

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.23.003

网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20220825.1458.006.html(2022-08-25)

## sh-RNA 沉默 HMGB1 对脓毒症小鼠肺损伤保护作用研究\*

张波,李永翔,范家伟,康超

(山东省聊城市第二人民医院/山东第一医科大学附属聊城二院急诊科 252600)

**[摘要]** 目的 探讨短发夹 RNA(sh-RNA)沉默高迁移率族蛋白 1(HMGB1)对脓毒症小鼠肺损伤的保护作用。方法 采用脂多糖(LPS)诱导小鼠脓毒症模型,随机分为磷酸盐缓冲液(PBS)组、LPS 组、LPS+sh-RNA 阴性对照(sh-NC)组和 LPS+sh-HMGB1 组。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组小鼠血清前列腺素 E2(PGE2)及炎症细胞因子[肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(IL-1 $\beta$ )和 IL-6]表达水平,并且检测各组小鼠肺组织髓过氧化物酶(MPO)活性及组织细胞凋亡情况。结果 LPS 组小鼠 PGE2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 表达水平均明显高于 PBS 组,LPS+sh-HMGB1 组小鼠 PGE2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 表达水平均明显低于 LPS+sh-NC 组,LPS 组小鼠肺组织 MPO 活性、凋亡细胞比例均明显高于 PBS 组,LPS+sh-HMGB1 组小鼠肺组织 MPO 活性、凋亡细胞比例均明显低于 LPS+sh-NC 组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 LPS 诱导的脓毒症可刺激炎症反应,并对肺组织造成明显损伤。而体内沉默 HMGB1 可抑制炎症反应,对肺损伤具有保护作用。

**[关键词]** 高迁移率族蛋白 1;髓过氧化物酶;脓毒症;肺损伤;细胞凋亡**[中图分类号]** R459.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)23-3971-05

## Protective effect of sh-RNA silencing HMGB1 on lung injury in septic mice\*

ZHANG Bo, LI Yongxiang, FAN Jiawei, KANG Chao

(Department of Emergency, Liaocheng Municipal Second People's Hospital/Affiliated Liaocheng Second Hospital of Shandong First Medical University, Linqing, Shandong 252600, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the protective effect of sh-RNA silencing high mobility group box 1(HMGB1) on lung injury in sepsis mice. **Methods** The mice sepsis models were induced by lipopolysaccharide (LPS) and randomly divided into the phosphate buffer (PBS) group, LPS group, LPS+sh-RNA negative control (sh-NC) group and LPS+sh-HMGB1 group. The expression levels of serum prostaglandin E2 (PGE2) and inflammatory factors (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6) were determined by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the activity of myeloperoxidase (MPO) in lung tissues and apoptosis of tissue cells in each group were detected. **Results** The expression levels of PGE2, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 in the LPS group were significantly higher than those in the PBS group. The expression levels of PGE2, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 in the LPS+sh-HMGB1 group were significantly lower than those in the LPS+sh-NC group ( $P<0.05$ ). The activity of MPO and the proportion of apoptotic cells in the LPS group were significantly higher than those in the PBS group, while the activity of MPO and the proportion of apoptotic cells in the LPS+sh-HMGB1 group were significantly lower than those in the LPS+sh-NC group, and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). **Conclusion** LPS-induced sepsis could stimulate the inflammatory response and cause significant damage to lung tissue. In vivo silencing HMGB1 could inhibit the inflammation response and has the protective effect on lung injury.

**[Key words]** high mobility group box 1; myeloperoxidase; sepsis; lung injury; apoptosis

目前,脓毒症及其继发的多器官功能障碍综合征(MODS)是重症监护病房患者的主要死亡原因,全球每年发病 2 000 万例,病死率为 30%<sup>[1]</sup>。多年来,人们认为全身炎症反应综合征(SIRS)是导致其高发病

率和高病死率的原因,但许多抑制炎症的临床试验均未能提高患者生存率<sup>[2-4]</sup>。2016 年脓毒症被重新定义为由宿主对感染的反应失调引起的 MODS<sup>[5]</sup>,这将焦点从 SIRS 转移到了 MODS。但对脓毒症导致器官功

\* 基金项目:山东省医药卫生科技发展计划项目(2017WS334)。

作者简介:张波(1977-),副主任医师,博士,主要从事急诊重症及多发

伤的研究。

能障碍的机制的了解仍然非常有限<sup>[6]</sup>,因此,找到介导多器官功能障碍的机制是目前深入了解脓毒症病理生理学的主要挑战。

高迁移率族蛋白 1(HMGB1)的过度表达已被证明是各种疾病中器官损伤的原因。HMGB1 可有效驱动脓毒症的炎症反应,抑制 HMGB1 的释放可预防脓毒症出现严重的多器官功能障碍,并能提高脓毒症动物存活率<sup>[7]</sup>,已被确定为脓毒症的重要治疗靶点。本研究通过建立小鼠脓毒症模型并通过短发夹 RNA(sh-RNA)干扰 HMGB1 的表达,从而观察脓毒症小鼠模型中炎症因子及肺损伤相关分子的表达情况,探索 HMGB1 在脓毒症小鼠模型中对肺损伤的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

选取 6~10 周龄、体重(22±2)g 的健康 C57BL/6 小鼠作为研究对象,购自上海史莱克实验动物有限公司,饲养在特定温度(25~27℃)、湿度(45~50%)下,自由进食和饮水。随机分为磷酸盐缓冲液(PBS)组、脂多糖(LPS)组、LPS+sh-RNA 阴性对照(sh-NC)组和 LPS+sh-HMGB1 组。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 构建表达 sh-RNA 慢病毒载体

根据基因库中小鼠 HMGB1 基因序列(NM\_001313894)设计 1 条 sh-RNA 序列和 1 个阴性对照(NC)序列,sh-HMGB1 正向:5'-TTG GTG CAC AGC ACA AAT TAG-3',反向:5'-CTA ATT TGT GCT GTG CAC CAA-3';sh-NC 正向:5'-CAA CAA GAT GAA GAG CAC CAA-3',反向:5'-TTG GTG CTC TTC ATC TTG TTG-3'。sh-HMGB1 和 sh-NC 序列均由上海 Sangon 生物技术有限公司合成,将合成的 sh-HMGB1 和 sh-NC 序列插入质粒载体 pSIH1-H1-copGFP 中,然后提取和转染质粒。

#### 1.2.2 制作小鼠脓毒症模型

PBS 组小鼠腹腔注射 PBS 10 mg/kg;LPS 组小鼠腹腔注射 LPS 10 mg/kg;LPS+sh-NC 组小鼠腹腔注射 10 mg/kg LPS、慢病毒携带的 sh-NC;LPS+sh-HMGB1 组小鼠腹腔注射 10 mg/kg LPS、慢病毒携带的 sh-HMGB1。造模后 48 h 心脏采血 0.2 mL,并用 4%戊巴比妥 100 mg/kg 腹腔注射对小鼠实施安

乐死,获取肺组织。

### 1.2.3 检测血清前列腺素 E2(PGE2)及炎症细胞因子

血液标本在室温下保存 30 min,然后 3 500 r/min 离心 15 min(离心半径 6 cm),分离血清。用 PGE2 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒测定小鼠血清 PGE2 水平。用 ELISA 试剂盒检测血清肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(IL-1 $\beta$ )、IL-6 表达水平。严格按试剂盒说明书进行操作。

### 1.2.4 测定髓过氧化物酶(MPO)活性

将肺组织在 PBS 中研磨成匀浆。稀释 10 倍后匀浆在 4℃离心 20 min,然后用 1 mL 冰醋酸(50 nmol/L,pH 6.0)重新悬浮,用 0.5% CETOH 溶液沉淀,超声粉碎 10 s。使用 MPO 比色活性测定试剂盒(南京建成股份有限公司)按说明书测定 MPO 活性,使用酶标仪在 650 nm 处测量样品吸光度(A)值,根据标准曲线计算 MPO 活性。

### 1.2.5 测定组织细胞凋亡

采用末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP-生物素缺口末端标记(TUNEL)染色测定组织细胞凋亡,将石蜡包埋的肺组织切成 3  $\mu$ m 厚的切片,二甲苯脱蜡,乙醇复水,37℃用蛋白酶 K 消化 15 min,使用原位凋亡检测试剂盒进行 TUNEL 检测,严格按试剂盒说明书进行操作。用奥林巴斯 BX53F 光学显微镜(400 $\times$ )观察,用 ImageJ 软件计数 TUNEL 阳性细胞数,即为凋亡细胞数。实验进行 3 次。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS21.0 统计软件进行数据分析,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,采用非配对 *t* 检验、单因素方差分析等。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 对 PGE2 及炎症细胞因子的影响

LPS 组小鼠 PGE2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 表达水平均明显高于 PBS 组,LPS+sh-HMGB1 组小鼠 PGE2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 表达水平均明显低于 LPS+sh-NC 组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。表明脓毒症小鼠模型血清 PGE2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 高表达,而沉默 HMGB1 表达后 PGE2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 表达水平明显下降。见图 1。

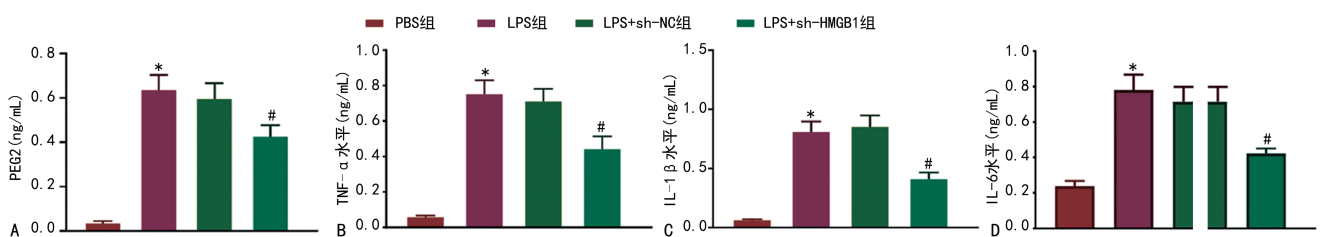
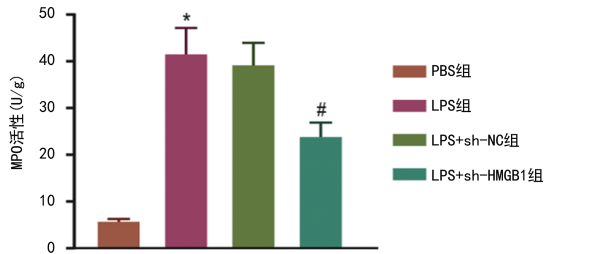


图 1 各组小鼠 PGE2、炎症细胞因子表达水平比较

图 1 各组小鼠 PGE2、炎症细胞因子表达水平比较

### 2.2 对肺组织 MPO 活性的影响

LPS 组小鼠肺组织 MPO 活性明显高于 PBS 组, LPS+sh-HMGB1 组小鼠肺组织 MPO 活性明显低于 LPS+sh-NC 组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。表明脓毒症小鼠模型肺组织 MPO 活性明显升高, 而沉默 HMGB1 的表达可降低 MPO 活性, 对脓毒症小鼠肺损伤具有保护作用。见图 2。



\*:  $P < 0.05$ , 与 PBS 组比较; #:  $P < 0.05$ , 与 LPS+sh-NC 组比较。

图 2 各组小鼠肺组织 MPO 活性比较

### 2.3 对肺组织细胞凋亡的影响

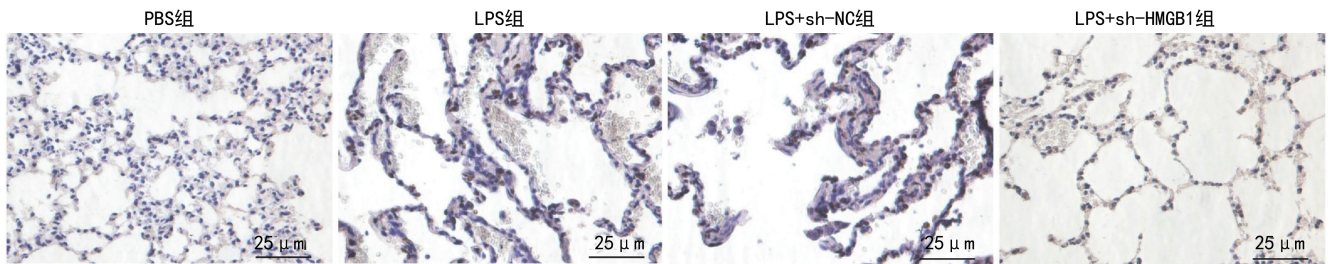


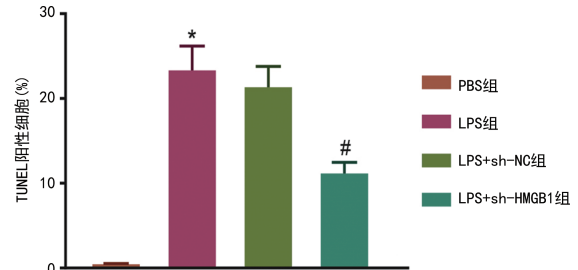
图 4 各组小鼠肺组织 TUNEL 染色情况 (400×)

## 3 讨论

脓毒症是一种常见的急危重症, 主要表现为持续性低血压、代谢性酸中毒和 SIRS<sup>[8]</sup>, 可能导致多个器官损伤, 甚至死亡。最近对美国 6 家医院 568 例死亡患者进行的一项队列调查结果显示, 脓毒症出现在 300 例患者 (52.8%) 中, 是 198 例患者 (34.9%) 最常见的直接死亡原因, 表明脓毒症仍然是医院患者的主要死亡原因<sup>[9]</sup>。由于肺部易感性, 急性肺损伤 (ALI) 是脓毒症常见的致死性并发症之一<sup>[10]</sup>。HMGB1 是一种存在于细胞外的晚期炎症介质, 细胞外 HMGB1 主要有两种来源, 即细胞主动分泌和被动释放。当单核/巨噬细胞、组织细胞、中性粒细胞、树突状细胞等受到刺激和激活时可主动分泌 HMGB1 到细胞外。当细胞受到生物因素的影响而导致细胞损伤、裂解或死亡时 HMGB1 被动地释放出细胞外<sup>[11]</sup>。主动分泌和被动释放于细胞外的 HMGB1 可通过促进核因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 核转位, 导致炎症细胞因子释放而诱导 ALI 和细胞凋亡, 炎症细胞因子进一步促进 HMGB1 的释放, 导致一个正反馈回路而放大炎症级联反应<sup>[12-15]</sup>。

sh-RNA 作为一种选择性基因沉默的治疗策略, 具有沉默效应较长和成本相对较低等优势, 并且被证

与 PBS 组比较, LPS 组小鼠肺组织有明显的炎症反应, 表现为大量中性粒细胞聚集, 明显肺水肿, 肺组织凋亡细胞比例明显升高, LPS+sh-HMGB1 组小鼠肺组织中中性粒细胞聚集和肺水肿较 LPS+sh-NC 组明显减轻, 凋亡细胞比例明显下降, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。表明 LPS 诱导的脓毒症小鼠模型可造成肺组织病理损伤, 而沉默 HMGB1 的表达可减轻肺损伤。见图 3、4。



\*:  $P < 0.05$ , 与 PBS 组比较; #:  $P < 0.05$ , 与 LPS+sh-NC 组比较。

图 3 各组小鼠肺组织细胞凋亡情况比较

明比小干扰 RNA (siRNA) 更有效地下调基因表达。sh-RNA 是由可以通过标准技术在实验室中容易繁殖的质粒或慢病毒颗粒编码的, 并且比 siRNA 具有更高的基因敲除和更少的脱靶效应, 是一种常用的、稳定的基因沉默策略<sup>[16-17]</sup>。本研究给 LPS 诱导的脓毒症小鼠注射携带 sh-HMGB1 的慢病毒以抑制 HMGB1 的表达, 从而观察了 HMGB1 在脓毒症中的作用。

PGE2 参与了多种生物学过程, 包括疼痛、发热、炎症、血管生成和肿瘤的发生, 而在脓毒症早期阶段, TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 等促炎性细胞因子通过过度激活淋巴细胞、吞噬细胞、血管内皮细胞和刺激炎症介质的释放而发挥关键的致病作用, 从而导致组织损伤和器官功能障碍<sup>[18-20]</sup>。本研究发现, 在 LPS 诱导的脓毒症小鼠模型中, 血清 PGE2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 等表达水平均明显升高, 而沉默 HMGB1 表达后 PGE2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 表达水平均明显下降。有学者用米诺环素治疗抑制脓毒症小鼠肺组织 NF- $\kappa$ B 和 Keap1 的表达, 从而下调 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、PGE2 的表达水平, 结果显示, 对脓毒症小鼠 ALI 具有保护作用<sup>[21]</sup>, 本研究与其结论一致。

MPO 是中性粒细胞中的一种特殊酶, 反映了中



性粒细胞的浸润程度<sup>[22]</sup>。在肺组织中 MPO 的激活程度是肺组织炎症反应水平的指标<sup>[23]</sup>。JEONG 等<sup>[24]</sup>发现, LPS 可通过激活 NF- $\kappa$ B (P65) 和 MAPK (p38, JNK, ERK) 而使肺泡灌洗液中 MPO、中性粒细胞浸润、肺泡通透性及促炎性细胞因子 IL-6、TNF- $\alpha$  水平显著增加。与本研究结果一致, 而体内沉默 HMGB1 可降低肺组织中 MPO 活性, 从而达到保护肺组织的作用。

肺上皮细胞的凋亡在脓毒症 ALI 的发病机制中具有重要意义, 因此, 减少细胞凋亡的过度激活可能是一种重要的治疗策略。本研究结果显示, 脓毒症小鼠肺组织凋亡细胞比例明显升高, 而沉默 HMGB1 表达后肺组织凋亡细胞比例明显降低。TANG 等<sup>[25]</sup>研究表明, HMGB1 可诱导烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶激活, 增加中性粒细胞中活性氧的产生, 诱导自噬, 并增加肺损伤。而包括丙酮酸乙酯在内的抗氧化剂可减少 HMGB1 的释放, 减少肺损伤。有研究发现, 辣椒素可显著抑制 HMGB1 的表达, 抑制 NF- $\kappa$ B 的激活, 从而使脓毒症小鼠肺组织细胞凋亡减少, caspase-3、裂解 caspase-3 和 Bax 表达下调, Bcl-2 表达上调<sup>[26]</sup>, 与本研究结论一致, 提示沉默 HMGB1 表达可抑制肺组织细胞的凋亡, 从而起到保护肺组织的作用。

综上所述, LPS 诱导的脓毒症可刺激炎症反应, 并对肺组织造成明显的损伤。而体内沉默 HMGB1 可抑制炎症反应和 MPO 活性, 减轻肺损伤, 为脓毒症并发肺损伤的防治提供了一定的理论参考依据。

## 参考文献

- [1] HAJJ J, BLAINE N, SALAVACI J, et al. The "Centrality of Sepsis": a review on incidence, mortality, and cost of care[J]. *Healthcare (Basel)*, 2018, 6(3):90-101.
- [2] HUNT A. Sepsis: an overview of the signs, symptoms, diagnosis, treatment and pathophysiology[J]. *Emerg Nurse*, 2019, 27(5):32-41.
- [3] BALK R A. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS): where did it come from and is it still relevant today? [J]. *Virulence*, 2014, 5(1):20-26.
- [4] MARIK P E, TAEB A M. SIRS, qSOFA and new sepsis definition[J]. *J Thorac Dis*, 2017, 9(4):943-945.
- [5] SINGER M, DEUTSCHMAN C S, SEYMOUR C W, et al. The third international consensus definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)[J]. *JAMA*, 2016, 315(8):801-810.
- [6] POOL R, GOMEZ H, KELLUM J A. Mechanisms of organ dysfunction in sepsis[J]. *Crit Care Clin*, 2018, 34(1):63-80.
- [7] SUN J, SHI S, WANG Q, et al. Continuous hemodiafiltration therapy reduces damage of multi-organs by ameliorating of HMGB1/TLR4/NF $\kappa$ B in a dog sepsis model[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(2):1555-1564.
- [8] CINAR I, SIRIN B, AYDIN P, et al. Ameliorative effect of gossypin against acute lung injury in experimental sepsis model of rats[J]. *Life Sci*, 2019, 221:327-334.
- [9] RHEE C, JONES T M, HAMAD Y, et al. Prevalence, underlying causes, and preventability of sepsis-associated mortality in US acute care hospitals[J]. *JAMA Netw Open*, 2019, 2(2):e187571.
- [10] CADIRCI E, ALTUNKAYNAK B Z, HALICI Z, et al. Alpha-lipoic acid as a potential target for the treatment of lung injury caused by cecal ligation and puncture-induced sepsis model in rats[J]. *Shock*, 2010, 33(5):479-484.
- [11] LUNDBÄCK P, STRIDH P, KLEVENVALL L, et al. Characterization of the inflammatory properties of actively released hmgb1 in juvenile idiopathic arthritis[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2016, 24(12):605-619.
- [12] LUAN Z, HU B, WU L, et al. Unfractionated Heparin alleviates human lung endothelial barrier dysfunction induced by high mobility group box 1 through regulation of P38-GSK3 $\beta$ -Snail signaling pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(5):1907-1918.
- [13] ENTEZARI M, JAVDAN M, ANTOINE D J, et al. Inhibition of extracellular HMGB1 attenuates hyperoxia-induced inflammatory acute lung injury[J]. *Redox Biol*, 2014, 2:314-322.
- [14] LI N, LIU X X, HONG M, et al. Sodium butyrate alleviates LPS-induced acute lung injury in mice via inhibiting HMGB1 release[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 56:242-248.
- [15] LEE S, PIAO C, KIM G, et al. Production and application of HMGB1 derived recombinant RAGE-antagonist peptide for anti-inflammatory therapy in acute lung injury[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2018, 114:275-284.
- [16] HERRERA V L, COLBY A H, RUIZ-OPAZO N, et al. Nucleic acid nanomedicines in Phase II / III clinical trials: translation of nucleic acid

- therapies for reprogramming cells [J]. *Nanomedicine*, 2018, 13(16): 2083-2098.
- [17] MOCANU C A, FUIOR E V, VOICU G, et al. P-selectin targeted RAGE-shRNA lipoplexes alleviate atherosclerosis-associated inflammation [J]. *J Control Release*, 2021, 338: 754-772.
- [18] KIKUCHI S, PIRAINO G, O'CONNOR M, et al. Hepatocyte-specific deletion of AMPK $\alpha$ 1 results in worse outcomes in mice subjected to sepsis in a sex-specific manner [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 210.
- [19] LUO M, MENG J, YAN J, et al. Role of the nucleotide-binding domain-like receptor protein 3 inflammasome in the endothelial dysfunction of early sepsis [J]. *Inflammation*, 2020, 43(4): 1561-1571.
- [20] GURUSAMY M, NASSERI S, RAMPA D R, et al. Inhibition of microsomal prostaglandin E synthase-1 ameliorates acute lung injury in mice [J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1): 340.
- [21] CUI N, LIANG Y, WANG J, et al. Minocycline attenuates oxidative and inflammatory injury in a intestinal perforation induced septic lung injury model via down-regulating lncRNA MAL-AT1 expression [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 100: 108115.
- [22] KOTHARI N, BOGRA J, ABBAS H, et al. Tumor necrosis factor gene polymorphism results in high TNF level in sepsis and septic shock [J]. *Cytokine*, 2013, 61(2): 676-681.
- [23] KHOWAILED A, YOUNAN S M, ASHOUR H, et al. Effects of ghrelin on sepsis-induced acute kidney injury: one step forward [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2015, 19(3): 419-426.
- [24] JEONG J, KIM J, SEOK S H, et al. Indium oxide (In<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) nanoparticles induce progressive lung injury distinct from lung injuries by copper oxide (CuO) and nickel oxide (NiO) nanoparticles [J]. *Arch Toxicol*, 2016, 90(4): 817 - 828.
- [25] TANG D, KANG R, ZEH H J, et al. High-mobility group box 1, oxidative stress, and disease [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14(7): 1315-1335.
- [26] CHEN H, LI N, ZHAN X, et al. Capsaicin protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury through the HMGB1/NF- $\kappa$ B and PI3K/AKT/mTOR pathways [J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 5291-5304.

(收稿日期: 2022-01-18 修回日期: 2022-05-08)

(上接第 3970 页)

- [13] ZHANG Y, LIN X, CHU Y, et al. Dapagliflozin: a sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor, attenuates angiotensin II-induced cardiac fibrotic remodeling by regulating TGF- $\beta$ 1/Smad signaling [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2021, 20(1): 121.
- [14] CHO N, RAZIPOUR S E, MCCAIN M L. Featured article: TGF-beta1 dominates extracellular matrix rigidity for inducing differentiation of human cardiac fibroblasts to myofibroblasts [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2018, 243(7): 601-612.
- [15] FRANGOIANNIS N G. Transforming growth factor-beta in myocardial disease [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2022, 19(7): 435-455.
- [16] FRANGOIANNIS N G. The extracellular matrix in ischemic and nonischemic heart failure [J]. *Circ Res*, 2019, 125(1): 117-146.
- [17] 马金, 丁春华. 心脏成纤维细胞与心肌纤维化 [J]. *中华心血管病杂志*, 2014, 42(3): 269-272.
- [18] SHINDE A V, HUMERES C, FRANGOIANNIS N G. The role of alpha-smooth muscle actin in fibroblast-mediated matrix contraction and remodeling [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(1): 298-309.
- [19] SNIDER P, STANDLEY K N, WANG J, et al. Origin of cardiac fibroblasts and the role of periostin [J]. *Circ Res*, 2009, 105(10): 934-947.
- [20] DANIELS A, VAN BILSEN M, GOLDSCHMEDING R, et al. Connective tissue growth factor and cardiac fibrosis [J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2009, 195(3): 321-338.

(收稿日期: 2022-09-06 修回日期: 2022-10-22)