

肝 X 受体 β 基因敲除加重小鼠心肌梗死后心力衰竭

刘晓强¹, 陆天飞², 高见书³, 汪芳¹

(1.上海交通大学附属第一人民医院心内科,上海市 200080;2.上海交通大学附属仁济医院肝脏外科,上海市 200127;
3.盐城市第一人民医院心内科,江苏省盐城市 224005)

[关键词] 肝 X 受体 β ; 心肌梗死; 心力衰竭; 凋亡; 心肌纤维化

[摘要] 目的 探讨肝 X 受体 β (LXR β)对小鼠心肌梗死(MI)后慢性心力衰竭的影响。方法 野生型(WT)小鼠和 LXR β 基因敲除(LXR $\beta^{-/-}$)小鼠通过结扎左冠状动脉前降支建立 MI 模型。MI 后 3 天,用 Western blot 检测 Cleaved Caspase-3 及 TUNEL 染色评价心肌细胞凋亡,定量实时聚合酶链反应(qRT-PCR)检测促炎细胞因子肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 6 的表达。MI 后 4 周,采用超声心动图评价左心室功能,氯化三苯四唑染色评价梗死面积,心肌组织 Masson 三色染色和 α -平滑肌肌动蛋白染色观察纤维化程度,qRT-PCR 检测基质金属蛋白酶 9 及 I 型胶原蛋白进一步评估心肌纤维化。结果 与 WT 小鼠相比,MI 后 3 天 LXR $\beta^{-/-}$ 小鼠在梗死区显示出更多的心肌细胞凋亡和炎症;MI 后 4 周,LXR $\beta^{-/-}$ 小鼠显示出显著增加的梗死面积、减少的射血分数、加重的左心室扩张和增强的心肌纤维化。结论 LXR β 基因敲除加重了 MI 后病理损伤和左心室重构,LXR β 作为靶向药物节点可能有助于治疗 MI。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Liver X Receptor- β Gene Knock-out Aggravates Heart Failure After Myocardial Infarction in Mice

LIU Xiao-Qiang¹, LU Tian-Fei², GAO Jian-Shu³, and WANG Fang¹

(1. Department of Cardiology, Affiliated Shanghai First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China; 2. Department of Transplantation and Hepatic Surgery, Affiliated Renji Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200127, China; 3. Department of Cardiology, Yancheng First People's Hospital, Fourth Affiliated Hospital of Nantong University, Yancheng, Jiangsu 224005, China)

[KEY WORDS] Liver X Receptor- β ; Myocardial Infarction; Heart Failure; Apoptosis; Myocardial Fibrosis

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effect of liver X receptor- β (LXR β) on chronic heart failure after myocardial infarction (MI) in mice. **Methods** The MI model was established by ligation of left anterior descending coronary artery in wild type (WT) mice and LXR β gene knock-out (LXR $\beta^{-/-}$) mice. Third day after MI, cleaved caspase-3 was detected by Western blot, apoptosis of cardiac muscle cells was evaluated by terminal dUTP nick end labelling (TUNEL) staining, and expressions of proinflammatory cytokines tumor necrosis factor α and interleukin-6 were detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). Fourth week after MI, left ventricular function was assessed with ultrasonic echocardiography, myocardial infarct size was evaluated by triphenyl tetrazolium chloride (TTC) staining, myocardial fibrosis was observed by using Masson trichrome staining and α -smooth muscle actin (α -SMA) staining, and matrix metalloproteinase-9 and type I collagen were detected by qRT-PCR to further assess myocardial fibrosis. **Results** Compared with WT mice, third day after MI, LXR $\beta^{-/-}$ mice exhibited more myocardial cell apoptosis and inflammation in the infarct area; Fourth week after MI, LXR $\beta^{-/-}$ mice showed a significant increase in infarct size, reduced ejection fraction and aggravated left ventricular dilation and enhanced myocardial fibrosis. **Conclusions** LXR β gene knock-out aggravates the pathological damage and left ventricular remodeling after MI. As a targeted drug node, LXR β may contribute to the treatment of MI.

[收稿日期] 2015-11-17

[修回日期] 2016-01-21

[作者简介] 刘晓强,在读硕士研究生,主治医师,研究方向为核受体在小鼠心肌梗死中的作用机制,E-mail 为 lxq010436@163.com。陆天飞,硕士,主治医师,研究方向为肝脏缺血再灌注机制,E-mail 为 lutianfei@medmail.com.cn。通讯作者汪芳,主任医师,博士研究生导师,研究方向为心律失常的起搏治疗,E-mail 为 onlyfang1@163.com。

急性心肌梗死是一种在全球范围内高发病率和死亡率的疾病,是引起心力衰竭的最常见原因^[1]。心肌梗死(myocardial infarction, MI)后左心室经历了从分子到细胞再到细胞外基质的变化,使得在器官水平显著改变了其大小、形状以及功能^[2]。因此,致力于找到一种有效的治疗策略来减少心肌细胞的损失、逆转左心室重构是我们一直以来努力的方向。核受体监管几乎所有的生物稳态控制的转录过程,肝 X 受体(liver X receptor, LXR)作为一种氧化固醇激活的核受体,参与机体脂质及胆固醇代谢等多种生理活动的调节。LXR 包括两种亚型:LXR α (NR1H3)和 LXR β (NR1H2),二者具有高度同源性,LXR α 表达于高代谢活动的组织,包括肝脏、脂肪、巨噬细胞等,而 LXR β 则广泛表达于人体各组织中^[3]。有证据表明 LXR α 和 LXR β 均在心血管系统中表达,激活 LXR 对心肌肥厚有保护作用^[4]。然而 LXR 各亚型在调节 MI 后心室重构的作用尚不清楚。我们课题组通过研究发现 LXR α 在 MI 后心室重构过程中发挥着保护作用,而 LXR β 是否也具有相似的作用成为我们进一步探讨的对象。本研究旨在探讨 LXR β 基因敲除(LXR $\beta^{-/-}$)小鼠相较于野生型(wild type, WT)小鼠对 MI 后心力衰竭各生物学指标的影响及其可能机制。

1 材料与方法

1.1 主要实验仪器与试剂

小动物超声系统(Vevo 2100 型,加拿大 Visual Sonics 公司),小动物气体麻醉机(XGI-8 型, Gas Anesthesia System), ODYSSEY 双色红外激光成像系统(美国 LI-COR 公司), Bio-Rad PCR 扩增仪(美国 Bio-Rad 公司),核酸定量分析仪(德国 Eppendorf 公司), LightCycler[®] 480 即时 PCR 系统[罗氏诊断产品(上海)有限公司]。磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH)、Caspase-3 兔抗小鼠多克隆抗体购自 Cell Signaling Technology 公司, LXR β 鼠抗小鼠多克隆抗体购自 Abcam 公司, GAPDH、LXR β 、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6)、I 型胶原蛋白、基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)PCR 引物购自上海生工生物股份有限公司。

1.2 实验动物与分组

雄性 C57BL/6 野生型小鼠和 LXR $\beta^{-/-}$ 小鼠,鼠

龄 8~10 周,体重 22~25 g,无特定病原体级,购自中国科学院上海实验动物中心。小鼠均于清洁环境下昼夜规律喂养,自由进食、饮水。分为 4 组:WT+假手术(sham operation)组(WT+Sham 组)、LXR $\beta^{-/-}$ +Sham 组、WT+MI 组、LXR $\beta^{-/-}$ +MI 组;各组又随机分为术后 1 天组、术后 3 天组、术后 7 天组、术后 4 周组。

1.3 小鼠 MI 模型建立

按照参考文献[5]的方法,2%异氟烷吸入麻醉,将小鼠仰卧固定在鼠板上,在小鼠心脏部位第 3、4 肋间隙位置沿着腋窝与胸骨下端连线做一 1.5 cm 切口,切开皮肤,用 3-0 丝线打一荷包松结备用,钝性分离胸大肌肉与肋骨外肌肉;于第 3、4 肋间穿破胸膜和心包膜,左手迅速将心脏挤出,在左心耳下缘下 2 mm 处以 6-0 丝线结扎冠状动脉,可见左心室前壁颜色由鲜红变为暗紫至苍白色;快速将心脏推入胸腔,挤出胸内气体,打紧荷包关胸,摘除麻醉面罩。小鼠会在 3~5 min 内苏醒。Sham 组手术时丝线仅穿过左冠状动脉主干而不结扎冠状动脉。

1.4 心功能及 MI 面积测定

术后 1 天和 28 天将小鼠以 1.5%异氟烷吸入麻醉后仰卧位固定,取胸骨旁长轴和短轴观切面。M 型超声模式下记录左心室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD)和左心室收缩末期内径(left ventricular end-systolic diameter, LVESD),以及反映左心室收缩功能的左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)和左心室短轴缩短分数(left ventricular fractional shortening, LVFS)。根据参考文献[6]的方法,术后 4 周各组小鼠摘取心脏,迅速放在-20℃冻存 15 min,自心尖至心底垂直与心脏长轴横切成约 1 mm 厚组织切片,将切片置于氯化三苯四唑(triphenyl tetrazolium chloride, TTC)溶液中 37℃温孵 15 min,心脏整体及染色后组织切片应用数码相机拍照。

1.5 心肌细胞凋亡测定

小鼠心脏组织石蜡切片以末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记(terminal dUTP nick end labelling, TUNEL)法按试剂盒 S7110 说明进行细胞凋亡的原位检测。荧光显微镜下观察正常心肌细胞核被 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)标记呈蓝色,凋亡的细胞呈绿色。随机选取 MI 交界区域中 5 个非重叠 200 高倍镜视野,计数凋亡心肌细胞数和心肌细胞

总数,即心肌细胞凋亡率=凋亡心肌细胞数/心肌细胞总数 $\times 100\%$ 。

1.6 组织病理学检查

术后4周取出心脏,沿梗死交界区中部垂直于长轴方向切取厚约5 mm的心肌组织,存放于10%多聚甲醛缓冲液中固定,常规脱水,透明,石蜡包埋,行Masson三色染色和 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)染色。

1.7 蛋白免疫印迹分析

蛋白制备及浓度测定:取30 mg心肌组织经过匀浆、裂解、超声破碎、高速离心后,取上清,采用牛血清白蛋白法测定蛋白浓度,将蛋白样品、上样缓冲液配制成统一浓度后,100 $^{\circ}\text{C}$ 加热煮沸5 min,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存,供免疫印迹用。

免疫印迹法:取上述蛋白提取液(含蛋白60 μg)进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(12%分离胶),采用半干转法将蛋白质转移至硝酸纤维素膜上,室温封闭4 h;洗脱后分别加入GAPDH一抗(1:1000稀释)、LXR β 一抗(1:800稀释)、Caspase-3一抗(1:800稀释),4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜;洗膜后以相应的二抗室温孵育1.5 h。Odyssey双色红外激光成像系统将膜进行显影,Odyssey软件对图像中蛋白条带进行半定量分析,并用GAPDH进行校正。

1.8 实时定量PCR分析

总RNA用TRIzol(购自美国Invitrogen Corp公司)法根据制造商说明书的步骤来提取。将RNA用反转录酶(购自Takara公司)反转录成cDNA。定量实时聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)体系包括cDNA、SYBR Green PCR混合液(购自Takara公司)及引物(购自上海生工生物股份有限公司)。引物序列如下:GAPDH上游引物:5'-TCAGTCCAC-CCAGAAGA-3',下游引物:5'-GACGGACACATT-GGGGCTAG-3';LXR β 上游引物:5'-TGCCAGGGT-TCTTGCAGTTG-3',下游引物:5'-AACGTGATG-CATTCTGTCTCGTG-3';TNF- α 上游引物:5'-TCG-TAGCAAACCACCAAGTG-3',下游引物:5'-AG-ATAGCAAATCGGCTGACG-3';IL-6上游引物:5'-GTCACAGAAGGAGTGGCTAAG-3',下游引物:5'-TTCTGACCACAGTGAAGGAATG-3';I型胶原蛋白上游引物:5'-AAGGTTCTCCTGGTGAAGCTGGT-3',下游引物:5'-CTGAGCTCCAGCTTCTCCATCTT-3';MMP-9上游引物:5'-GCTGACTACGATAAGGACG-GCA-3',下游引物:5'-TAGTGGTGCAGGCAGAG-

TAGGA-3'。由计算机自动计算得出Ct值,用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 相对定量法计算样品mRNA表达的相对水平,数据均以GAPDH为内参。

1.9 统计学处理

采用SPSS 19.0统计、处理数据,数据均采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,手术前后心功能比较使用非配对 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 梗死区域LXR β 蛋白和mRNA的表达水平变化

应用Western blot及qRT-PCR技术检测了WT小鼠MI后梗死区域LXR β 基因表达变化。与Sham组相比,两种检测方法均显示梗死区域LXR β 表达上调($P<0.05$)。LXR β 表达水平在MI后7天达到高峰,然后逐渐下降并持续表达至术后4周(图1)。

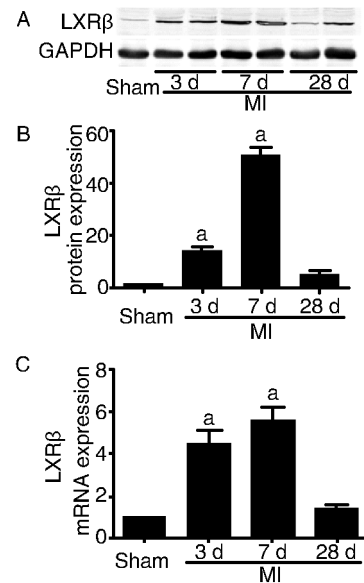


图1. 梗死区域LXR β 蛋白和mRNA的表达水平 A为Western blot检测WT小鼠MI后不同时间点梗死区域内LXR β 蛋白的表达;B为定量分析LXR β 蛋白表达情况;C为qRT-PCR检测MI后不同时间点梗死区域内LXR β mRNA表达。a为 $P<0.05$,与WT+Sham组比较。

Figure 1. The expression level of LXR β protein and mRNA in infarct region

2.2 MI前后心脏的形态学变化

整体观,在术后4周WT和LXR $\beta^{-/-}$ 两组MI小鼠与各自的Sham组比较,均显示出显著增大的心脏体积,而LXR $\beta^{-/-}$ 小鼠比WT小鼠的心脏更膨出

(图 2A);MI 后 4 周经 TTC 染色后 LXRβ^{-/-}小鼠显示出更大的梗死面积(图 2B)。

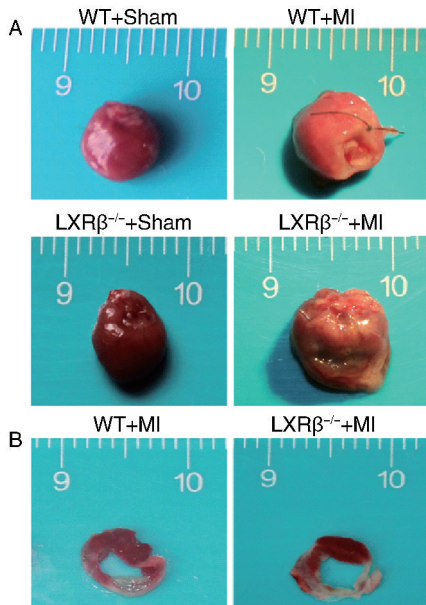


图 2. MI 前后心脏的形态学变化 A 为 MI 后 4 周心脏整体外观;B 为垂直于心脏长轴切面 TTC 染色,可见缺血坏死区(苍白色区域)。

Figure 2. The morphological changes of heart before and after MI

2.3 心功能检测结果

术后 1 天 WT 和 LXRβ^{-/-}心肌梗死小鼠与各自 Sham 组对比,左心功能均显著降低($P < 0.05$),但两组 MI 小鼠之间心功能无统计学差异(表 1)。在 MI 术后 4 周再次行超声心动图检查,发现 LXRβ^{-/-}小鼠 LVEF、LVFS 均低于 WT 小鼠($P < 0.05$),提示 LXRβ^{-/-}可加重 MI 后左心室收缩功能损害;同时 LXRβ^{-/-}小鼠 LVESD、LVEDD 均大于 WT 组小鼠($P < 0.05$;表 2),提示 LXRβ^{-/-}可加剧 MI 后左心室膨胀及左心室重构。

2.4 LXRβ^{-/-}对 MI 介导的心肌细胞凋亡和炎症的影响

心肌梗死术后 3 天,应用 TUNEL 染色及 Western blot 检测 Cleaved Caspase-3 的表达水平来评价心肌细胞凋亡。LXRβ^{-/-}小鼠梗死边缘区 TUNEL 阳性的心肌细胞(绿色)比 WT 小鼠明显增多(图 3A),凋亡率显著增加($P < 0.05$;图 3B),且 Cleaved Caspase-3 的蛋白表达水平较 WT 小鼠明显上调($P < 0.05$;图 3C、D)。同时我们应用 qRT-PCR 技术检测了 MI 后 3 天促炎细胞因子 TNF-α、IL-6 mRNA 的表达,结果显示这些因子比 Sham 组明显增加,而 LXRβ^{-/-}小鼠 MI 后 3 天比 WT 小鼠产生了更多的促炎因子($P < 0.05$;图 3E、F)。

表 1. MI 后 1 天 WT 和 LXRβ^{-/-}小鼠心脏超声结果比较

Table 1. Comparison of echocardiographic parameters of WT and LXRβ^{-/-} mice after 1 day of MI

项 目	WT+Sham 组 (n = 10)	LXRβ ^{-/-} +Sham 组 (n = 10)	WT+MI 组 (n = 20)	LXRβ ^{-/-} +MI 组 (n = 12)
LVEF	62.28%±1.31%	61.14%±1.59%	40.56%±1.46% ^a	38.51%±2.07% ^b
LVFS	31.93%±1.33%	30.21%±1.33%	22.80%±0.98% ^a	22.18%±1.23% ^b
LVEDD(mm)	3.16±0.11	3.23±0.13	3.54±0.09 ^a	3.62±0.10 ^b
LVESD(mm)	2.13±0.11	2.31±0.12	2.63±0.08 ^a	2.80±0.12 ^b

a 为 $P < 0.05$,与 WT+Sham 组比较;b 为 $P < 0.05$,与 LXRβ^{-/-}+Sham 组比较。

表 2. MI 后 4 周 WT 和 LXRβ^{-/-}小鼠心脏超声结果比较

Table 2. Comparison of echocardiographic parameters of WT and LXRβ^{-/-} mice after 4 weeks of MI

项 目	WT+Sham 组 (n = 10)	LXRβ ^{-/-} +Sham 组 (n = 10)	WT+MI 组 (n = 16)	LXRβ ^{-/-} +MI 组 (n = 10)
LVEF	68.23%±1.11%	67.02%±1.26%	34.38%±1.46%	29.04%±1.77% ^a
LVFS	38.09%±0.93%	36.85%±1.00%	17.66%±0.71%	15.07%±0.72% ^a
LVEDD(mm)	3.51±0.10	3.67±0.11	4.65±0.10	5.11±0.12 ^a
LVESD(mm)	2.28±0.12	2.44±0.12	4.15±0.08	4.59±0.10 ^a

a 为 $P < 0.05$,与 WT+MI 组比较。

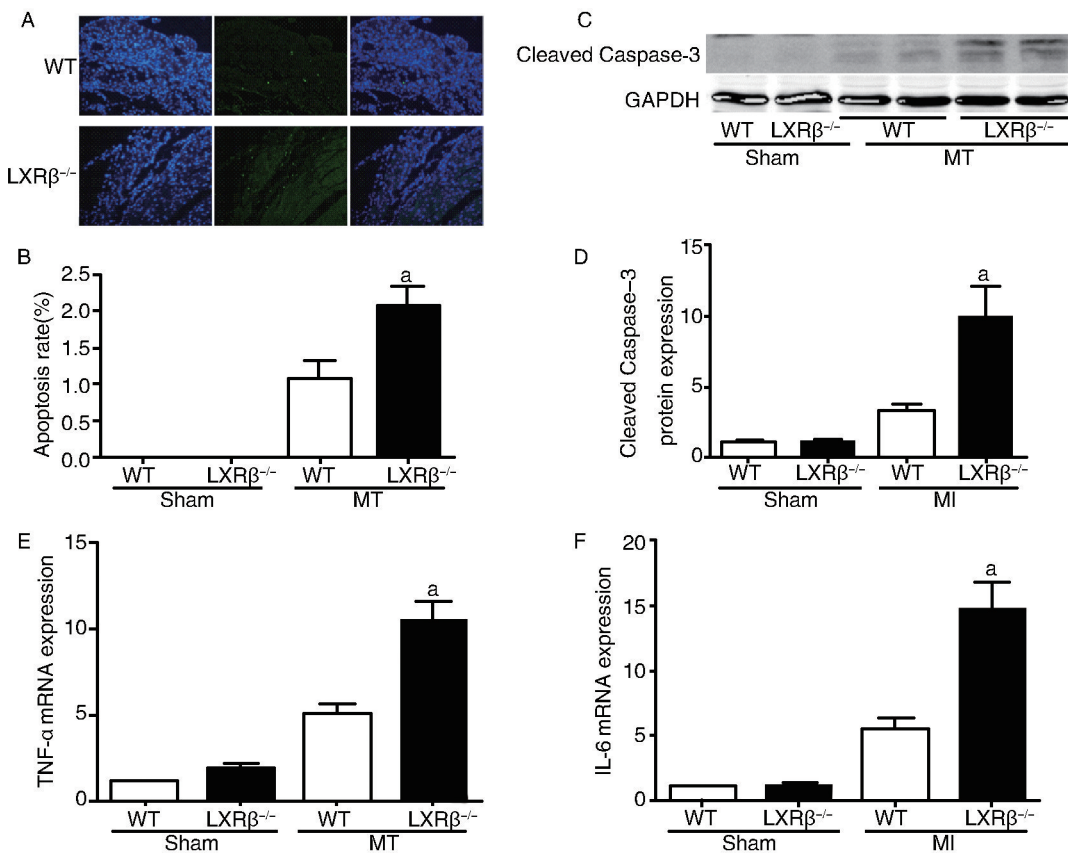


图 3. LXR β 基因敲除对 MI 后心肌细胞凋亡和炎症的影响 A 为 MI 后 3 天 TUNEL 染色 ($\times 200$): 正常心肌细胞核被 DAPI 标记呈蓝色 (左图), TUNEL 阳性的心肌细胞呈绿色 (中图), DAPI 与 TUNEL 双染 (右图); B 为心肌细胞凋亡率; C 为 Western blot 检测 MI 后 3 天两组小鼠 Cleaved Caspase-3 蛋白表达; D 为定量分析 Cleaved Caspase-3 蛋白表达情况; E、F 为 qRT-PCR 检测 MI 后 3 天促炎细胞因子 TNF- α 、IL-6 mRNA 表达。a 为 $P < 0.05$, 与 WT+MI 组比较。

Figure 3. Effects of LXR β deficiency on cardiac myocyte apoptosis and inflammation after MI

2.5 LXR β ^{-/-} 对 MI 后心肌纤维化的影响

心肌梗死后 4 周应用 Masson 染色和 α -SMA 染色评价心肌纤维化, Masson 染色结果显示 LXR β ^{-/-} 小鼠心肌纤维化面积比 WT 小鼠明显增加 (图 4A)。同时在梗死灶周围 LXR β ^{-/-} 小鼠显示出更多的 α -SMA 阳性的肌成纤维细胞 (图 4B)。我们还应用 qRT-PCR 技术检测了 I 型胶原蛋白和 MMP-9 mRNA 的表达, 术后 4 周 I 型胶原蛋白和 MMP-9 的 mRNA 表达均较 Sham 组明显增加, 而且在梗死区域 LXR β ^{-/-} 小鼠比 WT 小鼠 I 型胶原蛋白和 MMP-9 的 mRNA 表达增加更多 ($P < 0.05$; 图 4C、D)。

3 讨论

本研究发现 LXR β 基因敲除小鼠相比较 WT 小鼠显示出 MI 后加重的心力衰竭和左心室重构, 直接证明 LXR β 在缺血性心脏病中发挥着保护作用; 其通过抑制心肌细胞凋亡、炎症及心肌纤维化等发

挥着保护作用。减少 MI 后心室重构在现代心脏病学中是一项重大的挑战, 特异性激动 LXR 的药物可期用来治疗缺血性心脏病。

LXR 是细胞核受体超家族成员之一, 最初由 Willy 等于 1995 年从肝 cDNA 文库分离得到, 因其在肝中表达丰富而命名。LXR 包括两种亚型: LXR α (NR1H3) 和 LXR β (NR1H2), 二者具有高度同源性且由相同的配体所激活^[7]。此前有研究显示 LXR 在心脏中表达, 心肌缺血后 LXR 靶基因的表达增加, 给予 LXR 激动剂 GW3965 可增加小鼠心肌细胞脂滴的形成, 并减弱心肌缺血再灌注损伤^[8]。另一项动物实验研究显示, 联合应用 LXR 激动剂 T0901317 和脂肪间质干细胞通过抑制 Toll 样受体 4/核因子 κ B 信号通路以及上调 Keap-1/Nrf-2 信号通路协同改善梗死后的心脏功能^[9]。这些研究从反面部分验证了我们的实验结果。但不论 GW3965 还是 T0901317 均为非特异性 LXR 激动剂, LXR β 在 MI 后心室重构的作用及其机制仍未可

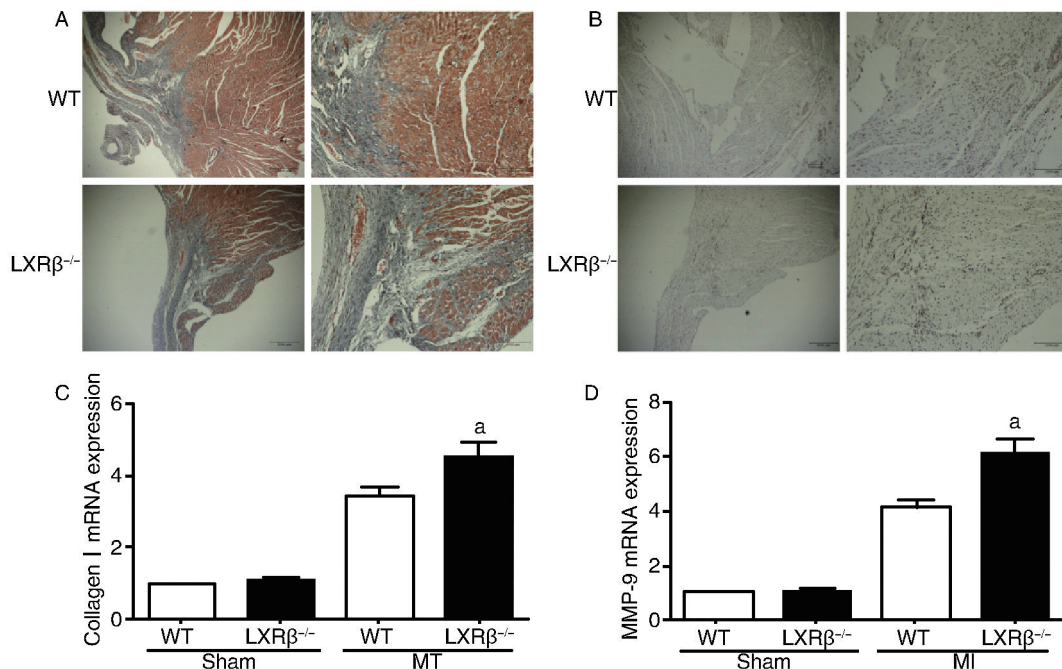


图 4. LXR β 基因敲除对 MI 后心肌纤维化的影响 A 为 MI 后 4 周 Masson 染色(左图, $\times 40$;右图, $\times 100$);B 为 MI 后 4 周 α -SMA 染色(左图, $\times 40$;右图, $\times 100$);C、D 为 qRT-PCR 检测 MI 后 4 周两组小鼠梗死区域内 I 型胶原蛋白和 MMP-9 mRNA 的表达。a 为 $P < 0.05$,与 WT+MI 组比较。

Figure 4. Effects of LXR β deficiency on myocardial fibrosis after MI

知。我们的研究对此做出了进一步的探讨。最近也有报道称激活 LXR α 而非 LXR β ,可以减轻心肌缺血再灌注损伤,其机制可能为抑制氧化和硝化应激,以及减少由内质网应激和线粒体所介导的细胞凋亡^[10]。心肌缺血再灌注损伤与 MI 为两种不同的病理生理损害,故而 LXR β 可能在其中起到不同的作用。

我们的研究表明,无论是蛋白层面还是分子层面,均显示出在梗死区域 LXR β 基因表达的上调,这表明在 MI 后心脏修复的过程中 LXR β 可能发挥着重要作用。梗死面积是衡量 MI 后心力衰竭的一个关键变量,LXR β ^{-/-} 小鼠显示出增加的梗死面积很可能与加重的左心室重构相关。左心室重构在 MI 早期有助于保护心脏的输出,但是从长远来看这一过程将导致增加的氧耗、心脏舒缩功能的损害以及心律失常的发生。归因于左心室扩张在心力衰竭进展中的重要性,左心室收缩末容积和舒张末容积比 LVEF 能更好的预测远期死亡率^[11]。我们的研究中,在 MI 后 4 周 LXR β ^{-/-} 小鼠不仅显示出 LVEF 的减低,而且 LVESD、LVEDD 均大于 WT 小鼠,证明了 LXR β 对 MI 后心功能的保护作用。

凋亡在 MI 的进展中发挥着重要作用,凋亡使心肌细胞绝对数量减少,而导致心肌收缩力下降,早期抗凋亡治疗可以减少梗死面积。LXR β 基因缺

陷小鼠 MI 后 3 天心肌细胞凋亡增加提示 LXR β 发挥着抗凋亡作用。炎症反应是 MI 后心脏修复的第一阶段,炎症因子可以诱导心肌细胞凋亡^[12],有报道称 LXR 发挥着抗炎作用^[3]。我们研究发现在 MI 后 3 天 LXR β ^{-/-} 小鼠比 WT 小鼠产生了更多的促炎因子;LXR β 的抗凋亡作用可能部分归功于其抗炎作用。

心脏纤维母细胞可增殖为梗死疤痕,分化为心肌成纤维细胞,沉积形成大量的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)^[13]。 α -SMA 的表达被认为是纤维母细胞分化为肌成纤维细胞的标志^[14],如果激活的心肌成纤维细胞在心肌存在的时间太久将导致广泛的疤痕和纤维化。我们研究发现 LXR β ^{-/-} 小鼠加重了 MI 后心肌纤维化。ECM 重构是心肌纤维化的一部分,并被认为是心力衰竭进展中一个独立的危险因素^[15]。I 型胶原蛋白是心脏 ECM 的主要组成部分,它的合成和沉积将导致心肌僵硬度的增加,最终导致心脏收缩和舒张功能不全。MMP 是心肌内的肽链内切酶;MMP-9 表达的提高与增加的胶原形成相关^[16]。我们的研究显示,MI 后 4 周梗死区域 LXR β ^{-/-} 小鼠比 WT 小鼠 I 型胶原蛋白和 MMP-9 的 mRNA 表达增加更多。

本研究仍有一些缺陷,我们所用的小鼠是系统性敲除 LXR β 基因,LXR β ^{-/-} 小鼠在慢性心力衰竭中

所表现出的一些特性有可能由 LXR α 隐匿性激活所引起。而我们前期的研究中发现 LXR α 在 MI 后心室重构过程中发挥着保护作用。目前的 LXR 激动剂几乎均为非特异性,未来研发特异性 LXR β 激动剂或许可以进一步验证本研究。

[参考文献]

- [1] Pu J, Mintz GS, Brilakis ES, et al. In vivo characterization of coronary plaques: novel findings from comparing greyscale and virtual histology intravascular ultrasound and near-infrared spectroscopy[J]. *Eur Heart J*, 2012, 33(3): 372-383.
- [2] Ma Y, Halade GV, Zhang J, et al. Matrix metalloproteinase-28 deletion exacerbates cardiac dysfunction and rupture after myocardial infarction in mice by inhibiting M2 macrophage activation[J]. *Circ Res*, 2013, 112(4): 675-688.
- [3] Jakobsson T, Treuter E, Gustafsson JA, et al. Liver X receptor biology and pharmacology: new pathways, challenges and opportunities[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2012, 33(7): 394-404.
- [4] Kuipers I, Li J, Vreeswijk-Baudoin I, et al. Activation of liver X receptors with T0901317 attenuates cardiac hypertrophy in vivo[J]. *Eur J Heart Fail*, 2010, 12(10): 1 042-050.
- [5] 石洪涛, 王颖, 张俊蒙, 等. 一种快捷小鼠心肌梗死模型的建立[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(3): 212-216.
- [6] 龙仙萍, 邓文文, 赵然尊, 等. 沉默 Nrf2 基因的骨髓间充质干细胞移植对大鼠心肌梗死后心室重构和纤维化的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2015, 23(5): 469-474.
- [7] Willy PJ, Umesono K, Ong ES, et al. LXR, a nuclear receptor that defines a distinct retinoid response pathway[J]. *Genes Dev*, 1995, 9(9): 1 033-045.
- [8] Lei P, Baysa A, Nebb HI, et al. Activation of liver X receptors in the heart leads to accumulation of intracellular lipids and attenuation of ischemia-reperfusion injury[J]. *Basic Res Cardiol*, 2013, 108(1): 323.
- [9] Wang Y, Li C, Cheng K, et al. Activation of liver X receptor improves viability of adipose-derived mesenchymal stem cells to attenuate myocardial ischemia injury through TLR4/NF-kappa B and Keap-1/Nrf-2 signaling pathways[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 21(18): 2 543-557.
- [10] He Q, Pu J, Yuan A, et al. Activation of liver-X-receptor alpha but not liver-X-receptor beta protects against myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Circ Heart Fail*, 2014, 7(6): 1 032-041.
- [11] White HD, Norris RM, Brown MA, et al. Left ventricular end-systolic volume as the major determinant of survival after recovery from myocardial infarction[J]. *Circulation*, 1987, 76(1): 44-51.
- [12] Li HL, Zhuo ML, Wang D, et al. Targeted cardiac overexpression of A20 improves left ventricular performance and reduces compensatory hypertrophy after myocardial infarction[J]. *Circulation*, 2007, 115(14): 1 885-894.
- [13] Manabe I, Shindo T, Nagai R. Gene expression in fibroblasts and fibrosis: involvement in cardiac hypertrophy[J]. *Circ Res*, 2002, 91(12): 1 103-113.
- [14] Chen W, Frangogiannis NG. Fibroblasts in post-infarction inflammation and cardiac repair[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833(4): 945-953.
- [15] Matsui Y, Ikesue M, Danzaki K, et al. Syndecan-4 prevents cardiac rupture and dysfunction after myocardial infarction[J]. *Circ Res*, 2011, 108(11): 1 328-339.
- [16] Heymans S, Lutun A, Nuyens D, et al. Inhibition of plasminogen activators or matrix metalloproteinases prevents cardiac rupture but impairs therapeutic angiogenesis and causes cardiac failure[J]. *Nat Med*, 1999, 5(10): 1 135-142.

(此文编辑 曾学清)