

RhoA 是细胞内重要的信号分子,其表达受多种因子调节。研究报道,肿瘤细胞缺失哺乳动物雷帕霉素靶(mammalian target of rapamycin, mTOR)或 AKT/mTOR 被抑制,其表达 RhoA 减少^[6-7];激活 ERK 信号通路促使细胞表达 RhoA^[9];而迷迭香酸可以通过抑制 COX-2/PGE2/ERK 发挥抑制肿瘤细胞转移的作用^[10]。迷迭香酸如何减少宫颈癌细胞表达 RhoA 进而抑制其转移能力的具体机制还有待进一步的研究。

REFERENCES

- [1] LIU X, CHEN D, LIU G. Overexpression of RhoA promotes the proliferation and migration of cervical cancer cells [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2014, 78(11): 1895-901.
- [2] 牟宜双, 邓文龙, 周黎明. 迷迭香酸抗肿瘤作用研究进展[J]. *中药药理与临床*, 2015, 31(1): 266-269.
- [3] XU Y, XU G, LIU L, et al. Anti-invasion effect of rosmarinic acid via the extracellular signal-regulated kinase and oxidation-reduction pathway in Ls174-T cells [J]. *J Cell Biochem*, 2010, 111(2): 370-379.
- [4] 王雪, 王维莉, 任雨, 等. RhoA 介导的细胞骨架在肿瘤发生

- 发展中的作用[J]. *中国细胞生物学学报*, 2014, 36(2): 1-7.
- [5] YANG X, ZHENG F, ZHANG S, et al. Loss of RhoA expression prevents proliferation and metastasis of SPCA1 lung cancer cells *in vitro* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2015(69): 361-366.
- [6] MENG X G, YUE S W. Dexamethasone disrupts cytoskeleton organization and migration of T47D Human breast cancer cells by modulating the AKT/mTOR/RhoA pathway [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(23): 10245-10250.
- [7] CHEN X G, CHENG H Y, PAN T F, et al. mTOR regulate EMT through RhoA and Rac1 pathway in prostate cancer [J]. *Mol Carcinog*, 2015, 54(10): 1086-1095.
- [8] WANG S C, LIN X L, LI J, et al. MicroRNA-122 triggers mesenchymal-epithelial transition and suppresses hepatocellular carcinoma cell motility and invasion by targeting RhoA [J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e101330. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0101330>.
- [9] XIAO G, WANG X, WANG J, et al. CXCL16/CXCR6 chemokine signaling mediates breast cancer progression by pERK1/2-dependent mechanisms [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(16): 14165-14178.
- [10] TAO L, WANG S, ZHAO Y, et al. Phenolcarboxylic acids from medicinal herbs exert anticancer effects through disruption of COX-2 activity [J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(11): 1473-1482.

收稿日期: 2015-10-12

尾加压素 II 诱导乳鼠心肌成纤维细胞增殖及胶原合成的信号转导机制研究

刘文媛^a, 韩清华^{a*}, 刘青华^b, 王瑾^b, 孙桂枝^a, 李建中^a (山西医科大学, a.第一医院肾内科; b.生理学教研室, 太原 030001)

摘要: 目的 探讨尾加压素 II (urotensin II, U II) 对乳鼠心肌成纤维细胞(cardiac myofibroblasts, CFs)增殖及胶原合成的影响。方法 体外培养 CFs 作为实验模型, 不同浓度 U II 处理细胞后, 通过 ELISA 法检测各组培养细胞上清中 TGF-β1 的含量变化, 分别利用 CKK-8 细胞增殖法及 Western blot 分析 U II 受体拮抗剂(SB-611812)及 PKA 特异性阻断剂(KT5720)对 U II 诱导的 CFs 增殖及胶原蛋白 col-I、col-III 表达的影响。结果 U II 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} mol·L⁻¹ 处理细胞后, CFs 培养上清中 TGF-β1 的含量及各组 CFs 的吸光度值与对照组相比明显增加($P < 0.05$), 而在 10^{-7} mol·L⁻¹ U II 处理细胞后, 上述参数与对照组比较无显著差异。 1 mol·L⁻¹ SB-611812+ 10^{-8} mol·L⁻¹ U II 组和 1 mol·L⁻¹ KT5720+ 10^{-8} mol·L⁻¹ U II 组的 TGF-β1 的含量及 CFs 的吸光度值均显著高于对照组($P < 0.05$), 但显著低于 10^{-8} mol·L⁻¹ U II 组($P < 0.05$), 且两组 col-I、col-III 型胶原蛋白表达均低于 10^{-8} mol·L⁻¹ U II 组。结论 U II 上调 TGF-β1 水平促进了 CFs 的增殖, 诱导细胞表达胶原蛋白 col-I、col-III, 这一过程可能涉及 cAMP-PKA 信号转导通路。

关键词: 尾加压素 II; 转化生长因子 1; 心肌成纤维细胞; 增殖

中图分类号: R994.11

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2016)07-0862-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.07.007

基金项目: 山西省自然科学基金(2012011036-1); 山西省回国留学人员科研资助项目(2012084)

作者简介: 刘文媛, 女, 博士 Tel: 15034066491 E-mail: liuwenyuan3057@sina.com *通信作者: 韩清华, 女, 博士, 教授, 博导 Tel: (0351)4639693 E-mail: hanqh2015@163.com

Intracellular Signaling Mechanism of the Proliferation and Collagen Synthesis of Cardiac Myofibroblasts Induced by Urotensin II

LIU Wenyuan^a, HAN Qinghua^{a*}, LIU Qinghua^b, WANG Jin^b, SUN Guizhi^a, LI Jianzhong^a(*Shanxi Medical University, a.Department of Nephrology, First Affiliated Hospital; b.Department of Physiology, Taiyuan 030001, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effects of urotensin II (U II) on the proliferation and collagen synthesis of cardiac myofibroblasts (CFs) of new-born SD rats. **METHODS** CFs isolated from new-born SD rats were cultured as cell model *in vitro*. The level of TGF- β 1 in CFs supernatant was detected by ELISA assay, and the proliferation and collagen synthesis of CFs treated with U II, SB-611812 and KT5720 were respectively observed by CKK-8 assay and Western blot. **RESULTS** After CFs treated by 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} mol·L⁻¹ U II, the level of TGF- β 1 in CFs supernatant and the OD values were significantly higher than that in control group ($P < 0.05$), but the indices in the 10^{-7} mol·L⁻¹ U II group were not significantly different from those of control group. The level of TGF- β 1 and the OD values in 1 mol·L⁻¹ SB-611812+ 10^{-8} mol·L⁻¹ U II group or 1 mol·L⁻¹ KT5720 + 10^{-8} mol·L⁻¹ U II group increased significantly compared with control group ($P < 0.05$), but decreased compared with the 10^{-8} mol·L⁻¹ U II group ($P < 0.05$). The expression of col-I and col-III in 1 mol·L⁻¹ SB-611812 + 10^{-8} mol·L⁻¹ U II group and 1 mol·L⁻¹ KT5720+ 10^{-8} mol·L⁻¹ U II group decreased significantly compared with the 10^{-8} mol·L⁻¹ U II group. **CONCLUSION** U II can stimulate the proliferation of CFs by up-regulating the level of TGF- β 1 and induce expression of col-I and col-III, the process maybe involve the cAMP-PKA pathway.

KEY WORDS: urotensin II; transforming growth factor beta 1; cardiac myofibroblasts; proliferation

尾加压素 II (urotensin II, U II) 是已被研究发现的一种生长抑素样血管活性肽, 具环形结构, 属于神经肽类, 源自于硬骨鱼尾部下垂体^[1], 是一种高效的血管收缩剂, 其效应是内皮素(ET-1)的 10 倍^[2], 与血管紧张素 II 具有协同效应^[3]。U II 广泛分布于中枢神经系统和心血管系统中, 对于心血管系统的调节有着重大作用。目前已有研究结果显示 U II 可能通过增加胶原蛋白的合成来参与心肌纤维化^[4], UT 的拮抗剂 SB-611812 可明显减轻心肌重塑^[5], U II 可通过上调转化生长因子 β 1(transforming growth factor beta, TGF- β 1)来诱导心肌成纤维细胞(cardiac myofibroblasts, CFs)胶原蛋白的合成^[6]。本研究通过建立原代乳鼠 CFs 培养模型, 进一步探讨 U II 诱导 CFs 增殖及胶原蛋白合成的作用及与 cAMP-PKA 信号转导通路的关系。

1 仪器与材料

1.1 动物与细胞培养

1~3 d 龄 Wistar 大鼠, ♂, 清洁级, 使用许可证号为 SYXK(晋)2006-0015, 由山西医科大学实验动物中心供应。无菌取出大鼠心室, 剪碎后用预冷 PBS 冲洗, 用 $0.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 胰酶消化细胞, 将所有消化好的细胞悬液移入 2 个 50 mL 离心管中, $800 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 6 min, 弃去上清, 加入 5% DMEM 反复洗 2 遍, 加入 5% DMEM 50 mL 过 200 目细胞筛, $800 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 7 min 后弃上清, 采用差速贴壁离心法分离纯化 CFs, 将细胞悬液置于 37°C , 5% CO_2 孵箱内培养 2 h, 贴壁细胞为成纤维细胞。

经倒置显微镜和透射电镜确认, SABC 法免疫组化染色, 纤维黏连蛋白染色阳性、血管平滑肌肌动蛋白 VIII 因子和结蛋白染色阴性证实细胞为 CFs。 37°C 5% CO_2 孵箱培养, 实验采用第 2~4 代的细胞。

1.2 药品及试剂

U II (英国 TOCRIS, 规格: 1 mg); U II 受体拮抗剂(英国 TOCRIS, 批号: SB-611812)及 PKA 特异性阻断剂(英国 TOCRIS, 批号: KT5720); DMEM (美国 Gibco); 胎牛血清(杭州四季青公司); TGF- β 1 ELISA 检测试剂盒(上海开放科技有限公司, 批号: 20131221); 细胞增殖(CKK-8)试剂盒(南京凯基生物科技发展有限公司, 批号: 20140115); Anti-Collagen I 及 Anti-Collagen III(英国 ABCAM 公司)。

1.3 仪器

SpectraMax M5 酶标仪(美国 Molecular Devices)。Tharmomixer Comfort 恒温混合仪(德国 Eppendorf 公司); NW10VFE 超纯水系统(中国力新仪器有限公司); 5702R 冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司)。

2 方法

2.1 分组

不同浓度的 U II 处理 CFs 后, 观察细胞上清中 TGF- β 1 的含量变化及其对 CFs 增殖的影响: 设对照组和 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} mol·L⁻¹ U II 组^[7]。观察 U II 受体拮抗剂(SB-611812)及 PKA 特异性阻断剂(KT5720)对 U II 诱导的各组 CFs 增殖及胶原蛋白 col-I、col-III 的影响: 设对照组、 10^{-8} mol·L⁻¹ U II 组、1 mol·L⁻¹ SB-611812+ 10^{-8} mol·L⁻¹ U II 组

和 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KT5720+ $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ U II 组^[8-9]。每组设定 6 个复孔, 实验重复 3 次。

2.2 CFs 培养上清液中 TGF- β 1 含量的测定

采用 ELISA 法检测, 具体方法严格按照说明书执行。将各组细胞经 0.25% 胰酶消化后收集于离心管中, $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液备用。从室温平衡 20 min 后的试剂盒中取出板条, 设置标准孔和样本孔, 标准孔内加不同浓度的标准品 50 μL , 样本孔加待测样本 10 μL , 再加稀释液 40 μL , 各孔加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的检测抗体 100 μL , 封板后 37 $^{\circ}\text{C}$ 温浴 60 min, 洗板后, 再向各孔加入底物 A、B 各 50 μL , 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 15 min, 之后加入终止液, 15 min 内在 450 nm 波长处测定各孔 OD 值。

2.3 CFs 增殖情况测定

采用 CKK-8 细胞增殖方法观察各组 CFs 的增殖情况, 具体实验操作严格按照说明书执行。取对数生长期的 CFs, 用 0.25% 胰蛋白酶消化, 96 孔板每孔加入细胞 100 μL (约 10^4), 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的孵箱中培养 24 h, 细胞经不同试剂处理后, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 及 100% 湿度培养箱中培养 48 h, 向各孔中加入 10 μL 的细胞增殖检测试剂, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 4 h, 酶标仪在 450 nm 处测定 OD 值。

2.4 col-I、col-III 型胶原蛋白表达的测定

通过 Western blot 检测各组细胞 col-I、col-III 型胶原蛋白表达情况。用 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的 PBS 洗涤成纤维细胞 3 次, 按 6 孔板每孔加入 100 μL 的比例加入裂解液, 冰上裂解 30 min, 裂解液移至 1.5 mL 离心管中, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下 $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 取上清进行 SDS-PAGE 电泳, 转膜后封闭, TBST 漂洗 4 次后加入一抗: col-I (1:5 000), col-III (1:7 500)。鼠抗人 GAPDH 抗体 (1:1 000) 作为内参照。TBST 洗膜 4 次后, 加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG (1:5 000), 室温孵育 2 h, TBST 洗膜 4 次, ECL 发光法检测蛋白表达量。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 18 统计软件进行单因素方差分析, 组间比较应用 t 检验, $P < 0.05$ 为组间差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 不同浓度的 U II 对 CFs 培养上清液中 TGF- β 1 含量的影响

根据不同浓度 U II 作用 CFs 后对 TGF- β 1 含量

的影响得出的数据, 计算出 U II 的半数抑制浓度 EC_{50} 为 $1.25 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。各组 CFs 分别经 10^{-10} , 10^{-9} , $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ U II 处理后, 培养上清液中 TGF- β 1 含量均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 而 $10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 U II 作用 CFs 后, 与对照组相比, 上清液中 TGF- β 1 含量变化无显著差异, 结果显示 U II 作用 CFs 后可上调 TGF- β 1 水平, 结果见图 1。

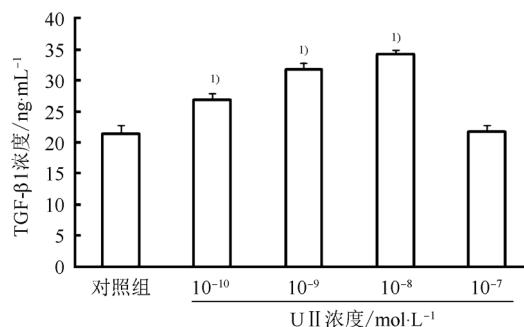


图 1 U II 对 CFs 的 TGF- β 1 含量的影响 ($n=3$, $\bar{x} \pm s$) 与对照组比较, ¹⁾ $P < 0.05$ 。

Fig. 1 Effect of U II on the level of TGF- β 1 in CFs supernatant ($n=3$, $\bar{x} \pm s$) Compared with control group, ¹⁾ $P < 0.05$.

3.2 SB-611812 及 KT5720 对 U II 刺激下 CFs 培养上清液中 TGF- β 1 含量的影响

各组作用 CFs 后, $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SB-611812+ $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ U II 组和 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KT5720+ $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ U II 组细胞培养上清液中 TGF- β 1 含量均低于 $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ U II 组 ($P < 0.05$), 而高于对照组 ($P < 0.05$), 结果表明 SB-611812 及 KT5720 作用下, 均可降低 U II 上调 TGF- β 1 的效应, 结果见图 2。

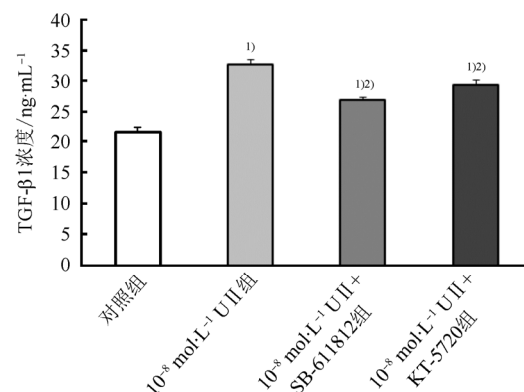


图 2 SB-611812 及 KT5720 对 U II 刺激下 CFs 中 TGF- β 1 含量的影响 ($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

与对照组比较, ¹⁾ $P < 0.05$; 与 $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ U II 组比较, ²⁾ $P < 0.05$ 。

Fig. 2 Effect of SB-611812 and KT5720 on the level of TGF- β 1 in CFs treated with U II supernatant ($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

Compared with control group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ U II group, ²⁾ $P < 0.05$.

3.3 不同浓度的 U II 对 CFs 增殖的影响

根据不同浓度 U II 作用 CFs 后对细胞增殖的影响得出的数据,计算出 U II 的半数抑制浓度 EC_{50} 为 $1.48 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在 10^{-10} , 10^{-9} , $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ U II 作用下,各组 CFs 的 OD 值均高于对照组 ($P < 0.05$),而 $10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组细胞的 OD 值与对照组比较差异无统计学意义,实验表明 U II 刺激促进了 CFs 的增殖,结果见图 3。

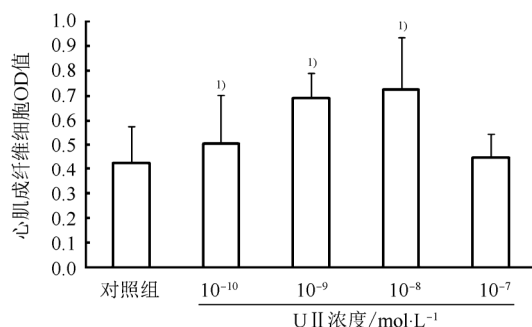


图 3 U II 对 CFs 增殖的影响 ($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

与对照组比较, $^{1)}P < 0.05$ 。

Fig. 3 Effect of U II on the proliferation of CFs

Compared with control group, $^{1)}P < 0.05$.

3.4 SB-611812 及 KT5720 对 U II 诱导的 CFs 增殖的影响

各组处理 CFs 后, $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SB-611812 + $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ U II 组和 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KT5720 + $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ U II 组细胞的 OD 值均显著低于 $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ U II 组 ($P < 0.05$),显著高于对照组 ($P < 0.05$),结果显示在 SB-611812 及 KT5720 作用下, U II 对 CFs 增殖的诱导均受到了抑制,结果见图 4。

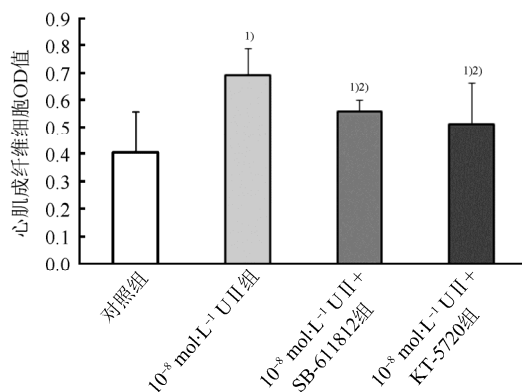


图 4 SB-611812 及 KT5720 对 U II 刺激下 CFs 的增殖的影响 ($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

与对照组比较, $^{1)}P < 0.05$; 与 $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ U II 组比较, $^{2)}P < 0.05$ 。

Fig. 4 Effect of SB-611812 and KT5720 on the proliferation of CFs infuced by U II ($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

Compared with control group, $^{1)}P < 0.05$; compared with $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ U II group, $^{2)}P < 0.05$.

3.5 SB-611812 及 KT5720 对 U II 诱导胶原蛋白合成的影响

对照组成纤维细胞有少量 col- I、col-III 表达, $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ U II 刺激后, col- I、col-III 表达显著增加,在给予 $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ U II 的基础上,加入 U II 受体拮抗剂 (SB-611812) 及 PKA 特异性阻断剂 (KT-5720),与 U II 组相比, col- I、col-III 的表达明显下降,提示 PKA 通路可能参与了 U II 刺激成纤维细胞 col- I、col-III 合成的作用。结果见图 5。

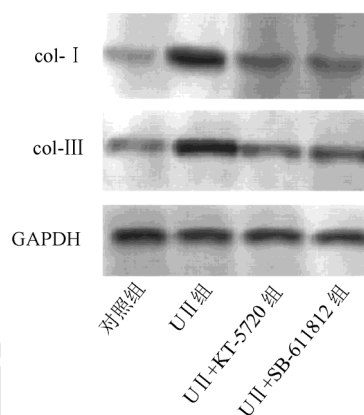


图 5 SB-611812 及 KT5720 对 U II 刺激下 CFs 中 col- I 和 col-III 表达的影响

Fig. 5 Effect of SB-611812 and KT5720 on the expression of col- I and col-III infuced by U II

4 讨论

近年来不断有研究发现新的血管活性肽参与了心肌纤维化的发生发展过程, U II 作为一种新型的血管活性肽,与心肌纤维化之间的关系越来越多的受到人们关注。体外一些研究显示, U II 可以促进 CFs 的增殖^[10]及胶原合成进而促进心肌纤维化^[11],而这一作用可被 UT 拮抗剂 SB-611812 阻断^[5]。本研究结果显示, CFs 在 10^{-10} , 10^{-9} , $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 U II 作用下,随着 U II 终浓度的增加,细胞培养上清液中 TGF- β 1 含量明显增加,而且各组细胞 OD 值也明显高于对照组,说明 U II 作用 CFs 后上调了 TGF- β 1 水平,促进了细胞增殖。但研究发现 $10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 U II 作用 CFs,上述参数与对照组相比,无明显差异,推测可能是 U II 水平升高时, CFs 细胞膜上的受体结合位点上调,进而表现出 U II 作用加强,但 U II 含量进一步升高时, CFs 细胞膜上 UT 产生耐受性而减弱了 U II 的促增殖作用。

本研究通过体外实验进一步探讨 U II 在心肌纤维化过程中的作用机制以及与 cAMP-PKA 通路

的关系,对 CFs 进行 U II、KT5720、SB-611812 干预,结果发现,在 $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 U II 基础作用下, $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 KT5720 和 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 SB-611812 分别进一步作用 CFs, 均可降低 U II 上调 TGF- β 1 水平及促增殖效应,且 KT5720 和 SB-611812 能明显抑制 U II 诱导的 CFs 的胶原合成。这说明 U II 的这些生物效应可能是通过 cAMP-PKA 信号通路完成的。

综上所述,体外培养乳鼠心肌成纤维细胞, U II 明显地上调了 TGF- β 1 水平,促进了 CFs 的增殖及胶原蛋白合成,可能是加速心脏纤维化的重要因素。这一研究结果提示 U II 和心肌纤维化之间可能存在一条新的信号通路,可为慢性心力衰竭及心室肥厚的防治提供新的靶点。目前有关 U II 与心肌纤维化的体内研究较少,通过手术方法造成大鼠心肌梗死模型中,梗死灶及周围可见 UT mRNA 表达增加^[12],表明在各种情况的心肌修复过程中, U II 都显示了与胶原沉积的密切联系,而胶原沉积正是心肌纤维化的始动因素。当然, U II 与心肌纤维化的关系还需系统研究,并且其中的机制还需要探讨。

REFERENCES

- [1] COULOUARN Y, LIHRMANN I, JEGOU S, et al. Cloning of the cDNA encoding the urotensin II precursor in frog and human reveals intense expression of the urotensin II gene in motoneurons of the spinal cord [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(26): 15803-15808.
- [2] AMES R S, SARAU H M, CHAMBERS J K, et al. Human urotensin-II is a potent vasoconstrictor and agonist for the orphan receptor GPR14 [J]. *Nature*, 1999, 401(6750): 282-286.
- [3] ZHENG S M, HUANG H H, LIU S Z, et al. Protective effect of telmisartan against oxidation-reduction disequilibrium of vascular endothelial cells induced by angiotensin II [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2014, 31(1): 22-26.
- [4] ZHAO J, DING W, SONG N, et al. Urotensin II-induced collagen synthesis in cultured smooth muscle cells from rat aortic media and a possible involvement of transforming growth factor- β 1/Smad2/3 signaling pathway [J]. *Regulatory Peptides*, 2013(182): 53-58.
- [5] TSOUKAS P, KANE E, GIAID A. Potential clinical implications of the urotensin II receptor antagonists [J]. *Front Pharmacol*, 2011(2): 38. Doi: 10.3389/fphar.2011.00038.
- [6] ZHAO J, DING W, SONG N, et al. Urotensin II-induced collagen synthesis in cultured smooth muscle cells from rat aortic media and a possible involvement of transforming growth factor- β 1/Smad2/3 signaling pathway [J]. *Regulatory Peptides*, 2013(182): 53-58.
- [7] ZUO H H, HONG J M, GUO H S, et al. Urotensin II induces hypertrophy of *in vitro* cultured neonatal rat cardiac myocytes [J]. *J First Mil Med Univ*(第一军医大学学报), 2004, 24(6): 642-645.
- [8] BOUSETTE N, HU F, OHLSTEIN E H, et al. Urotensin-II blockade with SB-611812 attenuates cardiac dysfunction in a rat model of coronary artery ligation [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2006, 41(2): 285-95.
- [9] GAO S, OH Y B, SHAH A, et al. Suppression of ANP secretion by somatostatin through somatostatin receptor type 2 [J]. *Peptides*, 2011, 32(6): 1179-1186.
- [10] SHI L, DING W, LI D, et al. Proliferation and anti-apoptotic effects of human urotensin II on human endothelial cells [J]. *Atherosclerosis*, 2006, 188 (2): 260-264.
- [11] TRAN L, KOMPA A R, KEMP W, et al. Chronic urotensin-II infusion induces diastolic dysfunction and enhances collagen production in rats [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 298(2): H608- H613.
- [12] TZAMIDIS A, HANNAN R D, THOMAS W G, et al. Direct actions of urotensin II on the heart: Implications for cardiac fibrosis and hypertrophy [J]. *Circ Res*, 2003, 93(3): 246-253.

收稿日期: 2015-10-20

FTY720 改善颅脑损伤大鼠认知功能及其机制的研究

林群¹, 蔡建勇¹, 吴艳¹, 巴华君¹, 陆川¹, 陈献东¹, 陈茂华¹, 孙军¹, 郑伟民^{2*} (1.温州市中心医院, 温州医科大学定理临床学院, 神经外科, 浙江 温州 325200; 2.温州医科大学附属第一医院, 浙江 温州 325000)

摘要: 目的 研究 FTY720 对颅脑损伤大鼠认知功能的影响及相关机制。方法 选用健康 Wistar 大鼠 60 只, 随机分成假手术组、模型组和治疗组, 每组 20 只, 采用改进的 Feeney 自由落体损伤装置建立大鼠颅脑损伤模型, 分别于模型形成前给予 1 mL 0.9%氯化钠注射液或 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ FTY720 腹腔注射。各组取 10 只大鼠, 采用 Morris 水迷宫定位航行实验, 记录大鼠逃避潜伏期, 评价认知功能。另外各组取 10 只大鼠断头处死, 分离海马组织, 采用 HE 染色观察神经细胞形态, 采用 ELISA 法检测脑组织白介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 和白介素-6 浓度。结果 模型组大鼠逃避潜伏期较假手术组显著

基金项目: 浙江省科技计划项目(2014C37029)

作者简介: 林群, 男, 硕士生, 主治医师 Tel: 13757718194 E-mail: linqunn@163.com *通信作者: 郑伟民, 男, 硕士, 教授, 主任医师 Tel: 13706662668 E-mail: zhwm61@126.com