

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2010)18-07-0514-05

内皮素 1 和 BQ-123 对自发性高血压大鼠动脉平滑肌细胞腺苷三磷酸酶活性及 mRNA 表达的影响

杨征^{1,2}, 商黔惠¹, 吴芹³, 邱敏⁴, 萧喻⁵

(1 遵义医学院临床研究所, 遵义医学院附属医院心内科, 贵州省遵义市 563003

2 包头医学院第一附属医院心内二科, 内蒙古包头市 014010 3 遵义医学院药理学教研室, 贵州省遵义市 563003

4 包头医学院药学院, 内蒙古包头市 014010 5 贵州省细胞工程重点实验室, 贵州省遵义市 563003)

[关键词] 腺苷三磷酸酶; 动脉平滑肌细胞; 内皮素 1; BQ-123

[摘要] 目的 观察内皮素 1 及其受体拮抗剂 BQ-123 对自发性高血压大鼠及 Wistar-Kyoto(WKY)大鼠动脉平滑肌细胞膜腺苷三磷酸酶(ATPase)活性及其 mRNA 表达的影响。方法 组织块种植法培养自发性高血压和 WKY 大鼠胸主动脉平滑肌细胞。以 WKY 大鼠为对照, 采用生化酶学方法和逆转录聚合酶链反应, 观察不同浓度的内皮素 1 (10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} mol/L) 及其受体拮抗剂 BQ-123 (10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} mol/L) 对自发性高血压大鼠动脉平滑肌细胞膜 Na^+ 、 K^+ -ATPase、 Ca^{2+} -ATPase 活性及 mRNA 表达的影响。结果 内皮素 1 能减弱自发性高血压大鼠动脉平滑肌细胞两种 ATPase 活性 ($P < 0.01$) 及膜钙 ATP 酶亚型 1 (PMCA1) 表达 ($P < 0.01$)。BQ-123 能部分逆转内皮素 1 所致两种 ATPase 活性减弱 ($P < 0.01$) 及 PMCA1 表达下调 ($P < 0.01$), 而内皮素 1 对 Na^+ 、 K^+ -ATPase α_1 -亚单位 mRNA 表达水平无明显改变 ($P > 0.05$)。结论 内皮素 1 抑制 Na^+ 、 K^+ -ATPase、 Ca^{2+} -ATPase 活性, 可能是通过 ETA 受体途径介导, 且其对 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响可能发挥在转录水平。BQ-123 通过阻断 ETA 受体逆转内皮素 1 对自发性高血压大鼠 Na^+ 、 K^+ -ATPase、 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effect of Endothelin-1 and BQ-123 on Adenosine Triphosphatase Activity and mRNA Expression in Aortic Smooth Muscle Cells from Spontaneously Hypertensive Rats

YANG Zheng^{1,2}, SHANG Qianhui¹, WU Qin³, and QIU Min⁴

(1 Institute of Clinical Medicine of Zunyi Medical College, Department of Cardiology, Affiliated hospital of Zunyi Medical College, Zunyi Guizhou, 563003 China; 2 Second department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou 014010 China; 3 Department of Pharmacology, Zunyi Medical College, Zunyi 563003 China; 4 Department of Pharmacy of Baotou Medical College, Baotou 014010 China; 5 Cell Engineering Key Laboratories of Guizhou Province, Zunyi Guizhou, 563003 China)

[KEY WORDS] adenosine triphosphatase; aortic smooth muscle cell; ET-1; BQ-123

[ABSTRACT] **Aim** To study the effects of endothelin-1 (ET-1) and BQ-123 on activity and mRNA expression of adenosine triphosphatase(ATPase) in Aortic Smooth muscle cells(ASM C) from spontaneously hypertensive rats (SHR) and Wistar-Kyoto(WKY) rat. **Methods** The ASM C were isolated from SHR and WKY rats. ATPase activity in cultured ASM Cs were determined by spectrophotography and mRNA level of Na^+ 、 K^+ -ATPase α_1 -subunit, PMCA1 were measured by semi quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** ET-1 significantly attenuated activity of two kinds of ATPase ($P < 0.01$) and PMCA1 mRNA expression ($P < 0.01$) in ASM C from SHR. BQ-123 increased two kinds of ATPase activity ($P < 0.01$) and upregulated expression of PMCA1 mRNA ($P < 0.01$), which treated by ET-1. The level of Na^+ 、 K^+ -ATPase α_1 -subunit mRNA expression had no alteration after intervened by ET-1 ($P > 0.05$). **Conclusion** ET-1 suppressed Na^+ 、 K^+ -ATPase、 Ca^{2+} -ATPase activity, which may be mediated by ETA receptor. The influence of ET-1 Ca^{2+} -ATPase activity may play in the transcriptional level. BQ-123 reversed the effect of ET-1 on the activities of SHR ASM Cs Na^+ 、 K^+ -ATPase and Ca^{2+} -ATPase by blocking the ETA receptor.

原发性高血压 (essential hypertension, EH) 是我

国最常见的心血管疾病, 其病因发病学尚未完全阐明, 可能与血管活性物质含量异常^[1]、细胞膜离子转运缺陷^[2]以及平滑肌细胞过度增殖^[3]等因素相关。但目前血管活性物质与细胞膜离子转运缺陷在高血压发病中的相互关系尚未完全明确。本实验旨在探讨最强的缩血管活性物质内皮素 1 (endothelin-1, ET-1) 及其受体拮抗剂 BQ-123 对自发性高血压

[收稿日期] 2010-04-28 [修回日期] 2010-07-02

[基金项目] 贵州省科学技术基金重点项目和贵州省优秀青年科技人才基金项目 [编号: (2002) 3013 (2003) 0316]

[作者简介] 杨征, 硕士, 主治医师, 主要从事心血管病诊治, E-mail 为 yz798820022002@yahoo.com.cn 通讯作者商黔惠, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为心血管疾病, E-mail 为 qianhui@hotmail.com。吴芹, 高级实验师, 研究方向心血管药理学, E-mail 为 qingwu@sina.com.cn

大鼠 (spontaneously hypertensive rats SHR) 动脉平滑肌细胞 (aortic smooth muscle cells ASMC) 腺苷三磷酸酶 (adenosine triphosphatase ATPase) 活性及 mRNA 表达的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

6周龄雄性 SHR 和 Wistar-Kyoto(WKY) 大鼠各 5只, 体重 173 ± 19 g 由上海市高血压研究所提供, 合格证书: 医动字第 02635-1, 02635-2号。ET-1 购

于 Signa公司; BQ-123、DMEM 培养基购于 Gibco公司; 胰蛋白酶购于上海生工生物工程公司; ATP酶测试盒、考马斯亮兰蛋白测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所; RNA 抽提试剂盒及 RT-PCR 一步法试剂盒购于 Qiagen公司; 琼脂糖购于华美公司; 其他各种常规化学试剂均为分析纯。Na⁺, K⁺-ATPase $\alpha 1$ 亚单位, 膜钙 ATP酶亚型 -1(PMCA1) 异构体及 β -actin 引物根据相应 cDNA 序列设计 (参考文献 [4-6]), 由上海生工生物工程公司合成。引物的碱基序列及扩增片段长度见表 1。

表 1. PCR 引物及扩增片段长度

| Primer specificity | Sequence (5' - 3') | Length of product(bp) |
|--------------------|---------------------------|-----------------------|
| $\alpha 1$ subunit | P1 AAGGACGCCTTTCAGAATGCCT | 247 |
| | P2 TGACCATGATGACCTTAATCC | |
| PMCA1 | P1 GCGACTTTGGCATCACA | 120 |
| | P2 TTTCAACTTGGTGCAAATTCCA | |
| β -actin | P1 TGGGTCCAGAAGGACTCCTATG | 590 |
| | P2 CAGGCAGCTCATAGCTTCT | |

1.2 SHR 及 WKY 大鼠血管平滑肌细胞培养

无菌操作下取出 6~8周龄 SHR 及 WKY 大鼠胸主动脉, 将组织种植于含 20% 胎牛血清的 DMEM 中进行原代培养, 含 10% 胎牛血清的 DMEM 中进行传代培养。用平滑肌细胞特异性 α -肌动蛋白 (α -actin) 单克隆抗体免疫组织化学法进行鉴定。本实验测定选取生长良好的第 6代~第 8代细胞。

1.3 内皮素 1 及 BQ-123 干预

传代细胞以 2×10^8 个/L 的密度接种于培养瓶内, 每瓶 2mL 细胞悬液, 培养 24 h 至细胞为 70%~90% 单层融合时, 换为无血清的 DMEM 培养液继续培养 48 h, 使细胞同步化, 实验时再用无血清 DMEM 换液 1 次。实验分为 WKY 组: WKY 对照组; ④冰乙酸对照组 (ET-1 需溶于冰乙酸中); ④ET-1 10^{-7} mol/L; SHR 组: SHR 对照组; ④冰乙酸对照组; ④ET-1 组 (10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} mol/L); ET-1 10^{-7} mol/L + BQ-123 组 (10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} mol/L)。空白对照加无血清 DMEM 培养液。

1.4 生化酶学方法测定

用匀浆介质制备成 10^9 个/L 的细胞悬液, 置于冰浴中。超声粉碎仪粉碎细胞 (400A, 5秒/次, 间隔 10秒), 反复 5~6 次, 用考马斯亮兰法测定匀浆蛋白的浓度, ATPase 活性用酶学比色法测定, ATPase 活性以每毫克总蛋白 (mg protein) 中 ATPase 每小时分解的 Pi (μ mol) 的量表示 (μ mol Pi/h/mg pro)。5

瓶细胞重复检测 5 次, 每次测定 3 次取平均值。

1.5 RNA 提取及 RT-PCR

采用异硫氰酸胍硅, 凝胶体膜技术提取细胞总 RNA。紫外分光光度计测定 A_{260}/A_{280} 值在 1.6~2.0 之间。RT-PCR 反应体系为 50 μ L。反应条件为: 逆转录 50 $^{\circ}$ C 30 min, 95 $^{\circ}$ C 预变性 15 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55.5 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 循环 30 次, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。反应结束后取扩增产物 8 μ L, 进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 在全自动凝胶成像分析系统上观察结果并拍照。用全自动凝胶成像分析系统进行图像分析, ATPase 的 PCR 扩增条带荧光总强度与同泳道 β -actin (内参) 的 PCR 扩增条带荧光总强度的比值, 即为 ATPase mRNA 的相对表达水平。细胞重复检测 3 次, 平均值。

1.6 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS 11.5 统计软件进行处理, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动脉平滑肌细胞形态学观察结果及鉴定

在倒置显微镜下连续观察, 组织块贴壁后 5 天, 有少量细胞从组织块边缘长出 (图 1A); 第 8 天时, 细胞生长旺盛, 交织成网状 (图 1B); 第 10 天, 组织

块周围形成明显的生长晕,细胞沿着组织块周边放射性的生长;第 14天,组织块被推掉,相邻生长晕汇集成片,细胞平行排列呈“峰”、“谷”样结构特征(图 1C),即可传代。免疫细胞化学显示胞浆 α -actin 棕黄色颗粒,胞核蓝色,阳性平滑肌细胞达 95% 以上(图 1D)。

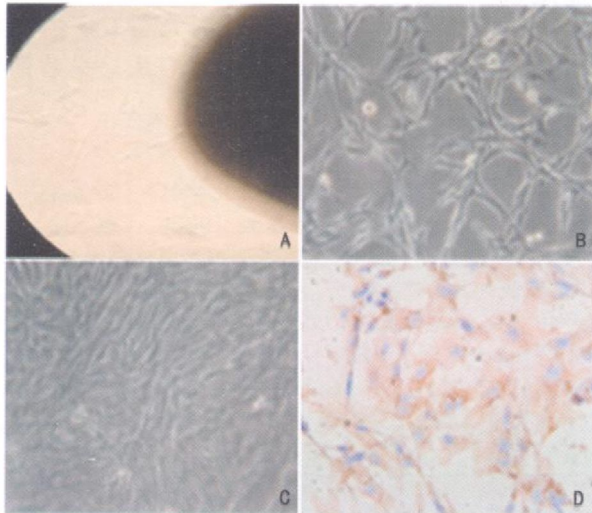


图 1 动脉平滑肌细胞形态学观察结果及鉴定 A 为原代培养第 5 天,少量细胞从组织块边缘长出 ($\times 100$); B 为原代培养第 8 天,细胞呈网状 ($\times 200$); C 为第 14 天,细胞呈“峰”、“谷”样生长状态 ($\times 200$); D 为动脉平滑肌细胞 α -actin 免疫组织化学染色阳性 ($\times 200$)

2.2 SHR 和 WKY 大鼠动脉平滑肌细胞 ATPase 活性及内皮素 1 干预

与 WKY 大鼠组比较,SHR 组血管平滑肌细胞膜 Na^+ , K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性均增高。ET-1 (10^{-7} mol/L) 作用 24 h 能使 WKY 大鼠组 Na^+ , K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性增高。不同浓度的 ET-1 作用 24 h 能使 SHR 组 Na^+ , K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性受抑(表 2)。

2.3 不同剂量的 BQ-123 对经内皮素 1 作用的动脉平滑肌细胞 ATP 酶活性的影响

不同浓度的 BQ-123 预作用 30 min 后,再加入 10^{-7} mol/L ET-1,共同孵育 24 h, BQ-123 能抑制 ET-1 所致的 Na^+ , K^+ -ATPase ($P < 0.01$) 和 Ca^{2+} -ATPase ($P < 0.01$) 活性减弱作用(表 3)。

2.4 SHR 和 WKY 大鼠动脉平滑肌细胞 ATPase mRNA 表达及内皮素 1 干预

SHR 组 ASMCs Na^+ , K^+ -ATPase $\alpha 1$ -亚单位及 PMCA1 mRNA 的表达水平较 WKY 组明显增高 ($P < 0.05$, $P < 0.05$)。WKY 组终浓度为 10^{-7} mol/L

的 ET-1 和 SHR 组终浓度为 10^{-7} - 10^{-9} mol/L 的 ET-1 作用 24 h, WKY PMCA1 mRNA 表达水平呈现明显的升高 ($P < 0.01$) 而 SHR PMCA1 mRNA 表达水平明显降低 ($P < 0.01$), 但 Na^+ , K^+ -ATPase $\alpha 1$ -subunit mRNA 表达量无明显改变 ($P > 0.05$, 表 4, 图 2 和图 3)。

表 2 SHR 和 WKY 组 动脉平滑肌细胞 ATPase 活性及 1 干预 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$, $\mu\text{molP i/h/mgpro}$)

| 分 组 | 浓度 (mol/L) | Na^+ , K^+ -ATPase | Ca^{2+} -ATPase |
|----------|------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| WKY 对照组 | — | 2 615 \pm 251 | 2 154 \pm 220 |
| WKY 冰乙酸组 | — | 2 591 \pm 223 | 2 255 \pm 182 |
| WKY ET-1 | 10^{-7} | 4 529 \pm 439 ^a | 3 521 \pm 532 ^a |
| SHR 对照组 | — | 4 377 \pm 608 ^a | 3 723 \pm 189 ^a |
| SHR 冰乙酸组 | — | 4 331 \pm 123 ^a | 3 504 \pm 312 ^a |
| SHR ET-1 | 10^{-7} | 2 660 \pm 293 ^b | 1 699 \pm 313 ^{ab} |
| SHR ET-1 | 10^{-8} | 3 472 \pm 297 ^{abc} | 2 663 \pm 320 ^{abc} |
| SHR ET-1 | 10^{-9} | 4 198 \pm 241 ^{acd} | 3 461 \pm 225 ^{acd} |

a 为 $P < 0.01$ 与 WKY 组比较; b 为 $P < 0.01$ 与 SHR 组比较; c 为 $P < 0.01$ 与 SHR ET-1 10^{-7} mol/L 组比较; d 为 $P < 0.01$ 与 SHR ET-1 10^{-8} mol/L 组比较。

表 3 BQ-123 对经内皮素 1 作用的 SHR 动脉平滑肌细胞 ATP 酶活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$, $\mu\text{molP i/h/mgpro}$)

| 分 组 | 浓度 (mol/L) | Na^+ , K^+ -ATPase | Ca^{2+} -ATPase |
|-----------------------------------|------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| SHR 对照组 | — | 4 377 \pm 608 | 3 723 \pm 189 |
| SHR ET-1 10^{-7} | — | 2 660 \pm 293 ^a | 1 699 \pm 313 ^a |
| ET-1 10^{-7} + BQ-123 10^{-6} | — | 4 111 \pm 257 ^b | 3 188 \pm 213 ^b |
| ET-1 10^{-7} + BQ-123 10^{-7} | — | 3 295 \pm 361 ^{abc} | 2 342 \pm 339 ^{abc} |
| ET-1 10^{-7} + BQ-123 10^{-8} | — | 2 778 \pm 281 ^{acd} | 1 701 \pm 276 ^{acd} |

a 为 $P < 0.01$ 与 SHR 组比较; b 为 $P < 0.01$ 与 SHR ET-1 10^{-7} mol/L 组比较; c 为 $P < 0.01$ 与 SHR ET-1 + BQ-123 10^{-6} mol/L 组比较; d 为 $P < 0.01$ 与 SHR ET-1 + BQ-123 10^{-7} mol/L 组比较。

表 4 SHR 和 WKY 动脉平滑肌细胞 ATPase mRNA 表达水平及内皮素 1 干预 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

| 分 组 | 浓度 (mol/L) | Na^+ , K^+ -ATPase/ β -actin | PMCA1/ β -actin |
|-------------|------------|--|---------------------------------|
| WKY 对照组 | — | 0 5092 \pm 0115 | 0 6342 \pm 0734 |
| WKY 冰乙酸组 | — | 0 4925 \pm 0343 | 0 6550 \pm 0478 |
| WKY ET-1 | 10^{-7} | 0 5326 \pm 0176 | 0 8871 \pm 0412 ^a |
| SHR Control | — | 0 5849 \pm 0332 ^a | 0 8139 \pm 0211 ^a |
| SHR 冰乙酸组 | — | 0 6012 \pm 0207 ^a | 0 8081 \pm 0513 ^a |
| SHR ET-1 | 10^{-7} | 0 5954 \pm 0864 ^a | 0 4627 \pm 0568 ^{ab} |
| SHR ET-1 | 10^{-8} | 0 5919 \pm 0113 ^a | 0 6013 \pm 0851 ^{cd} |
| SHR ET-1 | 10^{-9} | 0 6089 \pm 0324 ^a | 0 8025 \pm 0415 ^{ae} |

a 为 $P < 0.01$ 与 WKY 组比较; b 为 $P < 0.05$; c 为 $P < 0.01$ 与 SHR 组比较; d $P < 0.05$; e 为 $P < 0.01$ 与 SHR ET-1 10^{-7} mol/L 组比较; f 为 $P < 0.05$ 与 SHR ET-1 10^{-8} mol/L 组比较。

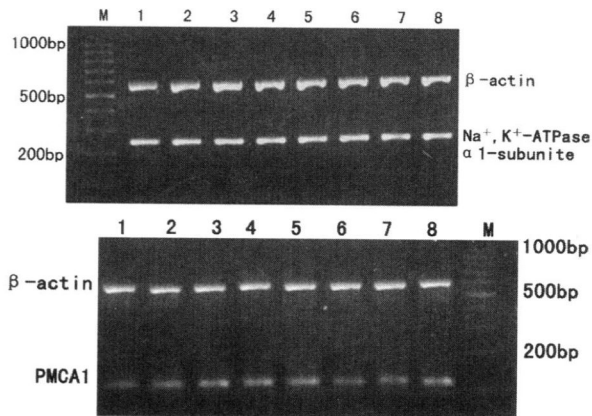


图 2 内皮素 1 对 Na^+ , K^+ -ATPase α_1 -subunit 亚单位及 PMCA1 mRNA 的表达 上图为 Na^+ , K^+ -ATPase α_1 -subunit 亚单位, 下图为 PMCA1。M 为 marker, 1 为 WKY 对照组, 2 为 WKY 冰乙酸对照组, 3 为 WKY ET-1 10^{-7} mol/L, 4 为 SHR 对照组, 5 为 SHR 冰乙酸对照组, 6 为 SHR ET-1 10^{-7} mol/L, 7 为 SHR ET-1 10^{-8} mol/L, 8 为 SHR ET-1 10^{-9} mol/L。

2.5 BQ-123 对经内皮素 1 作用的动脉平滑肌细胞 PMCA1 表达的影响

不同剂量的 BQ-123 (10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} mol/L) 预作用 30 min 后, 再加入终浓度为 1×10^{-7} mol/L 的 ET-1 共同孵育 24 h, BQ-123 能抑制 ET-1 对 PMCA1 mRNA 表达的下调作用 ($P < 0.01$, $P < 0.05$, 表 5 和图 3)。

表 5 不同浓度的 BQ-123 对经内皮素 1 作用的 SHR 动脉平滑肌细胞 PMCA1 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

| 分组 浓度 (mol/L) | PMCA1/ β -actin |
|-----------------------------------|------------------------------------|
| SHR 对照组 | 0.7209 \pm 0.0179 |
| ET-1 10^{-7} | 0.5709 \pm 0.0237 ^b |
| ET-1 10^{-7} + BQ-123 10^{-6} | 0.7063 \pm 0.0138 ^d |
| ET-1 10^{-8} + BQ-123 10^{-7} | 0.6289 \pm 0.0221 ^{ace} |
| ET-1 10^{-9} + BQ-123 10^{-8} | 0.5713 \pm 0.0239 ^{bfg} |

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与 SHR 组比较; c 为 $P < 0.05$, d 为 $P < 0.01$, 与 SHR ET-1 10^{-7} mol/L 组比较; e 为 $P < 0.05$, f 为 $P < 0.01$, 与 SHR ET-1 + BQ-123 10^{-6} mol/L 组比较; g 为 $P < 0.05$ 与 SHR ET-1 + BQ-123 10^{-8} mol/L 组比较。

3 讨论

从 80 年代开始, 人们注意到原发性高血压不仅是血液动力学异常, 同时也是代谢性疾病, 其发生、发展可能与细胞膜离子转运异常有关^[7], 常伴有多样

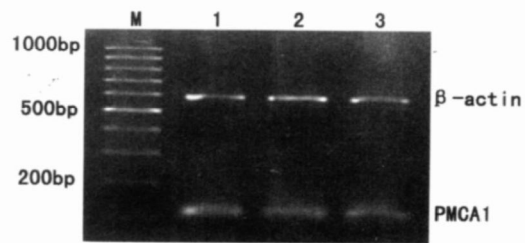


图 3 BQ-123 对经内皮素 1 作用的 SHR 动脉平滑肌细胞 PMCA1 表达的影响 M 为 marker, 1 为 ET-1 + BQ-123 10^{-6} mol/L 组, 2 为 ET-1 + BQ-123 10^{-7} mol/L 组, 3 为 ET-1 + BQ-123 10^{-8} mol/L 组。

种离子泵活性的异常改变以及心脏靶器官的重塑^[8], 而细胞膜上 Na^+ , K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 又是维持细胞内正常 Na^+ , Ca^{2+} 浓度的重要转运系统。研究显示^[9, 10], 高血压大鼠血细胞膜的 Na^+ , K^+ -ATPase 活性存在异常改变, 但机制尚不十分清楚。本实验发现 SHR 组 ASMC Na^+ , K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性明显高于正常对照组, 这可能是由于本实验所选 SHR 组为 6 周龄, Na^+ , K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性代偿性增高, 以排出细胞内过量的 Na^+ 和 Ca^{2+} , 为机体对抗 EH 发展的适应性改变, 这种酶活性的异常改变提示 SHR ASMC 离子泵活性可能存在先升高后降低的现象^[9, 11], 但还有待于进一步研究证实。

在高血压等心血管疾病中, 血管内皮细胞 (vascular endothelial cells, VEC) 的 ET-1 的合成和分泌都有较大幅度的增加, 尤其是 VEC 与 ASMC 连接处 ET-1 的浓度最高, ASMC 是 ET-1 作用最主要的靶细胞^[12]。我们既往研究提示^[13], 高血压患者血浆 ET 水平与淋巴细胞 Na^+ , K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性呈负相关, 但 ET-1 对 SHR ASMC ATPase 活性及其 mRNA 的影响, 目前国内外文献鲜有报道。本实验进一步观察发现, ET-1 能降低 SHR 动脉平滑肌细胞膜 Na^+ , K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性, 提示 ET-1 除本身能使动脉平滑肌细胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 增加外, 还可通过抑制 Na^+ , K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性而间接增加 $[\text{Ca}^{2+}]_i$; 使血管收缩。另外 Wistar 组予以 ET-1 后, 其 ATPase 活性增高, 可能是正常平滑肌细胞受到 ET-1 刺激后的反应性增高。这也提示 SHR ASMC ATPase 对血管活性物质反应存在异常改变。ET 受体拮抗剂 (Endothelin Receptor Antagonist, ETRA) 是目前仍处于临床实验阶段的药物。血管平滑肌细胞存在 ETA 受体和 ETB 受体, 但主要表达 ETA 受体^[14]。ET-1 通过何种受体

途径对 ASMC ATPase 发挥抑制作用, 目前尚未见报道。本实验选用 ETA 受体拮抗剂 BQ-123 特异性阻断 ETA 受体介导的缩血管效应而不影响 ETB 受体的扩血管效应。结果显示, BQ-123 能逆转 ET-1 所致 Na^+ , K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性减弱。这提示 ET-1 至少部分通过 ETA 受体途径抑制 ASMC ATPase 活性, ETA 受体拮抗剂能拮抗其抑制作用。

本实验从 mRNA 水平探讨 ET-1 及 BQ-123 对 SHR ASMC 离子泵的影响, 结果显示: SHR 较 Wistar 大鼠 ATPase 活性增高, 部分缘于其 mRNA 表达上调。④ET-1 对 Ca^{2+} -ATPase 活性与 PMCA1 表达的影响呈同步变化, 提示 ET-1 通过影响 PMCA1 表达, 进而影响 Ca^{2+} -ATPase 活性。BQ-123 能通过逆转 ET-1 所致的 PMCA1 下调, 从而增加 Ca^{2+} -ATPase 活性。PMCA1 是影响 Ca^{2+} -ATPase 活性的因素之一^[15]。④ET-1 能抑制 Na^+ , K^+ -ATPase 活性, 但对 Na^+ , K^+ -ATPase $\alpha 1$ -亚单位 mRNA 表达无影响, 推测 ET-1 对 Na^+ , K^+ -ATPase 活性的影响并非发生在转录水平, 可能有其他因素参与。

综上所述, SHR ASMC 离子泵活性和基因表达与 ET-1 水平变化有关, 但其具体作用机制仍有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 袁萍, 商黔惠, 吴芹, 等. 厄贝沙坦对肾性高血压大鼠左心室肥厚心肌腺苷三磷酸酶和钙调神经磷酸酶的影响 [J]. 中华高血压杂志, 2009, 17(3): 238-242
- [2] 姜黔峰, 商黔惠, 吴芹, 等. 去甲肾上腺素和哌唑嗪对自发性高血压大鼠动脉平滑肌细胞膜 Ca^{2+} -ATPase 活性和 PMCA1 mRNA 表达的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2009, 17(10): 815-818
- [3] 杨征, 邱敏, 黄燮南, 等. 茶碱地尔生物 YM III 对血管紧张素 II 诱导大鼠胸主动脉平滑肌细胞增殖的抑制作用 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2009, 17(9): 727-730
- [4] Tsuchiya Ken, Gerhard G, Iebisch Paul A, Welling A. Glucocorticoid-dependent regulation of Na^+ K^+ -ATPase subunit mRNA in the rat CCD: competitive PCR analysis [J]. *Am J Physiol* 1996, 271: F7-F15
- [5] Manic TM, Hohman NA, Roberts-Thomson SJ et al. PMCA1 mRNA expression in rat aortic myocytes: a real-time RT-PCR study [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 276 (3): 1 024-027
- [6] 黄行许, 黄有国. 巨噬细胞凋亡及其调控 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2000, 27(2): 139-142
- [7] Vincenzi FF, Morris CD, Kissel LB et al. Decreased calcium pump adenosine triphosphatase in red blood cells of hypertensive subjects [J]. *Hypertension*, 1986, 8(11): 1 058-066
- [8] 方宇, 商黔惠, 姜黔峰, 等. 血管紧张素 II 对高血压家族史人脐动脉血管平滑肌细胞离子泵的影响 [J]. 中华高血压杂志, 2010, 18 (2): 153-159
- [9] 商黔惠, 刘晓鹏, 方宇, 等. 高血压大鼠动脉平滑肌细胞钙超载与腺苷三磷酸酶 [J]. 高血压杂志, 2006, 14(5): 379-384
- [10] Mara Ferrandi Grazia Tripodi Sergio Salardi et al. Renal Na^+ K^+ -ATPase in Genetic Hypertension [J]. *Hypertension*, 1996, 28: 1 018-025
- [11] Grillo M, David-Dufho M, Devynck MA. Altered sodium and calcium transport by heart sarcolemmal membranes from young spontaneously hypertensive rats: modulation by calmodulin [J]. *Hypertens Suppl* 1984, 2 (3): S485-487
- [12] 商黔惠, 王丕荣, 李琮辉, 等. 多种血管活性物质与细胞膜离子转运与高血压的相互关系 [J]. 中华心血管病杂志, 1998, 36(5): 340-342
- [13] Liang Hong, Danhong injection effects on vascular endothelial function in patients undergoing coronary artery stent implantation [J]. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2010, 14 (13): 2 467-470
- [14] Ana Gadea Adan Aguirre Tark F Haydar et al. Endothelin-1 Regulates Oligodendrocyte Development [J]. *J Neurosci* 2009, 29 (32): 10 047-062
- [15] Greeb J, Shull GE. Molecular cloning of a third isoform of the calmodulin-sensitive plasma membrane Ca^{2+} -ATPase that is expressed predominantly in brain and skeletal muscle [J]. *J Biol Chem*, 1989, 264 (31): 18 569-576

(此文编辑 李玲玲)