

•研究论文摘要•

[文章编号] 1007-3949(2007)15-07-0556-01

血管紧张素转化酶 2 基因对人内皮细胞 巨噬细胞移动抑制因子表达的影响

钟久昌, 余细勇, 林秋雄, 黄晓忠, 李晓红, 杨 敏

(广东省人民医院医学研究中心; 广东省心血管研究所, 广东省广州市 510080)

[关键词] 病理学与病理生理学; 血管紧张素转化酶 2; 血管紧张素 Ang ; 巨噬细胞移动抑制因子; 炎症

目的 众多研究资料表明, 巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF) 是体内一种重要的细胞因子和炎症介质, 其在动脉粥样硬化发生中可能发挥重要作用。动脉粥样硬化中 MIF 能抑制巨噬细胞游走, 促进巨噬细胞在炎症局部浸润, 其过度调节可能在单核巨噬细胞的黏附、向内皮的迁移、聚集和转化形成泡沫细胞中起着重要作用, 巨噬细胞中高浓度的 MIF 可能促进和增强动脉粥样硬化的过程。本研究旨在探讨肾素血管紧张素系统新成员血管紧张素转化酶 2(angiotensin converting enzyme 2, ACE2) 基因对体外培养的人血管内皮细胞中 MIF 因子 mRNA 与蛋白表达的影响。

方法 采用 PCR 方法从人胎儿心脏 cDNA 文库扩增出人 ACE2 cDNA 全长基因, 克隆到 pcDNA3.1-D/V5-His 表达载体上, 构建重组真核表达质粒 phACE2, 经酶切和 DNA 测序鉴定。采用脂质体法将 phACE2 转染至人血管内皮细胞中, 分别利用实时定量 PCR 和 Western 印迹检测重组 ACE2, NADPH 氧化酶亚单位 p22phox 及 MIF 的 mRNA 和蛋白的表达情况。

结果 经 PCR、酶切和基因序列测定证实重组入载体的片段(2 419 bp) 为目的基因序列, 在转染的血管内皮细胞中发现 ACE2 的 mRNA 和蛋白的表达明显增加(P 均 < 0.01)。血管紧张素(Ang) Ang 与 Ang IV 刺激后可诱导人内皮细胞中 p22phox 和 MIF 因子的 mRNA 及蛋白表达大大增加, 而这种刺激效应可被重组 ACE2 基因转染所抑制(P 均 < 0.05)。

结论 成功构建并表达了含人 ACE2 基因全长的重组 pcDNA3.1 真核表达载体, 为该基因在动脉粥样硬化防治中的功效研究与药物开发奠定了基础。作为肾素血管紧张素系统新的调节子, ACE2 是迄今为止发现的人类 ACE 的第一个同源基因, 可直接对抗 Ang Ang 作用, 促进 Ang-(1-7) 的生成、改善胰岛素抵抗以及增加一氧化氮释放, 其基因或活性异常可能参与动脉粥样硬化的发生、发展。我们的研究结果表明, ACE2 基因过表达可以对抗血管内皮细胞中 Ang Ang 和 Ang IV 所诱导的促氧化及促炎症效应, 推测 ACE2 基因可能在动脉粥样硬化防治中发挥积极功效。

[基金项目] 第 39 批中国博士后科学基金(20060390195); 国家自然科学基金(30571850; 30672077); 广东省医学科研基金(A2006047)。

(此文编辑 胡必利)