

论著 · 实验研究

儿茶素清除超氧阴离子对 Ang II 诱导的内皮祖细胞 NO 与 eNOS 表达及凋亡影响

吴丽元, 党西强, 何小解, 易著文

(中南大学湘雅二医院儿科, 湖南 长沙 410011)

[摘要] **目的** 探讨儿茶素通过清除超氧阴离子(O_2^-)对血管紧张素 II (Ang II) 诱导的内皮祖细胞(EPCs)、一氧化氮(NO)与内皮型一氧化氮合酶(eNOS)表达及凋亡的影响。**方法** 分离 Sprague-Dawley 大鼠骨髓内皮祖细胞, 将其分为对照组、Ang II 组与 Ang II + 儿茶素组, 培养 48 h。实验末, 利用 NBT 还原法测定培养上清 O_2^- 浓度、硝酸还原酶法测定培养上清 NO 浓度; TUNEL 法测定 EPCs 凋亡率; RT-PCR 测定 eNOS mRNA 表达; Western blot 测定 eNOS 蛋白表达。**结果** MTT 实验确定 10^{-6} mol/L Ang II 为实验细胞诱导浓度, 400 mg/L 儿茶素为实验干预剂量。实验末, 对照组、Ang II 组及 Ang II + 儿茶素组的凋亡率分别为 $(24.8 \pm 1.2)\%$ 、 $(541.8 \pm 7.7)\%$ 、 $(168.7 \pm 3.5)\%$, 三组间差异有非常显著性 ($P < 0.01$); 对照组、Ang II 组及 Ang II + 儿茶素组细胞培养上清 O_2^- 分别为 (33.7 ± 2.8) 、 (81.7 ± 3.6) 、 (62.3 ± 2.2) U/L, NO 分别为 (105.8 ± 9.8) 、 (189.8 ± 9.0) 、 (276.4 ± 10.1) $\mu\text{mol/L}$, Ang II 组与 Ang II + 儿茶素组细胞培养上清中 O_2^- 及 NO 浓度较对照组均有非常显著增高 ($P < 0.01$)。Ang II + 儿茶素组浓度与 Ang II 组相比则有明显降低 ($P < 0.05$), 但 NO 浓度则明显增高 ($P < 0.05$)。与对照组相比, Ang II 组与 Ang II + 儿茶素组 eNOS mRNA ($P < 0.05$) 和蛋白表达 ($P < 0.01$) 均明显增高。Ang II + 儿茶素组 eNOS 蛋白表达较 Ang II 组显著增加 ($P < 0.05$)。**结论** Ang II 可诱导 EPCs 产生 O_2^- 、灭活 NO、刺激 eNOS 基因与蛋白表达增高, 儿茶素可能是通过有效清除 O_2^- 、减少 NO 的失活、降低 eNOS 蛋白的解偶联以减少 EPCs 的凋亡。
[中国当代儿科杂志, 2009, 11(6): 476-480]

[关键词] 儿茶素; 血管紧张素 II; 内皮祖细胞; 超氧阴离子; 一氧化氮; 大鼠

[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2009)06-0476-05

Effects of clearance of superoxide anion by catechin on the expression of NO and eNOS and apoptosis in endothelial progenitor cells induced by angiotensin II

WU Li-Yuan, DANG Xi-Qiang, HE Xiao-Jie, YI Zhu-Wen. Department of Pediatrics, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China (He X-J, Email: hexj7150@163.com)

Abstract: Objective To evaluate the effect of clearance of superoxide anion (O_2^-) by catechin on the expression of nitrogen monoxidum (NO) and endothelial nitricoxide synthase (eNOS) and apoptosis in endothelial progenitor cells (EPCs) induced by angiotensin II (Ang II). **Methods** The marrow endothelial progenitor cells of Sprague-Dawley rats were isolated and assigned to control (no treatment), Ang II treatment and Ang II + catechin treatment groups. After 48 hrs of culture, the concentration of O_2^- in the supernate was measured by the NBT method, and NO concentration in the supernate was measured by the nitrate reductase method; the apoptosis rate of EPCs was detected by the TUNEL method; the mRNA expression of eNOS was detected by RT-PCR; the protein expression of eNOS was detected by Western blot analysis. **Results** Ang II of 10^{-6} mol/L was determined as the suitable concentration for cell induction by the MTT test. Catechin of 400 mg/L was determined as an advisable intervention dosage. The apoptosis rate of EPCs in the control, the Ang II and the Ang II + catechin treatment groups were $24.8 \pm 1.2\%$, $541.8 \pm 7.7\%$ and $168.7 \pm 3.5\%$, respectively, and there were significant differences among the three groups ($P < 0.01$). The O_2^- concentration in the Ang II and the Ang II + catechin treatment groups (81.7 ± 3.6 and 62.3 ± 2.2 U/L respectively) was significantly higher than that in the control group (33.7 ± 2.8 U/L) ($P < 0.01$). An increased NO concentration was also found in the Ang II (189.8 ± 9.0 $\mu\text{mol/L}$) and the Ang II + catechin treatment groups (276.4 ± 10.1 $\mu\text{mol/L}$) compared with that in the control group (105.8 ± 9.8 $\mu\text{mol/L}$) ($P < 0.01$). There were significant differences in the concentrations of O_2^- and NO between the Ang II and the Ang II + catechin treatment groups ($P < 0.05$). The mRNA ($P < 0.05$) and protein expression

[收稿日期] 2008-12-03; [修回日期] 2009-01-22

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (NO: 30500546)。

[作者简介] 吴丽元, 女, 大学, 主管护师。主攻方向: 新生儿疾病。

[通讯作者] 何小解, 男, 博士, 主管技师, 中南大学湘雅二医院儿科, 邮编: 410011。

($P < 0.01$) of eNOS in the Ang II and the Ang II + catechin treatment groups increased significantly compared with those in the control group. The Ang II + catechin treatment group showed increased eNOS protein expression compared with the Ang II group ($P < 0.05$). **Conclusions** Ang II may induce the generation of $O_2^{\cdot-}$, inactivate NO and increase gene and protein expression of eNOS in EPCs. Catechin might decrease the apoptosis of EPCs through the effective clearance of $O_2^{\cdot-}$ and the reduction of NO inactivation and of eNOS protein uncoupling.

[Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11 (6):476-480]

Key words: Catechin; Angiotensin II; Endothelial progenitor cell; Superoxide anion; Nitrogen monoxidum; Rats

由 Asahara 等^[1]在 1997 年发现和命名的内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPCs) 是成熟内皮细胞的前体细胞, 具有异质性^[2]。在血管损伤或组织缺血的情况下, 骨髓中的 EPCs 可特异性归巢于损伤或缺血部位, 参与血管新生和再内皮化^[3]。最近的研究表明氧化应激能引起 EPCs 的数量减少和功能减弱。虽然 EPCs 存在抗氧化酶系统, 但是当细胞正常的氧化还原稳态失衡时, 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 过度产生而聚积, 可导致细胞的衰老和凋亡^[4]。Thum 等^[5]研究发现 eNOS 解偶联会降低 EPCs 的数量及迁移能力, 认为可能与一氧化氮 (NO) 生物利用度的降低或者内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 的辅基 BH4 的水平下降有关。但 eNOS 解偶联是否会引起 ROS 水平升高而造成 EPCs 功能受损? 目前还不清楚。儿茶素是一种多酚基次生代谢物, 有较强的抗氧化活性。但儿茶素是否能通过有效清除 ROS、拮抗血管紧张素 II (Angiotensin II, Ang II) 引起 EPCs 的 eNOS 解偶联、降低 EPCs 的凋亡, 目前尚不清楚。为此, 本研究将以 EPCs 为研究对象, 观察 Ang II 对 EPCs 释放超氧阴离子 ($O_2^{\cdot-}$)、凋亡及 eNOS 表达的影响, 探讨儿茶素对 Ang II 诱导 EPCs 的保护作用, 为血管性疾病的防治提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验动物为健康雌性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠, 体重 180 ~ 200 g, 为本院动物实验室提供。

1.2 试剂

大鼠淋巴细胞分离液 Histopaque-1083 购自天津市灏洋生物制品科技有限责任公司, M199 培养基为 Invotrogen 产品, 胎牛血清为杭州四季青生物制品有限公司产品, 血管内皮生长因子 (VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子 (bFG-F) 为 PeroTech 公司产品, 兔抗鼠 vWF 抗体、兔抗鼠 CD133 抗体、兔抗鼠 VEGFR-2 抗体为 abcam 公司产品, PE 标记的兔抗鼠 CD34 抗体为 Santa Cruz Biotechnology 公司产品, FITC 标记的兔抗鼠 CD31 抗体来自 Serotec 公司, 罗

丹明标记的羊抗兔和 Cy3 标记的羊抗兔 IgG 均来自 Chemicon 公司, 人纤联蛋白来自 Biosource 公司。

1.3 EPCs 分离与培养

健康 SD 雌性大鼠 1 只, 腹腔注射 10% 水合氯醛 1 mL (0.5 mL/100 g) 麻醉后断尾放血, 75% 乙醇浸泡 30 ~ 60 min, 取出股骨和胫骨, 剔除肌肉组织, M199 基本培养基冲洗骨髓腔。骨髓腔冲洗液以 1:1 比例加入含有 Histopaque-1083 的无菌试管中, 保持两种液体间清晰界面。室温下 2 000 r/min 离心 20 min 后取出中间的细胞层。M199 基本培养基重悬, 800 r/min, 洗涤 2 次。末次洗涤后, 分别用上述 M199 条件培养基重悬, 调整细胞密度为 $(2 \sim 3) \times 10^5$ 转移至培养瓶中培养。2 ~ 3 d 换液以维持良好生长状态。用 0.25% 胰蛋白酶进行消化、传代。vWF、CD133 及 VEGFR-2 均阳性者为 EPCs。EPCs 细胞呈多角形, 单层铺路石状紧密排列。2% 台盼蓝染色判断细胞活性, 活细胞数占细胞总数的 98% 以上方可用于实验。具体方法及 EPCs 鉴定结果参见文献^[6]。

1.4 四甲基偶氮唑蓝比色法测定细胞活性

为观察 Ang II 与儿茶素对 EPCs 存活率的影响, 将细胞 (1×10^5 cells/well) 接种于 96 孔培养板中, 每孔加 100 μ L 培养液置培养箱过夜。弃去培养液后, 对照组 (6 孔) 每孔加入 100 μ L 培养液; Ang II 组加入含不同浓度 [根据不同浓度 (10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} mol/L) 分组, 每组 6 孔] Ang II 100 μ L 培养液; 儿茶素组 (每组 6 孔) 加入含不同浓度 (100, 200, 400, 600, 800 mg/L) 儿茶素的培养液 100 μ L 置培养箱培养 48 h, 终止培养前每孔加入 MTT 10 μ L 培养 4 h, 弃去培养液, 每孔加入 DMSO 150 μ L 振荡摇匀, 使结晶充分溶解, 酶联免疫检测仪在 570 nm 下测定各孔吸光度值, 以实验组与对照组光吸收值的百分比代表存活细胞的百分数。确定 Ang II 与儿茶素浓度后, 取传代培养生长融合成单层的细胞, 弃去培养液, 用磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗 2 ~ 3 次, 换新细胞培养液, 按实验要求分对照组、Ang II 组与儿茶素组。儿茶素组要求先加入儿茶素预孵 24 h, 再与除菌后的 Ang II 共培养 24 h。

1.5 培养上清 O₂⁻ 与 NO 的测定

O₂⁻ 测定采用 NBT 还原法(测试盒购自南京建成生物工程有限公司)。双氢溴化乙锭(HE, Sigma)可被细胞内 O₂⁻ 氧化为溴化乙锭发出红色荧光(EB), 流式细胞仪检测细胞内 EB 的平均荧光强度,可相对定量细胞内 O₂⁻ 浓度。离心收集细胞,PBS 洗 2 次,新鲜培养液重悬,加 HE 终浓度为 10 mmol/L,37℃ 避光孵育 30 min,流式细胞仪检测,激发光 488 nm, 650 nm 滤光片收集^[7]。采用硝酸还原酶法测定 NO (试剂盒购自南京建成生物工程有限公司)测定细胞培养液中 NO²⁻/NO³⁻ 含量以间接反映 NO 浓度^[8]。

1.6 末端转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记法 (TUNEL) 测定 EPCs 凋亡率

收集培养细胞,涂片,丙酮固定,0.1% TritonX-100 破膜,0.4% 胃蛋白酶 37℃ 消化 30 min,加组织反应液 40 μL,湿盒中 37℃,1 h,加碱性磷酸酶标记的转换液 40 μL,湿盒中 37℃,30 min,四唑氮蓝/溴氯四唑磷酸(NBT/BCIP)避光显色 5~10 min。以上各步骤间以 PBS 冲洗 2~3 次,每次 3~5 min,蛋白甘油封片,实验结果在显微镜下观察。凋亡指数(AI)计算:计数视野内 1 000 个细胞中的凋亡细胞数。计算公式^[9]:AI(‰)=(凋亡细胞/1 000)×1 000‰。

1.7 RT-PCR 检测 EPCs 中 eNOS-mRNA 表达

收集细胞,Trizol 法提取总 RNA,紫外分光光度计准确定量其浓度和纯度,所用 RNA 的 A260/A280 均在 118~210 之间,甲醛变性电泳进行 RNA 完整性鉴定。逆转录合成 cDNA,引物 5.0 和 Oligo 6.0 软件设计 PCR 特异性引物。各引物序列如下:①内参照 β-actin:上游引物 5'-GTTGGCGCCCCAG-GCACCA-3',下游引物 5'-CTTCCTTAATGTCACG-CACGAT-3,引出序列长度为 545 bp;②eNOS:上游引物 5'-CGACATTGAGATCAAAGGACTG-3',下游引物 5'-AATGTGAGTCCGAAAATGTCCT-3',引出序列长度为 400 bp(上海生工生物工程有限公司合成)。37℃ 反转录 50 min 后 95℃ 变性 5 min,PCR 扩增为 25 μL 反应体系,其中含 2.5 μL 反转录产物,2~3 IU Taq 酶,0.6 μmol/L 每种上下游引物各 1 μL。先在 95℃ 变性 5 min,然后进行 30 个循环:94℃ 变性,45 s;55℃ 退火,45 s;72℃ 延长 45 s、最后 72℃ 延伸 10 min 置于 4℃ 贮存。1.5% 的琼脂糖凝胶电泳,在波长 254 nm 紫外灯下观察电泳结果并摄像后对图片进行扫描,以 eNOS 与内参照 β-actin 条带灰度的比值作为 eNOS mRNA 表达的相对量值。

1.8 蛋白质印迹分析

细胞标本经细胞裂解液裂解后测定蛋白浓度,

各标本取 30 μg 蛋白样品在 SDS-PAGE 凝胶上电泳,分离胶浓度为 12%,浓缩胶为 5%。电泳结束后,取出胶,在冷房中电转膜至 NC 膜。电转膜结束后,NC 膜置于 5% BSA/PBS-Tween 0.1% 4℃ 过夜。先后加兔抗鼠 eNOS 单抗(1:200 稀释)及过氧化物酶标记的羊抗兔二抗(1:2 000 稀释),每次均予 PBS-Tween 0.1% 充分洗涤。加入即时混合的等体积化学发光试剂 A 液和 B 液(ECL),在暗室中进行发光显示。结束后该膜使用脱色液(Stripping buffer)复用一次,以相似的方法检测内参照 β-actin 条带。

1.9 统计学分析方法

采用 SPSS 11.0 统计软件包进行统计学处理,所有资料数据均采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,时间-剂量效应采用析因方差分析进行统计处理,多组资料间和同组多个时点资料间比较时,方差齐者,采用 One-Way ANOVA 分析;组间两两比较采用 LSD 法,方差不齐者,采用 Tamhane 分析。对有相关趋势的变量采用 Pearson 相关分析。 $P < 0.05$ 为差别有显著性意义。

2 结果

2.1 Ang II 与儿茶素对 EPCs 的细胞毒作用

MTT 法检测可见,10⁻⁶ mol/L Ang II 培养 EPCs 48 h 后,细胞存活率为(86.90±0.04)%,与对照组相比,差异有非常显著性($P < 0.01$)。10⁻⁷ mol/L 和 10⁻⁸ mol/L 浓度组细胞存活率与对照组相比差异无显著性;增加 Ang II 浓度至 10⁻⁵ mol/L 和 10⁻⁴ mol/L,则细胞存活率降至(60.90±0.11)%和(43.90±0.06)%,与对照组相比,差异有非常显著性($P < 0.01$)。100,200,400 mg/L 儿茶素培养的 EPCs 48 h 后,细胞存活率分别为(99.23±0.05),(98.41±0.11),(95.90±0.04)%,与对照组相比,差异无显著性($P > 0.05$);600 mg/L 儿茶素时细胞存活率为(81.57±0.25)%,与对照组相比,差异有非常显著性($P < 0.01$)。本实验选用 10⁻⁶ mol/L Ang II 为实验细胞诱导浓度,400 mg/L 儿茶素为实验干预剂量。不同浓度的 Ang II 和不同剂量的儿茶素对 EPCs 的细胞毒作用见图 1~2。

2.2 实验末各组 EPCs 凋亡率比较

镜下可见,凋亡细胞胞核被染成棕色或棕褐色,正常细胞胞核被染成蓝色。实验末,对照组、Ang II 组及 Ang II + 儿茶素组的凋亡率分别为(24.8±1.2)、(541.8±7.7)、(168.7±3.5)‰,三组之间差异均有非常显著性($P < 0.01$, $n = 6$),见图 3。

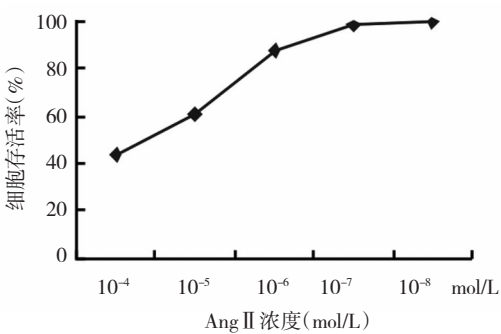


图1 Ang II 对 EPCs 的细胞毒作用

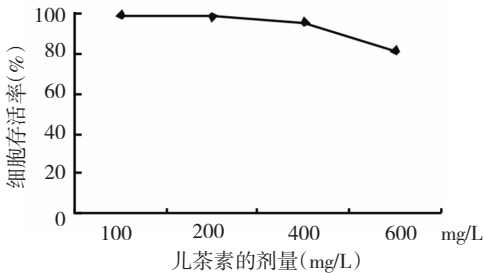


图2 儿茶素对 EPCs 的细胞毒作用

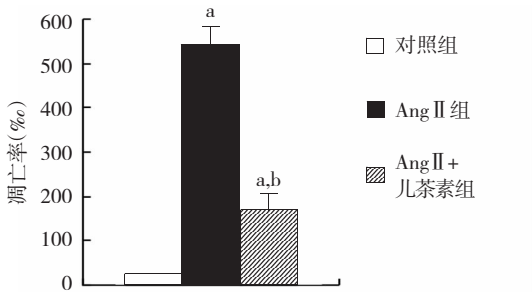


图3 实验末各组 EPCs 凋亡率比较 a:与对照组比较, $P<0.01$; b:与 Ang II 组比较, $P<0.01$

2.3 实验末各组 EPCs 培养上清 O₂⁻ 与 NO 的浓度

实验末、Ang II 组与 Ang II + 儿茶素组细胞培养上清中 O₂⁻、NO 较对照组浓度明显增高,差异有非常显著性($P<0.01$)。Ang II + 儿茶素组 O₂⁻ 浓度与 Ang II 组相比,则有明显降低($P<0.05$),而 NO 浓度则有明显增高($P<0.05$),见表 1。

表1 实验末各组 EPCs 培养上清中 O₂⁻ 和 NO 的浓度比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	O ₂ ⁻ (U/L)	NO(μmol/L)
对照组	33.7 ± 2.8	105.8 ± 9.8
Ang II 组	81.7 ± 3.6 ^a	189.8 ± 9.0 ^a
Ang II + 儿茶素组	62.3 ± 2.2 ^{a,b}	276.4 ± 10.1 ^{a,b}

a:与对照组相比, $P<0.01$; b:与 Ang II 组相比, $P<0.05$

2.4 实验末各组 EPCs eNOS mRNA 表达的比较

RT-PCR 结果显示,eNOS/β-actin 比值对照组为

0.7972 ± 0.0213, Ang II 组 1.1862 ± 0.0207, Ang II + 儿茶素组 1.2458 ± 0.0321,与对照组相比,Ang II 组和 Ang II + 儿茶素组 eNOS mRNA 均明显增高($P<0.05, n=6$);而 Ang II + 儿茶素组虽高于 Ang II 组,但二者之间差异无显著性(图 4)。

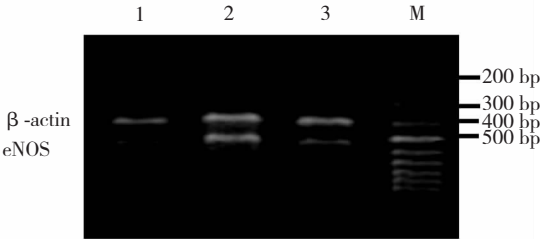


图4 实验末各组 EPCs eNOS mRNA ($n=6$) 1 为 Ang II 组; 2 为对照组; 3 为 Ang II + 儿茶素组

2.5 实验末各组 EPCs eNOS 蛋白表达比较

结果显示,Ang II 组(0.7768 ± 0.0956),Ang II + 儿茶素组(0.9689 ± 0.1211) eNOS 蛋白表达与对照组(0.3902 ± 0.1097)相比显著增加,差异有非常显著性($P<0.01, n=6$);Ang II + 儿茶素组 eNOS 蛋白表达与 Ang II 组相比,差异有显著性($P<0.05, n=6$),见图 5。

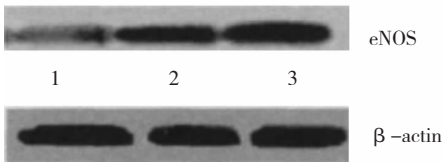


图5 实验末各组 EPCs eNOS Western blot 表达 ($n=6$) 1 为对照组; 2 为 Ang II 组; 3 为 Ang II + 儿茶素组。

3 讨论

肾病综合征是小儿泌尿系统常见病与多发病,肾小管间质损伤是其持续进展的主要因素之一,持续的肾小管间质损伤可导致肾间质纤维化,其发生的精确机制目前尚不清楚。肾脏微血管是肾脏损伤的直接参与者,维持肾脏微血管功能与数目是预防肾脏病持续进展的关键因素^[10]。研究发现,肾小管周围毛细血管内皮细胞损伤,致使微血管密度减少,是肾小管间质发生慢性缺血的主要原因。因此,促进肾小管周围毛细血管新生是防止肾小管间质发生慢性缺血的有效措施。EPCs 的数量和功能在血管新生中起重要作用。缺血时患者体内 EPCs 数量减少的确切机制还不清楚,氧化应激诱导的 EPCs 凋亡是影响其数量及功能的潜在机制。活性氧是调节血管张力和结构的重要信号分子,在维持血管稳

态、介导血管损伤中起关键性作用, O_2^- 的产生和清除的异常与高血压病、糖尿病、缺血性心肌病等密切相关^[11]。NADPH氧化酶是内皮细胞 O_2^- 的主要来源^[12],此酶可由AngII激活^[13],Manishit等^[14]研究发现,Ang II处理EPCs后其氧化应激水平升高,细胞衰老加快。本研究发现,Ang II处理EPCs后,可导致 O_2^- 显著增高、EPCs凋亡增加,说明EPCs在Ang II刺激下,也可产生过量的活性氧自由基而促进EPCs凋亡增加。

eNOS是细胞色素P450还原酶样酶,可催化黄素介导的从电子供体NADPH到亚铁血红素辅基的电子转移。eNOS的辅基四氢生物喋呤靠近亚铁血红素基,可将电子传递到L-精氨酸的胍基氮上从而产生NO。缺少L-精氨酸或BH4时,eNOS会产生 O_2^- 和 H_2O_2 ,此现象被称为eNOS解偶联^[15]。eNOS在EPCs的动员与功能调控中发挥着至关重要的作用。Thum等^[5]研究发现,eNOS解偶联会降低EPCs的数量及迁移能力,认为可能与NO生物利用度降低或eNOS的辅基BH₄水平下降有关。以上研究发现,Ang II组eNOS基因与蛋白及NO均较对照组显著增高,似乎与上述研究结果存在矛盾。其原因可能是由于Ang II可诱导产生大量 O_2^- ,而 O_2^- 可与NO结合生成ONOO⁻使NO失活,导致NO浓度降低,NO浓度降低可刺激细胞中产生NO的eNOS表达增高以持续释放NO,进一步清除 O_2^- 。因此,Ang II组eNOS基因与蛋白、NO均较对照组显著增高,实际上可能是一种负反馈方式的应激反应,这与Sarr等^[16]研究结果是一致的。同时也说明,Ang II可以导致eNOS基因与蛋白表达增高。

儿茶素安全无毒,是一种新型的天然抗氧化剂,实验表明儿茶素对 O_2^- 、-OH自由基的清除率达到98%以上,清除速率常数在 $10^9 \sim 10^{14}$ 数量级,对活细胞产生的氧自由基的综合清除效果远优于维生素E和维生素C,具有良好的抗氧化作用^[17]。本研究发现400 mg/L儿茶素不产生细胞毒作用,并参考了既往实验研究^[18],从而选择了400 mg/L儿茶素作为实验干预剂量。从本实验结果可以看出,儿茶素组 O_2^- 浓度明显低于Ang II组,NO浓度则明显高于Ang II组,说明儿茶素可通过有效清除 O_2^- ,降低 O_2^- 与NO结合几率与数量,减少NO的失活。进而发现,儿茶素组eNOS基因表达虽高于Ang II组,但差异无显著性,提示儿茶素并不能上调eNOS基因表达;与Ang II组相比,儿茶素组蛋白却显著增高,可能是由于NO失活降低而使eNOS蛋白的解偶联减少所致。实验末,儿茶素组EPCs的凋亡率明显

低于Ang II组,说明儿茶素可能是通过有效清除 O_2^- 、减少NO的失活、降低eNOS蛋白的解偶联,而实现减少EPCs的凋亡。

[参 考 文 献]

- [1] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis[J]. Science, 1997, 275(5302):964-967.
- [2] Ingram DA, Mead LE, Moore DB, Woodard W, Fenoglio A, Yoder MC. Vessel wall-derived endothelial cells rapidly proliferate because they contain a complete hierarchy of endothelial progenitor cells[J]. Blood, 2005, 105(7):2783-2786.
- [3] Urbich C, Dmmeler S. Endothelial progenitor cells Characterization and role in vascular biology[J]. Circ Res, 2004, 95(4):343-353.
- [4] Papaharalambus CA, Griendling KK. Basic mechanisms of oxidative stress and reactive oxygen species in cardiovascular injury[J]. Trends Cardiovasc Med, 2007, 17(2):48-54.
- [5] Thum T, Fraccarollo D, Schultheiss M, Froese S, Galuppo P, Widder JD, et al. Endothelial nitric oxide synthase uncoupling impairs endothelial progenitor cell mobilization and function in diabetes[J]. Diabetes, 2007, 56(3):666-674.
- [6] 何小解,许自川,郑洪,党西强,易著文,曾雪琪.大鼠骨髓内皮祖细胞分离与体外培养条件研究[J].世界科技研究与发展, 2008,30(2):198-201.
- [7] 何小解,易著文,党西强,吴小川,何庆南,卢向阳,等.儿茶素对肾病综合征大鼠血清氧自由基与抗氧化酶的影响[J].肾脏病与透析肾移植杂志, 2002, 11(4):342-346.
- [8] 林红英,沈子龙,张奕华,计晓斌,王伟强,彭司勋. NO调控剂(S,S)-ZX-5及其对映体对血管内皮细胞NO释放及eNOS酶活性影响研究[J].中国药科大学学报, 2006, 37(6):531-534.
- [9] 马吉祥,苏军英,李会庆,王显军,颜云.大豆异黄酮诱导胃癌细胞凋亡作用研究[J].中国公共卫生, 2003, 19(4):434-436.
- [10] 吴杰,陈香美.血管病变在1005例IgA肾病中的意义及其影响因素[J].中华医学杂志, 2003, 83(4):289-293.
- [11] Zhang C, Yang J, Jennings LK. Leukocyte-derived myeloperoxidase amplifies high-glucose-induced endothelial dysfunction through interaction with high-glucose-stimulated, vascular non-leukocyte-derived reactive oxygen species[J]. Diabetes, 2004, 53(11):2950-2959.
- [12] Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease[J]. Circ Res, 2000, 86(5):494-501.
- [13] Brosnan MJ, Hamilton CA, Graham D, Lygate CA, Jardine E, Dominiczak AF. Irbesartan lowers superoxide levels and increases nitric oxide bioavailability in blood vessels from spontaneously hypertensive stroke-prone rat[J]. J Hypertens, 2002, 20(2):281-286.
- [14] Manishit, Hano T, Nishio I. Estrogen reduces angiotensin-II induced acceleration of senescence in endothelial progenitor cells[J]. Hypertens Rev, 2005, 28(3):263-271.
- [15] Dernbach E, Urbich C, Brandes RP, Hofmann WK, Zeiher AM, Dmmeler S. Antioxidative stress-associated genes in circulating progenitor cells: Evidence for enhanced resistance against oxidative stress[J]. Blood, 2004, 104(12):3591-3597.
- [16] Sarr M, Chataigneau M, Martins S, Schott C, El Bedoui J, Oak MH, et al. Red Wine polyphenols prevent angiotensin II-induced hypertension and endothelial in rats: role of NADPH oxidase[J]. Cardiovasc Res, 2006, 71(4):794-802.
- [17] Maeda K, Kuzuya M, Cheng XW, Asai T, Kanda S, Tamaya-Mori N, et al. Green tea polyphenol inhibit the cultured smooth Muscles cell Invasion through the basement barrier[J]. Atherosclerosis, 2003, 166(1):23-30.
- [18] 何小解,卢向阳,刘永乐,易著文,田云.儿茶素对肾病大鼠一氧化氮和蛋白尿生成的影响[J].食品科学, 2003, 24(1):121-124.

(本文编辑:徐福兰)