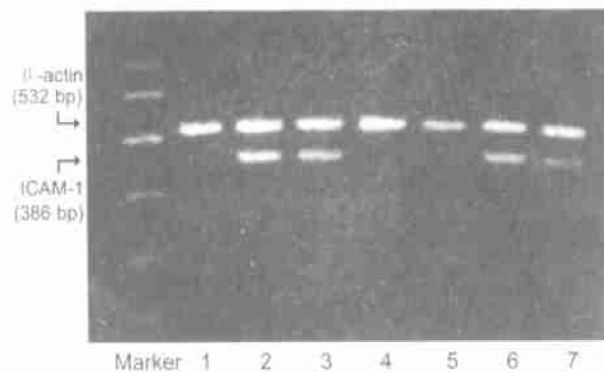


图 1. 各实验组内皮细胞间粘附分子 1 mRNA 表达 1、2、3、4、5、6、7 分别代表正常组、模型组、诱骗对照组、诱骗组、反义 + 诱骗组、正义组、反义组。

Figure 1. Effect of oligonucleotide at various groups on ICAM-1 mRNA expression



图 2. 各实验组单核细胞趋化因子 1 mRNA 表达 1、2、3、4、5、6、7 分别代表正常组、模型组、正义组、反义组、反义 + 诱骗组、诱骗组、诱骗对照组。

Figure 2. Effect of oligonucleotide at various groups on MCP-1 mRNA expression

2.3 内皮细胞间粘附分子 1、单核细胞趋化因子 1 蛋白质表达

正常组大鼠动脉有散在的平滑肌细胞膜表达 ICAM-1、MCP-1 表达不明显; 球囊损伤后 6 h 和 1 d, ICAM-1、MCP-1 蛋白表达略增加, 但与正常组无明显差异 ($P < 0.05$); 球囊损伤后 3、7、14 d, 中膜和新生内膜平滑肌细胞明显表达 ICAM-1、MCP-1 ($P < 0.05$), 反义组、诱骗组、反义 + 诱骗组较正义组、诱骗对照组、模型组各时相点蛋白质表达减少 ($P < 0.05$), 反义 + 诱骗组治疗效果比反义组、诱骗组更明显 (表 3, Table 3)。

表 3. 大鼠球囊血管损伤后 14 d 内皮细胞间粘附分子 1、单核细胞趋化因子 1 蛋白质表达

Table 3. ICAM-1 and MCP-1 protein expression in rat carotid at 14 days after balloon injured

观察指标	正常组	模型组	正义组	反义组	诱骗组	诱骗对照组	反义 + 诱骗组
ICAM-1 阳性细胞比率	0.09 ± 0.02	0.65 ± 0.15 ^a	0.54 ± 0.12 ^a	0.32 ± 0.07 ^{ab}	0.34 ± 0.08 ^{ab}	0.58 ± 0.15 ^a	0.21 ± 0.05 ^{abc}
MCP-1 阳性细胞比率	0.02 ± 0.01	0.54 ± 0.14	0.45 ± 0.11	0.31 ± 0.08	0.30 ± 0.08	0.57 ± 0.14	0.20 ± 0.06

a: $P < 0.05$, 与正常组比较; b: $P < 0.05$, 与模型组、正义组、诱骗对照组比较; c: $P < 0.05$, 与反义组、诱骗组比较。

2.4 免疫印迹检测核因子 κ B p65 的蛋白合成

核因子 κ B p65 是一分子量为 65 kDa 的蛋白质。在正常组, NF- κ B p65 有微弱的蛋白条带; 球囊损伤后 6 h, NF- κ B p65 蛋白条带增强 ($P < 0.05$); 1 d 后, NF- κ B 的蛋白条带灰度明显增强 ($P < 0.05$), 球囊损伤后 3、5、7 d, p65 的蛋白条带灰度明显增强; 第 14 天, p65 的蛋白条带比第 7 天减弱。正义组、诱骗对照组各时相点结果同模型组比较无差异; 反义组、诱骗组、反义 + 诱骗组各时相点蛋白条带较模型组、正义组、诱骗对照组均微弱 ($P < 0.05$), 反义 + 诱骗组与反义组、诱骗组比较, 蛋白条带灰度减弱更明显 ($P < 0.05$) (图 3, Figure 3)。

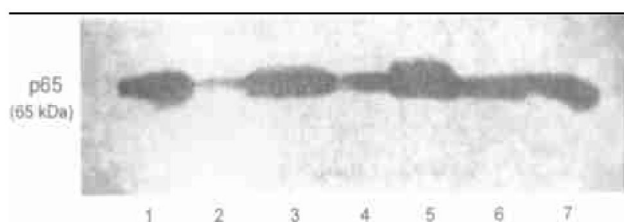


图 3. Western Blot 检测大鼠血管球囊损伤后 7 d 蛋白质表达 1、2、3、4、5、6、7 分别代表模型组、正常组、诱骗对照组、反义 + 诱骗组、正义组、反义组、诱骗组, 以正常组作为对照。

Figure 3. Western blot analysis of the NF- κ B p65 proteins in rat carotid artery at 7 days after balloon injury

3 讨论

我们使用大鼠颈动脉球囊损伤为血管狭窄模型, 从两个层次研究血管狭窄及新生内膜增殖, 一是

从不同时相点动态观察血管细胞增殖;二是以核转录因子 NF- κ B p65 的反义和诱骗性寡核苷酸作为干预手段,进行基因治疗血管狭窄及新生内膜增生的基础研究。反义核酸技术通过抑制 NF- κ B 正义 DNA 的复制、转录,减少转录因子的生成。诱骗性双链寡核苷酸技术是将与转录因子结合位点序列相同的双链寡核苷酸导入细胞,诱骗转录因子与它结合,下调转录因子所调控的基因表达,这样从两个层次阻断 NF- κ B 转录因子的作用。NF- κ B 与抑制蛋白(inhibitory proteins I kappa B, I κ B)形成自我调节体系,与内皮基因表达和血管病密切相关^[2]。Deborah 等研究认为^[3],目前所有已知的 NF- κ B/Rel 家族成员(p50、p52、p65、 ϵ -Rel、RelB、I κ B α 、I κ B β 、p105)等均存在于正常的血管壁上,但 p65、p50 是 NF- κ B 最重要的调节下游基因的两种类型。在迅速、敏感的免疫和炎症作用下,NF- κ B 是调节基因表达的一类早期转录因子,NF- κ B 调节的基因产物如白细胞介素 1 β 、肿瘤坏死因子、MCP-1 和 ICAM-1 在人类动脉粥样硬化的组织病灶上已被检测到^[4]。

本研究显示球囊损伤 6 h, p65 蛋白表达开始增加,1 d 后明显增强,说明 NF- κ B 从胞质转位至胞核,开始转录激活。在血管新生内膜形成过程中,化学趋化因子与其它细胞因子、粘附分子相互作用、相互影响,参与血管病理生理过程。MCP-1 是血管壁产生的主要化学趋化因子,在动脉粥样硬化富含巨噬细胞区域大量存在,促使单核细胞趋化。通过对转染至肿瘤细胞系 MCP-1 5'-侧翼区消除分析研究,显示 MCP-1 介导的报告基因活性依赖 NF- κ B 元件激活。国内研究发现,糖基化终产物可明显增强大鼠主动脉平滑肌细胞 MCP-1 mRNA 的表达,这个信号传导过程主要依赖蛋白激酶 C 活性升高,激活转录因子 NF- κ B^[5]。我们的研究已观察到 NF- κ B 核蛋白 p65 升高先于 MCP-1 基因表达上调。Western Blot 检测出球囊损伤后第 1 天, NF- κ B p65 蛋白合成增加,而 ICAM-1、MCP-1 mRNA 从球囊损伤后第 3 天起大量合成,7 d 后达高峰,14 d 表达降低,这与 NF- κ B 蛋白合成前后时间相吻合。在使用 p65 的反义、诱骗性寡核苷酸单独或联合应用后, ICAM-1、MCP-1 基因表达和蛋白质合成不同程度降低,说明它们不是协同作用,而是由于 NF- κ B 激活所调控的,更加证明它可能是一种迅速、早期调控基因表达的转录因子,在 ICAM-1、MCP-1 转录激活中扮演重要作用。ICAM-1、MCP-1 转录激活后,血管壁炎性细胞粘附、聚集,释放多种促细胞增殖因子,开始血管壁细胞增殖、迁移的病理生理过程^[6]。

观察球囊损伤后血管病理形态学的改变,损伤第 7 天有显著的新生内膜增生,第 14 天似乎达到高峰,这与核蛋白抽提物中的 p65 蛋白质水平有密切关系。NF- κ B 转位后与 DNA 结合,转录活性增高,调节下游基因转录^[7]。国内类似研究显示^[8],大鼠腹主动脉球囊损伤后 14 d,血管内膜厚度明显增加。本实验采用反义、诱骗性寡核苷酸和反义+诱骗寡核苷酸为治疗组,分别以模型组、正义组、诱骗对照组为对照,分析 NF- κ B 对 ICAM-1、MCP-1 调控作用和自身亚基 p65 表达的影响,结果显示反义寡核苷酸、诱骗性寡核苷酸均能抑制 ICAM-1、MCP-1、p65 的基因表达或蛋白质合成。诱骗性双链寡核苷酸能抑制球囊损伤后新生内膜形成已有报道^[5]。反义+诱骗寡核苷酸组抑制效果更明显。出现这种结果的可能解释是: NF- κ B 反义核酸和诱骗性寡核苷酸从两个层次阻断 NF- κ B 转录因子的生成和对靶基因调控,作用可能更彻底。

本研究采用大鼠球囊血管成形术后血管增生模型,通过局部血管腔内脂质体介导转染 NF- κ B p65 反义和诱骗性寡核苷酸,能够抑制新生内膜形成。其作用途径包括抑制特异性的粘附分子、细胞因子生成等。本实验采用的腔内注射方法与临床上实际运用的腔内血管成形术有相容性。血管基因治疗已被证实是潜在可行的选择。基因治疗血管再狭窄相对于传统药物靶向性更明显,这是未来治疗的发展方向。但寡核苷酸药物不同于传统药物,如何进一步提高核酸药物的稳定性、有效性、可行性,还须进行广泛、细致的基础和临床研究。

[参考文献]

- [1] Ward MR, Agrotis A, Kanellakis P, Dille R, Jennings G, Bobik A. Inhibition of protein tyrosine kinases attenuates increases in expression of transforming growth factor-beta isoforms and their receptors following arterial injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17** (1): 2461-470
- [2] Volkhard L, Tucker C. Expression of NF- κ B and I κ B α by aortic endothelium in an arterial injury model. *Am J Pathol*, 1996, **148** (2): 427-438
- [3] Deborah BL, Lesile LC, Shane RB, Volkhard L. Activation of the NF- κ B and I κ B system in smooth muscle cells after rat arterial injury. *Am J Pathol*, 1997, **151** (4): 1085-095
- [4] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, 1993, **362**: 801-809
- [5] 贾庆哲, 刘乃丰. 糖基化终产物对大鼠主动脉平滑肌细胞单核细胞趋化蛋白基因表达的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **10** (4): 297-299
- [6] Yoshimura S, Morishita R, Hayashi K, Yamamoto K, Nakagami H, Kaneda Y, et al. Inhibition of intima hyperplasia after balloon injury in rat carotid artery model using 'cis-element' decoy' of nuclear factor-kappa B binding site as a novel molecular strategy. *Gene Ther*, 2001, **21** (8): 1635-642
- [7] Maffia P, Ianaro A, Pisano B, Borrelli F, Capasso F, Pinto A, et al. Beneficial effects of caffeic acid phenethyl ester in a rat model of vascular injury. *Br J Pharmacol*, 2002, **136** (3): 353-360
- [8] 党书毅, 王家宁, 王卫民, 黄永章, 张群林. 全反式维甲酸对大鼠腹主动脉球囊损伤后新生内膜形成和内皮再生的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **10** (1): 16-18 (此文编辑 曾学清)