

叶酸在心脑血管疾病防治中的机遇与挑战

成彦琼^{1,2}, 张浩², 王威², 顾小飞², 刘爱军² (1. 第二军医大学长海医院泌尿外科, 上海 200433; 2. 第二军医大学药学院药理学教研室, 上海 200433)

[摘要] 叶酸缺乏可导致高同型半胱氨酸血症, 而高同型半胱氨酸血症是心脑血管疾病的独立危险因素。过去认为补充叶酸可降低体内同型半胱氨酸水平, 从而预防心脑血管疾病的发生。但随着大量临床随机对照试验的进行, 人们发现降低同型半胱氨酸血症并不能为心脑血管疾病患者带来益处, 脑卒中方面的益处还需要更多临床数据证明。叶酸等 B 族维生素在心脑血管疾病的预防领域还存在着很大的挑战。笔者就目前叶酸等在心脑血管疾病中的应用现状及存在问题作一综述。

[关键词] 叶酸; B 族维生素; 同型半胱氨酸; 心血管疾病; 脑卒中

[中图分类号] R977.2*2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2013)05-0330-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2013.05.003

New challenge of folic acid on prevention of cardiovascular and cerebrovascular diseases

CHENG Yan-qiong^{1,2}, ZHANG Hao², WANG Wei², GU Xiao-fei², LIU Ai-jun² (1. Department of Urology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] The lack of folic acid which could cause hyperhomocysteine had revealed an obviously relationship with cardiovascular and cerebrovascular diseases. Plenty of studies had shown that hyperhomocysteine was an independent risk factor of cardiovascular and cerebrovascular diseases. Folic acid supplementation might be an effective method to decrease homocysteine and prevent cardiovascular and cerebrovascular diseases, while some studies question about it. So there was a new challenge of folic acid on prevention of cardiovascular and cerebrovascular diseases.

[Key words] folic acid; B-vitamin; homocysteine; cardiovascular disease; stroke

叶酸, 又称蝶酰谷氨酸, 是由蝶啶、对氨基水杨酸及谷氨酸残基组成的一种水溶性 B 族维生素。四氢叶酸是其活性形式, 作为体内生化反应中一碳单位转移酶系的辅酶, 是一碳单位的传递体。主要用于防治因其缺乏所引起的巨幼红细胞性贫血、神经管畸形、抑郁症、肿瘤以及溃疡性结肠炎等疾病。

近年来, 高同型半胱氨酸血症 (hyper-homocysteinemia, H-Hcy) 与心脑血管疾病的关系研究将叶酸推上一个新的舞台——心脑血管疾病的预防。原因很简单, 同型半胱氨酸 (homocysteine, Hcy) 与心脑血管疾病密切相关。很多研究认为 Hcy 可以作为心脑血管疾病的一个独立的危险因子, 而叶酸等是有效而廉价的降低 Hcy 药物。但目前的很多临床研究的结果与上述观点却不一致。作者就目前叶酸等在心脑血管疾病中的应用现状及存在问题作一综述, 以期对叶酸的临床应用提供一些建议。

1 叶酸等与 Hcy 的代谢

甲硫氨酸是人体八种必需氨基酸之一, 从饮食中被摄取后, 在人体内经去甲基化生成 S-腺苷同型半胱氨酸。同型半胱氨酸是 S-腺苷同型半胱氨酸水解后的产物, 是甲硫氨酸和半胱氨酸代谢过程中重要的中间产物之一。人体内同型半胱氨酸的代谢途径主要有三条: 即经再甲基化途径重新生成甲硫氨酸, 经转硫途径生成半胱氨酸和 α -酮丁酸, 以及经载体易化扩散到细胞外。叶酸与维生素 B₁₂ 在 Hcy 的再甲基化途径中扮演着至关重要的角色, 在甲硫氨酸合成酶 (methionine synthase, MS) 的催化下, Hcy 再甲基化形成甲硫氨酸, 5-甲基四氢叶酸 (5-methylene tetrahydrofolate, 5-MTHF) 为反应提供甲基, 而维生素 B₁₂ 则是 MS 的必需辅助因子。因此, 叶酸的缺乏将导致体内 Hcy 水平明显升高, 从而导致相关疾病的发生。国外有项随机对照试验证实, 每日摄入 0.5~5 mg 叶酸能明显降低血浆 Hcy 水平^[1]。此外, 因维生素 B₆ 是同型半胱氨酸转硫

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (81273505)。

[作者简介] 成彦琼 (1981-), 女, 本科。E-mail: cyqlz@163.com。

[通讯作者] 刘爱军。E-mail: mrliaijun@163.com。

途径中的关键酶胱硫醚- β -合成酶的必需辅助因子,它的缺乏将导致 H-Hcy。国外曾有研究表明,在一般人群中,2/3 的 H-Hcy 与叶酸、维生素 B₆、维生素 B₁₂ 的缺乏密切相关^[2]。

H-Hcy 一方面通过使内皮源性内皮源性收缩因子失活而导致血管内皮的损伤,另一方面通过促进血管平滑肌细胞增殖导致内皮细胞功能紊乱^[3,4]。此外,Hcy 还可能通过损伤血小板、破坏凝血和纤溶平衡、引起脂质代谢异常等途径,加快心脑血管疾病的发生。

2 Hcy 与心脑血管疾病的关系

2.1 Hcy 和心血管疾病的关系 早在 1969 年,McCully 在研究中就发现 H-Hcy 在动脉粥样硬化形成中起重要作用^[5]。1976 年 Wilcken 等^[6]第一次提供了一般人群 Hcy 代谢异常和冠心病有关的证据。自此,很多实验室和流行病学研究均证实 Hcy 在心血管疾病中的作用。目前,大量的研究证实,H-Hcy 是促进心脑血管疾病发生的危险因素之一。Hcy 可直接导致血管内皮功能紊乱,促进心血管疾病的发生^[7]。Hcy 轻中度增加,就能增加疾病发生的风险^[8,9]。2002 年,Hcy 研究团队荟萃了 1966~1999 年间 30 个前瞻性或回顾性研究数据,发现血清 H-Hcy 水平高低与心血管疾病发生有一定的相关性。调整年龄、性别、吸烟状况、收缩压、总胆固醇水平等因素的影响后,Hcy 降低 3 $\mu\text{mol/L}$,心肌缺血性疾病 (ischemic heart disease, IHD) 发生率降低 11%^[10]。另外,利用 5,10-亚甲基四氢叶酸酯还原酶中 677 个基因代码的 T 碱基替换 C 碱基可以降低其酶活力,结果 TT 基因型的个体 Hcy 比非强化的 CC 基因型个体高 20%。还有学者通过 meta 分析基因型对心血管疾病事件的影响,发现 Hcy 降低 3 $\mu\text{mol/L}$,TT 和 CC 基因型相应的缺血性心脏病事件发生率降低 10% 和 15%^[10,11]。

2.2 Hcy 与脑卒中的关系 研究显示,H-Hcy 与脑卒中之间有着显著的相关性^[12]。Perry 等人在 1995 年进行的临床调查研究发现,在脑卒中患者中,Hcy 含量显著高于健康人。另外,在急性大动脉粥样硬化血栓形成所致的脑卒中 (large artery atherothrombotic stroke, LAAS) 病人中,在疾病发生的 48 h 内,Hcy 含量较对照组上升了 29.41% ($P < 0.0001$),而叶酸与维生素 B₁₂ 的值较对照组分别下降了 27.06% 和 22.56% ($P < 0.0001$)^[13]。另有文献报道,血液中 Hcy 轻度的增加,就有可能增加卒中疾病发生的风险^[14]。血浆 Hcy 浓度每升高 5 $\mu\text{mol/L}$,脑血管意外就增加 20%~40%^[15],并且 Hcy 的升高幅度与性别可能也

有一定的关系^[13]。另外,Hcy 水平下降,脑卒中事件发生率也会有显著地降低。Hcy 降低 3 $\mu\text{mol/L}$,脑卒中发生率下降 19%^[9]。以上研究说明 H-Hcy 可能是一个独立的脑卒中危险因素^[16]。

3 叶酸与心脑血管疾病的关系

根据以上发现,人们认为降低 H-Hcy,可以预防心脑血管疾病。而 H-Hcy 易于治疗,且费用低。通过每天补充叶酸 0.5~5.0 mg,就可以有效地降低 Hcy 25% 左右^[14]。在添加维生素 B₁₂ 后 Hcy 水平可再下降 7%,但维生素 B₆ 却没有显著的效果^[17]。使用叶酸等降低 Hcy,预防心脑血管疾病的研究一度成为研究的热点话题。

3.1 叶酸与心血管疾病 Woo 等在 29 名 H-Hcy 患者中证实叶酸治疗可降低 Hcy 水平,改善血管内皮依赖性舒张功能^[18]。另有研究以冠心病患者为对象,证实单独补充叶酸或联合补充叶酸和其它 B 族维生素,能明显降低 Hcy 水平,并改善血管内皮功能^[19,20]。然而这些数据并不能说明叶酸等治疗对减少心血管疾病终末事件的发生有益。现有的以补充叶酸降低 Hcy 预防心血管疾病的数据不尽如人意。Lonn 等在平均为期 5 年的时间内,对 5 522 例患有血管疾病或糖尿病的患者 (≥ 55 岁) 随机每天给予 2.5 mg 叶酸,50 mg 维生素 B₆ 和 1 mg 维生素 B₁₂,观察药物对心肌梗死等心脑血管疾病导致的病人死亡事件发生的影响。结果发现,治疗组有 519 例 (18.8%) 患者因心血管意外死亡;而在对照组,有 547 例 (19.8%) 患者发生死亡 (相对危险度: 0.95; 95% CI, 0.84~1.07; $P = 0.41$),与对照组相比,治疗组并没有显著降低由于心血管原因、心肌梗死所引起的死亡风险^[21]。说明了叶酸、维生素 B₆ 和维生素 B₁₂ 结合疗法并不能降低患者心血管事件的发生风险。

2008 年几个大样本的随机对照试验报告了补充叶酸对预防心血管疾病的调查结果。SEARCH 的试验包括至少 12 000 名参与者,结果也证明降低 Hcy 并未起到降低心血管疾病风险的作用^[22]。补充叶酸/维生素 B₁₂ 组成人心血管事件的危险比率和安慰剂组对比是 1.04 (95% CI, 0.95-1.14),相对危险度超过 7 次试验为 1.02 (95% CI, 0.98-1.06)。Ebbing 等报告所有引起死亡的复杂的终末点,非致命的急性心梗,因不稳定性心绞痛紧急入院,非致命性的血栓栓塞卒中,危害比为 1.09 (95% CI, 0.90-1.32; $P = 0.36$)^[23]。此外,在女性抗氧化和叶酸心血管疾病研究中,补充叶酸和安慰剂组相比,发生心血管疾病的相对危险度是 1.03 (95%

CI, 0.9-1.19)^[24]。以上3个大样本的随机对照试验均证明叶酸对心血管疾病的预防作用微乎其微。

此外,有研究显示,急性心梗病人,每天使用0.8 mg的叶酸和B族维生素进行治疗,治疗40个月,发现虽然Hcy含量下降27%,但心血管意外事件(包括再发心梗,脑卒中)的发生率没有降低,并且长期服用叶酸可能存在着一定的副作用。作者最后建议不使用叶酸来预防心血管疾病^[25]。

除了上面大规模随机对照试验,一些小规模的研究也直接或间接地通过心血管标记物,如颈动脉内膜中层厚度(intima-media thickness, IMT)评估了B族维生素与心血管风险。Wrono等给510名慢性透析病人分别服用1.5 mg或15 mg叶酸2年,最终发现不同剂量的叶酸对降低心血管事件的发生率和死亡率无差别^[26]。Liem等在非强化区对593名稳定型心绞痛患者给与小剂量叶酸(0.5 mg/d)或安慰剂2年,结果发现实验组的心血管事件临床终点并没有缩短^[27]。Zoungas等通过颈动脉IMT和临床活动作为主要的终点,观察315名慢性肾功能衰竭患者,随机给与大剂量叶酸(15 mg/d)或安慰剂,平均时间为3.6年,发现患者动脉粥样化的进程、心血管发病率或死亡率并没有降低^[28]。

3.2 叶酸与脑卒中 以脑卒中为单一终末事件的研究报道相对较少,一般都是作为病人疾病再发的重要终末事件之一,依附于心血管疾病的研究中。由于脑卒中发生率、死亡率相对较低,且病人治疗前患有心血管等复杂疾病,导致结果存在着一定的局限。例如Lonn等给予心血管疾病或糖尿病患者(≥ 55 岁)叶酸等处理。药物对于心血管疾病的发生没有显著地影响。对于脑卒中的作用,叶酸联合治疗组脑卒中相对死亡率降低了24%,但作者认为结果并不能说明叶酸复方可以降低脑卒中死亡率。原因是在本研究中,发生脑卒中死亡病人的数量远远少于心血管意外数量,可信区间(confidence intervals)很大,且结果无法进行校正。作者在试验中还发现,叶酸治疗对于短暂性脑缺血发作(transient ischemic attacks)无效^[21]。

其他关于叶酸与心血管疾病患者脑卒中的二级预防的研究也没有得到很好的防治效果。2006年Bazzano等的meta分析显示,对有心血管或终末期肾病的患者补充叶酸,这对包括脑卒中、心血管疾病等任何原因引起的死亡基本无影响,经分析认为:迄今为止评估叶酸效果的试验都是在二级预防而不是一级预防的基础上完成的。当然,造成以上试验结果的冲突原因较多,比如研究人群的异质性和研究时间,上述试验研究时间都相对较短,可能并不能观

察到远期效应^[29]。

最近, Martí-Carvajal等评价使用药物叶酸、VB₁₂、VB₆进行“Hcy干预治疗”(homocysteine-lowering interventions, HLI),对心脑血管疾病患者或正常人群疾病的预防作用。作者收集了Cochrane数据库里的所有对照试验(CENTRAL)数据,涵盖Cochrane图书馆(2008), MEDLINE (1950~2008.8), EMBASE (1988~2008.8), LILACS (1982~2008.9), AMED (1985~2008.8), 科学ISI网(1993~2008.8)和Cochrane中风类疾病数据库(2007.4)数据。统计心肌梗死和脑卒中发生情况,排除终末期肾脏疾病。最终数据涉及24 210例病人。其结果显示,HLI并不能降低致命性或非致命性心肌梗死,及脑卒中的发生率,现有的临床数据并不支持叶酸类药物对心脑血管疾病有预防作用^[30]。

虽然叶酸等在心血管疾病防治中的数据不理想,但在脑卒中中的一级预防研究方面却让人看到一些曙光。有学者在美国和加拿大实施一项大样本试验干预的人群定向研究,该研究以美国、加拿大自1998年起推广应用强化叶酸含量的浓缩谷物产品为背景,将1998~2002年间美、加两国与同期未推广应用高叶酸含量谷物产品的英格兰、威尔士以及1990~1997年美、加两国全年龄层脑卒中死亡率的下降值作比较,结果发现,美国在实行强化叶酸后,血浆平均叶酸浓度增加而同型半胱氨酸浓度下降;

美国脑卒中死亡率由1990~1997年间的年均下降0.3%变为1998~2002年间的年均下降2.9% ($P=0.0005$),而加拿大的脑卒中死亡率则由1990~1997年间的年均下降1.0%变为1998~2002年间的年均下降5.4% ($P<0.0001$)^[19]。该项研究充分表明叶酸可以有效降低脑卒中的死亡率。另外,2007年,中国学者搜集了8项随机的关于补充叶酸对卒中等终末事件影响的临床试验,分析发现,补充叶酸,可以显著地将脑卒中发生率降低18% (RR 0.82, 95% CI 0.68~1.00; $P=0.045$),如果持续使用36个月,Hey降低20%以上,脑卒中预防效果更为理想(0.71, 0.57~0.87; $P=0.001$)^[32]。

4 结语

基于目前的临床研究,很多研究显示叶酸等通过降低Hcy浓度并不能有效地降低心血管疾病发生。然而,鉴于几乎所有的心梗发生归因于斑块破裂,而血栓形成在中风的病理生理过程中具有非常重要的作用。Hcy可以显著地促进血栓形成。因此,降低Hcy对中风的防治可能更有意义,中风与心梗等心血管疾病在使用叶酸等进行预防的效果可

能会存在不同^[33]。另外明确叶酸等治疗对细胞内 Hcy 水平的真实影响^[34],或许有助于理解基础研究
与临床试验结果的分歧。

【参考文献】

- [1] Collaboration HLT. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomized trials [J]. *BMJ*, 1998, 316(7135):894.
- [2] Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, *et al.* Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population[J]. *JAMA*, 1993, 270(22):2693.
- [3] NOSTUART JM, Derek L, Ian FW, *et al.* Folate, homocysteine, endothelial function and cardiovascular disease[J]. *Circ Res*, 2000, 87(5):840.
- [4] Gottsater A, Forsblad J, Mattiasson I, *et al.* Decreasing plasma endothelin-1 and unchanged plasma neopterin during folate supplementation in hyperhomocysteinemia [J]. *Int Angiol*, 2002, 21(2):158.
- [5] McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis[J]. *Am J Pathol*, 1969, 56(1):111.
- [6] Wilcken DE, Wilcken B. The pathogenesis of coronary artery disease. A possible role for methionine metabolism [J]. *J Clin Invest*, 1976, 57(4):1079.
- [7] Ward M. Homocysteine, folate and cardiovascular disease[J]. *Int J Vitam Nutr Res*, 2001, 71(3):173.
- [8] Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration. Dose-dependent effects of folic acid on blood concentrations of homocysteine: a meta-analysis of the randomized trials [J]. *Am J Clin Nutr*, 2005, 82(4):806.
- [9] Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis [J]. *JAMA*, 2002, 288(16):2015.
- [10] Kelly PJ, Rosand J, Kistler JP, *et al.* Homocysteine, MTHFR 677C→T polymorphism, and risk of ischemic stroke: results of a meta-analysis [J]. *Neurology*, 2002, 59(4):529.
- [11] Lewis SJ, Ebrahim S, Davey Smith G. Meta-analysis of MTHFR 677C→T polymorphism and coronary heart disease: does totality of evidence support causal role for homocysteine and preventive potential of folate [J]. *BMJ*, 2005, 331(7524):1053.
- [12] Sarkar PK, Lambert LA. Aetiology and treatment of hyperhomocysteinaemia causing ischaemic stroke [J]. *Int J Clin Pract*, 2001, 55(4):262.
- [13] Oncel C, Demir S, Güler S, *et al.* Association between cholesterol, homocysteine and silent brain infarcts [J]. *Intern Med J*, 2009, 39(3):150.
- [14] Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration. Dose-dependent effects of folic acid on blood concentrations of homocysteine: A meta-analysis of the randomized trials [J]. *Am J Clin Nutr*. 2005, 82(4):806.
- [15] Fallon UB, Virtamo J, Young I, *et al.* Homocysteine and cerebral infarction in finnish male smokers [J]. *Stroke*, 2003, 34(6):280.
- [16] Liu AJ, Guo JM, Xia WL, *et al.* The new strategies for the prevention of stroke [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2009, 37(2):265.
- [17] Sánchez-Moreno C, Jiménez-Escrig A, Martín A. Stroke: roles of B vitamins, homocysteine and antioxidants [J]. *Nutr Res Rev*, 2009, 22(1):49.
- [18] Woo KS, Chook P, Chan LL, *et al.* Long-term improvement in homocystein levels and arterial endothelial function after 1-year folic acid supplementation [J]. *Am J Med*, 2002, 112(7):535.
- [19] Title IM, Cummings PM, Giddens K, *et al.* Effect of folic acid and antioxidant vitamins on endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2000, 36(3):758.
- [20] Chambers JC, Ueland PM, Obeid OA, *et al.* Improved vascular endothelial function after oral B vitamins: an effect mediated through reduced concentrations of free plasma homocysteine [J]. *Circulation*, 2000, 102(20):2479.
- [21] Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ. Homocysteine Lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease [J]. *N Engl J Med*, 2006, 54(15):1567.
- [22] SEARCH Study Collaborative Group, Bowman L, Armitage J, *et al.* Study of the effectiveness of additional reductions in cholesterol and homocysteine (SEARCH): characteristics of a randomized trial among 12 064 myocardial infarction survivors [J]. *Am Heart J*, 2007, 154(5):815.
- [23] Ebbing M, Bleie O, Ueland PM, *et al.* Mortality and cardiovascular events in patients treated with homocysteine-lowering B vitamins after coronary angiography: a randomized controlled trial [J]. *JAMA*, 2008, 300(7):795.
- [24] Albert CM, Cook NR, Gaziano JM, *et al.* Effect of folic acid and B vitamins on risk of cardiovascular events and total mortality among women at high risk for cardiovascular disease: a randomized trial [J]. *JAMA*, 2008, 299(17):2027.
- [25] Bφnaa KH, Njφlstad I, Ueland PM, *et al.* Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction [J]. *N Engl J Med*, 2006, 354(15):1578.
- [26] Wrono EM, Hornberger JM, Zehnder JL, *et al.* Randomized trial of folic acid for prevention of cardiovascular events in end-stage renal disease [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15(2):420.
- [27] Liem AH, van Boven AJ, Veeger NJ, *et al.* Efficacy of folic acid when added to statin therapy in patients with hypercholesterolemia following acute myocardial infarction: a randomized pilot trial [J]. *Int J Cardiol*, 2004, 93(2-3):175.
- [28] Zoungas S, McGrath BP, Branley P, *et al.* Cardiovascular morbidity and mortality in the Atherosclerosis and Folic Acid Supplementation Trial (ASFAST) in chronic renal failure: a multicenter, randomized, controlled trial [J]. *J Am Coll Cardiol* 2006, 47(6):1108.
- [29] Bazzano LA, Reynolds K, Holder KN, *et al.* Effect of folic acid supplementation on risk of cardiovascular diseases: a meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *JAMA*, 2006, 296(22):2720.
- [30] Martí-Carvajal AJ, Solà I, Lathyris D, *et al.* Homocysteine lowering interventions for preventing cardiovascular events [J]. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009, (4):CD006612.

蛋白水平显著提高(图6)。

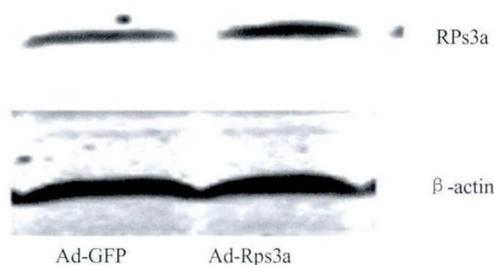


图6 Western blot 检测 RPS3a 在 NIH3T3 细胞的表达

3 讨论

核糖体蛋白 S3a 是由位于染色体 4 上的单基因编码^[6]。研究表明核糖体蛋白质 S3a/nbl 与凋亡密切相关^[7,8]。Song 等研究结果发现, RPS3a 与 Bcl-2 相互作用抑制 PARP 活性从而阻止细胞凋亡,但当 S3a 缺失时, Bcl-2 不能抑制 PARP 活性影响凋亡^[4]。另有研究发现,放线菌素 D 可以引起持续高表达 nbl 的 HL-60 细胞的凋亡,但不能促进低表达量 HepG2 细胞的凋亡^[9]。此外发现用全反式维甲酸促 HL-60 细胞分化,再用放线菌素 D 处理,结果抑制细胞凋亡^[10]。用低表达 RPS3a 的 NIH3T3 细胞建立 RPS3a 高表达稳转细胞系,结果发现 RPS3a 高表达促进 NIH3T3 细胞成瘤,而抑制升高的 RPS3a 表达则促进细胞的凋亡^[11]。但是 RPS3a 是否还有其他的核糖体外功能有待研究。

本研究在克隆人 RPS3a 基因基础上,将其克隆至重组穿梭质粒 pAdTrack-CMV 中,再转化入含骨架质粒的 BJ5183 感受态菌进行同源重组,成功构建了 pAd-RPS3a 的腺病毒表达载体。而后转染 HEK293 细胞,进行腺病毒载体的包装与扩增,并转染 NIH3T3 细胞验证。由于穿梭载体 pAdTrack-CMV 自身携带绿色荧光蛋白基因,可重组至腺病毒骨架质粒 pAdEasy 中表达,因此可通过观察 GFP 表达情况对病毒转染效率进行观察。本研究证明重组 RPS3a 腺病毒能成功在 NIH3T3 细胞中高表达,该结果为进一步研究 RPS3a 功能提供了必要的物质

基础。

【参考文献】

[1] Lindstrom MS. Emerging functions of ribosomal proteins in gene-specific transcription and translation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379(2):167.

[2] Lecomte F, Szpirer J, Szpirer C. The S3a ribosomal protein gene is identical to the Fte-1 (v-fos transformation effector) gene and the TNF- α -induced TU-11 gene, and its transcript level is altered in transformed and tumor cells[J]. *Gene*, 1997, 186(2):271.

[3] Naora H, Nishida T, Shindo Y, et al. Antisense sequences of the nbl gene induce apoptosis in the human promyelocytic leukemia cell line HL-60[J]. *Leukemia*, 1998, 12(4):532.

[4] Song D, Sakamoto S, Taniguchi T. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase activity by Bcl-2 in association with the ribosomal protein S3a[J]. *Biochemistry*, 2002, 41(3):929.

[5] Kashuba E, Yurchenko M, Szirak K, et al. Epstein-Barr virus-encoded EBNA-5 binds to Epstein-Barr virus-induced Fte1/S3a protein[J]. *Exp Cell Res*, 2005, 303(1):47.

[6] Nolte D, Taimor G, Kalf-Suske M, et al. The human S3a ribosomal protein: sequence, location and cell-free transcription of the functional gene[J]. *Gene* 1996, 169(2):179.

[7] 孙阿萍, 马洪星, 郑寒松, 等. 细胞凋亡过程中核糖体蛋白 S3a 水平变化的研究(三)[J]. *黑龙江医药科学*, 2002, 25(1):1.

[8] Naora H, Nishida T, Shindo Y, et al. Association of nbl gene expression and glucocorticoid-induced apoptosis in mouse thymus in vivo[J]. *Immunology*, 1995, 85(1):6.

[9] Naora H, Nishida T, Shindo Y, et al. Constitutively enhanced nbl expression is associated with the induction of internucleosomal DNA cleavage by actinomycin D[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 224(1):258.

[10] Russell L, Naora H, Naora H. Down-regulated RPS3a/nbl Expression during retinoid-induced differentiation of HL-60 cells: A close association with diminished susceptibility to actinomycin D-stimulated apoptosis[J]. *Cell Struct Funct*, 2000, 25(2):103.

[11] Naora H, Takai L, Adachi M. Altered cellular responses by varying expression of a ribosomal protein gene: sequential coordination of enhancement and suppression of ribosomal protein S3a gene expression induces apoptosis[J]. *J Cell Biol*, 1998, 141(3):741.

[收稿日期]2012-12-31

[修回日期]2013-05-20

(上接第 333 页)

[31] Yang Q, Botto LD, Erickson JD, et al. Improvement in stroke mortality in Canada and the United States, 1990 to 2002[J]. *Circulation*, 2006, 113(10):1335.

[32] Wang X, Qin X, Demirtas H, et al. Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: a meta-analysis [J]. *Lancet*, 2007;369(9576):1876.

[33] Spence JD. Homocysteine-lowering therapy: a role in stroke prevention[J]. *Lancet Neurol*, 2007, 6(9):830.

[34] Antoniadis C, Antonopoulos AS, Tousoulis D, et al. Homocysteine and coronary atherosclerosis: from folate fortification to the recent clinical trials[J]. *Eur Heart J*, 2009, 30(1):6.

[收稿日期]2012-12-14

[修回日期]2013-04-08