论著

文章编号:1000-5404(2012)08-0738-06

转染 ANT1 基因诱导颈动脉球囊损伤大鼠血管平滑肌细胞凋亡

杨 易,李 燕,王 霄,刘 洁,卢 巍,宋耀明 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院心血管内科,全军心血管病研究所)

[摘要] **目的** 通过腺病毒载体在体转染大鼠颈总动脉球囊损伤模型,研究过表达腺嘌呤核苷酸转位酶-1(adenine nucleotide translocase 1,ANT1)对血管平滑肌细胞凋亡的影响。**方法** 将72只雄性SD大鼠随机分为正常组、单纯损伤组、Ad-GFP转染组、Ad-ANT1转染组,每组18只。用携带ANT1的腺病毒载体(Ad-ANT1)或空载体腺病毒载体(Ad-GFP)局部感染大鼠颈总动脉球囊损伤动物模型,在损伤后7、14、28 d,取大鼠损伤侧颈动脉RT-PCR检测ANT1 mRNA表达,Western blot以及免疫组化检测BAX和Bcl-2表达,TUNEL法原位检测新生内膜及中膜VSMCs凋亡率。**结果** Ad-ANT1腺病毒转染后大鼠颈动脉ANT1大量表达,在14 d达到高峰,显著高于Ad-GFP转染组及单纯球囊损伤组($P<0.01$),至28 d时仍有表达。在7、14 d时,Ad-ANT1转染组BAX阳性表达率显著高于Ad-GFP转染组及单纯损伤组($P<0.05$);Bcl-2阳性表达率高于正常血管,但与Ad-GFP转染组和单纯损伤组无显著差异($P>0.05$);Ad-ANT1转染组新生内膜及中膜平滑肌细胞凋亡率显著高于其他各组($P<0.05$);在14、28 d时,Ad-ANT1转染组新生内膜及中膜面积比(IA/MA)小于Ad-GFP转染组及单纯损伤组($P<0.05$)。**结论** 腺病毒载体介导过表达ANT1可诱导大鼠颈总动脉球囊损伤动物模型新生内膜及中膜VSMC的凋亡,其作用可能通过上调促凋亡蛋白BAX的表达实现。

[关键词] 腺嘌呤核苷酸转位酶-1;颈动脉球囊损伤;血管平滑肌细胞;凋亡

[中图法分类号] R322.12;R394.2;R543.402 [文献标志码] A

Adenine translocase 1 gene transfection induces apoptosis of vascular smooth muscle cells in rats with carotid balloon injury

Yang Yi, Li Yan, Wang Xiao, Liu Jie, Lu Wei, Song Yaoming (Institue of Cardiovascular Diseases, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[**Abstract**] **Objective** To study the effect of adenine nucleotide translocase 1 (ANT1) gene over-expression on apoptosis of vascular smooth muscle cells (VSMC) in a rat carotid balloon injury model induced by adenovirus plasmid. **Methods** Seventy-two SD rats were randomly divided into normal group, non-transfection group, Ad-GFP transfection group and Ad-ANT1 transfection group (18 in each group). ANT1 gene was transfected into rat carotid arteries with Ad-ANT1 adenovirus after a rat carotid balloon injury model was established. The arteries were harvested on days 7, 14 and 28 after operation. Expression of ANT-1, BAX, and Bcl-2 in arteries was detected by RT-PCR, Western blotting, and immunohistochemistry, respectively, with HE staining. Apoptosis of VSMC in tunica intima and tunica media of the model was assayed with TUNEL staining. **Results** The ANT1 gene was significantly expressed in rat carotid arteries after Ad-ANT1 transfection and reached its peak level on day 14, which was significantly higher in Ad-ANT1 transfection group than in Ad-GFP transfection group and balloon injury group($P<0.01$). The expression level of BAX was significantly higher in Ad-ANT1 transfection group than in Ad-GFP transfection group and balloon injury group on days 7 and 14 after transfection($P<0.05$). The expression level of Bcl-2 was higher in Ad-ANT1 transfection group than in normal group($P<0.05$). However, no significant difference was found in expression level of Bcl-2 between the two groups($P>0.05$). The apoptosis rate of VSMC in tunica intima and tunica media of the model was significantly higher in Ad-ANT1 transfection group than in the other 3 groups($P<0.05$). The tunica intima/ tunica media

[通信作者] 宋耀明,电话:(023)68755196,E-mail:sym553142002@yahoo.com.cn

area ratio in the model was lower in Ad-ANT1 transfection group than in Ad-GFP transfection group and balloon injury group on days 14 and 28 after transfection ($P<0.05$). **Conclusion** Adenovirus plasmid-induced over-expression of ANT1 gene induces apoptosis of VSMC in tunica intima/ tunica media of the model by up-regulating the expression of BAX.

[**Key words**] adenine nucleotide translocase 1; carotid artery balloon injury; vascular smooth muscle cells; apoptosis

Corresponding author: Song Yaoming, Tel: 86-23-68755196, E-mail: sym553142002@yahoo.com.cn

腺嘌呤核苷酸转位酶(adenine nucleotide translocase, ANT)是位于线粒体内膜上的一类跨膜转运蛋白,其参与转运线粒体氧化磷酸化产生的ATP和ADP经内膜到胞质的过程,与细胞内能量代谢密切相关。研究发现ANT通过与线粒体膜通道性转运复合孔(mitochondrial permeability transition pore, MPTP)调控ADP/ATP转运的活性关联参与诱导细胞的凋亡[1]。ANT有4种异构体存在,其中ANT1和ANT3具有促进细胞凋亡的作用,而又以ANT1诱导细胞凋亡的作用最强[2-3]。血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)的异常增殖和凋亡不足参与了动脉粥样硬化、血管介入术后再狭窄等心血管疾病的发生和发展。本实验用重组腺病毒载体将大鼠ANT1基因转染至颈动脉球囊损伤大鼠模型,验证ANT1是否具有诱导血管新生内膜平滑肌细胞凋亡的作用,并通过检测细胞凋亡相关因子的表达探讨相应的作用机制,为动脉粥样硬化以及介入治疗术后再狭窄等心血管疾病的防治提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料及试剂

雄性7周龄SD大鼠72只,体质量280~300 g,由第三军医大学实验动物中心提供。携带ANT1基因的腺病毒载体(Ad-ANT1)由本实验室构建,将ANT1基因片段克隆至pShuttle-GFP-CMV穿梭质粒,在细菌中将pShuttle-GFP-CMV穿梭质粒与pAdxsi载体重组,再通过脂质体转染HEK293细胞对重组腺病毒进行包装、扩增。空腺病毒载体(Ad-GFP)亦采用同样方法构建,但不包含ANT1基因片段。经PCR和酶切鉴定Ad-ANT1载体中外源目的基因序列片段正确,病毒滴度为2×10^{11} pfu/ml[4]。RNA/DNA/蛋白质共提取试剂盒购自美国Omega公司,RT-PCR试剂盒购自日本TaKaRa公司,TUNEL法原位细胞凋亡检测试剂盒购自德国Roche公司,兔抗大鼠BAX及Bcl-2多克隆抗体购自美国Epitomics公司,免疫组化试剂盒购自武汉博士德公司,免疫染色封闭液购自碧云天公司,1.5F PTCA球囊导管购自美国Cordis公司,其他试剂采用国产分析纯试剂。

1.2 模型构建及实验分组

1.2.1 大鼠颈动脉球囊损伤模型的建立 参照Tulis[5]和本实验室以前的方法[6]建立大鼠颈动脉球囊损伤模型:腹腔注射2%戊巴比妥(40 mg/kg)麻醉SD大鼠,尾静脉注射100 U/kg肝素钠术前抗凝;碘伏消毒术野;沿颈部正中线切开皮肤,分离肌肉,暴露出颈动脉及颈内、外动脉,钝性分离出左侧颈总动脉约2.5 cm,颈外动脉1 cm,颈内动脉0.5 cm;将颈外动脉远心端结扎,动脉夹夹闭颈总动脉近心端及颈内动脉,在颈外动脉远离颈内、外动脉分叉处做一横切口,将球囊导管插入颈总动脉,PTCA压力泵加压使球囊膨胀,大气压3atm维持30 s,慢速来回拉动球囊1次,减压球囊并退出颈总动脉,生理盐水冲洗血管管腔。

1.2.2 实验分组及腺病毒载体介导的ANT1基因导入 大鼠随机分为正常组、单纯损伤组、Ad-GFP转染组、Ad-ANT1转染组,每组18只。除正常组外,单纯损伤组、Ad-GFP转染组、Ad-ANT1转染组在完成左侧颈总动脉球囊损伤后,动脉夹夹闭颈总动脉近心端,参照Guo等[7]的方法分别从颈外动脉切口处向损伤后的颈总动脉注入PBS缓冲液、Ad-GFP空载体腺病毒液和Ad-ANT1腺病毒液约40 μl,再在颈内外动脉分叉处夹闭颈总动脉,作用30 min后,吸出病毒液,生理盐水冲洗管腔,颈动脉注射肝素钠100 U/kg,结扎颈外动脉近心端,恢复颈总动脉至颈内动脉血流。正常组仅切开颈部皮肤,分离出左侧颈总动脉、颈内动脉以及颈外动脉,而不进行损伤。各组SD大鼠完成手术后缝合颈部切口,碘伏消毒,肌注青霉素4×10^4U。

1.3 样本采集与保存

在损伤后7、14、28 d时过量麻醉处死SD大鼠,沿颈正中线切开皮肤,游离出颈总动脉,剪下球囊损伤段约2 cm,用PBS缓冲液冲洗,其中一半血管入4%多聚甲醛固定后石蜡包埋切片,用于免疫组织化学、TUNEL法原位检测凋亡;另一半入液氮保存,用于RT-PCR检测ANT1 mRNA的表达。

1.4 RT-PCR检测颈动脉ANT1、BAX及Bcl-2表达

取颈动脉血管组织30 mg,提取出组织总RNA,并检测纯度及浓度,逆转录合成cDNA, -20 ℃保存备用。目的基因引物序列见表1。ANT1反应条件为:94 ℃预变性5 min后进入PCR循环,94 ℃变性30 s,60 ℃退火30 s,72 ℃延伸3 min,30个循环。BAX和Bcl-2退火温度分别为46 ℃和48 ℃,其余反应条件与ANT1相同。PCR反应完成后进行2%琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像仪成像,Quantity One软件分析计算出目的条带与

内参GAPDH条带光密度值进行半定量分析。

表1 PCR引物序列及目的片段大小

目的基因	引物序列(5′~3′)	目的片段大小
GAPDH	上游:GTGCTGAGTATGTCGTGGAGTCT	610 bp
	下游:GTGGAAGAATGGGAGTTGCTGT	
ANT1	上游:CTACCTCCCTCTGCTTCGTCTAC	288 bp
	下游:GTCACACTCTGGGCAATCATC	
BAX	上游:CAGGATCGAGCAGAGAGGATG	256 bp
	下游:CAAAGTAGAAGAGGGCAACCAC	
Bcl-2	上游:GCTACGAGTGGGATACTGGAGA	260 bp
	下游:AGCTGACTGGACATCTCTGCAA	

1.5 免疫组织化学染色检测颈动脉BAX和Bcl-2表达

颈总动脉石蜡切片60 ℃烤片1 h后,入二甲苯、梯度酒精进行脱蜡和水化;蛋白酶K抗原修复,3% H_2O_2室温孵育15 min以封闭内源性过氧化物酶,免疫染色封闭液(含正常羊血清)室温孵育30 min封闭非特异性染色,弃血清封闭液;滴加按比例稀释后的一抗4 ℃过夜,次日再37 ℃孵育30 min,PBS洗3次,每次5 min;滴加免疫组化试剂盒中的二抗工作液37 ℃孵育30 min;DAB显色,苏木精复染,常规脱水透明后中性树脂封片。本实验使用的一抗分别是BAX及Bcl-2兔抗大鼠多克隆抗体,以PBS液代替一抗作空白对照实验。每张切片在光学显微镜高倍镜下随机选取6个视野,用Image Pro Plus 5.1图像分析系统半定量检测血管中BAX及Bcl-2的表达。

1.6 Western blot检测颈动脉BAX和Bcl-2表达

用RNA/DNA/蛋白共提取试剂盒提取出总蛋白,测定蛋白浓度,进行12% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,电转膜,用50 g/L脱脂奶粉封闭1 h,再用1∶500稀释的一抗(抗BAX和抗Bcl-2兔抗大鼠多克隆抗体)进行杂交,4 ℃过夜,用1∶2 000稀释的羊抗兔二抗37 ℃孵育1 h,化学发光法进行显色反应。凝胶成像分析系统分析免疫印迹杂交条带光密度值。

1.7 TUNEL法原位检测颈动脉平滑肌细胞凋亡

大鼠颈总动脉石蜡切片60 ℃烤片1 h后,入二甲苯、梯度酒精进行脱蜡和水化,蛋白酶K工作液37 ℃孵育15 min,PBS漂洗3次(每次5 min),滴加TUNEL反应混合液(TdT液与荧光素标记的dUTP液按1∶9比例混合),阴性对照组仅滴加荧光素标记的dUTP液,在暗室湿盒中37 ℃孵育1 h,PBS漂洗3次(每次5 min),滴加POD液,暗室湿盒中孵育30 min,PBS漂洗后DAB显色,苏木精复染,脱水透明后中性树脂封片,每张切片在光学显微镜高倍镜下随机选取6个视野,用Image Pro Plus 5.1图像分析系统计数血管内膜和中膜中阳性凋亡细胞数与平滑肌细胞总数,求百分比,计算每一个时间段6只大鼠模型的血管切片结果平均值,即为各实验组在该时间段的平滑肌细胞凋亡率。

1.8 HE染色

将各实验组颈总动脉石蜡切片常规HE染色,利用Image Pro Plus 5.1图像分析软件以内弹力膜为界,分别测量血管内膜和中膜横截面面积,计算内膜和中膜面积比(IA/MA)。

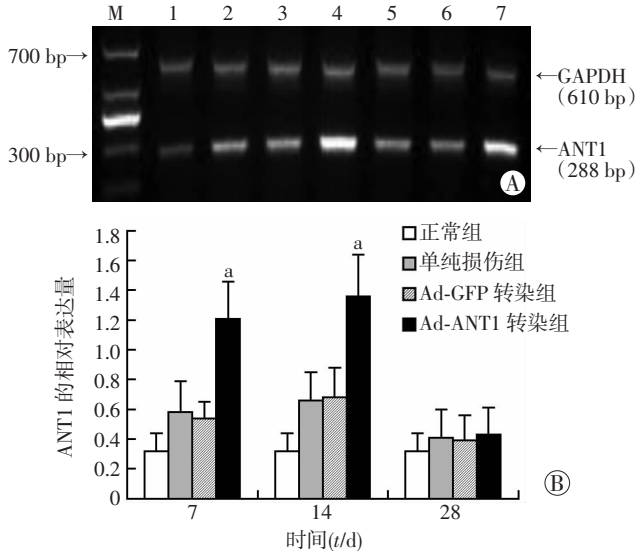
1.9 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用SPSS 13.0软件,多组间比较使用单因素方差分析;两组间同一时间点比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 颈动脉中ANT1 mRNA表达

RT-PCR结果见图1。正常组仅有微量ANT1 mRNA表达,单纯损伤组以及Ad-GFP转染组在损伤后7、14 d时有少量ANT1 mRNA表达,此后逐渐下降;而Ad-ANT1转染组可见ANT1 mRNA大量表达,明显高于其他各组($P<0.01$);在损伤28 d后,Ad-ANT1转染组仍有ANT1 mRNA表达,但与单纯损伤组及Ad-GFP转染组无显著差异($P>0.05$)。

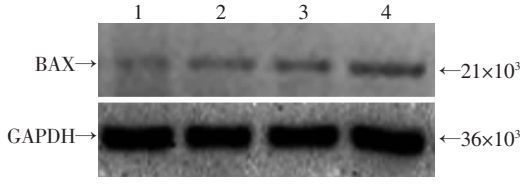


A:RT-PCR结果 M:标准;1:正常组;2、3、4:分别为损伤7 d单纯损伤组、Ad-GFP转染组及Ad-ANT1转染组;5、6、7:分别为损伤14 d单纯损伤组、Ad-GFP转染组及Ad-ANT1转染组;B:ANT1的相对表达量 a:$P<0.01$,与同一时间正常组、单纯损伤组和Ad-GFP转染组比较

图1 RT-PCR检测各组颈动脉ANT1的表达

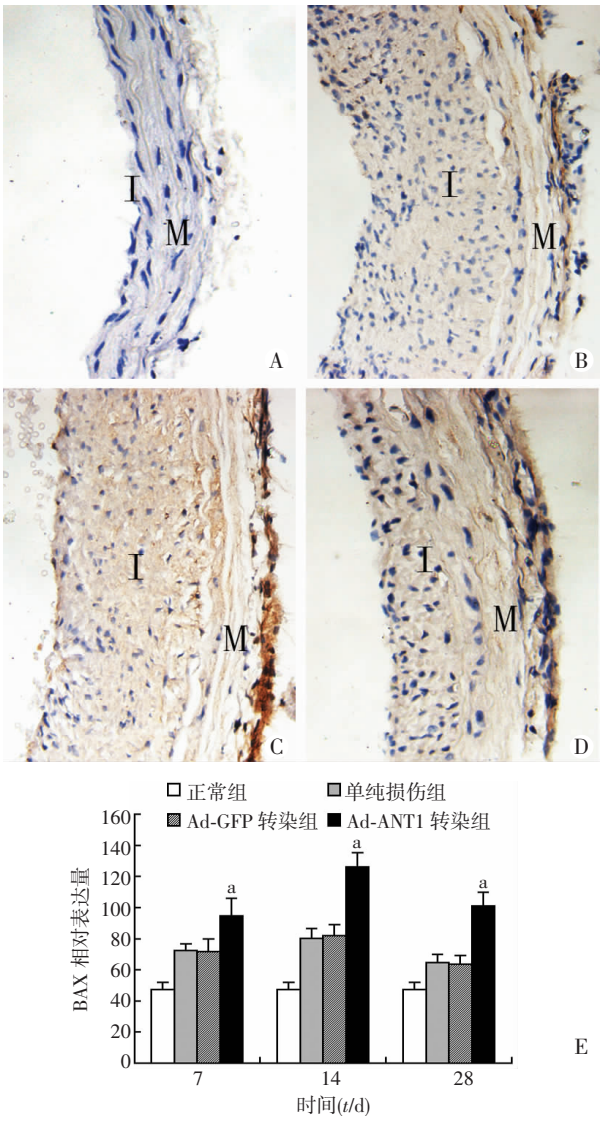
2.2 颈动脉中BAX表达

在正常组颈动脉仅有微量BAX表达;损伤7 d后,单纯损伤组及Ad-GFP转染组BAX mRNA表达增加,14 d后开始下降;在损伤7、14、28 d时,Ad-ANT1转染组BAX表达均显著高于Ad-GFP转染组以及单纯损伤组($P<0.01$)。RT-PCR和免疫组化结果与Western blot结果一致(图2、3)。



1:正常组;2:单纯损伤组;3:Ad-GFP转染组;4:Ad-ANT1转染组

图2 Western blot检测损伤后14 d各组颈动脉BAX的表达

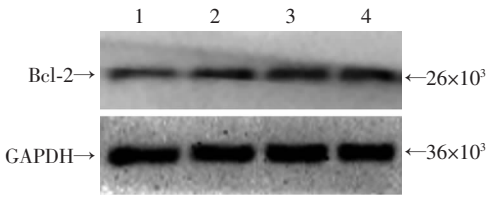


A:正常组(SABC×400);B:单纯损伤组(SABC×400);C:Ad-GFP 转染组(SABC×400);D:Ad-ANT1 转染组(SABC×400);I:内膜;M:中膜;E:BAX 相对表达量 a:$P<0.01$,与同一时间单纯损伤组和 Ad-GFP 转染组比较

图 3 免疫组化检测各组颈动脉 BAX 的表达

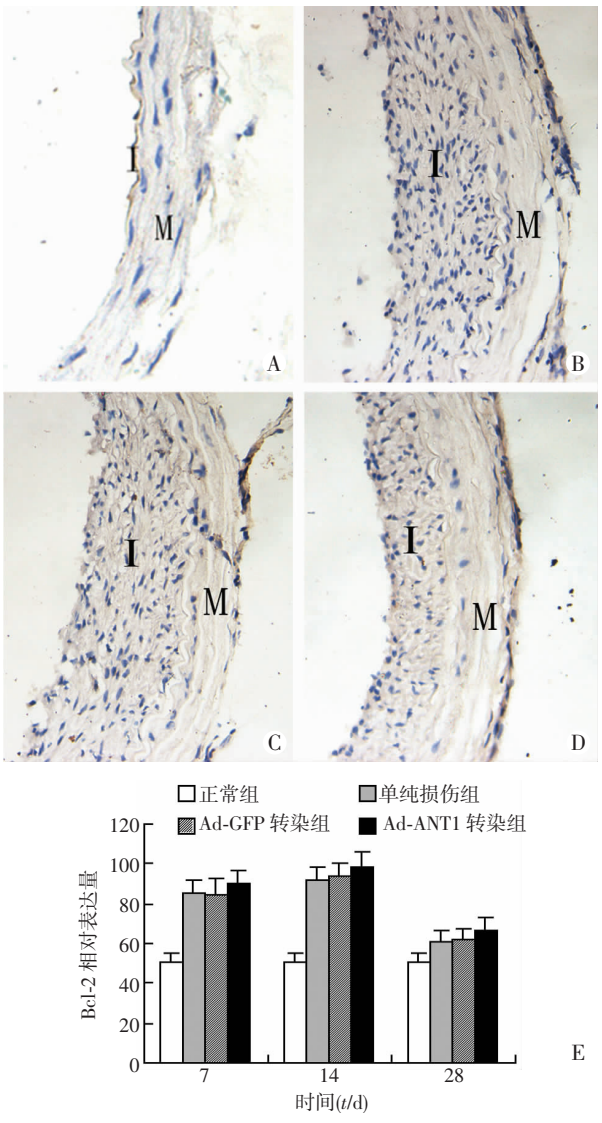
2.3 颈动脉中 Bcl-2 表达

在正常组颈动脉中仅有微量 Bcl-2 表达,在损伤 7 d,单纯损伤组、Ad-GFP 转染组及 Ad-ANT1 转染组 Bcl-2 表达均明显增加,14 d 达到高峰后表达下降。在各时间段,Ad-ANT1 转染组、单纯损伤组、Ad-GFP 转染组各组之间 Bcl-2 均无显著差异($P>0.05$)。RT-PCR 和免疫组化结果与 Western blot 结果一致(图 4、5)。



1:正常组;2:单纯损伤组;3:Ad-GFP 转染组;4:Ad-ANT1 转染组

图 4 Western blot 检测损伤后 14 d 各组颈动脉 Bcl-2 的表达



A:正常组(SABC×400);B:单纯损伤组(SABC×400);C:Ad-GFP 转染组(SABC×400);D:Ad-ANT1 转染组(SABC×400);I:内膜;M:中膜;E:Bcl-2 相对表达量

图 5 免疫组化检测各组颈动脉 Bcl-2 的表达

2.4 颈动脉平滑肌细胞凋亡

在损伤 7、14、28 d,正常组颈动脉仅见个别阳性凋亡细胞;单纯损伤组及 Ad-GFP 转染组仅见少量阳性细胞;而 Ad-ANT1 转染组颈动脉视野中可见大量凋亡细胞。各时间段 Ad-ANT1 转染组颈动脉阳性 VMSCs 凋亡率均高于单纯损伤组及 Ad-GFP 转染组(图 6)。

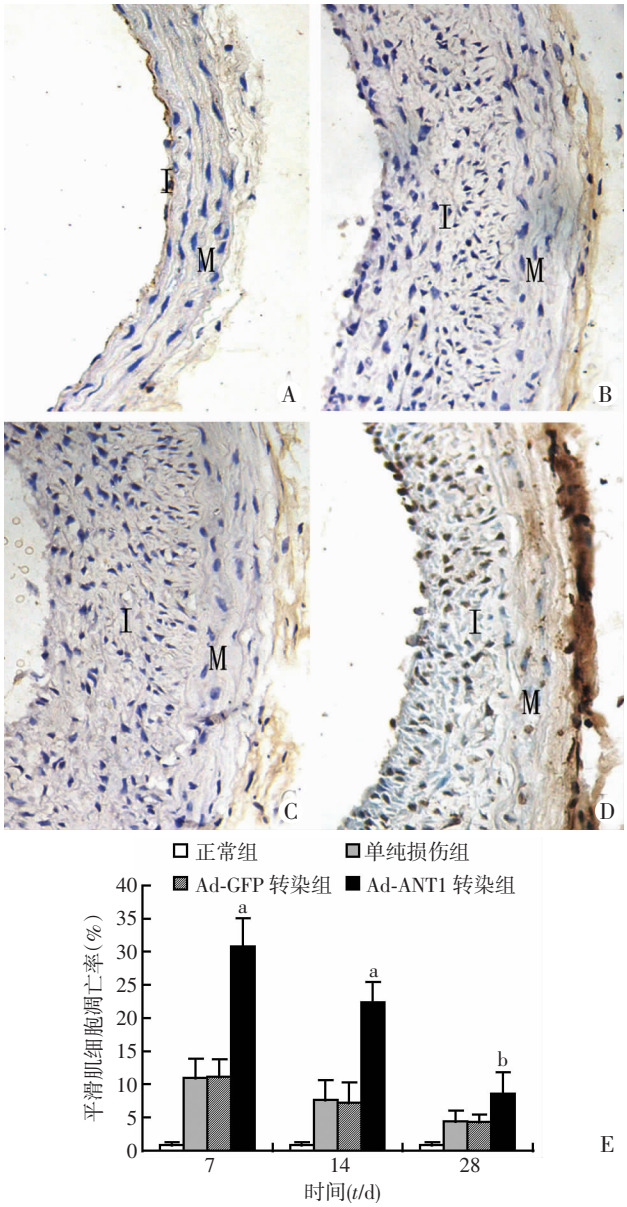
2.5 颈动脉内膜和中膜面积比

在光学显微镜下,正常组颈总动脉内膜可见单层内皮细胞,血管弹力层结构清楚。单纯损伤组及 Ad-GFP 转染组动脉内膜增生明显,管腔明显狭窄,细胞间质大量堆积,内弹力板不同程度破坏或断裂。图像分析软件计算结果表明,7 d 时 Ad-ANT1 转染组内膜/中膜面积比(IA/MA)与单纯损伤组及 Ad-GFP 转染组无显著差异($P>0.05$);在 14 d 时,Ad-ANT1 转染组 IA/MA 值较单纯损伤组及 Ad-GFP 转染组减小(图 7),差异有统计学意义($P<0.05$);在 28 d 时,Ad-ANT1 转染组 IA/MA

值较单纯损伤组及 Ad-GFP 转染组明显减小，差异有统计学意义（$P<0.01$）。

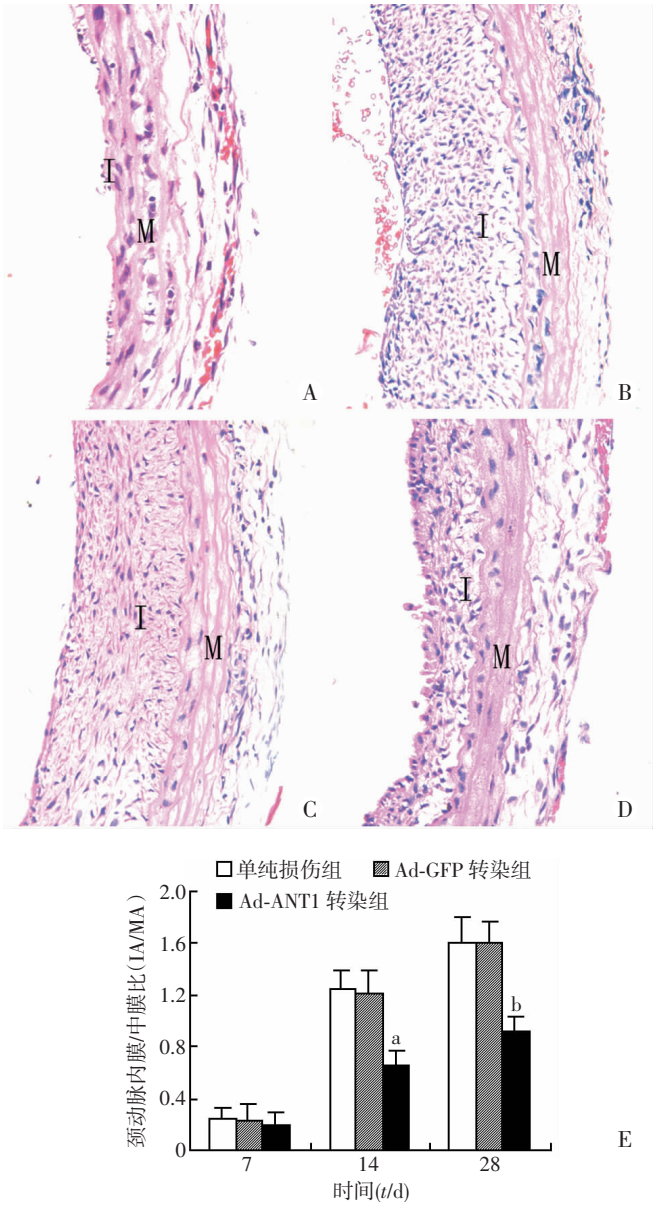
3 讨论

腺嘌呤核苷酸转位酶（ANT）是一类位于线粒体内膜的跨膜蛋白，参与构成线粒体膜通道性转运孔（MTPT）。ANT 的跨膜结构域分为基质构象和胞质构象两部分，可通过结合位点与 ADP、ATP 等底物结合在两种构象间转换，使 MPTP 开放或关闭[8]。Shen 等[9]研究发现与哺乳动物 ANT 同源的线粒体膜蛋白 WAN1 是介导秀丽线虫细胞凋亡的主要机制，而秀丽线虫是研究细胞凋亡的极佳模型，因此，ANT 被认为是细胞凋亡过程中的关键基因。ANT 的 4 种异构体序列相似性在 80% ~90% 之间，在不同组织细胞中的表达不同，与组织的细胞类型、增殖能力以及能量需求有关[10]。ANT1 主要在心肌和骨骼肌细胞的线粒体内膜上表达，ANT2 主要在淋巴细胞、肝细胞以及肿瘤细



A：正常组（TUNEL ×400）；B：单纯损伤组（TUNEL ×400）；C：Ad-GFP 转染组（TUNEL ×400）；D：Ad-ANT1 转染组（TUNEL ×400）；I：内膜；M：中膜；E：平滑肌细胞凋亡情况　a：$P<0.01$；b：$P<0.05$，与单纯损伤组和 Ad-GFP 转染组比较

图 6　各组颈动脉凋亡平滑肌细胞检测结果



A：正常血管（HE ×400）；B：单纯损伤组（HE ×400）；C：Ad-GFP 转染组（HE ×400）；D：Ad-ANT1 转染组（HE ×400）；I：内膜；M：中膜；E：内膜中膜面积比　a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与单纯损伤组和 Ad-GFP 转染组比较

图 7　各组损伤后颈动脉内膜增生情况

胞等增生活性较强的组织中表达表达,ANT3 在各种组织中都有少量表达,而 ANT4 仅在人类的脑细胞、肝细胞和睾丸组织中少量表达[11-12]。

介入治疗是目前治疗冠心病等血管狭窄疾病的有效手段。然而,再狭窄(restenosis)的高发生率严重影响介入治疗的手术效果。血管平滑肌细胞对损伤反应过度引起血管内膜过度增生被认为是再狭窄发生、发展的主要机制。因此,研究抑制损伤后血管 VSMC 过度增殖和促进 VSMCs 凋亡对预防和治疗动脉粥样硬化以及血管损伤后再狭窄具有重要意义。

目前,对于 ANT1 诱导细胞凋亡作用的研究主要集中于心肌细胞以及肿瘤细胞,已证实在体外培养的心肌细胞以及肿瘤细胞中过表达 ANT1 可诱导细胞凋亡,甚至缩小肿瘤体积[13]。以往的研究认为 ANT 诱导凋亡作用可能与其作为 MPTP 重要组成成分有关,而 MPTP 转运 ADP/ATP 的能力可被促凋亡蛋白 BAX 抑制,引起线粒体膜通透性改变,从而诱导细胞凋亡[14]。然而,最近的研究发现 ANT1 诱导细胞凋亡的作用与 MPTP 并不直接相关,而是通过 ROS 产物的增加上调 BAX 表达实现[15]。

本实验室前期研究表明,通过腺病毒载体在体外培养的 VSMCs 中过表达 ANT1 可诱导 VSMCs 凋亡[16]。而本实验利用携带 ANT1 基因的腺病毒载体转染颈总动脉球囊损伤大鼠模型,通过 TUNEL 法原位检测结果证实过表达 ANT1 后新生内膜及中膜中 VSMC 凋亡率显著高于空白腺病毒转染组、单纯损伤组和正常组血管;HE 染色显示 Ad-ANT1 转染组血管新生内膜增殖程度明显低于单纯损伤组及 Ad-GFP 转染组;而 RT-PCR 及免疫组化的结果表明在转染 Ad-ANT1 腺病毒后血管组织中 BAX 及 Bcl-2 表达增加,但 BAX/Bcl-2 比例升高;促使 BAX 从细胞质转移到线粒体,导致线粒体跨膜电位下降,进而诱导细胞凋亡的发生。

因此,ANT1 作为调控细胞凋亡的一个关键基因,具有通过上调 BAX 蛋白表达促进平滑肌细胞凋亡而减轻血管损伤后内膜增殖的作用,可以作为防治介入治疗术后再狭窄一个新靶点。

参考文献:

[1] Tsujimoto Y, Shimizu S. Role of the mitochondrial membrane permeability transition in cell death[J]. Apoptosis, 2007, 12(5): 835-840.

[2] Gallerne C, Touat Z, Chen Z X, *et al*. The fourth isoform of the adenine nucleotide translocator inhibits mitochondrial apoptosis in cancer cells[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2010, 42(5): 623-629.

[3] Zamora M, Granell M, Mampel T, *et al*. Adenine nucleotide translocase 3 (ANT3) overexpression induces apoptosis in cultured cells[J]. FEBS Lett, 2004, 563(1/3): 155-160.

[4] 李燕, 宋耀明, 卢巍, 等. 大鼠 ANT1 基因腺病毒载体的构建及体外表达[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(7): 1188-1191.

[5] Tulis D A. Histological and morphometric analyses for rat carotid balloon injury model[J]. Methods Mol Med, 2007, 139: 31-66.

[6] 苏华科, 宋耀明, 郭文昀. 西洛他唑抑制颈总动脉球囊损伤后大鼠血凝素样氧化低密度脂蛋白受体-1 表达[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(18): 1774-1777.

[7] Guo R W, Wang H, Gao P, *et al*. An essential role for stromal interaction molecule 1 in neointima formation following arterial injury[J]. Cardiovasc Res, 2009, 81(4): 660-668.

[8] Kim E H, Koh E H, Park J Y, *et al*. Adenine nucleotide translocator as a regulator of mitochondrial function: implication in the pathogenesis of metabolic syndrome[J]. Korean Diabetes J, 2010, 34(3): 146-153.

[9] Shen Q, Qin F, Gao Z, *et al*. Adenine nucleotide translocator cooperates with core cell death machinery to promote apoptosis in Caenorhabditis elegans[J]. Mol Cell Bio, 2009, 29(14): 3881-3893.

[10] Jang J Y, Choi Y, Jeon Y K, *et al*. Over-expression of adenine nucleotide translocase 1 (ANT1) induces apoptosis and tumor regression *in vivo*[J]. BMC Cancer, 2008, 8: 160.

[11] Brenner C, Subramaniam K, Pertuiset C, *et al*. Adenine nucleotide translocase family: four isoforms for apoptosis modulation in cancer[J]. Oncogene, 2011, 30(8): 883-895.

[12] Dolce V, Scarcia P, Iacopetta D, *et al*. A fourth ADP/ATP carrier isoform in man: identification, bacterial expression, functional characterization and tissue distribution[J]. FEBS Lett, 2005, 579(3): 633-637.

[13] Baines C P, Molkentin J D. Adenine nucleotide translocase-1 induces cardiomyocyte death through upregulation of the pro-apoptotic protein Bax[J]. J Mol Cell Cardiol, 2009, 46(6): 969-977.

[14] Belzacq A S, Vieira H L, Verrier F, *et al*. Bcl-2 and Bax modulate adenine nucleotide translocase activity[J]. Cancer Res, 2003, 63(2): 541-546.

[15] Benjamin F, Rodrigue R, Aurelien D, *et al*. The respiratory-dependent assembly of ANT1 differentially regulates Bax and Ca^{2+} mediated cytochrome c release[J]. Front Biosci (Elite-Ed), 2011, 3: 395-409.

[16] 李燕, 卢巍, 任可, 等. 腺病毒介导过表达 ANT1 基因诱导大鼠血管平滑肌细胞凋亡[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(7): 711-714.

(**收稿**:2011-11-15;**修回**:2012-01-17)

(编辑 栾 嘉)