

[文章编号] 1007-3949(2007)15-09-0641-06

• 实验研究 •

心脏营养素 1 对培养的心肌细胞心房钠尿肽 mRNA 表达的影响及机制

符史干, 董战玲, 翁启芳, 许闽广, 周 升, 谢协驹

(海南医学院生理学教研室, 海南省海口市 571101)

[关键词] 生理学; 心肌细胞培养; 心脏营养素 1; 丝裂原激活蛋白激酶; 细胞外信号调节激酶; 蛋白激酶 C; 心房钠尿肽基因; 基因表达

[摘要] 目的 观察心脏营养素 1 在诱导培养心肌细胞心房钠尿肽基因表达中的作用及其机制, 以进一步明确心脏营养素 1 诱导心肌肥大的作用。方法 差速贴壁纯化培养新生大鼠心肌细胞, 利用逆转录聚合酶链反应技术检测心房钠尿肽 mRNA 表达量。结果 (1) 在培养的心肌细胞中分别加入 10^{-9} 、 10^{-8} 和 10^{-7} mol/L 心脏营养素 1, 72 h 后心房钠尿肽 mRNA 相对表达量分别为 1.18 ± 0.14 、 1.58 ± 0.20 和 2.03 ± 0.30 , 其中 10^{-8} 和 10^{-7} mol/L 心脏营养素 1 与对照组 (1.08 ± 0.15) 相比有显著性差异, 呈剂量依赖性。(2) 用 10^{-8} mol/L 心脏营养素 1 刺激心肌细胞, 24 h、72 h 和 120 h 后心房钠尿肽 mRNA 相对表达量分别为 1.16 ± 0.18 、 1.47 ± 0.17 和 1.97 ± 0.24 , 与同时间段对照组相比, 72 h 和 120 h 组有显著性差异, 呈明显的时间依赖性。培养 120 h 与培养 72 h 相比, 差异也有显著性统计学意义 ($P < 0.05$)。(3) 在心肌细胞培养基中分别加入细胞外信号调节激酶 1/2 选择性抑制剂 PD098059 (50 μ mol/L) 和蛋白激酶 C 抑制剂 Calphostin C (10 μ mol/L), 30 min 后再加入 10^{-8} mol/L 心脏营养素 1, 前者的心房钠尿肽 mRNA 相对表达量为 1.94 ± 0.15 , 与对照组 (1.04 ± 0.17) 相比有极显著性差异 ($P < 0.01$), 与单纯心脏营养素 1 组相比也有显著性差异; 后者的心房钠尿肽 mRNA 相对表达量为 1.27 ± 0.17 , 与对照组 (1.04 ± 0.17) 相比无显著性差异。结论 心脏营养素 1 呈剂量和时间依赖性增加心房钠尿肽 mRNA 表达的作用, 此作用是通过丝裂原激活蛋白激酶信号通路介导而实现的, 蛋白激酶 C 可能不直接参与介导心脏营养素 1 诱导心肌细胞心房钠尿肽 mRNA 的表达。

[中图分类号] Q463

[文献标识码] A

Mechanism of Cardiotrophin-1 Upregulates Atrial Natriuretic Peptide mRNA Expression in Cultured Neonatal Rat Cardiomyocyte

FU Shi-gan, DONG Zhan-ling, WENG Qi-fang, XU Min-guang, ZHOU Sheng, and XIE Xie-ju

(Department of Physiology, Hainan Medical College, Haikou 571101, Hainan, China)

[KEY WORDS] Myocardial Cell Culture; Cardiotrophin 1; Mitogen Activated Protein Kinase; Extracellular Signal Regulated Kinase; Protein Kinase C; Atrial Natriuretic Peptide; Gene Expression

[ABSTRACT] **Aim** Cardiotrophin 1 (CT-1) is a member of interleukin 6 (IL-6) family of cytokines. CT-1 plays a role in inducing cardiomyocyte hypertrophy and promoting cardiomyocyte viability. We sought to elucidate effect of CT-1 inducing atrial natriuretic peptide (ANP) mRNA expression and its underlying mechanism in cultured neonatal rat cardiomyocyte. **Methods** The cardiomyocytes of neonatal rat were isolated and cultured with method of pre-plating for different time. The ANP gene of cardiomyocytes was measured with reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) approach. **Results** The ANP/GAPDH ratio of cardiac myocytes were increased by CT-1 in a dose-dependent manner (10^{-9} , 10^{-8} and 10^{-7} mol/L) in cultured neonatal rat cardiomyocytes. The ratio were respectively 1.18 ± 0.14 , 1.58 ± 0.20 and 2.03 ± 0.30 . And the ANP/GAPDH ratio were also augmented by CT-1 in a time-dependent manner (1, 3, 5 d, 10^{-8} mol/L), respectively 1.16 ± 0.18 , 1.47 ± 0.17 and 1.97 ± 0.24 . Pretreatment of PD098059 (50 μ mol/L), a extracellular signal regulated kinase 1/2 (ERK1/2) blocker, increased significantly ANP mRNA expression of cardiac myocytes induced by CT-1 (ANP/GAPDH ratio 1.94 ± 0.15), whereas Calphostin C, a protein kinase C (PKC) blocker, 10 μ mol/L, effected no significantly on this role induced by CT-1.

Conclusion These results indicate that ANP mRNA expression induced by CT-1 increased significantly in a dose-dependent and a time-dependent manner in cultured neonatal rat cardiomyocytes. The MAPK (ERK1/2) signal pathway mediate the effect of CT-1. The PKC signaling molecule may no take part in directly the effect of CT-1.

[收稿日期] 2006-06-20 [修回日期] 2007-06-06

[基金项目] 国家自然科学基金资助(30260032)

[作者简介] 符史干, 男, 博士, 教授, 海南省有突出贡献优秀专家, 海南省高校名师, 主要从事心血管生理学、心肌肥大和心肌细胞信号转导通路的研究, 曾获省级科技进步奖三等奖 3 项, 教学成果二等奖 1 项, 主持完成国家自然科学基金和省级科研基金共 6 项, 现为省级重点课程、省级精品课程负责人, 联系电话 0898-66893965, E-mail 为 fushigan@yahoo.com.cn。董战玲, 女, 硕士研究生, 助教, 主要从事心血管生理学、心肌肥大和心肌细胞信号转导通路的研究, 曾参加国家及省级科研课题 3 项。翁启芳, 女, 硕士研究生, 讲师, 主要从事神经生理、脑片技术和信号转导通路的研究, 曾参加国家及省级科研课题 2 项。

文献[1]报道,心脏营养素 1(cardiotrophin-1, CT-1)对心肌细胞存活率具有明显的剂量依赖性,该效应与蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)和丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)有关^[2]。MAPK 可上调 CT-1 促进的心肌细胞存活率,PKC 可能成为 CT-1 促进心肌细胞存活率的信号转导通路之一;CT-1 诱导心肌细胞存活率的胞内信号转导通路可能是先激活 PKC,然后诱导 MAPK 亚型细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase, ERK)的激活。这一信号转导通路是否也可能是 CT-1 诱导心肌细胞肥大的机制之一,这值得进一步探讨。本实验采用分离、纯化培养的新生大鼠心肌细胞,利用逆转录聚合酶链反应(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)技术检测心房钠尿肽(atrial natriuretic peptide, ANP)基因表达量,以 ANP mRNA 表达量作为反映 CT-1 诱导心肌细胞肥大的指标,探讨了 CT-1 诱导心肌肥大过程中 ANP 基因表达量的变化及其机制,为临床心肌肥大的预防和治疗提供实验资料。

1 材料与方法

1.1 实验动物

1~3 d 龄 Sprague-Dawley (SD) 大鼠,雌雄不拘,由中山大学中山医学院实验动物中心提供。所用实验动物符合国家检验标准。

1.2 主要药品与试剂

DMEM 培养基,BOEHRINGER MANNHEIM 公司产品,用三蒸馏水配制,正压过滤除菌,pH 7.2,4℃保存。D-Hanks 酶消化液:胰蛋白酶(Difco 进口分装,1:250)用无钙镁 Hanks 液配制成 0.8 g/L 液,pH 7.2,经 0.22 μm 微孔滤膜除菌后,-20℃保存。5 溴脱氧尿嘧啶核苷(Bromodeoxyuridine, Brdu),SERVA 公司产品,三蒸馏水配成 10 mmol/L 贮存液,过滤除菌,-20℃保存。无血清培养基为 DMEM 培养基加入胰岛素 10 mg/L、转铁蛋白 10 mg/L、维生素 C 100 μmol/L、维生素 B12 1.5 μmol/L、青霉素 100 ku/L 和链霉素 100 mg/L。ERK1/2 特异性抑制剂 PD098059, Sigma 公司产品,用双蒸馏水配成 5 mmol/L 母液;PKC 抑制剂 Calphostin (Cal C), Sigma 公司产品,用双蒸馏水配成 1 mmol/L 母液。CT-1(Alomone Labs Ltd, Israel),用双蒸馏水配成 10 μmol/L 母液。二甲基亚砜(Dimethyl sulphoxide, DMSO)为上海化学试剂公司产品。TRIzol 试剂为美国 Life Technologies 公司产品。无 RNA 酶水:按 1:1 000(体积比)将乙

基焦碳酸加到灭菌三蒸水中,室温放置 12 h 以上,然后高压 30 min。ANP 和 GAPDH 寡聚核苷酸引物片段由上海生工生物工程公司合成。MMLV 一步法 RT-PCR 试剂盒为上海生工生物工程技术有限公司产品。低熔点琼脂糖, Promega 公司。Tris-硼酸(TBE)电泳缓冲液(10×): Tris 碱 108 g, 硼酸 55 g, 0.5 mol/L EDTA (pH 8.0) 40 mL, 临用前配成 1×TBE, 用于溶解琼脂糖和电泳。溴化乙锭(ethidium bromide, EB), 10 g/L, Sigma 公司产品。

1.3 心肌细胞培养

参照文献[3],在无菌条件下,开胸取大鼠心脏,置入 4℃ D-Hanks 液(NaCl 137, KCl 5.4, Na₂HPO₄ 0.37, K₂HPO₄ 0.44, NaHCO₃ 4.2 mmol/L)中截取心室肌,洗净残血,剪成约 1 mm³ 大小的组织碎块。弃去 D-Hanks 液加入 0.8 g/L 胰蛋白酶液 10~15 mL,于 37℃磁力搅拌消化 10 min,吸出上层悬液,并加入等量含血清培养基,经中止消化后离心(2 kr/min, 5 min)弃上清。再加入胰蛋白酶消化液消化 10 min,如此重复消化 6~8 次。将各次离心沉淀后的细胞合并,用 100 mL/L 血清培养基制成细胞悬液,置 37℃, 50 mL/L CO₂ 培养箱内。根据心肌细胞与非心肌细胞贴壁时间的不同,采用 2 h 差速贴壁,分别获得心肌成纤维细胞和心肌细胞。心肌细胞按 3×10⁹/L 种于 25 mL 培养瓶中。培养的前 2 d,在心肌细胞培养基中加入 Brdu 0.1 mmol/L,以抑制非心肌细胞增殖。所有培养的心肌细胞均每隔 2 d 换一次培养基,为维持药物浓度,每 12 h 追加一次药物。

1.4 细胞表面积测量

将贴壁生长的心肌细胞消化脱落后,用图像处理系统(IBAs, Koutron 公司, West Germany)测定心肌细胞表面积。每孔测 5 个视野。每个视野测 10~15 个细胞,取其平均值。

1.5 心肌细胞总 RNA 的提取

收获心肌细胞(3×10⁹/L),用 TRIzol 试剂提取细胞总 RNA。具体提取过程如下:向心肌细胞培养瓶内加入 TRIzol 试剂 1 mL 摇匀,以加速细胞裂解过程,然后将其移进 1.5 mL 的 Eppendorf 离心管中,室温静置 5 min; ④在含有细胞的 Eppendorf 管中加入氯仿/异戊醇混合液 0.2 mL,振摇 15 s,静置 3 min; ④4℃, 12 kr/min 离心 15 min,吸上层水相于另一 Eppendorf 管,并加入异丙醇 0.5 mL 振摇,静置 10 min; 4℃, 12 kr/min 离心 25 min,弃上清液,加 75% 乙醇 1 mL(用无 RNA 酶双蒸馏水配置)振摇,以充分洗涤沉淀物; 4℃, 12 kr/min 离心 25 min,弃上清液后室温凉干; 加入无 RNA 酶双蒸馏水 15 μL 溶解

沉淀物。提取后的总 RNA, 用紫外分光光度计检测纯度, OD260/OD280 比值在 1.8~2.0 之间, 并根据 OD260 值计算样品总 RNA 浓度。选取 1% 琼脂糖凝胶电泳时 5S、18S、28S 区带清晰、完整、无拖尾的样品进行 RT-PCR。

1.6 逆转录聚合酶链反应检测

ANP 上游引物为 5'-GGC TTC TTC CTC TTC CTG GC-3', 下游为 5'-CCC CGC TTC ATC GGT CTG-3', 扩增长度 186 bp; ④内参照用 GAPDH, 引物序列的上游为 5'-CAT CAC CAT CTT CCA GGA GCC-3', 下游为 5'-TGA CCT TGC CCA CAG CCT TG-3', 扩增长度为 443 bp。

取样品总 RNA 2 μ g, 分成二等份, 用 0.4 μ mol 特异性 ANP 和 GAPDH(内标)引物, 以 TitanTM 一管法 RT-PCR 试剂盒进行 ANP 和 GAPDH 引物相应的 cDNA 片段扩增, 反应体积为 50 μ L。RT-PCR 的反应条件为: cDNA 合成和预变性: 50 $^{\circ}$ C 30 min、94 $^{\circ}$ C 2 min 进行 1 次循环; ④PCR 扩增: 94 $^{\circ}$ C 30 s \rightarrow 45 $^{\circ}$ C 30 s \rightarrow 68 $^{\circ}$ C 1 min 进行 35 次循环, 从第 11 次循环开始, 延伸时间依次递增 5 s; ④最后延伸: 68 $^{\circ}$ C 7 min 进行 1 次循环。共进行 37 次循环。

取 RT-PCR 产物 10 μ L, 加上样缓冲液 2 μ L, 在含有 0.5% 溴化乙锭(EB)的 1.5% 琼脂糖凝胶上电泳, 80 V, 45 min。用凝胶成像系统拍摄电泳图并贮存于计算机。电泳条带用 IBAs 计算机图象分析系统扫描定量。结果以 ANP cDNA 光密度/GAPDH cDNA 光密度值(OD ANP/OD GAPDH)表示。所有实验均重复三次。

1.7 统计学处理

所有数据输入计算机, 用 SPSS10.0 统计软件包进行 *t* 检验和单因素方差分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 以 $P < 0.05$ 作为有显著性意义标准。

2 结果

2.1 心脏营养素 1 对培养新生大鼠心肌细胞表面积的影响

与对照组相比较, 在培养基中分别加入不同剂量的 CT-1(10^{-9} 、 10^{-8} 和 10^{-7} mol/L), 培养 3 d 后, 可见心肌细胞表面积随着 CT-1 浓度的增加而加大(图 1 和表 1)。提示 CT-1 具有明显诱导心肌细胞肥大的作用。

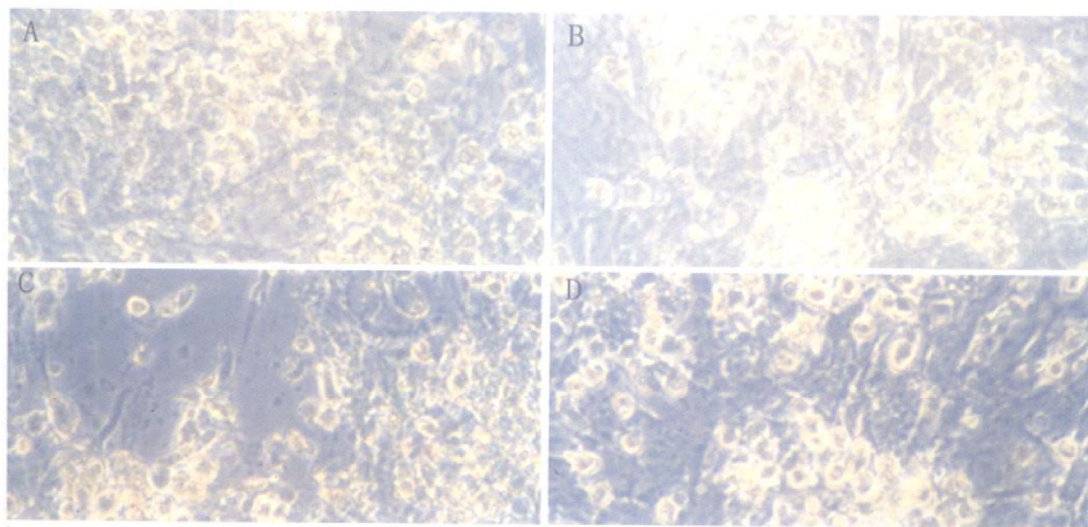


图 1. 心脏营养素 1 对培养的新生大鼠心肌细胞表面积的影响($\times 400$) A 为对照组, B 为 10^{-9} mol/L 组, C 为 10^{-8} mol/L 组, D 为 10^{-7} mol/L 组; 培养时间均为 3 d。

表 1. 心脏营养素 1 对培养新生大鼠心肌细胞表面积的影响

CT-1 浓度	<i>n</i>	心肌细胞表面积 (μm^2)
0 (对照组)	5	556 \pm 35
10^{-9} mol/L	5	730 \pm 43 ^a
10^{-8} mol/L	5	936 \pm 65 ^b
10^{-7} mol/L	5	1105 \pm 99 ^c

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, c 为 $P < 0.001$, 与对照组相比。

2.2 不同浓度心脏营养素 1 对心肌细胞心房钠尿肽 mRNA 表达的影响

在培养基中分别加入 D-Hanks 液(对照组)和不同剂量的 CT-1(10^{-9} 、 10^{-8} 和 10^{-7} mol/L), 72 h 后提取心肌细胞总 RNA, 用 RT-PCR 法检测 ANP mRNA 相对表达量。结果发现, 加入 10^{-9} 、 10^{-8} 和 10^{-7} mol/L

的 CT-1 后 ANP mRNA 相对表达量分别为对照组的 1.09、1.39 ($P < 0.05$) 和 1.88 倍 ($P < 0.01$), 而且有剂量依赖性倾向(图 2 和表 2)。

表 2. 不同浓度心脏营养素 1 对新生大鼠心肌细胞心房钠尿肽基因表达的影响

CT-1 浓度	n	ANP 与 GAPDH 的比值
0 (对照组)	3	1.08 ± 0.15
10 ⁻⁹ mol/L	3	1.18 ± 0.14
10 ⁻⁸ mol/L	3	1.50 ± 0.20 ^a
10 ⁻⁷ mol/L	3	2.03 ± 0.30 ^b

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组相比

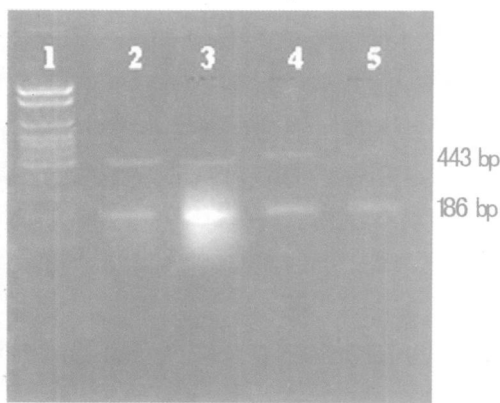


图 2. 不同浓度心脏营养素 1 影响大鼠心肌细胞心房钠尿肽基因表达电泳图 1 为标准品, 2 为对照组, 3 为 10⁻⁷ mol/L 组, 4 为 10⁻⁸ mol/L 组, 5 为 10⁻⁹ mol/L 组。443 bp 为内参照条带, 186 bp 为 ANP mRNA 条带, 下同。

2.3 心脏营养素 1 培养不同时间对心房钠尿肽 mRNA 表达的影响

在培养基中分别加入 D-Hanks 液(对照组)和 10⁻⁸ mol/L CT-1, 然后将两组分别培养 24 h、72 h 和 120 h 后提取心肌细胞总 RNA, 用 RT-PCR 法检测心肌细胞 ANP mRNA 表达量。结果发现, 对照组培养不同时间对 ANP mRNA 的表达无影响, 而用 10⁻⁸ mol/L CT-1 培养 24 h、72 h 和 120 h 后, ANP mRNA 的相对表达量分别为对照组的 1.05、1.39 ($P < 0.05$) 和 1.73 倍 ($P < 0.01$)。而且, 培养 120 h 比培养 72 h ANP mRNA 相对表达量明显增加 ($P < 0.05$, 图 3 和表 3)。

2.4 细胞外信号调节激酶和蛋白激酶 C 在心脏营养素 1 上调心房钠尿肽 mRNA 表达中的作用

在心肌细胞培养基(无血清)中分别加入 ERK 抑制剂 PD098059 (PD, 50 μmol/L) 和 PKC 抑制剂 Calphostin C (Cal, 10 μmol/L), 30 min 后再加入 10⁻⁸

mol/L CT-1。培养 72 h 后提取心肌细胞总 RNA, 用 RT-PCR 法检测 ANP mRNA 相对表达量。结果发现, 前者的 ANP 与 GAPDH 比值为 1.94 ± 0.15 ($n = 3$), 与对照组(1.04 ± 0.17) 相比有极显著性差异 $P < 0.01$, 与单纯 CT-1 10⁻⁸ mol/L 组相比也有显著性差异 $P < 0.05$; 后者的 ANP 与 GAPDH 比值为 1.27 ± 0.17 ($n = 3$), 与单纯 CT-1 10⁻⁸ mol/L 组相比差异无显著性意义 ($P > 0.05$; 图 4, 表 4)。

表 3. 心脏营养素 1 培养不同时间对新生大鼠心肌细胞心房钠尿肽基因表达的影响 ($n = 3$)

培养时间	ANP 与 GAPDH 的比值	
	对照组	CT-1 10 ⁻⁸ mol/L 组
24 h	1.10 ± 0.17	1.16 ± 0.18
72 h	1.06 ± 0.10	1.47 ± 0.17 ^a
120 h	1.14 ± 0.13	1.97 ± 0.24 ^{bc}

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 72 h 比较。

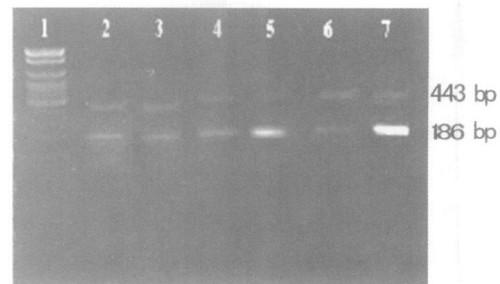


图 3. 心脏营养素 1 培养不同时间影响大鼠心肌细胞心房钠尿肽基因表达电泳图 1 为标准品, 2、4 和 6 为对照组培养 24 h、72 h 和 120 h, 3、5 和 7 为 10⁻⁸ mol/L 培养 24 h、72 h 和 120 h。

表 4. 细胞外信号调节激酶和蛋白激酶 C 在心脏营养素 1 影响新生大鼠心房钠尿肽基因表达中的作用

分 组	n	ANP 与 GAPDH 的比值
对照组	3	1.04 ± 0.17
CT-1	3	1.48 ± 0.16 ^a
Cal C+ CT-1	3	1.27 ± 0.17
PD+ CT-1	3	1.94 ± 0.15 ^{bc}

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 CT-1 组比较。

3 讨论

在整体实验证实, 容量超负荷和压力超负荷均可诱导心肌肥大的发生, 在心肌肥大发生与发展过

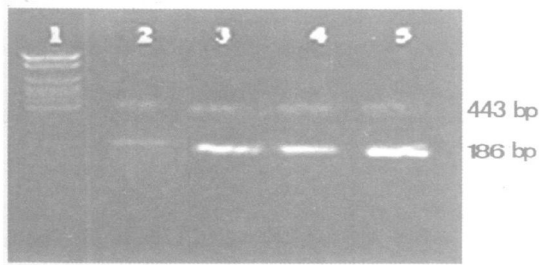


图 4. 细胞外信号调节激酶和蛋白激酶 C 在心脏营养素 1 影响新生大鼠心肌细胞心房钠尿肽基因表达电泳图 1 为标准品, 2 为对照组, 3 为 10^{-8} mol/L CT-1 组, 4 为 $10 \mu\text{mol/L}$ Cal+ 10^{-8} mol/L CT-1 组, 5 为 $50 \mu\text{mol/L}$ PD098059+ 10^{-8} mol/L CT-1 组。

程中可出现增殖指标的改变^[4]; 由多种原因导致的心肌肥大中发现心肌细胞可出现不同程度的 ANP mRNA 表达增加^[5]。离体实验观察也发现, 在正常培养的乳鼠心肌细胞 ANP mRNA 就有表达, 我们用血管紧张素 $\text{I}\alpha$ 、肾上腺素和内皮素诱导培养心肌细胞, 其 ANP mRNA 表达量明显增加。以上结果表明 ANP mRNA 表达增加可作为反映心肌肥大的基因指标之一。有资料提示, 在正常情况下脑钠尿肽 (brain natriuretic peptide, BNP) 基因表达不明显, 但在严重充血性心功能衰竭或急性心肌梗塞等病理情况下表达量明显增加, CT-1 也可使 BNP mRNA 表达量明显增加^[6], 表明 BNP mRNA 也可作为 CT-1 诱导心肌细胞肥大反应的基因指标之一, 特别是在诱导或病理条件下显得更为突出。在腹主动脉缩窄所致大鼠压力超负荷心肌肥大模型中观察到 CT-1 的过度表达参与了压力超负荷性大鼠心肌肥大的发病过程, 而血管紧张素转换酶抑制剂贝那普利对 CT-1 的表达及心肌肥大有抑制作用^[7], 提示 CT-1 与心肌肥大确切有一定的关系, 血管紧张素系统参与该过程。然而, ANP mRNA 表达是否也在 CT-1 作用过程中明显表达, 尚未清楚。我们在培养的大鼠心肌细胞上观察到, 无血清培养基中加入不同浓度的 CT-1 可使心肌细胞体积明显增大, 并呈明显的剂量依赖性; 同时, CT-1 也可增加心肌细胞蛋白质含量 (DNA 的合成速率) 和 ^3H -亮氨酸掺入量。最近的实验证实, 高血压所致的压力超负荷心肌肥大病人血浆 CT-1 的含量明显增高, 经治疗后高血压和心肌肥大明显改善的同时, 病人血浆 CT-1 的含量明显降低^[8,9], 进一步支持 CT-1 参与多种因素所致的心肌肥大反应。据此, 我们设想 CT-1 可能也可诱导心肌细胞 ANP mRNA 的表达, 为了证实这一假设是否成立, 我们设计了 ANP 寡聚核苷酸引物, 与管家基因 GAPDH 进行比

较。结果发现, 用不同浓度 CT-1 对心肌细胞进行刺激, 其 ANP mRNA 表达量随 CT-1 剂量的逐渐增加而明显增加, 表现为明显的剂量依赖性; 我们还用 10^{-8} mol/L CT-1 对心肌细胞进行刺激, 观察到不同时间 (24 h、72 h 和 120 h) CT-1 刺激后心肌细胞 ANP mRNA 表达量呈明显的时间依赖性。以上结果表明, CT-1 具有较强的诱导心肌细胞肥大反应的作用, CT-1 呈剂量依赖性和时间依赖性增加 ANP mRNA 的表达。然而, CT-1 诱导 ANP mRNA 表达的细胞内信号转导机制尚未清楚, 为此我们在复习了相关的研究资料后, 主要观察了 MAPK 和 PKC 两类信号分子是否参与 CT-1 诱导 ANP mRNA 表达过程。

心脏营养素 1 (CT-1) 属于白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6) 家族成员之一, 是一种新的诱导心肌细胞肥大的细胞因子。以往的研究发现, CT-1 诱导心肌细胞肥大的信号转导机制主要是通过激活细胞膜上的糖蛋白 130 (glycoprotein 130, gp130) 或白血病抑制因子 (leukemia inhibitory factor, LIF) 受体^[10-12] 而实现的。然后再激活细胞内不同的信号转导途径而发挥调节作用, 如信号转导和转录激活因子 (signal transducer and activators of transcription, STAT)、磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 和丝裂原激活蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) 亚型细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal regulated kinase, ERK1/2) 等^[10, 11, 13]。然而, Takahashi 等^[14] 在离体实验中发现, CT-1 可使心肌细胞蛋白质合成、BNP 的分泌和细胞表面积等心肌肥大指标明显增加, 其诱导的心肌细胞肥大反应的信号转导途径与 STAT3 和 ERK1/2 通路无关, 相反上述这些变化与 MEK5-ERK5 通路有关。显然 CT-1 诱导心肌细胞肥大的细胞内信号转导机制尚未完全阐明。我们在实验中观察到, 在无血清的心肌细胞培养基中预先加入 MAPK 亚型 ERK1/2 级联的选择性抑制剂 PD098059, 再加入 CT-1, ANP 与 GAPDH 的吸光度比值与对照组相比有极显著性差异。而在培养基中预先加入非选择性 PKC 抑制剂 Calphostin C, 再加入 CT-1 其 OD ANP/ OD GAPDH 比值与对照组相比无显著性差异。以上结果表明, CT-1 上调培养心肌细胞 ANP mRNA 表达的细胞内信号转导与 MAPK 通路有关, 而与 PKC 信号分子无直接关系。至于 MAPK 通路的下游信号转导途径是什么以及细胞内是否存在交互调控机制, 尚待实验进一步证实。

[参考文献]

- [1] Pennica D, King K, Shaw K, Luis E, Rullamas J, Luoh SM, et al. Expression

- clone of cardiophrin 1, a that induces cardiac myocyte hypertrophy [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92** (4): 1 142-146.
- [2] 符史干, 董战玲, 翁启芳, 许闯广, 周升, 谢协驹. PKC上调心脏营养素1促进的心肌细胞存活率[J]. *心脏杂志*, 2006, **18** (4): 406-410.
- [3] 符史干, 刘培庆, 鲁伟, 龚素珍, 潘敏运. 蛋白激酶C在血管紧张素 I^{I} 抑制一氧化氮合成中的作用[J]. *生理学报*, 2000, **52** (4): 318-322.
- [4] 刘进军, 王晓虹, 苏兴利, 周娟, 刘瑞, 刘元喜, 等. 压力超负荷致心肌细胞增殖细胞核抗原和周期素D1的表达变化与心肌肥大的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005, **13** (4): 467-470.
- [5] Yamakawa H, Imamura T, Matsuo T. Diastolic wall stress and ANG II in cardiac hypertrophy and gene expression induced by volume overload [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000, **279** (9): 2 939-946.
- [6] Kuwahara K, Saito Y, Ogawa Y, Tamura N, Ishikawa M, Harada M, et al. Endothelin-1 and cardiophrin-1 induce brain natriuretic peptide gene expression by distinct transcriptional mechanisms [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1998, **31** (Suppl 1): S354-356.
- [7] 金丰, 李隆贵, 张钰倩, 耿召华, 郑宏庭. 压力超负荷大鼠心肌营养素-1表达对贝那普利干预的反应[J]. *第三军医大学学报*, 2006, **28** (18): 1 864-866.
- [8] Gonzalez A, Lopez B, Martir Raymondi D, Lozano E, Varo N, Barba J, et al. Usefulness of plasma cardiophrin 1 in assessment of left ventricular hypertrophy regression in hypertensive patients [J]. *J Hypertens*, 2005, **23** (12): 2 297-304.
- [9] Lopez B, Gonzalez A, Lasarte JJ, Sarobe P, Borrás F, Diaz A, et al. Is plasma cardiophrin 1 a marker of hypertensive heart disease [J]? *J Hypertens*, 2005, **23** (3): 625-632.
- [10] Yamauchi Takihara K, Kishimoto T. Cytokines and their receptors in cardiovascular diseases-role of gp130 signalling pathway in cardiac myocyte growth and maintenance [J]. *Int J Exp Pathol*, 2000, **81** (1): 1-16.
- [11] Bristow MR, Long CS. Cardiophrin 1 in heart failure [J]. *Circulation*, 2002, **106**: 1 430-432.
- [12] Schroers A, Hecht O, Kallen KJ, Pacht M, Rose-John S, Grotzinger J. Dynamics of the gp130 cytokine complex: a model for assembly on the cellular membrane [J]. *Protein Sci*, 2005, **14** (3): 783-790.
- [13] Bueno OF, De Windt LJ, Tymitz KM, Witt SA, Kimball TR, Klevitsky R, et al. The MEK1-ERK1/2 signaling pathway promotes compensated cardiac hypertrophy in transgenic mice [J]. *EMBO J*, 2000, **19** (6): 6 341-350.
- [14] Takahashi N, Saito Y, Kuwahara K, Harada M, Tamimoto K, Nakagawa Y, et al. Hypertrophic responses to cardiophrin 1 are not mediated by STAT3, but via a MEK5-ERK5 pathway in cultured cardiomyocytes [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2005, **38** (1): 185-192.
- (此文编辑 胡必利)

读者·作者·编者

关于汉字文稿中名词术语使用英文缩写词的规定

当一个多汉字的名词术语在汉字文稿中反复出现时,作者往往喜欢用一个英文缩写词来代替;这样做,既节省篇幅,又避免繁琐重复,为多数期刊所称颂,我刊亦不例外。然而在编辑工作中发现,由于受作者层次和参考文献种类等因素的影响,在使用名词术语的英文缩写时存在以下问题:同一个英文名词术语,译成的汉文不同,如 derived 这个词,有的译成源性,有的译为衍化,还有的译成衍生;④缩写不规范,英文字母的大小写不一致,如载脂蛋白 (apolipoprotein) 缩写为 apo 已不规范,而它却有 Apo 和 apo 两种写法;④用法不当,有的用在文题中,有的用作关键词,有的名词术语仅两三个汉字,为图方便,个别作者也用缩写词来代替;而且,第一次出现时,没有汉英对照,只有缩写,这是极不应该的。有鉴于此,为求统一,我刊对汉字文稿中名词术语使用英文缩写词来代替作如下规定,请遵照执行。

1 名词术语在 3 个 (含 3 个) 汉字内,一律使用汉字;多于 3 个汉字的,才可使用英文缩写词;如胆固醇、脂蛋白、内皮素、高血压、糖尿病、再狭窄等,都只能用汉字;但冠心病、肺心病等例外。

2 文题、摘要、关键词、正文中的各层次标题、插图和表格标题中的名词术语,不得使用英文缩写词来代替。

3 段首的名词术语需用缩写词时,为了阅读方便,可在缩写词左右加圆括号,左半圆括号之前写出汉字名词术语全称。

4 第一次使用英文缩写词来代替名词术语时,必须按照下列格式来写: 汉文全称 (英文全称, 缩写词)。如极低密度脂蛋白胆固醇 (very low density lipoprotein cholesterol, VLDL-C)、动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 等。

5 英文缩写词在汉字文稿中不用复数。

6 书写时缩写词字母之间不用连字符,不移行;若词末有数字,可在数字与左邻字母之间加连字符 (用半字线), 如 II-1。

7 名词术语的英文缩写词不移行。

8 汉字文稿中不宜过多使用英文缩写词,我刊规定文献综述可用 4~6 个,其它文稿限 4 个内。

以上规定请共同遵照执行。

(胡必利起草、修订)