

[文章编号] 1007-3949(2004)12-06-0643-05

• 实验研究 •

生长素抑制大鼠血管钙化及其可能机制

李桂忠¹, 曹军¹, 常林², 潘春水³, 赵晶², 蒋维², 杨晓玲¹, 唐朝枢³, 齐永芬²

(1. 宁夏医学院病理生理学室, 宁夏银川市 750004; 2. 北京大学医学部生理系, 北京市 100083;

3. 卫生部心血管分子生物学和调节肽重点实验室, 北京市 100083)

[关键词] 病理学与病理生理学; 血管钙化; 生长素; 内皮素; 骨桥蛋白; 血管平滑肌细胞

[摘要] 为探讨生长素调节血管钙化的可能机制, 用肌肉注射维生素 D₃ 和口服尼古丁诱导大鼠血管钙化模型和 β-甘油磷酸盐诱导血管平滑肌细胞钙化模型, 采用原子吸收分光光度法测定血管和细胞钙含量, 磷酸苯二钠法测定碱性磷酸酶活性, ⁴⁵CaCl₂ 摄入测定钙沉积, 逆转录-聚合酶链反应测定生长素、骨桥蛋白和内皮素 mRNA 表达水平, 放射免疫分析方法测定血浆生长素和内皮素含量。结果表明, 维生素 D₃ 和尼古丁明显诱导大鼠血管钙化, β-磷酸甘油可诱导血管平滑肌细胞钙化。采用 30 和 300 nmol/kg 生长素治疗大鼠均可抑制血管钙化, 且高剂量时效应强于低剂量, 与钙化组相比较, 血管组织钙化指标均下降并且差异有显著性, 而骨桥蛋白 mRNA 的表达明显上调。10⁻⁸ ~ 10⁻⁶ mol/L 生长素呈浓度依赖性降低血管平滑肌细胞钙化指标, 并上调骨桥蛋白 mRNA 表达。此外生长素明显下调血浆内皮素浓度及血管组织的内皮素表达, 且高剂量生长素的效应更强。结果提示, 生长素可能部分通过拮抗血浆和血管组织局部的内皮素系统效应而产生抑制血管组织和血管平滑肌细胞钙化的作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Effects and the Possible Mechanism Involved in Vivo and Vitro of Ghrelin on Rat Vascular Calcification

LI Gui Zhong¹, CAO Jun¹, CHANG Lin², PAN Chun Shui³, ZHAO Jing², JIANG Wei², YANG Xiao-Ling¹, TANG Chao-Shu³, and QI Yong-Fen²

(1. Department of Pathophysiology, Ningxia Medical College, Yinchuan 750004; 2. Department of Physiology, Peking University, Beijing 100083; 3. the Reference Laboratory of Ministry of Health on Cardiovascular Molecular Biology and Regulatory Peptides, Beijing 100083, China)

[KEY WORDS] Ghrelin; Endothelin; Osteopontin; Vascular Smooth Muscular Cells; Vascular Calcification; Mechanism

[ABSTRACT] **Aim** We employed rat vascular calcific model induced by vitamin D₃ intramuscular injection and oral nicotine, and rat calcific vascular smooth muscular cells (VSMC) induced by β-glycerophosphate to study the possible mechanism which was involved in the regulatory action of ghrelin in vascular calcification. **Methods** The total aorta Ca content in aorta and VSMC were measured by atom absorptive spectrophotography; the alkaline phosphatase (ALP) activity were determined by the use of phenyl diphosphate-2-sodium; aortic ⁴⁵Ca deposition was detected with the using of ⁴⁵CaCl₂; the mRNA expression of ghrelin, osteopontin (OPN) and endothelin were analyzed by reverse transcript PCR, and the levels of ghrelin in plasma, endothelin in plasma and aorta were determined by radioimmunoassay. **Results** Vitamin D₃ and nicotine induced vascular calcification in rats and β-glycerophosphate induced calcification in VSMC too. The calcification in aorta was significantly attenuated by subcutaneous administration with ghrelin 30 and 300 nmol/kg for 4 weeks, and the latter dosage was more potent than the former.

After the ghrelin treatment, the total aorta Ca²⁺ contents, aortic ⁴⁵Ca deposition, ALP activity were less respectively, than those in the rats with vascular calcification, but the OPN mRNA was up expressed. After treated with ghrelin 10⁻⁸ ~ 10⁻⁶ mol/L, the calcification in VSMC was also attenuated, with decrease in the total Ca²⁺ content, ⁴⁵Ca deposition and ALP activity in VSMC in a concentration dependent manner, so did the increase in OPN mRNA expression. In addition, we observed that endothelin levels of plasma and aorta and aortic endothelin mRNA expression significantly increased in the rats with vascular calcification, and ghrelin treatment significantly decreased them, with high dosage more potent than the lower. **Conclusion** Our results indicated that ghrelin can significantly attenuate the calcification in aorta and VSMC partly through the antagonism with endothelin system in circulation and vascular tissues.

[收稿日期] 2004-04-08 [修回日期] 2004-11-05

[基金项目] 国家重大基础研究发展规划(973)项目(G2000056905)和北京大学(985)项目基金资助

[作者简介] 李桂忠, 讲师, 硕士研究生, 主要从事心血管疾病发病机制的基础研究, 电话为 0951-4072664, E-mail 为 lilylove36@163.com。曹军, 医学硕士, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事心血管疾病发病机制的基础研究, 电话为 0951-4083274。唐朝枢, 教授, 博士研究生导师, “973”首席科学家, 长期从事心血管疾病发病机制和防治的基础研究以及心血管活性肽的研究, 电话为 010-66551036, E-mail 为 tangcharoshu@263.net.cn。

近年研究表明血管钙化是一个主动可调节的过程,细胞因子、生长因子和血管活性肽均参与血管钙化形成的调节^[1]。从血管钙化调节机制着手,探寻内源性血管钙化抑制因子,可能是防止血管钙化发生的新途径。本研究在维生素 D₃ 和尼古丁诱导的大鼠血管钙化和β磷酸甘油诱导培养的大鼠血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)钙化模型上,观察生长素对血管钙化发生的影响,以探讨生长素调节血管钙化形成的可能机制。

1 材料与方 法

1.1 材 料

雄性 SD 大鼠由北京大学医学部实验动物中心提供。尼古丁、维生素 D₃ 和β-甘油磷酸盐购自 Sigma 公司;胎牛血清购自 Hyclone 公司;DMEM 购自 GIBCO 公司;⁴⁵CaCl₂ 购自美国 NEW Life Sci. 公司;生长素及其放射免疫试剂盒均由美国凤凰药物公司张肇康博士惠赠;TRIZOL 购自美国 Invitrogen 公司;MMLV 逆转录酶、Taq DNA 聚合酶、RNasin 和 Oligo (dT) 15 Primer 为 Promega 公司产品。逆转录-聚合酶链反应引物由北京赛百盛公司合成。碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)和内皮素测定试剂盒购自北京福瑞公司。其余试剂为市售分析纯。

1.2 大鼠血管钙化模型的制备

参照文献[2]制备大鼠血管钙化模型。取 24 只雄性 SD 大鼠(180~200 g),随机分为 4 组:钙化组(晨 8 时)维生素 D₃(300 000 IU/kg)肌肉注射,同时尼古丁(25 mg/kg)溶于 1 mL 花生油灌胃,(晚 6 时)重复灌胃一次;④钙化+低剂量生长素组(简称低剂量组)在钙化处理的基础上,每天皮下注射生长素 30 nmol/kg,连续用药 4 周;④钙化+高剂量生长素组(简称高剂量组)处理方法同④生长素浓度为 300 nmol/kg;对照组同操作,肌肉注射生理盐水和单纯花生油灌胃。大鼠饲养 4 周,乌拉坦 1 g/kg 腹腔注射麻醉,取血,分离血浆,-80℃冻存备用。摘取全长胸腹主动脉,取 5 mm 动脉 10%福尔马林固定,用于组织学观察,其余部分作下述测定。

1.3 培养血管平滑肌细胞钙化模型制备

参照文献[3]培养大鼠 VSMC。培养基为含 15%胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)的 DMEM,细胞呈梭形及典型的“峰谷”状生长,α-actin 免疫组织化学染色阳性。实验用第 5~8 代细胞,将细胞按 1×10⁵个/孔接种于 24 孔培养板,每组 6 孔,共分为 6 组:对照组采用单纯 DMEM 培养基(含 15% FBS,

下同)培养;④钙化组培养基中加入 10⁻³ mol/L 的β-甘油磷酸盐;④生长素组培养基中含 10⁻⁶ mol/L 生长素;~生长素+钙化组在钙化培养基中分别加入 10⁻⁸、10⁻⁷和 10⁻⁶ mol/L 的生长素。每 2 天换液一次,10 天后收集细胞作下述测定。

1.4 组织和细胞总钙含量测定

取动脉和收集的 VSMC 80℃烤干,加 2 mol/L 硝酸 5 mL,160℃消化并烤干,冷却后加去离子水(含 27 nmol/L 氯化钾和 27 μmol/L 氯化铜)2 mL 复融,加 1%氯化锶 100 μL,原子吸收分光光度计测定组织和细胞的总钙含量。

1.5 组织和细胞碱性磷酸酶活性测定

动脉以磷酸缓冲液制备匀浆,4℃离心(8 000 g, 10 min),取上清以考马斯亮蓝法行蛋白定量。VSMC 置于 200 μL 裂解液(0.2% NP-40 溶于 10⁻³ mol/L MgCl₂)中,超声破碎,4℃离心(8 000 g, 10 min),取上清。采用磷酸苯二钠法测定 ALP 活性。

1.6 组织和细胞⁴⁵Ca²⁺沉积测定

取动脉制备组织薄片,置于 1 mL 含 1% FBS 的 K-H 液,加⁴⁵CaCl₂ 37 kBq,37℃振荡孵育 8 h,然后用冷 K-H 液洗 3 次,甲酸消化,加闪烁液测定⁴⁵Ca²⁺放射性强度,换算成⁴⁵Ca²⁺ nmol/mg 组织。

细胞培养基中加⁴⁵CaCl₂ 37 kBq/孔,孵育 12 h 后收集细胞,冷 PBS 洗涤,胰酶消化,负压抽滤,干燥,加闪烁液测定⁴⁵Ca²⁺放射性强度,换算为⁴⁵Ca²⁺ nmoL/10⁵细胞。

1.7 逆转录聚合酶链反应

参照文献[3]用 TRIZOL 一步提取法分别提取大鼠血管组织和 VSMC 的总 RNA,以逆转录-聚合酶链反应法扩增骨桥蛋白(osteopontin, OPN)、生长素和内皮素 mRNA, MMLV 逆转录酶及 Oligo (dT) 15 Primer 逆转录成单链 cDNA。mRNA 含量测定的聚合酶链反应体积 25 μL: cDNA 1 μL、5 pmol/L S 及 A 引物 1 μL、2.5 mmol/L dNTP 1 μL、含 15 mmol/L MgCl₂ 的 10×PCR 缓冲液 2.5 μL、Taq DNA 聚合酶 1.25 单位。产物以 1.5%的琼脂糖电泳分离和溴化乙啶染色后,用凝胶成像及定量扫描仪测得其长度分别为 871、374 和 446 bp DNA 片断。取 2 μL PCR 产物,以β-actin-S 及β-actin-A 引物做聚合酶链反应,产物经琼脂糖电泳、凝胶成像及定量扫描仪定量,OPN、生长素和内皮素 mRNA/β-actin mRNA 的比值即为其相对含量。

1.8 大鼠血浆生长素与内皮素浓度测定

按照试剂盒说明书测定生长素与内皮素血浆浓度。生长素试剂盒 IC₅₀ 6.95 pmol/管,大鼠和人的生

长素交叉反应是 100%。内皮素试剂盒 IC₅₀ 是 14.6 pg/管,大鼠和人的内皮素的交叉反应是 100%。

1.9 组织和细胞 Von Kossa 染色

血管石蜡包埋、切片,常规处理后浸入 5% 硝酸银溶液,日光照射 60 min,2.5% 硫代硫酸钠溶液 5 min,碱性品红复染、脱水、透明、封片,光镜观察。细胞爬片,孵育结束后将爬片放入 4℃ 10% 福尔马林溶液 45 min,清洗后 5% 硝酸银溶液染色。

1.10 统计学处理

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两样本均数间比较采用 *t* 检验,多样本均数间比较用 One-way ANOVA 检验,组间的两两比较用 Student-Newman-Keuls 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

表 1. 生长素对血管钙含量和钙沉积、血管和血浆碱性磷酸酶活性和内皮素水平以及血浆生长素水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Calcium content, ALP activity, ET ghrelin and ⁴⁵Ca deposition in rats

分 组	动脉钙含量 (μmol/g)	动脉 ALP 活性 (u/mg)	动脉内皮素 (pmol/g)	动脉钙沉积 (μmol/g)	血浆 ALP 活性 (u/L)	血浆生长素 (pmol/L)	血浆内皮素 (pmol/L)
对照组	25 ± 4	69 ± 12	1.4 ± 0.2	3.6 ± 0.5	36 ± 7	199 ± 26	2.8 ± 0.4
钙化组	276 ± 22 ^a	368 ± 122 ^a	2.8 ± 0.3 ^a	5.9 ± 0.6 ^a	172 ± 10 ^a	155 ± 17	5.7 ± 0.4 ^a
生长素组(低)	209 ± 16 ^b	330 ± 106 ^a	2.5 ± 0.2 ^{ab}	4.9 ± 0.9 ^{ab}	109 ± 26 ^{ab}	345 ± 63 ^{ab}	3.7 ± 1.0 ^b
生长素组(高)	198 ± 33 ^b	173 ± 53 ^{ab}	2.2 ± 0.2 ^{ab}	4.5 ± 0.4 ^{ab}	40 ± 10 ^{ab}	488 ± 73 ^{ab}	3.4 ± 0.9 ^b

a: $P < 0.01$, 与对照组比较, b: $P < 0.01$, 与钙化组比较。生长素浓度分别为 30 和 300 nmol/kg。

表 2. 生长素对血管平滑肌细胞钙含量、碱性磷酸酶活性和钙沉积水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2. Total Ca²⁺ content, ALP activity, ⁴⁵Ca deposition in rat VSMC

分 组	钙浓度 (nmol/10 ⁵ cells)	ALP (u/10 ⁵ cells)	钙沉积 (pmol/10 ⁵ cells)
对照组	30 ± 4	92 ± 7	0.4 ± 0.1
钙化组	135 ± 12 ^a	555 ± 21 ^a	1.4 ± 0.1 ^a
生长素组	31 ± 5 ^b	97 ± 11 ^b	0.4 ± 0.1 ^b
生长素+ 钙化组			
10 ⁻⁸ mol/L	137 ± 11 ^a	487 ± 34 ^{ab}	1.0 ± 0.1 ^{ab}
10 ⁻⁷ mol/L	92 ± 10 ^{ab}	403 ± 29 ^{ab}	0.9 ± 0.1 ^{ab}
10 ⁻⁶ mol/L	90 ± 11 ^{ab}	341 ± 33 ^{ab}	0.8 ± 0.1 ^{ab}

a: $P < 0.01$, 与对照组比较, b: $P < 0.01$, 与钙化组比较。

2.2 生长素降低血管和血管平滑肌细胞碱性磷酸酶的活性

与对照组比较,钙化组大鼠血浆和血管组织 ALP 活性均增高 ($P < 0.01$),而生长素组血管 ALP 活性和血浆 ALP 活性均较钙化组降低 ($P < 0.01$);且高剂量生长素组血管组织和血浆 ALP 活性较低

2 结果

2.1 生长素降低血管及血管平滑肌细胞的钙含量

与对照组比较,钙化组大鼠动脉组织总钙含量增高 11.3 倍 ($P < 0.01$)。与钙化组比较,生长素组大鼠主动脉组织总钙含量减少 ($P < 0.01$),且生长素高剂量和低剂量治疗组之间动脉总钙含量的差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 1, Table 1)。

与对照组比较,钙化组 VSMC 总钙含量增高 4.4 倍 ($P < 0.01$),10⁻⁷ 和 10⁻⁶ mol/L 生长素+ 钙化组细胞钙含量较钙化组降低 ($P < 0.01$) (表 2, Table 2)。单纯生长素 (10⁻⁶ mol/L) 组细胞的钙含量与对照组接近 ($P > 0.05$)。

剂量降低更加明显 ($P < 0.01$) (表 1, Table 1)。

培养的 VSMC 钙化组 ALP 活性较对照组升高 6.0 倍 ($P < 0.01$)。生长素 (10⁻⁸ ~ 10⁻⁶ mol/L) 呈浓度依赖性降低 ALP 活性,与钙化组比较均明显降低 ($P < 0.01$) (表 2, Table 2)。

2.3 生长素减轻血管及血管平滑肌细胞⁴⁵Ca²⁺沉积

与对照组比较,钙化组大鼠的主动脉⁴⁵Ca²⁺沉积升高 ($P < 0.01$)。生长素组主动脉⁴⁵Ca²⁺沉积较钙化组降低 (均 $P < 0.01$),且高和低剂量生长素治疗组之间主动脉⁴⁵Ca²⁺沉积差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 1, Table 1)。

β-甘油磷酸盐促进 VSMC ⁴⁵Ca²⁺沉积,比对照组高 3.8 倍 ($P < 0.01$)。生长素 (10⁻⁸ ~ 10⁻⁶ mol/L) 呈浓度依赖性降低⁴⁵Ca²⁺沉积,与钙化组相比,均降低明显 ($P < 0.01$) (表 2, Table 2)。

2.4 生长素增加血管及血管平滑肌细胞骨桥蛋白 mRNA 表达

钙化组大鼠血管组织 OPN mRNA 表达比对照组有所降低 ($P < 0.05$),生长素治疗可明显上调血管 OPN mRNA 表达,比钙化组明显增高 ($P < 0.01$),且高剂量组的上调效应强于低剂量组 ($P < 0.01$) (图

1, Figure 1)。

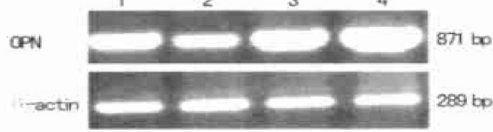


图 1. 血管组织骨桥蛋白 mRNA 表达 1 为对照组; 2 为钙化组; 3 为治疗组(低剂量); 4 为治疗组(高剂量)。

Figure 1. Expression of OPN mRAN in rat aorta

钙化组较对照组 VSMC OPN mRNA 的表达降低 ($P < 0.01$), 而生长素 (10^{-8} 、 10^{-7} 和 10^{-6} mol/L) 呈浓度依赖性减轻 β -甘油磷酸盐抑制 VSMC OPN mRNA 表达的效应, 较钙化组均明显升高 ($P < 0.01$) (图 2, Figure 2)。

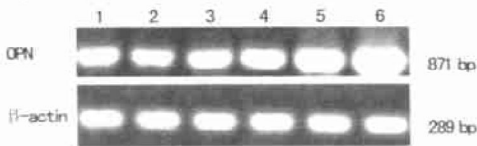


图 2. 血管平滑肌细胞骨桥蛋白 mRNA 表达 1 为对照组; 2 为钙化组; 3 为生长素组 (10^{-6} mol/L); 4、5 和 6 分别为钙化+生长素组 (10^{-8} 、 10^{-7} 和 10^{-6} mol/L)。

Figure 2. Expression of osteopontin (OPN) mRAN in rat VSMC

2.5 血管钙化大鼠血浆生长素及内皮素水平变化

血浆生长素水平较对照组降低 ($P > 0.05$), 生长素治疗后血浆生长素水平较钙化组升高 ($P < 0.01$), 且高剂量组高于低剂量组 ($P < 0.01$)。钙化组大鼠血浆和主动脉内皮素水平均比对照组升高 ($P < 0.01$)。生长素治疗后血浆和主动脉内皮素水平均比钙化组降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 但高剂量和低剂量治疗组之间血浆和主动脉内皮素水平差异均无显著性(均 $P > 0.05$) (表 1, Table 1)。

钙化组大鼠主动脉的生长素 mRNA 表达比对照组降低 ($P < 0.01$), 内皮素 mRNA 表达比对照上调 ($P < 0.01$); 而生长素治疗可减轻钙化血管内皮素 mRNA 上调, 低剂量和高剂量治疗组均比单纯钙化组降低(均 $P < 0.01$), 高剂量组的下调效应强于低剂量组 ($P < 0.01$) (图 3 和图 4, Figure 3 和 Figure 4)。

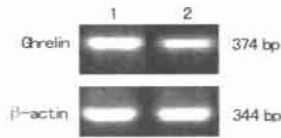


图 3. 血管组织生长素 mRNA 表达 1 为对照组, 2 为钙化组。

Figure 3. Expression of ghrelin mRAN in rat aorta

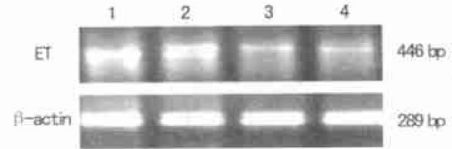


图 4. 血管组织内皮素 mRNA 表达 1 为对照组; 2 为钙化组; 3 为治疗组(低剂量); 4 为治疗组(高剂量)。

Figure 4. Expression of endothelin mRAN in rat aorta

2.6 Von Kossa 染色

钙化组大鼠主动脉组织, 尤其是中膜弹力纤维间可见大量钙沉积(黑色颗粒), 部分聚集成团并形成钙结节(图 5A, Figure 5A)。生长素治疗后大鼠血管的黑色颗粒减少, 无明显钙结节形成(图 5B, Figure 5B)。 β -甘油磷酸盐诱导大鼠 VSMC 呈聚集生长, VSMC 有大量黑色颗粒沉积, 而生长素处理后黑色颗粒明显减少。

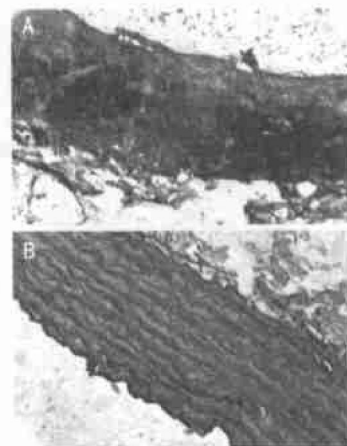


图 5. 血管组织 Von Kossa 染色 (10×40) A 为钙化组, B 为治疗组(高)。

Figure 5. Aorta Von Kossa's staining

3 讨论

以往认为血管钙化是组织钙盐“被动”沉积过

程,然而越来越多的证据表明,血管钙化是类似于骨和软骨发育及骨质疏松形成的“主动”可调节过程^[4]。近年发现这种调节是多因素参与的复杂过程,一些并不直接作用于钙磷代谢的血管活性肽,通过旁/自分泌的方式,也对血管钙化发生过程有着重要影响,如内皮素、血管紧张素 $\text{I}\alpha$ 和尾加压素 $\text{I}\alpha$ 等可促进血管钙化的发生,而肾上腺髓质素、G-型利钠利尿肽和甲状旁腺激素等则抑制血管钙化的发生^[1, 5]。这些资料表明血管组织局部的旁/自分泌功能紊乱可能是最终导致血管壁细胞向成骨样细胞表型转化以形成血管钙化的重要因素^[4, 5]。血循环中的生长素主要来源于胃粘膜,作用于中枢生长激素促分泌素受体,调节脑垂体分泌生长激素,在维持机体能量代谢中起重要作用^[6]。然而外周组织如心肌、主动脉、冠状动脉、肺动脉和静脉等均表达生长素并富含生长素受体^[7],提示生长素可通过非生长激素依赖的方式,以旁/自分泌方式发挥心血管的调节作用。

大剂量维生素 D_3 可造成动脉组织钙沉积,尼古丁可增强维生素 D_3 的反应,二者合用可导致动物心血管组织钙过负荷(calcium overload)模型^[2]。 β -甘油磷酸盐是体内有机磷供体,可提供富含钙磷的微环境,诱导细胞聚集形成多细胞结节,促进钙磷沉积于细胞内和组织间^[5]。本实验 β -甘油磷酸盐诱导VSMC发生钙化与文献[8]报道一致。本实验血管钙化大鼠血浆生长素水平明显降低,血管组织的生长素 mRNA 表达明显下调,表明血管钙化时血浆和组织局部内源性生长素调节系统可能受损。当外源性给予生长素,无论低或高剂量(30 或 300 nmol/kg)均明显减轻血管钙化程度。在离体培养的 β -甘油磷酸盐诱导 VSMC 钙化模型上,生长素($10^{-8} \sim 10^{-6}$ mol/L)共同孵育细胞,呈浓度依赖性降低 VSMC 钙化程度,提示内源性生长素可能参与血管钙化形成的调节,生长素可能作为血管钙化防治的新靶点。

生长素具有扩张血管、增强心肌收缩力、抑制炎症、减少缺血时心肌氧自由基生成和抑制细胞凋亡等心血管保护效应^[6, 9, 10],但其具体细胞保护机制尚不清楚。Shimizu 等^[9]证实生长素能促进血管内皮一氧化氮合酶的表达以保护血管内皮功能。最近 Wiley 等^[11]证实生长素是体内最强的内皮素拮抗剂。文献[12]报道,内皮素促进血管钙过负荷和诱导 VSMC 向成骨细胞表型转化,表明内皮素过表达是促进血管钙化发生的重要因素之一。本实验血管钙化大鼠血浆和血管组织的内皮素含量增加及血管

组织内皮素 mRNA 表达上调,而给予生长素治疗后血浆和血管组织的内皮素含量减少和 mRNA 表达下调,提示生长素对血管钙化的拮抗效应可能与下调内皮素表达并拮抗其效应有关。

本实验观察到生长素的血浆含量及其血管 mRNA 表达降低,采用不同浓度的生长素进行治疗可明显减轻动物和细胞钙化模型的钙化程度。本实验还观察到血管钙化时血浆和血管组织内皮素含量增加,血管组织内皮素 mRNA 表达上调,而外源性给予生长素治疗使血浆和血管组织的内皮素下调。本研究为生长素的保护效应提供了新的认识,并发现生长素抑制钙化的效应可能部分与干预血浆和血管组织的内皮素系统有关。生长素通过调节心血管局部组织的旁/自分泌功能产生心血管保护效应,可作为心血管疾病防治的新靶点,生长素与其他钙化调节因子如血管紧张素和尾加压素等的关系值得进一步研究。

[参考文献]

- [1] Tintut Y, Demer LL. Recent advances in multifactorial regulation of vascular calcification. *Curr Opin Lipidol*, 2001, **12** (5): 555-560
- [2] Niederhoffer N, Bobryshev YV, Lartaud-Idjouadiene I, Giummelly P, Atkinson J. Aortic calcification produced by vitamin D_3 plus nicotine. *J Vasc Res*, 1997, **34**: 386-398
- [3] Zhang B, Tang C, Du J. Changes of heme oxygenase-carbon monoxide system in vascular calcification in rats. *Life Sci*, 2003, **72** (9): 1 027-037
- [4] Wallin R, Wajih N, Greenwood GT, Sane DC. Arterial calcification: a review of mechanisms, animal models, and the prospects for therapy. *Med Res Rev*, 2001, **21** (4): 274-301
- [5] Huang Z, Li J, Jiang Z, Qi Y, Tang C, Du J. Effects of adrenomedullin, G-type natriuretic peptide, and parathyroid hormone-related peptide on calcification in cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2003, **42** (1): 89-97
- [6] Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth hormone releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 1999, **402**: 656-660
- [7] Papotti M, Ghe C, Cassoni P, Catapano F, Deghenghi R, Ghigo E, et al. Growth hormone secretagogue binding sites in peripheral human tissues. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, **85** (10): 3 803-807
- [8] Li J, Chai S, Tang C, Du J. Homocysteine potentiates calcification of cultured rat aortic smooth muscle cells. *Life Sci*, 2003, **74** (4): 451-461
- [9] Shimizu Y, Nagaya N, Teranishi Y, Imazu M, Yamamoto H, Shokawa T, et al. Ghrelin improves endothelial dysfunction through growth hormone-independent mechanisms in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, **310** (3): 830-835
- [10] Katugampola SD, Maguire JJ, Kuc RE, Wiley KE, Davenport AP. Discovery of recently adopted orphan receptors for apelin, urotensin II, and ghrelin identified using novel radioligands and functional role in the human cardiovascular system. *Can J Physiol Pharmacol*, 2002, **80** (5): 369-374
- [11] Wiley KE, Davenport AP. Comparison of vasodilators in human internal mammary artery: ghrelin is a potent physiological antagonist of endothelin-1. *Br J Pharmacol*, 2002, **136** (8): 1 146-152
- [12] 吴胜英, 张宝红, 蒋宏峰, 潘春水, 庞永政, 唐朝枢, 等. 血管钙化对血管组织内皮素表达的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2003, **11** (4): 277-282

(此文编辑 朱雯霞)