

中文題目：內皮素-1引發心臟纖維細胞增生的分子調控之研究：過氧化物產生與表皮生長因子受器活化之關聯機制

英文題目：Reactive Oxygen Species Generation Is Involved in Epidermal Growth Factor Receptor Transactivation through The Transient Oxidization of SHP-2 in Endothelin-1 Signaling Pathway in Rat Cardiac Fibroblasts

作者：陳錦澤 陳正憲* 鄭志鴻* 林恆**

服務單位：國立台灣大學醫學院內科學系及臺大醫院內科部

台北醫學大學-萬芳醫院內科學科* 中央研究院生物醫學研究所**

前言：內皮素-1是目前所知作用最強之血管收縮劑，由血管內皮細胞所產生。在心臟衰竭之患者血漿中，內皮素-1濃度會增加；內皮素也會引起心臟纖維細胞增生以及增加纖維蛋白、膠原蛋白等胞外間質蛋白的重組，造成間隙纖維化，因此會導致心舒期心臟功能失常。在內皮素-1訊號傳遞路徑中，均會伴隨著表皮生長因子受器(EGFR)之活化的發生，以及引發細胞內過氧化物(ROS)的增生。然而，此二訊號傳遞的重要步驟之間的關聯性仍不清楚。近年來已有研究報告顯示過氧化物能暫時性地抑制蛋白質酪胺酸去磷酸酶(PTP)，此機制很可能在ROS的增生及EGFR活化的關聯中扮演關鍵性的角色。

材料及方法：本實驗以大鼠心臟纖維細胞為材料，研究在內皮素-1的訊號傳遞路徑中，ROS的增生及EGFR活化之關聯機制。實驗中利用過氧化物與表皮生長因子受器的抑制劑，配合北方墨點法分析以了解其關聯性。並且重新設計一套避免使用大量同位素的PTP活性孔雀石綠測定法，以探討PTP在ROS的增生及EGFR活化之間所扮演的角色。

結果：在內皮素-1處理過的大鼠心臟纖維細胞中，EGFR磷酸化及ROS增生都明顯發生。NAD(P)H氧化酶抑制劑(DPI)及ROS清除劑(NAC)均能抑制內皮素-1所引發的EGFR磷酸化，而EGFR抑制劑(AG1478)卻不能抑制內皮素-1所引發的ROS增生。不過，內皮素-1訊號傳遞路徑的下游訊號分子-ERK，其磷酸化都會受到DPI、NAC 及AG1478所抑制。在EGFR免疫沈澱實驗中，去磷酸酶SHP-2被發現在內皮素-1的處理下，會與EGFR相結合。以修改的PTP活性孔雀石綠測定法檢驗SHP-2的活性，結果顯示在內皮素-1的處理下，SHP-2會被暫時氧化，以至於失去去磷酸的活性，而此暫時性的抑制會被DPI及NAC的處理所逆轉。在SHP-2基因表現被抑制的心臟纖維細胞中，ET-1引發的EGFR磷酸明顯地被加強，並且不會受到DPI及NAC處理的影響。不過，此種加強作用卻會受到MMP抑制劑GM6001及heparin binding (HB)-EGF中和抗體的抑制。

結論：我們的實驗結果顯示：在心臟纖維細胞中，雖然內皮素-1引發EGFR活化是透過MMP及HB-EGF路徑，但內皮素-1引發的ROS增生能暫時性地抑制SHP-2的活性，以使活化EGFR的訊號能下傳至分裂增生的訊息路徑。