

氨氯地平 and 缬沙坦对人冠状动脉内皮细胞 NADPH 氧化酶亚基 gp91^{phox} 和 p22^{phox} 表达的影响

卢挪挪¹ 韩卫星¹ 刘超² 王成³ 吴继军¹

摘要 目的 研究不同浓度的氨氯地平 and 缬沙坦对人冠状动脉内皮细胞(HCAEC)内尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶亚基 gp91^{phox} 和 p22^{phox} 的影响。方法 对照组: 体外贴壁培养 HCAEC, 不进行其他干预; 实验组: 相同培养条件下分别加入不同浓度氨氯地平 (1×10^{-5} 、 1×10^{-6} 、 1×10^{-7} 、 1×10^{-8} 、 1×10^{-9} mol/L) 和不同浓度缬沙坦 (1×10^{-4} 、 1×10^{-5} 、 1×10^{-6} 、 1×10^{-7} 、 1×10^{-8} mol/L) 体外培养 24 h。提取各组细胞的膜蛋白, 应用 Western blot 法测两组细胞中 p22^{phox} 和 gp91^{phox} 的表达水平, 对结果进行统计分析并比较。结果 不同浓度氨氯地平对 HCAEC 内 NADPH 氧化酶亚基 p22^{phox} 表达均有促进作用 ($P < 0.05$), 高浓度氨氯地平对 gp91^{phox} 有抑制作用 ($P < 0.05$), 低浓度则会促进 gp91^{phox} 的表达 ($P < 0.05$)。不同浓度缬沙坦对 p22^{phox} 与 gp91^{phox} 的表达均有显著的抑制作用 ($P < 0.05$), 且有随着药物浓度增高抑制作用增强的趋势 ($P < 0.05$)。结论 缬沙坦有抑制氧化应激的效力, 并随浓度增高而增强, 呈现浓度依赖的趋势; 氨氯地平仅在高浓度时抑制部分 NADPH 氧化酶亚基(gp91^{phox}) 的表达, 低浓度时反而可能增加氧化应激水平。

关键词 氨氯地平; 缬沙坦; 人冠状动脉内皮细胞; 氧化应激; p22^{phox}; gp91^{phox}

中图分类号 R 541.4; R 972+.4

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)02-0176-05

氧化应激是指机体在遭受各种有害刺激时, 体内高活性分子如活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS) 和活性氮自由基(reactive nitrogen species, RNS) 产生过多, 氧化系统和抗氧化系统失衡, 从而导致组织损伤。内尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶是内皮细胞中 ROS 主要来源^[1]。NADPH 氧化酶由 gp91^{phox}、p22^{phox}、p67^{phox}、p47^{phox}、p40^{phox} 和 Rac 等 6 种亚基构成。其中

gp91^{phox} 和 p22^{phox} 位于细胞质膜上, 当与胞浆中的另外几种亚基结合时可形成有活性的 NADPH 氧化酶复合体^[2]。gp91^{phox} 与 p22^{phox} 是 NADPH 氧化酶的主要功能亚基^[3]。内皮细胞静息状态时, 通过 NADPH 氧化酶产生适量活性氧满足正常的代谢需求, 但在高血压、高脂血症和冠心病等心血管高风险因素存在情况下, NADPH 氧化酶活性明显提高^[4-5]。氨氯地平 and 缬沙坦是治疗心血管疾病的常用药, 据报道具有抗氧化应激作用。但是此两种药物降低氧化应激水平的具体途径与机制尚不明确。该研究旨在探讨氨氯地平 and 缬沙坦对人冠状动脉内皮细胞(human coronary artery endothelial cell, HCAEC)内 NADPH 氧化酶亚基 gp91^{phox} 和 p22^{phox} 的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 HCAEC 购自上海拜力生物科技有限公司。

1.1.2 主要试剂 胎牛血清、DMEM 培养基、胰蛋白酶购自美国 Hyclone 公司; 小鼠抗人单克隆抗体 p22^{phox} (ab80896)、兔抗人多克隆抗体 gp91^{phox} (ab31092) 购自英国 Abcam 公司; 小鼠抗人单克隆抗体 β -actin、辣根酶标记山羊抗小鼠 IgG、辣根酶标记山羊抗兔 IgG 购自北京中杉金桥生物技术有限公司; Bradford 蛋白浓度测定试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; 膜蛋白提取试剂盒购自南京凯基生物公司; 氨氯地平 and 缬沙坦购自大连美仑生物技术有限公司; ECL 发光试剂盒购自美国 Pierce 公司; 蛋白 Marker 购自北京全式金公司。

1.2 方法

1.2.1 HCAEC 复苏、培养和传代 将水浴箱预热至 37 °C, 做好细胞复苏前准备。从液氮中取出冻存的 HCAEC, 快速放入水浴箱中, 不停摇晃, 使其迅速溶解。在超净台中, 把溶解的细胞移入 10 ml 离心管, 加 DMEM 完全培养液 4 ml (90% DMEM + 10% FBS + 青霉素 100 U/ml + 链霉素 100 U/ml), 1 000 r/min 离心 5 min, 吸去上清液, 再次加入完全培养

2015-11-17 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81070210)

作者单位: ¹安徽医科大学第一附属医院心血管内科, 合肥 230032

安徽医科大学²基础医学院组织与胚胎学教研室、³第一临床学院诊断学教研室, 合肥 230032

作者简介: 卢挪挪, 女, 硕士研究生;

韩卫星, 女, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: ayhwx57@163.com

液 4 ml 轻轻吹打、重悬细胞,待细胞悬液分布均匀后吸取适当细胞悬液转入细胞培养皿,置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。待细胞长满培养皿底面约 90%,弃上清液,无菌 PBS 洗 2 次,加胰酶 2 ml,放入培养箱消化约 30 s 后取出,吸去胰酶,加入完全培养液 4 ml 轻轻吹打,直到贴壁细胞完全脱落,吸取细胞悬液转入 10 ml 离心管,步骤同上。以一定密度传代。

1.2.2 HCAEC 培养及药物处理 将 HCAEC 以 1×10^5 个/ml 的密度接种到 12 个直径为 100 mm 细胞培养皿,待细胞铺满整个培养皿面积的 80%,吸去培养液,随机将细胞分为两组。氨氯地平组:根据所含药物浓度分为对照组、 1×10^{-5} mol/L、 1×10^{-6} mol/L、 1×10^{-7} mol/L、 1×10^{-8} mol/L、 1×10^{-9} mol/L 6 组;缬沙坦组:根据所含药物浓度分为对照组、 1×10^{-4} mol/L、 1×10^{-5} mol/L、 1×10^{-6} mol/L、 1×10^{-7} mol/L、 1×10^{-8} mol/L 6 组。分别在不同培养皿中加入含相应药物浓度的 1% FBS 完全培养基,对照组加入与实验组相同体积不含药物的 1% FBS 完全培养基,培养 24 h 后,收取细胞备用。

1.2.3 Western blot 法测定细胞膜中 p22^{phox} 和 gp91^{phox} 水平 根据膜蛋白提取试剂盒使用说明提取膜蛋白,以 Bradford 法测定蛋白浓度,加入上样缓冲液,100 °C 水浴 5 min,置于冰上待用。SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质,5% 浓缩胶以 120 V 电压电泳,15% 分离胶以 150 V 电压电泳,待所需目的条带相应位置分开。后取出凝胶,以 300 mA 恒流低温转膜 1.5 h,取出 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h,后加入相应抗体,一抗于 4 °C 孵育过夜, TBST 洗膜 5 次,每次 5 min,二抗室温孵育 2 h,再以 TBST 洗膜 5 次,每次 5 min,压片曝光。

1.3 统计学处理 应用统计软件 SPSS 13.0 进行分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示;多组间样本均数的比较采用单因素方差分析,组间两两比较用 SNK- q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。Western blot 结果目的条带应用软件 photoshop 进行灰度计算。

2 结果

2.1 氨氯地平对 HCAEC 膜蛋白 p22^{phox} 表达的影响 各浓度组与对照组比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),随着氨氯地平浓度的降低, p22^{phox} 表达显示升高的趋势 ($P < 0.05$)。见图 1。

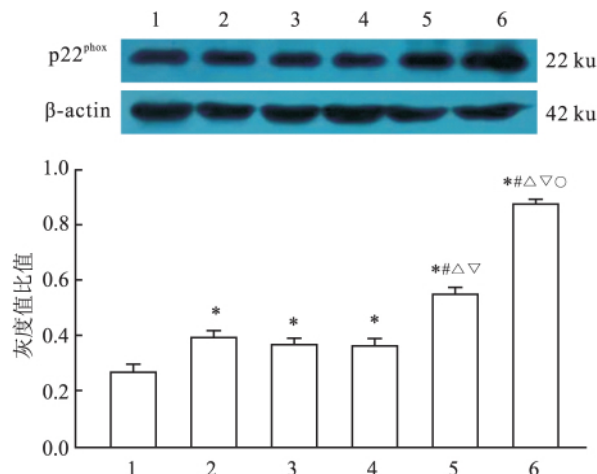


图 1 不同氨氯地平浓度对 HCAEC 膜蛋白 P22^{phox} 表达的影响

1: 对照组; 2: 氨氯地平 (1×10^{-5} mol/L) 组; 3: 氨氯地平 (1×10^{-6} mol/L) 组; 4: 氨氯地平 (1×10^{-7} mol/L) 组; 5: 氨氯地平 (1×10^{-8} mol/L) 组; 6: 氨氯地平 (1×10^{-9} mol/L) 组; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与氨氯地平 (1×10^{-5} mol/L) 组比较: # $P < 0.05$; 与氨氯地平 (1×10^{-6} mol/L) 组比较: Δ $P < 0.05$; 与氨氯地平 (1×10^{-7} mol/L) 组比较: ∇ $P < 0.05$; 与氨氯地平 (1×10^{-8} mol/L) 组比较: \circ $P < 0.05$

2.2 氨氯地平对 HCAEC 膜蛋白 gp91^{phox} 表达的影响 在 $1 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-8}$ mol/L 范围内 gp91^{phox} 的表达量呈现升高趋势,与对照组以及两浓度组之间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 在 ($1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-5}$ mol/L) 浓度范围内 gp91^{phox} 表达量呈现下降趋势 ($P < 0.05$),但只有在氨氯地平浓度达到 1×10^{-5} mol/L 时与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 2。

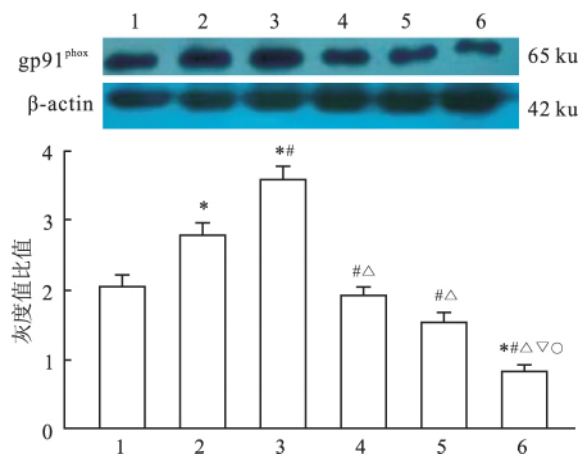


图 2 不同氨氯地平浓度对 HCAEC 膜蛋白 gp91^{phox} 表达的影响

1: 对照组; 2: 氨氯地平 (1×10^{-9} mol/L) 组; 3: 氨氯地平 (1×10^{-8} mol/L) 组; 4: 氨氯地平 (1×10^{-7} mol/L) 组; 5: 氨氯地平 (1×10^{-6} mol/L) 组; 6: 氨氯地平 (1×10^{-5} mol/L) 组; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与氨氯地平 (1×10^{-9} mol/L) 组比较: # $P < 0.05$; 与氨氯地平 (1×10^{-8} mol/L) 组比较: Δ $P < 0.05$; 与氨氯地平 (1×10^{-7} mol/L) 组比较: ∇ $P < 0.05$; 与氨氯地平 (1×10^{-6} mol/L) 组比较: \circ $P < 0.05$

2.3 不同缬沙坦浓度对 HCAEC 膜蛋白 p22^{phox} 表达的影响 不同缬沙坦浓度 p22^{phox} 的表达量与对照组比较均下降, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 各浓度组之间变化不明显。见图 3。

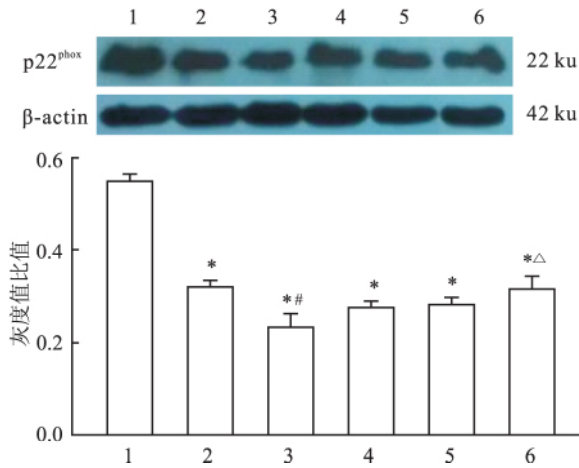


图3 不同缬沙坦浓度对 HCAEC 膜蛋白 p22^{phox} 表达的影响

1: 对照组; 2: 缬沙坦 (1×10^{-4} mol/L) 组; 3: 缬沙坦 (1×10^{-5} mol/L) 组; 4: 缬沙坦 (1×10^{-6} mol/L) 组; 5: 缬沙坦 (1×10^{-7} mol/L) 组; 6: 缬沙坦 (1×10^{-8} mol/L) 组; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与缬沙坦 (1×10^{-4} mol/L) 组比较: # $P < 0.05$; 与缬沙坦 (1×10^{-5} mol/L) 组比较: △ $P < 0.05$

2.4 不同缬沙坦浓度对 HCAEC 膜蛋白 gp91^{phox} 表达的影响 随着缬沙坦浓度的增加, gp91^{phox} 表达量呈现下降趋势, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 4。

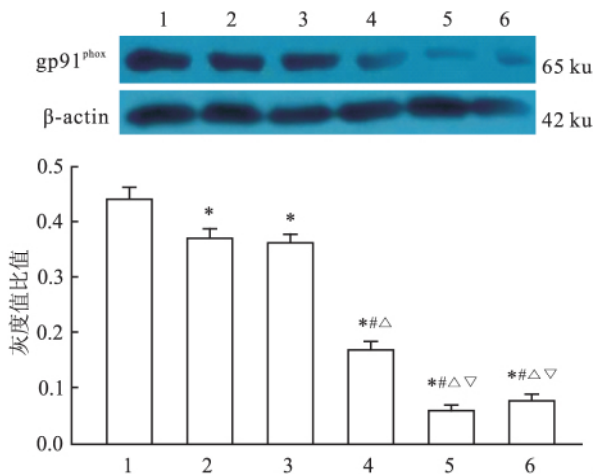


图4 不同缬沙坦浓度对 HCAEC 膜蛋白 gp91^{phox} 表达的影响

1: 对照组; 2: 缬沙坦 (1×10^{-8} mol/L) 组; 3: 缬沙坦 (1×10^{-7} mol/L) 组; 4: 缬沙坦 (1×10^{-6} mol/L) 组; 5: 缬沙坦 (1×10^{-5} mol/L) 组; 6: 缬沙坦 (1×10^{-4} mol/L) 组; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与缬沙坦 (1×10^{-8} mol/L) 组比较: # $P < 0.05$; 与缬沙坦 (1×10^{-7} mol/L) 组比较: △ $P < 0.05$; 与缬沙坦 (1×10^{-6} mol/L) 组比较: ▽ $P < 0.05$

3 讨论

血管内皮细胞是血管壁的重要组成部分, 完成血液和组织液的物质交换, 合成和分泌多种生物活性物质, 保证血管正常的收缩和舒张, 起到维持血管张力, 调节血压以及凝血与抗凝平衡等功能, 进而保持血液的正常流动和血管的长期通畅。动脉内皮细胞功能障碍可能是导致多种心血管疾病发病的始动或促进因素, 在动脉粥样硬化、高血压、心力衰竭等心血管疾病中都涉及到内皮细胞的功能障碍和凋亡。冠状动脉斑块的形成以及破裂与 ROS 的氧化性损伤有关, 其作用于血管内皮细胞和血管平滑肌细胞, 引起多种细胞因子的产生及活化, 导致内皮细胞发生凋亡以及血管平滑肌细胞产生迁移, 最终引起冠状动脉内斑块的形成以及破裂^[6]。氧化应激反应可能是心血管疾病中内皮细胞损伤主要机制, 而 NADPH 氧化酶是内皮细胞产生 ROS 的主要来源。本研究选取目的蛋白 gp91^{phox} 和 p22^{phox} 是 NADPH 氧化酶的两个重要亚基, 对反映内皮细胞内氧化应激水平有一定代表性。氨氯地平 and 缬沙坦是临床上常用的降血压药物, 两种药物的临床降压疗效已得到肯定。国内外很多临床和基础研究都提示氨氯地平 and 缬沙坦有抗动脉粥样硬化的作用, 氨氯地平是一类长效钙通道阻滞剂, 是由左、右旋对映异构体等比组成的外消旋体化合物, CAMELOT 和 PREVENT 研究均显示氨氯地平可以延缓冠状动脉粥样硬化的进展^[7-8]。对高血脂兔的研究^[9] 显示氨氯地平能够降低心脏和血液中氧化应激和改善血脂水平。对卒中型自发性高血压大鼠的研究^[10] 表明氨氯地平通过恢复 Cu/ZnSOD 活性起到抗动脉硬化作用。对自发性大鼠的肾皮质的研究^[11] 表明氨氯地平对 NADPH 氧化酶亚基的表达无影响。缬沙坦是特异性的血管紧张素 II (AT1) 受体拮抗剂, ARB 类药物可以降低氧化应激水平^[12]。临床中运用 ARB 类与他汀类药物联合用药治疗心血管系统疾病, 可以更好的降低组织的氧化应激水平, 比两者单独使用更加有效^[13]。研究^[14] 显示厄贝沙坦和氨氯地平的临床剂量联合治疗能显著防止冠状动脉粥样硬化病变的形成和 AMI 的发病率, 改善了小鼠的预后。研究^[15] 表明缬沙坦能有效抵消高血压相关的血脂异常和氧化应激, 并可逆转所有与高血压有关的脂质变化和氧化还原变化, 尤其是在高血压伴有高甘油三酯血症和严重氧化应激状态的患者。因此, 缬沙坦作为临床常用的 ARB 类药物有降低氧化应激

的作用。

本研究是系列研究课题中的初步试验,旨在了解不同浓度的缬沙坦和氨氯地平对氧化应激的影响。结果表明缬沙坦可以显著降低 NADPH 氧化酶 gp91^{phox} 和 p22^{phox} 亚基的表达,在一定浓度范围内随着缬沙坦浓度的增高抗氧化应激能力增强,呈浓度依赖性,提示缬沙坦有抗氧化应激的作用。本试验结果还显示氨氯地平仅在高浓度时对 gp91^{phox} 有抑制作用,而对 p22^{phox} 亚基无抑制作用,低浓度时对 gp91^{phox} 和 p22^{phox} 亚基均有促进增加的作用,表明氨氯地平抗氧化应激作用不强,且与浓度有关,适当的浓度才能对部分 NADPH 亚基(gp91^{phox})有抑制作用。低浓度的氨氯地平可能会促进氧化应激的发生。由此试验结果也可以解释既往报道的氨氯地平有抗氧化应激作用和无抗氧化应激作用的矛盾结果,可能与不同研究的设计、目的指标和药物浓度有关。

本研究局限于实验室基础研究,细胞的体外培养不能完全反应正常机体的情况,而且,缺少对 NADPH 氧化酶其他亚基的研究。因此,尚需进行进一步研究验证,并探讨缬沙坦抗氧化应激的可能机制。

参考文献

- [1] Deng B, Xie S, Wang J, et al. Inhibition of protein kinase C β (2) prevents tumor necrosis factor- α -induced apoptosis and oxidative stress in endothelial cells: the role of NADPH oxidase subunits [J]. *J Vasc Res* 2012 49(2): 144–59.
- [2] Gardiner G J, Deffit S N, McLetchie S, et al. A role for NADPH oxidase in antigen presentation [J]. *Front Immunol* 2013 4: 295.
- [3] Selemidis S, Sobey C G, Wingler K, et al. NADPH oxidases in the vasculature: molecular features, roles in disease and pharmacological inhibition [J]. *Pharmacol Ther* 2008 120(3): 254–91.
- [4] Souza H P, Laurindo F R, Ziegelstein R C, et al. Vascular NAD(P)H oxidase is distinct from the phagocytic enzyme and modulates vascular reactivity control [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001 280(2): H658–67.

- [5] Jones S A, O'Donnell V B, Wood J D, et al. Expression of phagocyte NADPH oxidase components in human endothelial cells [J]. *Am J Physiol* 1996 271(4 Pt 2): H1626–34.
- [6] 王成, 韩卫星, 吴继军, 等. 缬沙坦对冠脉内皮细胞氧化应激过程中 gp91^{phox} 的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2014, 49(6): 739–42.
- [7] Zhang X P, Loke K E, Mital S, et al. Paradoxical release of nitric oxide by an L-type calcium channel antagonist, the R+ enantiomer of amlodipine [J]. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002 39(2): 208–14.
- [8] Nissen S E, Tuzcu E M, Libby P, et al. Effect of antihypertensive agents on cardiovascular events in patients with coronary disease and normal blood pressure: the CAMELOT study: a randomized controlled trial [J]. *JAMA* 2004 292(18): 2217–25.
- [9] Salehi I, Mohammadi M, Mirzaei F, et al. Amlodipine attenuates oxidative stress in the heart and blood of high-cholesterol diet rabbits [J]. *Cardiovasc J Afr* 2012 23(1): 18–22.
- [10] Umemoto S, Tanaka M, Kawahara S, et al. Calcium antagonist reduces oxidative stress by upregulating Cu/Zn superoxide dismutase in stroke-prone spontaneously hypertensive rats [J]. *Hypertens Res* 2004 27(11): 877–85.
- [11] Fan Y Y, Kohno M, Nakano D, et al. Cilnidipine suppresses podocyte injury and proteinuria in metabolic syndrome rats: possible involvement of N-type calcium channel in podocyte [J]. *J Hypertens* 2010 28(5): 1034–43.
- [12] Aoyama T, Minatoguchi S. The effect of ARB on prevention of atherosclerosis [J]. *Nihon Rinsho* 2011 69(1): 92–9.
- [13] Kim-Mitsuyama S. Pharmacological characteristics of ARB and potential strategy to develop novel ARB [J]. *Nihon Rinsho* 2009 67(4): 812–8.
- [14] Uchida T, Furuno Y, Tanimoto A, et al. Development of an experimentally useful model of acute myocardial infarction: 2/3 nephrectomized triple nitric oxide synthases-deficient mouse [J]. *J Mol Cell Cardiol* 2014 77: 29–41.
- [15] El Hassar C, Merzouk H, Merzouk S A, et al. Long-term use of angiotensin II receptor antagonists and calcium-channel antagonists in Algerian hypertensive patients: effects on metabolic and oxidative parameters [J]. *Free Radic Biol Med* 2015 79: 147–53.

Effect of amlodipine and valsartan on expression of the NADPH oxidase subunits gp91^{phox} and p22^{phox} in human coronary artery endothelial cell

Lu Nuonuo¹, Han Weixing¹, Liu Chao², et al

(¹Dept of Cardiovascular Medicine, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230032;

²Dept of Histology and Embryology, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To study the effect of amlodipine and valsartan on expression of Nicotinamide adenine dinu-

靶向 PDGF 受体 - α 的 RNA 干扰对 RPE 细胞增殖和凋亡的影响

秦贤杰, 彭燕一, 秦程

摘要 目的 探讨针对血小板源性生长因子受体- α (PDGFR- α) 的 RNA 干扰对体外培养的人视网膜色素上皮 (hRPE) 细胞增殖和凋亡的影响, 为临床治疗增殖性玻璃体视网膜病变 (PVR) 提供实验依据。方法 利用脂质体将合成的 shRNA 转染体外培养的 hRPE 细胞, MTT 法检测 hRPE 细胞增殖活性; RT-PCR 法检测细胞中 PDGFR- α mRNA 的表达; Western blot 法检测 PDGFR- α 蛋白表达水平; Hoechst 33258 荧光染料核染分析细胞凋亡; 流式细胞仪检测细胞周期及凋亡率。结果 PDGFR- α shRNA 作用 hRPE 细胞 24 ~ 72 h 后, 细胞增殖明显受到抑制, 呈时间剂量效应 ($P < 0.05$); PDGFR- α shRNA 作用 hRPE 细胞 48 h 后, 实验组 PDGFR- α 基因 mRNA 和蛋白的表达水平较空白对照组及阴性对照组明显降低 ($P < 0.05$); 实验组细胞的凋亡率分别为 (37.10 \pm 0.55) %、(50.8 \pm 1.41) %, 与空白对照组 (11.7 \pm 1.11) % 及阴性对照组 (13.5 \pm 1.05) % 相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 实验组 G₁ 期细胞百分比分别为 (64.76 \pm 1.16) %、(75.64 \pm 0.93) %, 与空白对照组 (54.51 \pm 1.40) % 及阴性对照组 (56.04 \pm 2.19) % 相比, 差异有统计学

意义 ($P < 0.05$)。结论 PDGFR- α shRNA 能抑制 hRPE 细胞的增殖并诱导其凋亡。

关键词 血小板源性生长因子受体- α ; RNA 干扰; 视网膜色素上皮细胞; 增殖; 凋亡

中图分类号 R 774.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)02-0180-05

增殖性玻璃体视网膜病变 (proliferative vitreo-retinopathy, PVR) 是指增生的纤维膜对视网膜神经上皮层前后面的收缩、牵拉所导致视网膜脱离、失明的一种疾病, 视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 细胞在纤维膜的形成、收缩过程中起着重要的作用^[1]。血小板源性生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF) 是机体内一种重要的促使细胞生长、分化的生长因子。研究^[2]表明, PDGF 对诱发 RPE 细胞的增殖、移行, 最终导致 PVR 的发生和发展起着重要的作用。玻璃体内许多非 PDGF 家族的因子均可激活 PDGF 受体 (PDGFR), 采用中和 PDGF 的方法来治疗 PVR 所取得的效果并不理想。因此, 阻断 PDGFR 通路是预防 PVR 发生的基本路径; PDGFR 由亚单位 α 和 β 构成, 而 PDGFR- α 与 PVR 的产生有着更强的相关性^[3]。该实验通过将 PDGFR- α shRNA 转染至 hRPE 细胞内, 研究 PDGFR- α shRNA 对 hRPE 细胞增殖、凋亡的影响,

2015-11-06 接收

基金项目: 广西自然科学基金项目 (编号: KY2012021); 广西科学实验中心开放课题项目 (编号: KFJJ2011-11)

作者单位: 桂林医学院附属医院眼科, 桂林 541000

作者简介: 秦贤杰, 男, 硕士研究生;

彭燕一, 女, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: yypeng-7@hotmail.com

cleotide phosphate (NADPH) oxidase subunits gp91^{phox} and p22^{phox} in human coronary artery endothelial cells (HCAEC). **Methods** HCAEC were preincubated for 24 h and the control group remained untreated and the test groups were treated with different concentrations of amlodipine (1 \times 10⁻⁵, 1 \times 10⁻⁶, 1 \times 10⁻⁷, 1 \times 10⁻⁸, 1 \times 10⁻⁹ mol/L) and different concentrations of valsartan (1 \times 10⁻⁴, 1 \times 10⁻⁵, 1 \times 10⁻⁶, 1 \times 10⁻⁷, 1 \times 10⁻⁸ mol/L). The NADPH oxidase subunits protein expression were assessed by Western blot analysis. **Results** Expressions of gp91^{phox} and p22^{phox} were significant in the experimental group and the control group. Amlodipine induced the expression of NADPH oxidase subunit p22^{phox} ($P < 0.05$). High concentrations of amlodipine significantly reduced expression of gp91^{phox}, while low concentration promoted the expression of gp91^{phox} ($P < 0.05$). p22^{phox} and gp91^{phox} were significantly inhibited by valsartan ($P < 0.05$) and the higher the concentration of valsartan, the greater the inhibition ($P < 0.05$). **Conclusion** Valsartan can inhibit oxidative stress. The higher the concentration, the greater the inhibition. Amlodipine suppresses part of NADPH oxidase subunit (gp91^{phox}) only at high concentrations, but it may increase oxidative stress in low concentrations.

Key words amlodipine; valsartan; human coronary artery endothelial cell; xidative stress; p22^{phox}; gp91^{phox}