

中文題目：尿酸經由活化胞外訊息調節激酶刺激心臟纖維細胞內皮素的產生

英文題目：Uric acid stimulates endothelin-1 production in cardiac fibroblasts via extracellular signal-regulated kinase

作者：劉如濟 林家瑋 鄭志鴻 邱文達 陳錦澤*

服務單位：台北醫學大學－萬芳醫學中心
台大醫院 內科部*

前言：近年的研究報告指出：血液中尿酸濃度與高血壓及心血管疾病的發生有密切的關聯性，然而其相關的機制則不是很清楚。內皮素(endothelin-1; ET-1)為目前已知具有強力促進血管收縮作用的內生性物質，而且與高血壓及心血管疾病如冠狀動脈硬化及心臟纖維化的形成有密切關聯，然而有關尿酸對於內皮素基因的表現，在心臟纖維細胞上作用的相關機轉，目前相關的文獻仍付之闕如。根據我們過去的研究報告，於心臟纖維細胞上，活性氧族群(reactive oxygen species; ROS)有增加內皮素基因表現的作用，經由報告基因轉染入細胞的研究方法，已知內皮素基因啟動區上存在著活化蛋白-1 (activator protein-1; AP-1)轉錄因子的結合部位，可為活性氧族群所調控，而尿酸經由活化細胞內訊息傳遞的機轉，具有增加細胞內 AP-1 的生成及結合親和力的作用，是以尿酸經由增加細胞內 AP-1 的生成，再輾轉於基因轉錄的層面上，可能可以進一步活化內皮素的基因表現。然而目前在心臟纖維細胞，有關內源性內皮素是否媒介尿酸所誘發心臟纖維細胞增生的作用，以及尿酸對內皮素基因表現的直接作用，其作用的細胞內訊息傳遞的機轉，都不是很清楚。本研究目的即在於釐清心臟纖維細胞內源性的內皮素於尿酸所誘發細胞增生的作用中所扮演的角色，據以解釋尿酸造成高血壓及心血管疾病發生的細胞分子機轉。

材料及方法：於培養的初生鼠心臟纖維細胞給予不同濃度尿酸的處理後，分析去氧核糖核酸合成的增加以及內皮素的基因表現。有關細胞內 ROS 的測定使用 DCFH-DA 螢光染劑來偵測細胞內 ROS 的變化。使用 ET-1 ELISA 試劑組分析 ET-1 蛋白質的量。運用北方墨點轉印法分析細胞中 ET-1 mRNA 含量上的變化。運用西方式點墨分析法來測知胞外調節激酶 (extracellular signal-regulated kinase ; ERK) 的磷酸化。同時觀察抗氧化劑對尿酸誘發心臟纖維細胞增生及胞外調節激酶活性的作用。

結果和結論：

1. 尿酸增加細胞增生的作用可為內皮素 A 型受體拮抗劑 BQ485 所阻斷。以北方方式點墨法及 ET-1 ELISA 試劑組分析 ET-1 蛋白質的量，確定尿酸會誘發內皮素的表現。
2. 抗氧化劑如 NAC 及 DPI 等可抑制尿酸所引起之細胞內活性氧族群的增加，抗

氧化劑可抑制尿酸誘發細胞增生及內皮素基因表現，且抑制尿酸之增加胞外訊息調節激酶活性，胞外訊息調節激酶抑制劑 UO126 可完全抑制尿酸誘發內皮素基因的表現。

3.以內皮素基因啓動子區域突變分析法進一步發現在尿酸誘發內皮素基因表現時，內皮素基因啓動子區域內的活化蛋白 1 (activator protein-1) 的結合部位扮演重要的角色。

4.本研究經由釐清內源性的內皮素於尿酸所誘發細胞增生的作用中所扮演的角色，並了解尿酸經由增加細胞內活性氧族群，進一步活化內皮素基因表現，進而影響心血管系統內生性內皮素的生合成，可以據以解釋尿酸與高血壓及心血管疾病發生的相關性，並將有助於高血壓或心血管疾病化發生過程的治療及相關新藥的開發工作。