

脂质过氧化作用对血管内皮细胞源性增殖因子产生的影响

杨向红 陈铁镇

(中国医科大学实验病理学研究室, 沈阳 110001)

近几年的研究表明, 脂质过氧化作用与动脉粥样硬化的发生关系密切, 它可以导致血管内皮细胞的损伤和机能变化, 并且可以促进体内动脉粥样硬化病变的形成。动脉中膜平滑肌细胞的增生在动脉粥样硬化斑块的形成中起重要作用。体外实验发现, 内皮细胞能分泌几种促进平滑肌细胞增生的因子, 如 FGF、PDGF、HB-EGF、Endothelin 等。但目前尚未见脂质过氧化作用后内皮细胞对平滑肌细胞增殖影响的实验报告。本实验以氢过氧化枯烯作为脂质过氧化反应的引发剂, 作用于培养的人血管内皮细胞, 测定其条件培养液中促平滑肌细胞增殖因子的产生和分泌, 探讨脂质过氧化作用对内皮细胞源性增殖因子产生的影响。

材料和方法 取牛主动脉, 以消化法培养内皮细胞, 并作继代培养。以含不同浓度氢过氧化枯烯的培养液孵育达融合状态的 3~10 代内皮细胞。作用 3 小时后, 弃去作用液, 以无血清培养液再孵育 24 小时后, 取其培养细胞上清液, 制备成内皮细胞条件培养液。以八木固夫 TBA 法, 测定细胞脂质过氧化物的代谢终产物丙二醛的含量。氢过氧化枯烯对内皮细胞损伤的测定采用相差显微镜观察和培养液中 LDH 含量的测定。内皮细胞条件培养液中增殖活性的测定是以条件培养液作用于培养的牛主动脉中膜平滑肌细胞和 Swiss 3T3 细胞, 测此两种细胞的 [^3H]-TdR 掺入率。再以肝素亲和层析法处理内皮细胞条件培养液, 分别测定与肝素结合部分及与非肝素结合部分的增殖促进活性; 再以中和抗体法, 用抗 PDGF-AA、抗 PDGF-BB 中和抗体处理内皮细胞条件培养液后, 测定增殖促进活性的变化。

结果 ①氢过氧化枯烯作用于培养的内皮细胞后, 可见随着氢过氧化枯烯作用浓度的升高, 细胞脂质过氧化物含量呈增加趋势。②相差显微镜观察, 所采用的各氢过氧化枯烯作用浓度组的内皮细胞均未见明显的形态损伤; 并且与对照组比较, 各作用组内皮细胞培养液中 LDH 的含量均未见明显升高。③增殖活性测定结果显示: 内皮细胞条件培养液可使培养的平滑肌细胞, Swiss 3T3 细胞的 [^3H]-TdR 掺入率增加; 且随着氢过氧化枯烯作用浓度的升高, 其增殖促进活性呈明显增强趋势。④以肝素亲和层析法处理内皮细胞条件培养液后, 可见氢过氧化枯烯作用引发的增殖促进活性主要见于非肝素结合部分的内皮细胞培养液中。而肝素结合部分的条件培养液对 Swiss 3T3 细胞的 [^3H]-TdR 掺入几乎无影响。⑤抗 PDGF-AA、抗 PDGF-BB 中和抗体中和内皮细胞条件培养液后, 可见由氢过氧化枯烯作用引发的增殖促进活性未见减弱。

讨论 Ross. R 提出的损伤应答学说认为:不同的危险因子以各种方式导致内皮细胞的机能失调,从而引起细胞间包括平滑肌细胞、单核细胞、纤维母细胞等一系列相互作用,并导致动脉粥样硬化病变的发生。在体内,位于血管腔内的内皮细胞易受到来自血液中或组织中的脂质过氧化作用包括氧化修饰 LDL 的作用,造形成形态结构和机能的改变,我们以往的实验表明:内皮细胞对脂质过氧化作用是敏感的。本实验表明:内皮细胞脂质过氧化作用后,在未出现明显的细胞毒性的状态下,即可出现内皮细胞源性增殖因子的分泌增强;此增殖因子不与肝素结合,不被 PDGF-A、B 抗体中和。实验提示:内皮细胞的脂质过氧化作用可能通过促进增殖因子的分泌,促进平滑肌细胞、纤维细胞的增生,从而加重动脉粥样硬化的病变成形。