基础研究 DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2011.11.013

促红细胞生成素对 TNF-α 诱导的血管内皮细胞凋亡的影响

李 侃，李建华，曹冬妮，苏筠霞，刘天喜，王荣珍
（兰州大学第一医院肾病科，兰州 730000）

【摘 要】目的：观察重组人促红细胞生成素（Recombinant human erythropoietin，rhEPO）对肿瘤坏死因子-α（Tumor necrosis factor-alpha，TNF-α）诱导的人脐静脉血内皮细胞（Human umbilical vein endothelial cells，HUVEC）凋亡的影响并探讨相关机制。方法：以不同浓度的 rhEPO（12.5、25、50 IU/ml）预处理 HUVEC 24 h，以 50 ng/ml TNF-α 诱导细胞凋亡，MTT 法检测细胞生存率，ELISA 法检测胞浆中细胞色素 C（Cytochrome C，CytC）的浓度，免疫细胞化学法测定 Caspase-3 蛋白的表达，TUNEL 法检测凋亡指数（Apoptosis index，AI），SCGE 法（又称彗星实验）检测 DNA 损伤。结果：TNF-α 作用 HUVEC 24 h 后细胞生存率和凋亡指数均高于正常对照组（$P<0.05$）。rhEPO 以浓度依赖方式提高细胞生存率，降低 CytC 的浓度，抑制 Caspase-3 蛋白的表达，降低凋亡指数，减少 DNA 损伤（P 均<0.05）。相关分析显示 CytC 的浓度与凋亡指数呈正相关（$r=0.807$，$P<0.05$）；CytC 的浓度与 Caspase-3 的相对含量呈正相关（$r=0.583$，$P<0.05$）。结论：rhEPO 能够抑制 TNF-α 诱导的内皮细胞凋亡，可能与抑制线粒体凋亡通路的活化有关。

【关键词】促红细胞生成素；肿瘤坏死因子-α；内皮细胞；线粒体凋亡通路；终末期肾病
【中国图书分类法分类号】R969.2 【文献标志码】A 【收稿日期】2011-08-02

Effects of erythropoietin on vascular endothelial cells apoptosis induced by TNF-α

LI Kan，LI Jian-hua，CAO Dong-ni，SU Jun-xia，LIU Tian-xi，WANG Rong-zhen
（*Department of Nephrology，the First Hospital，Lanzhou University*）

【Abstract】*Objective*：To investigate the effects of recombinant human erythropoietin（rhEPO）on vascular endothelial cells apoptosis induced by tumor necrosis factor-alpha（TNF-α）and its possible mechanism. *Methods*：Human umbilical vein endothelial cells（HUVEC）were pretreated with rhEPO of different concentrations（12.5，25，50 IU/ml）before 50 ng/ml TNF-α treatment. The cell survival rate was measured by methyl thiazolyl tetrazolium（MTT）assay. The concentration of cytochrome C（CytC）in cytosol was analyzed using enzyme-linked immunosorbent assay（ELISA）. The expression of Caspase-3 protein was examined by immunocytochemistry assay. The apoptosis index（AI）of HUVEC was detected by terminal dUTP nick-end labeling（TUNEL）method. The damage of DNA was evaluated using single cell gel electrophoresis（SCGE）assay. *Results*：rhEPO could significantly increase the cell survival rate，decrease the concentration of CytC，the relative content of Caspase-3，the AI of HUVEC and the damage of DNA in a concentration-dependent manner（all $P<0.05$）. Correlation analysis showed that there was positive correlation between the concentration of CytC and AI（$r=0.807$，$P<0.05$）. The concentration of CytC also had a positive correlation with the relative content of Caspase-3（$r=0.583$，$P<0.05$）. *Conclusion*：rhEPO is a promising cell protector against apoptosis induced by TNF-α through interfering mitochondria-dependent apoptotic pathway.

【Key words】erythropoietin；tumor necrosis factor-alpha；endothelial cells；mitochondria-dependent apoptotic pathway；end stage renal disease

终末期肾病（End stage renal disease，ESRD）患者体内多种炎症因子持续高表达，由此引发的全身微炎症状态与贫血、营养不良、感染、动脉粥样硬化、心力衰竭等密切相关[1]，是 ESRD 患者心血管疾病（Cardiovascular disease，CVD）高发的重要原因[2]。TNF-α 是炎症因子网络的关键部分，具有直接细胞毒作用，其浓度随着肾功能的恶化、透析时间的延长进行性升高，是评价 ESRD 患者病情严重程度及预后的重要指标[3]。血管内皮细胞是血管壁的内衬，同时也是各种炎症因子损伤的靶细胞。由各种炎症因子诱发的内皮细胞凋亡既是内

作者介绍：李 侃（1984-），男，硕士，
研究方向：慢性肾脏病一体化治疗。
通信作者：李建华，男，教授，Email：ldyylijianhua@163.com。

皮细胞功能失调的始动环节，又是 ESRD 患者 CVD 发生、发展的细胞学基础，因此维持内皮细胞的结构完整和功能稳定对于提高患者生存质量、改善预后、减少并发症的发生具有重要的意义。

经过数十年的研究发现，促红细胞生成素（Erythropoietin，EPO）不仅是重要的造血生长因子，而且具有强大的心、脑、肾等多器官保护作用，在抗凋亡、抗炎、抗氧化、提高免疫力、促进血管再生等方面发挥着积极作用[4]。大规模前瞻性临床研究表明，EPO 在改善 ESRD 患者贫血症状的同时，可以明显降低微炎症和氧化应激水平，降低 CVD 的发生率，改善远期预后[5,6]。据此推测，EPO 可能参与了 ESRD 患者微炎症状态下内皮细胞的保护。本实验我们建立 TNF-α 诱导的 HUVEC 凋亡的体外细胞学模型，观察 EPO 对此凋亡效应的影响并对相关机制做初步探讨，以期为开发 EPO 在临床实践中的新用途提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要实验试剂

原代 HUVEC 由兰州大学基础医学院医学实验中心提供。DMEM 培养基（美国 HyClone 公司），胎牛血清（杭州四季青公司），rhEPO（华北制药），TNF-α、MTT、琼脂糖（美国 Sigma 公司），CytC ELISA 试剂盒（奥地利 Bender Med Systems 公司），Caspase-3 兔抗人一抗（武汉博士德公司）、TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒（北京中杉金桥公司）。

1.2 细胞培养及实验分组

HUVEC 用含有 10%胎牛血清、100 U/ml 青霉素和 100 μg/ml 链霉素的 DMEM 培养液，在 37℃、5%CO_2 培养箱中培养，待其贴壁生长至 70%~80%融合时，用 2.5 g/L 胰酶消化传代，取 3~5 代细胞随机分为：正常对照组，TNF-α 组（50 ng/ml TNF-α 处理 24 h），低、中、高 rhEPO 组（12.5、25、50 IU/ml rhEPO 预处理 24 h+50 ng/ml TNF-α 处理 24 h）。

1.3 MTT 法检测细胞生存率

HUVEC 以 10^4 个/ml 的密度接种于 96 孔板，每组设 5 个复孔。于实验终止前 4 h 加入 MTT（每孔 20 μl），实验终止时加入 DMSO（每孔 150 μl），震荡 10 min 后酶标仪（λ=570 nm）记录各孔吸光度（Optical density，OD）值。细胞生存率=实验组 OD 值/对照组 OD 值×100%。

1.4 ELISA 法检测胞浆 CytC 浓度

具体步骤按 Bender Med Systems 公司试剂盒说明书操作，将酶标仪（λ=450 nm）记录到的 OD 值在标准曲线上进行换算，即为 CytC 的浓度值。

1.5 免疫细胞化学法检测 Caspase-3 蛋白的表达

采用 SP 法行免疫细胞化学染色，Caspase-3 一抗稀释浓度为 1:100。光学显微镜观察 Caspase-3 蛋白的表达情况，以胞浆染成棕黄色者为阳性。每张切片随机取 5 个高倍视野（×200），运用 image-pro plus 6.0 图像分析系统进行半定量检测，用平均光密度值表示 Caspase-3 蛋白的相对含量。

1.6 TUNEL 法检测凋亡指数（Apoptosis index，AI）

HUVEC 爬片生长于 6 孔板，干预后用 4%的多聚甲醛固定 30 min，0.3%H_2O_2 封闭内源性过氧化物酶 10 min，TritonX-100 通透细胞膜 20 min，每孔加 50 μl TUNEL 反应混合液，37℃避光孵育 2 h，50 μl 转化剂 POD 作用 20 min，DAB 显色。光学显微镜下观察，细胞核浓染成棕褐色者为阳性。每张切片随机计数 5 个高倍视野（×200）中的凋亡细胞核数，AI=凋亡细胞核数/总细胞核数×100%。

1.7 彗星实验检测 DNA 损伤

采用双层铺胶法，第一层为 1%正常熔点琼脂糖，第二层为含 10^4 个细胞的细胞悬液与 1%低熔点琼脂糖的混合物，胶体凝固后置于 4℃裂解液中避光裂解 2 h。取出玻片置于电泳缓冲液中解旋 30 min，在 25 V、300 mA 条件下电泳 20 min。电泳结束后用 Tris-HCl 中和 10 min，加入溴化乙锭避光染色。荧光显微镜下观察，每组随机取 100 个细胞计算拖尾率，用 CASP 彗星分析软件计算尾长、尾部 DNA 百分含量和 Olive 尾矩。Olive 尾矩=头部光密度重心与尾部光密度重心之间的距离×尾部 DNA 百分含量。

1.8 统计学分析

采用 SPSS 12.0 统计软件进行统计分析，数据以均数±标准差表示。样本均数的多组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用 q 检验，两变量相关采用 *Pearson* 相关分析。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组细胞生存率的变化

TNF-α 作用于 HUVEC 24 h 后，细胞生存率较正常对照组明显下降（$P<0.05$）。rhEPO 呈浓度依赖性减轻细胞损伤，提高细胞生存率（$P<0.05$），见表 1。

2.2 各组细胞胞浆中 CytC 浓度的变化

正常对照组 CytC 存在于线粒体内，胞浆中浓度很低。TNF-α作用于HUVEC后CytC浓度明显升高（$P<0.05$）。rhEPO 预处理各组 CytC 的浓度较 TNF-α 组降低，组间比较差异有显著性（$P<0.05$），见表 1。

2.3 各组细胞 Caspase-3 蛋白的表达

正常对照组胞浆中没有或仅有少量淡黄色颗粒状 Caspase-3 蛋白表达。TNF-α 作用后 Caspase-3 蛋白表达明显增加（$P<0.05$），胞浆中可见大量棕黄色颗粒。半定量分析发现 rhEPO 呈浓度依赖性抑制 Caspase-3 蛋白表达（$P<0.05$），见表 1、图 1。

2.4 各组细胞 AI 的变化

凋亡细胞体积缩小、核固缩，致密浓染呈棕黄色。正常对照组未见明显凋亡细胞。TNF-α 组凋亡细胞呈弥漫性分布，rhEPO 预处理各组有散在凋亡细胞分布。计数 AI 发现，TNF-α 组 AI 高于正常对照组（$P<0.05$），rhEPO 预处理各组 AI 明显低于 TNF-α 组，并随 rhEPO 浓度的增高 AI 逐渐降低（$P<0.05$），见表 1。

2.5 各组细胞 DNA 损伤的情况

正常对照组绝大部分细胞呈圆形，表明 DNA 基本未受损伤。TNF-α 组细胞出现明显的 DNA 损伤，表现为细胞直径增大，圆形头部后有拖尾现象，形似彗星，拖尾率、尾长、尾部 DNA 百分含量和 Olive 尾矩较正常对照组明显增加（$P<0.05$）。rhEPO 预处理各组 DNA 损伤指标较 TNF-α 组有减轻趋势，呈现出浓度依赖性（$P<0.05$），见表 2、图 2。

2.6 CytC 浓度与 AI 的相关性分析

TNF-α 组 CytC 浓度较正常对照组明显增加，AI 也明显增加。rhEPO 预处理各组 CytC 浓度较 TNF-α 组逐渐减少，AI 也相应减少。相关性分析发现，CytC 浓度与 AI 呈正相关（$r=0.807$，$P<0.05$）。

2.7 CytC 浓度与 Caspase-3 相对含量的相关性分析

TNF-α 作用 24 h 后 CytC 浓度明显增加，Caspase-3 相对含量也明显增加。rhEPO 预处理后 CytC 浓度逐渐减少，Caspase-3 相对含量也相应减少。相关性分析发现，CytC 浓度与 Caspase-3 相对含量呈正相关（$r=0.583$，$P<0.05$）。

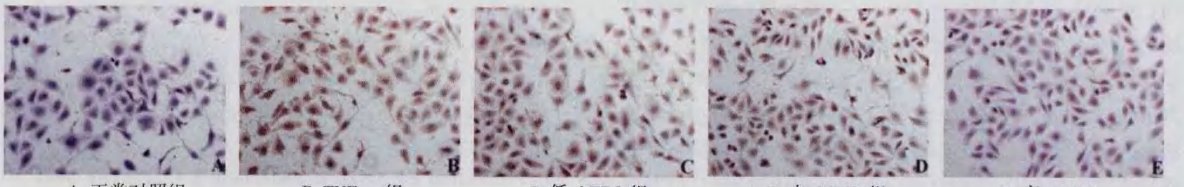
3 讨 论

血管内皮细胞在维持血流动力学稳定和凝血系统平衡，调节管壁舒张及通透性等方面发挥着重要作用。内皮细胞损伤是 ESRD 患者微炎症与 CVD 之间的桥梁，内皮细胞的过度凋亡使血管内膜丧失完整性，容易诱发感染，加速动脉粥样硬化，恶化心功能，导致 ESRD 患者病情加重甚至死亡。此外，炎症因子损伤肾脏局部毛细血管内皮细胞还可以加速肾小球硬化和间质纤维化的发生。线粒体是多种促凋亡信号的作用靶点，在细胞凋亡过程中起着枢纽作用。炎症因子、缺血缺氧、能量障碍、化学毒性等因素均可作用于线粒体引起细胞凋亡。TNF-α 作用于内皮细胞后可以引起胞浆中钙离子的浓度升高和氧自由基的持续积累，二者分别导致线粒体跨膜电位崩解和膜脂质氧化损伤，造成线粒体膜通透性转运孔道不可逆开放，大量 CytC 从线粒体释放到胞浆并与凋亡蛋白酶活化因子形成复合体，募集并活化胞质中的 Caspase-9 启

表 1 各组 HUVEC 细胞生存率、CytC 浓度、Caspase-3 相对含量和 AI 的变化（$\bar{x}\pm s$，$n=5$）

分组	细胞生存率（%）	CytC（ng/ml）	Caspase-3（MOD）	细胞凋亡率（%）
正常对照组	95.55 ± 4.43	0.183 ± 0.052	0.102 ± 0.038	5.92 ± 1.09
TNF-α 组	65.26 ± 2.62*	2.398 ± 0.126*	0.464 ± 0.113*	30.42 ± 3.26*
低 rhEPO 组	70.25 ± 3.04#	1.716 ± 0.103#	0.385 ± 0.092#	26.13 ± 2.07#
中 rhEPO 组	78.17 ± 3.57#	0.957 ± 0.087#	0.279 ± 0.065#	19.38 ± 1.85#
高 rhEPO 组	82.38 ± 4.16#	0.546 ± 0.063#	0.208 ± 0.054#	10.78 ± 1.64#

注：与正常对照组比较，*，$P<0.05$；与 TNF-α 组比较，#，$P<0.05$；rhEPO 预处理各组组间比较，#，$P<0.05$



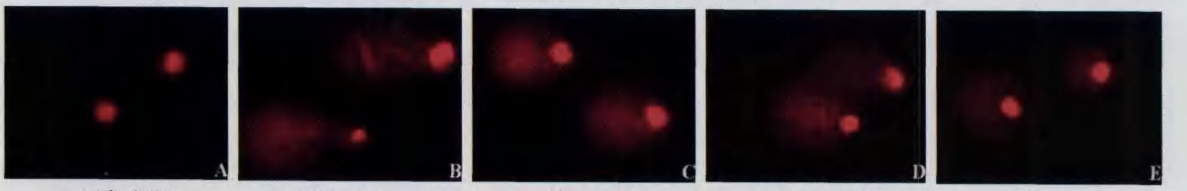
A. 正常对照组　B. TNF-α 组　C. 低 rhEPO 组　D. 中 rhEPO 组　E. 高 rhEPO

图 1 免疫细胞化学法检测 Caspase-3 蛋白的表达（×200）

表 2 各组 HUVEC 拖尾率、尾长、尾部 DNA 百分含量和 Olive 尾矩的变化（$\bar{x}\pm s$，$n=100$）

分组	拖尾率（%）	尾长（μm）	尾部 DNA（%）	Olive尾矩（μm）
正常对照组	8.26 ± 0.82	27.60 ± 2.74	8.03 ± 1.09	2.74 ± 0.54
TNF-α 组	42.75 ± 1.98*	77.38 ± 5.65*	48.76 ± 3.05*	26.83 ± 1.35*
低 rhEPO 组	37.92 ± 1.76#	69.41 ± 4.92#	39.59 ± 2.32#	22.09 ± 1.18#
中 rhEPO 组	28.58 ± 1.44#	60.57 ± 4.63#	27.35 ± 1.79#	13.08 ± 1.06#
高 rhEPO 组	18.44 ± 1.02#	52.35 ± 3.43#	12.72 ± 1.42#	7.81 ± 0.86#

注：与正常对照组比较，*，$P<0.05$；与 TNF-α 组比较，#，$P<0.05$；rhEPO 预处理各组组间比较，#，$P<0.05$



A. 正常对照组　B. TNF-α 组　C. 低 rhEPO 组　D. 中 rhEPO 组　E. 高 rhEPO

图 2 彗星实验检测 DNA 损伤（×200）

动 Caspase 级联反应，引起细胞凋亡[7]。凋亡过程中 Caspase-3 可以通过激活凋亡特异性核酸酶和裂解 DNA 修复的关键酶导致 DNA 断裂损伤。DNA 损伤又可以作为新的凋亡刺激信号作用于线粒体，形成凋亡正反馈。

EPO 是由肾脏皮髓质交界处的肾小管旁细胞分泌的糖蛋白，属于生长因子超家族，广泛分布于人体的各个系统，不仅能促进造血前体细胞的增殖和分化，调节红细胞的生成[8]，而且具有强大的细胞保护作用，其中 EPO 的抗凋亡效应及相关机制成为近年来国内外研究的焦点。EPO可以通过 JAK2/STAT5、PI-3K/Akt 以及 Ras/MAPK 通路发挥抗凋亡效应[9,10]。Kang 等[11]证明，每周给予 5/6 肾切除大鼠皮下注射 EPO 可以抑制肾小管细胞凋亡，增加肾小球和肾小管间质的毛细血管密度，保护残存肾功能。Madonna 等[12]研究发现，EPO 预处理可以通过抑制 NF-κB 介导的诱导型 NO合酶表达和 NO 产生，阻止 Caspase-3 活化，对 TNF-α 诱导的心肌干细胞凋亡产生保护作用。Ning 等[13]给予急性脊髓损伤大鼠术后连续 7 d 静脉注射 rhEPO 后发现，与模型组相比治疗组大鼠压缩段脊髓组织 EPO 受体表达增多，运动神经元凋亡减少，炎症反应减轻，肢体运动功能改善。此外，EPO 对高糖诱导的内皮细胞凋亡、缺血再灌注损伤引起的肺泡细胞凋亡、睾丸扭转引起的生殖细胞凋亡均有不同程度的抑制作用[14-16]。但是，EPO 对各种尿毒症毒素的内皮细胞毒性是否具有拮抗作用及相关机制目前研究尚少。

基于以上理论，选取 TNF-α 作为尿毒症毒素的代表诱导血管内皮细胞凋亡，并从凋亡的线粒体途径探讨 EPO 对内皮细胞的保护机制。位于线粒体膜间腔的 CytC 是线粒体凋亡通路的关键调节因子，Caspase-3 位于整个凋亡调控系统的中心环节，是细胞凋亡的最终执行者，其活性直接与胞浆 CytC 浓度的改变有关[17]。通过检测胞浆中 CytC 的浓度和其下游 Caspase-3 蛋白的表达，可以证明线粒体凋亡通路的活化。实验结果发现 TNF-α 可以通过活化线粒体凋亡通路诱导内皮细胞凋亡，rhEPO 可以有效保护内皮细胞，抑制凋亡的发生。MTT 结果显示，TNF-α 可以造成内皮细胞活性降低和凋亡增加，rhEPO 浓度依赖性地提高细胞生存率，降低凋亡指数。通过分析 CytC 的浓度和 Caspase-3 的相对含量发现，TNF-α 作用于 HUVEC 24 h 后，CytC 的浓度和 Caspase-3 的相对含量明显增加，rhEPO 可以抑制 CytC 的释放和 Caspase-3 的活化，并呈现出明显的浓度依赖性。相关分析显示 CytC 的浓度与 AI 呈正相关，表明 CytC 在 TNF-α 诱导的内皮细胞凋亡中发挥了重要作用；CytC 的浓度与 Caspase-3 的相对含量也呈正相关，说明线粒体 CytC 的释放，参与了 Caspase-3 的活化。由此认为 rhEPO 的抗内皮细胞凋亡效应可能与其稳定线粒体膜电位及膜结构，抑制 CytC 的释放，阻止 Caspase 家族活化有关。DNA 损伤的程度是评价细胞凋亡的重要指标，在电场力的作用下，带负电荷的 DNA 断片向阳极移动，形成彗星状图像，DNA 链断端越多，细胞拖尾越严重；未损伤细胞的 DNA 仍停留于核中，形成圆形荧光团。本实验中利用 SCGE 从单细胞水平观察了 DNA 损伤的情况，结果发现 TNF-α 作用于 HUVEC 24h 后可以检测到明显的 DNA 拖尾现象，rhEPO 预处理各组随 rhEPO 浓度的增加 DNA 损伤程度逐渐减轻，进一步证实了 rhEPO 的抗凋亡效应。Zhang 等[18]研究发现，EPO 可以抑制 Bax，活化 Bcl-2，诱导 X 染色体相关的凋亡抑制蛋白表达，维持线粒体膜电位稳定，抑制 CytC 释放，灭活 Caspase，Bax/Bcl-2 在线粒体凋亡通路中起分子开关作用，可能是 rhEPO 抑制线粒体凋亡通路的上游调控元件。Yazihan 等[19]在研究 EPO 对 H_2O_2 诱导的人肝细胞凋亡的影响时发现，EPO 预处理可以使 ATP 敏感的钾通道开放，促进胞质内的钾离子向线粒体内流，防止线粒体跨膜电位崩解进而抑制细胞凋亡。以上研究相互支持，并与我们的观点一致。EPO 是否也拮抗了其他尿毒症毒素的凋亡诱导效应，将做进一步研究。

综上所述，在 TNF-α 诱导 HUVEC 凋亡的过程中，线粒体凋亡通路起着非常重要的作用。rhEPO 能够减少内皮细胞凋亡，可能与维持线粒体膜稳态，抑制线粒体凋亡通路的活化有关。这可能是其发挥内皮细胞保护作用，降低 ESRD 患者 CVD 发生率、延缓肾功能恶化的重要机制之一。

参 考 文 献

[1] Stenvinkel P.Inflammation in end-stage renal disease:the hidden enemy[J].Nephrology,2006,11(1):36-41.

[2] Schiffrin E L,Lipman M L,Mann J F.Chronic kidney disease:effects on the cardiovascular system[J].Circulation,2007,116(1):85-97.

[3] Caravaca F,Martín M V,Barroso S,et al.Do inflammatory markers add predictive information of death beyond that provided by age and comorbidity in chronic renal failure patients[J]?Nephrol Dial Transplant,2006,21(6):1575-1581.

[4] Cariou A,André S,Claessens Y E.Extra-hematopoietic effects of erythropoietin[J].Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets,2008,8(3):173-178.

[5] Papavasiliou E C,Gouva C,Siamopoulos K C,et al.PAF-acetylhydrolase activity in plasma of patients with chronic kidney disease.Effect of long-term therapy with erythropoietin[J].Nephrol Dial Transplant,2006,21(5):1270-1277.

[6] Siems W,Carluccio F,Radenkovic S,et al.Oxidative stress in renal anemia of hemodialysis patients is mitigated by epoetin treatment[J].Kidney Blood Press Res,2005,28(5-6):295-301.

[7] Szydlowska K,Tymianski M.Calcium,ischemia and excitotoxicity[J].Cell Calcium,2010,47(2):122-129.

[8] Vittori D,Vota D,Callero M,et al.c-FLIP is involved in erythropoietin-mediated protection of erythroid-differentiated cells from TNF-alpha-induced apoptosis[J].Cell Biol Int,2010,34(6):621-630.

[9] Mudalagiri N R,Mocanu M M,Di-Salvo C,et al.Erythropoietin protects the human myocardium against hypoxia/reoxygenation injury via phosphatidylinositol-3 kinase and ERK1/2 activation[J].Br J Pharmacol,2008,153(1):50-56.

[10] Pregi N,Wenker S,Vittori D,et al.TNF-alpha-induced apoptosis is prevented by erythropoietin treatment on SH-SY5Y cells[J].Exp Cell Res,2009,315(3):419-431.

基础研究 DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2011.11.014

吡格列酮对实验性动脉粥样硬化小鼠治疗作用研究

吴成稳，周志强
（郑州大学第二附属医院普外科，河南 450014）

【摘 要】目的：研究吡格列酮对小鼠动脉粥样硬化（Atherosclerosis，AS）斑块面积以及对基质金属蛋白酶 9（Matrix metalloproteinases-9，MMP-9）表达的影响。方法：小鼠高脂饮食造模 16 周复制小鼠 AS 模型，从第 8 周开始给予吡格列酮，观察吡格列酮对血脂含量以及 AS 斑块面积的影响，免疫组织化学方法检测 MMP-9 表达。结果：与模型组相比，吡格列酮 10 mg/kg 可以显著降低 AS 小鼠甘油三酯、总胆固醇、低密度脂蛋白的水平（$P<0.05$），对高密度脂蛋白含量影响不大（$P>0.05$），吡格列酮可以减少主动脉斑块面积（$P<0.05$），降低 MMP-9 的表达（$P<0.05$）。结论：吡格列酮可能通过降低 AS 小鼠 MMP-9 的表达抑制 AS。

【关键词】吡格列酮；动脉粥样硬化；基质金属蛋白酶 9
【中国图书分类法分类号】R541.4 【文献标志码】A 【收稿日期】2011-07-26

Study of pioglitazone treatment for experimental atherosclerosis mice

WU Cheng-wen, ZHOU Zhi-qiang
(Department of General Surgery, the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University)

【Abstract】*Objective*: To study the inhibition effect of pioglitazone on the aortic plaque area of murine atherosclerosis and the expression of MMP-9. *Methods*: Mice were fed with high fat diets to build the model of atherosclerosis for 16 weeks. Pioglitazone was given from the 8th week and that effect on blood lipids, atherosclerotic plaque area and the expression of MMP-9 was observed through immunohistochemistry. *Results*: The concentrations of TC, TG and LDL were significantly reduced by pioglitazone at a dose of 10 mg/kg, but pioglitazone had little effect on HDL. Meanwhile, pioglitazone could reduce the aortic plaque area and the MMP-9 expression. *Conclusion*: Pioglitazone might inhibit atherosclerosis in mice by decreasing the expression of MMP-9.

【Key words】pioglitazone; atherosclerosis; matrix metalloproteinases-9 (MMP-9)

作者介绍：吴成稳（1983-），男，在读硕士，
研究方向：周围血管外科专业。
通信作者：周志强，男，教授，Email：qiang6364@sohu.com。

[11] Kang D H, Park E Y, Yu E S, et al. Renoprotective effect of erythropoietin (EPO): possibly via an amelioration of renal hypoxia with stimulation of angiogenesis in the kidney[J]. Kidney Int, 2005, 67(5): 1683.

[12] Madonna R, Shelat H, Xue Q, et al. Erythropoietin protects myocardin-expressing cardiac stem cells against cytotoxicity of tumor necrosis factor-alpha[J]. Exp Cell Res, 2009, 315(17): 2921-2928.

[13] Ning B, Zhang A, Song H, et al. Recombinant human erythropoietin prevents motor neuron apoptosis in a rat model of cervical sub-acute spinal cord compression[J]. Neurosci Lett, 2011, 490(1): 57-62.

[14] Sekiguchi N, Inoguchi T, Kobayashi K, et al. Erythropoietin attenuated high glucose-induced apoptosis in cultured human aortic endothelial cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 334(1): 218-222.

[15] Wu H, Dong G, Liu H, et al. Erythropoietin attenuates ischemia-reperfusion induced lung injury by inhibiting tumor necrosis factor-alpha and matrix metalloproteinase-9 expression[J]. Eur J Pharmacol, 2009, 602(2-3): 406-412.

[16] Yazihan N, Ataoglu H, Koku N, et al. Protective role of erythropoietin during testicular torsion of the rats[J]. World J Urol, 2007, 25(5): 531-536.

[17] Correa F, Soto V, Zazueta C. Mitochondrial permeability transition relevance for apoptotic triggering in the post-ischemic heart[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2007, 39(4): 787-798.

[18] Zhang F, Wang S, Cao G, et al. Signal transducers and activators of transcription 5 contributes to erythropoietin-mediated neuroprotection against hippocampal neuronal death after transient global cerebral ischemia[J]. Neurobiol Dis, 2007, 25(1): 45-53.

[19] Yazihan N, Ataoğlu H, Yener B, et al. Erythropoietin attenuates hydrogen peroxide-induced damage of hepatocytes[J]. Turk J Gastroenterol, 2007, 18(4): 239-244.

（责任编辑：关蕴良）