

DPI 抑制高浓度葡萄糖诱导的人脐静脉内皮细胞 活性氧升高及对 NOX 亚单位表达的影响

郭芳¹, 丁莉², 孙文清¹, 屈顺林¹, 柯丽琴², 黎健³

(南华大学 1. 病理生理学教研室, 2. 心血管病研究所, 湖南省衡阳市 421001;

3. 北京医院卫生部北京老年医学研究所, 北京市 100730)

[关键词] 病理学与病理生理学; 高浓度葡萄糖诱导; 人脐静脉内皮细胞; 活性氧

背景和目的 动脉粥样硬化是糖尿病的严重及常见并发症。糖尿病的主要临床特点是血糖升高, 而高糖可以刺激血管产生氧化应激, 损伤内皮细胞, 诱发动脉粥样硬化。探讨氧化应激产生的机制, 抑制活性氧的产生, 对于防止糖尿病并发动脉粥样硬化有十分重要的作用。NADPH 氧化酶(NOX)是血管内皮细胞中活性氧产生的主要来源, 而 DPI 是 NADPH 氧化酶的抑制剂。本文采用高浓度葡萄糖及 NADPH 氧化酶抑制剂 DPI 预处理后再加入葡萄糖来处理人脐静脉内皮细胞(hUVEC), 观察细胞内活性氧的水平, 检测 NADPH 氧化酶的各个亚单位表达的变化。**方法** (1)用 ④型胶原酶消化分离培养 hUVEC。(2)将细胞分成正常对照组、20 mmol/L 甘露醇处理 4 h 对照组、20 mmol/L 葡萄糖处理 4 h 组、DPI 预处理 hUVEC 0.5 h 再加入 20 mmol/L 葡萄糖处理 4 h 组共四组。(3)以 DCFH-DA 为荧光探针, 流式细胞术检测细胞内活性氧的水平; RT-PCR、Western blotting 方法检测 NOX4、NOX2、p47phox、p67phox、p22phox 和 Rac-1 基因及蛋白表达水平。**结果** 葡萄糖处理组细胞内活性氧(1.33 ± 0.08)比正常对照组(1.00 ± 0.05)及甘露醇对照组(1.02 ± 0.07)均显著增高($P < 0.05$, $n = 3$); NADPH 氧化酶抑制剂 DPI 预处理组细胞内活性氧(0.54 ± 0.06)与葡萄糖处理组相比明显降低($P < 0.05$, $n = 3$)。RT-PCR 和 western blot 检测发现, 只有 NOX4 的基因及蛋白表达在高浓度葡萄糖处理后显著升高($P < 0.05$, $n = 3$), 加入 DPI 预处理 0.5 h 能够抑制高糖处理时导致的 NOX4 增高($P < 0.05$, $n = 3$); 而 NADPH 氧化酶其它亚单位则无明显变化。**结论** 1. 高浓度葡萄糖能够导致人脐静脉内皮细胞内活性氧明显升高; 在此过程中 NOX4 亚单位表达上调。2. NADPH 氧化酶抑制剂 DPI 能够抑制高浓度葡萄糖处理人脐静脉内皮细胞时导致

的活性氧升高及 NOX4 表达增高。

[基金项目] 国家自然科学基金(30440065);北京市自然科学基金(7052059)资助

[作者简介] 通讯作者黎健,联系电话 010-65237929。

(此文编辑 胡必利)