

胞瘤 HepG₂ 细胞系中的研究发现,二甲双胍可以增加 AMPK,增加乙酰辅酶 A 的磷酸化,并相应地增加 AMPK 的活性和抑制乙酰辅酶 A 的活性,从而减少高糖引起的甘油三酯和胆固醇的聚集,减轻了 IR^[11]。本研究也证明,二甲双胍可以通过抑制肝脏 CYP2E1 表达:改善了高脂饮食诱导的胰岛素抵抗和“脂毒性”,减轻了肝脏脂肪变的程度,与文献报道相同^[12]。二甲双胍在大鼠非酒精性脂肪肝形成的过程显示了有效的治疗作用,说明二甲双胍可以通过减轻胰岛素抵抗,抑制 CYP2E1 表达,治疗非酒精性脂肪肝。

参考文献

- 1 Anstee QM, McPherson S, Day CP. How big a problem is non-alcoholic fatty liver disease[J]. *BMJ*, 2011, 343: d3897
- 2 Zou Y, Li J, Lu C, *et al.* High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Life Sci*, 2006, 79(11): 1100-1107
- 3 Li Z, Yang S, Lin H, *et al.* Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatology*, 2003, 37(2): 343-350
- 4 Gomez-Lechon MJ, Jover R, Donato T, *et al.* Long-term expression of differentiated functions in hepatocytes cultured in three-dimensional collagen matrix[J]. *J Cell Physiol*, 1998, 177(4): 553-562
- 5 Verrijken A, Francque S, Van Gaal L. The metabolic syndrome and the liver[J]. *Acta Gastroenterol Belg*, 2008, 71(1): 48-59
- 6 Aubert J, Begriche K, Knockaert L, *et al.* Increased expression of cytochrome P450 2E1 in nonalcoholic fatty liver disease: mechanisms and pathophysiological role[J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2011, 35(10): 630-637
- 7 Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two“hits”[J]. *Gastroenterology*, 1998, 114(4): 842-845
- 8 Choudhury J, Sanyal AJ. Insulin resistance and the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Clin Liver Dis*, 2004, 8(3): 575-94
- 9 Nair S, Diehl AM, Wiseman M, *et al.* Metformin in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a pilot open label trial[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2004, 20(1): 23-28
- 10 Huypens P, Quartier E, Pipeleers D, *et al.* Metformin reduces adiponectin protein expression and release in 3T3-L1 adipocytes involving activation of AMP activated protein kinase[J]. *Eur J Pharmacol*, 2005, 518(2-3): 90-95
- 11 Zang M, Zuccollo A, Hou X, *et al.* AMP-activated protein kinase is required for the lipid-lowering effect of metformin in insulin-resistant human HepG2 cells[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(46): 47898-47905
- 12 Chatuphonprasert W, Nemoto N, Sakuma T, *et al.* Modulations of cytochrome P450 expression in diabetic mice by berberine[J]. *Chem Biol Interact*, 2012, 196(1-2): 23-29

(收稿日期:2013-04-25)

(修回日期:2013-05-23)

可溶性 Jagged1 对大鼠肺动脉高压的抑制作用

肖永光 龚 丹 曹 霞 毛志福

摘 要 目的 Notch 在肺动脉高压形成过程中起到重要作用,本文拟探讨可溶性 Jagged1(sJag1)对 MCT 诱导的大鼠肺动脉高压的影响。**方法** 用 MCT 诱导 SD 大鼠形成肺动脉高压,分别用载体和 sJag1 复合体在肺动脉高压诱发开始时加以治疗,测量治疗后肺动脉压和血管中层厚度比例,以及 notch1 和 Jagged1 蛋白的表达,并检测血管平滑肌细胞的增生和凋亡情况。**结果** 与载体治疗组相比,sJag1 治疗可以通过抑制血管平滑肌细胞增生并促进其凋亡,从而明显缓解肺动脉高压和减轻肺血管中层厚度。**结论** sJag1 对 MCT 诱导的大鼠肺动脉高压有明显的抑制作用。

关键词 notch 信号 肺动脉高压 可溶性 Jagged1

Soluble Jagged-1 Inhibits Pulmonary Hypertension by Attenuating Notch Signaling in Rat. Xiao Yongguang, Gong Dan, Cao Xia, Mao Zhifu. *Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei 430060, China*

Abstract Objective To investigate the effect of soluble Jagged-1 (sJag1) on MCT-induced pulmonary hypertension (PH) in rats. **Methods** To induce HP in SD rats with MCT, and treat with carrier and sJag1 complex at the beginning of PH, then measure the pulmonary artery pressure, vascular media thickness ratio, notch1 and Jagged1 protein expression, and proliferation and apoptosis of vascular smooth muscle cells. **Results** Compared with the carrier-treated group, sJag1 can significantly relieve pulmonary hypertension

and reduce pulmonary vascular medial thickness by inhibiting vascular smooth muscle cell proliferation and apoptosis. **Conclusion** sJag1 can significantly inhibit MCT - induced pulmonary hypertension in rats.

Key words Notch signaling; Pulmonary hypertension; Soluble Jagged - 1

肺动脉高压 (pulmonary arterial hypertension, PAH) 包括血管收缩和血管重塑两个主要环节,前者为功能性改变,后者为器质性改变,最终可致右心室肥厚甚至功能衰竭。器质性 PAH 主要是由肺小动脉壁中层增厚、管腔狭窄所致。有研究证实中层增厚的主因是肺动脉平滑肌细胞 (pulmonary arterial smooth muscle cells, PSMCs) 凋亡减少,增生相对不变,致 PSMCs 大量聚集,导致管壁增厚^[1]。有研究表明 Notch 信号通路在肺动脉高压的形成过程中起到非常重要的作用。Notch 信号通路是一个非常保守的信号通路,其中共有 2 个受体 (Jagged1 和 Jagged2) 和 3 个配体 (Dll1, Dll3 和 Dll4), γ - 促分泌酶复合体酶切释放 Notch 受体的活化形式 NICD 和 Herp 等。Notch 活化后,不仅可以活化细胞周期蛋白的功能,诱导 vSMCs 细胞发生增生,还可通过其下游产物调控细胞内 myocardin 的表达,促使细胞表型发生变化^[2,3]。可溶性 Jagged1 (soluble Jagged - 1, sJag1) 是一种人工合成的 notch 受体,能够干预 notch 信号通路,影响其调控作用,但 sJag1 对肺动脉高压的影响目前尚不清楚^[4]。本研究利用野百合碱建立大鼠肺动脉高压模型,拟研究 sJag1 对肺动脉高压中血管平滑肌细胞增殖和细胞表型变化的影响。

材料与方法

1. 动物模型制作: Sprague - Dawley (SD) 大鼠均购于 Jackson 实验室,每组 8 只,雌雄不限,鼠龄 8 ~ 10 周,体重 220 ~ 250g。在实验开始前 1 周自由采食食物和水分。野百合碱 (monocrotaline, MCT) 按实验动物体重 60mg/kg 单剂量腹腔内注射,然后常规饲养实验动物,21 天后即可建立大鼠肺动脉高压模型。

2. 肺动脉压和主动脉压测定及肺标本获取: 2% ~ 3% 异氟醚麻醉后,32 号套管插管,进行机械通气。呼吸频率 120 次/分,潮气量 10ml/kg。麻醉诱导成功后,小鼠仰卧位,胸部正中切开,显露双肺及心脏。肺动脉收缩压用 ADInstrument 公司压力传导系统进行测量。压力测量后用含 5% 肝素的 PBS 冲洗从肺动脉内冲洗双肺,直至双肺完全变白,取出肺标本送病检。

3. sJag1 转染方法: 将含有 sJag1 核酸和转染试剂 (AdEasy™ Adenoviral Vector System, Stratagene) 混合均匀后,无需过滤,直接从大鼠尾静脉注入,3 天后即可得到肺动脉血管高表达 sJag1 蛋白的动物模型。

4. 观察指标: ①在显微镜下,用图像分析仪测量肺小动脉

外径、动脉中层壁厚、管腔面积 (VA) 和血管总面积 (TAA),然后分别计算血管壁中层厚度占管腔直径的百分比 (MT%); ②计算静脉桥中膜平滑肌细胞核 PCNA 染色阳性指数 (PCNA 指数 = PCNA 阳性细胞/视野下 100 个细胞 $\times$ 100%); ③计算静脉桥中膜平滑肌细胞核 TUNEL 染色阳性指数 (凋亡指数 = TUNEL 阳性细胞/视野下 100 个细胞 $\times$ 100%); ④将肺动脉高压肺组织置于显微镜下,游离出肺动脉主干后,裂解组织制成蛋白液后,以 Western blot 方法分析 notch1 和 Jagged1 的蛋白浓度变化。

5. 统计学方法: 采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。计量数据用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. Jagged1 的表达与肺动脉高压的严重程度成正相关: 为了研究 notch 信号通路是否直接参与肺动脉高压的形成过程,笔者检测了肺动脉动物模型中 notch1 和 Jagged1 蛋白的动态表达。如图 1 所示,在 MCT 诱导大鼠后 notch1 和 Jagged1 蛋白表达呈连续性增高。同时笔者进一步研究了 Jagged1 蛋白的这种表达连续增加与大鼠肺动脉压力的关系,结果如图 2 所示,大鼠的肺动脉压增加和 Jagged1 蛋白的表达增加存在明显的相关性 ($P < 0.05$)。

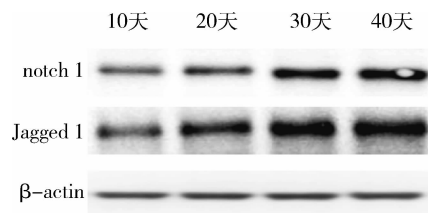


图 1 notch1 和 Jagged1 随时间的表达变化

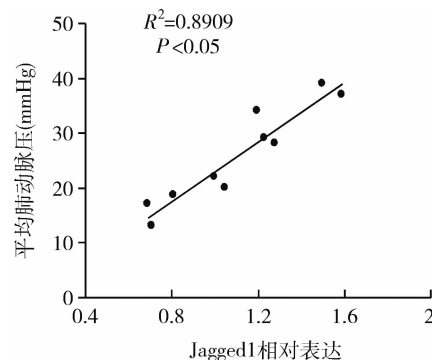


图 2 肺动脉高压和 Jagged1 蛋白表达的相关性

2. sJag1 能够缓解肺动脉高压的形成: 为了检测 sJag1 对肺动脉高压的形成是否存在影响, 笔者在 MCT 诱导阶段就对大鼠实施 sJag1 治疗, 结果显示治疗组 (Ad-sJag1) 与对照组 (载体) 相比, 前者的肺动脉压明显降低, 两者相比有统计学差异 ($P < 0.05$) (图 3)。笔者进一步检测了两组实验动物的中层厚度比例, 结果显示在 MCT 诱导后第 21 天和第 42 天, 两组有统计学差异 ($P < 0.05$) (图 4)。

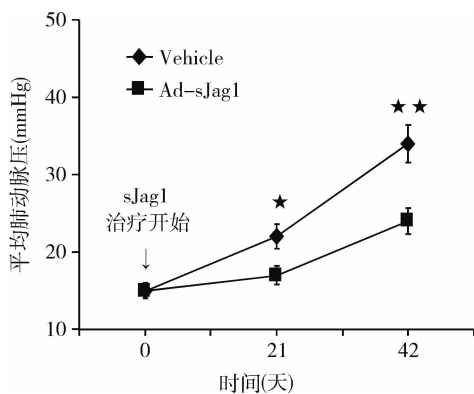


图 3 Ad-sJag1 对肺动脉压力的影响

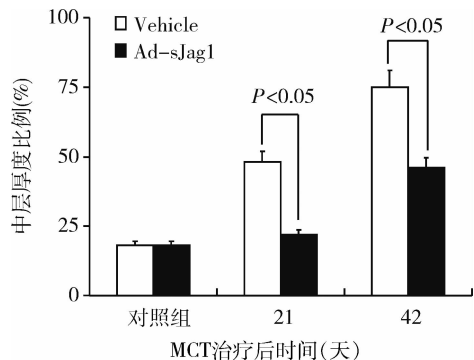


图 4 Ad-sJag1 对肺血管中层的影响

3. Ad-sJag1 抑制肺血管平滑肌细胞的增生: 为了进一步探讨 sJag1 抑制肺动脉高压的机制, 笔者研究了大鼠肺动脉血管的细胞增生和凋亡情况, 如图 5 所示, 结果显示实验组 (Ad-sJag1) 与对照组 (vehicle) 相比, 前者肺动脉血管平滑肌细胞 PCNA 阳性指数明显低于对照组, 两组相比有统计学差异 ($P < 0.05$), 表示前者血管平滑肌细胞增生程度明显低于后者。与此相反, 如图 6 所示, 结果显示实验组 (Ad-sJag1) 与对照组 (vehicle) 相比, 前者肺动脉血管平滑肌细胞 TUNEL 阳性指数明显高于对照组, 两组相比有显著性差异 ($P < 0.05$), 表示前者血管平滑肌细

胞凋亡程度明显高于后者。

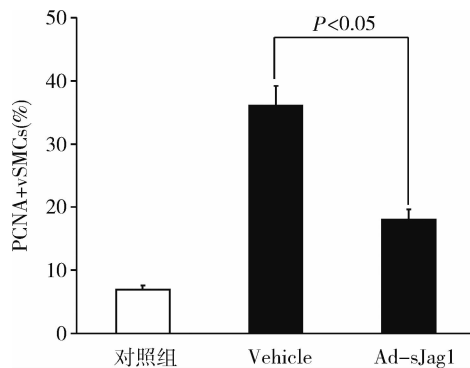


图 5 Ad-sJag1 对血管平滑肌细胞增生的影响

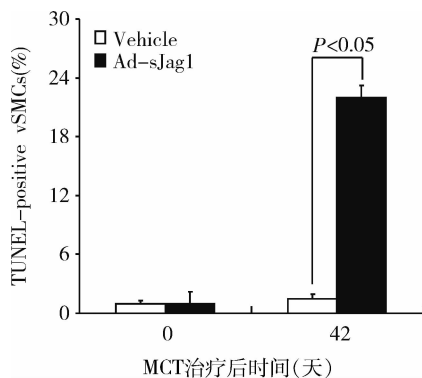


图 6 Ad-sJag1 对血管平滑肌细胞凋亡的影响

讨 论

本实验结果显示 sJag1 能够通过阻断 notch 信号通路, 抑制肺血管平滑肌细胞的增生并促进其凋亡, 起到缓解肺动脉高压的作用。

虽然肺动脉高压的发病机制及防治策略历来都是医学界相关学科亟待解决的重要课题, 但目前仍缺乏有效的治疗手段和方法。现在研究发现各种类型肺动脉高压形成的主要原因肺动脉血管平滑肌细胞的大量增生并伴有凋亡减少, 造成细胞在血管内堆积, 管壁增厚、管腔狭窄, 肺血管阻力增加, 肺动脉压力增高, 最终导致右心室肥厚甚至衰竭^[5]。本实验结果和其他研究均表明 notch/Jagged 信号通路在肺动脉高压的形成过程中起重要作用, 且本研究还进一步显示 Jagged1 的表达与肺动脉高压的严重程度呈正相关^[6]。可溶性 Jag1 (sJag1) 和血管平滑肌细胞的 Jagged1 均能竞争性与 notch 蛋白相结合, 但两者产生的效果却完全相反。肺动脉血管在受到刺激后能产生大量 Jagged1 与 notch 蛋白, 两者结合后能够活化 notch 信号通路, 能够诱导肺血管平滑肌细胞大量增

生^[7]。而 sJag1 为一种可自由移动的蛋白,其与 notch 结合后能够阻断 notch 信号通路。笔者的研究结果还显示 sJag1 抑制肺动脉高压的主要途径是抑制肺血管平滑肌细胞的大量增生并诱导其发生凋亡。这与 notch 信号通路的阻断相关,同时也为临床肺动脉高压的治疗提供新的策略和方法。

参考文献

- Schermuly RT, Ghofrani HA, Wilkins MR, *et al.* Mechanisms of disease: pulmonary arterial hypertension[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2011, 8(8):443-455
- Roca C, Adams RH. Regulation of vascular morphogenesis by Notch signaling[J]. *Genes Dev*, 2007, 21(20):2511-2524
- Li X, Zhang X, Leathers R, *et al.* Notch3 signaling promotes the development of pulmonary arterial hypertension[J]. *Nat Med*, 2009, 15

(11):1289-1297

- Caolo V, Schulten HM, Zhuang ZW, *et al.* Soluble Jagged-1 inhibits neointima formation by attenuating Notch-Herp2 signaling[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(5):1059-1065
- Morrell NW, Adnot S, Archer SL, *et al.* Cellular and molecular basis of pulmonary arterial hypertension[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54(1):20-31
- Chan SY, Loscalzo J. Pathogenic mechanisms of pulmonary arterial hypertension[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2008, 44(1):14-30
- Qiao L, Xie L, Shi K, *et al.* Notch signaling change in pulmonary vascular remodeling in rats with pulmonary hypertension and its implication for therapeutic intervention[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12):e51514

(收稿日期:2013-05-29)

(修回日期:2013-06-03)

糖尿病对乳腺癌患者预后影响的 Meta 分析

陈 颢 周济春 冯晓红

摘 要 目的 评价中国地区糖尿病对乳腺癌患者预后的影响。**方法** 检索 1991~2012 年 CNKI、万方、维普、Pubmed、EMBASE 等数据库,收集有关糖尿病影响乳腺癌患者预后的病例对照研究。以单纯乳腺癌组与乳腺癌合并糖尿病组预后差异的 OR 值为效应指标,经一致性检验后进行 OR 合并,并进行偏倚评估。采用 Revman5.0 软件进行 Meta 分析。**结果** 符合纳入标准的论文共 6 篇,包括 5487 例患者。Meta 分析结果显示,糖尿病影响乳腺癌患者的 5 年无病生存[OR = 2.4, 95% CI(1.67, 3.46)]和 5 年总生存[OR = 2.14, 95% CI(1.66, 2.77)]。**结论** 糖尿病会降低中国地区乳腺癌患者的 5 年无病生存及 5 年总生存,使乳腺癌患者预后不佳。糖尿病可能是女性乳腺癌的一个潜在预后不良的因素。

关键词 糖尿病 乳腺癌 预后 Meta 分析

Influence of Diabetes Mellitus on the Prognosis of Breast Cancer: a Meta Analysis. Chen Jie, Zhou Jichun, Feng Xiaohong. *The First Clinical Medical College of Zhejiang Chinese Medical University, Zhejiang 310053, China*

Abstract Objective To evaluate the influence of diabetes mellitus on the prognosis of breast carcinoma in China. **Methods** We conducted a meta analysis of case-control studies to assess the evidence regarding to the association between diabetes and prognosis of breast cancer. Studies were indentified through searching database including CNKI, Wanfang, Weipu, Pubmed and EMBASE, and the references of retrieved articles. Then apply meta analysis using Revman 5.0. **Results** Six studies with 5487 cases of patients were indentified according to inclusion criteria. In this metaanalysis, breast cancer patients with diabetes mellitus had significantly shorter 5-year disease free survival[OR = 2.4, 95% CI(1.67, 3.46)] and the overall 5-year survival[OR = 2.14, 95% CI(1.66, 2.77)] compared with their nondiabetic counterparts. **Conclusion** Diabetes can shorten both the 5-year disease free survival and the overall 5-year survival of breast cancer patients in China, resulting in a worse prognosis.

Key words Diabetes mellitus; Breast cancer; Prognosis; Meta analysis

近年来,糖尿病与恶性肿瘤的关系逐渐被人们重

视,目前越来越多的研究表明糖尿病与乳腺癌中存在着复杂的联系,糖尿病患者发生乳腺癌的风险极大^[1]。乳腺癌是女性中常见的恶性肿瘤,发病率不断增长,已居女性恶性肿瘤的第 1 位或第 2 位^[2]。有关糖尿病对乳腺癌预后的影响的报道并不多,目前尚