

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.01.003

小鼠垂体中叶素对异丙肾上腺素诱导的小鼠心脏肥大的保护作用研究*

曾 慧^{1,2}, 吴 丹², 王 雪², 陈华黎², 傅 荣¹, 蒋 维^{2△}

(1. 四川省人民医院感染内科, 成都 610071; 2. 四川大学华西医院分子医学研究中心, 成都 610041)

[摘要] 目的 利用异丙肾上腺素(ISO)诱导的小鼠心脏肥大模型研究小鼠垂体中叶素(IMD)拮抗心脏肥大的药理学作用和机制。方法 建立小剂量 ISO 皮下注射诱导心脏肥大的小鼠模型, 研究 IMD 给药后的小鼠血流动力学指标和心质量/体质量比, 然后利用心脏组织切片评价心肌细胞横截面积、凋亡和纤维化。采用荧光实时定量 PCR 法检测心脏组织的心钠素(ANP)、脑钠肽(BNP)、内源性 IMD 及其受体系统的 mRNA 表达水平。结果 与 ISO 诱导的小鼠心脏肥大模型组相比较, 腹腔注射 IMD 治疗明显降低 ISO 处理所增加的心质量/体质量比和心肌细胞横截面积, 心脏肥大标志物 ANP 及 BNP 的 mRNA 水平, 以及心肌细胞凋亡率和心肌组织纤维化率。同时, 改善心脏功能, 左室压力、等容收缩期左心室内压力上升的最大和下降的最小速率、每搏排量、心输出量和射血分数明显增加, 而左室舒张末期压力显著降低。此外, ISO 处理明显诱导心脏组织内源性 IMD 及其受体的表达。结论 ISO 诱导心脏组织内源性 IMD 及其受体的表达, 外源性给与 IMD 治疗可能通过 ISO 活化的 IMD 受体系统实现其拮抗心脏肥大的药理学保护作用。

[关键词] 异丙肾上腺素; 心脏扩大; 垂体; 垂体中叶素; Intermedin 受体系统

[中图分类号] R963

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)01-0024-05

Study on protective effects of mouse intermedin against isoproterenol induced cardiomegaly*

Zeng Hui^{1,2}, Wu Dan², Wang Xue², Chen Hualif², Fu Rong¹, Jiang Wei^{2△}

(1. Department of Infectious Diseases, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610071, China;

2. Molecular Medicine Research Center, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the pharmacological effect and mechanism of mouse intermedin (IMD) for antagonizing cardiac hypertrophy by using isoproterenol (ISO) induced mouse cardiomegaly model. **Methods** The mouse cardiomegaly model was constructed by small dose of ISO subcutaneous injection. The mouse blood dynamic indexes and heart weight/body weight ratio were investigated. Then the cardiomyocyte cross-sectional area, apoptosis and cardiac tissue fibrosis were evaluated by using the cardiac tissue section. ANP, BNP, mRNA expression levels of endogenous IMD and its receptors system in cardiac tissues were detected by using real time fluorescence PCR method. **Results** Compared with the ISO induced mouse cardiomegaly model group, the intraperitoneal injection of IMD significantly decreased the heart weight/body weight ratio and cardiomyocyte cross-sectional area increased by ISO treatment, cardiomegaly marker ANP and BNP mRNA level, cardiomyocyte apoptosis and cardiomyocyte fibrosis, improved the cardiac function, left ventricular pressure, maximal and minimal rate of LV pressure increase and decrease during the isovolumetric contraction phase, stroke volume, cardiac output and ejection fraction, but significantly decreased the left ventricle end-diastolic pressure. In addition, the ISO treatment significantly induced the expressions of endogenous IMD and its receptors in heart tissues. **Conclusion** ISO induces the expressions of endogenous IMD and its receptors in cardiac tissues, and exogenous IMD supplementation therapy realizes the pharmacological protective effect for antagonizing cardiomegaly by ISO activated IMD receptor system.

[Key words] isoproterenol; cardiomegaly; pituitary gland; intermedin; intermedin receptor system

心脏肥大是心脏对各种病理性肥大刺激的代偿反应, 许多心血管疾病如高血压、瓣膜病、心肌梗死和先天性心脏病等都伴有心脏肥大, 因此心脏肥大是心脏病发病和死亡的重要危险因素^[1-2]。心脏肥大发生机制极其复杂^[1-3], 其中, 心肌组织局部旁/内分泌网络的失衡和内源性细胞因子活化是其主要特征, 这些活化的心血管活性因子对维持心肌功能具有重要的作用, 对肥大刺激具有防御作用^[4-5]。目前, 研究和开发这些自分泌/旁分泌因子的药理激动剂或拮抗剂是当前心脏肥大疾病防治的重要手段和方向^[4-6]。

垂体中叶素(intermedin, IMD)是降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)家族新成员, 广泛分布于心

血管系统, 是外周循环重要的生理调节因子, 可舒张体、肺循环血管, 增强心肌收缩力, 增加肾血流和钠盐排出^[7-8]。多种心血管疾病状态下, 内源性 IMD 及其受体水平明显增加, 以旁/自分泌形式保护器官损伤^[7]。CGRP 家族成员 CGPR 和肾上腺髓质素(adrenomedullin, ADM)具有明显拮抗心脏肥大的药理学效应^[7-9]。IMD 的生物学效应和 ADM 相似, 并与 CGRP 和 ADM 共用相同的受体系统, 即由降钙素受体样受体(calcitonin receptor like receptor, CRLR)与受体活化修饰蛋白(receptor activity modifying proteins, RAMPs)共同构成的受体复合体^[9]。已有报道表明, IMD 可保护心肌细胞拮抗氧化应激^[7]和促肥大因子血管紧张素 II 的刺激^[8], 提示作为一个内源性反

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31071001, 31271226)。
△ 通信作者, E-mail: wcumsjw@scu.edu.cn。

作者简介: 曾慧(1977-), 主管护师, 本科, 主要从事心血管药理学及护

应调节肽,IMD 具有很强的心血管系统保护作用^[7-9]。但目前尚不清楚 IMD 能否拮抗交感神经递质活化肾上腺素受体所诱导的心脏肥大疾病^[7-8]。

本研究拟利用小剂量盐酸异丙肾上腺素(isoproterenol, ISO)持续给药建立心脏肥大模型,研究心肌组织的内源性 IMD 及其受体系统在肥大过程中的变化,给予外源性 IMD 保护心脏肥大的药理学作用及机制,为临床心脏肥大疾病的防治提供新的理论依据和治疗策略。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 实验动物 雄性 C57 小鼠 27 只,8 周龄,体质量 18~22 g,购自四川大学实验动物中心,置于符合标准温度、空气和照明等条件的清洁级动物房进行饲养。

1.1.2 主要试剂 小鼠 IMD 肽段(IMD8-47)的结构如下:



其中,N-末端的第 3 和第 8 位半胱氨酸残基之间由二硫键连接,C-末端为酰胺化的酪氨酸。实验用 IMD8-47 由上海闪晶生物技术公司采用 Fmoc/PyBOP 固相合成方法,使用同时性多重固相肽合成仪(PSSM-8 型多肽合成仪,岛津,日本东京)合成。

DMEM 细胞培养基(dulbecco's modified eagle's medium, DMEM)购自 Gibco 公司;胎牛血清购自 Hyclone 公司;ISO、胰蛋白酶购自 Sigma 公司;总 RNA 抽提试剂 TRIZOL 购自 Invitrogen 公司;M-MLV 逆转录酶(M-MLV reverse transcriptase)购自 Promega 公司;实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)试剂盒购自 Takara 公司。兔抗小鼠 IMD 抗血清购自北京爱迪博生物科技有限公司;辣根过氧化物标记二抗(山羊抗兔)购自北京中杉公司;末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记凋亡测定[terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL]试剂盒购自罗氏公司;其他试剂均为国产分析纯级。

1.2 方 法

1.2.1 ISO 诱导的心脏肥大小鼠模型的建立及药物处理 雄性 C57 小鼠分为 3 组,每组 9 只:对照组、ISO 造模组(ISO 组)及 IMD 治疗组(IMD-ISO 组,腹腔注射 IMD 治疗的 ISO 模型小鼠)。小鼠正常进食,ISO 组每天背部皮下注射 5 mg/kg ISO 1 次,连续 7 d;IMD-ISO 组在每次背部皮下注射 5 mg/kg ISO 前 2 h 及给予 ISO 后 2、4、8 h 分别腹腔注射 200 nmol/kg IMD,连续 7 d;对照组背部皮下注射等容积的生理盐水,连续 7 d。正常饲养 1 周,每天记录小鼠体质量。

1.2.2 PV-LOOP 检测心脏功能 小鼠腹腔注射戊巴比妥钠(45 mg/kg)进行麻醉,固定于 37 ℃ 恒温电加热板上;行气管插管,连接小动物呼吸机(Harvard),保持呼吸频率 120 次/分钟,通气体积每次 0.5 mL;于 2~3 肋间剪开肋间肌肉,暴露心尖,左心室插入压力-容积感受器探头(加拿大 Scisense 公司),以 iWorx 型生理多导仪(美国 iWorx/CB Sciences 公司)记录左心室压力(left ventricle pressure, LVP)-容积曲线及相关参数,包括小鼠 LVP、左心室容积(left ventricle volume, LVV)、左心室收缩(left ventricle end-systolic pressure, LVESP)和舒张末期压力(left ventricle end-diastolic pressure, LVEDP)、等容收缩期左室内压力上升的最大/最小速率(maximal and minimal value of the first derivative of LV pressure, dP/dtmax and

dP/dtmin)、左心室收缩(end-systolic volume, ESV)和舒张末期容积(end-diastolic volume, EDV)、每搏排血量(stroke volume, SV)、心输出量(cardiac output, CO)、射血分数(ejection fraction, EF)、每搏功(stroke work, SW)、动脉弹回性(arterial elasticity, AE)和心率(heart rate, HR)。心功能测定完成后,肝素抗凝,小鼠腹腔下腔静脉取血,离心后分离血浆置-80 ℃ 低温冰箱待测,心脏取出后分为 3 个部分,心尖部分提取 mRNA,中间部分置于 Carnoy's 液固定约 6~8 h,进一步进行组织学检查。

1.2.3 心脏组织苏木素-伊红(HE)染色及心肌细胞横截面积的测量 心脏组织经固定、脱水 and 石蜡包埋,切成 4 μmol/L 的切片,脱蜡后进行 HE 染色。每个心脏切片拍摄 3~5 张高倍镜照片,选取核圆位于中央的心肌纤维横截面约 30 个,测量面积,计算平均值。每个处理组检测 9 例。

1.2.4 心脏组织细胞凋亡染色(TUNEL 染色法) 取 4 μmol/L 心肌组织石蜡切片脱蜡至水,3% H₂O₂ 阻断内源性过氧化物酶,蛋白酶 K 孵育后按照试剂说明书进行 TUNEL 染色,4,6-联脒-2-苯基咪唑二盐酸盐(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)负染细胞核,呈蓝色。荧光显微镜下照相,染为红色的细胞核即指示凋亡的心肌细胞。选取至少 5 个非重叠的 400 倍高倍镜视野,计数凋亡心肌细胞数量和视野内的心肌细胞总数,心肌细胞凋亡率=凋亡心肌细胞数量/心肌细胞总数×100%。

1.2.5 心脏组织纤维化染色(Masson 染色) 取 4 μmol/L 心脏组织石蜡切片脱蜡至水,按照 Masson 染色试剂盒说明书,用丽春红酸性品红染液染色,磷酸水溶液分化,苯胺蓝染色后再用磷酸水溶液分化,最后二甲苯透明、封片。取不同处理组心脏的同一部位进行普通光学镜检,400 倍高倍镜下照相,利用 Image Pro Plus 6.0 图像分析软件计算染成蓝色的胶原纤维面积占整个心肌组织面积的百分率。

1.2.6 心脏组织 IMD 的免疫组织化学染色 取 4 μmol/L 心脏组织石蜡切片脱蜡至水,3% H₂O₂ 封闭内源性过氧化物酶,正常兔血清封闭,然后与 IMD 抗血清共孵育。二抗处理后进行二氨基联苯胺(DAB)显色。棕黄色为 IMD 免疫化学阳性染色。光镜下选取至少 5 个非重叠的 400 倍高倍镜视野照相。利用 Image J 图像分析软件检测心肌组织 IMD 阳性染色的灰度值。

1.2.7 Real-time PCR 检测心脏心钠素(atrial natriuretic peptide, ANP)、脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)、内源性 IMD 及其受体的 mRNA 表达 TRIZOL 试剂盒提取心脏组织的总 RNA,用逆转录酶和通用引物 oligo(dT),以 RNA 为模板反转录合成 cDNA 的第 1 链。再以 cDNA 为模板,参照试剂盒说明书利用不同目的基因的引物(表 1)进行 Real-time PCR 实验。PCR 反应条件为:95 ℃ 30 s,95 ℃ 5 s,60 ℃ 30 s,72 ℃ 60 s,共 40 个循环。采集荧光信号,制作融解曲线。目的基因的相对表达率(RQ)采用 $\Delta\Delta C_t$ 计算方法,即 $RQ = 2^{-\Delta\Delta C_t}$ 。

1.3 统计学处理 采用 Primer 5 统计软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,多组间资料采用 One-way ANOVA 方差分析和组间 *q* 检验进行统计学分析,检验水准 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 IMD 处理对小鼠大体状况的影响 ISO 组与对照组相比较,活动减少,毛发凌乱无光泽,心质量/体质量显著增加($P <$

表 1 Real-time PCR 扩增所用的引物序列

目的基因	上游引物序列(5'-3')	下游引物序列(5'-3')	扩增片段大小(bp)
ANP	GAAAAGGCAGTCGATTCTGC	CAGAGTGGGAGAGGCAAGAC	193
BNP	CCTAAGCCCTTGTGGTGTGT	CAGAGTGGGAGAGGCAAGAC	153
IMD	CACGACCTGACCCACAAG	ATGGCTATGCTGGAATGA	169
CRLR	ATGGCTATGCTGGAATGA	TCAGGGCTGTCTTCACTT	191
RAMP1	TGGAGACTATTGGGAAGACG	CTGGGATACCTACACGATGC	115
RAMP2	CCTCGCCATCTCACCCAA	GGAAGCCCAGCCCAAAT	195
RAMP3	CAACGAGACAGGGATGCT	CAACGAGACAGGGATGCT	248
GAPDH	TGCCACTCAGAAGACTGTGG	GTCCTCAGTGTAGCCAGGA	233

0.01); IMD-ISO 组与 ISO 组相比较,小鼠的活动明显增加,毛发有光泽,心质量/体质量显著降低($P < 0.01$),见图 1。ISO 组与对照组比较,心脏肥大标志物 ANP 和 BNP 的 mRNA 水平也显著增加($P < 0.01$)。IMD-ISO 组与 ISO 组比较,ANP 和 BNP 的 mRNA 水平也显著降低($P < 0.05$),见图 2。

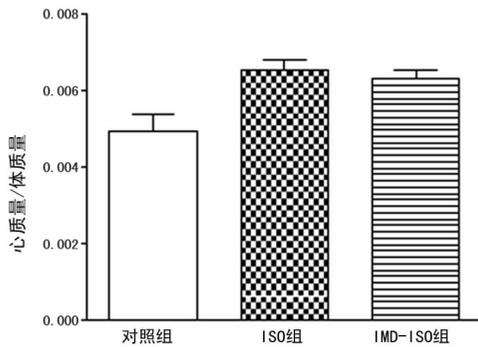


图 1 对照组、ISO 组和 IMD-ISO 组小鼠心质量/体质量比值

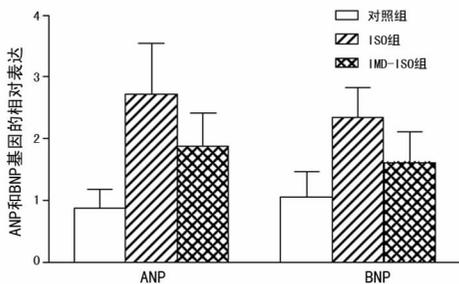


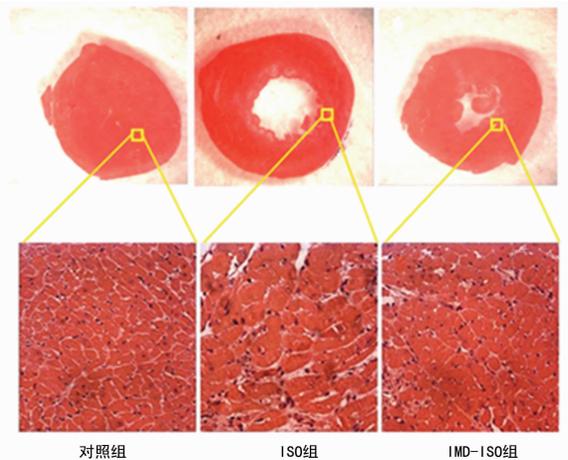
图 2 小鼠心脏组织 ANP 和 BNP 基因的 mRNA 表达与 GAPDH 基因 mRNA 表达的比值柱状图

2.2 IMD 处理对小鼠心肌细胞横截面的影响 心脏组织经固定后切片,HE 染色后测量心肌纤维横截面积。与对照组小鼠心脏相比较,ISO 组小鼠的心脏横截面积显著增加 93.0% ($P < 0.01$)。与 ISO 组相比较,IMD-ISO 组小鼠的心脏横截面积显著减小 23.0% ($P < 0.01$),见图 3。

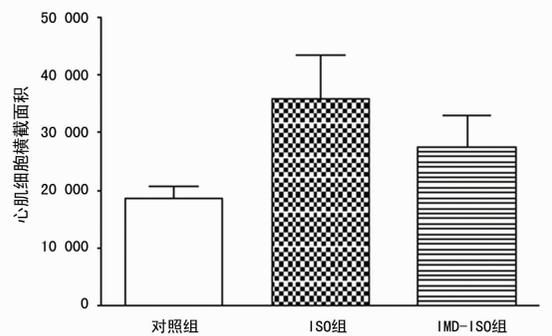
2.3 IMD 处理对小鼠心肌细胞凋亡的影响 心脏组织切片经 TUNEL 染色,评价心肌细胞凋亡的情况。与对照组小鼠相比较,ISO 组小鼠心脏的凋亡指数显著增加 9.4 倍 ($P < 0.01$)。IMD-ISO 组小鼠的心肌细胞凋亡指数比 ISO 组显著减少 40.0% ($P < 0.05$),见图 4。

2.4 IMD 处理对小鼠心脏组织纤维化的影响 心脏组织切

片经 Masson 染色评价纤维化情况,纤维组织呈蓝色染色。ISO 组小鼠心脏的纤维化与对照组比较明显增加,纤维化率增加 13.1 倍 ($P < 0.01$)。IMD-ISO 组小鼠的心脏纤维化程度明显低于 ISO 组,显著减少 44.6% ($P < 0.05$),见图 5。



A



B

A: 心脏冠状面切片 HE 染色的代表性图片($\times 400$),红色为胞质,蓝色为胞核;B: Image J 软件评价心肌细胞横截面的柱状图。

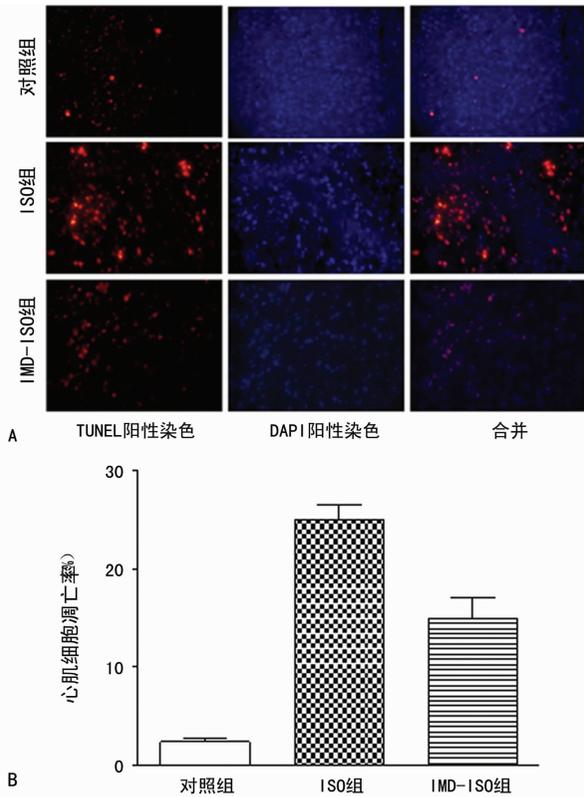
图 3 小鼠心脏组织 HE 染色

2.5 IMD 处理对小鼠心脏功能的影响 用 PV LOOP 评价心脏的功能,观察到与对照组相比较,ISO 组小鼠的心脏功能出现明显的障碍,LVP、dP/dtmax、dp/dtmin、SV、CO 和 EF 值明显降低,而 LVEDP 显著增加(表 2)。与 ISO 组相比较,腹腔注射 IMD 干预后,IMD-ISO 组小鼠的心脏功能明显改善,LVP、dP/dtmax、dp/dtmin、SV、CO 和 EF 明显增加,而 LVEDP 显著降低,见表 2。

2.6 ISO 处理诱导心脏组织内源性 IMD 及其受体的表达上调 与对照组小鼠相比较,ISO 组小鼠心脏组织的 IMD 及

RAMP3 mRNA 水平分别显著上调 28.0 倍和 11.4 倍 ($P < 0.01$); CRLR 和 RAMP1 mRNA 表达水平分别上调 46.6% 和 131.6% ($P < 0.05$); 而 RAMP2 mRNA 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 6。

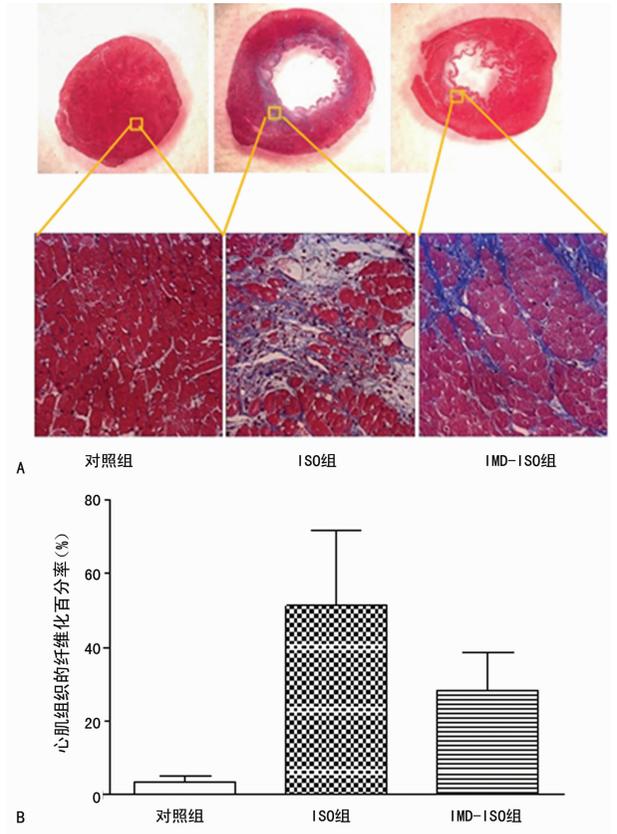
用 IMD 抗血清检测 IMD 蛋白在心脏组织的蛋白表达, 观察到 ISO 组小鼠心脏的内源性 IMD 表达明显强于对照组 ($P < 0.01$), 见图 7。



A: 心脏冠状面切片 TUNEL 染色的代表性图片 ($\times 400$), 红色为 TUNEL 阳性凋亡细胞核, 蓝色为胞核; B: 心肌细胞死亡率柱状图。

图 4 心脏组织心肌细胞凋亡检测

2.7 ISO 处理诱导心脏组织内源性 IMD 的蛋白表达上调



A: 心脏冠状面切片 Masson 染色的代表性图片 ($\times 400$), 蓝色为纤维化组织, 红色为细胞质, 黑色为细胞核; B: Image Pro plus 6.0 图像分析软件计算胶原纤维面积占整个心肌组织面积的百分率柱状图。

图 5 小鼠心脏组织的纤维化

表 2 ISO 造模后 1 周用 PV-LOOP 检测 C57 小鼠心功能指标 ($\bar{x} \pm s$)

指标	对照组	ISO 组	IMD-ISO 组
LVP(mm Hg)	89.56 ± 4.05	62.74 ± 8.96 ^b	80.43 ± 7.92 ^{ad}
LVESP(mm Hg)	71.08 ± 4.00	61.61 ± 5.86 ^b	73.37 ± 4.28 ^d
LVEDP(mm Hg)	3.24 ± 2.16	11.07 ± 4.87 ^b	5.86 ± 1.58 ^d
dP/dtmax(mm Hg/s)	5 066.59 ± 208.15	4 480.16 ± 173.78 ^b	5 181.61 ± 287.69 ^d
dp/dtmin(mm Hg/s)	4 241.55 ± 288.47	3 577.34 ± 303.28 ^b	—4 055.56 ± 58.46 ^d
ESV(μ L)	29.05 ± 2.22	40.17 ± 2.58 ^b	39.83 ± 8.03 ^b
EDV(μ L)	38.68 ± 1.71	45.74 ± 2.40 ^a	46.79 ± 8.11 ^b
SV(μ L)	9.02 ± 1.90	5.18 ± 1.91 ^b	6.86 ± 0.29 ^{bc}
CO(μ L/min)	3 575.57 ± 257.11	2 151.98 ± 600.58 ^b	2 728.49 ± 388.20 ^{bd}
EF(%)	23.25 ± 4.06	11.44 ± 3.90 ^b	16.09 ± 3.40 ^{bd}
SW(mm Hg/ μ L)	605.99 ± 130.61	339.04 ± 117.17 ^b	464.61 ± 60.89 ^{bc}
AE(mm Hg/ μ L)	8.79 ± 1.75	11.94 ± 3.61 ^b	11.96 ± 1.33 ^a
HR(次/分钟)	438.18 ± 34.43	450.01 ± 7.13	422.45 ± 19.62 ^c

^a: $P < 0.05$, ^b: $P < 0.01$, 与对照组比较; ^c: $P < 0.05$, ^d: $P < 0.01$, 与 ISO 组比较。

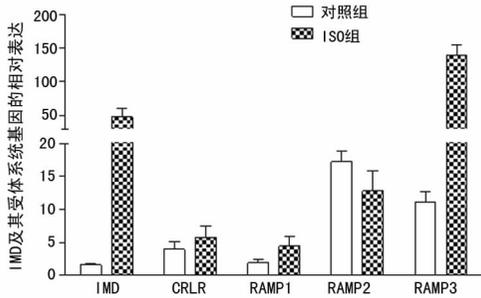
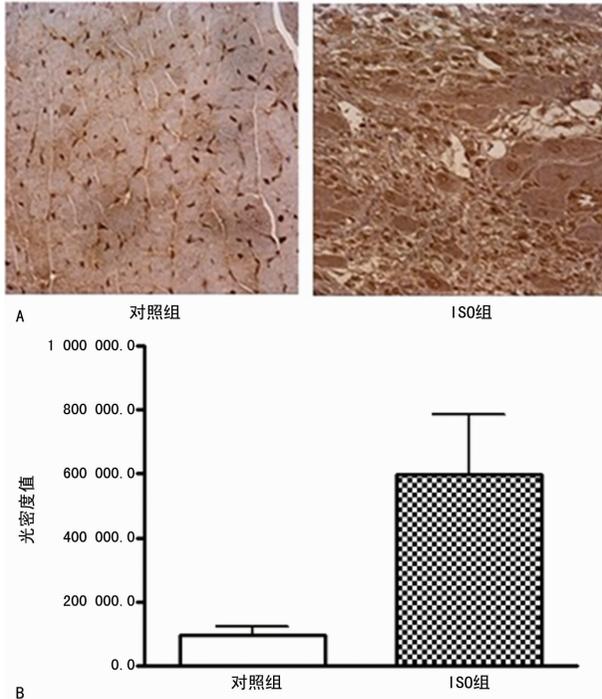


图 6 小鼠心脏组织 IMD 及其受体系统基因的 mRNA 表达与 GAPDH 基因 mRNA 表达的比值柱状图



A: IMD 抗血清免疫组化染色代表性图(×400), 棕褐色为心肌组织的 IMD 阳性染色, 深蓝色点为胞核; B: IMD 阳性染色的光密度值柱状图。

图 7 内源性 IMD 蛋白在心脏中的表达

3 讨论

CGRP 家族与心脏肥大疾病有密切的关系^[5,7-8]。Tsuruda 等^[10]报道该家族的另一个成员肾上腺素素具有拮抗心肌肥大的作用。IMD 与 ADM 的基因核苷酸和多肽氨基酸序列具有较高的同源性^[9], 近来在主动脉弓缩窄的小鼠^[11]和腹主动脉缩窄的大鼠^[12]心脏肥大模型中被证实具有拮抗压力过载诱导的心肌肥大的作用^[7]。

本研究采用背部皮下注射小剂量 ISO 激动心肌肾上腺素 β1 受体, 模拟交感神经兴奋导致的心肌肥大病变, 观察到 ISO 处理后, 小鼠的心质量/体质量比和心肌细胞横截面积明显增加, 心肌的肥大标志物 ANP 和 BNP 的 mRNA 表达水平上调, 提示成功建立了心脏肥大模型。ISO 诱导心脏发生肥大的同时, 会促进大量心肌细胞发生凋亡, 并刺激成纤维细胞等间质细胞增殖, 造成纤维化病变^[13-14]。进一步利用心脏组织切片进行染色, 观察到 ISO 处理诱导心肌细胞凋亡和心肌组织纤维化均明显增加。另外, 检测小鼠的心功能, 发现 ISO 处理明显损伤小鼠的心功能, 特别是收缩功能发生明显障碍, 射血相

关参数均显著降低。

IMD 分散表达于正常心脏和血管, 尤其是内皮细胞^[7-9], 其作用为扩张血管、调节局部血流、增强心肌收缩力^[7-8]。近期报道 IMD 及其受体水平在充血性心力衰竭、高血压、慢性缺氧性肺动脉高压及长期抑制一氧化氮合酶等情况下会增加^[7]。IMD 肽在病理状态的上调提示 IMD 可能是对抗器官损伤起重要保护作用的内源性自/旁分泌因子^[7,8,15]。本研究采用腹腔注射 IMD 的方式治疗 ISO 诱导的小鼠心脏肥大病变, 观察到与 ISO 组相比较, IMD 治疗后小鼠的心质量/体质量比和心肌细胞横截面积均明显降低, 心肌肥大标志物 ANP 和 BNP 的 mRNA 表达水平下降, 心肌细胞凋亡和心脏纤维化病变均明显改善, 表明 IMD 具有很强的心肌细胞保护作用, 可有效拮抗心脏肥大和纤维化。此外, IMD 治疗还明显改善 ISO 诱导的左心室收缩功能障碍, 射血相关参数均明显增加, 提示 IMD 还具有保护心脏功能的作用。

IMD 与 ADM 分享同一家族受体复合物, 由 CRLR 分别与 3 种 RAMPs 之一结合组成^[7-9]。RAMPs 作为 CRLR 运输的伴侣蛋白, 在不同类型细胞中与 CRLR 共同表达时表现出与 CRLR 不同程度的亲和力^[9,16]。有研究认为, IMD 与 CRLR/RAMP1 和 CRLR/RAMP3 受体复合物的亲和力较强, 而与 CRLR/RAMP2 受体复合物的亲和力较弱^[9], 故 IMD 被认为是 CRLR/RAMP1 和 CRLR/RAMP3 受体复合物的特异性激动剂^[9,16]。IMD 可通过蛋白激酶 C 和蛋白激酶 A 依赖的机制迅速增强心肌细胞收缩力^[7-8], 通过 cGMP 依赖的途径舒张大鼠肺动脉环^[7]。本研究检测了心脏内源性 IMD 及其受体系统的 mRNA 和蛋白质的表达水平, 观察到 ISO 明显刺激心脏组织的内源性 IMD 的转录和蛋白表达, 显著增加 CRLR、RAMP1 和 RAMP3 的 mRNA 表达水平, 但不影响 RAMP2 的转录。这些结果表明, ISO 诱导的内源性 IMD 及其受体复合物 CRLR/RAMP1 和 CRLR/RAMP3 的表达增加, 可能是心脏发生肥大病变时活化内源性保护通路的代偿性适应反应之一, 进而增强内源性 IMD 及其受体介导的信号转导。此外, ISO 刺激上调 IMD 的受体复合物后, 外源性给予的 IMD 也可以通过活化的受体复合物增强其拮抗心脏肥大和心肌细胞损伤的作用。

本研究结果表明心脏肥大刺激因素 ISO 上调内源性保护因子 IMD 及其受体系统的表达, 外源性给予的 IMD 也可能通过受 ISO 刺激所活化的 IMD 受体系统, 实现其抑制心肌细胞肥大、心肌纤维化和凋亡、改善心功能的药理作用。

参考文献

- [1] Gupta S, Das B, Sen S. Cardiac hypertrophy: mechanisms and therapeutic opportunities[J]. Antioxid Redox Signal, 2007, 9(6): 623-652.
- [2] Hou J, Kang YJ. Regression of pathological cardiac hypertrophy: signaling pathways and therapeutic targets[J]. Pharmacol Ther, 2012, 135(3): 337-354.
- [3] Selvetella G, Lembo G. Mechanisms of cardiac hypertrophy[J]. Heart Fail Clin, 2005, 1(2): 263-273.
- [4] Accornero F, van Berlo JH, Benard MJ, et al. Placental growth factor regulates cardiac adaptation(下转第 32 页)

增加。王晗等^[14]研究发现 RNA 干扰沉默缺氧诱导因子-1 α 能够促进 MCF-7 凋亡,下调 VEGF 表达,推迟细胞周期。ADAM17 在乳腺癌的形成和发展的过程中起到重要的作用,因此以 ADAM17 作为治疗乳腺癌药物研究的一个靶点,在缺氧环境下利用 RNA 干扰技术的优势进行抗肿瘤药物的研究,是对现有乳腺癌基因靶向治疗起到重要的补充和完善作用。因此,该试验研究将能够进一步地为乳腺癌的靶向治疗领域提供新的研究方向。

参考文献

- [1] 韩旭,杨星飞,张雪鹏,等. ADAM17 在乳腺癌组织中的表达及意义[J]. 现代中西医结合杂志,2010,19(20):2486-2488.
- [2] 屈洪波. 低氧与肿瘤干细胞微环境的研究进展[J]. 肿瘤防治研究,2011,38(12):1451-1454.
- [3] Benarroch EE. ADAM proteins, their ligands, and clinical implications[J]. Neurology,2012,78(12):914-920.
- [4] Oikawa H, Maesawa C, Tatemichi Y, et al. A disintegrin and metalloproteinase 17 (ADAM17) mediates epidermal growth factor receptor transactivation by angiotensin II on hepatic stellate cells [J]. Life Sci,2014,97(2):137-144.
- [5] Giricz O, Calvo V, Peterson EA, et al. TACE-dependent TGF α shedding drives triple-negative breast cancer cell invasion[J]. Int J Cancer,2013,133(11):2587-2595.
- [6] Sternlicht MD, Sunnarborg SW. The ADAM17-amphiregulin-EGFR axis in mammary development and cancer[J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia,2008,13(2):181-194.
- [7] 原庆会,何伟,王安群,等. 乳腺癌组织中 ADAM 家族的表达情况及其临床价值[J]. 中国医学装备 2014,11(8):104-106
- [8] Narita D, Seclaman E, Ursoniu S, et al. Increased expression of ADAM12 and ADAM17 genes in laser capture microdissected breast cancers and correlations with clinical and pathological characteristics [J]. Acta Histochem,2012,114(2):131-139.
- [9] 彭晓兵,孙影,张雪鹏,等. 转染 ADAM17-shRNA 的骨髓间充质干细胞对 MCF-7 乳腺癌细胞增殖能力的影响[J]. 广东医学,2015,36(19):2955-2958.
- [10] 丁华,孙影,张雪鹏,等. 转染 ADAM17-shRNA 的大鼠骨髓间充质干细胞对 MCF-7 人乳腺癌细胞侵袭能力的影响[J]. 广东医学,2014,35(14):2154-2156.
- [11] 赵婷婷,邢鹏,金锋,等. 缺氧对人乳腺癌细胞系 MCF-7 生物学行为的影响[J]. 现代肿瘤医学,2014,22(5):1015-1019.
- [12] 杨雪飞,黄挺,毛晓韵,等. 缺氧对人非小细胞肺癌细胞系 A549 生物学行为的影响[J]. 浙江实用医学,2013,18(1):15-16.
- [13] 张博,张雪鹏,胡宝山,等. 缺氧对人乳腺癌 MCF-7 细胞 miRNA-21 表达的影响及与细胞增殖和凋亡的关系[J]. 肿瘤学杂志,2014,20(4):265-269.
- [14] 王晗,刘拥军,韩之波,等. RNA 干扰沉默缺氧诱导因子-1 α 对人乳腺癌细胞功能的影响[J]. 中国医学科学院学报,2006,28(5):670-674.
- (收稿日期:2016-07-18 修回日期:2016-09-08)
-
- (上接第 28 页)
- and hypertrophy through a paracrine mechanism [J]. Circ Res,2011,109(3):272-280.
- [5] Nishikimi T, Matsuoka H. Cardiac adrenomedullin: its role in cardiac hypertrophy and heart failure [J]. Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents,2005,3(3):231-242.
- [6] Barry SP, Davidson SM, Townsend PA. Molecular regulation of cardiac hypertrophy [J]. Int J Biochem Cell Biol,2008,40(10):2023-2039.
- [7] Bell D, Mcdermott BJ. Intermedin (adrenomedullin-2): a novel counter-regulatory peptide in the cardiovascular and renal systems [J]. Br J Pharmacol,2008,153 Suppl 1: S247-262.
- [8] Hong Y, Hay DL, Quirion R, et al. The pharmacology of adrenomedullin 2/intermedin [J]. Br J Pharmacol,2012,166(1):110-120.
- [9] Chang CL, Roh J, Hsu SY. Intermedin, a novel calcitonin family peptide that exists in teleosts as well as in mammals: a comparison with other calcitonin/intermedin family peptides in vertebrates [J]. Peptides,2004,25(10):1633-1642.
- [10] Tsuruda T, Jougasaki M, Boerrigter G, et al. Ventricular adrenomedullin is associated with myocyte hypertrophy in human transplanted heart [J]. Regul Pept,2003,112(1/3):161-166.
- [11] Chen H, Wang X, Tong M, et al. Intermedin suppresses pressure overload cardiac hypertrophy through activation of autophagy [J]. PLoS One,2013,8(5):e64757.
- [12] Lu WW, Zhao L, Zhang JS, et al. Intermedin-1-53 protects against cardiac hypertrophy by inhibiting endoplasmic reticulum stress via activating AMP-activated protein kinase [J]. J Hypertens,2015,33(8):1676-1687.
- [13] Takaki M. Cardiac mechanoenergetics for understanding isoproterenol-induced rat heart failure [J]. Pathophysiology,2012,19(3):163-170.
- [14] Heather LC, Catchpole AF, Stuckey DJ, et al. Isoproterenol induces in vivo functional and metabolic abnormalities: similar to those found in the infarcted rat heart [J]. J Physiol Pharmacol,2009,60(3):31-39.
- [15] Kato J, Tsuruda T, Kitamura K, et al. Adrenomedullin: a possible autocrine or paracrine hormone in the cardiac ventricles [J]. Hypertens Res,2003,26 Suppl: S113-119.
- [16] Barwell J, Wootten D, Simms J, et al. RAMPs and CGRP receptors [J]. Adv Exp Med Biol,2012(744):13-24.
- (收稿日期:2016-07-18 修回日期:2016-09-06)