

血管局部转染脂联素基因的抗动脉粥样硬化作用

李长江¹, 张梅¹, 孙惠文¹, 张运¹, 王荣¹, 冯讲波¹, 朱发良²

(山东大学 1. 齐鲁医院心内科, 2. 医学院免疫所, 山东省济南市 250012)

[关键词] 病理学与病理生理学; 脂联素; 动脉粥样硬化; 基因转染; 黏附分子

目的 克隆新西兰大白兔脂联素 cDNA, 体外表达脂联素蛋白质, 探讨脂联素对动脉粥样硬化斑块的影响及作用机制。**方法** 逆转录聚合酶链反应方法克隆兔脂联素 cDNA 并测序, 采用 pGAPZα Pichia Expression Kit 试剂盒体外表达兔脂联素蛋白质。体外构建携带脂联素基因调控的肿瘤特异性非增殖型腺病毒(AdAPN), 充盈球囊拉伤腹主动脉后辅以 1% 高胆固醇饲料喂养, 构建动脉粥样硬化新西兰大白兔动物模型。高胆固醇喂养 3 月时, 血管内超声检查, 然后将实验动物随机分为 4 组, 将携带脂联素基因的腺病毒载体(AdAPN) 或表达 β 半乳糖苷酶的腺病毒载体(Adβgal) 转染到腹主动脉内膜和外膜。腺病毒转染 14 d 后, 血管内超声检查后处死取局部转染部位腹主动脉标本做病理组织学及分子生物学分析。**结果** 经逆转录聚合酶链反应方法克隆兔脂联素 cDNA, 测序证实含完整的开放性阅读框架(ORF), 核苷酸序列分析显示兔脂联素 cDNA 序列与人、小鼠源性分别为 86.39% 和 81.45%, 氨基酸序列的同源性分别为 85.66% 和 85.25%。Western blot 分析证实, 酵母上清液中含脂联素蛋白质, 分子质量约 30 kDa。血管内膜局部转染 AdAPN 后, 动脉粥样硬化斑块面积与转染前相比明显缩小达 35.17% (3.98 ± 0.32 比 $2.58 \pm 0.12 \text{ mm}^2$, $P < 0.01$), 与转染 Adβgal 相比斑块面积缩小 35.82% (4.02 ± 0.31 比 $2.58 \pm 0.12 \text{ mm}^2$, $P < 0.01$)。血管外膜转染 AdAPN 使斑块面积与转染前相比明显缩小 28.92% (4.08 ± 0.41 比 $2.90 \pm 0.23 \text{ mm}^2$, $P < 0.01$), 与外膜转染 Adβgal 相比斑块面积缩小 25.64% (3.90 ± 0.16 比 $2.90 \pm 0.23 \text{ mm}^2$, $P < 0.01$)。内膜转染 AdAPN 与转染 Adβgal 比较: 血管细胞粘附分子 1 mRNA 的表达降低 18.5% ($20.70\% \pm 1.29\%$ 比 $16.87\% \pm 0.88\%$, $P < 0.05$), 细胞间粘附分子 1 mRNA 的表达显著降低 40.7% ($2.70\% \pm 0.68\%$ 比 $1.60\% \pm 0.19\%$, $P < 0.01$)。外膜转染 AdAPN 与转染 Adβgal 比较: 血管细胞粘附分子 1 mRNA 的表达降低 26.9% ($21.70\% \pm 0.79\%$ 比 $15.87\% \pm 0.58\%$, $P < 0.01$), 细胞间粘附分子 1 mRNA 的表达降低 30.7% ($2.70\% \pm 0.21\%$ 比 $1.87\% \pm 0.19\%$, $P < 0.01$)。**结论** 新西兰大白兔脂联素基因序列与人和小鼠均具有高度同源性, 蛋白质分子质量与人脂联素分子质量大小相近。血管局部转染 AdAPN 后, 脂联素通过抑制血管壁黏附分子的表达改善动脉粥样硬化, 斑块面积缩小。

(此文编辑 胡必利)