

网络出版时间: 2017-3-21 13:44 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20170321.1344.005.html>

肝细胞生长因子对动脉粥样硬化模型 兔巨噬细胞 M1、M2 亚型及斑块成分的影响

张亮¹ 胡泽平¹ 圣波¹ 郭影¹ 周青² 汪渊²

摘要 目的 探讨肝细胞生长因子(HGF)对动脉粥样硬化(AS)模型兔血脂、巨噬细胞 M1 型标志物诱导性一氧化氮合酶(iNOS)、巨噬细胞 M2 型标志物精氨酸酶 I(Arg I)表达和 AS 斑块成分的影响。方法 24 只 4 月龄雄性新西兰大白兔随机分为正常组、AS 模型组、重组腺病毒-肝细胞生长因子(Ad-HGF)组,分别给予普通饲料、高胆固醇饲料、高胆固醇饲料喂养。其中 Ad-HGF 组分别于喂养 4、5、6 周后肌肉注射 1 ml Ad-HGF(5×10^9 PFU/ml),正常组和 AS 模型组同时给予生理盐水(1 ml/只)肌肉注射。12 周后处死模型兔,分别测定血脂、主动脉内膜/中膜厚度比值(IMT)、胶原纤维、血管平滑肌细胞(VSMCs)和巨噬细胞的含量,主动脉 HGF、间质-上皮转化因子(c-Met)、iNOS、Arg I 的蛋白表达。结果 与正常组比较,AS 模型组血脂水平、主动脉 iNOS 表达、IMT、胶原纤维及巨噬细胞含量明显增加($P < 0.05$),主动脉 HGF、c-Met、Arg I 的蛋白表达、VSMCs 含量明显降低($P < 0.05$);与 AS 模型组相比,Ad-HGF 组血脂水平无明显差别,主动脉 iNOS 表达、IMT 及巨噬细胞含量明显降低($P < 0.05$),主动脉 HGF、c-Met、Arg I 的蛋白表达及胶原

纤维含量、VSMCs 含量明显增加($P < 0.05$)。结论 HGF 通过抑制 M1 型巨噬细胞浸润,诱导 M2 型巨噬细胞分化,增加斑块胶原纤维和 VSMCs 含量而促进斑块稳定,抑制 AS 进展。

关键词 动脉粥样硬化;肝细胞生长因子;间质-上皮转化因子;M1 型巨噬细胞;M2 型巨噬细胞

中图分类号 R 392

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)04-0484-07

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.04.005

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是心、脑血管疾病的病理基础,其病因尚未完全明确,防治任务艰巨。慢性炎症促进 AS 的发生、发展,调动体内的抗炎机制是抑制 AS 的重要干预途径。巨噬细胞作为 AS 炎症机制的主要参与者,介导 AS 发生、发展全过程。AS 斑块中浸润的巨噬细胞随着局部微环境的变化而分化成不同功能的巨噬细胞亚群。经典活化型巨噬细胞(M1 亚型)和替代活化型巨噬细胞(M2 亚型)是这一连续变化过程的两个极端,两者在 AS 发生、发展中分别发挥促炎或抗炎截然相反的作用。诱导 M1 亚型向 M2 亚型巨噬细胞转化,可能成为抑制 AS 发生和发展新的干预靶点。肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)是间质细胞趋化的多功能生长因子,具有保护血管内皮功能、抗细胞凋亡、抗纤维化、干细胞招募等作用^[1-2]。研究^[3-5]显示, HGF 还有很强的抗炎作用,增加其表达可能有抗 AS 作用。但 HGF 是否通过调控巨噬细胞 M1、M2 亚型转化来抑制 AS 的发生、发展未见文

2016-12-26 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:1508085MH168);安徽省博士后研究人员科研活动经费资助项目(编号:2016B097);安徽省卫计委中医药科研课题项目(编号:2014zy23);高等学校博士学科点专项科研基金(编号:20123420120005);安徽省高等学校省级自然科学研究重点项目(编号:KJ2012A147)

作者单位:¹安徽医科大学第一附属医院心血管内科,合肥 230022

²安徽医科大学分子生物学实验室,合肥 230032

作者简介:张亮,男,硕士研究生;

胡泽平,主任医师,副教授,硕士生导师,责任作者, E-mail: 1431318679@qq.com

pression of miR-143 on migration and invasion of CNE-2Z cells were detected by using Transwell cell migration and invasion assay. **Results** The expression level of miR-143 in CNE-2Z was significantly lower than those in NP69 and CNE-1 ($P < 0.01$). The miR-143 over-expressed CNE-2Z cell was successfully established. The cell viability in CNE-2Z/ miR-143 group was significantly decreased compared with CNE-2Z and CNE-2Z/ miR-NC ($P < 0.01$). Overexpression of miR-143 inhibited cell migration and invasion of CNE-2Z cells significantly($P < 0.01$).

Conclusion miR-143 might inhibit cell proliferation, migration and invasion in human nasopharyngeal cancer CNE-2Z cells, indicating its important role in diagnosis, treatment and prognosis of nasopharyngeal cancer.

Key words nasopharyngeal cancer; miR-143; CNE-2Z; migration; invasion

献报道。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 24 只普通级 4 月龄雄性新西兰大白兔, 购自江苏省安立默科技有限公司。常规饲料和高脂饲料(1% 胆固醇、5% 猪油和 94% 常规饲料)由安徽医科大学动物实验中心配制。在安徽医科大学动物实验中心单笼喂养。

1.1.2 主要试剂 重组腺病毒-肝细胞生长因子(adenovirus hepatocyte growth factor, Ad-HGF) 购自北京中国军事医学科学院放射研究所; 兔抗 HGF 多克隆抗体、鼠抗 α -SMA 多克隆抗体购自武汉博士德生物工程有限公司; 兔抗间质-上皮转化因子(mesenchymal-epithelial transition factor, c-Met) 多克隆抗体、兔抗精氨酸酶 I(arginase I, Arg I) 多克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司; 兔抗诱导性一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthases, iNOS) 多克隆抗体购自美国 Abcam 公司; 鼠抗 CD68 多克隆抗体购自美国 NOVUS 公司; masson 染液购自南京建成科技有限公司; 二抗、SP-6000 免疫组化染色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司; 总胆固醇(total cholesterol, Tch) 试剂盒、三酰甘油(triglyceride, TG) 试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-c) 试剂盒、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-c) 试剂盒均购自北京北化康泰临床试剂有限公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与干预 新西兰大白兔适应性常规饲料喂养 1 周后随机分成 3 组: 正常组、AS 模型组和 Ad-HGF 组, 每组 8 只。每组干预措施如下: 正常组: 每日每只给予常规饲料 150 g, 自由饮水, 喂养 12 周; AS 模型组: 每日每只给予高脂饲料 150 g, 自由饮水, 喂养 12 周; Ad-HGF 组: 每日每只给予高脂饲料 150 g, 自由饮水, 喂养 12 周。其中 Ad-HGF 组分别于喂养 4、5、6 周后肌肉注射 1 ml Ad-HGF(5×10^9 PFU/ml), 正常组和 AS 模型组同时给予生理盐水(1 ml/只)肌肉注射。

1.2.2 血清、主动脉标本收集 喂养 12 周后, 禁食 12 h, 3% 戊巴比妥耳缘静脉注射, 麻醉后经左颈总动脉取血 4 000 r/min 离心 15 min 后分离血清, 分装并置于 -80°C 冰箱保存, 用于检测血脂。收集完标本后, 迅速分离主动脉, 用磷酸盐缓冲液漂洗后

分别取胸主动脉段固定于 4% 多聚甲醛, 用于 HE 染色、masson 染色和免疫组织化学染色, 剩余部分 -80°C 保存, 用于 Western blot 法检测。

1.2.3 血脂的测定 血脂浓度采用全波长酶标仪测定, 所有测试项目使用酶偶联比色法。

1.2.4 HE 染色和主动脉 IMT 测量 石蜡包埋切片(4 μm 厚度), HE 染色。主动脉内膜和中膜厚度分别由两个独立的观察者采用 JD-801 病理图像分析系统测量, 计算出主动脉内膜/中膜厚度比值(intima-to-media thickness, IMT)。

1.2.5 masson 染色 石蜡包埋切片(4 μm 厚度), 脱蜡、梯度入水、温热水漂洗, 分别按顺序进行核染、浆染、分色、复染, 晾干后封片, 胶原纤维呈蓝色, 纤维素、肌肉、胞质呈红色, 胞核呈蓝紫色。

1.2.6 免疫组织化学分析 将主动脉石蜡包埋切片脱蜡至水, 抗原修复: 枸橼酸缓冲液(pH 6.0) 95 $^\circ\text{C}$ 煮沸 20 min 后自然冷却至室温。阻断内源性过氧化物酶后, 分别加入 HGF 一抗、c-Met 一抗、Arg I 一抗、iNOS 一抗、CD68 一抗、 α -SMA 一抗室温孵育 2 h。再与生物素化抗体和辣根链霉亲和素生物素化抗体在 37 $^\circ\text{C}$ 共孵育 30 min。DAB 显色液显色 10 min。最后, 苏木精复染 60 s。染成棕色为阳性结果。应用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件测量平均光密度值。

1.2.7 Western blot 检测 采用 Western blot 法检测主动脉组织 HGF、c-Met、iNOS、Arg I 蛋白表达。将上述提取的蛋白加样, 进行电泳、转膜, 并分别与 HGF 一抗、c-Met 一抗、iNOS 一抗、Arg I 一抗(均 1:1 000) 4 $^\circ\text{C}$ 共育过夜, 二抗室温孵育 2 h, ChemiQ 4600mini 化学发光成像系统进行显影。用 β -actin 标准化后采用 Quantity One 系统进行半定量分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行分析。计量资料结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HGF 对 AS 模型兔血清 Tch、TG、HDL-c、LDL-c 的影响 与正常组比较, AS 模型组血清 Tch、TG、HDL-c、LDL-c 均明显增高($P < 0.05$); 与 AS 模型组比较, Ad-HGF 组血清 Tch、TG、HDL-c、LDL-c 无明显差异。见表 1。

2.2 HGF 对 AS 模型兔主动脉 IMT 的影响 HE 染色观察主动脉形态学特征, 测量主动脉内膜、中膜厚度, 计算 IMT。结果显示: 正常组主动脉内皮细胞

表1 HGF对AS模型兔血清Tch、TG、HDL-c、LDL-c的影响 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

项目	正常组	AS模型组	Ad-HGF组	F值	P值
Tch	1.75 ± 0.30	32.57 ± 4.12*	33.18 ± 3.70	252.073	<0.05
TG	0.32 ± 0.03	3.29 ± 0.84*	3.16 ± 0.34	82.245	<0.05
HDL-c	0.70 ± 0.21	2.15 ± 1.28*	2.21 ± 1.30	5.202	<0.05
LDL-c	0.84 ± 0.12	25.84 ± 4.24*	25.32 ± 3.76	152.450	<0.05

与正常组比较: * $P < 0.05$

结构完整; AS模型组主动脉内膜显著增生, 内皮细胞结构被破坏, 内膜下可见大量脂质斑块、泡沫细胞、血管平滑肌细胞 (vessel smooth muscle cells, VSMCs); Ad-HGF组主动脉内皮细胞结构较完整, 内膜下脂质斑块和泡沫细胞显著减少, VSMCs明显增加。与正常组相比, AS模型组主动脉IMT明显升高 ($P < 0.05$); 与AS模型组相比, Ad-HGF组主动脉IMT显著降低 ($P < 0.05$)。见图1。

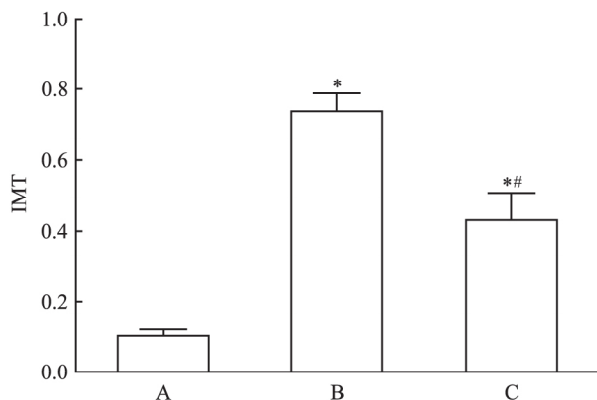
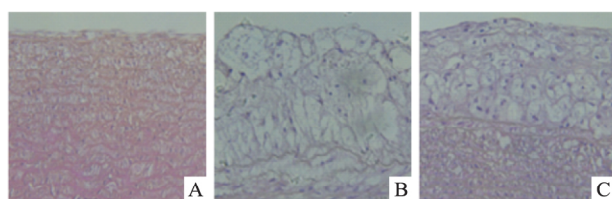


图1 HGF对AS模型兔主动脉IMT的影响 HE × 200

A: 正常组; B: AS模型组; C: Ad-HGF组; 与正常组比较: * $P < 0.05$; 与AS模型组比较: # $P < 0.05$

2.3 HGF对AS模型兔主动脉粥样斑块成分的影响 免疫组化和Masson染色检测AS模型兔主动脉粥样斑块巨噬细胞、VSMCs、胶原纤维含量。结果显示: 与正常组相比, AS模型组内膜下可见大量巨噬细胞和少量散在的VSMCs, 斑块表面纤维帽较薄, 纤维帽边缘不规则或破裂; 与AS模型组相比, Ad-HGF组内膜下巨噬细胞含量明显减少, 斑块中可见大量增生的VSMCs, 斑块表面纤维帽完整, 较厚, 无破裂。见图2~4。

2.4 HGF对AS模型兔主动脉HGF表达的影响

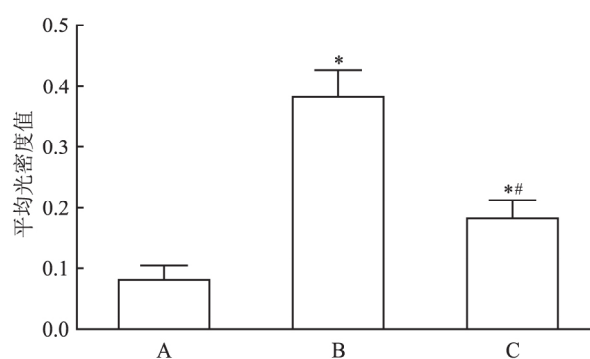
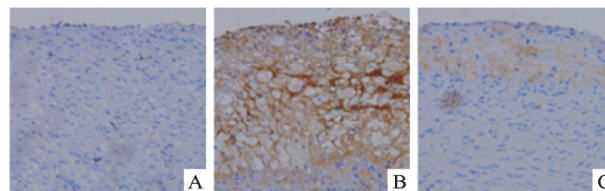


图2 HGF对AS模型兔主动脉粥样斑块

巨噬细胞的影响 CD68免疫组化染色 × 200

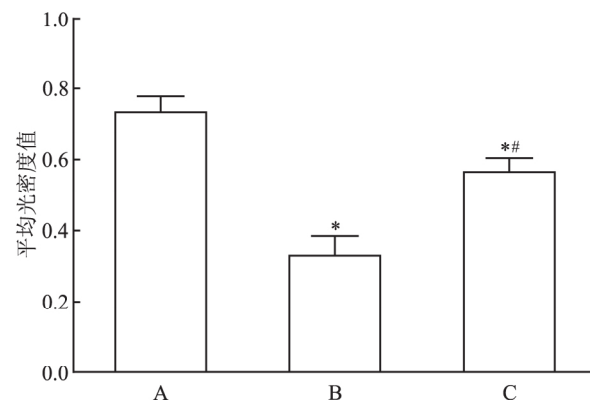
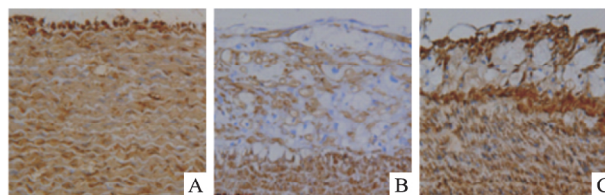
A: 正常组; B: AS模型组; C: Ad-HGF组; 与正常组比较: * $P < 0.05$; 与AS模型组比较: # $P < 0.05$ 

图3 HGF对AS模型兔主动脉粥样斑块

VSMCs的影响 α-SMA免疫组化染色 × 200

A: 正常组; B: AS模型组; C: Ad-HGF组; 与正常组比较: * $P < 0.05$; 与AS模型组比较: # $P < 0.05$

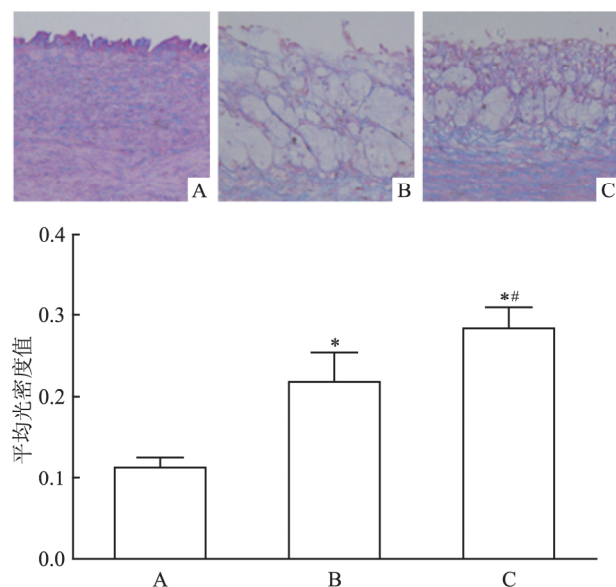


图4 HGF对AS模型兔主动脉粥样斑块胶原纤维的影响 masson染色 $\times 200$

A: 正常组; B: AS模型组; C: Ad-HGF组; 与正常组比较: * $P < 0.05$; 与AS模型组比较: # $P < 0.05$

免疫组化和 Western blot 法检测兔主动脉 HGF 蛋白表达 结果显示: 与正常组相比, AS 模型组主动脉 HGF 表达明显减少 ($P < 0.05$); 与 AS 模型组相比, Ad-HGF 组主动脉 HGF 表达明显增加 ($P < 0.05$)。见图 5。

2.5 HGF 对 AS 模型兔主动脉 c-Met 表达的影响

免疫组化和 Western blot 法检测兔主动脉 c-Met 蛋白表达 结果显示: 与正常组相比, AS 模型组主动脉 c-Met 表达明显减少 ($P < 0.05$); 与 AS 模型组相比, Ad-HGF 组主动脉 c-Met 表达明显增加 ($P < 0.05$)。见图 6。

2.6 HGF 对 AS 模型兔主动脉 iNOS 表达的影响

免疫组化和 Western blot 法检测兔主动脉 iNOS 蛋白表达 结果显示: 与正常组相比, AS 模型组主动脉 iNOS 表达明显增加 ($P < 0.05$); 与 AS 模型组相比, Ad-HGF 组主动脉 iNOS 表达明显减少 ($P < 0.05$)。见图 7。

2.7 HGF 对 AS 模型兔主动脉 Arg I 表达的影响

免疫组化和 Western blot 法检测兔主动脉 Arg I 蛋白表达 结果显示: 与正常组相比, AS 模型组主动脉 Arg I 表达明显增加 ($P < 0.05$); 与 AS 模型组相比, Ad-HGF 组主动脉 Arg I 表达明显增加 ($P < 0.05$)。见图 8。

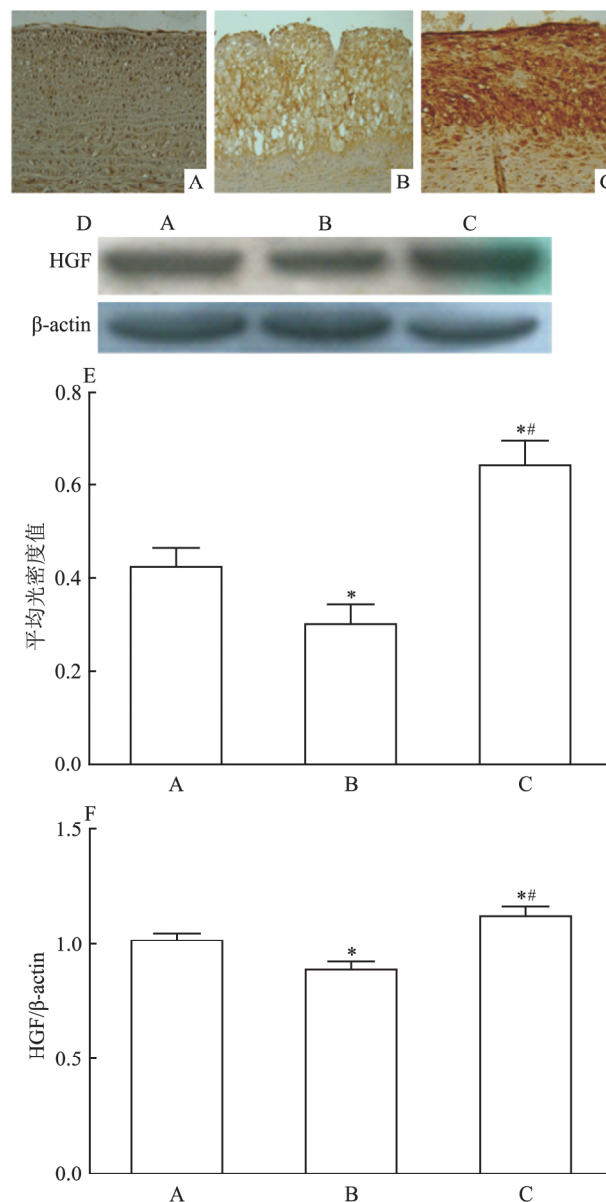


图5 HGF对AS模型兔主动脉HGF表达的影响 $\times 200$

A: 正常组; B: AS模型组; C: Ad-HGF组; D: Western blot法检测HGF蛋白的表达; E: 平均光密度值; F: HGF蛋白的相对表达量; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与AS模型组比较: # $P < 0.05$

3 讨论

HGF是间质细胞衍生的一种多功能生长因子,广泛表达于各种组织和细胞,其受体c-Met是由原癌基因编码的跨膜型酪氨酸激酶受体^[6]。HGF通过与c-Met结合,使之酪氨酸残基磷酸化并启动受体后信号传导而发挥抗细胞凋亡、抗纤维化、干细胞招募、促进内皮祖细胞和内皮细胞增殖、保护血管内皮功能等作用^[1-2,7]。早期文献^[8]报道:在闭塞性动脉硬化症患者的血清HGF浓度明显升高,试图修

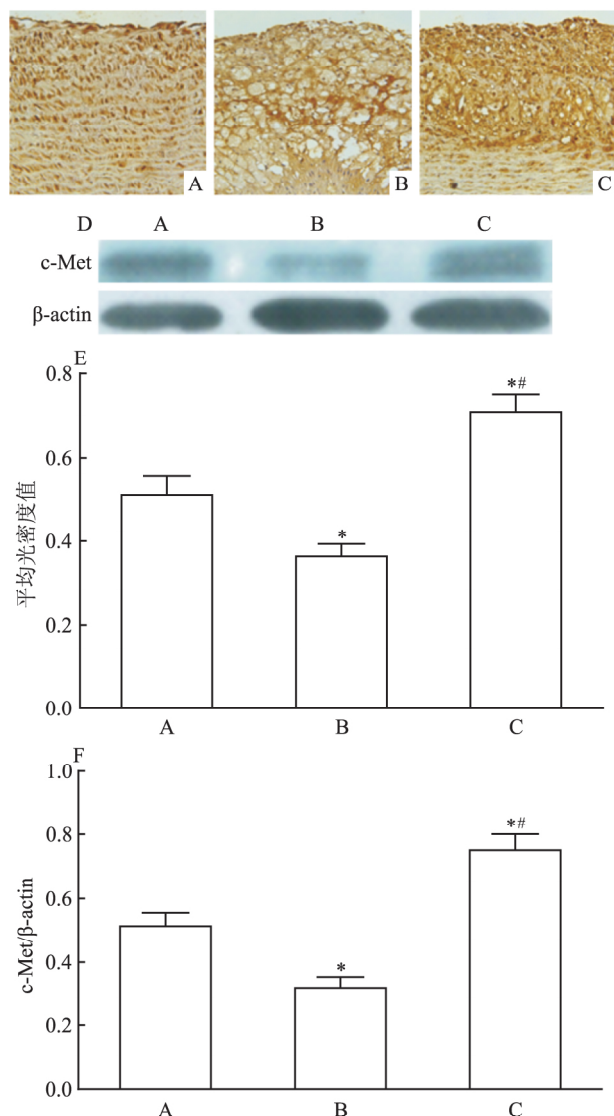


图6 HGF对AS模型兔主动脉c-Met表达的影响 ×200

A: 正常组; B: AS模型组; C: Ad-HGF组; D: Western blot法检测c-Met蛋白的表达; E: 平均光密度值; F: c-Met蛋白的相对表达量; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与AS模型组比较: # $P < 0.05$

复损伤的血管内皮,抑制AS进展,但血管局部HGF表达减少。动物实验^[4]显示:HGF在AS病变血管巨噬细胞源性泡沫细胞表达,而c-Met在VSMCs和纤维帽表达。推测,HGF通过自分泌或旁分泌形式作用于损伤的血管内膜^[9-10],修复内皮细胞,血清HGF的高浓度可能反映血管病变的严重程度,是机体的反馈保护机制,但机体内HGF的自我动员不足,导致修复能力有限,不能满足机体修复内皮所需,继而不能抑制粥样斑块的进展。本实验结果表明,AS模型兔主动脉局部HGF、c-Met表达明显减少,通过重复注射高浓度的Ad-HGF,增加病变血管局部HGF、c-Met表达,明显抑制AS模型兔主动脉

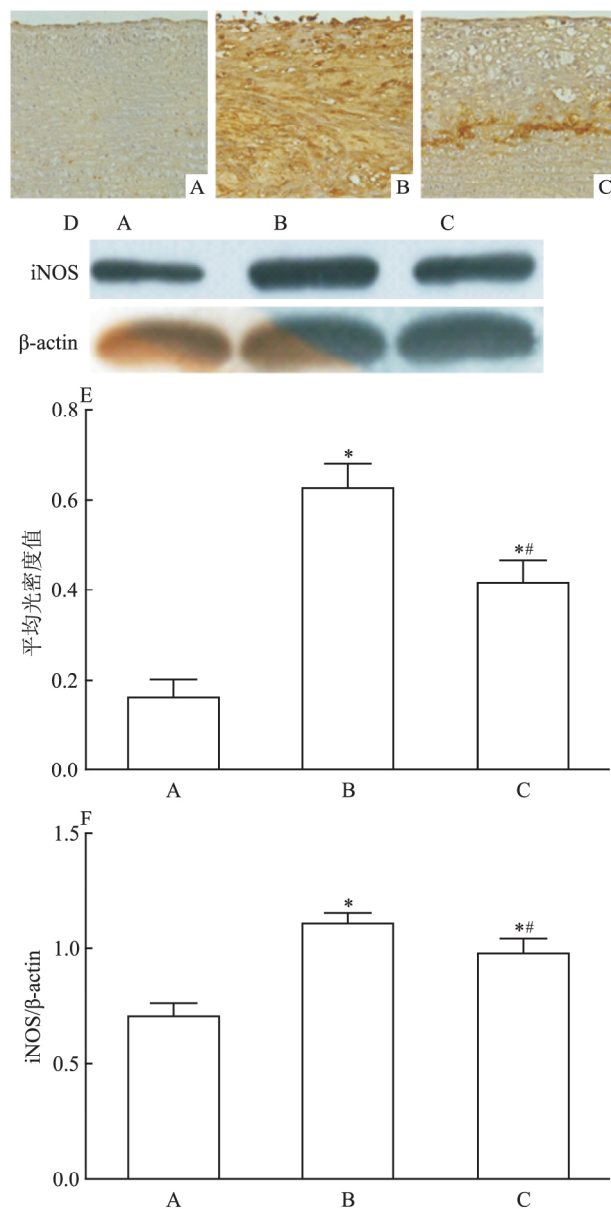


图7 HGF对AS模型兔主动脉iNOS表达的影响 ×200

A: 正常组; B: AS模型组; C: Ad-HGF组; D: Western blot法检测iNOS蛋白的表达; E: 平均光密度值; F: iNOS蛋白的相对表达量; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与AS模型组比较: # $P < 0.05$

粥样斑块进展,并且增加胶原纤维、VSMCs含量,促进斑块稳定。

炎症促进动脉粥样硬化的发生、发展,与临床预后不良密切相关。而作为AS炎症机制的主要参与者,巨噬细胞介导AS的发生、发展。传统观点认为,巨噬细胞导致斑块的不稳定,促进AS斑块进展。但近来研究^[11]显示,AS粥样斑块中以CD68为传统标志物的巨噬细胞随着局部微环境的变化可进一步分化成M1和M2亚型。活化的M1型巨噬细胞表达iNOS、精氨酸酶II(arginase II, Arg-II)、白介

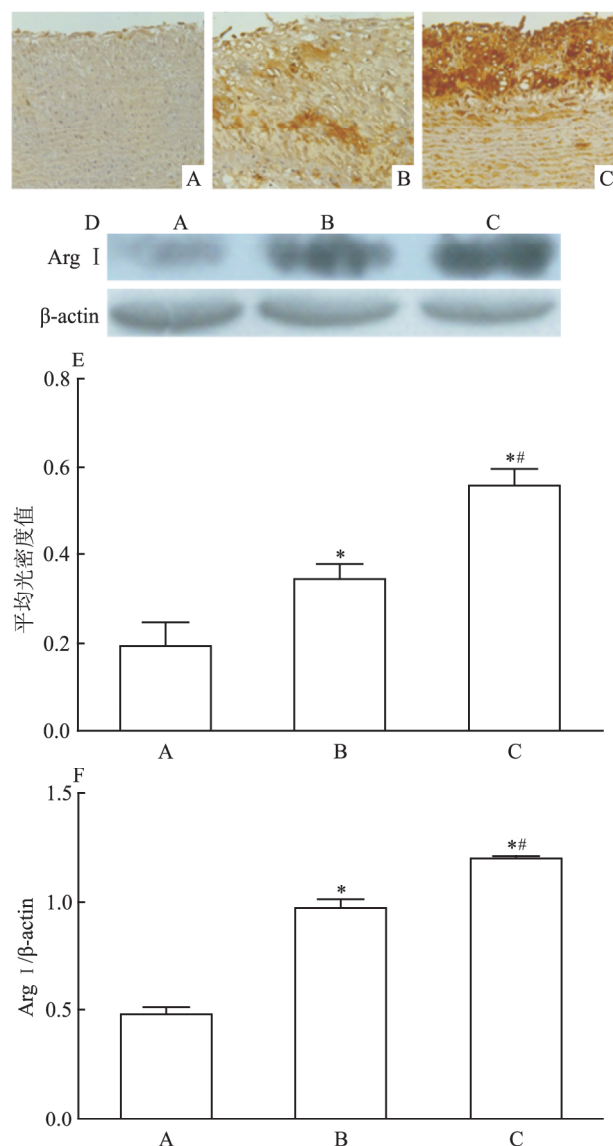


图8 HGF对AS模型兔主动脉Arg I表达的影响 ×200

A: 正常组; B: AS模型组; C: Ad-HGF组; D: Western blot法检测Arg I蛋白的表达; E: 平均光密度值; F: Arg I蛋白的相对表达量; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与AS模型组比较: # $P < 0.05$

素6(interleukin, IL-6)等靶蛋白,活化的M2型巨噬细胞表达Arg I、IL-10等靶蛋白^[11-12],M1型巨噬细胞通过表达上述促炎因子、促进免疫应答而发挥促炎作用,促进AS进展;M2型巨噬细胞通过表达上述抗炎因子、下调免疫应答而发挥抗炎作用,抑制AS进展。研究^[13]表明调控促炎的M1型巨噬细胞向抗炎的M2型巨噬细胞转化能明显抑制AS进展、促进斑块稳定。研究^[4,14]表明,HGF促进IL-10的分泌,抑制MCP-1的分泌,减弱脂多糖诱导的IL-6的分泌。动物实验^[9,15]显示,HGF抑制NF-κB因子诱导的急性肾损伤后的炎症反应,抑制Ang-II介导

的炎症反应。因此,本研究推测HGF抗AS机制可能与调控M1型巨噬细胞向M2型巨噬细胞转化有关。本实验结果显示,通过重复注射高浓度的Ad-HGF,病变血管局部CD68、iNOS表达明显减少,而Arg I表达明显增加,表明HGF能明显抑制AS粥样斑块中M1型巨噬细胞浸润,促进M2型巨噬细胞分化。但HGF调控M1型巨噬细胞向M2型巨噬细胞转化的具体分子机制有待进一步深入研究。

另外,本实验观察了HGF对AS模型兔血脂的影响,结果显示:与AS模型组比较,Ad-HGF组血脂差异不明显,说明Ad-HGF并非通过调脂而达到抗AS的作用。

综上所述,本研究结果表明HGF通过增加AS模型兔主动脉粥样斑块胶原纤维和VSMCs含量,抑制M1型巨噬细胞浸润,诱导M2型巨噬细胞分化而促进斑块稳定,抑制AS进展。

参考文献

- [1] Wang W, Wang M Q, Wang H, et al. Effects of adenovirus-mediated hepatocyte growth factor gene therapy on postinfarct heart function: comparison of single and repeated injections [J]. Hum Gene Ther 2016, 27(8): 643-51.
- [2] Hu Z P, Bao Y, Chen D N, et al. Effects of recombinant adenovirus hepatocyte growth factor gene on myocardial remodeling in spontaneously hypertensive rats [J]. J Cardiovasc Pharmacol Ther 2013, 18(5): 476-80.
- [3] Shintani Y, Aoki H, Nishihara M, et al. Hepatocyte growth factor promotes an anti-inflammatory cytokine profile in human abdominal aortic aneurysm tissue [J]. Atherosclerosis 2011, 216(2): 307-12.
- [4] McKinnon H, Gherardi E, Reidy M, et al. Hepatocyte growth factor/scatter factor and MET are involved in arterial repair and atherogenesis [J]. Am J Pathol 2006, 168(1): 340-8.
- [5] Kusunoki H, Taniyama Y, Otsu R, et al. Anti-inflammatory effects of hepatocyte growth factor on the vicious cycle of macrophages and adipocytes [J]. Hypertens Res 2014, 37(6): 500-6.
- [6] Chan A M, Rubin J S, Bottaro D P, et al. Identification of a competitive HGF antagonist encoded by an alternative transcript [J]. Science 1991, 254(5036): 1382-5.
- [7] Song M B, Yu X J, Zhu G X, et al. Transfection of HGF gene enhances endothelial progenitor cell (EPC) function and improves EPC transplant efficiency for balloon-induced arterial injury in hypercholesterolemic rats [J]. Vascu Pharmacol 2009, 51(2-3): 205-13.
- [8] Morishita R, Nakamura S, Hayashi S, et al. Therapeutic angiogenesis induced by human recombinant hepatocyte growth factor in rabbit hind limb ischemia model as cytokine supplement therapy [J]. Hypertension 1999, 33(6): 1379-84.
- [9] Giannopoulou M, Dai C, Tan X, et al. Hepatocyte growth factor ex-

- erts its anti-inflammatory action by disrupting nuclear factor- κ B signaling[J]. *Am J Pathol* 2008 ,173(1): 30–41.
- [10] D'Angelo F ,Bernasconi E ,Schäfer M ,et al. Macrophages promote epithelial repair through hepatocyte growth factor secretion [J]. *Clin Exp Immunol* 2013 ,174(1): 60–72.
- [11] De Paoli F ,Eeckhoutte J ,Copin C ,et al. The neuron-derived orphan receptor 1(NOR1) is induced upon human alternative macrophage polarization and stimulates the expression of markers of the M2 phenotype[J]. *Atherosclerosis* 2015 241(1): 18–26.
- [12] Zhang Q ,Bian G ,Chen P ,et al. Aldose reductase regulates microglia/macrophages polarization through the camp response element-binding protein after spinal cord injury in mice[J]. *Mol Neurobiol* , 2016 53(1): 662–76.
- [13] 邢亦明 胡泽平 王邦宁 等. 替米沙坦对小鼠巨噬细胞 M1/M2 亚型极化的影响[J]. *安徽医科大学学报* 2016 51(7): 989–997.
- [14] Ilangumaran S ,Villalobos-Hernandez A ,Bobbala D ,et al. The hepatocyte growth factor(HGF) –MET receptor tyrosine kinase signaling pathway: diverse roles in modulating immune cell functions [J]. *Cytokine* 2016 82: 125–39.
- [15] Hu Z P ,Fang X L ,Qian H Y ,et al. Telmisartan prevents angiotensin II-induced endothelial dysfunction in rabbit aorta *via* activating HGF/Met system and PPAR γ pathway [J]. *Fundam Clin Pharmacol* 2014 28(5): 501–11.

Effects of hepatocyte growth factor on aortic M1 , M2 macrophages and plaque composition in atherosclerotic rabbits

Zhang Liang , Hu Zeping , Sheng Bo , et al

(*Dept of Cardiology , The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University , Hefei 230022*)

Abstract Objective To investigate the influences of hepatocyte growth factor(HGF) on blood lipid , the expression of inducible nitric oxide synthase(iNOS) as a marker of M1 macrophage , arginase I (Arg I) as a marker of M2 macrophage and atherosclerosis(AS) plaque composition of AS rabbit model. **Methods** Twenty four four-month-old male New Zealand rabbits were randomly divided into normal group , AS model group and adenovirus HGF(Ad-HGF) group , respectively received normal diet , high cholesterol diet and high cholesterol diet for twelve weeks. Ad-HGF group injected with 1 ml of Ad-HGF(5×10^9 PFU/ml) intramuscularly at fourth , fifth and sixth weekend respectively , normal and AS model group injected with 1 ml of normal saline at the same time. At twelfth weekend , rabbits were sacrificed , then blood lipids , the ratio of aortic intima-to-media thickness(IMT) , the contents of aortic collagen fibers , vessel smooth muscle cells(VSMCs) and macrophages , the expressions of aortic HGF , mesenchymal-epithelial transition factor(c-Met) , i-NOS and Arg I were detected respectively. **Results** Blood lipids , the expressions of aortic iNOS , IMT , aortic collagen fibers and macrophage contents of AS model group were significantly higher than those of normal group($P < 0.05$) , while the expressions of aortic HGF , c-Met and Arg I , the contents of VSMCs were significantly lower than those of normal group($P < 0.05$) . By contrast , blood lipids of Ad-HGF group had no significantly difference with those of AS model group , the expressions of aortic iNOS , IMT and macrophage contents were significantly lower than those of AS model group($P < 0.05$) , while the expression of aortic HGF , c-Met and Arg I , the contents of collagen fibers and VSMCs were significantly higher than those of AS model group($P < 0.05$) . **Conclusion** HGF might promote the stability of plaque and inhibit the progression of AS by inhibiting the infiltration of M1 macrophage , inducing the differentiation of M2 macrophage and increasing the contents of plaque collagen fibers and VSMCs.

Key words atherosclerosis; hepatocyte growth factor; mesenchymal-epithelial transition factor; M1 macrophage; M2 macrophage