

# 降钙素基因相关肽通过 p38MAPK/ Nox1 通路抑制 Ang II 诱导的血管平滑肌细胞增殖

于潇华<sup>1</sup>, 徐竟欧<sup>1</sup>, 汪煜华<sup>1</sup>, 秦旭平<sup>1</sup>, 张亮<sup>2</sup>, 李映菊<sup>3</sup>

(1. 南华大学药物药理研究所 动脉硬化化学湖南省重点实验室, 湖南省衡阳市 421001;

2. Laboratory of Cell & Molecular Biology, Palmer College of Chiropractic-Florida, USA; 3. 南华大学附属第一医院感染科)

[关键词] 降钙素基因相关肽; 血管平滑肌细胞; NAD(P)H 氧化酶; 信号通路

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

前期研究证明,降钙素基因相关肽(CGRP)具有较强的血管扩张作用,能够抑制血管平滑肌细胞(VSMC)增殖。VSMC中,NADPH氧化酶1(Nox1)活性增加被认为是 $O_2^{\cdot -}$ 产生的主要来源。Nox1通过介导VSMC增殖、迁移,在新生内膜的形成中发挥重要作用。实验表明,CGRP能抑制血管紧张素II(AngII)诱导的大鼠VSMC增殖与抑制ERK1/2磷酸化相关。另有研究表明,转染Nox1反义序列于VSMC中能够抑制AngII诱导超氧化物产生的早期阶段,并且能够显著降低AngII诱导的p38MAPK激酶的激活,但对ERK1/2的影响不大,所以AngII可能通过上调Nox1表达产生内源性活性氧(ROS)参与VSMC增殖。那么,CGRP是否通过p38MAPK/Nox1通路抑制AngII诱导的VSMC增殖还需进一步探索。

## 1 材料与方 法

鼠源性血管平滑肌细胞株(A10)培养于含10% FBS的DMEM培养基中,置于37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养。细胞用0.1% FBS同步化24 h后,按实验要求加入处理因素。CGRP 100 nmol/L处理30 min; Ang II 100 nmol/L处理5 min; 抗氧化剂(DPI)20 μmol/L处理30 min; CGRP拮抗剂(CGRP8-37)50 nmol/L处理30 min; p38MAPK磷酸化抑制剂(SB203580)20 μmol/L处理30 min。MTT检测A10细胞活力的变化; 流式细胞术检测细胞周期分布; Western Blot检测p38MAPK磷酸化的变化以及Nox1蛋白表达水平, qRT-PCR检测Nox1 mRNA的表达水平。

## 2 结 果

CGRP可以抑制Ang II诱导A10细胞的增殖活力和增殖指数( $P < 0.05$ ),这种抑制作用可被抗氧化剂DPI所加强( $P < 0.05$ ),提示CGRP通过抗氧化应激部分拮抗Ang II诱导

的VSMC增殖。CGRP能够抑制Ang II诱导的A10细胞p38MAPK磷酸化水平( $P < 0.05$ ),这种抑制作用可被抗氧化剂DPI所加强( $P < 0.05$ ),提示CGRP通过抗氧化应激部分拮抗Ang II诱导的p38MAPK磷酸化升高。Ang II能够诱导细胞高表达Nox1蛋白和mRNA( $P < 0.05$ ),CGRP能够抑制Ang II诱导的Nox1蛋白和mRNA表达的升高,与CGRP + Ang II组相比,p38MAPK磷酸化抑制剂(SB203580)进一步降低了Nox1蛋白表达水平( $P < 0.05$ ),提示CGRP可通过p38MAPK途径抑制Nox1蛋白的表达。

## 3 讨 论

本研究结果说明,CGRP抑制Ang II诱导的VSMC增殖与拮抗细胞内氧化应激有关,其拮抗通路涉及抑制p38MAPK/Nox1信号通路。越来越多的证据证明ROS是VSMC的重要信号分子,并与VSMC增殖有关。Ang II导致的VSMC内ROS含量增加是导致VSMC增殖的机制之一。ROS作为信号传感器可以诱导激活p38MAPK、Akt、ERK1/2,从而进一步引起细胞增殖。目前认为,Nox1在增殖的VSMC中过表达与 $O_2^{\cdot -}$ 的产生有关。CGRP广泛分布于心血管组织,具有多重生物学功能,如抑制VSMC增殖和内皮细胞凋亡。前期研究发现,CGRP具有双重作用,单独使用CGRP能使VSMC增殖,但也能抑制10%胎牛血清或Ang II诱导的VSMC增殖。本实验发现,CGRP能够抑制Ang II诱导的A10细胞p38MAPK磷酸化水平,并能够抑制Ang II诱导的Nox1蛋白和mRNA表达的升高,这种抑制作用能被p38MAPK磷酸化抑制剂SB203580进一步加强。故CGRP的双重作用可能与其通过调控p38MAPK信号通路,控制ROS含量来平衡VSMC数量有关。但CGRP与Ang II受体间细胞膜信号跨膜转导相互作用机制还需进一步研究。

[收稿日期] 2011-11-10

[基金项目] 国家自然科学基金(30572192, 81173060),湖南省高校科技创新团队支持计划资助,衡阳市科技局基金资助(2009KJ40)

[作者简介] 于潇华,硕士,研究方向为心血管药理学。通讯作者秦旭平,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向为血管重构与药物干预,E-mail为 qinxp333@sina.com。