

p15 与 c-Myc 在 TGF- β 1 诱导的大鼠心肌细胞肥大中的表达及与 TGF/Smad 信号通路的关系

石永英¹, 卢俊江², 陈广原³, 刘世明⁴, 陈敏生⁵

(1.广州医科大学附属第一医院老年科 广州心血管病研究所,广东省广州市 510120;2.广州胸科医院神经内科,广东省广州市 510095;3.广州医科大学附属第一医院老年科,广东省广州市 510120;4.广州医科大学附属第二医院心内科 广州心血管病研究所,广东省广州市 510260;5.南方医科大学附属珠江医院心血管病实验室,广东省广州市 510515)

[关键词] 转化生长因子 β 1; 心肌细胞肥大; TGF/Smad 信号通路; p15; c-Myc

[摘要] **目的** 探讨转化生长因子 β 1(TGF- β 1)诱导的大鼠心肌细胞肥大中 Smad 信号通路及其目的蛋白 p15 的表达。**方法** 建立 TGF- β 1 诱导的体外大鼠心肌细胞肥大模型。PI 染色标记细胞双链 RNA 法检测心肌细胞 RNA 表达量,间接检测心肌细胞肥大。实时荧光定量 PCR 检测心肌细胞肥大相关基因 β 肌球蛋白重链(β -MHC)的表达。Smad2 siRNA 干扰 Smad 信号通路表达并检测其相关蛋白表达。Western blot 检测心肌细胞 p-Smad2、Smad2、Smad2/3、p15 及 c-Myc 蛋白表达。**结果** TGF- β 1 可诱导体外培养的心肌细胞肥大基因的表达, β -MHC 的表达明显高于对照组($P<0.01$)。PI 染色标记细胞双链 RNA 法检测发现,TGF- β 1 组 RNA 含量明显增高($P<0.01$),与对照组相比,TGF- β 1 可明显上调 p-Smad2、Smad2、Smad2/3 及 Smad 通路目的蛋白 p15、c-Myc 的表达($P<0.01$)。给予 Smad2 siRNA 特异性干扰后,p15 表达较 TGF- β 1 组减少($P<0.01$)。**结论** TGF- β 1 可能通过 Smad 蛋白通路诱导心肌细胞肥大形成,此过程中相关目的蛋白 p15 表达增加。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Study on p15 and c-Myc with TGF/Smad signal pathway of cardiomyocyte hypertrophy induced by TGF- β 1 in rat

SHI Yong-Ying¹, LU Jun-Jiang², CHEN Guang-Yuan³, LIU Shi-Ming⁴, CHEN Min-Sheng⁵

(1.Department of Geriatrics, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University & Guangzhou Institute of Cardiovascular Disease, Guangzhou, Guangdong 510120, China; 2.Department of Neurology, Guangzhou Chest Hospital, Guangzhou, Guangdong 510095, China; 3.Department of Geriatrics, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510120, China; 4.Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University & Institute of Cardiovascular Disease, Guangzhou, Guangdong 510260, China; 5.Institute of Cardiovascular Disease, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China)

[KEY WORDS] Transforming growth factor- β 1; Cardiomyocyte hypertrophy; TGF/Smad signal pathway; p15; c-Myc

[ABSTRACT] **Aim** To investigate pathway mechanism about transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) activated cardiomyocyte hypertrophy. **Methods** Fresh isolated neonatal rat cardiomyocytes induced by TGF- β 1 were used to examine formation of cell pathway. p-Smad2, Smad2, Smad2/3, p15 and c-Myc proteins were measured by Western blot. Cardiomyocyte hypertrophy was measured by PI staining and RNA expressions by real-time PCR. Smad signal pathway expression and it's related protein expression were induced by TGF- β 1 and siRNA interference. **Results** TGF- β 1 could induce the expression of hypertrophic gene in cultured cardiomyocytes in vitro, and the expression of β -MHC was significantly higher than that of the control group ($P<0.01$). The content of RNA in TGF- β 1 group was significantly increased by PI staining ($P<0.01$). Compared with the control group, TGF- β 1 significantly increased the expression of p15 and c-Myc in p-Smad2, Smad2, Smad2/3 and Smad pathway ($P<0.01$). The expression of p15 of Smad2 siRNA

[收稿日期] 2017-09-27

[修回日期] 2017-11-02

[基金项目] 广东省医学科学技术研究基金项目(A2016376)

[作者简介] 石永英,博士,副主任医师,研究方向为高血压左心室肥厚的预防与治疗,E-mail 为 shiyongying121@163.com。

group was less than that of TGF- β 1 group ($P < 0.01$). **Conclusion** TGF- β 1 may induce cardiomyocyte hypertrophy through the Smad protein pathway, and in this process the expression of p15 is increased.

高血压是主要的中老年慢性疾病之一。近年流行病学调查显示,我国高血压发病率逐年增高,疾病知晓率及血压控制达标率虽也逐渐增高,但总体仍处于较低的状态^[1]。高血压靶器官损伤相关疾病的发病率及致残率仍在逐年增加。高血压左心室肥厚最终导致心力衰竭,高血压相关脑血管意外是最常见的靶器官相关疾病,给患者生活质量带来明显影响,并消耗了大量医疗资源。逆转左心室肥厚及心功能异常、保护靶器官功能,是高血压防治的主要目标之一,已经成为高血压研究领域的新热点^[2]。

转化生长因子 β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) 是近年来研究较多的生长转化因子,是具有调节细胞增殖、凋亡、转化等多项功能的细胞因子^[3]。TGF- β 1 在心肌细胞及心肌成纤维细胞中均有受体表达^[4]。多项研究发现, TGF- β 1 在高血压心肌肥大中发挥作用^[5]。动物实验及人体研究显示, TGF- β 1 主要通过激活细胞内 Smad 信号通路表达功能, TGF- β /Smad 通路在细胞内还与 MAPK 等信号通路有交互作用^[6]。但是关于 TGF/Smad 通路的下游目的蛋白国内外并无相关研究报道。

本研究建立 TGF- β 1 诱导的心肌细胞肥大模型,观察 TGF- β 1 对肥大的心肌细胞 Smad 通路的作用,初步探讨 Smad 通路下游目的蛋白 p15 和 c-Myc 的表达及与心肌细胞肥大的相关性。

1 材料和方法

1.1 实验动物和试剂

1~3 天龄 SD 大鼠为实验对象。TGF- β 1 为 Calbiochem 公司产品; Trizol 总 RNA 提取试剂、RT-PCR 两步法试剂盒 Super ScriptTM III 为 Invitrogen 公司产品; RNA 引物由 TaKaRa 公司合成; SYBR Green 荧光定量 PCR 试剂盒为 Stratagene 公司产品; p-Smad、 β -actin、p15 及 c-Myc 抗体为 Cell Signal 公司产品。

1.2 实验分组

第一部分,实验分为五组,包括正常对照组、TGF- β 1 不同剂量组^[7-8](0.1 μ g/L、1 μ g/L、3 μ g/L、10 μ g/L) 观察心肌细胞肥大;第二部分,实验分六组,3 μ g/L TGF- β 1 分别作用 0 min、15 min、30 min、1 h、2 h 及 24 h 观察 Smad 信号通路相关蛋白表达及下游目的蛋白表达。

1.3 原代心肌细胞的培养

按照 Simpson 改良法^[9-10]选用 1~3 天龄 SD 大鼠, 0.25% 胰酶溶液消化心肌, 5%~15% 胎牛血清终止消化; 重复消化 12 次, 直至将组织基本消化完为止。将收集的细胞液离心, 加培养液吹打细胞成单细胞悬液接种。差速贴壁分离法使心肌成纤维细胞分离。吸出未贴壁的心肌细胞悬液, 将细胞混悬于含 5-溴脱氧尿嘧啶及 20% 胎牛血清的 DMEM 培养液中, 按 1×10^9 Cells/L 密度接种于不同细胞培养板中, 分别置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养。48 h 后更换为 10% 胎牛血清的培养液。48 h 后换无血清培养液。无血清培养 24 h 后加入药物刺激心肌细胞 0~24 h。³H-亮氨酸掺入法检测心肌细胞蛋白合成速率。倒置相差显微镜下进行心肌细胞形态学观察及鉴定^[11]。

1.4 PI 染色标记心肌细胞双链 RNA^[12-13]

PI 是一种荧光染料, 可以对双链 DNA 和 RNA 进行荧光标记。细胞经药物刺激 24 h 后用无水乙醇于 -20 $^{\circ}$ C 固定过夜; 用 DNAase 消化 DNA; 37 $^{\circ}$ C 下温育 40 min。用 D-H 液稀释 PI 染料 (0.05 g/L), 4 $^{\circ}$ C 放置 30 min。荧光倒置显微镜下观察并记录结果; Image-Pro Plus 图像分析软件分析图像结果。

1.5 real-time PCR 检测

Trizol 法经裂解、纯化、沉淀、洗涤及溶解等步骤提取总 RNA, A_{260}/A_{280} 比值为 1.8~2.0, RNA 电泳 28 S 和 18 S 两条带吸光度值比约 2:1。根据基因库中序列, 利用软件 Primer Premier 5.0 设计特异引物, β 肌球蛋白重链 (β -myosin heavy chain, β -MHC) 上游引物为 5'-TGC AGT TAA AGG TGA AGG C-3', 下游引物为 5'-CAG GGC TTC ACA GGC AT-3', 合成产物 203 bp; 内参 GAPDH 上游引物为 5'-CG-GAGTCAACGGATTTGGTGGTAT-3', 下游引物为 5'-AGC CTT CTC CAT GGT GGT GAA GAC-3', 合成产物 130 bp; 按 Super ScriptTM III 说明书进行两步法逆转录及 PCR 说明进行普通 PCR, PCR Marker 作为标准分子量参照进行产物鉴定。在 Mx3000P 荧光定量 PCR 仪上用 SYBR Green 法检测心肌细胞中各 RNA 表达。Excel 工作表分析循环阈值 (Ct 值)。mRNA 的量用内对照 GAPDH 标准化。所有 PCR 反应均重复 1 次。

1.6 Western blot 检测相关信号蛋白表达

心肌细胞用 PBS 冲洗后, 收集细胞, 用细胞裂

解液分离蛋白。Brad-Ford 法测定蛋白浓度。分别用 10% 及 5% SDS-PAGE 胶分离蛋白, 分别给予 1 : 1000 稀释的一抗和 β -actin, 4℃ 孵育过夜, 再分别用 HRP-二抗 (1 : 2000) 孵育。经化学发光法得到条带, 并用 Image pro-plus 软件系统进行定量分析。

1.7 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用方差分析及 *t* 检验。 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 原代心肌细胞培养过程中的形态学变化

倒置相差显微镜下, 刚分离的心肌细胞呈球形。培养 24 h 细胞贴壁生长, 伸出伪足呈三角形、多边形等。多数单个或成团细胞出现自发性搏动。48 h 后细胞伸出伪足相互交织成网, 逐渐形成细胞簇或细胞单层, 放射状排列的同心圆状, 搏动呈同步性。培养的心肌细胞在 3~7 天内细胞形态和细胞搏动良好 (图 1)。

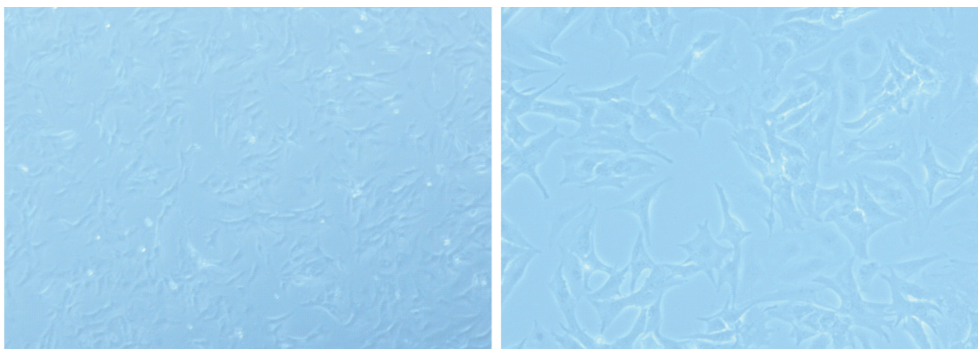


图 1. 相差显微镜下观察原代体外培养的心肌细胞第 4 天细胞形态 左图: 50×, 右图: 100×。

Figure 1. The original generation cultured myocardial cell observed under phase contrast microscope on day 4

2.2 TGF- β 1 对心肌细胞蛋白合成速率的影响

³H-亮氨酸掺入法检测心肌细胞蛋白合成速率, 不同浓度 TGF- β 1 刺激心肌细胞 24 h 后, 心肌细胞蛋白合成速率均高于对照组, 并呈剂量依赖性 (*P* <

0.01), TGF- β 1 3 μ g/L 组心肌细胞蛋白合成速率最高, 抑制 Smad2 后心肌细胞蛋白合成速率较 TGF- β 1 组明显下降 (*P* < 0.01; 图 2)。

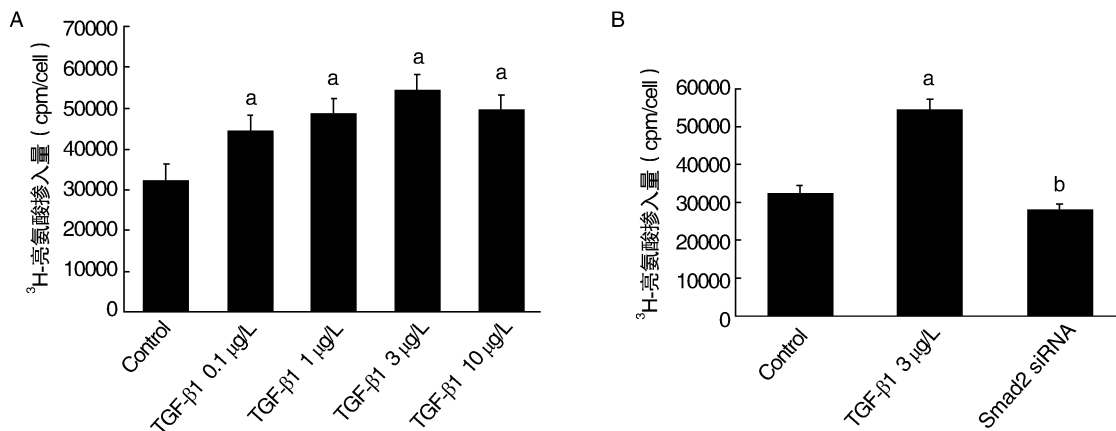


图 2. 心肌细胞中³H-亮氨酸掺入量 ($\bar{x} \pm s, n = 6$) A 为不同剂量 TGF- β 1 组心肌细胞中³H-亮氨酸掺入量比较; B 为 TGF- β 1 3 μ g/L 组与 siRNA Smad2 组心肌细胞中³H-亮氨酸掺入量比较; a 为 *P* < 0.01, 与对照组比较; b 为 *P* < 0.01, 与 TGF- β 1 3 μ g/L 组比较。

Figure 2. ³H-leucine incorporation in cardiomyocytes ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

2.3 TGF- β 1 对心肌细胞双链 RNA 含量的影响

PI 染色标记心肌细胞双链 RNA, 被标记的心肌

细胞荧光亮度增强以及面积增高增大表示细胞内 RNA 表达量高, 间接表示心肌细胞呈肥大表现。不

同浓度 TGF-β1 组心肌细胞 RNA 含量与对照组相比差异显著 ($P < 0.01$), 随着 TGF-β1 剂量的增加心肌细胞 RNA 含量逐渐增加, TGF-β1 3 μg/L 组 RNA

含量最高, 而 TGF-β1 10 μg/L 组心肌细胞 RNA 含量较 TGF-β1 3 μg/L 组有所下降 ($P < 0.01$; 图 3)。

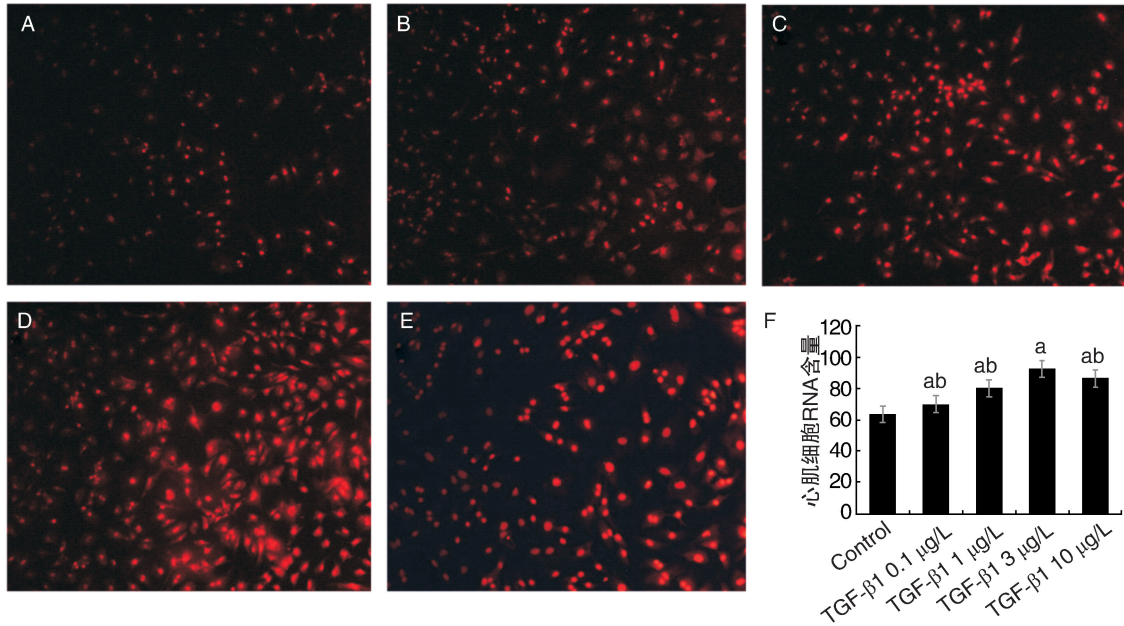


图 3. PI 染色检测心肌细胞 RNA 含量 A 为对照组, B 为 TGF-β1 0.1 μg/L 组, C 为 TGF-β1 1 μg/L 组, D 为 TGF-β1 3 μg/L 组, E 为 TGF-β1 10 μg/L, F 为不同剂量 TGF-β1 诱导后心肌细胞 RNA 含量定量分析。a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 TGF-β1 3 μg/L 组比较。

Figure 3. Detection of RNA content of cardiomyocytes by PI staining

2.4 TGF-β1 对心肌细胞 β-MHC 表达的影响

RT-PCR 检测心肌细胞肥大因子表达, 相对于对照

组, 不同浓度 TGF-β1 组 β-MHC 表达明显增高 ($P < 0.01$), 其中 TGF-β1 3 μg/L 组 β-MHC 表达最高(图 4)。

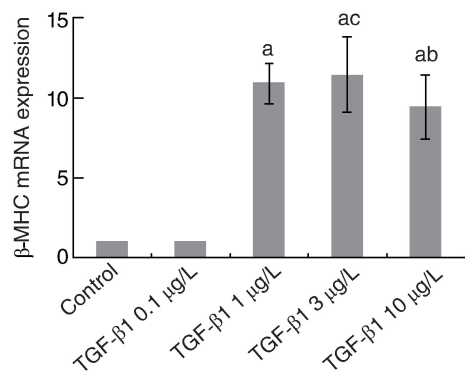
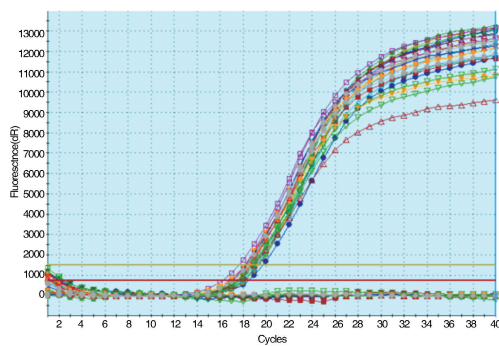


图 4. RT-PCR 检测 TGF-β1 对大鼠心肌细胞 β-MHC mRNA 表达的影响 ($n = 7$) a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 TGF-β1 3 μg/L 组比较; c 为 $P < 0.01$, 与 TGF-β1 10 μg/L 组比较。

Figure 4. Effects of TGF-β1 on the expression of β-MHC mRNA in rat cardiomyocytes by RT-PCR ($n = 7$)

2.5 TGF-β1 对心肌细胞 Smad 信号通路及其相关蛋白表达的影响

Western blot 检测心肌细胞内相关信号通路蛋白的表达, 结果显示, TGF-β1 可诱导大鼠心肌细胞 Smad2

蛋白磷酸化表达明显增加 ($P < 0.01$), 作用 2 h 其蛋白表达达峰值 ($P < 0.05$); TGF-β1 刺激后 24 h 仍有 p-Smad2 高表达, 但较 2 h 有所下降 ($P < 0.01$); Smad2/3 蛋白表达与 p-Smad2 表达趋势基本一致。结果表明, TGF-β1

可诱导心肌细胞 Smad2 磷酸化反应显著增强,Smad2/3 表达增加。同样,给予 3 μg/L TGF-β1 刺激心肌细胞后,c-Myc 蛋白表达在刺激早期即升高,作用 2 h 表达最高,24 h 表达下降($P<0.05$)。p15 蛋白在 TGF-β1 作用早期表达增加不明显,至 24 h 表达明显增加($P<0.01$;图 5)。

Smad2 siRNA 与 TGF-β1 (3 μg/L) 共孵育 2 h 及 24 h 后,p-Smad2 蛋白表达明显下降($P<0.01$)。心肌细胞蛋白合成速率与 p-Smad2 表达呈正相关($r=0.899,P=0.014$;图 6),提示心肌细胞蛋白合成

速率与 p-Smad2 的表达有一定的相关性。

Smad2 siRNA 与 TGF-β1 (3 μg/L) 共孵育 2 h 后,c-Myc、p15 蛋白表达较 TGF-β1 组无明显改变($P>0.05$);Smad2 siRNA 与 TGF-β1 (3 μg/L) 共孵育 24 h 后,p15 蛋白表达与对照组相比无明显升高($P>0.05$),与 TGF-β1 组相比明显减少($P<0.01$),而 c-Myc 蛋白表达与 TGF-β1 组相比无明显改变($P>0.05$)。p-Smad2 与 p15 蛋白表达呈正相关($r=0.886,P=0.045$;图 7),提示 p15 蛋白表达与 Smad 信号通路的表达有一定的相关性。

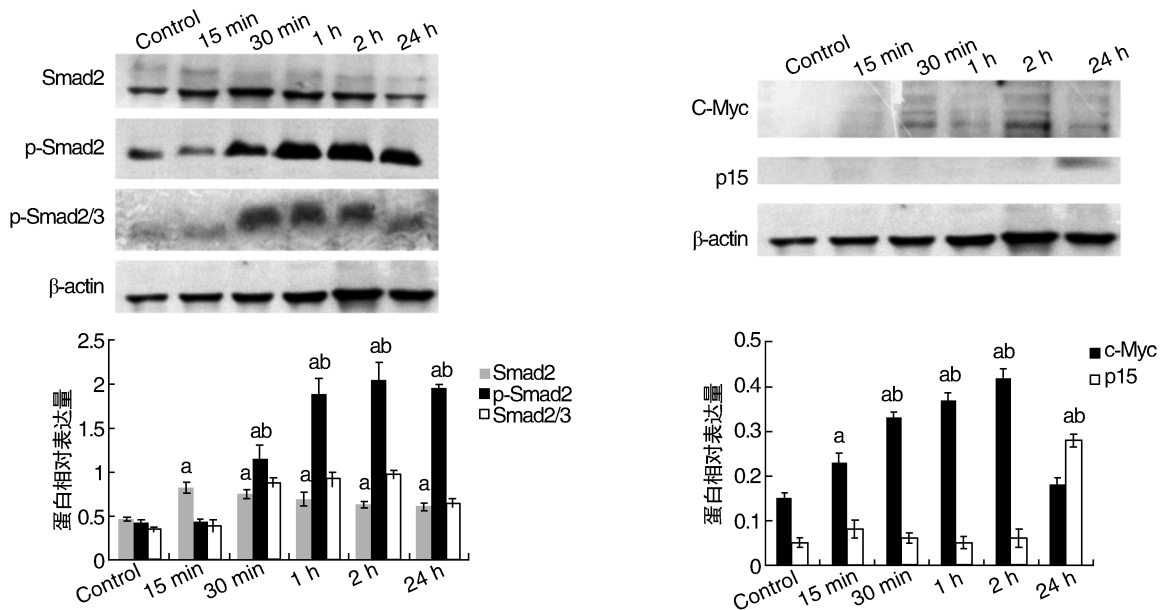


图 5. TGF-β1 对 Smad 信号通路蛋白表达的影响及下游目的蛋白 c-Myc、p15 的表达 ($n=7$) a 为 $P<0.01$,与对照组比较;b 为 $P<0.05$,与作用 15 min 组比较。

Figure 5. The effect of TGF-β1 on the expression of Smad signal pathway protein and the expression of the downstream target protein c-Myc and p15 ($n=7$)

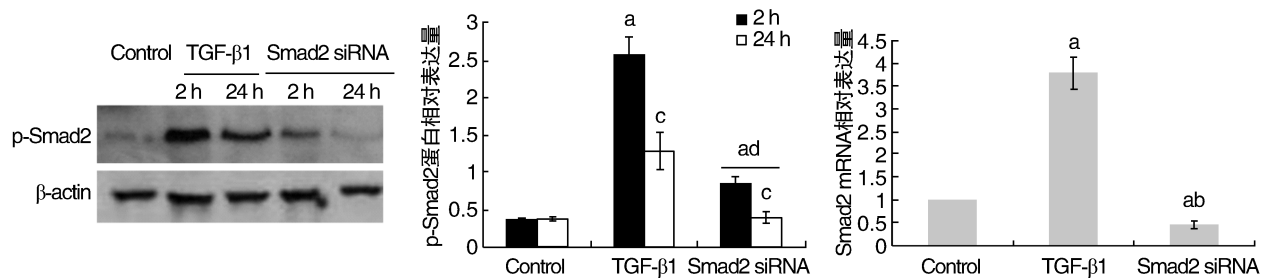


图 6. Smad2 siRNA 干扰后 Smad2、p-Smad2 的表达 ($n=7$) a 为 $P<0.01$,与对照组比较;b 为 $P<0.01$,与 TGF-β1 组比较;c 为 $P<0.01$,与 TGF-β1 作用同时段比较;d 为 $P<0.01$,与 2 h 组比较。

Figure 6. Expression of Smad2 and p-Smad2 after Smad2 siRNA interference ($n=7$)

3 讨论

TGF-β1 在心脏心肌细胞、成纤维细胞中均有表达。体外实验发现,TGF-β1 对心肌细胞的效应完全

类似于慢性左心室心肌纤维化、肥厚、衰竭、重塑的病理生理过程^[14]。TGF-β1 可引起高血压心肌细胞肥大^[15],但具体作用机制并不明确。TGF-β1 在血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 诱导的心肌肥大

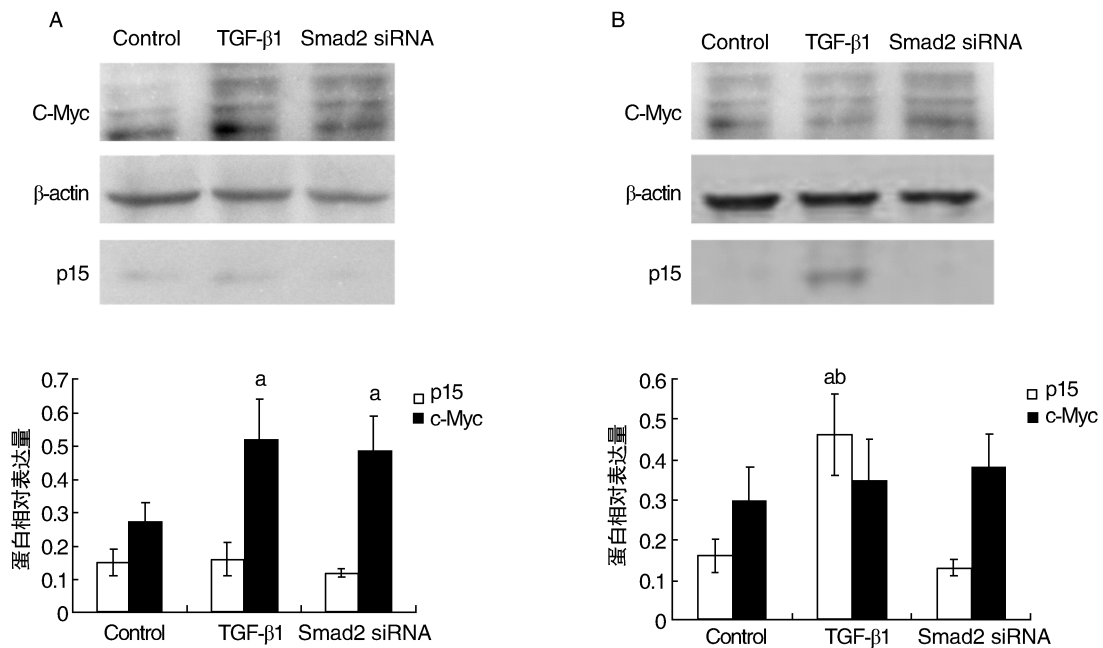


图 7. Smad2 siRNA 干扰后 TGF- β 1 对 Smad 通路下游目的蛋白 c-Myc、p15 表达的影响 ($n=7$) A 为 Smad2 siRNA 干预 2 h, B 为 Smad2 siRNA 干预 24 h. a 为 $P<0.01$, 与对照组比较; b 为 $P<0.01$, 与 Smad2 siRNA 组比较。

Figure 7. Effect of TGF- β 1 on the expression of the downstream target protein c-Myc and p15 after Smad2 siRNA interference ($n=7$)

在心肌细胞增殖及细胞外基质纤维化中均有作用^[16-17], 本课题组前期实验发现 TGF- β 1 可直接诱导心肌细胞肥大^[18], 且与给药浓度有一定的相关性^[19]。TGF- β 1 通过激活心肌细胞 Smad 信号通路激活下游目的蛋白表达, 使心肌细胞表现肥大表型。

左心室肥厚是一个适应性重塑的过程, 是各种诱因作用下心肌细胞一系列基因表达的结果。心肌细胞肥大时从成熟的“收缩状态”向“胚胎型合成状态”转化, 此时心肌细胞 β -MHC 表达明显增多^[20]。癌基因表达过盛则是左心室肥厚病理过程中的表现之一^[21]。原癌基因存在于正常心肌细胞, 在生长和发育过程中都有表达, 为心脏发育所必须。抑癌基因在诱导因素作用下也可在心肌细胞中激活, 并在细胞生长发育过程中异常表达。高血压、动脉粥样硬化、心肌肥厚的发生不仅与原癌基因 c-jun、c-fos、c-Myc 等的激活有密切的关系, 而且与抑癌基因 p53、p15、p16 等结构和表达异常有关^[22]。机械牵张能诱发释放 Ang II、TGF- β 1 等因子, 可通过不同信号通路诱导产生核内信号以增加原癌基因表达, 并可能通过激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 直接诱发原癌基因表达^[23]。将大鼠主动脉结扎造成后负荷增加, c-Myc 和 c-fos 癌基因转录增加, 心肌细胞开始增殖肥大, 说明癌基因参与心肌肥厚的形成^[24]。因此, 超负荷时原癌基因的

激活可能是心室肥厚结构重建的始动因素。

c-Myc 是位于染色体 8q24 位点的永生性细胞原癌基因, 其编码的核蛋白通过与核蛋白 Mx1 形成二聚体结合特异的 DNA 激活靶基因转录^[25]。去甲肾上腺素、Ang II 诱导的心肌细胞培养液中, c-Myc、c-jun、c-fos 等原癌基因表达迅速加强, 蛋白质合成增加, 诱导心肌细胞肥大。自发性高血压大鼠颈动脉组织中抑癌基因 p53 和原癌基因 c-Myc 也均有高表达, 显示癌基因的活化可能与自发性高血压大鼠颈动脉血管重构有关^[26]。研究表明, 下调 c-Myc 导致细胞生长受到限制。本研究结果发现, c-Myc 在 TGF- β 1 诱导早期蛋白表达增加, 但后期表达下降, Smad 抑制后 c-Myc 表达无明显改变, 表明 c-Myc 可能参与 TGF- β 1 诱导的心肌细胞肥大作用, 但具体机制并不明确。

p15 是定位于染色体 9P21 区的抑癌基因^[27], 其编码的蛋白与周期素依赖性蛋白激酶 4 (cyclin-dependent kinase-4, CDK4) 或 Cyclin-CDK 复合物结合, 抑制 CDK4/6 活性, 阻止 Rb 高磷酸化, 阻止细胞 DNA 合成, 从而抑制细胞增殖, 使细胞周期 G1/S 期转换停滞, 对细胞周期起负调控作用。p15 与 p16 基因有 93% 的同源性, 而 p16 是细胞老化的标志之一^[28], 老年大鼠大于 80% 的心肌细胞表达 p16, 端粒体的长度与老化程度呈反比。研究表明, TGF- β 1

可诱导 p15 基因的表达^[29]。p15 表达增加是否与细胞肥大有关, TGF- β 1 对它的诱导是否通过特异途径表达有待在心肌细胞中的实验研究。本研究通过 TGF- β 1 诱导心肌细胞肥大及 Smad2 siRNA 特异性抑制 Smad 信号通路后检测 p15 蛋白表达, 结果发现 p15 蛋白在 TGF- β 1 诱导后期表达增加, 抑制 Smad 信号通路后无明显增加, 结果表明 p15 蛋白可能作为 Smad 的下游目的蛋白参与心肌细胞肥大。

TGF- β 1 可以阻止 c-Myc 与 Inr 结构结合, 诱导 Miz-1 与 Smad 形成复合物结合于该位点而激活 p15 基因转录^[30]。非 Inr 激活途径, 即 Smad2、Smad3 则与核转录因子 Sp1 形成复合物结合于 p15 基因启动子 Smad-Sp1 结合位点激活转录^[31]。在 c-Myc 对 p15 基因启动子抑制中 Smad2/c-Myc 复合物作用稳定。TGF- β /Smad 的以上作用是否在心肌细胞发生有待实验研究证实。

TGF- β 1 在心肌细胞中可通过 Smad 信号通路的活化表达产生多种作用, TGF- β /Smad、c-Myc、p15 也可能参与了心肌细胞肥大过程的调控。本研究发现 TGF- β 1 诱导的心肌细胞中 p15、c-Myc 的表达均升高, c-Myc 在 TGF- β 1 的刺激下随 Smad 的表达早期表达升高, p15 则在刺激后期才出现蛋白表达, 而特异性抑制 Smad2 后 p15 表达下降。因此, p15 和 c-Myc 的增高可能与 TGF- β 1/Smad 信号通路的诱导有关。本研究结果显示, 早期 c-Myc 随 TGF- β 1 刺激表达升高, 发挥抑制生长的作用, 促进细胞肥大; c-Myc 形成 Smad2/c-Myc 复合物抑制 p15 表达。p15 在 TGF- β 1 作用的后期蛋白表达增加, 推测随着 c-Myc 蛋白表达下降, 对 p15 的抑制降低, 而 TGF- β 1 刺激因素仍存在的条件下 p15 蛋白表达增加。激活的癌基因在心肌细胞肥大中的具体作用有待于进一步研究。

大量实验证据表明, TGF- β /Smad 信号通路在心肌肥厚中发挥重要作用, 本研究也发现细胞通路可能最终通过下游目的蛋白的表达调控细胞功能。随着对 TGF- β /Smad 通路及其目的蛋白的深入研究, 通过特异性抑制剂阻断肥大信号的传递, 阻止心肌肥厚及心力衰竭的发生发展, 为高血压靶器官疾病的防治提供新的思路和方法。

[参考文献]

- [1] 赵秀丽, 陈捷, 崔艳丽, 等. 中国 14 省市高血压现状的流行病学研究[J]. 中华医学杂志, 2006, 86(116): 148-152.
- [2] Reibis RK, Huber M, Karoff M, et al. Target organ damage

and control of cardiovascular risk factors in hypertensive patients. Evidence from the multicenter Esther registry [J]. Herz, 2015, 40(Suppl 2): 209-216.

- [3] Gonzalez W, Chen Z, Deborah H, et al. Transforming growth factor-beta regulation of endothelin expression in rat vascular cell and organ cultures[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2001, 37(20): 219-266.
- [4] Calvet CM, Silva TA, DE Melo TG, et al. TGF- β receptor type II costameric localization in cardiomyocytes and host cell TGF- β response is disrupted by Trypanosoma cruzi infection[J]. Parasitology, 2016, 143(6): 704-715.
- [5] Stephan R. TGF- β 1 and angiotensin networking in cardiac remodeling[J]. Cardiovasc Res, 2004, 63: 423-432.
- [6] Funaba M, Zimmerman CM, Mathews LS. Modulation of Smad2-mediated signaling by extracellular signal-regulated kinase[J]. J Biol Chem, 2002, 277(44): 41361-368.
- [7] Blaufarb IS, Sonnenblick EH. The renin-angiotensin system in left ventricular remodeling[J]. Am J Cardiol, 1996, 77: 8-16.
- [8] Rosendorff C. The renin-angiotensin system and vascular hypertrophy[J]. J Am Coll Cardiol, 1996, 28: 803-812.
- [9] Simpson P, Savion S. Differentiation of rat myocytes in single cell cultures with and without proliferating nonmyocardial cells. Cross-striations, ultrastructure, and chronotropic response to isoproterenol[J]. Circ Res, 1982, 50(1): 101-116.
- [10] 陈爱兰, 陈敏生, 何兆初, 等. 伊贝沙坦对血管紧张素 II 所致心肌细胞蛋白质合成和肌球蛋白重链表达的影响[J]. 现代临床医学生物工程学杂志, 2006, 12(6): 475-477.
- [11] 邸美仙, 李应东. 乳鼠心肌细胞的培养[J]. 中医药学刊, 2007, 25(3): 474-475.
- [12] 刘继东, 鹿克风, 张欣, 等. 自发性高血压大鼠心肌 fas 基因表达与左室肥厚关系探讨[J]. 高血压杂志, 2003, 11(3): 272-274.
- [13] Frankfurt OS. Flow cytometry analysis of double-stranded RNA content distributions [J]. J Histochem Cytochem, 1980, 28(7): 663-698.
- [14] Dobaczewski M, Chen W, Frangogiannis NG. Transforming growth factor TGF- β signaling in cardiac remodeling[J]. J Mol Cell Cardiol, 2011, 51(4): 600-606.
- [15] Purnomo Y, Piccart Y, Coenen T, et al. Oxidative stress and transforming growth factor- β 1-induced cardiac fibrosis [J]. Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets, 2013, 13(2): 165-172.
- [16] Heger J, Schulz R, Euler G. Molecular switches under TGF- β signalling during progression from cardiac hypertrophy to heart failure[J]. Br J Pharmacol, 2016, 173(1): 3-14.
- [17] 刘彦彬, 黄蕾, 张英杰, 等. 氯膦酸二钠脂质体改善

- 高血压小鼠血管内皮细胞功能及心肌肥厚[J]. 中国动脉硬化杂志, 2017, 24(4): 325-331.
- [18] 石永英, 董 颀, 陈敏生, 等. TGF- β 1 对体外培养的大鼠心肌细胞肥大和凋亡的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25(4): 802-805.
- [19] Zeglinski MR, Roche P, Hnатовich M, et al. TGF β 1 regulates Scleraxis expression in primary cardiac myofibroblasts by a Smad-independent mechanism[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2016, 310(2): 239-249.
- [20] Morkin E. Regulation of myosin heavy chain genes in the heart[J]. Circulation, 1993, 87: 1 451-453.
- [21] Arezoo D, Anna B, Max G, et al. Multikinase inhibitor sorafenib prevents pressure overload-induced left ventricular hypertrophy in rats by blocking the c-Raf/ERK1/2 signaling pathway[J]. J Cardiothorac Surg, 2014, 9: 81-89.
- [22] Wang H, Lai Y, Mathis BJ, et al. Deubiquitinating enzyme CYLD mediates pressure overload-induced cardiac maladaptive remodeling and dysfunction via downregulating Nrf2[J]. J Mol Cell Cardiol, 2015, 84: 143-153.
- [23] Mishra S, Vinayak M. Ellagic acid checks lymphoma promotion via regulation of PKC signaling pathway[J]. Mol Biol Rep, 2013, 40(2): 1 417-428.
- [24] Ning AM, Davis RJ. Targeting JNK for therapeutic benefit: from junk to gold[J]. Nat Rev Drug Discov, 2003, 2(7): 554-565.
- [25] Prochowik EV. c-Myc: linking transformation and genomic instability[J]. Curr Mol Med, 2008, 8(6): 446-458.
- [26] De Simone G, Pasanisi F, Contaldo F, et al. Link of non-hemodynamic factors to hemodynamic determinants of left ventricular hypertrophy[J]. Hypertension, 2001, 38(1): 13-18.
- [27] Linda W, Juraj B. p15Ink4b functions in determining hematopoietic cell fates: Implications for its role as a tumor suppressor [J]. Blood Cells Mol Dis, 2013, 50(4): 227-231.
- [28] Yu KR, Kang KS. Aging-related genes in mesenchymal stem cells: a mini-review [J]. Gerontology, 2013, 59(6): 557-563.
- [29] Alotaibi MK, Kitase Y, Shuler CF. Smad2 overexpression reduces the proliferation of the junctional epithelium[J]. J Dent Res, 2014, 93(9): 898-903.
- [30] Bian J, Li B, Zeng X, et al. Mutation of TGF- β receptor II facilitates human bladder cancer progression through altered TGF- β 1 signaling pathway[J]. Int J Oncol, 2013, 43(5): 1 549-559.
- [31] Ellenrieder V. TGF beta regulated gene expression by Smads and Sp1/KLF-like transcription factors in cancer [J]. Anticancer Res, 2008, 28(3A): 1 531-539.
- (此文编辑 文玉珊)

• 读者 • 作者 • 编者 •

作者声明

发表在本刊 2018 年第 26 卷第 2 期第 157 页《RNA 干扰下调 ACE 和 AT1R 对自发性高血压大鼠血压及脑组织损伤的影响》一文为山西省卫生厅科技攻关项目(200933)。