

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.41.008 [http://www.crter.org]

徐晶华, 刘闰男, 张晶. 烟草烟雾提取物影响主动脉平滑肌细胞 GATA-2 的表达[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(41):7235-7240.

## 烟草烟雾提取物影响主动脉平滑肌细胞GATA-2的表达\*\*

徐晶华, 刘闰男, 张晶(中国医科大学附属第一医院心内科, 辽宁省沈阳市 110001)

### 文章亮点:

- 1 国内外未见 GATA-2 表达在吸烟致动脉粥样硬化机制方面的报道。
- 2 实验成功地培养了大鼠主动脉平滑肌细胞, 并在烟草烟雾提取物刺激后成功地提取 GATA-2 mRNA。
- 3 初步证实了烟草烟雾提取物使大鼠主动脉平滑肌细胞中的 GATA-2 表达增加, 而这一机制是通过生长反应因子 1 来实现的, 抑制生长反应因子 1 后, GATA-2 的表达减少。

### 关键词:

组织构建; 血管组织构建; 烟草烟雾提取物; 生长反应因子 1; GATA-2; 基质金属蛋白酶 2; 血管平滑肌细胞; 国家自然科学基金

### 主题词:

植物提取物; 基质金属蛋白酶 2; GATA 转录因子类; 肌, 平滑, 血管

### 基金资助:

国家自然科学基金项目资助(30871074)\*

### 摘要

**背景:** 吸烟是动脉粥样硬化形成的主要危险因素之一。

**目的:** 观察烟草烟雾提取物对大鼠血管平滑肌细胞中 GATA-2 浓度的影响及早期生长反应因子 1 在其中的作用。

**方法:** 体外培养大鼠血管平滑肌细胞, 用不同浓度(0, 5%, 10%, 20%)烟草烟雾提取物刺激, 采用 RT-PCR 的方法检测烟草烟雾提取物对 GATA-2 的影响。用筛选出的最适合的烟草烟雾提取物浓度处理大鼠血管平滑肌细胞不同时间(0, 4, 8, 12, 24 h)后, 检测 GATA-2 mRNA 的变化, 以及加入生长反应因子 1 抑制剂后 GATA-2 mRNA 的变化。

**结果与结论:** 与 0 浓度烟草烟雾提取物相比, 5%低浓度烟草烟雾提取物刺激后, GATA-2 mRNA 表达较 10% 中浓度和 20%高浓度增加的更显著。不加烟草烟雾提取物组即 0 h 组血管平滑肌细胞中有少量 GATA-2 的 mRNA, 5%烟草烟雾提取物刺激后于 4 h 内开始增加, 8 h 达高峰。加入生长反应因子 1 抑制剂后 5%烟草烟雾提取物诱导的血管平滑肌细胞 GATA-2 mRNA 表达明显降低。提示烟草烟雾提取物可通过生长反应因子 1 促进 GATA-2 增加, 抑制生长反应因子 1 后, GATA-2 的表达减少。

## Cigarette smoke extract affects the GATA-2 expression of vascular smooth muscle cells

Xu Jing-hua, Liu Gui-nan, Zhang Jing (Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China)

### Abstract

**BACKGROUND:** Smoking is one of the major risk factors for the formation of atherosclerosis.

**OBJECTIVE:** To investigate the effect of cigarette smoke extract on the concentration of GATA-2 in the vascular smooth muscle cells and in which the role of the early growth response factor-1.

**METHODS:** Vascular smooth muscle cells were cultured *in vitro*. The vascular smooth muscle cells were treated with various concentrations of cigarette smoke extract (0, 5%, 10%, 20%), then the reverse transcription PCR was applied to detect the mRNA expression of GATA-2. The vascular smooth muscle cells were treated with cigarette smoke extracts in the optimal concentration for 0, 4, 8, 12 and 24 hours, and then the expression of GATA-2 mRNA was observed, as well as the changes of expression of GATA-2 mRNA after added with growth response factor-1.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Compared to the 0 concentration group, the expression of GATA-2 mRNA after treated with low concentration (5%) of cigarette smoke extract was increased more significantly than moderate concentration (10%) and high concentration (20%). The vascular smooth muscle cells in 0 hour group expressed GATA-2 mRNA at low level. The GATA-2 mRNA began to increase within 4 hours and reached peak at the 8 hours after stimulated with cigarette smoke extract of 5% concentration. After added with growth response factor-1 inhibitors, the expression of GATA-2 mRNA in 5% cigarette smoke extract induced vascular smooth muscle cells was decreased. Cigarette smoke extract can promote the increasing of GATA-2 by growth response factor-1, while the GATA-2 expression is reduced after the inhibition of growth response factor-1.

徐晶华★, 女, 1985年生, 辽宁省辽阳市人, 汉族, 2011年中国医科大学毕业, 硕士, 医师, 主要从事心血管方面的研究。

sophiejxh@163.com

通讯作者: 刘闰男, 硕士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 中国医科大学附属第一医院心内科, 辽宁省沈阳市 110001  
guinanliu@hotmail.com

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4344  
(2013)41-07235-06

收稿日期: 2013-03-26

修回日期: 2013-06-01  
(201303263/AW · C)

Xu Jing-hua★, Master, Physician, Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Corresponding author: Liu Gui-nan, Master, Professor, Chief physician, Doctoral supervisor, Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China  
guinanliu@hotmail.com

Received: 2013-03-26

Accepted: 2013-06-01

**Subject headings:** plant extracts; matrix metalloproteinase 2; GATA transcription factors; muscle, smooth, vascular

**Funding:** National Natural Science Foundation of China, No. 30871074\*

Xu JH, Liu GN, Zhang J. Cigarette smoke extract affects the GATA-2 expression of vascular smooth muscle cells.

Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2013;17(41):7235-7240.

## 0 引言 Introduction

吸烟是动脉粥样硬化的三大主要危险因素之一。研究发现, 烟草烟雾中的尼古丁、一氧化碳、氧化微颗粒物等成分与心血管系统损害直接相关。根据WHO 2008年全球烟草流行报告, 现在每年因烟草导致死亡达540万人<sup>[1]</sup>。吸烟是冠心病的重要危险因素, 无论是被动还是主动通过雪茄或烟斗吸烟, 其发病风险同样增加<sup>[2]</sup>。目前认为血管平滑肌细胞在动脉硬化的发生发展过程中起着重要的作用<sup>[3]</sup>, 血管平滑肌细胞是构成血管壁的重要组成部分, 主要调节血管张力、血液分布和压力<sup>[4]</sup>, 不像许多终末分化的细胞, 血管平滑肌细胞可以根据自身环境的变化由静态收缩表型转换为增殖合成表型<sup>[5-6]</sup>, 在正常情况下, 平滑肌细胞保持静止状态。研究证实, 人类动脉粥样硬化的动脉血管中的平滑肌细胞较静脉血管中的平滑肌细胞表现出更高的增殖率和黏附性<sup>[7]</sup>。

基质金属蛋白酶是一个锌和钙依赖的蛋白酶家族, 能够切割细胞外基质蛋白、生长因子和细胞表面受体的特定序列<sup>[8-9]</sup>, 内皮细胞中基质金属蛋白酶的生成和激活, 包括基质金属蛋白酶2, 在动脉粥样硬化的形成过程中发挥重要作用<sup>[10-11]</sup>。除了动脉粥样硬化、血管重塑和血管再生, 基质金属蛋白酶, 如基质金属蛋白酶2、基质金属蛋白酶9、基质金属蛋白酶13和基质金属蛋白酶14还参与了骨的形成和重构<sup>[12]</sup>。

早期生长反应因子1, 是位于人类染色体5q23-q31编码2个外显子的转录因子, 肌细胞、内皮细胞、和白细胞的生长反应因子1在血管损伤后被诱导和激活<sup>[13]</sup>, 其在各种各样的心血管疾病的病理过程中起着关键作用<sup>[14]</sup>, 在内皮细胞中, 生长反应因子1已被证实可由许多刺激后快速、瞬时产生, 这些刺激包括血管生成素1<sup>[15]</sup>、表皮生长因子<sup>[16]</sup>、流体剪切力和凝血酶<sup>[17-18]</sup>, 反过来, 生长反应因子1控制着很多基因的表达, 包括血小板衍生生长因子A链<sup>[17]</sup>、血小板衍生生长因子B<sup>[19]</sup>、碱性成纤维生长因子和组织因子<sup>[20-21]</sup>, 而这些基因已被证实在动脉粥样硬化的不同层面发挥重要作用, 其中, GATA-2就是其中之一<sup>[22]</sup>。

GATA-2是DNA结合转录因子GATA家族中的一员, GATA 家族在人体的各种生理病理中的作用已成当今热点之一, 认为GATA家族在造血细胞的调控, 心血管疾病及肿瘤等多种疾病的发生发展中起着重要作用。研究证实, GATA-2调节多种内皮细胞的基因, 包括内皮

细胞一氧化氮合酶<sup>[23]</sup>, 血管细胞黏附分子1<sup>[24]</sup>, 血小板/内皮细胞黏附分子1和血管血管内皮生长因子受体flk1/KDR<sup>[25-26]</sup>, 此外, GATA-2蛋白本身还是反式激活基质金属蛋白酶2的启动子, 可以通过激活基质金属蛋白酶2而促进血管平滑肌细胞的迁移作用<sup>[27]</sup>。

RNA干扰已成为抑制基因表达的一种强大手段, 近年来发现小干扰RNA(siRNA)通过与RNA结合蛋白相互作用, 形成RNA诱导的沉默复合体(RISC), RISC在反义结合位点降解mRNA。Fahmy 等<sup>[28]</sup>通过设计、合成生长反应因子1 siRNA成功证实生长反应因子1 siRNA可阻断平滑肌细胞的增殖, 抑制内源性生长反应因子1的表达。实验应用烟草烟雾提取物刺激体外培养的大鼠血管平滑肌细胞, 观察其对GATA-2的影响, 并通过siRNA抑制生长反应因子1的表达, 观察GATA-2的变化。

## 1 材料和方法 Materials and methods

**设计:** 培养大鼠主动脉平滑肌细胞。

**时间及地点:** 于2010年10至12月中国医科大学中心实验室完成。

**材料:**

烟草烟雾提取物对大鼠主动脉平滑肌细胞GATA-2表达的影响实验所用材料:

材料	来源
香烟(3R4F)	美国肯塔基大学烟草健康研究所生产
大鼠主动脉血管平滑肌细胞(A10细胞株)	ATCC 细胞库
胎牛血清	Gibco
RT-PCR 反转录试剂盒	北京全式金生物技术工程有限公司
PCR 引物合成	金斯瑞生物科技有限公司

**方法:**

**大鼠主动脉平滑肌细胞的培养:** 细胞在37 °C, 体积分数5% CO<sub>2</sub>饱和湿度培养箱内培养, 每2 d换液1次。当细胞长满瓶底80%左右时, 用2.5 g/L胰蛋白酶消化传代、培养。取第3-5代细胞进行试验。

**烟草烟雾提取物刺激大鼠血管平滑肌细胞:** 参考Ohmanns<sup>[29]</sup>方法, 将1支香烟点燃, 其过滤嘴端接一根橡皮管, 橡皮管另一端接装有10 mL无菌无血清DMEM的玻璃瓶入口, 玻璃瓶出后接50 mL注射器进行抽吸, 50 mL/次, 持续10 s, 共6次。将总共300 mL烟雾通入玻璃瓶中, 用1 mol/L NaOH调pH至7.4, 经0.22 μm微孔膜过滤得到100%的烟草烟雾提取物原液, 30 min之内用于实验。

### 分组及干预:

最适合烟草烟雾提取物浓度筛选实验: 一共分成4组, 分别为正常培养细胞的对照组、5%, 10%, 20%烟草烟雾提取物组。

10%烟草烟雾提取物刺激不同时间的实验: 一共分成5组, 分别为正常培养细胞的对照组(即0 h组)、4 h组、8 h组、12 h组、24 h组。

加入生长反应因子1抑制剂的中和实验: 一共分为3组, 分别为对照组(不加任何干预)、5%烟草烟雾提取物组(加终浓度为5%烟草烟雾提取物)、5%烟草烟雾提取物+生长反应因子1 siRNA组(同时加入8 h)。

反转录-聚合酶链反应法检测: 两步法提取总RNA。测定总RNA量和纯度并进行调整。反转录和PCR步骤参照说明书进行。

GATA-2的上游引物5'- CCT TGT GCC GCC ATT AC-3', 下游引物5'- GCC TGA GGA CCT GTA AGC-3', 扩增片段长度347 bp。GADPH为内参, 上游引物5'-GTG CTG AGT ATG TCG TGG AG-3', 下游引物5'-TCT TCT GAG TGG CAG TGA T-3', 扩增长度为288 bp。

20  $\mu$ L反应体系如下: 已配好的RNA工作液(0.1 g/L) 5  $\mu$ L, Anchored Oligo(dT)1  $\mu$ L, 2 $\times$ ES Reaction Mix 10  $\mu$ L, EasyScript RT/RI Enzyme Mix 1  $\mu$ L, Rnase-free Water 3  $\mu$ L。加入2 mL薄壁PCR反应管中, 先瞬时离心混匀, 置PCR仪中, 42  $^{\circ}$ C孵育50 min, 99  $^{\circ}$ C加热15 min失活EasyScript RT, 4  $^{\circ}$ C 5 min终止反应。反应条件: GATA-2: 94  $^{\circ}$ C预变性5 min, 然后94  $^{\circ}$ C变性30 s, 58  $^{\circ}$ C退火30 s, 72  $^{\circ}$ C延伸60 s, 共35个循环, 最后72  $^{\circ}$ C延伸10 min; GAPDH: 94  $^{\circ}$ C预变性5 min, 94  $^{\circ}$ C变性30 s, 55  $^{\circ}$ C退火30 s, 72  $^{\circ}$ C延伸60 s, 共35个循环, 最后72  $^{\circ}$ C延伸10 min。取PCR产物8  $\mu$ L进行1.5%琼脂糖凝胶电泳, EB染色, 通过凝胶成像系统将各组GATA-2的条带分别与相应的内参条带坐吸光度比较, 以比值代表GATA-2 mRNA的水平。实验重复3次。

主要观察指标: 不同浓度(5%, 10%, 20%)烟草烟雾提取物分别刺激大鼠主动脉血管平滑肌细胞后GATA-2 mRNA的表达; 5%烟草烟雾提取物对大鼠血管平滑肌细胞不同时间点(分别在0, 4, 8, 12, 24 h)GATA-2 mRNA的影响; 通过siRNA抑制生长反应因子1后, GATA-2 mRNA的表达情况。

统计学分析: 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 用SPSS 17.0软件, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 $q$ 检验。 $P < 0.05$ 为统计学上差异有显著性意义。

## 2 结果 Results

2.1 不同浓度烟草烟雾提取物对大鼠平滑肌细胞GATA-2 mRNA的影响 反转录-聚合酶链反应结果显

示, 烟草烟雾提取物浓度为5%时大鼠血管平滑肌细胞GATA-2 mRNA较其他组升高最明显( $P < 0.05$ ), 见图1, 表1。

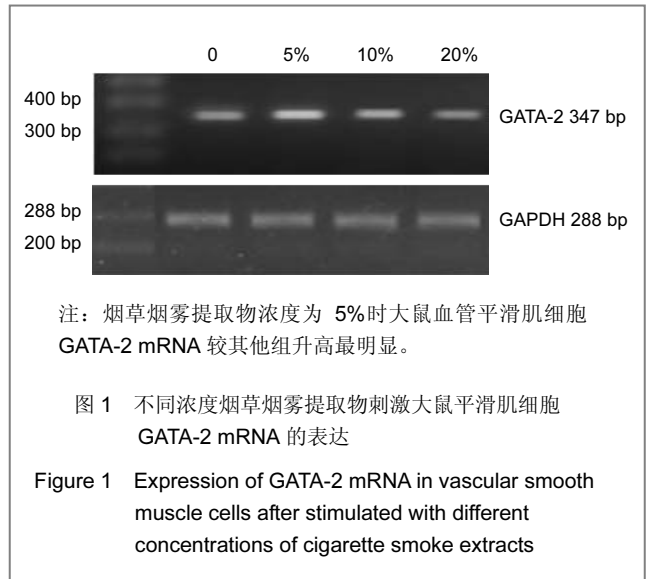


表 1 不同浓度烟草烟雾提取物对大鼠血管平滑肌细胞 GATA-2 mRNA 的影响

Table 1 Effect of different concentrations of cigarette smoke extracts on the expression of GATA-2 mRNA in vascular smooth muscle cells ( $\bar{x}\pm s$ )

烟草烟雾提取物浓度	GATA-2 mRNA
0	0.483 $\pm$ 0.012
5%	0.875 $\pm$ 0.008 <sup>a</sup>
10%	0.702 $\pm$ 0.014 <sup>a</sup>
20%	0.637 $\pm$ 0.015 <sup>a</sup>

与对照组(烟草烟雾提取物 0 浓度)比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$

注: 烟草烟雾提取物浓度为 5%时大鼠血管平滑肌细胞 GATA-2 mRNA 较其他组升高最明显。

2.2 血管平滑肌细胞经5%烟草烟雾提取物刺激不同时间的实验结果 反转录-聚合酶链反应结果显示, 大鼠血管平滑肌细胞暴露于5%烟草烟雾提取物 8 h后, 细胞内GATA-2 mRNA较其他组升高最明显( $P < 0.05$ ), 见图2, 表2。

2.3 加入生长反应因子1 siRNA中和后的结果 反转录-聚合酶链反应结果显示, 暴露于5%烟草烟雾提取物 8 h后的实验组GATA-2 mRNA表达较对照组升高明显( $P < 0.05$ ); 在加入生长反应因子1 siRNA后暴露于5%烟草烟雾提取物 8 h的实验组则较单独暴露于5%烟草烟雾提取物 8 h的实验组GATA-2 mRNA表达明显降低( $P < 0.05$ )。见表3, 图3。

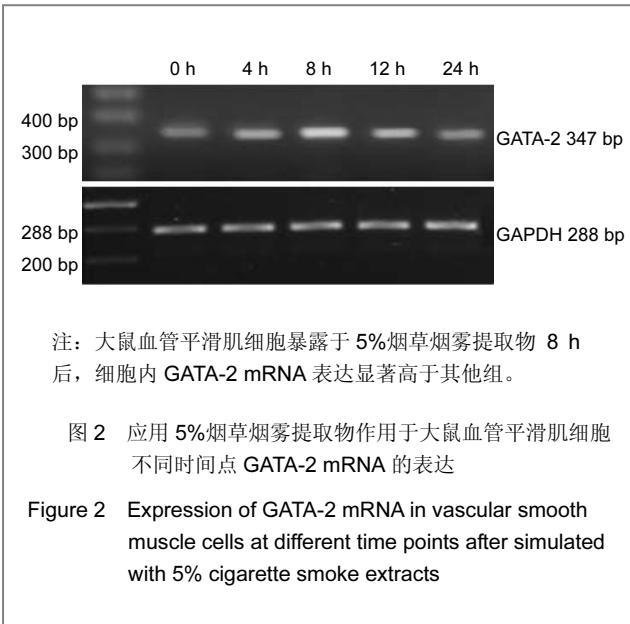


表 2 不同浓度烟草烟雾提取物对大鼠血管平滑肌细胞 GATA-2 mRNA 的影响

Table 2 Expression of GATA-2 mRNA in vascular smooth muscle cells after stimulated with different concentrations of cigarette smoke extracts (x±s)

时间	GATA-2 mRNA
0	0.637±0.027
4	0.845±0.023 <sup>a</sup>
8	1.178±0.031 <sup>a</sup>
12	0.912±0.037 <sup>a</sup>
24	0.844±0.021 <sup>a</sup>

与 0 h 比较, <sup>a</sup>P < 0.05。

注: 大鼠血管平滑肌细胞暴露于 5%烟草烟雾提取物 8h 后, 细胞内 GATA-2 mRNA 表达显著高于其他组。

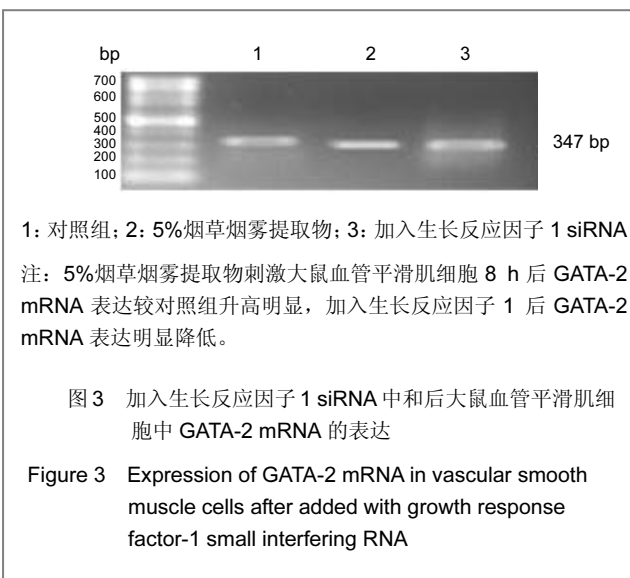


表 3 加入生长反应因子 1 抑制剂抑制后大鼠血管平滑肌细胞中的 GATA-2 mRNA 的影响

Table 3 Expression of GATA-2 mRNA in vascular smooth muscle cells after added with growth response factor-1 inhibitor (x±s)

组别	GATA-2 mRNA
对照组	0.578±0.013
5%烟草烟雾提取物	0.656±0.009 <sup>a</sup>
加入生长反应因子 1 siRNA	0.561±0.012 <sup>b</sup>

与对照组比较, <sup>a</sup>P < 0.05; 与 5%烟草烟雾提取物比较, <sup>b</sup>P < 0.05。

注: 5%烟草烟雾提取物刺激大鼠血管平滑肌细胞 8 h 后 GATA-2 mRNA 表达较对照组升高明显, 加入生长反应因子 1 后 GATA-2 mRNA 表达明显降低。

### 3 讨论 Discussion

动脉粥样硬化是动脉硬化血管病中最常见、最重要的一种, 其特点是动脉管壁增厚变硬、失去弹性和管腔缩小, 病变主要累及大中型动脉。对本病的发病机制, 有多种学说从不同角度来阐述, 包括脂质浸润学说、血栓形成学说、平滑肌细胞克隆学说等。目前认为吸烟是促进动脉粥样硬化发生、发展及心脑血管事件发生的重要原因之一。

研究证明, 香烟烟雾提取物影响内皮细胞的功能, 并且通过产生活性氧和含氮物质来改变内皮细胞基因的表达, 过多活性氧的产生与心血管疾病的发生有关, 其作用机制有: ①活性氧能够使低密度脂蛋白氧化。②O<sub>2</sub>能够快速灭活内皮性一氧化氮, 一氧化氮是抗动脉粥样硬化的分子。③O<sub>2</sub>与一氧化氮之间发生反应后生成过氧亚硝基(ONOO<sup>-</sup>), 其对内皮细胞具有细胞毒性<sup>[30]</sup>。

近年来, 人们还发现炎症和氧化应激反应、血脂代谢异常、促血栓作用、遗传因素及基质金属蛋白酶活性的调节等还可能与动脉粥样硬化的发生有关。体外实验表明, 香烟尘粒对大鼠血管平滑肌细胞有明显的促增殖作用<sup>[31]</sup>。而血管平滑肌细胞增殖是动脉粥样硬化发生机制的重要组成部分<sup>[32-33]</sup>。正常情况下, 血管平滑肌细胞位于血管中膜, 当受到某种刺激后, 血管平滑肌细胞发生表型的转换、由中膜向内膜迁移、增殖等, 参与动脉粥样硬化过程的形成。

生长反应因子 1 是一种锌指结构转录因子, 可促进相关基因的转录和表达<sup>[34]</sup>, 诱导血管平滑肌细胞的分裂、增殖和内膜增生<sup>[35]</sup>。生长反应因子 1 在正常的动脉壁很少表达, 但在急性的机械损伤和其他血管应激作用下升高。目前, 在血管平滑肌细胞中关于烟草烟雾提取物与生长反应因子 1 的关系的研究未见报道, 在人肺成

纤维细胞和血管内皮细胞中<sup>[36, 30]</sup>, 烟草烟雾提取物可使生长反应因子1表达增加。生长反应因子1 siRNA已被证实可以抑制人主动脉血管平滑肌细胞的增殖以及内源性生长反应因子1的表达, 而siRNA在抑制平滑肌细胞增殖中的作用往往好于脱氧核酶, 它们的机制各不相同。

基质金属蛋白酶参与了动脉粥样硬化和血管新生过程中的血管重塑<sup>[37-42]</sup>。基质金属蛋白酶2, 又称为明胶酶A, 是一种主要的基质金属蛋白酶, 可由多种细胞产生, 如血管平滑肌细胞、内皮细胞等<sup>[43]</sup>, 它是公认的主要调节基底膜降解的物质, 主要包括IV型胶原、层粘连蛋白、蛋白多糖。正常情况下, 体内的血管平滑肌细胞被基质所包围<sup>[44]</sup>, 而基质金属蛋白酶2调节基质的降解及平滑肌细胞的迁移, 基质金属蛋白酶2在动脉粥样硬化中的作用很明显<sup>[45]</sup>, 基质金属蛋白酶2也被认为是治疗心血管疾病的靶分子。

实验结果显示, 烟草烟雾提取物在5%浓度组能都显著促进GATA-2 mRNA的增高, 而在10%和20%浓度组GATA-2 mRNA的表达减低, 但仍高于对照组, 这可能与高浓度组的细胞毒性有关。这个结论与Carty等<sup>[46]</sup>发现的低浓度尼古丁可促进人血管平滑肌细胞增殖, 而高浓度尼古丁对细胞毒性做的结论相似。5%烟草烟雾提取物刺激后GATA-2 mRNA于4 h内开始增加, 8 h达高峰, 而12 h和24 h GATA-2 mRNA的表达有所下降, 但仍高于对照组。同时本实验证实了抑制生长反应因子1后, 烟草烟雾作用后的GATA-2的表达减低, 这说明烟草烟雾是通过生长反应因子1对GATA-2起作用的, 进而影响了下游的基质金属蛋白酶2, 导致血管平滑肌细胞增殖, 促进了动脉粥样硬化的发生和发展。

总之, 作者这次实验证实了烟草烟雾提取物能够刺激血管平滑肌细胞中的GATA-2的表达, 使得血管平滑肌细胞增殖, 这种作用在一定范围内与烟草烟雾的浓度和作用时间有关。抑制了生长反应因子1的表达, 就能够使GATA-2表达减少, 从而就在一定程度上减轻烟草烟雾对动脉粥样硬化的影响, 对主动吸烟者和被动吸烟者均有效。这提示烟草烟雾提取物通过生长反应因子1的作用来促进血管平滑肌细胞中GATA-2的表达, 从而平滑肌细胞增殖, 其中, GATA-2促进血管平滑肌细胞增殖的作用是通过基质金属蛋白酶2来实现的, 而一些研究证实香烟烟雾通过生长反应因子1调节基质金属蛋白酶2活性来发挥作用, 故本实验证明生长反应因子1对基质金属蛋白酶2的作用, 可能与GATA-2有关, 同时实验还为研究吸烟对动脉粥样硬化的发生、发展的机制提供了一定的理论基础, 并且为动脉粥样硬化的治疗提供了新的靶点。

**致谢:** 感谢本课题组全体人员对本次实验的帮助。

**作者贡献:** 通讯作者进行实验设计, 实验操作和资料收集由第一作者完成, 第一作者成文, 通讯作者审校。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**学术术语:** 生长反应因子1-是一种锌指结构转录因子, 可促进相关基因的转录和表达, 诱导血管平滑肌细胞的分裂、增殖和内膜增生。生长反应因子1在正常的动脉壁很少表达, 但在急性的机械损伤和其他血管应激作用下升高。

**作者声明:** 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

#### 4 参考文献 References

- [1] WHO.WHO report on the global tobacco epidemic.Geneva: WHO.2008:8.
- [2] He J,Vuppturi S,Allen K,et al.Passive smoking and the risk of coronary heart disease: A meta-analysis of epidemiologic studies. N Engl J Med.1999; 340(12):920-926.
- [3] Remus EW, Lyle AN, Weiss D.,et al.MiR181a protects against angiotensin II-induced osteopontin expression in vascular smooth muscle cells. Atherosclerosis. 2013;228(1):168-74.
- [4] Owens GK,Kumar MS,Wamhoff BR.Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease. Physiol Rev.2004;84:767-801.
- [5] Rensen SS, Doevendans PA, van Eys GJ. Regulation and characteristics of vascular smooth muscle cell phenotypic diversity. Neth Heart J.2007;15:100-108.
- [6] Li L,Zhang HN,Chen HZ,et al.Sirt1 acts as a modulator of neointima formation following vascular injury in mice. Circ Res.2011;108:1180-1189.
- [7] Faries PL, Rohan DI, Wyers MC, et al.Vascular Smooth Muscle Cells Derived from Atherosclerotic Human Arteries Exhibit Greater Adhesion, Migration, and Proliferation Than Venous Cells. J Surg Res. 2002;104(1):22-28.
- [8] Woessner JF Jr. The family of matrix metalloproteinases. Ann N Y Acad Sci. 1994;732:11-21.
- [9] Nagase H. Cell surface activation of progelatinase A (proMMP-2) and cell migration. Cell Res. 1998;8(3):179-186.
- [10] Nguyen M, Arkell J, Jackson CJ. Human endothelial gelatinases and angiogenesis. Int J Biochem Cell Biol. 2001; 33(10):960-970.
- [11] Haas TL.Molecular control of capillary growth in skeletal muscle. Can J Appl Physiol. 2002;27(5):491-515.
- [12] Page-McCaw A, Ewald AJ, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling. Nat Rev Mol Cell Biol.2007;8:221-233.
- [13] Ohtani K, Egashira K, Usui M, et al.Inhibition of neointimal hyperplasia after balloon injury by cis-element 'decoy' of early growth response gene-1 in hypercholesterolemic rabbits. Gene Therapy.2004;11:126-132.
- [14] Khachigian LM.Early growth response-1 in cardiovascular pathobiology.Circ Res.2006;98:186-191.
- [15] Abdel-Malak NA, Mofarrah M, Mayaki D,et al.Early growth response-1 regulates angiotensin-1-induced endothelial cell proliferation, migration, and differentiation. Arterioscler Thromb Vasc Biol.2009;29:209-216.

- [16] Tsai JC, Liu L, Guan J, et al. The Egr-1 gene is induced by epidermal growth factor in ECV304 cells and primary endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2000;279: C1414-C1424.
- [17] Khachigian LM, Anderson KR, Halnon NJ, et al. Egr-1 is activated in endothelial cells exposed to fluid shear stress and interacts with a novel shear stress-response element in the PDGF A-chain promoter. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17:2280-2286.
- [18] Wu SQ, Minami T, Donovan DJ, Aird WC. The proximal serum response element in the Egr-1 promoter mediates response to thrombin in primary human endothelial cells. *Blood* 100: 4454-4461
- [19] Khachigian LM, Lindner V, Williams AJ, et al. Egr-1-induced endothelial gene expression: a common theme in vascular injury. *Science.* 1996;271(5254):1427-1431.
- [20] McCaffrey TA, Fu C, Du B, et al. High-level expression of Egr-1 and Egr-1-inducible genes in mouse and human atherosclerosis. *J Clin Invest.* 2000;105(5):653-662.
- [21] Mechtcheriakova D, Wlachos A, Holzmueller H, et al. Avascular endothelial cell growth factor-induced tissue factor expression in endothelial cells is mediated by EGR-1. *Blood.* 1999;93: 3811-3823.
- [22] Fu M, Zhu X, Zhang J, et al. EGR-1 target in human endothelial cells identified by microarray analysis. *Gene.* 2003;315:33-41.
- [23] Zhang R, Min W, Sessa WC. Functional analysis of the human endothelial nitric oxide synthase promoter. Sp1 and GATA factors are necessary for basal transcription in endothelial cells. *J Biol Chem.* 1995;270(25):15320-15326.
- [24] Minami T, Aird WC. Thrombin stimulation of the vascular cell adhesion molecule-1 promoter in endothelial cells is mediated by tandem nuclear factor-kappa B and GATA motifs. *J Biol Chem.* 2001;276(50):47632-47641.
- [25] Gumina RJ, Kirschbaum NE, Piotrowski K, et al. Characterization of the human platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 promoter: identification of a GATA-2 binding element required for optimal transcriptional activity. *Blood.* 1997;89(4):1260-1269.
- [26] Minami T, Rosenberg RD, Aird WC. Transforming growth factor-beta 1-mediated inhibition of the flk-1/KDR gene is mediated by a 5'-untranslated region palindromic GATA site. *J Biol Chem.* 2001;276(7):5395-5402.
- [27] Han X, Boyd PJ, Colgan S, et al. Transcriptional up-regulation of endothelial cell matrix metalloproteinase-2 in response to extracellular cues involves GATA-2. *J Biol Chem.* 2003;278(48):47785-47791.
- [28] Fahmy RG, Khachigian LM. Suppression of Growth Factor Expression and Human Vascular Smooth Muscle Cell Growth by Small Interfering RNA Targeting EGR-1. *J Cell Biochem.* 2007;100(6):1526-1535.
- [29] Oltmanns U, Chung KF, Walters M, et al. Cigarette smoke induces IL-8, but inhibits eotaxin and RANTES release from airway smooth muscle. *Respir Res.* 2005;6(1):74-83.
- [30] Mo Y, Wan R, Feng L, et al. Combination Effects of Cigarette Smoke Extract and Ambient Ultrafine Particles on Endothelial Cells. *Toxicol In Vitro.* 2012;26(2):295-303.
- [31] 张晓, 胡晓兰, 徐仓宝, 等. 香烟尘粒对血管平滑肌细胞增殖的作用 [J]. *中国动脉粥样硬化杂志*, 2002, 10(4):294-296.
- [32] Han W, Liu GN. EGR-1 decoy ODNs inhibit vascular smooth muscle cell proliferation and neointimal hyperplasia of balloon-injured arteries in rat. *Life Sci.* 2010;86(7-8):234-243.
- [33] Liu QF, Yu HW, Liu GN. Egr-1 upregulates OPN through direct binding to its promoter and OPN upregulates Egr-1 via the EPK pathway. *Mol Cell Biochem.* 2009;332(1-2):77-84.
- [34] Hiel G, Cibelli G. Regulation of life and death by the zinc finger transcription factor Egr-1. *J Cell Physiol.* 2002; 193: 287-292.
- [35] Antiago FS, Lowe HC, Kavurma MM, et al. New DNA enzyme targeting Egr-1 mRNA inhibits vascular smooth muscle proliferation and regrowth factor injury. *Nat Med.* 1999; 5: 1264-1269.
- [36] Ning W, Dong Y, Sun J, et al. Cigarette Smoke Stimulates Matrix Metalloproteinase-2 Activity via EGR-1 in Human Lung Fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2007; 36: 480-490.
- [37] Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res* 2002;90:251-262.
- [38] Kuzuya M, Iguchi A. Role of matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *J Atheroscler Thromb* 2003;10:275-282.
- [39] Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circ Res.* 1995;77:863-868.
- [40] Cheng XW, Kuzuya M, Nakamura K, et al. Mechanisms underlying the impairment of ischemia-induced neovascularization in matrix metalloproteinase 2-deficient mice. *Circ Res.* 2007;100:904-13.
- [41] Cheng XW, Kuzuya M, Kim W, et al. Exercise training stimulates ischemia-induced neovascularization via phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent hypoxia-induced factor-1 alpha reactivation in mice of advanced age. *Circulation.* 2010; 122: 707-716.
- [42] Cheng XW, Song H, Sasaki T, et al. Angiotensin type 1 receptor blocker reduces intimal neovascularization and plaque growth in apolipoprotein E-deficient mice. *Hypertension.* 2011;57:981-989.
- [43] Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res.* 2002;90:251-262.
- [44] Jenkins GM, Crow MT, Bilato C, et al. Increased expression of membrane type Matrix metalloproteinase and preferential localization of matrix metalloproteinase 2 to the neointima of balloon injured rat carotid arteries. *Circulation.* 1998;97(1): 82-90.
- [45] 吴旻, 李玉光, 闫纯英, 等. 基质金属蛋白酶和氧化应激在大鼠动脉粥样硬化中的表达 [J]. *中国心血管病研究*, 2007; 5(1): 60-62.
- [46] Carty CS, Huribal M, Marsan BU, et al. Nicotine and its metabolite cotinine are mitogenic for human vascular smooth muscle cells. *J Vasc Surg.* 1997;25(4): 682-688.