

孙思雨,贺忠梅,钟祺,等. 热量限制缓解血管紧张素 II 诱导的心肌细胞肥大作用 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(2): 31-38.

Sun SY, He ZM, Zhong Q, et al. Caloric restriction alleviates angiotensin- II -induced cardiomyocyte hypertrophy [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(2): 31-38.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.02.005

热量限制缓解血管紧张素 II 诱导的心肌细胞肥大作用

孙思雨,贺忠梅*,钟祺,杨瑞瑞,燕子,高丽娟,曹济民

(山西医科大学 基础医学院生理学系 细胞生理学教育部重点实验室,太原 030001)

【摘要】 目的 探讨热量限制(caloric restriction, CR)对血管紧张素 II (Angiotensin II, Ang II) 诱导的大鼠心肌细胞肥大的影响及可能机制。**方法** 将 H9c2 细胞分为 6 组: 正常对照组、Ang II 组 (1 $\mu\text{mol/L}$)、热量限制组 (CR)、CR+Ang II 组、NF- κB 抑制剂组 (CR+Ang II +Ss)、NF- κB 激动剂组 (CR+Ang II +Bet)。将各组细胞进行相应的药物处理后,用 CCK-8 法检测细胞活力;鬼笔环肽染色检测心肌细胞表面积;细胞培养液中乳酸脱氢酶 (LDH)、髓过氧化物酶 (MPO) 及氧化应激指标 (ROS、SOD、MDA) 的检测采用相应试剂盒;RT-qPCR 法检测心肌细胞中肥大相关基因 (ANP、BNP、 $\beta\text{-MHC}$) 与焦亡相关基因 (NLRP3、ASC、GSDMD、caspase1、IL-18 与 IL-1 β) 的 mRNA 表达;Western blot 法检测心肌细胞中 NLRP3、ASC、GSDMD、caspase1 以及 NF- κB 的蛋白表达水平。**结果** (1) Ang II 可诱导 H9c2 心肌细胞表面积及肥大标志基因 (ANP、BNP、 $\beta\text{-MHC}$) 的 mRNA 表达量较对照组显著增加,而这种改变在 CR 干预下被减弱。(2) CR 能逆转 Ang II 诱导的肥大心肌细胞中 ROS、MDA、LDH、MPO 含量的增加及 SOD 含量的减少。(3) 与 Ang II 组相比,CR 处理使 Ang II 诱导的肥大心肌细胞中焦亡相关基因 NLRP3、ASC、GSDMD、caspase1 及 NF- κB 的 mRNA 表达量与蛋白表达量明显降低。(4) NF- κB 抑制剂水杨酸钠 (Ss) 使 NLRP3、GSDMD 的 mRNA 表达水平较 CR+Ang II 组进一步降低,而 NF- κB 激动剂白桦脂酸 (BA) 则逆转了 CR 的这种保护作用。**结论** CR 可以明显缓解 Ang II 诱导的大鼠心肌细胞肥大,CR 的心肌细胞保护作用可能与调控 NF- κB 途径介导的细胞焦亡有关。

【关键词】 心肌细胞肥大;热量限制;NF- κB ;细胞焦亡

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 02-0031-08

Caloric restriction alleviates angiotensin- II -induced cardiomyocyte hypertrophy

SUN Siyu, HE Zhongmei*, ZHONG Qi, YANG Ruirui, YAN Zi, GAO Lijuan, CAO Jimin

(Key Laboratory of Cell Physiology, Department of Physiology College of Basic Medicine, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of calorie restriction (CR) cardiomyocyte hypertrophy induced by angiotensin II (Ang II) and the possible mechanisms involved. **Methods** H9c2 cells were divided into six groups: Control, Ang II (1 $\mu\text{mol/L}$), CR, CR+Ang II, CR+Ang II +Ss and CR+Ang II +Bet groups. The cell viability of each group was detected using the CCK-8 method after corresponding drug treatments. The surface area of cardiomyocytes was detected by TRITC-phalloidin staining. The concentrations of lactic dehydrogenase (LDH), myeloperoxidase (MPO), Reactive oxygen species (ROS), Superoxide dismutase (SOD), and Malondialdehyde (MDA) in cell culture supernatants were detected with kits. The mRNA expression of atrial natriuretic peptide (ANP), brain natriuretic peptide (BNP), myosin heavy chain- β ($\beta\text{-MHC}$), NOD-like receptor protein 3 (NLRP3), apoptosis-associated speck-like protein (ASC),

【基金项目】 山西省回国留学人员科研项目 (2020-078);山西省自然科学基金项目 (201601D011115)。

【作者简介】 孙思雨 (1997—),女,硕士,研究方向:心肌损伤与修复。E-mail: 1489033698@qq.com

【通信作者】 贺忠梅 (1970—),女,副教授,研究方向:心肌损伤与修复。E-mail: hezmei@126.com

gasdermin-D(GSDMD), caspase1, interleukin-18(IL-18), and interleukin-1 β (IL-1 β) was detected by RT-qPCR, and the protein levels of NLRP3, ASC, GSDMD, caspase1 and Nuclear factor- κ B(NF- κ B) in cardiomyocytes were detected by Western blot. **Results** The surface area of H9c2 cardiomyocytes and the mRNA expression levels of hypertrophy markers (ANP, BNP, β -MHC) were significantly increased in Ang II-induced H9c2 cardiomyocytes compared with the controls, and these changes were attenuated by CR intervention. CR reversed the Ang II-induced increase in LDH and MPO in myocardium mast cells. The mRNA expression levels of NLRP3, ASC, GSDMD, caspase1, IL-18, and IL-1 β and the protein levels of NLRP3, ASC, GSDMD, caspase1, and NF- κ B were significantly decreased in Ang II-induced hypertrophied cardiomyocytes under CR intervention compared with Ang II only. An NF- κ B inhibitor further reduced the mRNA expression of NLRP3 and GSDMD compared with expression in the CR+Ang II group, while an NF- κ B agonist blocked the effect of CR on the mRNA expression of coke-death related genes. **Conclusions** CR reduced the cardiomyocyte hyperplasia induced by Ang II in rats, and it may protect cardiomyocytes by inhibiting pyroptosis through the regulation of NF- κ B.

【Keywords】 cardiomyocyte hypertrophy; caloric restriction; NF- κ B; pyroptosis.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

心肌肥厚是引起多种心血管疾病发病率和病死率升高的独立危险因素之一^[1]。既往研究已经证实炎症反应在心血管疾病的发病机制中发挥着重要作用^[2]。已知细胞焦亡是一种能够放大炎症级联反应的独特程序性细胞死亡方式^[3],因此推测调控细胞焦亡可能是心血管疾病的潜在治疗靶点。

热量限制(caloric restriction, CR)是一种逐渐引起关注的饮食控制方法,已有研究发现 CR 对衰老的心血管系统有多种有益作用,例如可防止血管纤维化,减轻炎症与氧化应激,减少心肌细胞凋亡等^[4]。NF- κ B 是细胞内重要的核转录因子,可参与机体的炎症反应、免疫应答、调节细胞凋亡、应激反应等^[5]。已有研究发现 NF- κ B 是炎症和心肌肥厚的共同通路,抑制 NF- κ B 信号通路可减轻心脏炎症反应,有效阻止心肌肥厚的发生,延缓心力衰竭^[6]。我们前期实验发现 CR 可通过调控细胞焦亡减轻心肌缺血/再灌注损伤,故推测 CR 可能通过调控 NF- κ B 介导的细胞焦亡对心肌细胞肥大产生保护作用。因此本文拟在 Ang II 诱导的心肌细胞肥大模型上,从细胞焦亡的角度探讨 CR 对心肌细胞肥大的影响及可能机制。

1 材料和方法

1.1 细胞

大鼠 H9c2 细胞系购自中国科学院上海分院,批号:CRL-1446。

1.2 主要试剂与仪器

Ang II 购自 MCE 公司,货号:HY-P7844;CCK8 试剂购自 SEVEN 公司,货号:SC119;鬼笔环肽染色液购自 Solarbio 公司,货号:CA1620;活性氧(ROS)

检测试剂盒购自碧云天试剂公司,货号:S0033S;超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、乳酸脱氢酶(LDH)、髓过氧化物酶(MPO)检测试剂盒均购自南京建成生物工程有限公司,货号分别为:A001-3、A003-2、A020-2、A044-1-1;RT-PCR 试剂盒购自北京聚合美生物科技有限公司,货号:MF166-NSP-01;引物均由美国 Invitrogen 公司合成;NLRP3、caspase1 抗体购自万类生物有限公司,货号分别为 WL02635、WL02996;ASC、NF- κ B 抗体购自 ABclonal 公司,货号分别为:A16672、AP0123;GSDMD 抗体购自 Abcam 公司,货号:ab219800。荧光定量 PCR 仪购自 STRATAGENE 公司;荧光倒置显微镜购自 Olympus (Japan) Co 公司;多功能酶标仪 SpectraMaxM2 购自 Molecular Devices 公司;UVP 凝胶成像仪购自美国 UVP 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞分组及处理

实验分 6 组:正常对照组(Control),Ang II 组(1 μ mol/L, Ang II),热量限制组(CR),CR+Ang II 组(CR+Ang II),NF- κ B 抑制剂组(CR+Ang II+Ss)、NF- κ B 激动剂组(CR+Ang II+Bet)。采用 Ang II (1 μ mol/L)干预 H9c2 心肌细胞 24 h 建立心肌细胞肥大模型,CR 组用低葡萄糖培养基(2 g/L)培养细胞 24 h 进行热量限制^[7]。CR+Ang II 组用低糖培养基培养 24 h 进行热量限制,再换正常培养基培养并加 Ang II (1 μ mol/L)孵育 24 h,CR+Ang II+Ss 及 CR+Ang II+Bet 组细胞用低糖培养基培养 24 h 后换正常培养基加 Ang II (1 μ mol/L)同时在抑制剂组及激动剂组分别加 Ss(sodium salicylate) (10 μ mol/L)及 BA(Betulinic acid) (80 μ mol/L)共同孵育 24 h。

1.3.2 CCK-8 法检测细胞存活率

将细胞调至 $2 \times 10^6/L$ 接种于 96 孔板, 设置 Ang II 干预浓度梯度 (0、0.01、0.1、1、10 $\mu\text{mol/L}$) 及时间梯度 (0、6、12、24、48 h), 每组设置 5 个复孔, 按照 CCK-8 试剂盒说明书操作测定各组细胞活力, 确定建立心肌细胞肥大模型的 Ang II 最佳干预浓度及时间。用不同葡萄糖浓度培养基 (1、2、3、4、4.5 g/L) 对细胞进行处理, 测定各组细胞活力, 确定模拟 CR 的最佳葡萄糖浓度。

1.3.3 鬼笔环肽染色测定细胞表面积

将 H9c2 细胞种于 6 孔板中, 进行相应的药物处理, 造模成功后按照说明书进行细胞染色, 在共聚焦显微镜下进行观察, 利用 Image J 软件测量心肌细胞表面积。

1.3.4 细胞培养液中氧化应激指标及乳酸脱氢酶 (LDH)、髓过氧化物酶 (MPO) 含量的测定

收集各组细胞培养液, 采用 DCFH-DA 荧光探针法检测各组细胞中的 ROS 含量; 试剂盒法测定各组细胞上清液中的 SOD、MDA 及 LDH、MPO 含量。

1.3.5 RT-qPCR 法检测 mRNA 表达量

用 RT-qPCR 法, 按照试剂盒说明提取总 RNA, 逆转录合成 cDNA, 用实时定量的方法在扩增仪上进行扩增。PCR 扩增反应条件为: 95°C , 30 s, 1 cycle; 95°C , 5 s, 40 cycle; 60°C , 20 s, 1 cycle。引物序列见表 1。

1.3.6 Western blot 分析

收集样本, RIPA 裂解液提取总蛋白后电泳并转

表 1 RT-qPCR 法中所用的引物名称及引物序列

Table 1 Primers used in RT-qPCR and their sequences

引物名称 Oligo name	引物序列 (5' - 3') Primer sequence
ANP-F	GGCTCCTTCTCCATCC
ANP-R	TGTTATCTTCGGTAC
BNP-F	GACGGGCTGAGGGT
BNP-R	ACTGTGGCAAGTGTGCTG
β -MHC-F	TGGCACCCTGGACTACAATA
β -MHC-R	TACAGGTGCATCAGCTCCAG
NLRP3-F	GCAGCGATCAACAGGCGAGAC
NLRP3-R	TCCCAGCAAACCTATCCACTCCTC
GSDMD-F	CAGCAGGCAGCATCCTTGAGTG
GSDMD-R	TCCAGAGCCTTAGTAGCCAGTAGC
caspase-1-F	AAACACCCACTCGTACAGTCTTG
caspase-1-R	AGGTCAACATCAGTCCGACTCTC
IL-1 β -F	CTCAGCAGCATCTCGACAAGAG
IL-1 β -R	TCCACGGGCAAGACATAGGTAGC
IL-18-F	CGACCGAACAGCCAACGAATCC
IL-18-R	TCACAGATAGGCTCAGCCAGTTC
ASC-F	TGGTTTGCAGGATGCTCTGTATGG
ASC-R	ACAAGTTCTTGCAGTCCAGGTTCC
GAPDH-F	GGCACAGTCAAGGCTGAGAATG
GAPDH-R	ATGGTGCTGAAGACGCCAGTA

至 PVDF 膜上, 5% 奶粉封闭 2 h, 洗膜后一抗 (1 : 1000) 孵育 4°C 过夜, 洗膜后二抗孵育 2 h, 曝光。

1.4 统计学方法

应用 GraphPad Prism 6.02 软件进行统计学分析。实验数据用平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 两组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

2 结果

2.1 用 CCK-8 法测定各组细胞存活率

为确定利用 Ang II 诱导 H9c2 细胞肥大及热量限制 (CR) 的最佳实验条件, 用 CCK-8 法测定各组细胞存活率。结果显示与正常对照组相比, Ang II 干预浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ 时细胞存活率为 76%, 干预时间 24 h 时细胞存活率 82%, 干预时间为 48 h 时细胞存活率显著下降, 见图 1A、1B)。此外, 葡萄糖浓度 (2 g/L) 时, 细胞存活率最高, 见图 1C。因此选择 1 $\mu\text{mol/L}$ Ang II 作用 24 h 为建立心肌细胞肥大模型的后续实验条件, 选择 CR 干预条件为培养基葡萄糖浓度 (2 g/L)。

2.2 测定 CR 对 Ang II 诱导的 H9c2 细胞表面积及肥大程度的影响

通过测定心肌细胞表面积及肥大相关基因 ANP、BNP、 β -MHC 的 mRNA 表达量, 以确定 CR 是否有心肌细胞保护作用。鬼笔环肽染色结果显示, 与对照组相比, Ang II 组的心肌细胞表面积增加, 而 CR 干预能逆转 Ang II 诱导的这种改变 ($P < 0.05$), 见图 2A、图 2B。此外, CR 能降低 Ang II 诱导的肥大相关基因 ANP、BNP、 β -MHC 的 mRNA 表达量增高 ($P < 0.05$), 见图 2C~图 2E。表明 CR 能抑制 Ang II 诱导的 H9c2 细胞表面积及肥大相关基因 mRNA 表达的上调。

2.3 各组细胞上清中氧化应激指标及 LDH 与 MPO 的含量

ROS 荧光结果显示, 与正常对照组相比, Ang II 组 ROS 显著增加, 而 CR 能降低 Ang II 诱导的心肌细胞 ROS 的增加, 见图 3A。此外结果显示 Ang II 组的 MDA 及 LDH、MPO 表达含量较正常对照组显著增加, SOD 含量则明显降低 ($P < 0.01$); 而相较于 Ang II 组 CR 能降低心肌细胞 MDA、SOD 及 LDH、MPO 含量的变化 ($P < 0.05$), 如图 3B~图 3E 所示, 以上结果说明了 CR 干预能减轻 Ang II 诱导的心肌细胞损伤。

2.4 测定各组细胞焦亡相关标志物的 mRNA 表达

为了进一步探究细胞焦亡是否参与了 CR 对 Ang II 诱导的 H9c2 肥大细胞保护作用,检测了各组细胞焦亡相关指标的表达式。结果显示,与对照组相比,Ang II 组的焦亡相关基因 NLRP3、ASC、GSDMD、caspase1、IL-18、IL-1 β 的 mRNA 表达量增高($P < 0.01$),而 CR 干预后使焦亡相关基因表达量分别降低了 18%、15%、17%、23%、31%、28% ($P < 0.05$),见图 4。

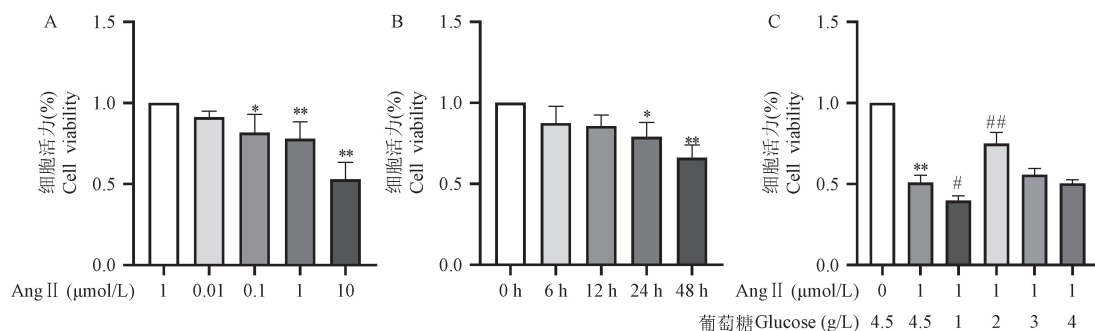
2.5 CR 对 Ang II 诱导的 H9c2 细胞焦亡相关蛋白

表达的影响

Ang II 组的焦亡相关蛋白 NLRP3、ASC、GSDMD、caspase1 表达量与对照组相比显著增高,而 CR 干预则明显下调上述焦亡相关蛋白的表达量($P < 0.05$),见图 5。

2.6 检测各组细胞 NF- κ B 蛋白表达量

为了探究 CR 对 Ang II 诱导的 H9c2 心肌细胞中 NF- κ B 含量的影响,通过 Western blot 检测各组细胞 NF- κ B 蛋白表达量。结果显示,在 NF- κ B 抑制剂组(CR+Ang II+Ss)、NF- κ B 激动剂组(CR+Ang II

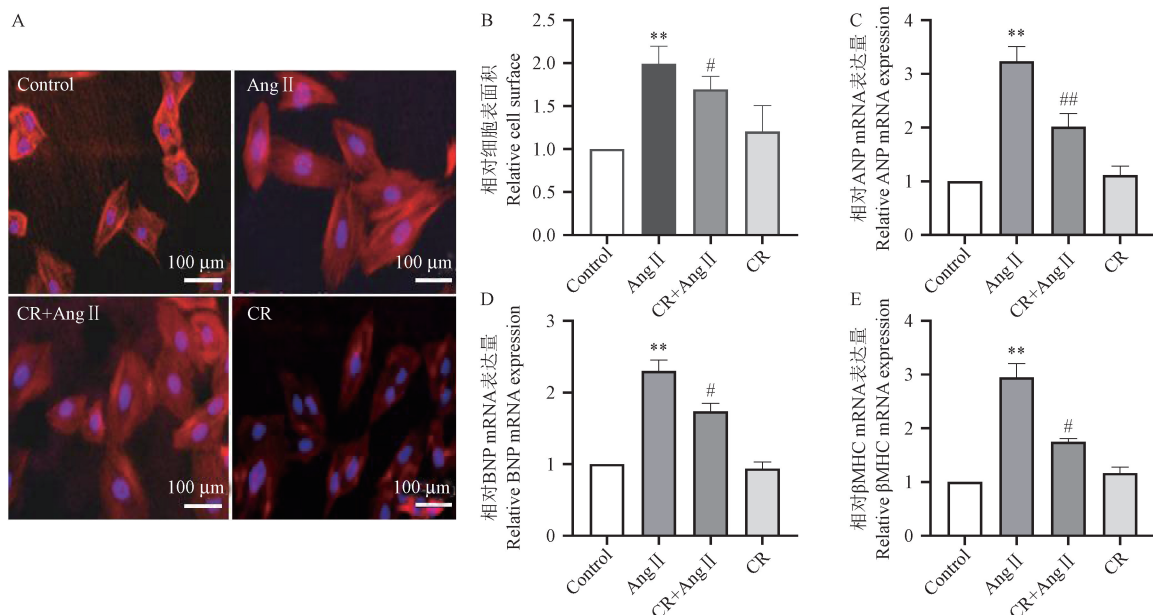


注:与正常对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 Ang II + Glucose 4.5 (g/L) 组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 1 心肌细胞肥大模型的构建及 CR 干预浓度的选择 ($n=4$)

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. Compared with the Ang II + Glucose 4.5 (g/L) group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

Figure 1 Establishment of myocardial hypertrophy model and selection of CR intervention concentration

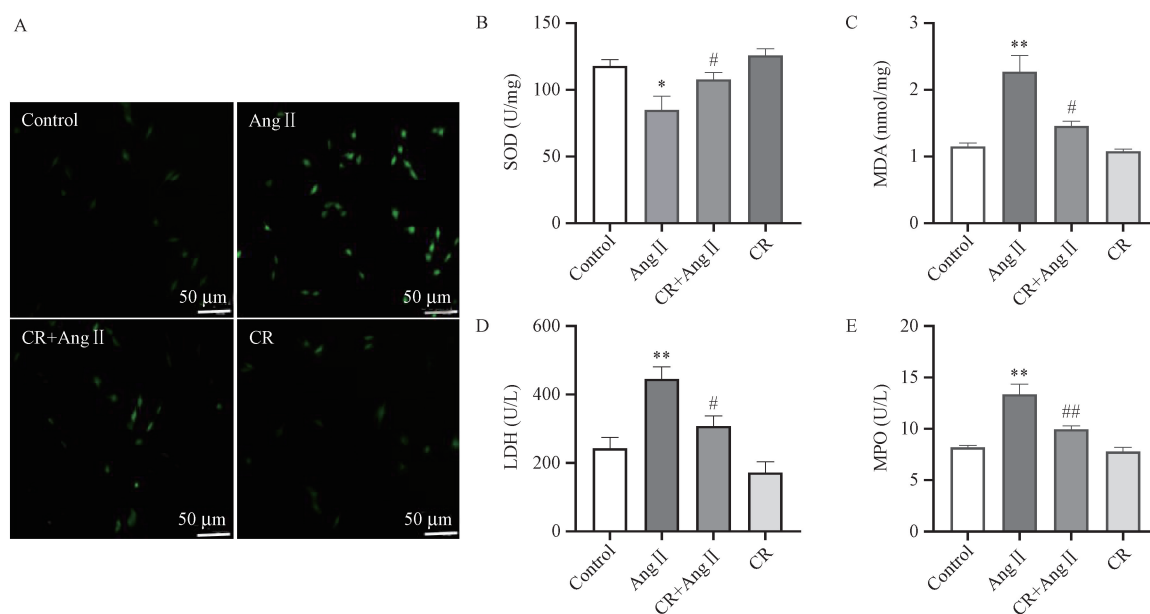


注:与正常对照组相比, ** $P < 0.01$;与 Ang II 组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 2 CR 能降低 Ang II 诱导的 H9c2 细胞表面积及肥大基因的表达 ($n=4$)

Note. Compared with the control group, ** $P < 0.01$. Compared with the Ang II group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

Figure 2 CR can reduce the hypertrophy degree of H9c2 cells induced by Ang II

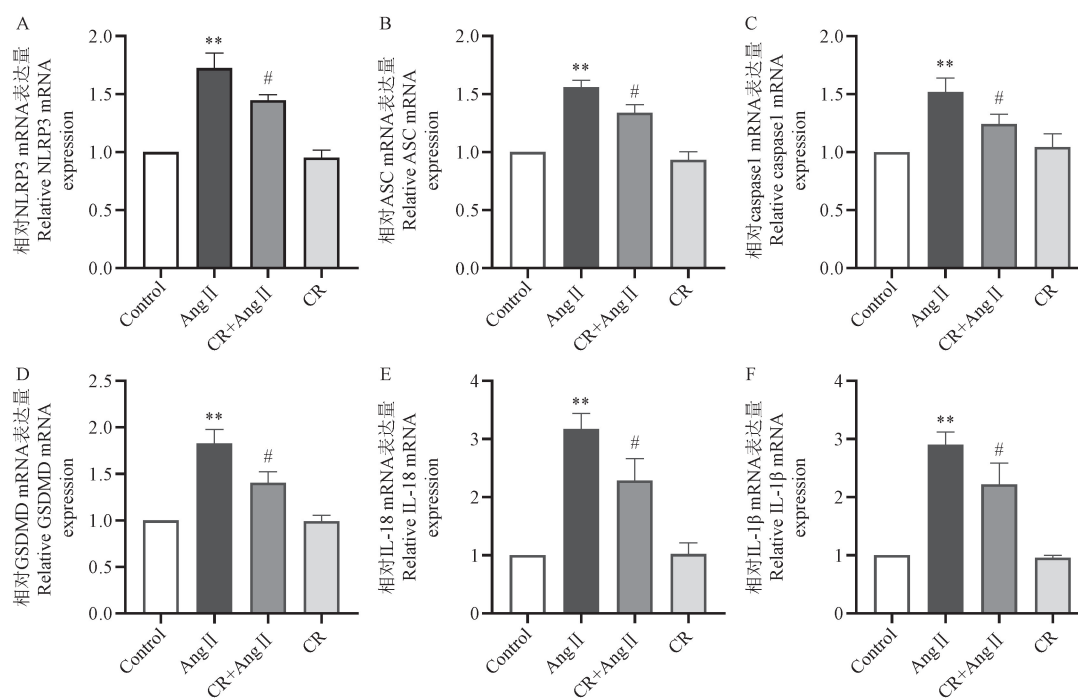


注:与正常对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 Ang II 组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 3 CR 能缓解 Ang II 导致的心肌细胞中氧化应激及细胞损伤($n=4$)

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. Compared with the Ang II group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

Figure 3 CR can alleviate the oxidative stress and cell damage in cardiomyocytes induced by Ang II



注:与正常对照组相比, ** $P < 0.01$;与 Ang II 组相比, # $P < 0.05$ 。

图 4 各组心肌细胞中焦亡相关蛋白的 mRNA 相对表达量($n=4$)

Note. Compared with the control group, ** $P < 0.01$. Compared with the Ang II group, # $P < 0.05$.

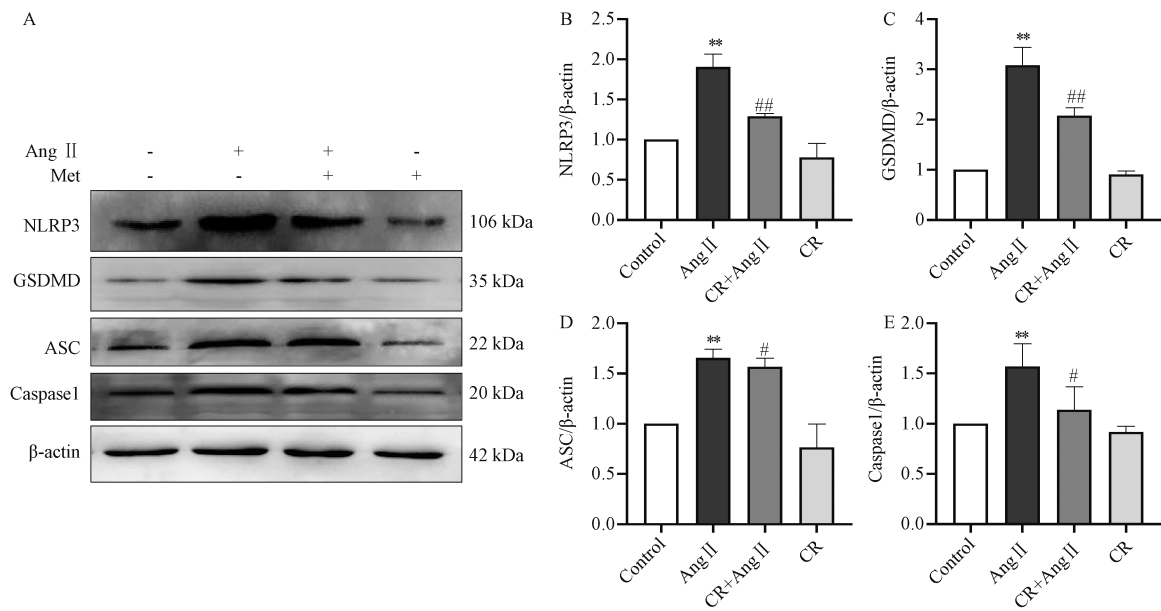
Figure 4 mRNA content of pyroptosis associated protein in each group of cardiomyocytes

+Bet) 中, 分别成功地降低或增加了心肌细胞中 NF- κ B 蛋白的表达量($P < 0.05$), 此外, 发现 Ang II 组的 NF- κ B 蛋白含量明显增加, 而 CR 干预条件下则逆转了 Ang II 诱导的 H9c2 心肌细胞中 NF- κ B 蛋白含量的增加($P < 0.05$), 见图 6。由此提示 NF- κ B 参与了 CR 对 Ang II 诱导的心肌细胞肥大的保护作用。

2.7 RT-qPCR 检测各组细胞焦亡相关基因 mRNA 表达

为了确定 CR 的心脏保护作用是否与 NF- κ B 介导的细胞焦亡有关, 在 NF- κ B 激动剂及抑制剂干预

条件下, 通过 RT-qPCR 检测各组细胞 NLRP3、GSDMD 的 mRNA 表达量。结果显示, CR 降低了 Ang II 诱导的 NLRP3、GSDMD 的 mRNA 表达水平($P < 0.05$), 而 NF- κ B 抑制剂使 NLRP3、GSDMD 的 mRNA 表达水平较 CR+Ang II 进一步降低, NF- κ B 激动剂则阻断了 CR 降低焦亡相关的 mRNA 表达的作用($P < 0.05$), 见图 7。以上结果表明, CR 可能是通过调控 NF- κ B 降低细胞焦亡, 从而缓解 Ang II 诱导的心肌细胞肥大。

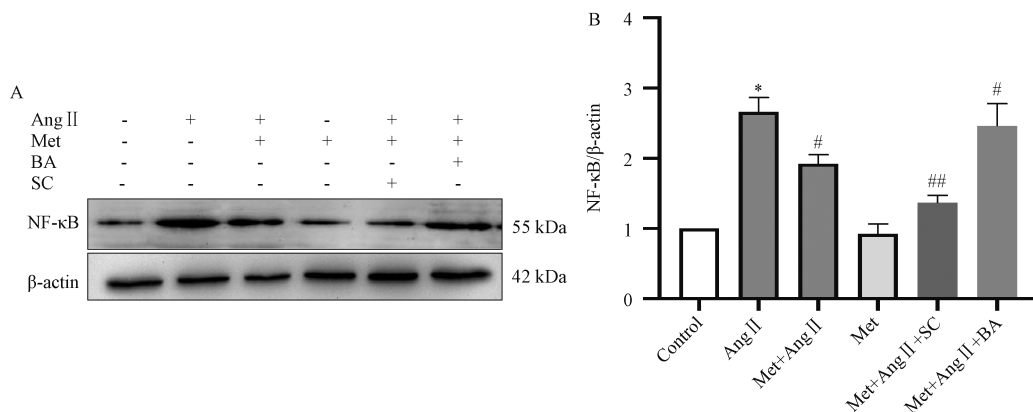


注: 与正常对照组相比, ** $P < 0.01$; 与 Ang II 组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 5 各组心肌细胞中焦亡相关蛋白表达量($n=4$)

Note. Compared with the control group, ** $P < 0.01$. Compared with the Ang II group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

Figure 5 Expression levels of pyroptosis related proteins in cardiomyocytes of each group

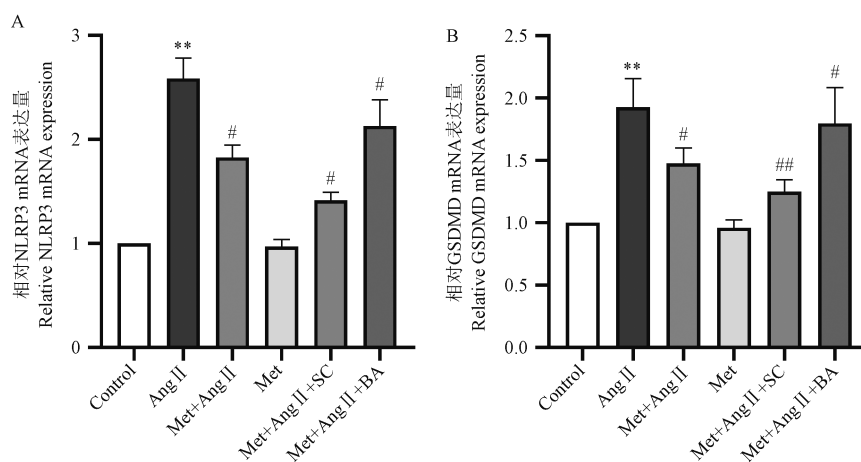


注: 与正常对照组相比, * $P < 0.05$; 与 Ang II 组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 6 CR 可降低 Ang II 诱导的肥大心肌细胞中 NF- κ B 蛋白含量的表达($n=4$)

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$. Compared with the Ang II group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

Figure 6 CR decreased NF- κ B protein expression in Ang II induced hypertrophic cardiomyocytes



注:与正常对照组相比, ** $P < 0.01$;与 Ang II 组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 7 NF- κ B 激动剂可阻断 CR 对 NLRP3 介导的细胞焦亡的抑制($n=4$)

Note. Compared with the control group, ** $P < 0.01$. Compared with the Ang II group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

Figure 7 NF- κ B agonist blocks the inhibitory effect of CR on NLRP3 mediated pyroptosis

3 讨论

本实验通过建立 Ang II 诱导的心肌细胞肥大模型,发现 CR 能减小肥大心肌细胞的表面积及肥大相关基因 mRNA 的表达,减轻 Ang II 诱导的氧化应激及细胞损伤,并且 CR 能够降低肥大心肌细胞中焦亡相关 mRNA 及蛋白的表达量。此外 CR 干预能逆转 Ang II 诱导的 H9c2 心肌细胞中 NF- κ B 蛋白含量的增加,且 NF- κ B 激动剂可阻断 CR 对细胞焦亡的缓解作用。提示 CR 对 Ang II 诱导的心肌细胞肥大有一定的保护作用,其对心肌细胞肥大的保护作用可能是通过调控 NF- κ B 来降低细胞焦亡,从而缓解 Ang II 诱导的心肌细胞肥大。

心力衰竭是各种心脏疾病发展的终末阶段,持续增加的发病率与病死率给社会造成了沉重负担^[8]。而心肌肥厚是心衰的主要病理改变之一,预防和延缓心肌肥厚的发展成为治疗心衰的关键环节^[9]。已有研究表明,钙超载、氧化应激反应、线粒体自噬、炎症反应等均会参与到心肌肥厚的发生发展中,对于心肌肥厚目前尚无有效的治疗方法^[10]。而热量限制(CR)是一种减少老龄相关疾病的饮食控制方法,对衰老的心血管系统有许多有益作用,可防止血管纤维化,减轻炎症和氧化应激,减少心肌细胞凋亡等^[11]。David 等^[12]研究发现在异丙肾上腺素诱导的心肌肥厚小鼠模型基础上,CR 激活了抗氧化酶的活性,同时通过避免活性氧(ROS)的产生来阻止心肌肥大。在我们的研究中同样发现了 CR 可以增加肥大细胞中 SOD 活性,并且可以抑

制 Ang II 诱导的肥大细胞中 ROS 及 MDA 含量增加,缓解氧化应激损伤,从而起到心脏保护作用,与上述报道结果一致。

细胞焦亡是一种与炎症反应密切相关的程序性细胞死亡方式,由 NLRP3 炎症小体介导并激活 caspase1,导致细胞膜肿胀和破裂,促炎因子和细胞内容物从质膜释放到胞外环境,从而放大炎症级联反应^[13]。NF- κ B 作为炎症反应中的关键蛋白,其过度激活与人类许多疾病如类风湿关节炎、心脏与脑部疾病的炎症变化等相关^[14],因此通过抑制 NF- κ B 信号转导通路,可能会成为治疗心脏疾病的手段。Ren 等^[15]发现人参皂苷 Rg3 通过调控 NF- κ B 通路,抑制 NLRP3 炎症小体和氧化应激,从而抑制 Ang II 诱导的心肌肥厚,提示 NF- κ B 参与心肌肥厚的保护作用。本实验结果发现,在 CR 干预条件下,Ang II 诱导的肥大心肌细胞中焦亡相关蛋白 NLRP3、ASC、GSDMD、caspase1 表达明显降低,且 NF- κ B 激动剂可阻断 CR 的这种保护作用。以上结果提示 CR 可能是通过 NF- κ B/NLRP3 信号通路降低细胞焦亡,从而缓解 Ang II 诱导的心肌细胞肥大。但由于本实验仅在细胞水平进行研究,尚未通过建立动物模型来验证这些结论,因此后续实验计划构建动物模型进一步确定 NF- κ B 在 CR 调控的细胞焦亡中的作用。同时还有研究表明 NF- κ B 缺陷小鼠心肌细胞压力过载导致的心功能恶化与纤维化增加、缺氧诱导因子表达降低和微血管密度降低相关,这与本文研究结果有所不同,推测可能与热量限制的干预有关,具体机制还需进一步研究证明。

综上所述,本文表明 CR 可以减轻 Ang II 诱导的心肌细胞肥大,其机制与调控 NF- κ B 介导的心肌细胞焦亡有关,研究结果可能为防治心肌肥厚的发生发展提供一种新策略。

参考文献:

- [1] 刘捡娣, 谢龙, 肖坤, 等. Tempol 对心肌肥厚大鼠 NF- κ B 信号通路的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(1): 64-69.
- [2] Aziz IS, McMahon AM, Friedman D, et al. Circadian influence on inflammatory response during cardiovascular disease [J]. Curr Opin Pharmacol, 2021, 57: 60-70.
- [3] Del Re DP, Amgalan D, Linkermann A, et al. Fundamental mechanisms of regulated cell death and implications for heart disease [J]. Physiol Rev, 2019, 99(4): 1765-1817.
- [4] Weiss EP, Fontana L. Caloric restriction: powerful protection for the aging heart and vasculature [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011, 301(4): H1205-H1219.
- [5] Oda-Kawashima K, Sedukhina AS, Okamoto N, et al. NF- κ B signaling in cardiomyocytes is inhibited by sevoflurane and promoted by propofol [J]. FEBS Open Bio, 2020, 10(2): 259-267.
- [6] Smeets PJ, Teunissen BE, Planavila A, et al. Inflammatory pathways are activated during cardiomyocyte hypertrophy and attenuated by peroxisome proliferator-activated receptors PPARalpha and PPARdelta [J]. J Biol Chem, 2008, 283(43): 29109-29118.
- [7] 王文丽. 热量限制抗心肌缺血/再灌注细胞焦亡的作用研究 [D]. 太原: 山西医科大学, 2021.
- [8] 王晓平, 张雪峰, 邵明燕, 等. 自噬信号通路在心力衰竭中的作用以及中药干预的研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(9): 4220-4223.
- [9] Condorelli G, Ferrante G. MicroRNA-132 inhibition prevents myocardial hypertrophy and heart failure in pigs: making sense out of antisense [J]. J Am Coll Cardiol, 2021, 77(23): 2936-2938.
- [10] Kopalani I, Jarzebska N, Billoff S, et al. Overexpression of dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1 protects from angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and vascular remodeling [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2021, 321(5): H825-H838.
- [11] de Lucia C, Gambino G, Petraglia L. Long-term caloric restriction improves cardiac function, remodeling, adrenergic responsiveness, and sympathetic innervation in a model of postischemic heart failure [J]. Circ Heart Fail, 2018, 11(3): e004153.
- [12] David CEB, Lucas AMB, Araújo MTS, et al. Calorie restriction attenuates hypertrophy-induced redox imbalance and mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel repression [J]. J Nutr Biochem, 2018, 62: 87-94.
- [13] Mayes-Hopfinger L, Enache A, Xie J, et al. Chloride sensing by WNK₁ regulates NLRP3 inflammasome activation and pyroptosis [J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 4546.
- [14] Ilchovska DD, Barrow DM. An Overview of the NF- κ B mechanism of pathophysiology in rheumatoid arthritis, investigation of the NF- κ B ligand RANKL and related nutritional interventions [J]. Autoimmun Rev, 2021, 20(2): 102741.
- [15] Ren B, Feng J, Yang N, et al. Ginsenoside Rg3 attenuates angiotensin II-induced myocardial hypertrophy through repressing NLRP3 inflammasome and oxidative stress via modulating [J]. Int Immunopharmacol, 2021, 98: 107841.

[收稿日期]2022-03-15