

基于 G 蛋白信号调节因子 2 敲低探讨血管紧张素 II 诱导的主动脉夹层形成的机制

王庆功, 薛雅萍, 孙海霞, 曹宁

摘要 目的 探讨 G 蛋白信号调节因子 2 (RGS2) 在调节血管紧张素 II (Ang II) 诱导的主动脉夹层形成中的作用。方法 将 C57BL/6 小鼠分为 3 组: Control 组 ($n=10$)、Ang II 组 ($n=20$)、Ang II + sh-RGS2 组 ($n=20$)。Ang II 组和 Ang II + sh-RGS2 组小鼠建立了主动脉夹层模型。在体内评估主动脉夹层的发生率,在体外和体内评估血管平滑肌细胞 (VSMC) 表型转化。结果 RGS2 的敲低逆转了 Ang II 导致的 α SMA、ACTA2 和 MYH11 的表达下调,并抑制了 Ang II 诱导的 SPP1 和 Vimentin 蛋白表达。Ang II 组和 Ang II + sh-RGS2 组的主动脉夹层发生率分别为 45% (9/20) 和 10% (2/20)。与 Ang II 组小鼠比较,Ang II + sh-RGS2 组小鼠中观察到更少的弹性层增厚、主动脉破裂和主动脉壁胶原纤维含量。此外,与 Ang II 组比较,Ang II + sh-RGS2 组主动脉的最大直径减小 ($P < 0.05$),ACTA2、MYH11 蛋白增加 ($P < 0.01$),RGS2、SPP1、Vimentin 蛋白降低 ($P < 0.01$)。结论 RGS2 敲低抑制 Ang II 诱导的 VSMC 从可收缩表型转变为合成表型,降低了主动脉夹层形成的发生率。

关键词 G 蛋白信号调节因子 2; 血管紧张素 II; 主动脉夹层; 血管平滑肌细胞

中图分类号 R 782

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2024)07-1188-07
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.07.012

主动脉夹层是威胁生命的心血管疾病,主要表现为弹性纤维断裂、平滑肌局灶性丧失和中空泡变性^[1]。研究^[2]发现,血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMC) 的功能或表型转化可能是导致主动脉壁变性的的重要因素,从而导致主动脉夹层的发生。因此,针对 VSMC 表型转化的策略可能对预防主动脉夹层有效。血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 被认为是 VSMC 表型转化的关键调节剂之一,其可能通过过度激活氧化应激损伤或激活血管紧张素受体介导的直接功效受体诱导

VSMC 表型转化^[3]。此外,小鼠 Ang II 灌注可能通过其他机制导致主动脉夹层形成,如增强内皮细胞凋亡、破坏血管基质稳定性或激活炎症损伤^[4]。G 蛋白作为细胞表面受体与细胞内效应器系统之间的中介体,其介导的信号传导对心血管功能的调节至关重要,包括心率、细胞生长和血管张力^[5-6]。G 蛋白偶联受体信号传导阻断剂是治疗高血压和心力衰竭的最佳药物^[7]。G 蛋白信号调节蛋白 (regulator of G protein signaling, RGS) 通过结合活性 G α i/o 和 G α q 亚基降低三磷酸尿苷水解的速率,从而加速了 G 蛋白偶联受体/G 蛋白信号传导的幅度和持续时间^[8]。在 20 多种 RGS 蛋白中,RGS2 在 VSMC 中高度表达,并控制血管收缩和舒张^[9]。然而,RGS2 在 Ang II 诱导的主动脉夹层中是否参与 VSMC 表型转化的调节仍有待确定。因此,该研究旨在确定 RGS2 抑制在 Ang II 诱导的 VSMC 表型转化的调节作用以及在小鼠主动脉夹层模型中的保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料 Alzet 渗透泵购自美国 DURECT Corporation 公司; RGS2 shRNA 慢病毒颗粒 (sh-RGS2) 或对照 shRNA 慢病毒颗粒 (sh-NC) 购自上海吉凯基因医学科技股份有限公司; 单克隆抗 α SMA (1:100)、抗平滑肌肌动蛋白 α 2 (smooth muscle actin alpha 2, ACTA2)、抗 RGS2、单克隆抗分泌磷蛋白 1 (secreted phosphoprotein 1, SPP1) 抗体购自美国 Abcam 公司; 异硫氰酸荧光素偶联二级抗体、Cy3 标记的山羊抗兔 IgG 二级抗体购自武汉博士德生物工程有限公司; 0.1% Triton X-100 购自上海碧云天生物技术有限公司; DMEM 培养基购自美国 Invitrogen 公司; 含有蛋白酶抑制剂混合物的 RIPA 缓冲液购自德国 Roche 公司; BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自美国 Amresco 公司; 小鼠抗 β -actin、兔抗肌球蛋白重链 11 (myosin heavy chain 11, MYH11) 和兔抗 Vimentin 购自美国 Cell Signaling Technology 公司; 增强的化学发光方法购自美国 Pierce 公司; BX41 光学显微镜、荧光显微镜购自日本 Olympus 公司。

2024-03-10 接收

基金项目: 青海省卫生健康委员会科研项目 (编号: 202122315)

作者单位: 青海省人民医院心血管超声室, 西宁 810007

作者简介: 王庆功, 女, 主治医师;

曹宁, 男, 主治医师, 责任作者, E-mail: enclark@163.com

1.2 实验动物与分组 C57BL/6 雄性小鼠, 体质量 25 ~ 35 g, 3 ~ 4 月龄, 购自北京维通利华公司 [生产许可证号: SCXK(京) 2016-0011]。将小鼠饲养在 25 °C 无病原体的房间中, 可以自由摄取食物和水。小鼠麻醉后, Alzet 渗透泵消毒并皮下植入肩胛中区, 在 2 周的时间内达到每天 3 mg/kg 的 Ang II 或 0.9% NaCl 的输送率^[10]。将 C57BL/6 小鼠随机分为 3 组, 分别为: ① Control 组 ($n = 10$), 小鼠皮下植入含 0.9% NaCl 的微型泵; ② Ang II 组 ($n = 20$), 小鼠皮下植入含 Ang II 的微型泵; ③ Ang II + sh-RGS2 组 ($n = 20$), 小鼠在植入含 Ang II 的微型泵前 3 d 至植入后 2 周, 每天经尾静脉注射 2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ (每次 12 μl) sh-RGS2。微型泵植入后 4 周处死小鼠, 立即切除主动脉组织。主动脉夹层在组织学上被定义为主动脉中层与主动脉外层分离和/或主动脉壁内血液积聚。

1.3 组织学分析与 HE 染色 微型泵植入 4 周后获得 C57BL/6 小鼠的主动脉组织。其中一半用于 Western blot 分析, 另一半固定在 4% 多聚甲醛中, 石蜡包埋进行组织学分析。切片 (厚度 4 μm) 分别用 HE、EVG 染色, 评估细胞形态和细胞外成分组织的变化。BX41 光学显微镜获取染色主动脉横截面图像。

1.4 免疫荧光染色 主动脉切片在磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 中脱蜡清洗。用山羊血清在室温下封闭 30 min 后, 将切片与单克隆抗 αSMA (1 : 100)、抗 ACTA2 (1 : 100) 和抗 RGS2 (1 : 100) 抗体分别在 4 °C 下孵育过夜。再将载玻片用 PBS 洗涤 3 次, 并与异硫氰酸荧光素偶联二级抗体 (1 : 100) 在室温下孵育 1 h, 再用 DAPI 复染细胞核。对于体外实验, 将生长在涂膜载玻片上的细胞固定在 4% 多聚甲醛中, 并用 0.1% Triton X-100 渗透。用 PBS 冲洗后, 在室温下用山羊血清封闭细胞 15 min, 将细胞与单克隆抗 SPP1 (1 : 150) 和 ACTA2 (1 : 150) 分别在 4 °C 下孵育过夜, 然后用二级抗体 Cy3 标记的山羊抗兔 IgG 孵育 1 h, DAPI 复染。用荧光显微镜观察切片。使用 ImageJ 软件对至少 3 个感兴趣区域的不同蛋白质的表达进行量化。

1.5 细胞培养与转染 大鼠 VSMC 购自美国 ATCC 公司, 将细胞接种在含 10% 胎牛血清和 1% 青 - 链霉素的 DMEM 培养基中生长。当培养至 70% ~ 80% 融合时, 将细胞以 1.2×10^6 个/孔的密度接种至 6 孔板中, 用不同浓度 (0.1、0.5、1 $\mu\text{mol}/\text{L}$) Ang II 处理 6 h 或用 1 $\mu\text{mol}/\text{L}$ Ang II 处理不同时间

(6、12、24 h), 再进行下一步检测。在转染试验中, 用相应的慢病毒颗粒转染细胞 12 h: sh-RGS2 或 sh-NC, 再加入 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 嘌呤霉素。培养 7 d 后将细胞分为: Control 组、Ang II 组、Ang II + sh-NC 组、Ang II + sh-RGS2 组。

1.6 Western blot 分析 用 PBS 洗涤处理过的 VSMC 和小鼠的主动脉组织, 并用含有蛋白酶抑制剂混合物的 RIPA 缓冲液裂解。蛋白质浓度通过 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定。加载 50 μg 蛋白质提取物样品, 进行十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 然后转移到聚偏二氟乙烯膜上。在室温下用 5% 脱脂牛奶封闭膜 2 h, 将膜与小鼠抗 $\beta\text{-actin}$ (1 : 8 000)、兔抗 MYH11 (1 : 1 000)、兔抗 RGS2 (1 : 500)、兔抗 αSMA (1 : 1 000)、兔抗 SPP1 (1 : 1 000)、山羊抗 ACTA2 (1 : 1 000)、兔抗 Vimentin (1 : 1 000) 在 4 °C 孵育过夜。然后在室温下与二抗孵育 1 h。使用增强的化学发光方法将蛋白条带可视化。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用单因素方差分析和 Turkey 检验评估各组之间的统计学差异。通过双因素方差分析和 Bonferroni 事后检验进行时程研究中各组之间的比较。通过 Pearson 相关性分析 Ang II 处理的大鼠 VSMC 中 RGS2 蛋白表达与 αSMA 蛋白表达的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RGS2 上调与体内 VSMC 表型转换的关系 为了检查 RGS2 在主动脉夹层小鼠 VSMC 表型转化中的潜在作用, 研究检测了 RGS2 和 VSMC 标志物 αSMA 在主动脉组织表达情况。免疫荧光染色结果显示: 与 Control 组比较, Ang II 组小鼠主动脉中 RGS2 荧光强度增加 ($P < 0.01$), αSMA 的表达降低 ($P < 0.01$); 与 Ang II 组比较, Ang II + sh-RGS2 组小鼠主动脉中 RGS2 荧光强度降低 ($P < 0.01$), αSMA 的表达增加 ($P < 0.01$)。见图 1。

2.2 RGS2 敲低对 Ang II 诱导的 C57BL/6 小鼠主动脉夹层形成的影响 使用形态学和组织学方法研究 RGS2 敲低在注入 Ang II 的 C57BL/6 小鼠中的作用。用 Ang II 处理的小鼠在实验结束时主动脉夹层的发生率为 45% (9/20), 其主要发生在胸升主动脉中, 并延伸至主动脉弓; RGS2 敲低的 Ang II 处理的小鼠主动脉夹层的发生率为 10% (2/20), 未显示出明显的动脉壁内血肿 (图 2A)。通过 HE、EVG 染色检

测各组小鼠主动脉壁的弹性蛋白表达。结果显示:与 Ang II 组比较,Ang II + sh-RGS2 组小鼠中观察到更少的弹性层增厚、主动脉破裂(图 2B)。此外,与 Ang II 组比较,Ang II + sh-RGS2 组主动脉的最大直径显著减小 [(1.04 ± 0.03) mm vs (1.23 ± 0.06) mm, $F = 8.75$, $P < 0.05$, 图 2C]。上述结果提示

RGS2 敲低降低了 C57BL/6 小鼠中 Ang II 诱导的主动脉夹层形成的发生率。

2.3 RGS2 敲低对 Ang II 诱导的 C57BL/6 小鼠 VSMC 表型转化的调控 研究进一步检查 RGS2 敲低对 Ang II 诱导的 C57BL/6 小鼠 VSMC 表型转化的调控。Western blot 分析显示,与 Ang II 组比较,

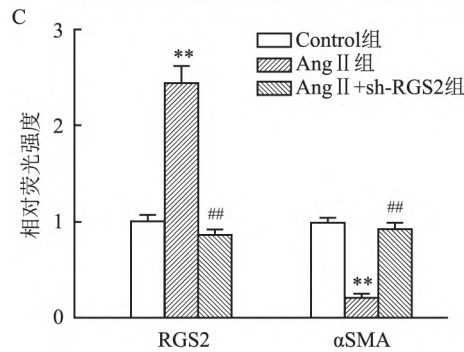
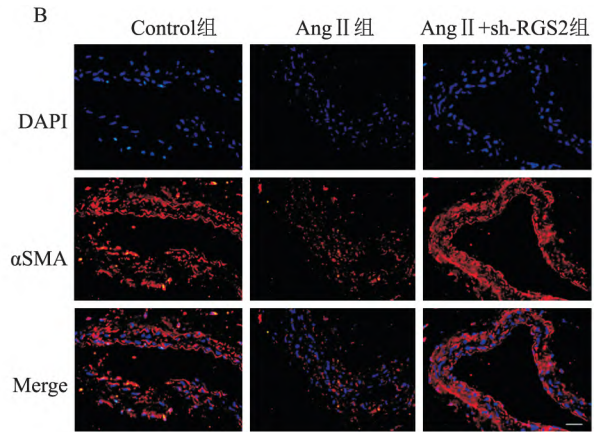
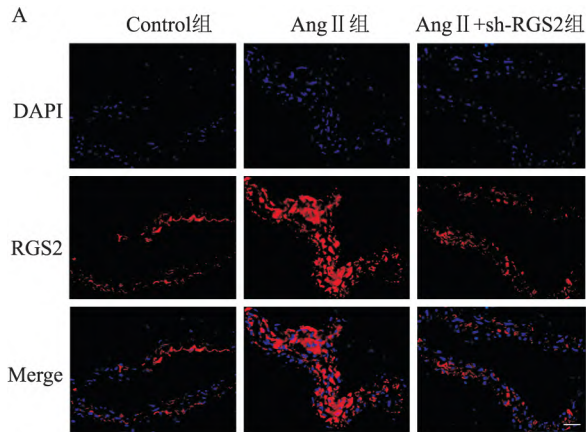


图 1 小鼠主动脉组织中 RGS2 和 αSMA 表达情况 (n = 3)

A、B: 免疫荧光染色检测主动脉夹层小鼠主动脉组织中 RGS2 和 αSMA 表达情况 ×200; C: RGS2 和 αSMA 表达的定量分析; 与 Control 组比较: ** $P < 0.01$; 与 Ang II 组比较: ## $P < 0.01$

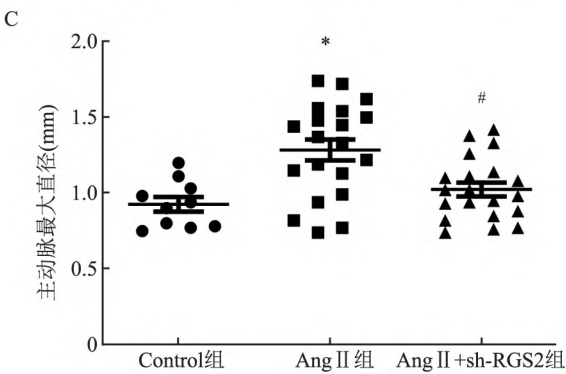
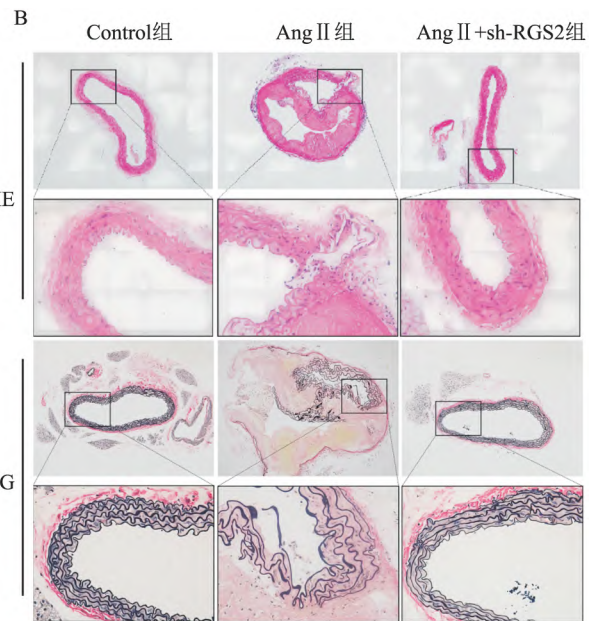
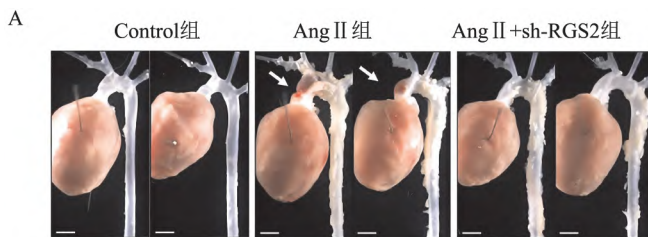


图 2 RGS2 敲低对 Ang II 诱导的 C57BL/6 小鼠主动脉夹层形成的影响 (n = 10)

A: 植入后第 28 天小鼠的代表性主动脉 ×5, 箭头表示主动脉夹层壁内血肿; B: 通过主动脉 HE、EVG 染色检测各组小鼠主动脉壁的弹性蛋白表达 ×200; C: 各组主动脉最大直径的散点图; 与 Control 组比较: * $P < 0.05$; 与 Ang II 组比较: # $P < 0.05$

Ang II + sh-RGS2 组小鼠主动脉中 ACTA2、MYH11 蛋白增加 ($F = 16.72, 20.14$, 均 $P < 0.01$), RGS2、SPP1、Vimentin 蛋白降低 ($F = 25.90, 30.13, 23.66$, 均 $P < 0.01$), 见图 3A、B。免疫荧光染色进一步表明, Ang II + sh-RGS2 组小鼠的 ACTA2 表达较 Ang II 组增加 ($F = 26.42$, $P < 0.01$, 图 3C、D), 而 SPP1 表达降低 ($F = 23.17$, $P < 0.01$, 图 3E、F)。上述结果提示体内 RGS2 敲低促进了 VSMC 表型从合成型转变为可收缩型。

2.4 RGS2 在体外对 VSMC 表型转换的影响 为了进一步检查 RGS2 在 VSMC 表型转换中的作用, 研究用 Ang II 诱导 VSMC 表型转化。Western blot 检测有或无 Ang II 处理的大鼠 VSMC 中 RGS2 和 α SMA 表达。与体内结果一致, 在 Ang II 处理的大鼠 VSMC 中, 随着 Ang II 浓度的增加, RGS2 蛋白的表达水平显著增加 ($P < 0.05$), α SMA 蛋白的表达

水平显著降低 ($P < 0.05$), 见图 4A、B。此外, 随着 $1 \mu\text{mol/L}$ Ang II 处理时间的增加, RGS2 蛋白的表达水平显著增加 ($P < 0.05$), α SMA 蛋白的表达水平显著降低 ($P < 0.05$), 见图 4C、D。Pearson 相关性分析显示, 二者表达呈负相关性 ($r = -0.314$, $P < 0.001$)。因此, 后续实验选择 $1 \mu\text{mol/L}$ Ang II 进行分析。

2.5 RGS2 对 Ang II 诱导的 VSMC 表型转化的调控 为了进一步检查 RGS2 是否参与 VSMC 表型转换, 使用 sh-RGS2 在大鼠 VSMC 中进行了 RGS2 敲低 (图 5A)。ACTA2 和 MYH11 是 VSMC 收缩表型的典型标志物, SPP1 和 Vimentin 代表合成表型。Western blot 分析显示, RGS2 的敲低逆转了 Ang II 导致的 α SMA、ACTA2 和 MYH11 的表达下调 ($F = 44.56, 25.65, 26.72$ 均 $P < 0.01$) 并抑制了 Ang II 诱导的 SPP1 和 Vimentin 蛋白表达 ($F = 37.32, 31.06$,

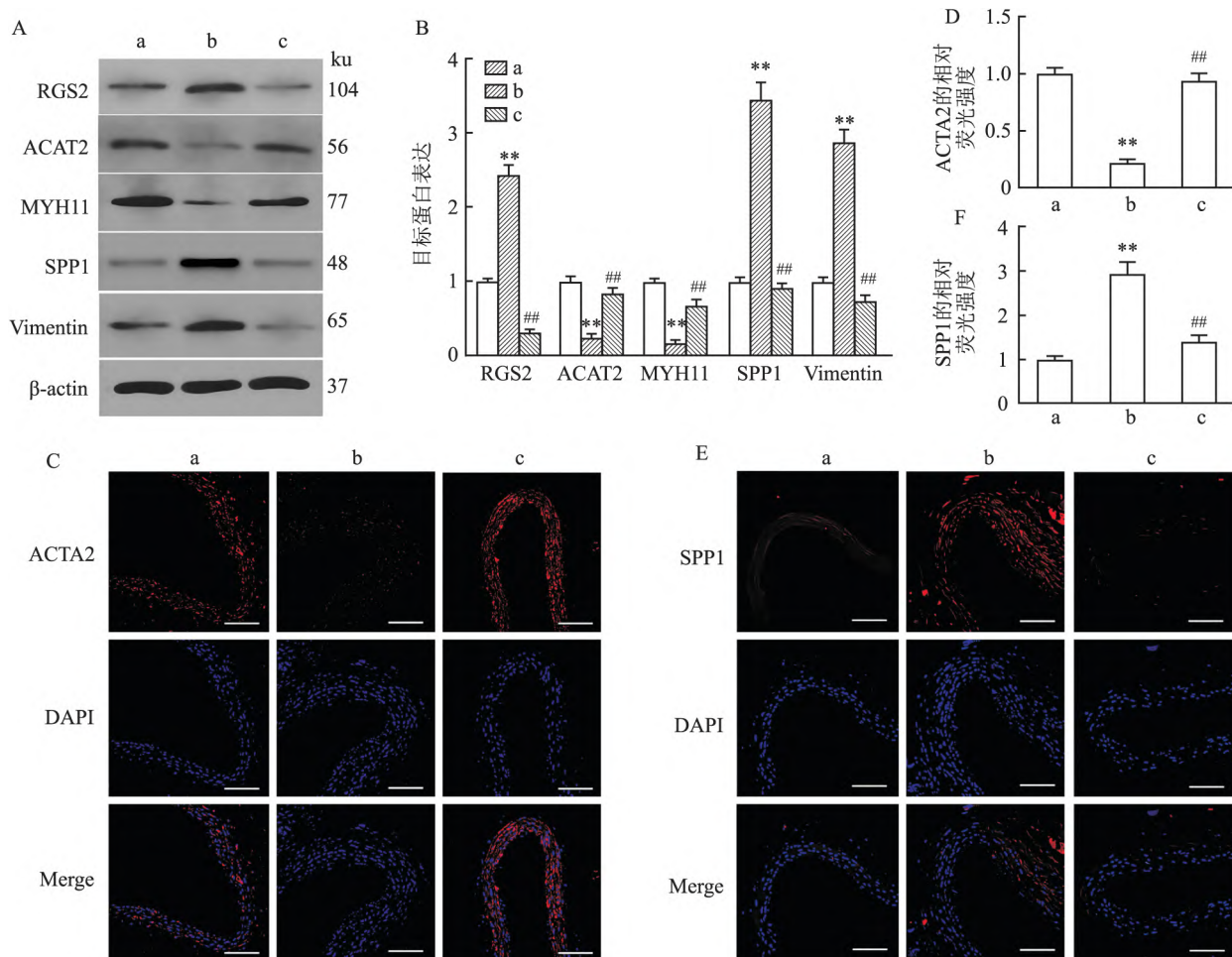


图3 RGS2 敲低对 Ang II 诱导的 C57BL/6 小鼠 VSMC 表型转化的调控 ($n = 6$)

A、B: Western blot 检测植入后第 28 天小鼠主动脉中 RGS2、ACTA2、MYH11、SPP1 和 Vimentin 蛋白表达及定量分析; C ~ F: 免疫荧光染色检测主动脉夹层小鼠主动脉组织中 ACTA2、SPP1 表达情况及定量分析 $\times 200$; a: Control 组; b: Ang II 组; c: Ang II + sh-RGS2 组; 与 Control 组比较: ** $P < 0.01$; 与 Ang II 组比较: ## $P < 0.01$

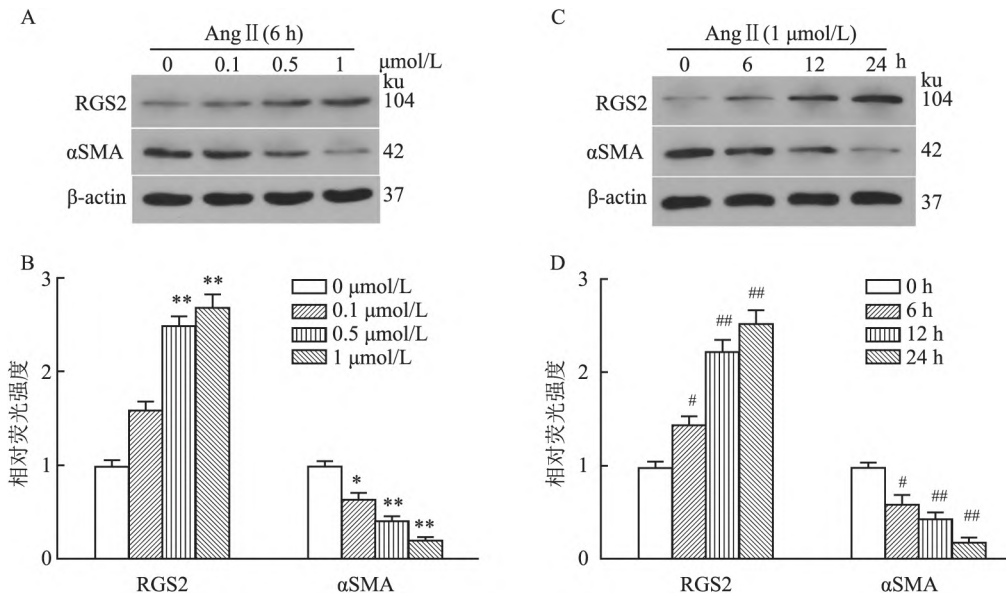


图4 Western blot 检测大鼠 VSMC 中 RGS2、αSMA 蛋白表达 (n = 3)

A、B: 不同浓度 Ang II (0.1、0.5、1 μmol/L) 处理 6 h; C、D: 1 μmol/L Ang II 处理不同时间(6、12、24 h); 与 0 μmol/L 组比较: * P < 0.05, ** P < 0.01; 与 0 h 组比较: # P < 0.05, ## P < 0.01

均 P < 0.01), 见图 5B、C。免疫荧光染色进一步表明 RGS2 敲低在 Ang II 处理的 VSMC 中增加了 ACTA2 的表达(图 5D)。

3 讨论

给小鼠输注 Ang II 已经成为一种非常有价值的动物模型建立方法,有助于研究动脉粥样硬化的发病机制^[3]。本研究结果表明,RGS2 是诱导 Ang II 对动脉粥样硬化的功效的重要下游介质。RGS2 激活与 VSMC 的表型转化相关,这有助于动脉粥样硬化的发展。此外,通过基因沉默靶向抑制 RGS2 激活可部分减弱 VSMC 的表型转化,从而导致 Ang II 治疗后动脉粥样硬化发生率降低。因此,本研究的结果表明 RGS2 的靶向抑制有可能阻止动脉粥样硬化的发展。

研究^[11]显示,RGS2 可能是参与多种病理生理过程的多功能细胞信号分子,包括癌细胞增殖、糖酵解、感染和免疫生物学过程。从生化角度看,RGS2 正调控 Gαq,而 Gαq 转导来自各种血管收缩剂的信号。与血管控制作用一致,高血压小鼠 RGS2 上调^[12]。此外,高血压患者更有可能在 RGS2 基因的 3'非翻译区中具有 C1114G 单核苷酸多态性,这与从皮肤活检分离出的培养成纤维细胞中 RGS2 蛋白表达升高相关^[13]。最近有学者在基因组聚合数据库的 16 个未知意义的变体中,发现了人类 RGS2 中的 4 个功能丧失突变,并且这些突变在血管组织复杂环境中有助于血管舒张^[14]。本研究证实了 RGS2

在 VSMC 中的表达上调与动脉粥样硬化的发病有关,并在 Ang II 诱导的动脉粥样硬化小鼠模型中发现动脉粥样硬化中 RGS2 表达上调,并伴有动脉粥样硬化和弹性蛋白降解。在体外,RGS2 敲低抑制了 Ang II 诱导的 VSMC 从收缩表型向合成表型的转换。因此,本研究对动脉粥样硬化的发病机制有了更深入的了解,并提出 RGS2 作为动脉粥样硬化治疗的潜在靶点。

VSMC 是动脉血管的重要组成部分,其表型转变在动脉粥样硬化疾病的进展中起着非常重要的调节作用^[15]。VSMC 的表型包括收缩表型和合成表型^[16]。动脉粥样硬化正常血管壁中的大多数 VSMC 是可收缩的,保证了血管壁的弹性。然而,在血管损伤或血管壁被强行撞击后,VSMC 可能从收缩型转变为合成表型。此后,VSMC 分泌大量细胞外基质,导致细胞增殖和迁移增加。因此,VSMC 的表型调控在血管损伤的修复中起着重要作用^[17]。这些相同的细胞也可能释放出与致病性改变有关的重要初始信号。此外,增殖的 VSMC 分泌大量的细胞外基质,最终形成动脉粥样硬化^[18]。因此,阐明 VSMC 表型的转化可能是明确动脉粥样硬化发病机制的关键。αSMA、ACTA2 和 MYH11 是 VSMC 收缩表型的重要标志物,SPP1、Vimentin 是 VSMC 合成表型的标志物^[19]。在本研究中,Ang II 组小鼠动脉粥样硬化中 ACTA2、MYH11 蛋白显著减少,SPP1、Vimentin 蛋白显著增加,提示 VSMC 从收缩表型向合成表型转化。此外,用 sh-RGS2 阻断 RGS2 信号,显著逆转了上述

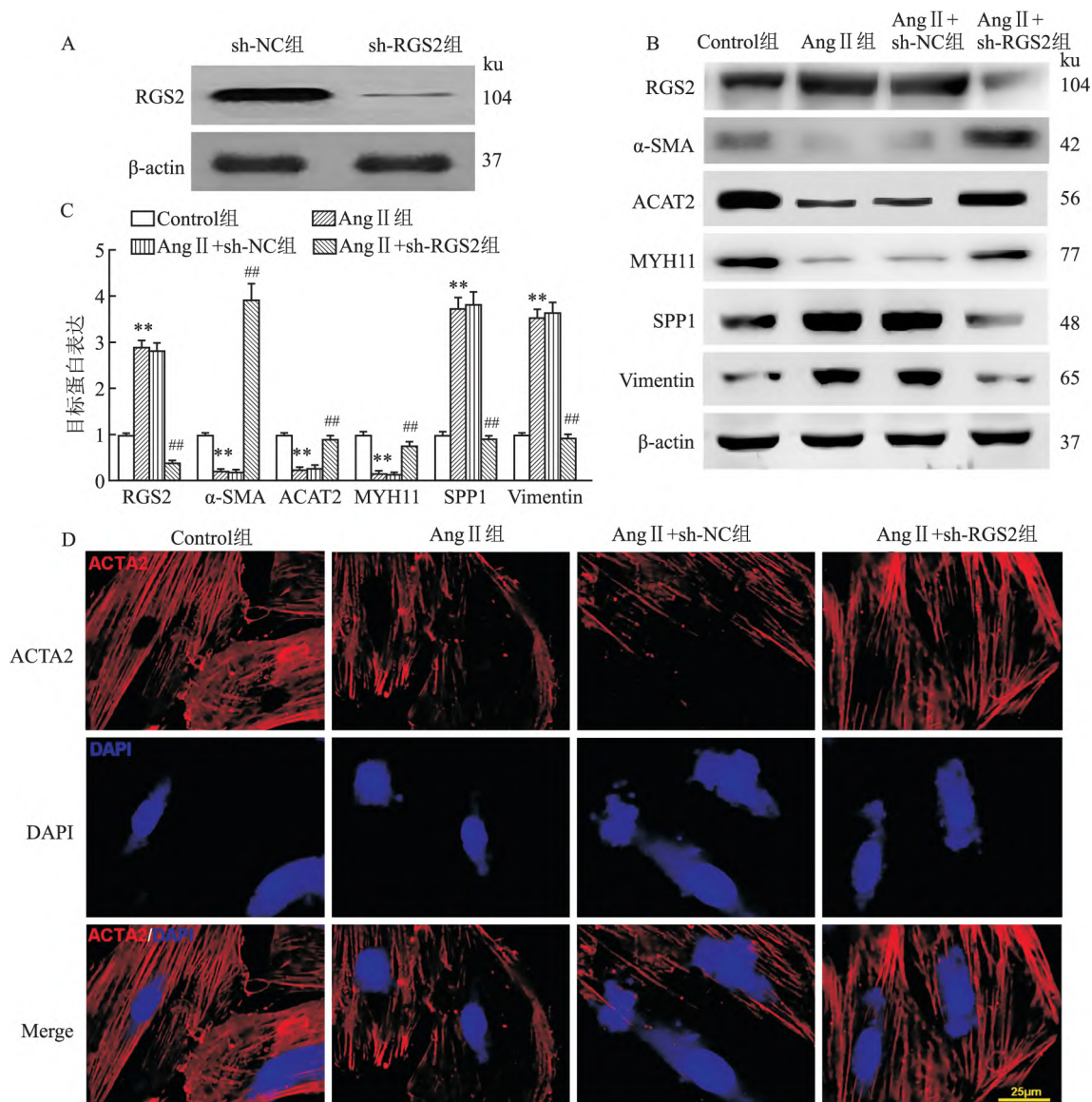


图5 RGS2对Ang II诱导的VSMC表型转化的调控(n=3)

A: Western blot 检测 RGS2 的表达; B、C: Western blot 检测 RGS2 敲低对 Ang II (1 μmol/L) 诱导的 VSMC 中 ACTA2、MYH11、SPP1 和 Vimentin 蛋白表达影响及定量分析; D: VSMC 中 ACTA2 的免疫荧光染色 ×200; 与 Control 组比较: **P<0.01; 与 Ang II 组比较: ##P<0.01

蛋白表达变化,表明抑制 RGS2 活化可能是治疗主动脉夹层的一个可行的选择。

综上所述,本研究提示 RGS2 敲低可抑制 Ang II 诱导的 VSMC 合成表型转变,进而降低了主动脉夹层形成的发生率。RGS2 上调可诱导主动脉夹层的发展,可作为主动脉夹层的潜在治疗靶标。然而,目前尚不清楚 Ang II 如何调节 RGS2,在未来研究中应进一步探索其中机制。

参考文献

[1] 湛镇伊,杨建安,刘银河.微小 RNA 在主动脉夹层中差异性表达与发病机制的研究进展[J].中国动脉硬化杂志,2019,227(10):87-91.

[2] Xu H, Du S, Fang B, et al. VSMC-specific EP4 deletion exacerbates angiotensin II-induced aortic dissection by increasing vascular inflammation and blood pressure [J]. Proc Natl Acad Sci, 2019, 116(17): 8457-62.

[3] 李园,杨俊,温馨.血管紧张素 II 对去甲肾上腺素释放上调金属蛋白酶 2 表达及主动脉夹层形成的影响[J].临床和实验医学杂志,2019,18(2):157-60.

[4] Lagrange J, Finger S, Kossmann S, et al. Angiotensin II infusion leads to aortic dissection in LRP8 deficient mice [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(14): 4916.

[5] 贺晓琪,肖俊,张万里,等. G 蛋白信号调节体-G alpha 相互作用蛋白 C 端 2 通过上调 SNIAL1 表达及促进胃癌细胞增殖,侵袭与迁移[J].中华实验外科杂志,2019,36(9):1594-7.

[6] Masuho I, Balaji S, Muntean B S, et al. A global map of G protein signaling regulation by RGS proteins [J]. Cell, 2020, 183(2): 503

- 21.
- [7] Fonin A V ,Darling A L ,Kuznetsova I M ,et al. Multi-functionality of proteins involved in GPCR and G protein signaling: Making sense of structure-function continuum with intrinsic disorder-based proteoforms[J]. *Cell Mol Life Sci* 2019 76(22): 4461 - 92.
- [8] McNabb H J ,Zhang Q ,Sjögren B. Emerging roles for regulator of G protein signaling 2 in (patho) physiology [J]. *Mol Pharmacol* , 2020 98(6): 751 - 60.
- [9] Phan H T N ,Jackson W F ,Shaw V S ,et al. Loss-of-function mutations in human regulator of G protein signaling RGS2 differentially regulate pharmacological reactivity of resistance vasculature [J]. *Mol Pharmacol* 2019 96(6): 826 - 34.
- [10] Zhou X ,Cheng J ,Chen Z ,et al. Role of c-Abl in Ang II -induced aortic dissection formation: Potential regulatory efficacy on phenotypic transformation and apoptosis of VSMC [J]. *Life Sci* ,2020 , 256: 117882.
- [11] Zhang P ,Mende U. Functional role ,mechanisms of regulation ,and therapeutic potential of regulator of G protein signaling 2 in the heart [J]. *Trends Cardiovasc Med* 2014 24(2): 85 - 93.
- [12] Beladiya J V ,Chaudagar K K ,Mehta A A. Protective effects of Gαq-RGS2 signalling inhibitor in aminophylline induced cardiac arrhythmia [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2019 46(11): 1037 - 43.
- [13] Semplicini A ,Lenzini L ,Sartori M ,et al. Reduced expression of regulator of G-protein signaling 2 (RGS2) in hypertensive patients increases calcium mobilization and ERK1/2 phosphorylation induced by angiotensin II [J]. *J Hypertens* ,2006 24(6): 1115 - 24.
- [14] Phan H T N ,Sjögren B ,Neubig R R. Human missense mutations in regulator of G protein signaling 2 affect the protein function through multiple mechanisms [J]. *Mol Pharmacol* 2017 92(4): 451 - 8.
- [15] Zong T ,Yang Y ,Lin X ,et al. 5'-tiRNA-Cys-GCA regulates VSMC proliferation and phenotypic transition by targeting STAT4 in aortic dissection [J]. *Mol Ther Nucleic Acids* 2021 26: 295 - 306.
- [16] 李玉霞 ,商瑀家 ,宋佳新 等. 血管平滑肌细胞表型转换与动脉粥样硬化关系的研究进展 [J]. *医学研究杂志* ,2021 50(2): 17 - 9 27.
- [17] Song T ,Lv M ,Sun B ,et al. Tripeptides Val-Pro-Pro (VPP) and Ile-Pro-Pro (IPP) regulate the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells by interfering Ang II -Induced human umbilical vein endothelial cells derived EVs delivering RNAs to VSMC in the co-culture model [J]. *J Agric Food Chem* ,2020 68(24): 6628 - 37.
- [18] 邓娟 ,于晓江 ,杨洋 等. 血管平滑肌细胞表型转化在心血管疾病中作用的研究进展 [J]. *生理科学进展* ,2020 51(2): 107 - 12.
- [19] Huang X ,Yue Z ,Wu J ,et al. MicroRNA-21 knockout exacerbates angiotensin II -induced thoracic aortic aneurysm and dissection in mice with abnormal transforming growth factor-β-SMAD3 signaling [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2018 38(5): 1086 - 101.

Investigate the mechanism of angiotensin II induced aortic dissection based on G protein signaling modulator 2 knockout

Wang Qinggong ,Xue Yaping ,Sun Haixia ,Cao Ning

(Cardiovascular Ultrasound Room ,Qinghai Provincial People's Hospital ,Xining 810007)

Abstract Objective To investigate the role of G protein signal regulator 2 (RGS2) in regulating the formation of angiotensin II (Ang II) -induced aortic dissection. **Methods** C57BL/6 mice were divided into 3 groups: control group ($n = 10$) ,Ang II group ($n = 20$) ,Ang II + sh-RGS2 group ($n = 20$) . The Ang II group and Ang II + sh-RGS2 group established an aortic dissection model. The incidence of aortic dissection was evaluated *in vivo* and the phenotypic transformation of VSMC was evaluated *in vitro* and *in vivo*. **Results** Knockdown of RGS2 largely counteracted Ang II -induced inhibition of α SMA ,ACTA2 and MYH11 ,and suppressed Ang II -induced SPP1 and Vimentin in VSMC. The incidence of aortic dissection in Ang II group and Ang II + sh-RGS2 group were 45% (9/20) and 10% (2/20) ,respectively. Fewer elastic lamina thickening ,aortic rupture ,and aortic wall collagen fiber content were observed in Ang II + sh-RGS2 group compared to Ang II group. In addition ,compared with the Ang II group ,the maximum diameter of the aorta in the Ang II + sh-RGS2 group was significantly reduced ($P < 0.05$) . In addition ,the ACTA2 and MYH11 proteins in the aorta of the Ang II + sh-RGS2 group were significantly higher than those in the Ang II group ($P < 0.01$) ,while the RGS2 ,SPP1 and Vimentin proteins significantly decreased ($P < 0.01$) . **Conclusion** Knockdown of RGS2 inhibits the transformation of Ang II -induced VSMC from a contractile phenotype to a synthetic phenotype ,thereby reducing the incidence of aortic dissection formation.

Key words regulator of G protein signaling 2; angiotensin II; aortic dissection; vascular smooth muscle cells