

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2009)17-04-0260-05

## 肿瘤坏死因子 $\alpha$ 和白细胞介素 $1\beta$ 对内皮细胞妊娠相关血浆蛋白 A 表达的影响

边云飞, 赵欣, 肖传实

(山西医科大学第二医院心内科, 山西省太原市 030001)

[关键词] 妊娠相关血浆蛋白 A; 肿瘤坏死因子  $\alpha$ ; 白细胞介素  $1\beta$ ; 内皮细胞; 核因子 KB

[摘要] 目的 观察肿瘤坏死因子  $\alpha$  和白细胞介素  $1\beta$  对内皮细胞妊娠相关血浆蛋白 A 表达的影响并探讨其机制。方法 原代培养大鼠主动脉内皮细胞, 选择生长良好的第 3~4 代细胞用于实验。实验分组: 空白对照组; ④10、20、40、60 及 100  $\mu\text{g/L}$  肿瘤坏死因子  $\alpha$  培养细胞 24 h 组; ④1、5、10、20 及 50  $\mu\text{g/L}$  白细胞介素  $1\beta$  培养细胞 24 h 组; 60  $\mu\text{g/L}$  肿瘤坏死因子  $\alpha$  培养细胞 2、4、8、16、24 及 48 h 组; 20  $\mu\text{g/L}$  白细胞介素  $1\beta$  培养细胞 2、4、8、16、24 及 48 h 组; 核因子 KB 抑制剂 BAY11-7082 干预组: 预先用核因子 KB 抑制剂 BAY11-7082 (20  $\mu\text{mol/L}$ ) 与内皮细胞共同孵育 60 min 后, 再加入 60  $\mu\text{g/L}$  肿瘤坏死因子  $\alpha$  或 20  $\mu\text{g/L}$  白细胞介素  $1\beta$  作用 48 h。实验结束后收集细胞及培养上清液, 用乳酸脱氢酶试剂盒检测各组培养上清液中乳酸脱氢酶活性, 用逆转录聚合酶链反应测定细胞中妊娠相关血浆蛋白 A mRNA 的表达, 用酶联免疫吸附法检测上清液中妊娠相关血浆蛋白 A 蛋白水平。结果 不同浓度肿瘤坏死因子  $\alpha$  和白细胞介素  $1\beta$  作用 24 h 后, 大鼠内皮细胞妊娠相关血浆蛋白 A mRNA 及上清液中妊娠相关血浆蛋白 A 蛋白表达水平随肿瘤坏死因子  $\alpha$  和白细胞介素  $1\beta$  浓度的增加而升高 ( $P < 0.05$ ); 60  $\mu\text{g/L}$  肿瘤坏死因子  $\alpha$  和 20  $\mu\text{g/L}$  白细胞介素  $1\beta$  作用于大鼠内皮细胞不同时间, 妊娠相关血浆蛋白 A 表达水平显著高于空白对照组 ( $P < 0.05$ ), 且随刺激时间的延长, 妊娠相关血浆蛋白 A 的表达逐渐升高; 核因子 KB 抑制剂 BAY11-7082 作用后, 妊娠相关血浆蛋白 A 表达水平明显降低 ( $P < 0.05$ )。结论 肿瘤坏死因子  $\alpha$  和白细胞介素  $1\beta$  上调内皮细胞妊娠相关血浆蛋白 A 的表达, 而核转录因子的活化是其对内皮细胞妊娠相关血浆蛋白 A 表达上调的主要机制。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### Effects of TNF- $\alpha$ and IL- $1\beta$ on the Expression of Pregnancy-Associated Plasma Protein-A in Endothelial Cells and Its Mechanism

BIAN Yun-Fei<sup>1</sup>, ZHAO Xin<sup>1</sup>, and XIAO Chuan-Shi<sup>2</sup>

(the Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

[KEY WORDS] Pregnancy-Associated Plasma Protein-A; Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ; Interleukin- $1\beta$ ; Endothelial Cells; Nuclear Factor-KB[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin- $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) on pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) expression in endothelial cells and analyse its mechanism. **Methods**

The rat aortic endothelial cells were obtained from thoracic aortas and cultured by tissue explant method. Passage 3~4 cells were used in the experiment. Rortic endothelial cells were co-incubated with different concentrations of TNF- $\alpha$  (10, 20, 40, 60 and 100  $\mu\text{g/L}$ ) and IL- $1\beta$  (1, 5, 10, 20 and 50  $\mu\text{g/L}$ ) for 24 h or co-incubated with 60  $\mu\text{g/L}$  TNF- $\alpha$ , 20  $\mu\text{g/L}$  IL- $1\beta$  for different periods (2, 4, 8, 16, 24 and 48 h). BAY11-7082 (20  $\mu\text{mol/L}$ ) was pretreated for 60 min before rortic endothelial cells were co-incubated with 60  $\mu\text{g/L}$  TNF- $\alpha$ , 20  $\mu\text{g/L}$  IL- $1\beta$  for 48 h. LDH activity in supernatant was detected. PAPP-A mRNA and protein expression were detected by RT-PCR or ELISA. **Results** After the intervention of TNF- $\alpha$  or IL- $1\beta$  for 24 h, the levels of PAPP-A expression increased with the concentration raise ( $P < 0.05$ ); Cytokines stimulated PAPP-A expression in the two groups ( $P < 0.05$ ); BAY11-7082 inhibited PAPP-A expression stimulated by TNF- $\alpha$  and IL- $1\beta$ .

**Conclusions** TNF- $\alpha$  and IL- $1\beta$  may stimulate the expression of PAPP-A, nuclear factor-KB (NF-KB) activation may be the primary mediator of cytokines stimulated PAPP-A expression.

妊娠相关血浆蛋白 A (pregnancy associated

plasma protein-A, PAPP-A) 是基质金属蛋白酶超家族成员之一。最近研究发现, 动脉粥样硬化不稳定性斑块中炎症反应区域的巨噬细胞、内皮细胞、平滑肌细胞等均可大量表达 PAPP-A<sup>[1]</sup>。PAPP-A 具有

[收稿日期] 2008-10-30 [修回日期] 2009-04-01

[基金项目] 山西省高校科技研究开发项目 (200811070)

[作者简介] 边云飞, 博士研究生, 副教授。Email 为 ganxi@baozhongxi@sina.com。赵欣, 硕士研究生, 医师。通讯作者肖传实, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为冠心病的基础与临床。

基质金属蛋白酶活性,可以水解粥样斑块外的基质,使纤维帽变薄,导致斑块易损及破裂<sup>[2-4]</sup>。尽管 PAPP-A 与斑块的不稳定性有关,但是炎症因子与 PAPP-A 的关系目前尚不清楚。本研究通过体外培养内皮细胞,对炎症因子诱导 PAPP-A 表达的影响进行观察并对其机制进行探讨。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要试剂

TNF- $\alpha$  (BioVision 公司); IL-1 $\beta$  (Peprotech Asia 公司); DMEM 培养基 (Gibco 公司); 胎牛血清 (杭州四季青生物工程材料有限公司); S-P 法免疫组织化学试剂盒 (福州迈新生物技术开发有限公司); 兔抗人 CD 因子一抗 (北京博奥森生物技术有限公司); FITC-羊抗兔二抗 (Solarbio 公司); DAB 显色试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司); 乳酸脱氢酶 (LDH) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所); 大鼠 PAPP-A ELISA 试剂盒 (美国 USCN LIFE 公司); RT-PCR 试剂盒 (大连宝生物工程有限公司); 核因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 抑制剂 BAY11-7082 (德国 Merck 公司)。引物由上海生物工程技术有限公司合成。

### 1.2 大鼠主动脉内皮细胞的培养与鉴定

取健康 3~4 周龄 110~130 g SD 大鼠,采用组织贴块法培养胸腹主动脉内皮细胞。采用免疫荧光法检测胞浆 CD 因子进行鉴定,荧光显微镜下观察并拍摄图片。

### 1.3 实验分组

干预前一天,将培养瓶中的培养基换成含 3% FBS、不含抗生素的 DMEM 培养液。按以下分组加入不同的干预因素进行实验,所有的分组干预实验均重复 3 次。空白对照组:不加干预措施原培养基继续培养; ④TNF- $\alpha$  浓度组:加入 TNF- $\alpha$ ,使培养基中 TNF- $\alpha$  的浓度分别为 10、20、40、60 及 100  $\mu$ g/L,在细胞培养箱中孵育 24 h 后收集细胞; ④IL-1 $\beta$  浓度组:加入 IL-1 $\beta$ ,使培养基中 IL-1 $\beta$  的浓度分别为 1、5、10、20 及 50  $\mu$ g/L,在细胞培养箱中孵育 24 h 后收集细胞; TNF- $\alpha$  时间组:加入 TNF- $\alpha$  至浓度为 60  $\mu$ g/L,在细胞培养箱中分别孵育 2、4、8、16、24 及 48 h 后收集细胞; IL-1 $\beta$  时间组:加入 IL-1 $\beta$  至浓度为 20  $\mu$ g/L,在细胞培养箱中分别孵育 2、4、8、16、24 及 48 h 后收集细胞; BAY11-7082 干预组:预先用 NF- $\kappa$ B 抑制剂 BAY11-7082 (20  $\mu$ mol/L) 与内皮细胞共同孵育 60 min 后,再加入 TNF- $\alpha$  (60  $\mu$ g/L) 或 IL-1 $\beta$  (20  $\mu$ g/L) 作用 48 h。

### 1.4 细胞培养上清液乳酸脱氢酶活性的测定

细胞按上述各组处理,干预达相应时间后,收集培养细胞的上清液,采用 LDH 试剂盒按试剂盒说明测定各组细胞培养上清液中 LDH 活性。

### 1.5 细胞培养上清液中妊娠相关血浆蛋白 A 浓度的测定

采用酶联免疫吸附法测定细胞培养上清液 PAPP-A 蛋白水平。严格按照试剂盒说明进行操作。用 Anthos 2010 酶标仪在 450 nm 波长依序测量各孔的光密度值。在计算机中输入标准物浓度,数据分析系统根据标准物与样品的光密度值,自动计算出待测样品的浓度。

### 1.6 妊娠相关血浆蛋白 A mRNA 的表达

收集各组细胞,用 Trizol 试剂提取总 RNA,测定 RNA 浓度后,置于 PCR 仪中按下列条件进行逆转录反应: 42 $^{\circ}$ C 25 min, 99 $^{\circ}$ C 5 min, 5 $^{\circ}$ C 5 min。PAPP-A 与  $\beta$ -actin 的基因序列通过 GenBank 获得,采用 Primer5.0 软件设计引物。PAPP-A 的引物序列: 正义 5'-CAG AAT GCA CTG TTA CCT GGA -3', 反义 5'-GCT GAT CCC AAT TCT CTT TCA -3', 扩增目的片段为 167 bp。  $\beta$ -actin 的引物序列: 正义 5'-ATC GTG GGC CGC CCT AGG CA -3', 反义 5'-TGG CCT TAG GGT TCA GAG GGG -3', 扩增目的片段为 244 bp。 PAPP-A mRNA PCR 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 1 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 65 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 35 个循环,最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。  $\beta$ -actin mRNA PCR 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 1 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 54 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 35 个循环,最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。

### 1.7 统计学方法

所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,使用 SPSS 11.5 统计软件对实验数据进行单因素方差分析,处理组与对照组之间采用 Dunnett-t 检验,各处理组之间采用 SNK-q 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 大鼠主动脉内皮细胞的鉴定

荧光倒置显微镜下可见原代培养的大鼠主动脉内皮细胞呈扁平多角形,细胞核椭圆形,边界清楚,胞浆发绿色荧光,符合内皮细胞特征 (图 1)。

### 2.2 大鼠主动脉内皮细胞培养上清液中乳酸脱氢酶活性

100  $\mu$ g/L TNF- $\alpha$  组和 50  $\mu$ g/L IL-1 $\beta$  组 LDH 活性明显高于空白对照组 ( $P < 0.05$ ),其余各组与

空白对照组比较差异无统计学意义(表 1)。说明 100  $\mu\text{g/L}$  TNF- $\alpha$  和 50  $\mu\text{g/L}$  IL-1 $\beta$  对细胞有毒性作用,在接下来的实验中排除这两组。TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  不同作用时间组细胞培养上清液中 LDH 活性与空白对照组比较差异无统计学意义,说明对细胞没有毒性作用(表 2)。

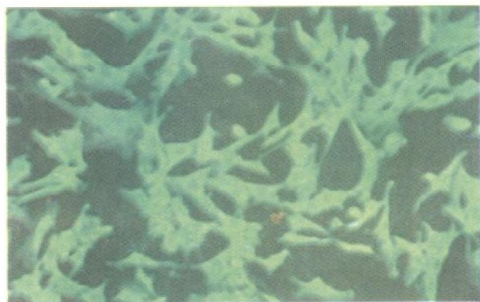


图 1 内皮细胞 CD31 因子免疫荧光鉴定 ( $\times 200$ )

表 1 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  不同浓度组上清液中 LDH 活性 ( $\bar{x} \pm s$ )

分 组	LDH 活性
空白对照组	78.57 $\pm$ 10.85
TNF- $\alpha$ 浓度	
10 $\mu\text{g/L}$	75.33 $\pm$ 9.21
20 $\mu\text{g/L}$	81.57 $\pm$ 7.1
40 $\mu\text{g/L}$	76.25 $\pm$ 5.19
60 $\mu\text{g/L}$	80.56 $\pm$ 8.56
100 $\mu\text{g/L}$	115.42 $\pm$ 12.17 <sup>a</sup>
IL-1 $\beta$ 浓度	
1 $\mu\text{g/L}$	75.28 $\pm$ 9.15
5 $\mu\text{g/L}$	72.48 $\pm$ 11.46
10 $\mu\text{g/L}$	79.78 $\pm$ 6.94
20 $\mu\text{g/L}$	81.38 $\pm$ 8.15
50 $\mu\text{g/L}$	121.49 $\pm$ 10.12 <sup>a</sup>

a 为  $P < 0.05$  与空白对照组比较。

表 2 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  不同作用时间组细胞培养上清液中 LDH 活性 ( $\bar{x} \pm s$ )

分 组	40 $\mu\text{g/L}$ TNF- $\alpha$	20 $\mu\text{g/L}$ IL-1 $\beta$
空白对照组	78.57 $\pm$ 5.85	79.17 $\pm$ 10.49
2 h	76.59 $\pm$ 7.63	76.14 $\pm$ 7.63
4 h	74.33 $\pm$ 5.21	75.30 $\pm$ 9.16
8 h	75.25 $\pm$ 9.67	83.56 $\pm$ 5.96
16 h	81.56 $\pm$ 10.56	76.38 $\pm$ 13.15
24 h	79.21 $\pm$ 5.28	80.31 $\pm$ 8.13
48 h	82.37 $\pm$ 9.79	76.48 $\pm$ 5.26

### 2.3 内皮细胞妊娠相关血浆蛋白 A 蛋白的表达

不同浓度 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  作用 24 h 后,大鼠内

皮细胞培养上清液中 PAPP-A 蛋白表达水平显著增高,而且随浓度的增加 PAPP-A 蛋白表达水平逐渐升高( $P < 0.05$ , 表 3)。60  $\mu\text{g/L}$  TNF- $\alpha$  和 20  $\mu\text{g/L}$  IL-1 $\beta$  作用于大鼠内皮细胞不同时间后,上清液中 PAPP-A 蛋白表达水平明显增高,而且随作用时间的延长 PAPP-A 的表达逐渐升高(表 4)。

表 3 不同浓度 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  对内皮细胞 PAPP-A 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $\text{mg/L}$ )

分 组	PAPP-A 浓度
空白对照组	25.8 $\pm$ 8.46
TNF- $\alpha$ 浓度	
10 $\mu\text{g/L}$	60.76 $\pm$ 5.16 <sup>ab</sup>
20 $\mu\text{g/L}$	75.73 $\pm$ 8.46 <sup>ab</sup>
40 $\mu\text{g/L}$	87.63 $\pm$ 7.94 <sup>ab</sup>
60 $\mu\text{g/L}$	91.05 $\pm$ 3.15 <sup>ab</sup>
IL-1 $\beta$ 浓度	
1 $\mu\text{g/L}$	24.85 $\pm$ 6.08 <sup>b</sup>
5 $\mu\text{g/L}$	35.48 $\pm$ 7.96 <sup>ab</sup>
10 $\mu\text{g/L}$	48.78 $\pm$ 8.34 <sup>ab</sup>
20 $\mu\text{g/L}$	62.38 $\pm$ 3.65 <sup>ab</sup>

a 为  $P < 0.05$  与空白对照组比较; b 为  $P < 0.05$  各浓度组之间比较。

表 4 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  作用不同时间对内皮细胞 PAPP-A 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $\text{mg/L}$ )

分 组	40 $\mu\text{g/L}$ TNF- $\alpha$	20 $\mu\text{g/L}$ IL-1 $\beta$
空白对照组	25.80 $\pm$ 8.46	25.80 $\pm$ 8.46
2 h	23.59 $\pm$ 7.63 <sup>b</sup>	26.14 $\pm$ 5.63 <sup>b</sup>
4 h	32.77 $\pm$ 5.16 <sup>ab</sup>	25.30 $\pm$ 7.23 <sup>b</sup>
8 h	42.32 $\pm$ 4.96 <sup>ab</sup>	37.56 $\pm$ 6.06 <sup>ab</sup>
16 h	86.05 $\pm$ 3.15 <sup>ab</sup>	52.38 $\pm$ 3.97 <sup>ab</sup>
24 h	93.66 $\pm$ 2.13 <sup>ab</sup>	69.31 $\pm$ 4.43 <sup>ab</sup>
48 h	96.26 $\pm$ 5.26 <sup>ab</sup>	73.48 $\pm$ 5.11 <sup>ab</sup>

a 为  $P < 0.05$  与空白对照组比较; b 为  $P < 0.05$  各浓度组之间比较。

### 2.4 内皮细胞妊娠相关血浆蛋白 A mRNA 的表达

不同浓度 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  作用于大鼠内皮细胞 24 h 后,随着 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  浓度的增加,内皮细胞 PAPP-A mRNA 表达水平逐渐升高(图 2 和 3)。60  $\mu\text{g/L}$  TNF- $\alpha$  和 20  $\mu\text{g/L}$  IL-1 $\beta$  作用于大鼠内皮细胞不同时间后,随着作用时间的延长,内皮细胞 PAPP-A mRNA 表达水平逐渐升高(图 4 和 5)。

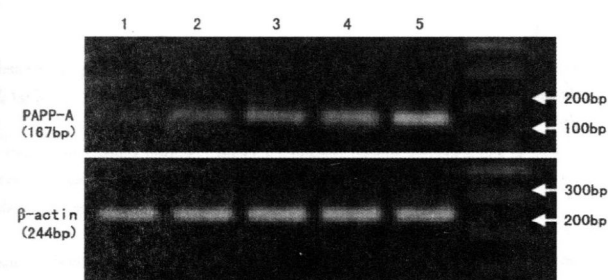


图 2 不同浓度 TNF- $\alpha$  对内皮细胞 PAPP-A mRNA 表达的影响 1 为空白对照组, 2 为 10  $\mu\text{g/L}$  TNF- $\alpha$  组, 3 为 20  $\mu\text{g/L}$  TNF- $\alpha$  组, 4 为 40  $\mu\text{g/L}$  TNF- $\alpha$  组, 5 为 60  $\mu\text{g/L}$  TNF- $\alpha$  组。

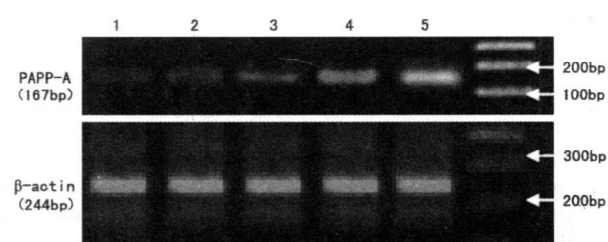


图 3 不同浓度 IL-1 $\beta$  对内皮细胞 PAPP-A mRNA 表达的影响 1 为空白对照组, 2 为 1  $\mu\text{g/L}$  IL-1 $\beta$  组, 3 为 5  $\mu\text{g/L}$  IL-1 $\beta$  组, 4 为 10  $\mu\text{g/L}$  IL-1 $\beta$  组, 5 为 20  $\mu\text{g/L}$  IL-1 $\beta$  组。

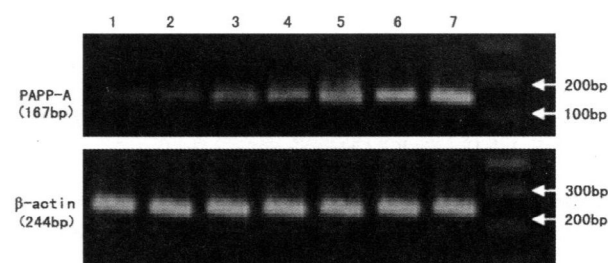


图 4 TNF- $\alpha$  作用不同时间对内皮细胞 PAPP-A mRNA 表达的影响 1 为空白对照组, 2 为 2 h 组, 3 为 4 h 组, 4 为 8 h 组, 5 为 16 h 组, 6 为 24 h 组, 7 为 48 h 组。

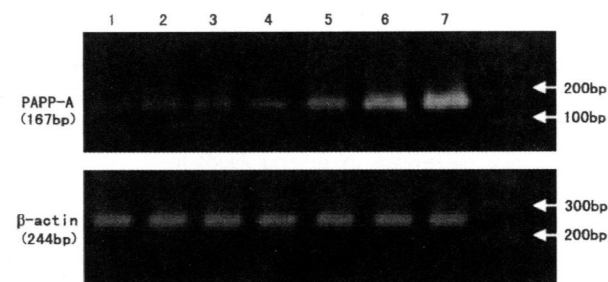


图 5 IL-1 $\beta$  作用不同时间对内皮细胞 PAPP-A mRNA 表达的影响 1 为空白对照组, 2 为 2 h 组, 3 为 4 h 组, 4 为 8 h 组, 5 为 16 h 组, 6 为 24 h 组, 7 为 48 h 组。

## 2.5 BAY 11-7082 对肿瘤坏死因子 $\alpha$ 和白细胞介素 1 $\beta$ 诱导的内皮细胞妊娠相关血浆蛋白 A 表达的影响

60  $\mu\text{g/L}$  TNF- $\alpha$  或 20  $\mu\text{g/L}$  IL-1 $\beta$  作用 48 h 后 PAPP-A mRNA 和蛋白表达明显升高 ( $P < 0.05$ ); 预先用 NF- $\kappa\text{B}$  抑制剂 BAY 11-7082 (20  $\mu\text{mol/L}$ ) 与内皮细胞共同孵育 60 min, 再加入 60  $\mu\text{g/L}$  TNF- $\alpha$  或 20  $\mu\text{g/L}$  IL-1 $\beta$  作用 48 h 后, PAPP-A mRNA 和蛋白表达明显降低 ( $P < 0.05$ , 表 5 和图 6)。

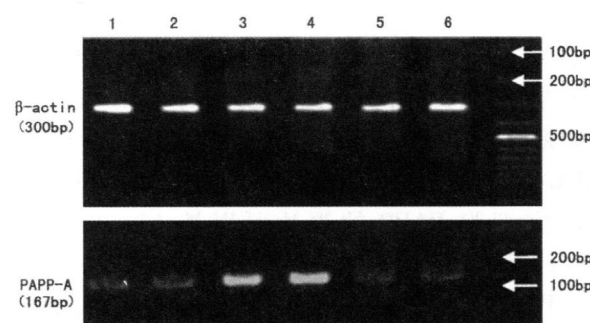


图 6 BAY 11-7082 对 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  诱导的内皮细胞 PAPP-A 表达的影响 1 为空白对照组, 2 为 BAY 11-7082 组, 3 为 60  $\mu\text{g/L}$  TNF- $\alpha$  组, 4 为 20  $\mu\text{g/L}$  IL-1 $\beta$  组, 5 为 60  $\mu\text{g/L}$  TNF- $\alpha$  + 20  $\mu\text{mol/L}$  BAY 11-7082 组, 6 为 20  $\mu\text{g/L}$  IL-1 $\beta$  + 20  $\mu\text{mol/L}$  BAY 11-7082 组。

表 5 BAY 11-7082 对 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  诱导的内皮细胞 PAPP-A 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , mg/L)

分 组	PAPP-A 浓度
空白对照组	25.80 $\pm$ 8.46
BAY 11-7082 组	24.68 $\pm$ 7.86
60 $\mu\text{g/L}$ TNF- $\alpha$ 组	96.26 $\pm$ 5.26 <sup>a</sup>
20 $\mu\text{g/L}$ IL-1 $\beta$ 组	73.48 $\pm$ 5.11 <sup>a</sup>
60 $\mu\text{g/L}$ TNF- $\alpha$ + 20 $\mu\text{mol/L}$ BAY 11-7082 组	26.12 $\pm$ 7.93 <sup>b</sup>
20 $\mu\text{g/L}$ IL-1 $\beta$ + 20 $\mu\text{mol/L}$ BAY 11-7082 组	25.98 $\pm$ 8.02 <sup>c</sup>

a 为  $P < 0.05$  与空白对照组比较; b 为  $P < 0.05$  与 TNF- $\alpha$  组比较; c 为  $P < 0.05$  与 IL-1 $\beta$  组比较。

## 3 讨论

TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  是两种与动脉粥样硬化不稳定性斑块发生发展密切相关的重要促炎因子, 可以直接损伤血管内皮细胞, 加速粥样斑块形成, 也可促进凝血、抑制纤溶、诱导基质金属蛋白酶合成, 加速斑块破裂<sup>[5,6]</sup>。Chen 等<sup>[7]</sup>研究表明 IL-1 $\beta$  可以促进培养的人成纤维细胞表达 PAPP-A, 而 NF- $\kappa\text{B}$  可抑制 PAPP-A 的表达。Conover 等<sup>[8]</sup>也发现 TNF- $\alpha$  和 IL-

1 $\beta$ 可诱导培养的人冠状动脉平滑肌细胞 PAPP-A 的表达。但目前有关 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  对内皮细胞 PAPP-A 表达水平的影响尚未见报道。

本研究发现, TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  均可诱导内皮细胞 PAPP-A 的表达。相同作用时间, 60  $\mu$ g/L TNF- $\alpha$  组和 20  $\mu$ g/L IL-1 $\beta$  组 PAPP-A 表达水平最高; 同一浓度条件下, 随着作用时间的延长, TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  诱导内皮细胞 PAPP-A 表达逐渐增高, 于 48 h 达到最高。

炎症因子对 PAPP-A 表达的调控机制目前尚不清楚。Resch 等<sup>[9]</sup>通过培养人成纤维细胞研究发现, TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  主要是通过 NF- $\kappa$ B 信号转导通路影响 PAPP-A 的表达, NF- $\kappa$ B 抑制剂 BAY 11-7082 能阻断 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  上调人成纤维细胞 PAPP-A mRNA 和蛋白的表达。本研究中, TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  对内皮细胞 PAPP 的表达可以被 NF- $\kappa$ B 抑制剂 BAY 11-7082 阻断。

PAPP-A 表达增高可以通过 IGF-I 轴发挥致动脉粥样硬化作用<sup>[10]</sup>。PAPP-A 活性增强, 可以裂解 IGFBP-4 释放出 IGF-I 促进单核巨噬细胞摄取 LDL-C 形成泡沫细胞, 促进血管平滑肌细胞及血管内膜细胞的增殖和凋亡, 细胞外基质重塑, 使纤维帽变薄, 甚至诱发斑块出血和破裂; 而 IGF-I 同时还可加速 PAPP-A 对 IGFBP-4 的降解, 进一步增强促进动脉粥样硬化发生发展的生物学作用<sup>[11]</sup>。

总之, 炎症因子 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  可诱导内皮细胞表达 PAPP-A, PAPP-A 表达增多可以加速斑块的不稳定, 而炎症因子上调 PAPP-A 表达的调控可能主要是通过 NF- $\kappa$ B 信号转导通路实现。

#### [参考文献]

- [1] Bayes-Gneis A, Conover CA, Overgaard MT, et al. Pregnancy-associated plasma protein A as a marker of acute coronary syndromes [J]. *N Engl J Med*, 2002, **345** (14): 1 057-059
- [2] Beaudoux JL, Bure L, Inbert-Bismut F, et al. Serum plasma pregnancy-associated protein A: a potential marker of echogenic carotid atherosclerotic plaques in asymptomatic hyperlipidemic subjects at high cardiovascular risk [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **23** (1): e7-10
- [3] Khosravi J, Diamandis A, Krishna RG, et al. Pregnancy associated plasma protein A: ultrasensitive immunoassay and determination in coronary heart disease [J]. *Clin Biochem*, 2004, **35** (7): 531-538
- [4] 于霄, 赵俊军, 李静, 等. 冠状动脉妊娠相关血浆蛋白 A 的表达与急性冠状动脉综合征和冠状动脉狭窄的关系 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008, **16** (11): 873-876
- [5] Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells [J]. *Circulation*, 2002, **102** (18): 2 165-168
- [6] Sullivan GW, Sarnenbock JJ, Linden J. The role of inflammation in vascular diseases [J]. *J Leukoc Biol*, 2002, **67** (5): 591-602
- [7] Chen BK, Overgaard MT, Bale LK, et al. Molecular regulation of the IGF-binding protein-4 protease system in human fibroblasts: identification of a novel inducible inhibitor [J]. *Endocrinology*, 2004, **143** (4): 1 199-205
- [8] Conover CA, Bale LK, Harrington SC, et al. Cytokine stimulation of pregnancy-associated plasma protein A expression in human coronary artery smooth muscle cells: inhibition by resveratrol [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006, **290** (1): C183-188
- [9] Resch ZT, Oxvig C, Bale LK, et al. Stress-activated signaling pathways mediate the stimulation of pregnancy-associated plasma protein-A expression in cultured human fibroblasts [J]. *Endocrinology*, 2007, **147** (2): 885-890
- [10] Byun D, Mohan S, Yoo M, et al. Pregnancy-associated plasma protein-A accounts for the insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-4 (IGFBP-4) proteolytic activity in human pregnancy serum and enhances the mitogenic activity of IGF by degrading IGFBP-4 in vitro [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, **86** (2): 847-854
- [11] Delafontaine P, Song YH, Li Y. Expression, regulation, and function of IGF-1, IGF-1R, and IGF-1 binding proteins in blood vessels [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24** (3): 435-444

(此文编辑 文玉珊)