

# Cariporide 对糖基化终末产物所致血管平滑肌细胞增殖的影响

吴树金, 刘立英, 周寿红, 宋涛, 陈庚容, 黄宁江, 唐蜜蜜

(中南大学药学院, 湖南省长沙市 410078)

[关键词] 病理学与病理生理学; cariporide; 糖基化终末产物; 平滑肌细胞; pH 值; 细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度

[摘要] 目的 观察 cariporide 对糖基化终末产物所致大鼠血管平滑肌细胞增殖的影响。方法 采用组织贴块法原代培养大鼠胸主动脉平滑肌细胞。用体外制备的外源性糖基化终末产物和平滑肌细胞共孵育 24 h, 加入不同浓度的 cariporide (0.1、1.0 和 10  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理。用噻唑蓝比色法所测得的细胞吸光度值及考马斯亮蓝法测得的细胞总蛋白含量来反映细胞增殖情况, 利用 2,7-二羧乙基-5,6-羧基荧光素及钙荧光探针通过荧光分光光度计分别检测细胞内的 pH 值及  $\text{Ca}^{2+}$  浓度。结果 糖基化终末产物 (10 mg/L) 与平滑肌细胞共孵 24 h, 与正常对照组比较, 细胞吸光度值 ( $0.554 \pm 0.032$  比  $0.155 \pm 0.018$ ) 和细胞内总蛋白浓度均显著增加 ( $193.3 \pm 10.7 \mu\text{mol/L}$  比  $127.8 \pm 8.2 \mu\text{mol/L}$ ,  $P < 0.01$ ); cariporide 0.1、1.0 和 10  $\mu\text{mol/L}$  使细胞吸光度值从  $0.554 \pm 0.032$  分别降至  $0.402 \pm 0.028$ 、 $0.298 \pm 0.020$ 、 $0.174 \pm 0.019$ ; 细胞内总蛋白浓度也从 ( $193.3 \pm 10.7$ )  $\mu\text{mol/L}$  分别降至 ( $180.9 \pm 9.8$ )  $\mu\text{mol/L}$ , ( $156.4 \pm 9.4$ )  $\mu\text{mol/L}$ , ( $130.6 \pm 8.8$ )  $\mu\text{mol/L}$ , 同时 cariporide 也明显降低了糖基化终末产物处理后的平滑肌细胞内 pH 值及  $\text{Ca}^{2+}$  水平。结论 外源性糖基化终末产物能显著刺激平滑肌细胞的增殖; cariporide 对糖基化终末产物诱导的平滑肌细胞增殖具有显著抑制作用, 其机制可能与 cariporide 抑制细胞内糖基化终末产物诱导的 pH 值及  $\text{Ca}^{2+}$  水平升高有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Effect of Cariporide on AGEs-induced Proliferation of Aortic Smooth Muscle Cells in Rat

WU Shu-Jin, LIU Li-Ying, ZHOU Shou-Hong, SONG Tao, CHEN Geng-Rong, HUANG Ning-Jiang, and TANG Mi-Mi

(School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410078, China)

[KEY WORDS] Pathophysiology; Cariporide; Advanced Glycation End Products; Vascular Smooth Muscle Cell; Phi;  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 

[ABSTRACT] **Aim** To evaluate the effect of cariporide on the proliferation of rat aortic smooth muscle cells (VSMC) induced by advanced glycation end products (AGE). **Methods** The cultured vascular smooth muscle cells of rat (VSMC) were exposed to normal Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) or AGEs-supplemented DMEM for 24 hours in the presence or absence of cariporide. Proliferations of cells were observed by MTT colorimetric assay and determination of total protein level in cells. Intracellular pH and free  $\text{Ca}^{2+}$  concentration ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) were measured by using the pH-sensitive fluorescent dye BCECF and the Fura2 technique respectively. **Results** AGEs significantly increased the VSMC MTT light absorption ( $0.554 \pm 0.032$  vs  $0.155 \pm 0.018$ ) and total protein level compared with the control group ( $193.3 \pm 10.7 \mu\text{mol/L}$  vs  $127.8 \pm 8.2 \mu\text{mol/L}$ ,  $P < 0.01$ ); cariporide significantly inhibited these effects induced by AGEs in a concentration dependent manner. Cariporide 0.1, 1, 10  $\mu\text{mol/L}$  reduced the MTT light absorption, from  $0.554 \pm 0.032$  to  $0.402 \pm 0.028$ ,  $0.298 \pm 0.020$ ,  $0.174 \pm 0.019$  while the total protein level of cells from ( $193.3 \pm 10.7$ )  $\mu\text{mol/L}$  to ( $180.9 \pm 9.8$ )  $\mu\text{mol/L}$ , ( $156.4 \pm 9.4$ )  $\mu\text{mol/L}$ , ( $130.6 \pm 8.8$ )  $\mu\text{mol/L}$  respectively. Moreover, cariporide simultaneously reduced the intracellular pH and  $\text{Ca}^{2+}$  concentration. **Conclusion** AGE can significantly promote the VSMCs proliferation; cariporide can inhibit the VSMC proliferation induced by AGEs, the mechanism involves reducing the pH<sub>i</sub> and  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ .

平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 增殖是动脉粥样硬化发生发展的重要病理变化之一, 糖尿病时, 这种病变呈加速性发展, 即为糖尿病性加速性动脉粥样硬化病变<sup>[1,2]</sup>。糖基化终末产物

(advanced glycation end products, AGE) 是体内蛋白质赖氨酸的氨基部位、脂类或核酸与还原糖的羰基在无酶的条件下发生反应, 形成 Schiff 碱, 经 Amadori 反应重排后形成的相对稳定的糖基化产物<sup>[3,4]</sup>。AGE 与其受体 RAGE 结合后, 通过细胞内的信号转导途径<sup>[5]</sup>, 促进 VSMC 增殖, 从而导致糖尿病性加速性动脉粥样硬化的发生和发展。在 1 型和 2 型糖尿病病人或动物模型, 钠/氢交换蛋白 1 ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger 1, NHE1) 活性显著增加<sup>[6,7]</sup>, 且 NHE1 的活化与糖尿病血管动脉粥样硬化性改变密切相关<sup>[8,9]</sup>。NHE1 活化后可以导致细胞内碱化及  $\text{Ca}^{2+}$  浓度升

[收稿日期] 2008-04-14 [修回日期] 2008-09-15

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 [30600248]

[作者简介] 吴树金, 硕士, 研究方向为糖尿病血管并发症, 联系电话为 0731-2355085, E-mail 为 drug73@163.com。通讯作者刘立英, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为心血管药理, 联系电话为 0731-2355085, E-mail 为 liyingliu2004@yahoo.com.cn。周寿红, 博士研究生, 讲师, 主要研究方向为生理学和心血管药理学, E-mail 为 zhoushouhong@126.com。

高,从而在细胞增殖中起重要调节作用<sup>[10,11]</sup>。本研究用外源性 AGE 诱导的大鼠血管平滑肌细胞增殖模型观察了 NHE1 特异性抑制剂 cariporide 对平滑肌细胞增殖的影响,并初步探讨了其机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

SD 雄性大鼠由中南大学动物学部提供。cariporide(德国 Hoechst 公司赠送);DMEM 培养基、牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)、噻唑蓝和兔抗人平滑肌肌动蛋白( $\alpha 2$  smooth muscle actin, SMA)、2,7-二羧乙基-5,6 羧基荧光素(2'-7'-bis(carboxyethyl)-5(6)-carboxyfluorescein, BCECF)、Trypsin、尼日利亚菌素(nigericin)、Fura-2/AM 为 Sigma 公司产品;其余试剂均为化学分析纯。LS-50B 型荧光分光光度计,Shimadzu, Japan; IX-70 型荧光显微镜, Olympus, Japan; CO<sub>2</sub> 细胞培养箱, SHEL-LAB, USA。

### 1.2 糖基化终末产物修饰的牛血清白蛋白的体外制备<sup>[12]</sup>

配制 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液 PBS 含 NaCl 8.00 g/L, KCl 0.20 g/L, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 1.56 g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.20 g/L, pH 7.4), 然后将 BSA(10 g/L)、葡萄糖(90 g/L)、青霉素(100 ku/L)与链霉素(100 g/L)分别溶于上述 PBS 中,充分摇匀、室温过夜;0.22  $\mu$ m 针头过滤器过滤,灭菌封口后置 37 °C 恒温箱避光孵育 12 周后取出,再转移至 4 °C 冰箱无菌保存备用。使用前,将制备糖基化终末产物修饰的牛血清白蛋白(AGE-BSA)装入透析袋,放入 pH 7.4 的无菌 PBS 透析液中,透析 48 h,中途更换 PBS 液 3~4 次,除去未结合的葡萄糖,再次用 0.22  $\mu$ m 针头过滤器过滤。取制备的样品用 LS-50B 型荧光分光光度计鉴定,在激发波长 370 nm,发射波长 440 nm 处释放荧光。以同样条件制备不含葡萄糖的 BSA 作为 AGE 的对照。

### 1.3 血管平滑肌细胞的培养<sup>[13]</sup>

采用贴块法原代培养 VSMC:取 120~180 g 雄性 SD 大鼠,麻醉后颈动脉放血致死,开胸,迅速取出胸主动脉,剥去血管内、外膜,剪成 1 mm<sup>2</sup> 组织块,贴于培养瓶内,加入含 15% 胎牛血清的 DMEM 培养基,置于 CO<sub>2</sub> 培养箱培养。6 h 后将培养瓶缓慢原位翻转后继续培养,至第 5 天时,可见少量梭形或长梭形细胞自组织块周围游出,培养 3 周后,细胞融合成片,呈“峰、谷”状生长。用 0.25% 胰蛋白酶消化,采用爬片法接种于六孔培养板的盖玻片上,使之在盖玻片上继续生长,至单层融合后取出晾干,丙

酮固定,经 SMA 单抗免疫组织化学染色证实为 VSMC,纯度 > 95% 时,继续传代培养,取 4~8 代生长良好的细胞用于实验。

### 1.4 实验分组

实验分组: 正常对照组; ④ BSA 对照组(10 mg/L); ④ AGE 组(10 mg/L); ~ 组 AGE+ cariporide 组(AGE 为 10 mg/L, cariporide 分别为 0.1、1.0 和 10.0  $\mu$ mol/L)。VSMC 与 AGE-BSA 或 BSA 共孵 24 h,在 ~ 组 VSMC 先与 cariporide 预孵 12 h,然后再与 AGE 继续共孵 24 h。

### 1.5 噻唑蓝比色实验

将生长良好的 4~8 代 VSMC 用 0.25% 胰蛋白酶消化,制成悬浮液,以  $1 \times 10^7$ /L 密度接入 96 孔培养板,100  $\mu$ L/孔,每组设 8 个平行孔。用含 15% 胎牛血清的 DMEM 培养至 60% 融合后,弃培养液,换以 0.5% 血清的 DMEM 继续培养 24 h,使细胞静止于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期,弃该培养液,然后按上述分组加入各处理因素,继续培养 24 h,然后每孔加入 MTT 溶液 10  $\mu$ L,继续孵育 4 h,弃上清液,加入 DMSO 75  $\mu$ L/孔,振荡 10 min,使结晶物溶解,选择 490 nm 波长,在酶联免疫检测仪上测定各孔 A<sub>490</sub> 值。

### 1.6 细胞总蛋白含量的测定

采用考马斯亮蓝法测定大鼠胸主动脉平滑肌细胞总蛋白含量:将 VSMC 用 0.25% 胰蛋白酶消化后制成悬浮液,按  $1 \times 10^7$ /L 密度接种于 24 孔板,每孔 1 mL,用含 15% 胎牛血清的 DMEM 培养 24 h 后换 0.5% 血清 DMEM 继续培养 24 h,使细胞同步化。弃该培养液,按上述分组加入各处理因素,继续培养 24 h 后用 0.25% 胰蛋白酶消化,悬浮于 PBS 中,以 1 kr/min 离心 5 min,弃上清,加入 0.1% SDS 液 0.5 mL 置 100 °C 水浴 30 min,使细胞裂解。取 100  $\mu$ L 上述裂解液与 0.01% 的考马斯亮兰液 1 mL 混匀,净置 10 min,用分光光度计在 595 nm 波长处测定吸光值。以 BSA 为标准品绘制标准曲线,根据标准曲线推算标本总蛋白的含量。

### 1.7 细胞内 pH 测定

将高压灭菌后的盖玻片(13 mm  $\times$  30 mm)置于 60 mm 直径的细胞培养皿中,将 VSMC 按  $1 \times 10^8$ /L 的密度接种到盖玻片上,孵育 24 h 后,按要求加入各因素处理。将盖玻片从培养皿中取出,放入 37 °C PBS 缓冲液漂洗 5 min,将漂洗后的玻片放入含 BCECF 的 PBS 中,于 37 °C 避光继续孵育 30 min。负载后,将玻片放入普通 PBS 中漂洗 2~3 min,使未进入细胞的 BCECF 洗脱。将玻片固定至荧光分光光度计,激发光波长为 495 nm,440 nm,发射波长为 530

nm, 激发波与发射波的狭缝为 10 nm。以 495 nm 和 440 nm 处荧光强度的比值经标准曲线校正, 转换为相应的细胞内 pH 值。所有测定均在 37 °C 下进行。标准曲线采用 Nigtricin 法绘制。将负载后的细胞分别置于不同 pH 值 (6.8~7.8) 含 Nigtricin 的 PBS 缓冲液中, 37 °C 孵育 10 min, 使  $[H^+]_{out} = [H^+]_{in}$ , 测定在这种细胞外不同 pH 值条件下所对应的 BCECF 的荧光强度比值, 绘制成标准曲线。

### 1.8 细胞内 $Ca^{2+}$ 浓度测定<sup>[14]</sup>

细胞培养及药物处理和漂洗过程同细胞内 pH 的测定。将漂洗后的玻片放入含 Fura-2/AM (终浓度为 5  $\mu$ mol/L) 的 3 mL PBS (含 0.02% PluronicF-127) 中, 37 °C 避光孵育 1 h。负载后, 再将玻片放入 PBS 中漂洗 2~3 min, 使未进入细胞的 Fura-2/AM 洗脱。将玻片固定至 LS-50B 型荧光分光光度计支架后放入预先加入 37 °C PBS 的石英比色杯中, 调整激发光波长为 340 nm, 380 nm, 发射波长为 510 nm, 激发波与发射波的狭缝为 10 nm, 测定荧光强度值 R (340 nm 和 380 nm 的荧光强度比值  $F_{340}/F_{380}$ ); 然后在石英杯内加入终浓度为 0.1% 的 Triton-X100, 在上述波长条件下测定荧光强度值  $R_{max}$ ; 弃去石英杯内液体, 并用 PBS 冲洗石英杯, 加入 3 mL 37 °C PBS (含 3% EDTA), 在上述波长下再测定荧光强度值  $R_{min}$ 。所有测定值均在 37 °C 条件下进行。内皮细胞内  $Ca^{2+}$  浓度的计算公式:  $[Ca^{2+}]_i = K \times (R - R_{min}) / (R_{max} - R)$ , 其中 K 为 Fura-2 与  $Ca^{2+}$  的解离常数, 等于 224 mol/L。

### 1.9 统计学分析

组间比较用方差分析及 Newman-Student 多重比较, 由 SPSS 11.0 统计软件完成。双侧  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 cariporide 对糖基化终末产物诱导的血管平滑肌细胞增殖的影响

与正常组比较, BSA 组差异无显著性, 而 AGE 处理组的大鼠 VSMC MTT 光吸收值和细胞内总蛋白浓度显著升高 ( $P < 0.01$ ), cariporide (0.1、1.0 和 10.0  $\mu$ mol/L) 浓度依赖性地降低了 AGE 诱导的吸光度值和细胞内总蛋白浓度值 (表 1)。

### 2.2 cariporide 对糖基化终末产物诱导的血管平滑肌细胞内 pH 值的影响

AGE-BSA 与 VSMC 孵育 24 h 后, 引起了细胞内 pH 值升高, 与正常对照组比较, 差异具有非常显著

性 ( $P < 0.01$ )。加入 cariporide (0.1、1.0 和 10.0  $\mu$ mol/L) 与 AGE-BSA 共同孵育后, cariporide 能明显抑制 AGE-BSA 引起的 pH 值升高, 并呈浓度依赖性 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ , 表 2)。

表 1. cariporide 对糖基化终末产物处理的大鼠主动脉平滑肌细胞光吸收值和总蛋白浓度的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 8$ )

分 组	吸光度值	总蛋白浓度 ( $\mu$ mol/L)
空白对照组	0.155 $\pm$ 0.018	127.8 $\pm$ 8.2
BSA 对照组	0.157 $\pm$ 0.021	129.4 $\pm$ 7.9
AGE 10 mg/L 处理组	0.554 $\pm$ 0.032 <sup>a</sup>	193.3 $\pm$ 10.7 <sup>a</sup>
AGE 10 mg/L+ 0.1 $\mu$ mol/L cariporide 组	0.402 $\pm$ 0.028 <sup>b</sup>	180.9 $\pm$ 9.8
AGE 10 mg/L+ 1.0 $\mu$ mol/L cariporide 组	0.298 $\pm$ 0.020 <sup>c</sup>	156.4 $\pm$ 9.4 <sup>c</sup>
AGE 10 mg/L+ 10.0 $\mu$ mol/L cariporide 组	0.174 $\pm$ 0.019 <sup>c</sup>	130.6 $\pm$ 8.8 <sup>c</sup>

a 为  $P < 0.01$ , 与正常对照组比较, b 为  $P < 0.05$ , c 为  $P < 0.01$ , 与 AGE 处理组比较。

表 2. 不同浓度的 cariporide 对糖基化终末产物处理的大鼠主动脉平滑肌细胞内 pH 值的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 8$ )

分 组	细胞内 pH
空白对照组	7.078 $\pm$ 0.058
BSA 对照组	7.090 $\pm$ 0.047
AGE 10 mg/L 处理组	7.352 $\pm$ 0.029 <sup>a</sup>
AGE 10 mg/L+ 0.1 $\mu$ mol/L cariporide 组	7.270 $\pm$ 0.035 <sup>b</sup>
AGE 10 mg/L+ 1.0 $\mu$ mol/L cariporide 组	7.160 $\pm$ 0.047 <sup>c</sup>
AGE 10 mg/L+ 10.0 $\mu$ mol/L cariporide 组	7.060 $\pm$ 0.038 <sup>c</sup>

a 为  $P < 0.01$ , 与正常对照组比较, b 为  $P < 0.05$ , 与 AGE-BSA 处理组比较, c 为  $P < 0.01$ , 与 AGE 处理组比较。

### 2.3 cariporide 对糖基化终末产物诱导的血管平滑肌细胞内 $Ca^{2+}$ 浓度的影响

与正常对照组比较, AGE-BSA (10 mg/L) 与 VSMC 共孵育 24 h 后使  $Ca^{2+}$  显著升高 ( $P < 0.01$ )。加入 cariporide (0.1、1.0 和 10.0  $\mu$ mol/L) 预孵 12 h, 再加入 AGE-BSA 共同孵育 24 h 后, cariporide 能浓度依赖性的抑制 AGE-BSA 引起的  $Ca^{2+}$  升高 ( $P < 0.01$ )。

表 3. 不同浓度的 cariporide 对糖基化终末产物处理的大鼠主动脉平滑肌细胞内  $Ca^{2+}$  值的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 8$ )

分 组	细胞内 $Ca^{2+}$ 值 (nmol/L)
空白对照组	102 $\pm$ 4
BSA 对照组	104 $\pm$ 5
AGE 10 mg/L 处理组	497 $\pm$ 18 <sup>a</sup>
AGE 10 mg/L+ 0.1 $\mu$ mol/L cariporide 组	323 $\pm$ 9 <sup>b</sup>
AGE 10 mg/L+ 1.0 $\mu$ mol/L cariporide 组	231 $\pm$ 14 <sup>b</sup>
AGE 10 mg/L+ 10.0 $\mu$ mol/L cariporide 组	185 $\pm$ 13 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.01$ , 与正常对照组比较, b 为  $P < 0.01$ , 与 AGE 处理组比较。

### 3 讨论

糖尿病血管并发症是糖尿病致残和致死的最主要原因, AGE 是导致和促进其发生和发展的重要危险因素之一。本研究发现大鼠给予外源性 AGE 后引起 VSMC 明显增殖, 表现为细胞光吸收值和细胞内总蛋白浓度明显增多, 同时细胞内 pH 值和  $\text{Ca}^{2+}$  浓度亦明显升高, NHE1 抑制剂 cariporide 可浓度依赖性的抑制这些效应。

钠/氢交换蛋白 1(NHE1) 参与包括平滑肌细胞在内的多种细胞的增殖活动, 以往的研究报道多种生长因子包括胰岛素样生长因子 1, 血管紧张素 II, 血小板样生长因子等均可刺激血管平滑肌细胞增殖, 且体内外实验均证实 NHE1 的特异性抑制剂可以抑制平滑肌细胞的增殖<sup>[8-15]</sup>, 这证实 NHE1 除了维持细胞的内环境稳定外, 还参与了细胞增殖的过程。NHE1 介导细胞增殖的机制首先与其活化后导致细胞内碱化有关。NHE1 是调节细胞内 pH 值的重要跨膜蛋白, 它依赖于细胞内外的  $\text{Na}^+$  和  $\text{H}^+$  的浓度梯度按 1:1 的电中性比例从细胞外泵入  $\text{Na}^+$ , 从细胞内泵出  $\text{H}^+$  以维持细胞内 pH 值。当各种因素诱导使 NHE1 活化后, 细胞内 pH 值升高, 可促进细胞周期从  $\text{G}_0/\text{G}_1$  进入 S 期, 并可刺激细胞内蛋白质, DNA 及 RNA 的合成, 从而促进细胞的增殖<sup>[16]</sup>; 另一方面, NHE1 活化后, 通过  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交换机制使细胞内  $\text{Na}^+$  水平升高, 经  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交换机理, 增加  $\text{Ca}^{2+}$  内流, 而  $\text{Ca}^{2+}$  是细胞内增殖的重要条件<sup>[17]</sup>。

本实验发现 cariporide 能抑制 AGE 诱导的平滑肌细胞增殖, cariporide 是已知的 NHE1 的特异性抑制剂, 故间接证明了 NHE1 可能参与了 AGE 诱导的平滑肌细胞的增殖过程。为了进一步探讨 cariporide 抑制 AGE 诱导的平滑肌细胞增殖的机制是否与改变细胞内 pH 值与  $\text{Ca}^{2+}$  浓度有关, 本实验检测了细胞内的 pH 值与  $\text{Ca}^{2+}$  浓度, 结果显示 cariporide 在抑制 AGE 诱导的 VSMC 增殖的同时也降低了 AGE 诱导的细胞 pH 值和  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的升高, 说明其抑制作用可能与降低细胞内 pH 值和  $\text{Ca}^{2+}$  水平有关。AGE 促进平滑肌细胞增殖与其诱导增高细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  水平有关<sup>[19]</sup>, 但机制不明, 根据以上论述, 作者推测可能是通过活化 NHE1 而导致细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的升高。本研究证明选择性 NHE1 抑制剂 cariporide 对 AGE 诱导的大鼠血管平滑肌细胞增殖具有抑制作用, 其机制可能与降低细胞内 pH 值和  $\text{Ca}^{2+}$  浓度有

关。此外, 研究结果提示 NHE1 的活化可能为 AGE/RAGE 致平滑肌细胞增殖的细胞内信号转导通路上的重要环节, 其具体机制仍需进一步探讨。

#### [参考文献]

- [1] Natarajan R, Gonzales N, Xu L. Vascular smooth muscle cells exhibit increased growth in response to elevated glucose [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992, **187** (1): 552-560.
- [2] Yemeni KK, Bai W, Khan BV, et al. Hyperglycemia induced activation of nuclear transcription factor kappaB in vascular smooth muscle cells [J]. *Diabetes*, 1999, **48** (4): 855-864.
- [3] Jakus V, Rietbrock N. Advanced glycation end-products and the progress of diabetic vascular complications [J]. *Physiol Res*, 2004, **53** (2): 131-142.
- [4] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications [J]. *Nature*, 2001, **414** (6 865): 813-820.
- [5] 郑超, 文格波. 晚期糖化终产物在糖尿病血管并发症中的致病机制 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2000, **8** (3): 270-272.
- [6] Sweeney FP, Siczkowski M, Davies JE, et al. Phosphorylation and activity of  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger isoform 1 of immortalized lymphoblasts in diabetic nephropathy [J]. *Diabetes*, 1995, **44** (10): 1 180-185.
- [7] Siczkowski M, Ng LL. Glucose-induced changes in activity and phosphorylation of the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger, NHE-1, in vascular myocytes from Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats [J]. *Metabolism*, 1996, **45** (1): 114-119.
- [8] Hannan KM, Little PJ. Mechanisms regulating the vascular smooth muscle  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger (NHE-1) in diabetes [J]. *Biochem Cell Biol*, 1998, **76** (5): 751-759.
- [9] Wu CH, Huang CM, Lin CH, et al. Advanced glycosylation end products induce NF-kappaB dependent iNOS expression in RAW 264.7 cells [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2002, **194** (1-2): 9-17.
- [10] M Baumgartner, H Patel, DL Barber.  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger NHE-1 as plasma membrane scaffold in the assembly of signalling complexes [J]. *Am J Physiol*, 2004, (287): 844-850.
- [11] Incepi S, Rizvi SI, De Vito P, et al. Insulin stimulation of  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter in L-6 cells: different mechanisms in myoblast and myotubes [J]. *J Cell Physiol*, 1997, (171): 235-242.
- [12] Vlassara H, Striker LJ, Teichberg S. Advanced glycation end products induce glomerular sclerosis and albuminuria in normal rats [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, **91** (24): 11 704-708.
- [13] 盛林, 马承恩, 郝琳, 等. 普罗布考抑制过氧化氢刺激大鼠主动脉平滑肌细胞增殖的机制 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, **15** (9): 678-682.
- [14] Maruyama K, Ohta T, Ito S. Involvement of mitochondrial  $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$  exchanger in intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  increase induced by ATP in PC12 cells [J]. *Brain Res*, 2004, **1 013** (1): 40-50.
- [15] Rao GN, Sardet C, Pouyssegur J, et al. Differential regulation of  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter gene expression in vascular smooth muscle cells by hypertrophic and hyperplastic stimuli [J]. *J Biol Chem*, 1990, **265** (32): 19 393-396.
- [16] Wakabayashi I, Poteser M, Groschner K. Intracellular pH as a determinant of vascular smooth muscle function [J]. *J Vasc Res*, 2006, **43** (3): 238-250.
- [17] Quinn DA, Dahlberg CG, Bonventre JP, et al. The role of  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange and growth factors in pulmonary artery smooth muscle cell proliferation [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1996, **14** (2): 139-145.
- [18] Satoh H, Togo M, Hara M, et al. Advanced glycation endproducts stimulate mitogen-activated protein kinase and proliferation in rabbit vascular smooth muscle cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, **239** (1): 111-115.
- [19] Jin H, Liu NF, Tang R. Effect of advanced glycation end products on proliferation and cytosolic free calcium in cultured rat aortic smooth muscle cells [J]. *Acta Pharmacol Sinica*, 1997, **18** (5): 422-425.

(此文编辑 李小玲)