

## 不同浓度血管紧张素(1-7)对心肌肥厚所致内质网应激损伤的保护作用

周玉荣, 边云飞, 李茂莲, 高 奋, 肖传实

(山西医科大学第二医院心内科, 山西省太原市 030001)

[关键词] 心肌肥厚; 内质网应激; 血管紧张素 $\text{①}$  葡萄糖调节蛋白 78 C/EBP同源蛋白; 血管紧张素(1-7)

[摘要] 目的 观察血管紧张素(1-7)对心肌肥厚内质网应激所致细胞损伤的保护作用。方法 实验分为空白对照组、血管紧张素 $\text{①}$ 组、血管紧张素(1-7)干预组。体外培养乳鼠心肌细胞,用不同浓度血管紧张素 $\text{①}$ (100 nmol/L、1000 nmol/L)分别作用 24 h、48 h、72 h诱导其肥厚。用不同浓度的血管紧张素(1-7)(10 nmol/L、100 nmol/L、1000 nmol/L)进行干预。实验终止后,在倒置相差显微镜下观察心肌细胞形态变化。考马斯亮蓝 G-250法测定心肌总蛋白合成。RT-PCR和 Western Blotting检测内质网应激相关分子葡萄糖调节蛋白 78和 C/EBP同源蛋白的表达。结果 与空白对照组相比,100 nmol/L血管紧张素 $\text{①}$ 干预 24 h可诱导心肌肥厚,心肌细胞体积增大,细胞蛋白含量增加( $1.59 \pm 0.03$  g/L,  $P < 0.05$ ),葡萄糖调节蛋白 78和 C/EBP同源蛋白 mRNA和蛋白表达水平明显增高( $P < 0.05$ ),给予血管紧张素(1-7)干预后,可较大程度地逆转上述指标变化( $P < 0.05$ )。结论 血管紧张素 $\text{①}$ 诱导的心肌细胞肥厚存在内质网应激。血管紧张素(1-7)可以通过减轻内质网应激来减轻心肌细胞肥厚,对心肌细胞具有保护作用且 1000 nmol/L血管紧张素(1-7)的保护作用最强。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

## Protective Effect of Different Concentrations of Angiotensin-(1-7) on Cardiac Hypertrophy Induced Endoplasmic Reticulum Stress Injury

ZHOU Yu-Rong BIAN Yun-Fei LIM ao-Lian GAO Fen, and XIAO Chuan-Shi

(Department of Cardiology, Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China)

[KEY WORDS] Cardiac Hypertrophy Endoplasmic Reticulum Stress Angiotensin $\text{①}$  Glucose-Regulated Protein 78 C/EBP Homologous Protein Angiotensin-(1-7)

[ABSTRACT] **Aim** To observe effect of angiotensin (1-7) (Ang-1-7) on myocardial hypertrophy in endoplasmic reticulum stress (ERS) induced cell injury. **Methods** Experiment was divided into control group, angiotensin $\text{①}$  (Ang $\text{①}$ ) group, Ang $\text{①}$  + Ang-1-7 group. Cultured rat myocardial cells were induced hypertrophy by different concentrations of Ang $\text{①}$  (100 nmol/L, 1000 nmol/L) for 24, 48 and 72 hours, and intervened by different concentrations of Ang-1-7 (10 nmol/L, 100 nmol/L, 1000 nmol/L). After finishing experiment, the change of myocardial cells was observed in an inverted phase contrast microscope. Coomassie brilliant blue G-250 was used to determine cardiac total protein synthesis. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western Blotting were used to detect glucose-regulated protein 78 (GRP78) and C/EBP homologous protein (CHOP) expression of endoplasmic reticulum stress (ERS). **Results** Compared with the control group, 100 nmol/L Ang $\text{①}$  induced cardiac hypertrophy at 24 h, the myocardial cell volume increased, the cell protein content increased ( $1.59 \pm 0.03$  g/L,  $P < 0.05$ ). mRNA and protein expression levels of endoplasmic reticulum stress proteins GRP78 and CHOP were significantly higher ( $P < 0.05$ ); Ang-1-7 can reverse the above to a large extent ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Myocardial hypertrophy induced by Ang $\text{①}$  exist endoplasmic reticulum stress. Ang-1-7 can reduce the endoplasmic reticulum stress by reducing cardiac hypertrophy, and protect myocardial cells. Protective effect of 1000 nmol/L Ang-1-7 was the strongest.

[收稿日期] 2010-11-12

[作者简介] 周玉荣, 硕士研究生, 主治医师, 主要从事冠心病的基础与临床方面研究, Email为 tyzhouyurong@163.com。边云飞, 博士, 硕士研究生导师, 主要从事冠心病研究, Email为 ganxbaozhongxi@sina.com。肖传实, 博士, 博士研究生导师, 主要从事冠心病的基础与临床方面研究, Email为 ganxbaozhongxi@sina.com。

心肌肥厚失代偿可导致扩张性心肌病、心力衰竭和猝死等疾病,严重危及人类生命<sup>[1]</sup>。近年研究显示,心肌肥大时内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)相关分子葡萄糖调节蛋白 78(glucose-regulated protein 78, GRP78)、C/EBP同源蛋白(C/EBP homologous protein, CHOP)等表达显著上调<sup>[2]</sup>,提示心肌肥厚过程中出现内质网应激反应。血管紧张素(1-7)[angiotensin(1-7), Ang-1-7]具有扩张血管、保护内皮细胞、抗高血压和改善心功能等作用。Ang-1-7能够减轻腹主动脉缩窄所诱导的大鼠心肌肥厚,其机制与其抑制血管紧张素 $\text{Ang}^{\text{II}}$ (angiotensin $\text{Ang}^{\text{II}}$ )的细胞内信号转录有关<sup>[3]</sup>,但是Ang-1-7是否能通过减轻内质网应激来减轻心肌肥厚未见文献报道,本文以此为切入点来进行研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 试剂和仪器

DMEM培养基(Gibco);胎牛血清(BSC,四季青公司);Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 和Ang-1-7(Sigma);PBS缓冲液(博士德生物工程有限公司);胰蛋白酶(solarbio, Spain);PCR引物和PCR Mark(上海生物工程有限公司);兔抗鼠GRP78一抗和兔抗鼠CHOP一抗(北京博奥森生物技术有限公司);山羊抗兔IgG二抗(Santa Cruz公司,美国);CO<sub>2</sub>培养箱(HERA cell 150);倒置显微镜(Nikon TS100, 日本);荧光倒置显微镜(Olympus IX50, 日本);流式细胞仪(FACS-Calibur美国BD公司);PCR仪(BIO-RAD PTC-200美国);半干转膜仪(BIO-RAD);凝胶成像系统(GeDoc Bio-rad美国);紫外可见分光光度计(CARY50, 美国Varian);水平电泳系列(MiniSub CellGT, Bio-rad美国)。

### 1.2 心肌细胞培养及分组

将冻存于液氮罐中的心肌细胞复苏后加入含10%胎牛血清的DMEM培养液于CO<sub>2</sub>培养箱内37℃贴壁培养。实验分为空白对照组:常规心肌细胞培养,不予任何处理;④Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 组:给予不同浓度Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ (100 nmol/L、1000 nmol/L)分别培养24 h、48 h和72 h;④Ang-1-7干预组:根据上述实验发现100 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 刺激细胞24 h能诱导心肌细胞肥大,因此选用100 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 刺激细胞24 h并用不同浓度Ang-1-7(10 nmol/L、100 nmol/L和1000 nmol/L)对心肌细胞进行干预。

### 1.3 心肌细胞形态学观察

细胞按 $5 \times 10^8$  /L数量培养至6孔培养板中,放

入CO<sub>2</sub>孵箱中培养,在长满单层细胞时进行实验干预,按上述分组给予各孔细胞不同的干预措施,倒置相差显微镜观察各组心肌细胞的形态。

### 1.4 心肌细胞蛋白合成测定

取离体纯化培养的乳鼠心肌细胞,调整细胞数为 $2.5 \times 10^8$  /L,将细胞接种于6孔培养板上,每组10个孔,按以上分组及处理后分别于24 h、48 h和72 h后提取总蛋白,并以考马斯亮蓝G-250法测定心肌总蛋白合成<sup>[4,5]</sup>。各组培养的心肌细胞培养板放置于冰上,去掉培养基,用冷的PBS冲洗2次。每孔加0.3 mL细胞裂解缓冲液,4℃静置20 min。裂解的细胞移至0.5 mL离心管并摇动,4℃12 000 r/min离心20 min,取上清液待用。用标准蛋白溶液制作标准蛋白曲线。从各组细胞裂解液中取5  $\mu$ L加入2 mL考马斯亮蓝溶液,放置2 min,595 nm比色,读出吸光度值,在标准蛋白曲线上查出相应的蛋白浓度(每组取6次样本进行分析)。

### 1.5 逆转录聚合酶链反应检测葡萄糖调节蛋白78和C/EBP同源蛋白mRNA表达

取经不同浓度Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ (100 nmol/L、1000 nmol/L)诱导24 h的心肌细胞,采用Trizol(Gibco-BRL)提取总RNA,紫外分光光度计测定RNA量再逆转录成cDNA。PCR反应条件为94℃变性2 min后,94℃30 s (GRP78 56℃30 s, CHOP 58℃30 s)、72℃45 s,顺序循环32次,最后72℃延伸5 min。电泳及图像扫描及定量分析,测目的基因与GAPDH的吸光度比值。引物序列:GRP78上游为5'-AGCCTGTTGCTGGACTCTGT-3',下游为5'-GAATACACCGACGCAGGAAT-3',扩增片长206 bp;CHOP上游为5'-AGCTGAGTCTCTGCCTTTTCG-3',下游为5'-AGGTGCTTGTGACCTCTGCT-3',扩增片长221 bp;GAPDH上游为5'-TGAACGGGAAGCTCACTGG-3',下游为5'-TCCACCACCCTGTTGCTGGA-3',扩增片长307 bp。

### 1.6 Western Blotting检测葡萄糖调节蛋白78和C/EBP同源蛋白表达

收集诱导后的心肌细胞,以胰蛋白酶解离细胞,加入细胞裂解液冰浴20 min后离心提取总蛋白。Bradford法蛋白定量后分装,-70℃保存。取蛋白提取液100  $\mu$ g 10% SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白、转膜、封闭,依次加入一抗GRP78(1:100)和CHOP(1:200)。4℃孵育过夜,二抗孵育2 h后,ECL发光液孵育5 min后,置于图像分析系统进行图像扫描及强度分析。

### 1.7 统计学方法

所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS12.0统计

软件进行分析。组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 镜下心肌细胞形态学观察

显微镜下可见加用不同浓度 (100 nmol/L、1000 nmol/L) AngⅡ后, 分别于 24 h、48 h、72 h 诱导其肥厚。其中 100 nmol/L AngⅡ作用 24 h 后的心肌细胞较正常对照组体积明显增大, 心肌细胞间隙透亮度增加。而其余 AngⅡ浓度 (1000 nmol/L、100 nmol/L) 培养不同时间 (24 h、48 h 和 72 h) 后心肌细胞形态改变, 甚至死亡 (图 1, Figure 1)。

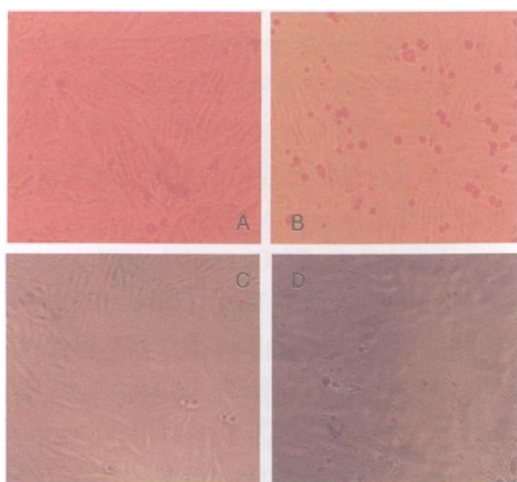


图 1. 乳鼠心肌细胞 ( $\times 100$ ) A 为空白对照组, B 为 100 nmol/L AngⅡ作用 24 h 组; C 为 100 nmol/L AngⅡ作用 72 h 组, D 为 1000 nmol/L AngⅡ作用 72 h 组。

Figure 1. Cultured rat myocardial cells

### 2.2 心肌细胞蛋白质合成情况

100 nmol/L AngⅡ作用 24 h 后心肌细胞内蛋白含量明显增加 ( $1.59 \pm 0.03$  g/L,  $P < 0.05$ ), 并且细胞蛋白含量明显高于其余 AngⅡ浓度 (1000 nmol/L、100 nmol/L) 培养不同时间 (24 h、48 h 和 72 h) 的细胞蛋白含量 (表 1, Table 1)。提示 100 nmol/L AngⅡ作用 24 h 后心肌细胞内蛋白质合成明显增加, 表明 AngⅡ刺激下的心肌细胞出现肥大。

### 2.3 葡萄糖调节蛋白 78 和 C/EBP 同源蛋白 mRNA 表达

100 nmol/L AngⅡ作用 24 h 后 GRP78 和 CHOP 的 mRNA 表达明显增加 ( $P < 0.05$ , 图 2 和表 2, Figure 2 and Table 2); 给予不同浓度 Ang-1-7 (10 nmol/L、100 nmol/L 和 1000 nmol/L) 进行干预后, 可见 GRP78 和 CHOP 的 mRNA 表达随 Ang-1-7 浓度的增

加明显减低 ( $P < 0.05$ ), 其中 1000 nmol/L 的 Ang-1-7 对心肌细胞的保护作用最强 (图 3 和表 3, Figure 3 and Table 3)。

表 1. 心肌细胞蛋白质合成情况 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 The value of myocardial protein synthesis

分 组	蛋白含量 (g/L)
正常对照组	$1.37 \pm 0.37$
100 nmol/L AngⅡ作用 24 h 组	$1.59 \pm 0.03^a$
1000 nmol/L AngⅡ作用 24 h 组	$1.41 \pm 0.04$
100 nmol/L AngⅡ作用 48 h 组	$1.48 \pm 0.07$
1000 nmol/L AngⅡ作用 48 h 组	$1.39 \pm 0.04$
100 nmol/L AngⅡ作用 72 h 组	$0.81 \pm 0.42$
1000 nmol/L AngⅡ作用 72 h 组	$0.44 \pm 0.53$

a 为  $P < 0.05$  与其它各组比较。

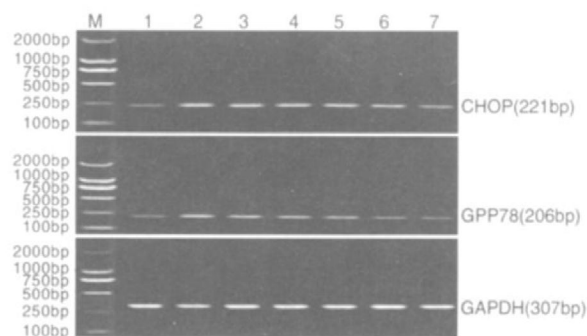


图 2. 不同浓度血管紧张素Ⅱ作用不同时间对葡萄糖调节蛋白 78 和 C/EBP 同源蛋白 mRNA 表达的影响 M 为 Marker, 1 为空白对照组, 2 为 100 nmol/L AngⅡ作用 24 h 组, 3 为 1000 nmol/L AngⅡ作用 24 h 组, 4 为 100 nmol/L AngⅡ作用 48 h 组, 5 为 1000 nmol/L AngⅡ作用 48 h 组, 6 为 100 nmol/L AngⅡ作用 72 h 组, 7 为 1000 nmol/L AngⅡ作用 72 h 组。

Figure 2. Effect of different concentrations of angiotensin II for different time on GRP78 and CHOP mRNA expression

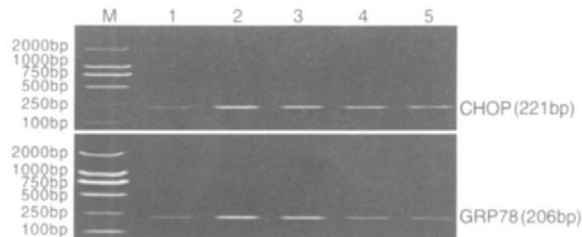


图 3. 不同浓度血管紧张素 (1-7) 对血管紧张素Ⅱ诱导的肥大心肌葡萄糖调节蛋白 78 和 C/EBP 同源蛋白 mRNA 表达的影响 M 为 Marker, 1 为空白对照组, 2 为 100 nmol/L AngⅡ作用 24 h 组, 3 为 10 nmol/L Ang-1-7 干预组, 4 为 100 nmol/L Ang-1-7 干预组, 5 为 1000 nmol/L Ang-1-7 干预组。

Figure 3. Effect of different concentrations of angiotensin-1-7 on GRP78 and CHOP mRNA expression induced by angiotensin II in cardiac hypertrophy

表 2. 不同浓度血管紧张素 $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用不同时间对葡萄糖调节蛋白 78和 C/EBP同源蛋白 mRNA 和蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )Table 2. Effect of different concentrations of angiotensin $\text{Ang}^{\text{II}}$  for different time on mRNA and protein expression of GRP78 and CHOP

分 组	GRP78 mRNA	CHOP mRNA	GRP78蛋白	CHOP蛋白
空白对照组	0.33 $\pm$ 0.01	0.37 $\pm$ 0.43	0.53 $\pm$ 0.03	0.25 $\pm$ 0.01
100 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用 24 h组	0.90 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.93 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.00 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	0.91 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>
1000 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用 24 h组	0.61 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.84 $\pm$ 0.08 <sup>ab</sup>	0.69 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	0.87 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>
100 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用 48 h组	0.57 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.79 $\pm$ 0.09 <sup>ab</sup>	0.67 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	0.85 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>
1000 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用 48 h组	0.56 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.87 $\pm$ 0.11 <sup>ab</sup>	0.63 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	0.75 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>
100 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用 72 h组	0.36 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.65 $\pm$ 0.08 <sup>ab</sup>	0.57 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	0.69 $\pm$ 0.07 <sup>ab</sup>
1000 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用 72 h组	0.31 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.56 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>	0.45 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.66 $\pm$ 0.07 <sup>ab</sup>

a为  $P < 0.05$  与空白对照组比较; b为  $P < 0.05$  与 100 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用 24 h组比较。

表 3. 不同浓度血管紧张素 (1-7)对血管紧张素 $\text{Ang}^{\text{II}}$ 诱导的肥大心肌葡萄糖调节蛋白 78和 C/EBP同源蛋白的 mRNA 和蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )Table 3. Effect of different concentrations of angiotensin-(1-7) on mRNA and protein expression of GRP78 and CHOP induced by angiotensin $\text{Ang}^{\text{II}}$  in cardiac hypertrophy

分 组	GRP78 mRNA	CHOP mRNA	GRP78蛋白	CHOP蛋白
空白对照组	0.33 $\pm$ 0.01	0.31 $\pm$ 0.06	0.64 $\pm$ 0.00	0.74 $\pm$ 0.03
100 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用 24 h组	0.80 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.80 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.06 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.88 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>
10 nmol/L Ang-1-7干预组	0.63 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.57 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.65 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	0.79 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>
100 nmol/L Ang-1-7干预组	0.32 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.50 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.55 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	0.53 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>
1000 nmol/L Ang-1-7干预组	0.20 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.42 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.31 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	0.38 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>

a为  $P < 0.05$  与空白对照组比较; b为  $P < 0.05$  与 100 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用 24 h组比较。

## 2.4 葡萄糖调节蛋白 78和 C/EBP同源蛋白的表达

GRP78和 CHOP的蛋白表达与它们的 mRNA 表达结果趋势一致, 100 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用 24 h GRP78和 CHOP的蛋白表达明显增加 ( $P < 0.05$  图 4和表 2 Figure 4 and Table 2); 给予不同浓度 Ang-1-7(10 nmol/L、100 nmol/L、1000 nmol/L)进行干预后, 可见 GRP78和 CHOP的蛋白表达随 Ang-1-7浓度的增加明显减低 ( $P < 0.05$ ), 其中 1000 nmol/L 的 Ang-1-7对心肌细胞的保护作用最强 (图 5和表 3 Figure 5 and Table 3)。

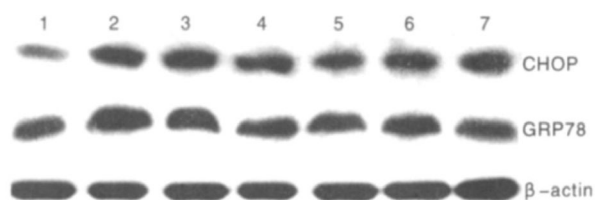


图 4. 不同浓度血管紧张素 $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用不同时间对 GRP78和 CHOP蛋白表达的影响 1为空白对照组, 2为 100 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用 24 h组, 3为 1000 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用 24 h组, 4为 100 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用 48 h组, 5为 1000 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用 48 h组, 6为 100 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用 72 h组, 7为 1000 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用 72 h组。

Figure 4. Effect of different concentrations of angiotensin $\text{Ang}^{\text{II}}$  for different time on protein expression of GRP78 and CHOP

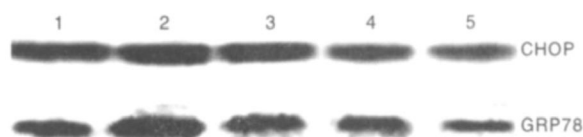


图 5. 不同浓度血管紧张素 (1-7)对血管紧张素 $\text{Ang}^{\text{II}}$ 诱导的肥大心肌葡萄糖调节蛋白 78和 C/EBP同源蛋白表达的影响

1为空白对照组, 2为 100 nmol/L Ang $\text{Ang}^{\text{II}}$ 作用 24 h组, 3为 10 nmol/L Ang-1-7干预组, 4为 100 nmol/L Ang-1-7干预组, 5为 1000 nmol/L Ang-1-7干预组。

Figure 5. Effect of different concentrations of angiotensin-(1-7) on protein expression of GRP78 and CHOP induced by angiotensin $\text{Ang}^{\text{II}}$  in cardiac hypertrophy

## 3 讨 论

内质网 (endoplasmic reticulum, ER)是真核细胞中蛋白质翻译合成和细胞内钙离子的储存场所。葡萄糖或营养物质缺乏、脂质过度负荷、药物等均可打破内质网的稳态, 出现错误折叠与未折叠蛋白在腔内聚集以及  $\text{Ca}^{2+}$  平衡紊乱的状态, 称为内质网应激<sup>[6]</sup>。适度的内质网应激有利于细胞内钙和蛋白加工等稳态恢复正常, 增强细胞耐受应激的能力; 持续而严重的内质网应激则触发内质网相关细胞凋亡, 造成细胞损伤<sup>[7]</sup>。



内质网应激可诱导内质网分子伴侣 GRP78 和 CHOP 等分子伴侣的表达, 这些分子伴侣通过帮助未折叠蛋白折叠或促进错误折叠蛋白正确折叠来减轻内质网应激反应<sup>[8]</sup>。文献报道 GRP78 和 CHOP 是反应内质网应激的经典指标<sup>[9-10]</sup>。CHOP 又称为生长停滞及 DNA 损伤基因 (growth arrest and damage inducible gene 153 GADD153), 它通过直接调节核内靶基因, 增加细胞对内质网应激介导凋亡的敏感性<sup>[11]</sup>。CHOP 过表达可促进细胞凋亡, CHOP 介导的内质网应激相关凋亡途径可能参与了心肌肥厚。内质网应激通过影响心肌细胞肥厚和细胞凋亡之间的平衡, 决定肥厚心肌的代偿或失代偿状态。

AngⅡ是一种致心肌肥大的血管活性肽, 特别是心肌局部 AngⅡ过多与心肌肥大过程中心肌正性肌力反应和过负荷表型改变有关<sup>[12]</sup>。Ang-1-7 是由血管紧张素 iv (angiotensin iv, Angiv) 和 AngⅡ在内切酶作用下转化而成的 7 肽生物活性物质, 它能够减轻腹主动脉缩窄所诱导的大鼠心肌肥厚, 其机制与它抑制 AngⅡ的细胞内信号转录有关<sup>[9-10]</sup>, 但 Ang-1-7 是否能通过下调内质网相关分子抑制内质网应激参与的心肌肥厚未见文献报道。

本实验中通过体外培养心肌细胞, AngⅡ诱导建立心肌肥大模型, 观测 Ang-1-7 是否通过减轻内质网应激来减轻心肌肥厚。结果发现 100 nmol/L AngⅡ处理细胞 24 h 后心肌细胞出现明显肥大。从 PCR 和 Western Blotting 检测结果也证实, 100 nmol/L AngⅡ处理 24 h 后心肌细胞内质网应激经典指标 GRP78 和 CHOP 的 mRNA 和蛋白表达明显上调 ( $P < 0.05$ )。用 Ang-1-7 对内质网应激指标进行干预, 发现 1000 nmol/L 的 Ang-1-7 可以明显下调内质网应激指标 GRP78 和 CHOP 的 mRNA 和蛋白表达 ( $P < 0.05$ ), 表明 Ang-1-7 对心肌细胞肥厚内质网应激所致细胞损伤具有保护作用, Ang-1-7 可能的作用靶点在内质网, 通过减轻内质网应激改善内质网的稳态来发挥作用, 这为心肌肥厚的研究提供了新的思路。

#### [参考文献]

- [1] Hodges P. Heart failure epidemiologic update [J]. Crit Care Nurs Q. 2009, 32(1): 24-32.
- [2] Terai K, Hiramoto Y, Masaki M, et al. AMP activated protein kinase protects cardiomyocytes against hypoxic injury through attenuation of endoplasmic reticulum stress [J]. Mol Cell Biol. 2005, 25(21): 9554.
- [3] Scheuer J. Catecholamines in cardiac hypertrophy [J]. Am J Cardiol. 1999, 83: 70-74.
- [4] 杨永健, 张鑫, 杨大春. 血管紧张素 1-7 抑制血管外膜成纤维细胞增殖 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2005, 15(2): 361-364.
- [5] 杨军, 伍卫. 血管紧张素Ⅱ下调肥厚心肌细胞缝隙连接蛋白 Cx43 的表达 [J]. 中华高血压杂志, 2008, 16(2): 149-153.
- [6] Pahl HL. Signal transduction from the endoplasmic reticulum to the cell nucleus [J]. Physiol Rev. 1999, 79(3): 683-701.
- [7] Liu XH. Progress in endogenous cardioprotection induced by ischemia preconditioning [J]. Acta Physiol Sin. 2008, 59(5): 628-634.
- [8] Novoa I, Zeng H, Harding HP, et al. Feedback inhibition of the unfolded protein response by GADD34-mediated dephosphorylation of Eif2a [J]. J Cell Biol. 2001, 153(5): 1011-1022.
- [9] Nozaki S, Sledge Jr GW, Nakshatri H. Repression of GADD153/CHOP by NF-kappa B: a possible cellular defense against endoplasmic reticulum stress-induced cell death [J]. Oncogene. 2001, 20(17): 2178-185.
- [10] Oyadomari S, Mori M. Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress [J]. Cell Death Differ. 2004, 11(4): 381-389.
- [11] Talukder MA, Yang F, Nishijima Y, et al. Reduced SERCA2a converts sub-lethal myocardial injury to infarction and affects postischemic functional recovery [J]. J Mol Cell Cardiol. 2009, 46(2): 285.
- [12] Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, et al. A novel angiotensin converting enzyme related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin-(1-9) [J]. Circ Res. 2000, 87: E1-E9.

(此文编辑 许雪梅)