

# 血管生成素 1 通过核因子 $\kappa$ B 传导通路 调节内皮祖细胞炎症因子表达

王锡煌<sup>1,2</sup>, 王挹青<sup>1</sup>, 宋晶金<sup>1</sup>

(1. 厦门大学附属中山医院心脏中心心内科, 福建省厦门市 361004; 2. 厦门大学附属厦门市第一医院, 福建省厦门市 361004)

[关键词] 血管生成素 1; 内皮祖细胞; 炎症; 核因子  $\kappa$ B

[摘要] **目的** 探讨血管生成素 1 调节内皮祖细胞炎症因子的可能的信号传导通路。**方法** 采用肿瘤坏死因子  $\alpha$  诱导内皮祖细胞炎症, 以慢病毒为载体将血管生成素 1 导入内皮祖细胞中, 使用特异性抑制剂吡咯烷二硫代氨基甲酸盐抑制核因子  $\kappa$ B, 通过 Western blot 检测内皮祖细胞中血管生成素 1 蛋白和核因子  $\kappa$ B 蛋白的表达情况, 随后采用荧光定量聚合酶链反应-酶联免疫吸附法检测各组内皮祖细胞中黏附分子细胞间黏附分子 1、血管细胞黏附分子 1 的表达水平。**结果** 转染血管生成素 1 基因内皮祖细胞中能够成功表达血管生成素 1 蛋白, 而经吡咯烷二硫代氨基甲酸盐抑制后核因子  $\kappa$ B 蛋白未见明显表达。与肿瘤坏死因子  $\alpha$  组相比, 血管生成素 1 组、吡咯烷二硫代氨基甲酸盐组、血管生成素 1 + 吡咯烷二硫代氨基甲酸盐组细胞间黏附分子 1、血管细胞黏附分子 1 的 mRNA 和蛋白表达水平均明显下调 ( $P < 0.05$ ), 三组间无明显差异 ( $P > 0.05$ )。**结论** 血管生成素 1 可能通过核因子  $\kappa$ B 信号传导通路影响肿瘤坏死因子  $\alpha$  诱导的内皮祖细胞的炎症反应。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Angiopoietin-1 Regulating the Inflammatory Factors of Endothelial Progenitor Cells Through Nuclear Factor-kappa B Signaling Pathway

WANG Xi-Huang<sup>1,2</sup>, WANG Yi-Qing<sup>1</sup>, and SONG Jing-Jin<sup>1</sup>

(1. Heart Center, Zhongshan Hospital, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361004, China; 2. The Xiamen First Hospital, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361004, China)

[KEY WORDS] Angiopoietin-1; Endothelial Progenitor Cell; Inflammation; Nuclear Factor-kappa B

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the possible signaling pathway in angiopoietin-1 (Ang-1) regulated inflammatory factors of endothelial progenitor cells. **Methods** We transformed Ang-1 into tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) induced endothelial progenitor cell (EPC), used the specific inhibitor pyrrolidine dithio carbamate (PDTC) to inhibit nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B). Western blot was used to detect the protein expression of Ang-1 and NF- $\kappa$ B, real-time polymerase chain reaction (real-time PCR) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) were used to detect the mRNA and protein expression of intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) and vascular cellular adhesion molecule-1 (VCAM-1) in EPC. **Results** Ang-1 protein expressed while no significant NF- $\kappa$ B protein expressed in EPC. Real-time PCR and ELISA show that compared to the TNF- $\alpha$  group, the expressions of ICAM-1 and VCAM-1 in Ang-1 group, PDTC group and Ang-1 + PDTC group significantly decreased ( $P < 0.05$ ), but there were no significant differences among the three groups ( $P > 0.05$ ). **Conclusions** Ang-1 maybe affects adhesion molecules expression in TNF- $\alpha$  induced EPC through NF- $\kappa$ B signaling pathway.

内皮损伤和炎症是动脉粥样硬化的主要特点。修复损伤的内皮细胞功能已成为防治动脉粥样硬化

的靶点。内皮祖细胞 (endothelial progenitor cell, EPC) 是一类存在于骨髓、外周血、脐带血和胎肝中

[收稿日期] 2011-06-24

[基金项目] 福建省自然科学基金计划项目 (13081062)

[作者简介] 王锡煌, 硕士, 研究方向为动脉粥样硬化, E-mail 为 wxh05116513@163.com。通讯作者王挹青, 博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化, E-mail 为 wang\_gina@163.com。宋晶金, 硕士, 研究方向为动脉粥样硬化, E-mail 为 jingjin117@163.com。

的内皮细胞的前体细胞<sup>[1]</sup>,具有促进体内血管的新生和修复损伤血管的作用。血管生成素 1(angiotensin-1, Ang-1)是血管生成素家族成员之一,研究发现 Ang-1 具有多种生物学功能,能够参与血管生成,抑制细胞凋亡,稳定血管及降低血管通透性。

课题前期研究中发现,在诱导大鼠的内皮祖细胞炎症中,下调 EPC 中 ABIN-2 蛋白的表达后,Ang-1 对炎症反应的抑制作用消失。ABIN-2 蛋白是核因子  $\kappa$ B(nuclear factor-kappa B, NF- $\kappa$ B)内源性抑制物,能够抑制 NF- $\kappa$ B 的活性。在调节炎症反应的信号通路中,NF- $\kappa$ B 信号途径被认为是经典的一条途径。我们的实验采用 NF- $\kappa$ B 特异性抑制剂抑制其活性,观察 NF- $\kappa$ B 失活后 Ang-1 对内皮祖细胞炎症反应的作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

HEK293T 细胞(美国 Invitrogen 公司),EPC 细胞(课题组分离培养),载体质粒 PNL-IRES-EGFP、包装质粒 pHELPER、包膜质粒 pVSVG(美国杜兰大学陈一平教授赠送),PNL-Ang-IRES-EGFP(福建医科大学张志坚教授赠送),山羊抗大鼠 Ang-1 多克隆抗体、兔抗人血管细胞黏附分子 1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)多克隆抗体、小鼠抗大鼠细胞间黏附分子 1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)单克隆抗体(Santa Cruz 公司),辣根过氧化物酶标记羊抗鼠二抗(Amersham 公司),辣根过氧化物酶标记羊抗兔二抗(Protos 公司),NF- $\kappa$ B p65(E498)抗体(Cell Singaling 公司),肿瘤坏死因子  $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )(PeproTech 公司),吡咯烷二硫代氨基酸盐(pyrrolidine dithio carbamate, PDTC)(Sigma-Aldrich 公司),TE2000 倒置荧光显微镜(Nikon 公司),7500 型荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)仪(美国 ABI 公司)。

### 1.2 内皮祖细胞培养及鉴定

参照文献的方法<sup>[2]</sup>断颈处死 SD 大鼠,置体积分数为 75% 乙醇中浸泡 15 min,无菌条件下分离股骨和胫骨,预冷至 4℃ 的 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)5~10 mL 冲洗骨髓腔,至冲洗液清亮,骨干发白。将冲洗液充分吹打混匀以获得单细胞悬液,缓慢加入装有淋巴细胞分离液的离心管,冲洗液与分离液的体积比为 2:1。20℃ 2 300 r/min 离心 20 min,轻轻吸取离心管中间乳白色云雾状单个核细胞层到新的离心管中,加入

4 倍体积的 PBS,1 500 r/min 离心 5 min 洗涤 2 次,离心后弃上清,加入 5% 内皮细胞生长培养基 2(endothelial cell growth medium-2, EGM-2 培养基),将细胞充分吹打混匀后计数,调整细胞密度,以  $5 \times 10^5$  个/cm<sup>2</sup> 密度将细胞接种于培养皿中,置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱孵育。分别于培养 4、7、10 天换液。采用稳定生长的第 3~6 代 EPC 用于实验。

内皮祖细胞培养第 12 天,换液后于培养基中加入 Dil 标记乙酰化低密度脂蛋白(Dil-acetylated low density lipoprotein, Dil-ac-LDL),调整终浓度为 5 mg/L,37℃ 孵育 2 h。4% 多聚甲醛固定细胞 15 min, PBS 浸洗 5 min,重复 3 次。将荧光素植物血凝素 1(fluorescein ulex europeus agglutinin-1, FITC-UEA-lectin-1)加于上述标本中,终浓度为 10 mg/L,37℃ 孵育 1 h, PBS 浸洗 5 min,重复 3 次。封片剂封片,共聚焦显微镜下观察。随机选择 10 个视野,进行细胞计数。

### 1.3 慢病毒载体的包装

参照 Reiser 等<sup>[3]</sup>方法进行慢病毒三质粒系统的病毒包装。慢病毒载体包膜质粒 pVSVG、包装质粒 pHELPER 及载体质粒 pNL-IRES-EGFP 或 pNL-Ang-IRES-EGFP 按 1:1:1 的比例混匀,利用脂质体 Lipofectamine 2000 共转染 293T 细胞,24 h 后荧光显微镜观察转染情况。转染后 48、72 h 收集含病毒上清,4 500 r/min 离心 20 min 收集上清,保存于 -70℃ 备用。

### 1.4 慢病毒感染内皮祖细胞<sup>[4]</sup>

内皮祖细胞达 80% 融合吸弃培养基,每个 10 cm 细胞培养皿分别加入 10 mL 慢病毒液,即含 PNL 基因(滴度为  $5.8 \times 10^8$  TU/L)和 Ang-1 基因(滴度为  $6.0 \times 10^8$  TU/L)的慢病毒液,同时加入聚凝胺至终浓度为 8 mg/L,8 h 后更换为 5% EGM-2 培养基继续培养。24 h 后重复病毒感染。72 h 后在荧光显微镜下观察绿色荧光蛋白的表达,EPC 经感染慢病毒载体后分别获得空病毒载体 PNL-EPC 及携带 Ang-1 基因的慢病毒载体 Ang-1-EPC。收集细胞,Western blot 检测 Ang-1 蛋白的表达。

### 1.5 实时荧光定量聚合酶链反应检测各组细胞间黏附分子 1、血管细胞黏附分子 1 mRNA 表达

EPC 以每孔  $6.08 \times 10^4$  个细胞的浓度接种于 12 孔细胞培养板,37℃ 培养过夜,分为 5 组:CON 组:未经 TNF- $\alpha$  诱导和病毒感染的 EPC 细胞;TNF- $\alpha$  组:单纯 20  $\mu$ g/L TNF- $\alpha$  诱导 EPC 细胞 8 h;PDTC 组:0.1 mmol/L PDTC 加入 EPC 细胞 1 h 后,再用 20  $\mu$ g/L

TNF- $\alpha$  诱导 8 h; Ang-1-EPC 组: 20  $\mu\text{g/L}$  TNF- $\alpha$  诱导 8 h 后感染 PNL-Ang-IRES-EGFP 质粒对应的慢病毒; Ang-1 + PDTC 组: 0.1 mmol/L 的 PDTC 加入 EPC 细胞 1 h 后, 再以 20  $\mu\text{g/L}$  TNF- $\alpha$  诱导 8 h, 8 h 后感染 PNL-Ang-IRES-EGFP 质粒对应的慢病毒。收集以上各组细胞, Trizol 法提取总 RNA, 紫外分光光度计准确定量其浓度和纯度, 所用 RNA 的  $A_{260}/A_{280}$  均在 1.8 ~ 2.0 之间, ICAM-1 的上游引物: 5'-AGGTATCCATC-CATCCCACA-3', 下游引物: 5'-GAAGCCGAGGACT-GCGTG-3', 扩增片段 229 bp, 退火温度为 55.4 $^{\circ}\text{C}$ ; VCAM-1 的上游引物: 5'-ATGGTCAAGTGTTTG-GCTCC-3', 下游引物: 5'-GTTCTCTGACAGTCTC-CCTTTC-3', 扩增片段 250 bp, 退火温度为 55.4 $^{\circ}\text{C}$ ; 以磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH) 为内参 (105 bp), 上游引物: 5'-AT-CACCATCTTCCAGGAGCGA-3', 下游引物: 5'-AGCCT-TCTCCATGGTGGTGAA-3'。同一实验使用同一代 EPC 细胞, 共取 5 批细胞进行实验。

### 1.6 酶联免疫吸附法检测内皮祖细胞细胞间黏附分子 1、血管细胞黏附分子 1 蛋白表达

EPC 以每孔  $4 \times 10^5$  个细胞的浓度接种于 96 孔细胞培养板, 37 $^{\circ}\text{C}$  培养过夜, 参照前法分组, 培养 72 h 后去除病毒液, PBS 洗 2 次, 随后加入 100  $\mu\text{L}$  4% 多聚甲醛 4 $^{\circ}\text{C}$  固定 20 min, 封闭, 加入一抗 (兔抗人 VCAM-1 多克隆抗体、小鼠抗大鼠 ICAM-1 单克隆抗体, 1:200), 4 $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜, PBS 洗涤后, 加入二抗, 37 $^{\circ}\text{C}$  孵育 1 h, 显色, 终止, 用酶标仪测定各孔光密度 (optical density, OD) 值, 其中以 450 nm 作为检测波长, 630 nm 作为校正波长。

### 1.7 免疫印迹法检测核因子 $\kappa\text{B}$ p65 蛋白表达

EPC 以每孔  $1 \times 10^5$  个细胞的浓度接种于 6 孔细胞培养板, 37 $^{\circ}\text{C}$  培养过夜, 收集 CON 组、TNF- $\alpha$  组、PDTC 组细胞消化并收集到离心管中, 加入蛋白裂解液 100  $\mu\text{L}$  充分裂解后, 12 000 r/min 4 $^{\circ}\text{C}$  离心 20 min, 取蛋白上清, 按 BCA 蛋白浓度测定

试剂盒说明书测定待测蛋白浓度, 配制 10% 的分离胶和 5% 的浓缩胶, 上样, 电泳, 转膜, 5% 的脱脂牛奶中室温下缓慢摇荡至少封闭 1 h, TBST (tris-buffered saline and tween 20) 洗膜 3 次, 加入 NF- $\kappa\text{B}$  p65 (E498) 抗体 (1:1 000), 4 $^{\circ}\text{C}$  缓慢摇荡, 孵育过夜, TBST 洗涤后, 加入二抗, 显影, 定影。

### 1.8 统计学方法

采用 SPSS 10.0 统计软件分析, 检测数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 用组间  $t$  检验作组间比较,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 内皮祖细胞的鉴定

共聚焦显微镜下, 显示绿色荧光者为 FITC-UEA-lectin-1 阳性细胞, 显示红色荧光者为 Dil-Ac-LDL 阳性细胞。认为红绿双荧光阳性细胞为 EPC。细胞阳性率为 71.4%  $\pm$  3.8% (图 1)。

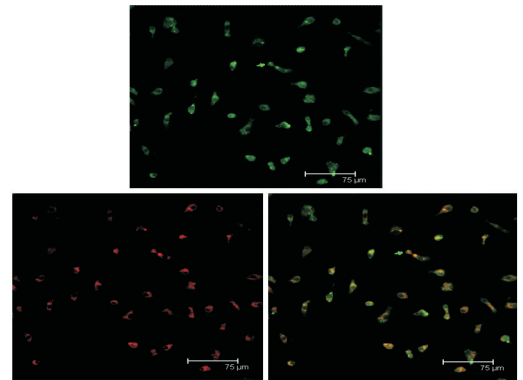


图 1. Dil-Ac-LDL 和 FITC-UEA-lectin-1 共聚焦 ( $\times 100$ )

Figure 1. Dil-Ac-LDL and FITC-UEA-lectin-1 confocal

### 2.2 慢病毒载体的构建

慢病毒载体三质粒共转染 293T 细胞后 48 h, 荧光显微镜下空载体组、Ang-1 转染组均可见大量绿色荧光, 表明转染成功, 上清已含有慢病毒 (图 2)。

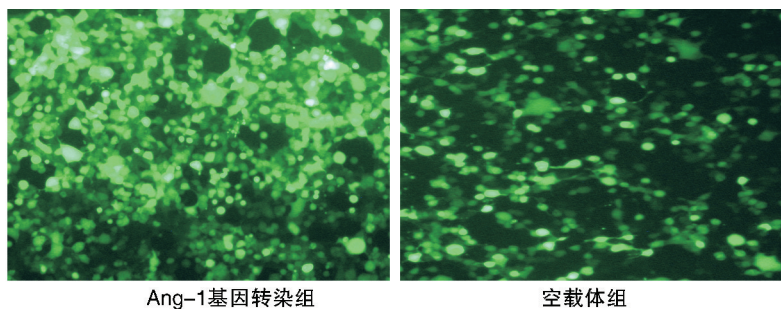


图 2. 转染 48 h 的 293T 细胞绿色荧光的表达 ( $\times 100$ )

Figure 2. The green fluorescent of 293T cells after transfected for 48 hours



2.3 慢病毒感染内皮祖细胞

慢病毒感染 EPC 72 h 后,荧光显微镜下载载体组、Ang-1 转染组均可见绿色荧光,荧光随着细胞传

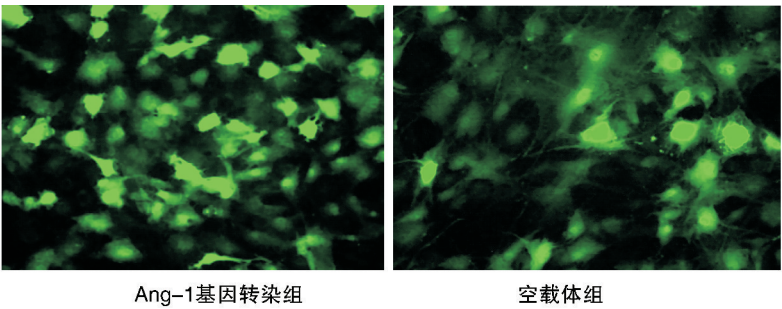


图 3. 慢病毒感染 EPC 72 h 后绿色荧光的表达 (×200)  
Figure 3. The green fluorescent of EPC after lentivirus infected for 72 hours

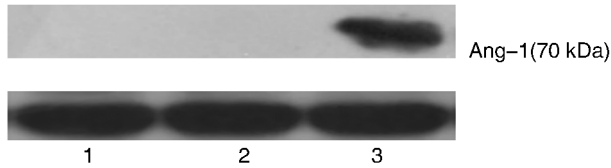


图 4. EPC Ang-1 蛋白的表达 1、2、3 分别为 EPC 组、pNL-EPC 组、Ang-1-EPC 组。  
Figure 4. The expression of Ang-1 protein in EPC

2.4 各组内皮祖细胞细胞间黏附分子 1、血管细胞黏附分子 1 mRNA 的表达

EPC 在 TNF-α 诱导后 ICAM-1、VCAM-1 mRNA 表达明显升高,与单纯 EPC 组相比差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );与 TNF-α 组相比,Ang-1 组、PDTC 组、Ang-1 + PDTC 组 ICAM-1、VCAM-1 mRNA 表达水平均明显下调 ( $P < 0.05$ ),但三组间无明显差异 ( $P > 0.05$ ;图 5)。

2.5 各组内皮祖细胞细胞间黏附分子 1、血管细胞黏附分子 1 蛋白的表达

各组黏附分子蛋白表达与 mRNA 表达的趋势相一致。其中,与 EPC 组相比,TNF-α 诱导 8 h 后细胞黏附分子表达明显升高,差异有统计学意义 ( $P > 0.05$ );与 TNF-α 组相比,Ang-1 组、PDTC 组、Ang-1 + PDTC 组 ICAM-1、VCAM-1 的蛋白表达水平均明显下调 ( $P < 0.05$ ),但三组间无明显差异 ( $P > 0.05$ ;图 6)。

2.6 细胞核核因子 κB p65 蛋白的表达

与 CON 组相比,TNF-α 组 NF-κB p65 蛋白表达明显增多,而先经 PDTC 抑制 1 h 后再经 TNF-α 诱导炎症的 PDTC 组,NF-κB p65 蛋白表达明显减少或消

代可持续(图 3)。Western blot 法可见 Ang-1 转染组表达 Ang-1 蛋白,另 2 组无 Ang-1 蛋白表达(图 4)。

失,由此表明成功抑制了 NF-κB p65 的激活(图 7)。

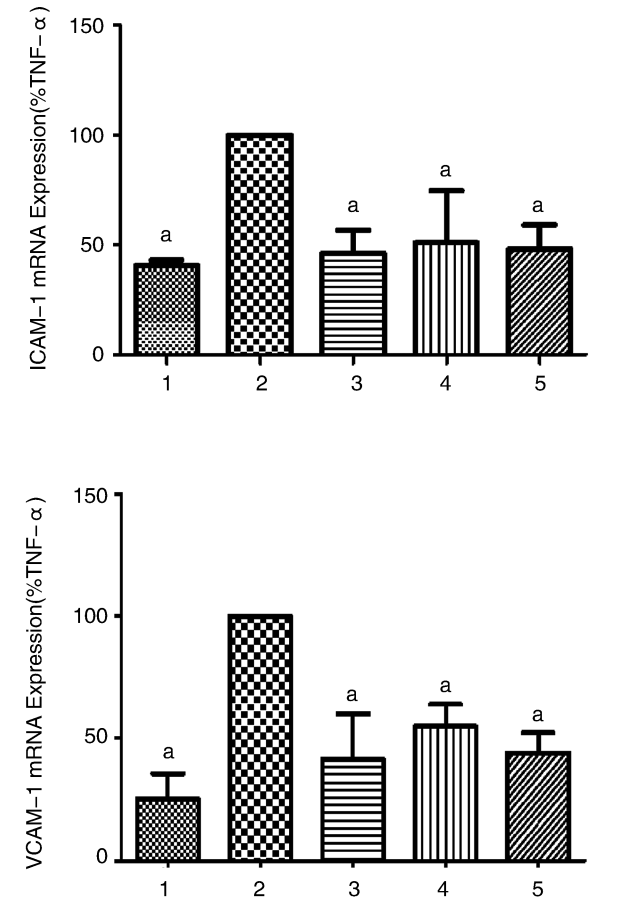


图 5. Real-time PCR 检测各组 EPC 细胞 ICAM-1、VCAM-1 mRNA 的表达 ( $n = 4$ ) 1 为 CON 组,2 为 TNF-α 组,3 为 PDTC 组,4 为 Ang-1 组,5 为 Ang-1 + PDTC 组。a 为  $P < 0.001$ ,与 TNF-α 组比较。  
Figure 5. The expression of ICAM-1, VCAM-1 mRNA detected by Real-time PCR

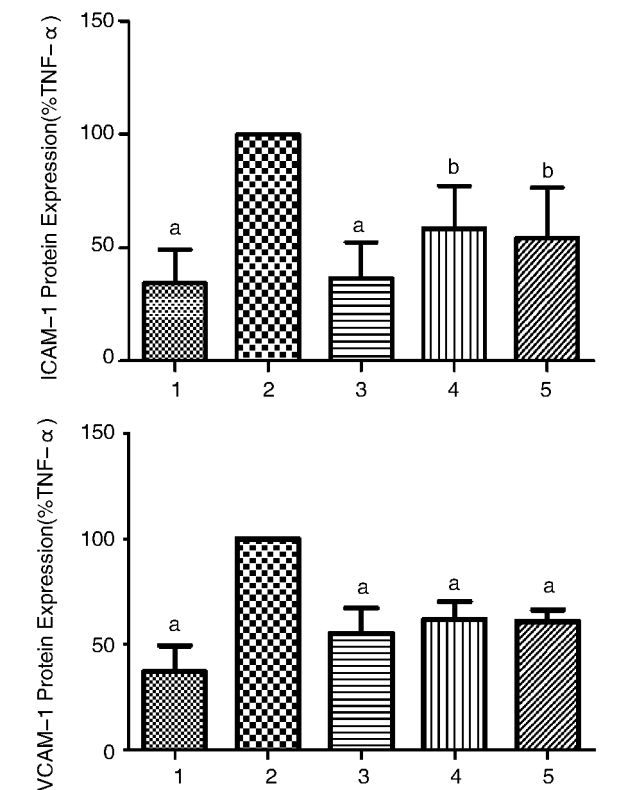


图 6. ELISA 法检测各组 EPC 细胞 ICAM-1、VCAM-1 蛋白的表达 ( $n=4$ ) 1 为 CON 组,2 为 TNF- $\alpha$  组,3 为 PDTC 组,4 为 Ang-1 组,5 为 Ang-1 + PDTC 组。a 为  $P<0.001$ ,与 TNF- $\alpha$  组比较;b 为  $P<0.05$ ,与 TNF- $\alpha$  组比较。

Figure 6. The expression of ICAM-1, VCAM-1 protein detected by ELISA

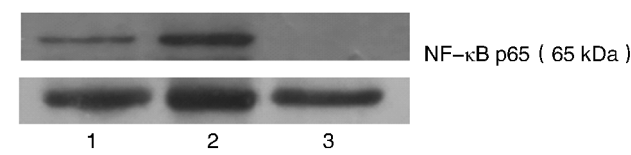


图 7. Western blot 检测各组 EPC 中 NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达 1、2、3 分别为 CON 组、TNF- $\alpha$  组、PDTC 组。

Figure 7. The expression of NF- $\kappa$ B p65 protein detected by Western blot

### 3 讨论

Ang-1 是一种低聚糖蛋白,是血管生成素家族成员之一。Ang-1 能够促进组织所需的新生血管形成和成熟,能够维持成人血管结构的稳定性。研究表明,Ang-1 具有促进血管生成,抑制血管渗漏,以及抑制炎症基因的表达。在鼠皮肤内共同移植过表达的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和 Ang-1,发现 Ang-1 能够减少白细胞的黏附<sup>[5]</sup>。同样在糖尿病大鼠视网膜血管中 Ang-1

能够减少白细胞的黏附,抑制 ICAM-1 的表达<sup>[6]</sup>。在脂多糖处理的小鼠肺血管中 Ang-1 能够抑制黏附分子 E-选择素、ICAM-1、VCAM-1 的表达<sup>[7]</sup>。在大鼠心脏移植的实验中,进一步证明了在体内 Ang-1 能够减少白细胞浸润和纤维化进度<sup>[8]</sup>。由此可见,Ang-1 具有抗炎作用,是一种很好的抗炎因子。有研究发现<sup>[9]</sup>,经 Ang-1 基因转导的骨髓间充质干细胞有抑制共培养人脐静脉血内皮细胞炎症反应的现象。EPC 是一类存在于骨髓、外周血、脐带血和胎肝中的内皮细胞的前体细胞,具有促进血管新生和修复血管的作用。但 EPC 的数量和功能受到衰老和多种生理病理因素的影响,因此,我们利用 Ang-1 基因修饰 EPC 以增强其修复血管的能力。本课题组前期研究表明,Ang-1 基因转导至 EPC 细胞后能够抑制由 TNF- $\alpha$  诱导的 EPC 的炎症反应,增强 EPC 修复损伤血管的能力。但 Ang-1 对 EPC 炎症反应调节具体机制并不明确,因此我们设计此课题对其机制进行初步的研究和探讨。

动脉粥样硬化的炎症学说已逐渐得到人们的重视,在动脉粥样硬化发生发展过程中,NF- $\kappa$ B 发挥重要作用。研究表明,在动脉粥样硬化区和纤维化斑块区均检测到了激活的 NF- $\kappa$ B,并有相应靶基因的表达,而未发生动脉粥样硬化的血管则很少或无 NF- $\kappa$ B 的表达<sup>[10]</sup>。NF- $\kappa$ B 最早是从 B 细胞核抽提物中发现的一种能与免疫球蛋白  $\kappa$  轻链基因的增强子  $\kappa$ B 序列 (GGGACTTTC) 特异性结合的核蛋白。NF- $\kappa$ B 存在于所有静止期细胞的胞质中,只有当它们移位到核内才导致细胞的激活。在静止期细胞,NF- $\kappa$ B 与其抑制物 I $\kappa$ B 结合,形成没有活性的复合物,当细胞受到细胞因子、细菌内毒素、血管紧张素、病毒等刺激激活后,从而参与介导炎症、免疫应答、病毒复制、细胞凋亡和增殖等多种病理反应过程的调控。NF- $\kappa$ B 的激活可以刺激血管内皮细胞分泌多种细胞因子,包括 E-选择素、ICAM-1、VCAM-1、白细胞介素 1、白细胞介素 8 和组织因子等。TNF- $\alpha$  能激活内皮细胞 NF- $\kappa$ B 促进 ICAM-1、VCAM-1 的表达,干预 NF- $\kappa$ B 可以抑制 ICAM-1、VCAM-1 和其它因子的表达<sup>[11]</sup>。

在研究中,我们发现在 mRNA 水平和蛋白水平上 PDTC 处理后可明显抑制 TNF- $\alpha$  诱导的 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达,携带 Ang-1 基因的慢病毒组也出现同样结果。而经 PDTC 处理后,Ang-1 抑制 ICAM-1 和 VCAM-1 的作用被抑制了。通过实验,我们发现在大鼠的 EPC 中,Ang-1 可能通过 NF- $\kappa$ B 信号通路抑制 TNF- $\alpha$  诱导的炎症反应,这为 Ang-1 修

饰 EPC 治疗动脉粥样硬化在临床应用中提供了一个有力的理论支持。

有研究表明 Ang-1 通过其特异性的受体酪氨酸激酶 Tie2 发挥生理作用,在 Tie2 受体发生自身磷酸化后经下游的条信号传导通路产生效应,如 PI-3kinase/Akt 途径、Dok-R-PAK 途径、NF-κB 途径等。Ang-1 具有的多种生物学功能,如能够参与血管生成,抑制细胞凋亡,稳定血管及降低血管通透性等,即是通过上述多条通路实现。然而细胞内不同的信号通路存在多种交互联系,这种复杂的网络给研究带来了不少困难,也给本课题的研究带来一些局限性。在众多复杂的信号通路中,我们结合本课题前期研究结果,选择了其中一条经典的途径,我们只重点研究在 TNF-α 刺激下大鼠 EPC 中 Ang-1 与 NF-κB 通路之间的关系,基于前期研究结果,我们认为在 EPC 中 Ang-1 可能通过抑制 NF-κB 信号通路从而达到抑制炎症的作用。但是在 Ang-1 下游存在众多信号通路,这些信号通路之间是否存在相互作用以及怎样作用,还需要更深一步的研究和探讨。

[参考文献]

[1] Murohara T. Therapeutic vaseulogenesis using human cord blood-derived endothelial progenitors [J]. Trends Cardio-vasc Med, 2001, 11(8):303-307.

[2] Hideki U, Takeshi M, Osamu T, et al. Intrarenal injection of bone marrow-derived angiogenic cells reduces endothelial injury and mesangial cell activation in experimental glomerulonephritis [J]. J Am Soc Nephrol, 2005, 16 (4): 997-1004.

[3] Reiser J, Harmison G, Kluepfel-Stahl S, et al. Transduc-

tion of nondividing cells using pseudotyped defective high-titer HIV type 1 particles [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93 (26): 15 266-271.

[4] 马晓生, 姜建元, 吕飞舟, 等. 腺病毒和慢病毒载体感染骨髓间质干细胞的比较 [J]. 中华医学杂志, 2006, 86 (47): 3 340-344.

[5] Thurston G, Suri C, Smith K, et al. Leakage-resistant blood vessels in mice transgenically overexpressing angiopoietin-1 [J]. Science, 1999, 286 (5449): 2 511-514.

[6] Joussen AM, Poulaki V, Tsujikawa A, et al. Suppression of diabetic retinopathy with angiopoietin-1 [J]. Am J Pathol, 2002, 160 (5): 1 683-693.

[7] Witzembichler B, Westermann D, Knueppel S, et al. Protective role of angiopoietin-1 in endotoxic shock [J]. Circulation, 2005, 111 (1): 97-105.

[8] Nykanen AI, Krebs R, Saaristo A, et al. Angiopoietin-1 protects against the development of cardiac allograft arteriosclerosis [J]. Circulation, 2003, 107 (9): 1 308-314.

[9] 郭晋村, 谢良地, 王挹青. 血管生长素 1 基因修饰骨髓间充质干细胞对粘附因子表达的影响 [J]. 基础医学与临床, 2008, 28 (1): 26-30.

[10] Brand K, Page S, Rogler G, et al. Activiated transcription factor nuclear factor kappa B is present in the atherosclerotic lesion [J]. Clin Invest, 1996, 97 (7): 1 715-722.

[11] Pueyo ME, Gonzalez W, Nicoletti A, et al. Angiotension II stimulates endothelial vascular cell adhesion molecule-lvia nuclear factor-kappa B activation induced by intracellular oxidative stress [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000, 20 (3): 645-651.

(此文编辑 曾学清)