

·论著·

Notch 信号和血管内皮生长因子基因对大鼠骨髓间充质干细胞诱导分化后内皮细胞功能的影响

晋金兰 庄汉屏 韦建瑞 邓哲彤 张敏 张锐

【摘要】 **目的** 探讨 Notch 信号和血管内皮生长因子(VEGF₁₆₅)基因对大鼠骨髓间充质干细胞(MSCs)诱导分化后内皮细胞功能的影响。**方法** 分离、培养大鼠 MSCs, 用含 VEGF₁₆₅ 和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的细胞培养液培养大鼠 MSCs 2 周诱导其向内皮细胞分化;用脂质体将携带有 VEGF₁₆₅ 基因的质粒转染诱导内皮细胞并对转染效果进行鉴定,逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测转染前后细胞上 Notch 信号受体 Notch 1 和配体 Jagged 1 的表达变化;用 γ -内分泌酶抑制剂 L-685458 阻断细胞 Notch 信号通路的转导,划痕实验检测细胞迁移能力;将细胞接种在半固体培养基上,观察其形成毛细血管样结构的能力。**结果** 转染 VEGF₁₆₅ 基因的内皮细胞上表达有 VEGF₁₆₅ mRNA,说明实验成功地将 VEGF₁₆₅ 基因导入诱导后内皮细胞中。转染 VEGF₁₆₅ 基因后,细胞上 Notch 信号配体 Jagged1 mRNA 表达增强 (1.08 ± 0.01 比 $1.01 \pm 0.02, P < 0.01$), Notch1 mRNA 表达无明显变化(0.60 ± 0.02 比 $0.59 \pm 0.01, P > 0.05$);细胞的迁移能力增强(划痕空白处细胞个数: 46.45 ± 4.46 比 $41.61 \pm 1.42, P < 0.05$),形成毛细血管样结构能力无明显变化(细胞分级: 3.00 ± 0.89 比 $2.00 \pm 0.89, P > 0.05$)。内皮细胞转染 VEGF₁₆₅ 基因后,以 γ -内分泌酶抑制剂 L-685458 阻断细胞 Notch 信号通路的转导,则细胞迁移能力(划痕空白处细胞个数: 51.72 ± 3.47 比 46.45 ± 4.46)和形成毛细血管样结构能力(细胞分级: 4.17 ± 0.75 比 3.00 ± 0.89)均进一步增强(均 $P < 0.05$)。**结论** 转染 VEGF₁₆₅ 基因可增强大鼠 MSCs 诱导分化内皮细胞的功能,在此基础上阻断 Notch 信号通路转导可进一步增强细胞功能。

【关键词】 Notch 信号; 血管内皮生长因子; 骨髓间充质干细胞; 内皮细胞

Effects of Notch signaling pathway and vascular endothelial growth factor gene on the functions of endothelial cells derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells JIN Jin-lan*, ZHUANG Han-ping, WEI Jian-rui, DENG Zhe-tong, ZHANG Min, ZHANG Rui. *Central Intensive Care Unit, Guangzhou Red Cross Hospital, Fouth Affiliated Hospital, Jinan University, Guangzhou 510220, Guangdong, China
Corresponding author: JIN Jin-lan, Email: jinjinlan@163.com

【Abstract】 Objective To explore the effects of Notch signaling pathway and the vascular endothelial growth factor (VEGF₁₆₅) gene on the functions of endothelial cells derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs). **Methods** Isolated and cultivated rat bone marrow MSCs in vitro, then the cells were treated by VEGF₁₆₅ and basic fibroblast growth factor (bFGF) for 2 weeks to induce them to differentiate into endothelial cells. The gene of VEGF₁₆₅ was transfected into differentiated endothelial cells to promote the functions of the cells. The receptor Notch1 and the ligand Jagged1 of the Notch signaling were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) before and after the transfection. γ -secretase inhibitor L-685458 was used to block Notch pathway. Migration ability of cells was detected by scarification test. Cells were inoculated on semisolid gel to study their ability of forming capillary-like structure. **Results** After transfection, VEGF₁₆₅ mRNA could be detected on the differentiated endothelial cells. The expression of Jagged1 mRNA was up regulated (1.08 ± 0.01 vs. $1.01 \pm 0.02, P < 0.01$) and there was no change in Notch1 mRNA (0.60 ± 0.02 vs. $0.59 \pm 0.01, P > 0.05$). The ability of migration was enhanced (number of cells on the scratched area: 46.45 ± 4.46 vs. $41.61 \pm 1.42, P < 0.05$), and the ability of forming capillary-like structure on semisolid gel showed no change (cells classification: 3.00 ± 0.89 vs. $2.00 \pm 0.89, P > 0.05$). After the tranfection, using the γ -secretase inhibitor L-685458 to block the Notch signaling transduction, the ability of migration of the differentiated endothelial cells (number of cells on the scratched area: 51.72 ± 3.47 vs. $46.45 \pm 4.46, P < 0.05$), and that of forming capillary-like structure (cells classification: 4.17 ± 0.75 vs. $3.00 \pm 0.89, P < 0.05$), was also further enhanced. **Conclusion** Transfection of the gene of VEGF₁₆₅ into the differentiated endothelial cells can reinforce the function of these cells, and when Notch signaling was blocked, this effect can be further amplified.

【Key words】 Notch signaling; Vascular endothelial growth factor; Bone mesenchymal stem cell; Endothelial cell

骨髓间充质干细胞(MSCs)是一类具有多向分化潜能的干细胞,研究表明,MSCs在体外不同条件下可以向成骨细胞^[1]、脂肪细胞^[2]、神经细胞^[3-4]、心肌细胞^[5-6]以及内皮细胞分化^[7-9]。由于MSCs取材容易且对健康无害,诱导的组织又不存在主要组织相容性复合物(MHC)限制,因此成为组织工程中重要的种子细胞,尤其是血管组织工程中不可替代的细胞来源。Oswald等^[7]的研究结果表明,体外实验中,MSCs在血管内皮生长因子(VEGF)和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的诱导下可以向内皮细胞分化,然而,诱导后的细胞在稳定性及自我复制等方面与内皮细胞仍存在一定的差异,因此,如何精确调控MSCs诱导分化后内皮细胞的功能值得进一步深入探讨。

细胞分化是生物体复杂而精细的生命活动,其受到微环境、多种细胞因子和细胞信号网络通路的调控。Notch信号通路在决定细胞分化上起关键性作用^[10],其在大鼠MSCs向内皮细胞分化过程中亦起重要作用^[9]。VEGF对内皮细胞的功能有促进作用。目前关于Notch信号和VEGF₁₆₅基因对MSCs诱导分化后内皮细胞功能的影响所知甚少。本实验中观察了Notch信号和VEGF₁₆₅基因对大鼠MSCs诱导分化后内皮细胞功能的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂:4周龄SD大鼠(由中南大学湘雅医学院动物实验部提供,动物合格证号:SCXK湘2006-0002);大鼠干细胞分离液(1.072 g/ml,天津灏洋生物制品科技有限责任公司),低糖Dulbecco改良Eagle培养基(DMEM,Gibco,美国),胎牛血清(杭州四季青公司,中国),大鼠VEGF₁₆₅以及重组大鼠bFGF(Peprotech,美国);体外血管再生分析试剂盒(Chemicon,美国);TRIzol、逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)试剂盒(大连宝生物工程有限公司);pcDNA3.1-hVEGF₁₆₅质粒(国家遗传重点实验室庄炜博士馈赠),脂质体(Invitrogen,美国),质粒抽提试剂盒(QIAGEN,德国), γ -内分泌酶抑制剂L-685458(Sigma,美国)。

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2012.03.015

基金项目:中央高校基本科研业务费专项基金资助(21611337);广东省广州市医药卫生科技项目(201102A213161);湖南省教育厅科学研究重点项目(湘财[2006]36号)

作者单位:510220 广东,暨南大学第四附属医院,广州市红十字会医院重症医学科(晋金兰、邓哲彤、张敏、张锐),心血管内科(韦建瑞);中南大学湘雅医院老年医学科(庄汉屏)

通信作者:晋金兰,Email:jinyinlan@163.com

1.2 大鼠 MSCs 的分离、培养:具体实验方法参照文献^[5]。动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 MSCs 向内皮细胞诱导分化及鉴定:具体实验方法参照文献^[9]。

1.4 脂质体介导 VEGF₁₆₅ 基因体外转染诱导内皮细胞

1.4.1 pcDNA3.1-hVEGF₁₆₅ 质粒准备:pcDNA3.1-hVEGF₁₆₅质粒大肠杆菌菌种接种于琼脂糖平皿中,37℃培养箱过夜,次日挑取单克隆接种于4ml高盐溶菌肉汤(LB)培养基中,37℃初级培养6h,1000ml培养基中37℃次级培养过夜。将收获的菌液移入500 μ l离心管中,4℃离心10min,去上清,按质粒抽提试剂盒操作说明书抽提质粒,测吸光度(A)值,-20℃保存备用。

1.4.2 内皮细胞脂质体转染 pcDNA3.1-hVEGF₁₆₅ 质粒:取诱导后的内皮细胞,转染前用含有0.25%胰蛋白酶、0.02%乙二胺四乙酸(EDTA)的磷酸盐缓冲液(PBS)消化液消化细胞并计数,按每孔 2×10^5 个/ml接种到6孔板中,当细胞汇合度达到50%~60%时更换培养基,24h内进行转染。具体实验步骤按照脂质体试剂盒说明书进行。

1.4.3 转染效果的鉴定:取转染前后的细胞进行RT-PCR实验,检测VEGF₁₆₅基因在诱导后内皮细胞和转染VEGF₁₆₅基因的诱导后内皮细胞上的表达情况。按试剂盒说明书步骤提取总RNA。PCR反应扩增:PCR反应体系为25 μ l,分别为DNA Taq酶12.5 μ l,灭菌蒸馏水10.5 μ l,上、下游引物(浓度为10nmol/L)2 μ l,cDNA 2 μ l。VEGF₁₆₅上游引物序列:5'-AAGGAGGAGGCGAGAATCAT-3',下游引物序列:5'-ATCTGCATGGTGATGTTGGA-3',扩增产物大小为226bp。反应程序:94℃预变性5min;94℃变性30s,52.5℃退火30s,72℃延伸50s,共35个循环。将PCR产物放入琼脂糖凝胶中进行电泳,电泳结束后加橙色滤光镜对凝胶进行摄影。

1.5 RT-PCR 检测细胞上 Notch1 和 Jagged1 基因表达:实验分两组,对照组为诱导后内皮细胞,实验组为转染VEGF₁₆₅基因的诱导后内皮细胞。实验步骤如下:①提取总RNA。②逆转录为cDNA。③PCR扩增:PCR反应体系为25 μ l,分别为DNA Taq酶12.5 μ l,灭菌蒸馏水10.5 μ l,上、下游引物2 μ l,cDNA 2 μ l。Notch1检测反应程序:94℃预变性5min,然后94℃变性40s,52.4℃退火40s,72℃延伸60s,共35个循环。Notch1上游引物序列:5'-GTTTGTGCAAGGATGCTGTG-3',下游引物序列:

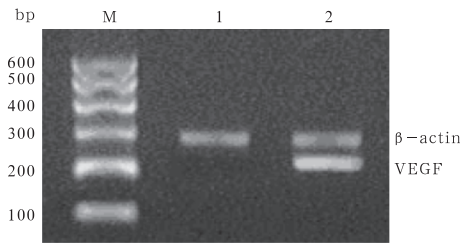
5'-CCTTGAGGCATAAGCAGAGG-3'。Jagged1 检测反应程序:94 °C 预变性 5 min, 然后 94 °C 变性 40 s,58 °C 退火 60 s,72 °C 延伸 60 s, 共 38 个循环。Jagged1 上游引物序列:5'-TCCAGCCTCCAGCCAGT GAA-3',下游引物序列:5'-GGAAGGCTCACAGGCT ATGT-3'。将 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳和摄影, 然后进行吸光度扫描,以各条带的灰度值与内参照 β- 肌动蛋白(β-actin)的比值作为半定量标准。

1.6 内皮细胞功能检测:用划痕实验检测细胞的迁移能力,用体外血管再生分析试剂盒检测细胞形成毛细血管样结构的能力,具体实验方法参考文献^[9]。实验共分 4 组:A 组:诱导后的内皮细胞;B 组:转染 VEGF₁₆₅ 基因的 A 组细胞;C 组:阻断 Notch 信号通路的 A 组细胞,即在 A 组的细胞培养液中加入 2 μmol/L 的 Notch 信号通路特异性阻断剂 γ- 内分泌酶抑制剂 L-685458,作用时间 72 h;D 组:阻断的 Notch 信号通路的 B 组细胞,即在 B 组细胞培养液中加入 γ- 内分泌酶抑制剂 L-685458(2 μmol/L),作用时间 72 h。

1.7 统计学分析:采用 SPSS 17.0 软件进行数据处理。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用两独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

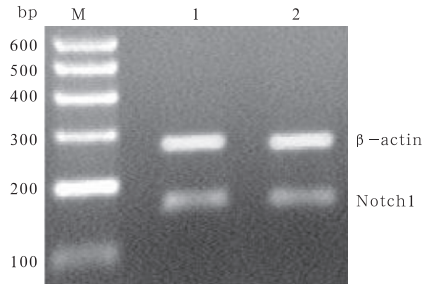
2.1 RT-PCR 检测 VEGF₁₆₅ 基因转染效果:未转染 VEGF₁₆₅ 基因的细胞 VEGF₁₆₅ mRNA 表达为阴性,转染 VEGF₁₆₅ 基因的细胞 VEGF₁₆₅ mRNA 表达为阳性(图 1)。说明已成功将 VEGF₁₆₅ 基因导入到诱导后的内皮细胞中。



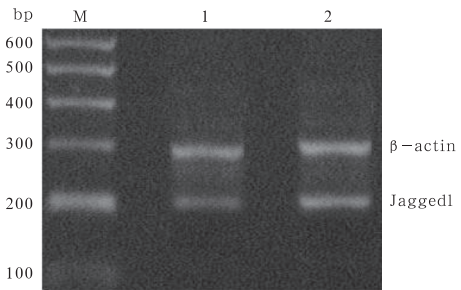
RT-PCR: 逆转录 - 聚合酶链反应, VEGF₁₆₅: 血管内皮生长因子, M: Marker, 1: 诱导后内皮细胞, 2: 转染 VEGF₁₆₅ 基因的诱导后内皮细胞, β-actin: β- 肌动蛋白
图 1 RT-PCR 检测 VEGF₁₆₅ 基因在诱导后内皮细胞和转染 VEGF₁₆₅ 基因的诱导后内皮细胞上的表达情况

2.2 转染 VEGF₁₆₅ 基因前后内皮细胞上 Notch1 和 Jagged1 的 mRNA 表达变化:Notch1 mRNA 表达在转染 VEGF₁₆₅ 基因的诱导后内皮细胞为 (0.60 ± 0.02), 在未转染的诱导后内皮细胞为 (0.59 ± 0.01),

差异无统计学意义($P > 0.05$; 图 2); 转染 VEGF₁₆₅ 基因的诱导后内皮细胞上 Notch 信号配体 Jagged1 mRNA 表达较未转染 VEGF₁₆₅ 基因的诱导后内皮细胞增强(1.08 ± 0.01 比 1.01 ± 0.02, $P < 0.01$; 图 3)。



RT-PCR: 逆转录 - 聚合酶链反应, VEGF₁₆₅: 血管内皮生长因子, M: Marker, 1: 诱导后内皮细胞, 2: 转染 VEGF₁₆₅ 基因的诱导后内皮细胞, β-actin: β- 肌动蛋白
图 2 RT-PCR 检测诱导后内皮细胞和转染 VEGF₁₆₅ 基因的诱导后内皮细胞上 Notch1 mRNA 表达情况



RT-PCR: 逆转录 - 聚合酶链反应, VEGF₁₆₅: 血管内皮生长因子, M: Marker, 1: 诱导后内皮细胞, 2: 转染 VEGF₁₆₅ 基因的诱导后内皮细胞, β-actin: β- 肌动蛋白
图 3 RT-PCR 检测诱导后内皮细胞和转染 VEGF₁₆₅ 基因的诱导后内皮细胞上 Jagged1 mRNA 表达情况

2.3 内皮细胞功能检测结果

2.3.1 细胞迁移能力的划痕实验 (表 1):B、C、D 组细胞迁移能力均强于 A 组, D 组强于 B、C 组 (均 $P < 0.05$); B 组和 C 组细胞迁移能力比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3.2 细胞形成毛细血管样结构的能力 (表 1):C 组细胞形成毛细血管样结构的能力明显强于 A 组细胞, D 组细胞强于 A、B、C 组细胞 (均 $P < 0.05$); A 组细胞与 B 组细胞之间以及 B 组细胞和 C 组细胞之间差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

3 讨论

MSCs 是近年来干细胞研究领域中最引人注目的一类具有多向分化潜能的成体干细胞。体外培养 MSCs 在 VEGF 和 bFGF 的诱导下可向血管内皮样细胞分化, 然而诱导后的细胞在稳定性及功能等方

表 1 不同处理方法组诱导后内皮细胞迁移能力及细胞形成毛细血管样结构能力的检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	迁移能力(划痕空白处细胞个数)	形成毛细血管样结构能力(细胞分级)
A 组细胞	6	41.61 ± 1.42	2.00 ± 0.89
B 组细胞	6	46.45 ± 4.46 ^a	3.00 ± 0.89
C 组细胞	6	44.61 ± 4.34 ^a	3.17 ± 0.75 ^a
D 组细胞	6	51.72 ± 3.47 ^{abc}	4.17 ± 0.75 ^{abc}

注:A 组细胞:诱导后内皮细胞,B 组细胞:转染血管内皮生长因子(VEGF₁₆₅)基因的 A 组细胞,C 组细胞:阻断 Notch 信号通路的 A 组细胞,D 组细胞:阻断 Notch 信号通路的 B 组细胞;与 A 组细胞比较,^aP<0.05;与 B 组细胞比较,^bP<0.05;与 C 组细胞比较,^cP<0.05

面与内皮细胞仍存在一定的差异。因此,探索如何精确调控 MSCs 诱导后内皮细胞的功能具有十分重要的意义。

本课题组前期研究表明,大鼠 MSCs 向内皮细胞诱导分化后,细胞上 Notch 信号配体 Jagged1 的表达有上升趋势(但差异无统计学意义),阻断 Notch 信号通路转导可增强诱导后内皮细胞的功能^[9],提示 Notch 信号在大鼠 MSCs 向内皮细胞诱导分化过程中具有重要作用。为深入研究 Notch 信号对诱导后内皮细胞功能的影响,本研究中用诱导后内皮细胞转染 VEGF₁₆₅ 基因来促进内皮细胞的功能,观察 Notch 信号和 VEGF₁₆₅ 基因对细胞功能的影响以及寻找它们之间可能存在的相互关系。结果显示,转染 VEGF₁₆₅ 基因可增强细胞的迁移能力,而细胞形成毛细血管样结构的能力没有改变;给诱导后内皮细胞转染 VEGF₁₆₅ 基因后,细胞上 Notch 信号配体 Jagged1 mRNA 表达明显增强。为进一步观察 Notch 信号对诱导后内皮细胞功能的影响,本实验中采用 Notch 信号阻断剂来阻断转染 VEGF₁₆₅ 基因诱导后内皮细胞的 Notch 信号通路转导,结果发现细胞的迁移能力和形成毛细血管样结构的能力均进一步增强。上述研究结果提示,给细胞转染 VEGF₁₆₅ 基因可增强诱导后内皮细胞的功能,转染 VEGF₁₆₅ 基因可上调细胞上 Notch 信号的表达,在此基础上阻断 Notch 信号通路转导可进一步增强诱导后内皮细胞的功能。

VEGF 是目前最强有力的血管生成因子,它通过和血管内皮细胞的特异性受体结合,从而促进内皮细胞的分裂与增殖。在血管生长中,VEGF 调节内皮细胞外基质溶解、内皮细胞迁移、增生和管腔形成。由于 VEGF 的半衰期很短,因此人们考虑应用 VEGF 基因治疗,即将外源 VEGF 基因导入目的细

胞并有效表达,从而达到治疗目的^[11]。本实验中成功地将 VEGF₁₆₅ 基因导入到诱导后的内皮细胞中,结果显示转染 VEGF₁₆₅ 基因可促进细胞的迁移能力,但转染后细胞形成毛细血管样结构的能力没有改变。理论上给细胞导入 VEGF₁₆₅ 基因可促进细胞在半固体三维培养基上形成毛细血管样结构的能力,考虑其原因可能与转染时脂质体对细胞存在一定的毒性有关。

目前关于 Notch 信号通路对诱导后内皮细胞功能的影响,本课题组前期研究表明,Notch 信号通路可能在大鼠 MSCs 向内皮细胞诱导分化过程中起重要作用^[9]。本实验中通过阻断转染 VEGF₁₆₅ 基因诱导后内皮细胞的 Notch 信号通路转导,发现细胞的迁移能力和形成毛细血管样结构的能力均进一步增强,但其具体机制有待进一步研究。

有研究表明激活 Notch 信号通路可抑制脐静脉内皮细胞的增殖和迁移,其机制可能与阻遏 p21^{Cip1} 的表达有关^[12],而阻断 Notch 信号通路则可刺激脐静脉内皮细胞的增殖和迁移^[13]。本实验研究得出与文献报道相一致的结果,即 Notch 信号通路对内皮细胞的功能有负调节作用。既然 Notch 信号和 VEGF 都与血管的发生有密切关系,国内外学者对血管发生过程中这两个信号通路之间是否存在某种联系进行了大量研究,如 VEGF-A 可以上调内皮细胞 Notch 信号配体 Delta-like4(Dll4)的表达^[14-16],Dll4 以及 Notch 信号靶基因 Hey1 的过表达可能通过降低血管内皮生长因子受体 2(VEGFR2)启动子的活性下调 VEGFR2 的表达,从而导致内皮细胞增殖和迁移能力的降低^[16-19]。本研究结果亦显示,给细胞导入 VEGF₁₆₅ 基因可上调细胞上 Notch 信号配体 Jagged1 的表达,其机制是否也与 VEGFR 有关尚待证实。新近有文献报道,Notch 信号在血管生成中的作用与激活丝裂素活化蛋白激酶(MAPK)通路有关^[20]。此外,肿瘤坏死因子可下调内皮细胞上 Notch4 的表达以及上调 Notch2 的表达促进细胞凋亡,其机制可能与 Notch 信号通路以及核转录因子 κ B(NF- κ B)信号通路相互调控有关^[21]。

综上所述,笔者在前期研究成果基础上提出了通过干预细胞 Notch 信号通路转导和 VEGF₁₆₅ 基因表达的方式来调控大鼠 MSCs 诱导后内皮细胞功能的研究思路。本研究结果表明,给诱导后内皮细胞导入 VEGF₁₆₅ 基因可增强细胞的迁移能力及上调细胞上 Notch 信号配体 Jagged1 的表达;在此基础上阻断 Notch 信号通路转导可进一步增强诱导后内皮细胞

胞的功能。Notch 信号作为调控细胞分化的重要信号通路,其作用的发挥涉及与多个信号通路(例如 VEGF 通路、MAPK 通路、NF- κ B 信号通路等)的相互调控,推测 Notch 信号通路和 VEGF₁₆₅ 基因对诱导后内皮细胞功能的影响可能与 Notch、VEGF 等多种信号通路之间的相互调控有关,但具体作用机制有待进一步深入研究,对作用机制的深入了解可更好地指导人们充分利用 MSCs 这一优质资源。

参考文献

- [1] 常颖,齐欣,卜丽莎,等.成人骨髓间充质干细胞体外多向分化潜能特性的研究.中国危重病急救医学,2005,17:95-97.
- [2] 殷晓雪,陈仲强,郭昭庆,等.人骨髓间充质干细胞定向诱导分化为成骨细胞及其鉴定.中国修复重建外科杂志,2004,18:88-91.
- [3] 卓本慧,江和碧,瞿平,等.骨髓间充质干细胞向神经细胞定向分化的体外研究.中国修复重建外科杂志,2005,19:373-376.
- [4] 余勤,连俊兰,郭莹.丹参注射液诱导大鼠骨髓间充质干细胞分化为神经元样细胞的实验研究.中国中西医结合急救杂志,2006,13:210-213.
- [5] 晋金兰,庄汉屏.骨髓间充质干细胞的生物学特性及其向心肌细胞的分化.医学临床研究,2008,25:594-597.
- [6] 冯敏,孙荣青,马爱群.体外诱导大鼠骨髓间充质干细胞向心肌细胞定向分化的研究.中国危重病急救医学,2009,21:340-342.
- [7] Oswald J,Boxberger S,Jørgensen B,et al. Mesenchymal stem cells can be differentiated into endothelial cells in vitro. Stem Cells, 2004,22:377-384.
- [8] 田少华,张荣庆,魏丽萍,等.剪应力和血管内皮生长因子诱导骨髓间充质干细胞向内皮细胞分化.中国动脉硬化杂志,2009,17:379-382.
- [9] 晋金兰,庄汉屏,韦建瑞,等. Notch 信号在大鼠骨髓间充质干细胞向内皮细胞分化中的作用研究.中国危重病急救医学,2011,23:355-358.
- [10] Milner LA, Bigas A, Kopan R, et al. Inhibition of granulocytic differentiation by mNotch1. Proc Natl Acad Sci USA,1996,93:13014-13019.
- [11] 孙天骏,韩焱福,柴家科. VEGF 基因治疗与血管化作用的研究进展.中国美容医学,2010,19:288-290.
- [12] Nosedá M, Chang L, McLean G, et al. Notch activation induces endothelial cell cycle arrest and participates in contact inhibition: role of p21^{Cip1} repression. Mol Cell Biol,2004,24:8813-8822.
- [13] Lv W,Chen L,Zhou DH,et al. Influence of specific blocking of the delta-like ligand 4/notch signal transduction pathway on the biological behavior of human umbilical vein endothelial cells. Cancer Biother Radiopharm,2010,25:449-454.
- [14] Shawber CJ, Kitajewski J. Notch function in the vasculature: insights from zebrafish,mouse and man. Bioessays,2004,26:225-234.
- [15] Zhong TP, Childs S, Leu JP, et al. Gridlock signaling pathway fashions the first embryonic artery. Nature,2001,414:216-220.
- [16] Villa N, Walker L, Lindsell CE, et al. Vascular expression of Notch pathway receptors and ligands is restricted to arterial vessels. Mech Dev,2001,108:161-164.
- [17] Mailhos C, Modlich U, Lewis J, et al. Delta4, an endothelial specific notch ligand expressed at sites of physiological and tumor angiogenesis. Differentiation,2001,69:135-144.
- [18] Shutter JR, Scully S, Fan W, et al. Dll4, a novel Notch ligand expressed in arterial endothelium. Genes Dev,2000,14:1313-1318.
- [19] Krebs LT, Xue Y, Norton CR, et al. Notch signaling is essential for vascular morphogenesis in mice. Genes Dev,2000,14:1343-1352.
- [20] Kiec-Wilk B, Grzybowska-Galuska J, Polus A, et al. The MAPK-dependent regulation of the Jagged/Notch gene expression by VEGF, bFGF or PPAR gamma mediated angiogenesis in HUVEC. J Physiol Pharmacol,2010,61:217-225.
- [21] Quillard T, Devallière J, Coupel S, et al. Inflammation dysregulates Notch signaling in endothelial cells: implication of Notch2 and Notch4 to endothelial dysfunction. Biochem Pharmacol,2010,80:2032-2041.

(收稿日期:2012-01-04)

(本文编辑:李银平)

·科研新闻速递·

新一代鸟嘌呤衍生化合物 CPSI-121 通过迷走神经依赖性机制防止烧伤后肠屏障功能障碍

美国一个研究机构最近研究证实,电刺激迷走神经对严重烧伤后肠道损伤具有预防保护作用。研究人员测试了新一代鸟嘌呤衍生化合物 CPSI-121(一种可以通过未知机制激活副交感神经系统化合物),以确定其是否可以防止肠黏膜屏障破坏。使用雄性 BALB/c 小鼠造成 30% 总体表面积全层蒸汽烧伤,并在烧伤后 4 h 进行 CPSI-121 与电刺激迷走神经的疗效比较研究。使用迷走神经切断术来阻断神经管肠轴,并进行预防肠道损伤评估。使用异硫氰酸荧光素(FITC)标记葡聚糖来测定肠屏障功能障碍,评估肠道损伤;通过免疫荧光和免疫印迹检测紧密连接蛋白(紧密连接蛋白和闭锁蛋白)表达。结果显示:刺激迷走神经和注射 CPSI-121 可显著降低 FITC 标记葡聚糖的通透性。然而,切断腹部迷走神经消除了双方迷走神经刺激和 CPSI-121 的保护作用。迷走神经组和 CPSI-121 组紧密连接蛋白和闭锁蛋白的表达与对照组相似,但迷走神经切断组紧密连接蛋白和闭锁蛋白的表达显著改变。脾切除术并没有改变 CPSI-121 的效果。据此得出结论:与直接刺激迷走神经相似,CPSI-121 能有效地保护严重烧伤后破坏的肠黏膜屏障。

杜明华,编译自《J Trauma》,2012,72:355-363;胡森,审校