

[文章编号] 1007-3949(2010)18-04-0273-06

· 实验研究 ·

福辛普利对自发性高血压大鼠脑超微结构及 Klotho 基因表达的影响

李湘民¹, 周巧玲²

(中南大学湘雅医院 1. 急诊科; 2. 肾内科, 湖南省长沙市 410008)

[关键词] 高血压; 大鼠; Klotho 基因; 福辛普利; 干预

[摘要] 目的 观察药物干预后高血压脑损害的超微结构及其脑组织中 Klotho 基因和微炎症因子——血管细胞粘附分子 1 和细胞间粘附分子 1 的表达状况。方法 选取 22 周龄雄性自发性高血压模型鼠 10 只, 随机分为高血压组与福辛普利干预组 (5 只/组), Wistar-kyoto 大鼠 (WKY) 5 只作为正常对照组。通过电镜观察各组大鼠脑的超微结构, 通过 RT-PCR 检测、免疫组织化学技术和 western 印迹检测 Klotho 基因和微炎症因子血管细胞粘附分子 1 和细胞间粘附分子 1 的表达状况。结果 高血压损害脑神经元的结构, 主要表现为细胞固缩、染色质边集、典型凋亡小体形成, 但经过福辛普利干预后, 其神经元损害有所减轻。RT-PCR 结果显示福辛普利干预能够上调 Klotho 基因 mRNA 表达 ($P < 0.05$), 下调微炎症因子血管细胞粘附分子 1 和细胞间粘附分子 1 mRNA 的表达 ($P < 0.01$); 免疫组织化学技术和 Western-blot 检测证实福辛普利干预能够增加 Klotho 蛋白的表达, 同时减血管细胞粘附分子 1 和细胞间粘附分子 1 蛋白的表达。结论 福辛普利能够上调 Klotho 的表达, 改善高血压脑超微结构的改变。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Changes of the Ultrastructure in the Brain Tissue and Effect of Expression of Klotho Gene of the Spontaneously Hypertensive Rat Interference with Fosinopril

LIXiangmin and ZHOU Qiao-Ling

(Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, Hunan 41008 China)

[KEY WORDS] Hypertension; Rat; Klotho Gene; Fosinopril; Interference

[ABSTRACT] **Aim** To observe the changes of the ultrastructure and expression of Klotho, intercellular adhesion molecular-1 (ICAM-1) and vascular cellular adhesion molecular-1 (VCAM-1) genes in the brain tissue of the spontaneously hypertensive rat model treated by medicines. **Methods** 10 male spontaneously hypertensive rats of 22 weeks age were selected and randomly divided to hypertension and Fosinopril interventive groups while 5 Wistar-kyoto rats were set as normal contrast group. The brain ultrastructure of all groups were observed by electron microscope. The expression status of micro-inflammatory factor (ICAM-1 and VCAM-1) and Klotho gene were detected with RT-PCR, immunohistochemistry and western blotting. **Results** Hypertension might affect the structures of brain neuron, such as nucleus aggregation, nucleus condensation, nucleus fragmentation and apoptotic body formation. But fosinopril treatments could reduce the damage of brain neuron. By RT-PCR, Fosinopril treatments could up-regulate the mRNA expression of Klotho gene ($P < 0.05$) and down-regulate the mRNA expression of ICAM-1 and VCAM-1 gene in the brain tissue of the SHR group ($P < 0.01$). At the same time, the results of immunohistochemistry and western-blot verified that fosinopril increased the protein expression of Klotho and depressed the protein expression of ICAM-1 and VCAM-1. These results suggested that fosinopril could protect the neuron function by regulating the expression of Klotho gene and ICAM-1 and VCAM-1. **Conclusion** Fosinopril could resume the ultrastructure in the brain tissue of the spontaneously hypertensive rat.

Klotho 基因在人类及小、大鼠染色体中分别定位于 13q12 和 12q12, 编码 1014 和 1012 个氨基酸。Klotho 基因 cDNA 长度为 5.2 kb, 在进化过程中高度保守, 大鼠和小鼠间有 93% 的同源性, 人和大鼠间有 83% 同源性, 人和小鼠间有 80% 同源性。已有

研究表明 Klotho 基因参与了保护血管内皮细胞, 降低血管压力, 防止动脉硬化的过程^[1]。Nagai 等^[2]通过对 Klotho 基因缺陷大鼠及高血压、高血脂大鼠的研究证实 Klotho 蛋白及其代谢产物能促进 eNO 在大动脉及微动脉的合成, 而持续性循环内应力则能使肾脏 Klotho mRNA 表达下调。利用基因转染技术干预 OLETF 大鼠 (具有高血压、高血糖、高血脂、肥胖等致动脉粥样硬化因素) 实验发现, Klotho 基因能减轻血管内皮功能障碍, 增加 NO 产生, 降低血压, 防止血管中层肥厚和管壁纤维化^[3,4]。众所周

[收稿日期] 2009-09-25 [修回日期] 2010-02-25

[作者简介] 李湘民, 博士, 副教授, E-mail 为 lxm8229@126.com。通讯作者周巧玲, 教授, 博士研究生导师, 联系电话为 0731-84328315, E-mail 为 zhouqling@yahoo.com.cn。

知, 高血压发生、发展过程中, 血管内皮受到损伤, 启动体内的炎症细胞、如巨噬细胞与中性粒细胞增多, 并分泌多种炎症介质与细胞因子, 特别是细胞黏附分子、如血管细胞粘附分子 1 (intercellular adhesion molecular-1, ICAM-1) 和细胞间粘附分子 1 (vascular cellular adhesion molecular-1, ICAM-1) 等在免疫炎症反应中起重要介导作用^[5,6]。进一步的研究证实 ICAM-1 不仅参与高血压发生, 而且与高血压的严重程度有关^[7-9]。自发性高血压鼠 (spontaneously hypertensive rats SHR) 作为模型鼠, 在高血压研究等领域已有非常广泛的应用^[10-12]。

为进一步探讨 Klotho 基因与高血压发生以及发生后脑超微结构的变化, 本研究以自发性高血压模型鼠作为研究对象, 观察高血压脑损害的超微结构及其脑组织中 Klotho 基因和微炎症因子 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达状况; 通过福辛普利干预, 观察药物干预后 Klotho 基因和微炎症因子表达水平变化, 为今后高血压脑损害研究提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验动物与分组

22 周龄雄性自发性高血压大鼠 (Spontaneously hypertensive rat SHR) 10 只, 22 周龄雄性 Wistar-kyoto 大鼠 5 只, 以上动物均由史莱克实验动物研究所提供。10 只雄性 SHR (22 周龄) 随机分为 2 组: 高血压组 (SHR 组, 非药物干预, 蒸馏水处理), 福辛普利干预组, 每组 5 只。5 只 Wistar-kyoto 大鼠作为正常对照组。

1.2 药物及干预方法

福辛普利 (Fosinopril 简称 Fos), 商品名为蒙诺[®], 10 mg/片, 国药准字: H19980197, 由中美上海

施贵宝制药有限公司生产并惠赠。Fos 组: 以 Fos 10 mg/(kg·d) 灌胃; 高血压组 (SHR 组) 和正常对照组分别给予蒸馏水清晨灌胃。各组大鼠自由进食、饮水, 共喂养 8 周至 30 周龄。

1.3 实验标本采集和处理

各组大鼠实验结束时 (30 周龄), 分别称体重, 测尾动脉血压, 用 10% 水合氯醛溶液 0.35 mL/100 g 腹腔麻醉, 固定于蛙板上, 剖开颅腔, 取出大脑。将大脑组织纵向切开, 一半置于多聚甲醛液中固定后, 常规石蜡包埋, 置于电镜下观察超微结构及免疫组织化学染色方法观察其病理改变; 另一半大脑组织用生理盐水和 0.1% 焦碳酸二乙酯 (diethyl pyrocarbonate, DEPC) 水冲洗后, 保存于液氮中, 用于 RT-PCR 和 Western Blotting 检测。

1.4 电镜样品制备与电镜观察

各组大鼠实验结束时 (30 周龄), 按 1.3 所述方法采集脑组织, 置于多聚甲醛液中固定, 常规石蜡包埋。样品 (石蜡块样品) 经二甲苯脱蜡。100% 丙酮置换二甲苯四次后按常规电镜样品制备。0.1 mol/L PBS 漂洗 3 次, 10 min/次。1% 锇酸后固定 1 h。0.1 mol/L PBS 漂洗 3 次, 10 min/次。丙酮各级脱水 (50% → 70% → 90% → 100%)。Epon812 环氧树脂包埋剂与 100% 丙酮 1:1 浸泡。Epon812 环氧树脂包埋剂浸泡包埋。瑞典 LKB 公司 11800 型修块机修块定位。瑞典 LKB 公司 8800 型超薄切片机切片。醋酸锂、硝酸铅双重染色。电镜观察。

1.5 引物

Klotho, ICAM-1, VCAM-1 以及内参 β -actin 基因的 RT-PCR 引物均由上海生物工程有限公司合成, 其引物序列、产物片段大小以及退火温度见表 1。

表 1. Klotho, ICAM-1, VCAM-1 以及内参 β -actin 基因的 RT-PCR 引物

基因名称	引物位置	序列	变性温度	退火温度	延伸温度	循环数	产物大小 (bp)
Klotho	上游	5'-CAATGGCTTCCCTCCTTTAC-3'	94°C	56°C	72°C	30	512
	下游	5'-AGCACAGGTTTGCGTAGTCT-3'					
ICAM-1	上游	5'-AGACACAAGCAAGAGAAGAAAAGG-3'	94°C	60°C	72°C	30	477
	下游	5'-TTGGGAACAAAGGTAGGAATGTAT-3'					
VCAM-1	上游	5'-ACACCTCCCCCAAGAATACAG-3'	94°C	57°C	72°C	30	425
	下游	5'-GCTCATCTCAACACCCACAG-3'					
β -actin	上游	5'-CGTTGACATCCGTAAAGAC-3'	94°C	57°C	72°C	30	201
	下游	5'-TGGAAGGTGCACAGTGA-3'					

1.6 RT-PCR 检测

按 Trizol 试剂说明提取脑组织总 RNA, 无

RNase 的 DNase 消化去除基因组 DNA, 紫外分光光度计定量, 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测质量, 随后进

行 mRNA 的逆转录。RT-PCR 反应条件为 94℃预变性 5 min, 94℃变性 30 s 退火 30 s 72℃延伸 1 min 循环 30 次, 72℃ 10 min 终止反应, 4℃冷却。PCR 扩增产物 -20℃保存, 备用于琼脂糖凝胶电泳、照相及图像半定量分析。

1.7 免疫组织化学分析

免疫组织化学染色为 SP 法, 具体操作过程参见文献 [13-15]。三种抗体染色判断均以说明书为准, 出现在细胞浆或细胞间质为阳性染色。各切片以上述标准作为阳性判断标准, 10% 以上细胞染色计为阳性染色; 显微镜显影系统采集图像, 随机选择 3 个视野 ($\times 400$) 计算机自动测量计算阳性信号积分光密度 (A 值) / (超清晰病理图文分析系统 PIP-2000)。免疫组织化学评分: 随机选取至少 10 个高倍镜视野 ($\times 200$), 至少计数 1 000 个细胞, 以积分法计算结果。即根据每张切片的染色强度和阳性细胞比例计分。着色强度: 无色为 0 分; 浅黄色为 1 分; 棕黄色为 2 分; 棕褐色为 3 分。着色细胞比例: 无着色为 0 分; < 30% 为 1 分; 30% ~ 60% 为 2 分; $\geq 60\%$ 为 3 分。两者相加 0~2 分为弱阳性; 3~4 分为阳性; 5~6 分为强阳性。

1.8 Western Blotting 检测

取新鲜的脑活检组织标本保存于 -80℃液氮。裂解液按 1 L/100 g 组织加入 EP 管中, 充分混匀后置冰上 30 min 间断振荡, 4℃, 12 kr/min $\times 20$ min, 取上清蛋白置入 EP 管 -20℃保存。将不同浓度梯度蛋白质溶液 (BSA 及待测蛋白样品) 移至试管; 试管中补加实验用缓冲液至终体积 100 μ L, 加入 1 mL Bradford 工作液震荡混匀, 2 min 后, 分光光度计测 A₅₉₅ 值。根据 BSA 吸光度值制标准曲线, 根据标准曲线确定样品浓度。图像扫描: 在半定量分析结果时, 将压片显影得到的 X 线胶片扫描入图像分析系统中, 以 UV Iphoto UV Isoft UV Ibrand Application V 97.04 软件包测定各样品中 Klotho 和 ICAM-1、VCAM-1 蛋白条带与 GAPDH 条带的灰度, 二者相比较分别得到灰度相对比值, 间接反映各样品 Klotho 与 ICAM-1、VCAM-1 蛋白表达水平。

1.9 主要试剂与仪器

免疫组织化学试剂盒 (K II-5002 一步法检测, 福州迈新生物工程有限公司), 1 000 bp DNA Ladder (北京天为时代科技有限公司)。VCAM-1 兔抗鼠多克隆抗体, R&D 公司; ICAM-1 羊抗鼠多克隆抗体, Santa Cruz 公司; Klotho 兔抗鼠多克隆抗体, US Biological 公司; GAPDH 羊抗鼠单克隆抗体 (克隆号: 2005079), 武汉博士德生物工程有限公司; 鼠抗羊

IgG /HRP, ZB2306 (对应一抗为 ICAM-1), 中杉金桥; 羊抗兔 IgG /HRP (Catalogb sc-2030) (对应一抗为 VCAM-1&Klotho), Santa Cruz 公司; HRP-羊抗鼠 (IgG + A + M (H + L), ZYMED. b62-64201 (对应一抗为 GAPDH 羊抗鼠单克隆抗体), 美国 Pierce 公司。

1.10 统计学处理

采用 SPSS 10.0 统计软件储存和分析数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间均数的比较用独立样本 *t* 检验。P < 0.05 为差异有显著性。

2 结果

2.1 福辛普利干预对自发性高血压鼠模型鼠血压、体重的影响

药物干预前分别用尾静脉测压仪测定各组大鼠血压并称其体重。SHR 和 Fos 组的大鼠血压均明显高于正常对照组 (P < 0.05), 但体重在各组之间均无统计学差异 (P > 0.05), 说明选择动物符合试验要求。药物干预 8 周后, SHR 组大鼠血压依然明显高于 WKY 组 (P < 0.05); Fos 组大鼠血压与 WKY 组比较无统计学差异 (P > 0.05), 与 SHR 组比, 血压有明显改善 (P < 0.05, 表 2); 各组大鼠体重差异无显著性 (P > 0.05)。药物 Fos 干预能够降低 SHR 大鼠的血压, 抑制高血压的发展。

表 2 福辛普利对血压和体重的影响 ($\bar{x} \pm s$)

分 组	血压 (mmHg)		体重 (g)	
	处理前	处理 8 周	处理前	处理 8 周
WKY 组	120.6 \pm 4.5	130.5 \pm 4.8	346.9 \pm 21.6	512.6 \pm 28.1
SHR 组	185.0 \pm 7.2 ^a	188.7 \pm 22.3 ^a	339.4 \pm 20.3	530.1 \pm 22.3
Fos 组	180.1 \pm 9.3 ^a	133.2 \pm 10.8 ^b	331.2 \pm 23.3	503.3 \pm 30.4

a 为 P < 0.05 与 WKY 组比较; b 为 P < 0.05 与 SHR 组比较。

2.2 SHR 模型鼠脑组织超微结构的变化及福辛普利干预对其影响

药物干预 8 周后, 取大鼠脑组织, 经电镜检测发现: WKY 组神经元形态结构基本正常, 胞浆内粗面内质网及游离核糖体丰富, 结构清晰, 核大而圆, 核膜清晰, 核仁明显, 核染色质浅淡 (图 1 上图)。SHR 组约半数神经元出现不同程度凋亡小体, 表现为细胞固缩, 染色质边集, 核开始碎裂的典型凋亡小体形成 (图 1 中图)。Fos 组少数神经元核固缩, 染色质边集, 绝大多数神经元形态结构基本正常 (图 1 下图)。SHR 组 \rightarrow Fos 组 \rightarrow 正常组 (WKY 组), 凋亡由多到少排列。高血压损害脑神经元的结构, 但经过

药物 Fos干预后,其神经元损害有所减轻。

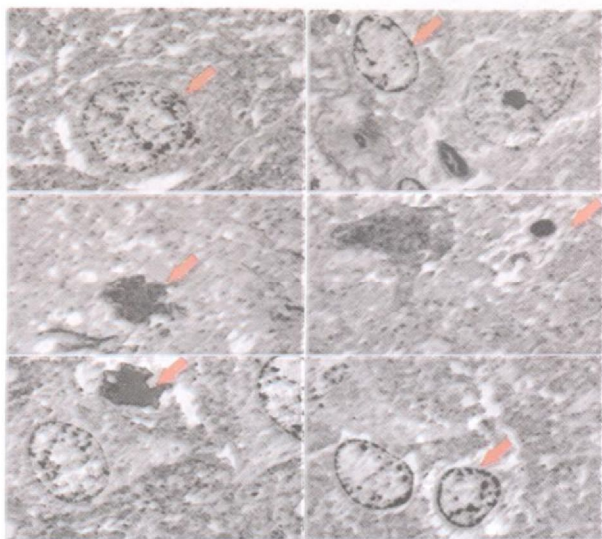


图 1 WKY组、SHR组和 Fos干预组大鼠在 Val干预后脑神经元结构图(×7000) 上图为WKY组:箭头示正常核;中图为SHR组:左图箭头示核固缩,右图箭头示核碎裂;下图为Fos组:左图箭头示早期凋亡小体,右图箭头示核固缩。

2.3 福辛普利干预对 SHR 模型鼠脑组织中 Klotho、ICAM-1、VCAM-1 基因 mRNA 表达的影响

干预 8 周后,SHR 组 Klotho 基因 mRNA 表达水平与 WKY 组相比明显下调 ($P < 0.01$),而 Fos 组高于 SHR 组 ($P < 0.05$),与 WKY 组比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。Fos 干预组对 ICAM-1 mRNA 表达的影响与正常对照组相比差异无显著性 ($P > 0.05$),而与自发性高血压 SHR 组相比差异有显著性 ($P < 0.01$)。SHR 组 VCAM-1 mRNA 表达与 WKY 组相比明显上调 ($P < 0.01$); fos 组与 WKY 组相比差异无显著性 ($P > 0.05$),但低于 SHR 组 ($P < 0.01$); 图 2 和表 3)。

表 3 大鼠脑组织 Klotho、ICAM-1 和 VCAM-1 mRNA 表达

基因	WKY 组	SHR 组	Fos 组
Klotho	1.205 ± 0.258	0.482 ± 0.174 ^a	0.792 ± 0.105 ^b
ICAM-1	0.985 ± 0.181	1.632 ± 0.106 ^a	1.159 ± 0.056 ^b
VCAM-1	1.057 ± 0.281	1.753 ± 0.098 ^a	1.392 ± 0.009 ^b

a 为 $P < 0.05$ 与 WKY 组比较; b 为 $P < 0.05$ 与 SHR 组比较。

2.4 SHR 鼠脑组织药物干预前后 Klotho、ICAM-1 和 VCAM-1 蛋白水平的表达变化

药物干预 8 周后, Klotho 蛋白主要表达于神经元的胞浆中。在 WKY 组 Klotho 蛋白呈少量表达,

SHR 组神经元中的表达较 WKY 组明显减少, Fos 组 Klotho 蛋白表达较 SHR 组显著增强,而 WKY 与 Fos 组 Klotho 蛋白表达差异无显著性(图 3 上图)。ICAM-1 蛋白主要表达于血管内皮及外膜,神经元,胶质细胞和细胞间质亦有部分表达。在 WKY 组 ICAM-1 蛋白表达量极少, SHR 组神经元中的表达较 WKY 组显著上调, Fos 组 ICAM-1 蛋白表达较 SHR 组呈下调表现,而 WKY 组与 Fos 组表达无统计学差异(图 3 中图)。VCAM-1 蛋白主要表达于血管内皮及外膜,神经元和细胞间质亦有部分表达。在 WKY 组 VCAM-1 蛋白表达量极少, SHR 组神经元中的表达较 WKY 组显著上调, Fos 组 VCAM-1 蛋白表达较 SHR 组呈下调表现,而 WKY 组与 Fos 组表达无统计学差异(图 3 下图)。

2.5 Western-blot 检测 SHR 鼠脑组织福辛普利干预前后 Klotho、ICAM-1 和 VCAM-1 蛋白水平的表达变化

药物干预 8 周后, WKY 组 Klotho 蛋白呈少量表达, SHR 组的表达较 WKY 组明显减少, Fos 组较 SHR 组明显增强,而 WKY 与 Fos 组蛋白表达差异无统计学差异。在 WKY 组 ICAM-1 蛋白表达量极少, SHR 组的表达较 WKY 组显著上调, Fos 组 ICAM-1 蛋白表达较 SHR 组呈下调表现,而 WKY 与 Fos 组 ICAM-1 蛋白表达无明显差别。在 WKY 组 VCAM-1 蛋白表达量极少, SHR 组表达较 WKY 组显著上调, Fos 组 VCAM-1 蛋白表达较 SHR 组呈下调表现,而 WKY 与 Fos 组 VCAM-1 蛋白表达差异无显著性(表 4 和图 4)。

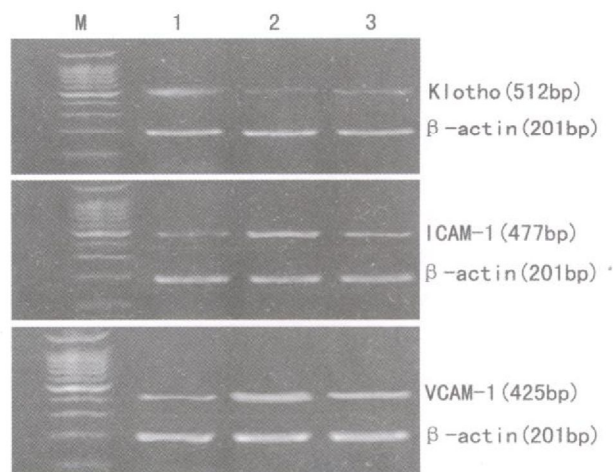


图 2 Fos 干预后各组大鼠脑组织 Klotho(上图)、ICAM-1(中图)、VCAM-1(下图)mRNA 的表达情况(RT-PCR) M 为 Mark, 1 为 WKY 组, 2 为 SHR 组, 3 为 Fos 组。

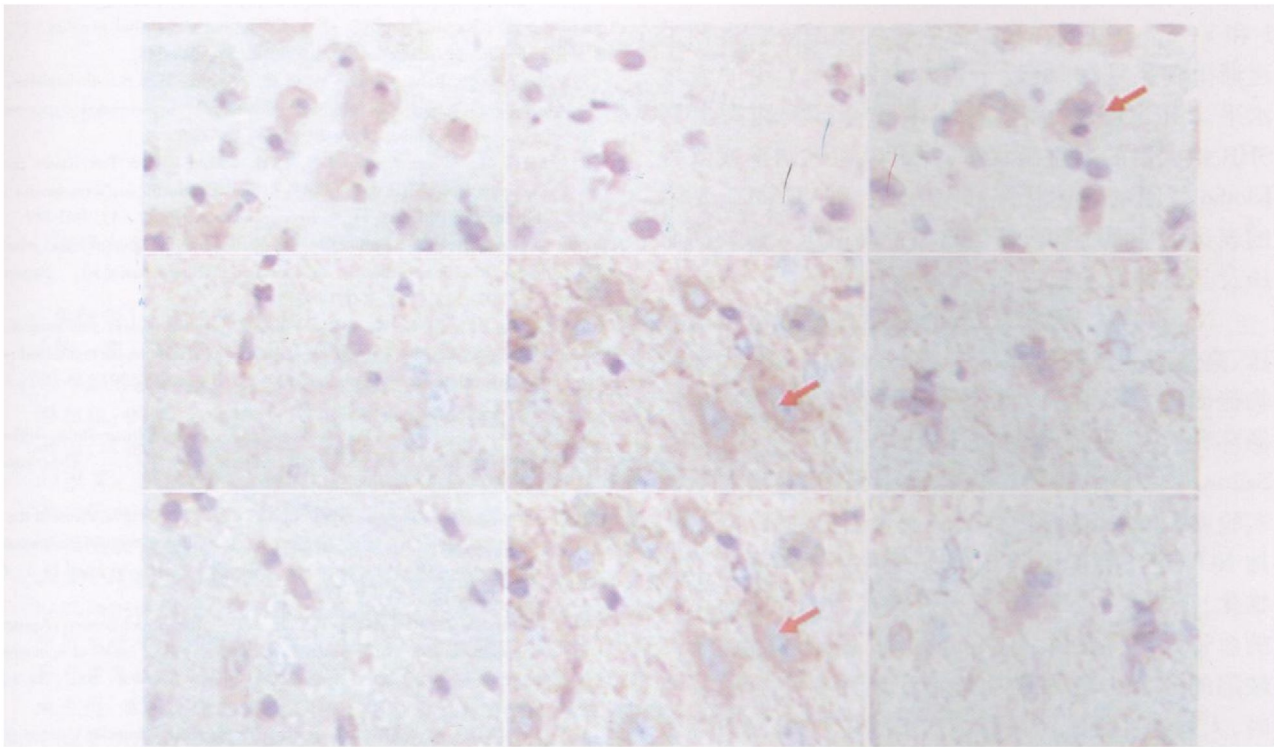


图 3 干预后各组大鼠脑组织 K lotho, ICAM-1, VCAM-1 蛋白的表达 (SP法, ×400) 上图为 K lotho 蛋白, 中图 ICAM-1 蛋白, 下图为 VCAM-1 蛋白。左为 WKY 组; 中为 SHR 组; 右为 Fos 组。

表 4 大鼠脑组织 K lotho, Icam-1 和 Vcam-1 蛋白表达分析量化值

基 因	Wky组	SHR组	SHR+ Fos组
K lotho 基因	65.467	42.655	59.35
ICAM-1	10.254	50.607	29.334
VCAM-1	7.96	49.655	33.45
GAPDH	225.55	227.981	237.46

3 讨论

高血压病是一种严重危害人类健康的慢性、多发病、常见病。它易累及脑、心、肾等组织, 发生脑卒中、心功能衰竭、肾损害及其它并发症^[16-19]。

福辛普利是常用的抗高血压药物, 具有保护心、脑、肾的作用, 其降压作用已被公认^[20]。但是, 其血液动力学外的作用机制仍在被学者们不断探索和证实之中。因此, 本研究选用福辛普利作为干预药物, 观察脑组织 K lotho 基因, ICAM-1, VCAM-1 炎症因子的表达变化, 探讨高血压脑损害的可能机制。本实验发现福辛普利能够显著降低自发性高血压大鼠的血压。说明降压药物福辛普利能够恢复自发性高血压大鼠的高血压, 并使其降至接近正常血压。电镜结果显示: 自发性高血压大鼠 SHR 组则约半数神经元呈不同程度凋亡改变, 表现为细胞固缩, 染色质边集, 核开始碎裂, 凋亡小体形成; 经福辛普利干预 8 周后, 大鼠脑组织内少数神经元核固缩, 染色质边集, 绝大多数神经元形态结构基本正常; 该结果表明 SHR 组可以并发脑损害, 而福辛普利可缓解 SHR 组高血压导致的脑损害。经过福辛普利治疗 8 周后的大鼠, 无论是在 mRNA 水平还是蛋白质水平, K lotho 基因在高血压脑组织中的表达下调也逐渐得到恢

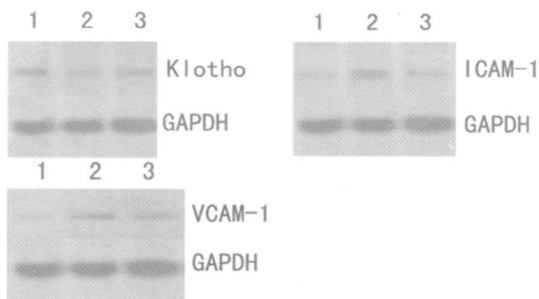


图 4 Western 印迹检测 Fos 干预后各组大鼠脑组织 K lotho, ICAM-1, VCAM-1 蛋白的表达 M 为 Mark, 1 为 WKY 组, 2 为 SHR 组, 3 为 FOS 组。

复,并接近于正常大鼠WKY组的表达水平。同时发现:无论是在mRNA水平还是蛋白质水平,ICAM-1和VCAM-1基因在高血压脑组织中的表达上调也逐渐得到恢复,并接近于正常大鼠WKY组的表达水平。由此可见,福辛普利可改善自发性高血压SHR组大鼠的高血压状态,并可以通过调整或改善Klotho基因的表达状况和ICAM-1和VCAM-1基因的表达水平而缓解或修复自发性高血压大鼠的高血压及其所并发的脑损害。

Nagai等^[2]通过对Klotho基因缺陷大鼠及高血压、高血脂大鼠的研究证实Klotho蛋白及其代谢产物能促进eNO在大动脉及微动脉的合成,而持续性循环内应力则能使肾脏Klotho mRNA表达下调。Saito等^[3]利用基因转染技术干预OLETF大鼠的实验发现,Klotho基因能减轻血管内皮功能障碍,增加NO产生,降低血压,防止血管中层肥厚和管壁纤维化,证实了Klotho基因通过增加NO合成而产生的血管内皮保护作用。Saito等^[4]发现Klotho基因缺陷的大鼠出现内皮功能障碍。而在高血压发生时,人体中白细胞跨血管内皮细胞运动中,免疫球蛋白超家族成员ICAM-1和VCAM-1介导了白细胞的聚集、变形、激活和游走。ICAM-1和VCAM-1通过影响内皮细胞中一系列信号转导途径,使得内皮细胞中肌丝蛋白和骨架蛋白发生改变,细胞形成“船坞”样结构,同时二者也改变细胞间的连接状态。作为结果,该二者与血小板内皮细胞黏附分子-1(PECAM-1)、连接粘附分子-1(JAM-1)等细胞粘附分子共同作用介导了白细胞的跨内皮细胞移行活动。细胞间以及细胞与外基质黏附正是通过细胞黏附分子介导完成的。Komatsu等^[21]在动物试验表明,动脉血压升高可促进ICAM-1、VCAM-1表达。我们的实验结果再次证实Klotho基因与高血压脑损害存在密切关系,免疫炎症反应对高血压脑血管病的发生、发展与预后起重要作用,细胞黏附分子在免疫炎症反应中起重要介导作用。中性粒细胞和单核细胞黏附至血管内皮,释放血管活性物质,产生氧自由基,损害血管内皮,促使血栓形成,引起血管痉挛,可能是高血压导致靶器官损害的共同机制^[22]。

[参考文献]

[1] Tentolouris C, Tousoulis D, Goumas G, et al. L-Arginine in coronary atherosclerosis [J]. *Int J Cardiol* 2000 **75** (2-3): 123-128
 [2] Nagai R, Saito Y, Ohyama Y, et al. Endothelial dysfunction in the Klotho mouse and downregulation of Klotho gene expression in various animal models of vascular and metabolic diseases [J]. *Cell Mol Life Sci* 2000 **57** (5): 738-746

[3] Saito Y, Nakanura T, Ohyama Y, et al. In vivo Klotho gene delivery protects against endothelial dysfunction in multiple risk factor syndrome [J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2000 **276** (2): 767-772
 [4] Saito Y, Kurabayashi M. Klotho gene and endothelial function [J]. *Nippon Ronen Igakkai Zasshi* 2006 **43** (3): 342-344
 [5] Matsuoka H, Itoh S, Kinoto M, et al. Asymmetrical dimethylarginine, an endogenous nitric oxide synthase inhibitor, in experimental hypertension [J]. *Hypertension* 1997 **29** (1-2): 683-689
 [6] Bunim M, Allegra A, Alosi C, et al. Cold Pressor Test Raises Serum Concentrations of ICAM-1, VCAM-1, and E-Selectin in Normotensive and Hypertensive Patients [J]. *Hypertension* 1997 **30** (4): 845-847
 [7] von Kanel R, Jain S, Mills PJ, et al. Relation of nocturnal blood pressure dipping to cellular adhesion, inflammation, and hemostasis [J]. *Hypertension* 2004 **22** (11): 2087-093
 [8] Cottone S, Mule G, Nardi E, et al. C-reactive protein and intercellular adhesion molecule-1 are stronger predictors of oxidant stress than blood pressure in established hypertension [J]. *J Hypertens* 2007 **25** (2): 423-428
 [9] Kuwahara F, Kai H, Tokuda K, et al. Roles of Intercellular Adhesion Molecule-1 in Hypertensive Cardiac Remodeling [J]. *Hypertension* 2003 **41** (3p2): 819-823
 [10] Chamorro V, Wangenstein R, Sainz J, et al. Protective effects of the angiotensin II type 1 (AT1) receptor blockade in low-renin deoxycorticosterone acetate (DOCA)-treated spontaneously hypertensive rats [J]. *Clin Sci* 2004 **106** (3): 251-259
 [11] Matiyahou A, Rosenzweig N, Golomb E. Rapid proliferation of prostatic epithelial cells in spontaneously hypertensive rats: a model of spontaneous hypertension and prostate hyperplasia [J]. *J Androl* 2003 **24** (2): 263-269
 [12] Kren V, Qin N, Krenova D, et al. Y-chromosome transfer induces changes in blood pressure and blood lipids in SHR [J]. *Hypertension* 2001 **37** (4): 1147-1152
 [13] Zhou Y, Zeng Z, Zhang W, et al. Lactotransferrin: a candidate tumor suppressor-deficient expression in human nasopharyngeal carcinoma and inhibition of NPC cell proliferation by modulating the mitogen-activated protein kinase pathway [J]. *Int J Cancer* 2008 **123** (9): 2065-072
 [14] Fan SQ, Ma J, Zhou J, et al. Differential expression of Epstein-Barr virus-encoded RNA and several tumor-related genes in various types of nasopharyngeal epithelial lesions and nasopharyngeal carcinoma using tissue microarray analysis [J]. *Hum Pathol* 2006 **37** (5): 593-605
 [15] Zhou Y, Zeng Z, Zhang W, et al. Identification of candidate molecular markers of nasopharyngeal carcinoma by microarray analysis of subtracted cDNA libraries constructed by suppression subtractive hybridization [J]. *Eur J Cancer Prev* 2008 **17** (6): 561-571
 [16] Beevers G, Lip YH, Eoin O'Brien. ABC of hypertension: The pathophysiology of hypertension [J]. *BMJ* 2001 **322** (7221): 912-916
 [17] Oparil S, Zaman MA, Calhoun DA. Pathogenesis of hypertension [J]. *Ann Intern Med* 2003 **139** (9): 761-776
 [18] 高志广, 任国成, 郑黎强, 等. 我国北方农村脉压分布特点及其与脑卒中的关系 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008 **16** (3): 233-235
 [19] 刘艳, 陈爱芳, 李秀昌. 高血压病患者颈动脉粥样硬化程度与血清脂蛋白(a)和胆红素水平的关系 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008 **16** (7): 553-555
 [20] Guan S, Wang B. Effects of fosinopril and valsartan on expressions of ICAM-1 and NO in human umbilical vein endothelial cells [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2003 **116** (6): 923-927
 [21] Komatsu S, Panes J, Russell M, et al. Effects of Chronic Arterial Hypertension on Constitutive and Induced Intercellular Adhesion Molecule-1 Expression In Vivo [J]. *Hypertension* 1997 **29** (2): 683-689
 [22] Rodriguez-Iturbe B, Vaziri ND, Herrera-Costa J, et al. Oxidative stress, renal infiltration of immune cells, and salt-sensitive hypertension: all for one and one for all [J]. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004 **286** (4): 606-616

(此文编辑 李小玲)