

本文引用: 卢振华, 沈静, 黄文军, 等. SIRT6 过表达激活 AMPK/Nrf2/HO-1 通路抑制 Ang II 诱导的心肌细胞凋亡[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(8): 663-668, 676. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.08.003.

[文章编号] 1007-3949(2024)32-08-0663-07

· 实验研究 ·

SIRT6 过表达激活 AMPK/Nrf2/HO-1 通路抑制 Ang II 诱导的心肌细胞凋亡

卢振华¹, 沈静², 黄文军¹, 孙伟³, 马勇翔¹

1. 南京医科大学附属江苏盛泽医院心血管内科, 江苏省苏州市 215200; 2. 河南省胸科医院(郑州大学附属胸科医院), 河南省郑州市 450000; 3. 南京医科大学第一附属医院, 江苏省南京市 210000

[摘要] [目的] 探讨沉默调节蛋白 6(SIRT6)过表达抑制血管紧张素 II(Ang II)诱导的心肌细胞凋亡是否涉及腺苷酸活化蛋白激酶/核因子 E2 相关因子 2/血红素加氧酶 1(AMPK/Nrf2/HO-1)信号通路的激活。[方法] 将实验分为 4 组: 对照组、Ang II 组、Ang II+SIRT6 组和 Ang II+空载体(EV)组, 通过 RT-PCR 检测 SIRT6 的 mRNA 水平, MTT 法检测细胞活性, 流式细胞术检测细胞凋亡率, Western blot 检测 SIRT6、心肌细胞凋亡相关蛋白(Bax、cleaved Caspase-3、Bcl-2)、DNA 损伤相关蛋白(γ -H2AX、p-ATM)及 AMPK/Nrf2/HO-1 信号通路相关蛋白(p-AMPK、Nrf2、HO-1)的表达水平, DCFH-DA 染色法测定活性氧(ROS)含量, 比较各组间上述指标的变化情况。[结果] 与对照组相比, Ang II 组 SIRT6 的 mRNA、蛋白表达水平及细胞活性明显降低, 细胞凋亡率增高, Bax、cleaved Caspase-3 表达升高, Bcl-2 表达降低, γ -H2AX、p-ATM 蛋白表达升高, p-AMPK、Nrf2、HO-1 蛋白表达降低, ROS 活性增高(均 $P < 0.01$)。与 Ang II+EV 组相比, Ang II+SIRT6 组 SIRT6 水平及细胞活性增高, 细胞凋亡及 Bax、cleaved Caspase-3 表达降低, Bcl-2 表达升高, γ -H2AX、p-ATM 蛋白表达降低, p-AMPK、Nrf2、HO-1 蛋白表达升高, ROS 的活性降低(均 $P < 0.01$)。[结论] SIRT6 过表达抑制 Ang II 诱导的心肌细胞凋亡与 AMPK/Nrf2/HO-1 信号通路的激活有关。

[关键词] 沉默调节蛋白 6; 腺苷酸活化蛋白激酶/核因子 E2 相关因子 2/血红素加氧酶 1; 氧化应激; DNA 损伤; 细胞凋亡

[中图分类号] R5; R363

[文献标识码] A

SIRT6 overexpression inhibits Ang II-induced cardiomyocyte apoptosis by activating AMPK/Nrf2/HO-1 pathway

LU Zhenhua¹, SHEN Jing², HUANG Wenjun¹, SUN Wei³, MA Yongxiang¹

1. Cardiovascular Department, the Affiliated Jiangsu Shengze Hospital of Nanjing Medical University, Suzhou, Jiangsu 215200, China; 2. Henan Provincial Chest Hospital & Chest Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450000, China; 3. The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210000, China

[ABSTRACT] **Aim** To investigate whether SIRT6 overexpression inhibits angiotensin II (Ang II)-induced cardiomyocyte apoptosis by activating adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase/nuclear factor erythroid 2-related factor 2/heme oxygenase-1 (AMPK/Nrf2/HO-1) signaling pathway. **Methods** The experiment was divided into 4 groups: control group, Ang II group, Ang II+SIRT6 group, Ang II+empty vector (EV) group. The mRNA level of SIRT6 was detected by RT-PCR. The cell activity was measured by MTT assay. The cell apoptosis was analyzed by flow cytometry. SIRT6, cardiomyocyte apoptosis related proteins (Bax, cleaved Caspase-3, Bcl-2), DNA damage related proteins (γ -H2AX, p-ATM), AMPK/Nrf2/HO-1 signaling pathway related proteins (p-AMPK, Nrf2, HO-1) were measured by Western blot. The reactive oxygen species (ROS) content was determined by DCFH-DA staining. The changes of the above indexes among the groups were observed. **Results** Compared with control group, the mRNA and protein expression levels of SIRT6 and cell activity were significantly decreased in Ang II group. Apoptosis rate, the expressions of

[收稿日期] 2023-09-18

[修回日期] 2024-02-20

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82270362); 苏州市“科教兴卫”青年科技项目(KJXW2020076)

[作者简介] 卢振华, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向为心肌细胞凋亡机制的研究, E-mail: luzhac@163.com。通信作者马勇翔, 硕士, 副主任医师, 研究方向为心肌细胞凋亡机制的研究, E-mail: 260525867@qq.com。

Bax, cleaved Caspase-3 were increased, and the expression of Bcl-2 was decreased. The expressions of γ -H2AX and p-ATM were increased, and the expressions of p-AMPK, Nrf2, HO-1 were decreased. The activity of ROS was increased ($P < 0.01$). Compared with Ang II +EV group, the expression of SIRT6 and cell activity were significantly increased in Ang II +SIRT6 group. Apoptosis rate, the expressions of Bax and cleaved Caspase-3 were decreased, and the expression of Bcl-2 was increased. The expressions of γ -H2AX and p-ATM were decreased, the expressions of p-AMPK, Nrf2, HO-1 were increased. The activity of ROS was decreased ($P < 0.01$). **Conclusion** SIRT6 overexpression inhibits Ang II-induced cardiomyocyte apoptosis through activation of AMPK/Nrf2/HO-1 signaling pathway.

[**KEY WORDS**] recombinant sirtuin 6; adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase/nuclear factor erythroid 2-related factor/heme oxygenase-1; oxidative stress; DNA injury; apoptosis

随着经济的发展、人口老龄化的加剧,心血管疾病的发病率呈逐年增高的趋势。心肌肥大是心脏对外来刺激如高血压、心肌缺血、瓣膜性心脏病等的一种重塑反应,持续性肥大可增加心力衰竭、恶性心律失常、猝死的风险。近年来,沉默调节蛋白6(recombinant sirtuin 6, SIRT6)已被证实是心血管疾病的重要调节因子。SIRT6作为一种烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性蛋白脱乙酰酶,在调节心血管功能、能量代谢和衰老方面起关键作用^[1]。SIRT6缺陷小鼠表现出严重低血糖和多系统衰老表型,在出生后约4周就死亡^[2],而SIRT6过表达可使小鼠寿命增加。SIRT6可以保护心脏免受压力超负荷肥大和糖尿病心肌病的影响。SIRT6也是一种应激反应蛋白和细胞保护蛋白,能缓解各种细胞应激下的氧化应激和细胞凋亡。SIRT6可通过调节缺氧诱导因子1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)、激活蛋白1(activator protein-1, AP-1)和核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)的活性并抑制炎症细胞因子的表达,从而阻断与衰老相关的炎症反应^[3]。SIRT6是心肌肥大的负调节因子,通过靶向控制胰岛素样生长因子/丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶(insulin-like growth factor/serine-threonine kinase, IGF/AKT)信号通路抑制心脏肥大,延缓心力衰竭的发展^[4]。心力衰竭患者的心肌样本和心脏肥大的小鼠模型中SIRT6表达下调。心脏中SIRT6特异性缺失导致线粒体变形、脂肪累积,从而使心脏肥大和纤维化^[5],SIRT6过表达小鼠可被保护免于发生压力负荷性心脏肥大。

现有研究发现^[6-7],SIRT6可抑制心肌细胞凋亡,保护心肌细胞病理性心肌肥大和纤维化进展,延缓心力衰竭的发展。但SIRT6抑制心肌细胞凋亡、保护心肌细胞的具体机制尚不清楚。本研究通过Ang II诱导心肌细胞凋亡^[8],过表达SIRT6干预Ang II作用的心肌细胞,观察SIRT6过表达对心肌细胞凋亡的影响,探究SIRT6对心肌细胞保护作用的具体分子机制。

1 材料和方法

1.1 主要材料与试剂

H9c2大鼠源心肌细胞购自上海细胞生物研究所;兔单克隆抗体 anti-SIRT6、anti-Bax、anti-Bcl-2和 anti-cleaved Caspase-3(Abcam), anti-H2AX、anti- γ -H2AX、anti-ATM、anti-p-ATM、anti-AMPK、anti-p-AMPK、anti-Nrf2、anti-HO-1和 anti-GAPDH (CST); HRP 标记山羊抗兔 IgG 抗体(碧云天公司);SIRT6质粒及相应的空白对照质粒由上海吉凯基因设计合成;Lipofectamine 3000转染试剂盒(Thermo)及RIPA细胞裂解液、BCA蛋白浓度测定试剂盒和ECL化学发光检测试剂盒(碧云天公司);FTTC-Annexin V/PI细胞凋亡试剂盒(南京凯基生物技术公司);总RNA提取试剂(Trizol)、cDNA合成试剂盒和DNA引物(上海生工);SYBR Premix EX Taq试剂盒(Thermo);DCFH-DA荧光试剂盒(碧云天公司);AMPK抑制剂Compound C(CC)(Selleck chemicals)。

1.2 心肌细胞培养和分组

H9c2心肌细胞于5% CO₂、37℃培养箱内培养。使用1 μ mol/L的Ang II作用心肌细胞48 h。根据Lipofectamine 3000转染试剂盒构建SIRT6过表达H9c2细胞系。实验分为对照组(Control组)、模型组(Ang II组)、SIRT6过表达组(Ang II +SIRT6组)和阴性对照组[Ang II +空载体(empty vector, EV)组]。在腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK)抑制剂CC干预实验中,将实验分为:对照组、Ang II组、Ang II +SIRT6组、Ang II +SIRT6+CC组。Ang II +SIRT6+CC组在Ang II诱导前先使用20 μ mol/L的CC预处理H9c2心肌细胞2 h。

1.3 实时荧光定量PCR

按照总RNA提取试剂Trizol说明书步骤提取总RNA,用反转录试剂盒将总RNA反转录为cDNA,采用SYBR Premix EX Taq试剂盒进行实时荧光定量PCR检测。

1.4 Western blot

细胞裂解液裂解细胞提取细胞总蛋白,定量后进行 SDS-PAGE 电泳。而后将蛋白转移至 PVDF 膜上,5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h,孵育一抗过夜,孵育二抗 1 h,加入 ECL 发光液发光显色,以 GAPDH 为内参,Image J 软件对条带进行灰度分析。

1.5 流式细胞术检测细胞凋亡

收集培养 1 天后的各组细胞,PBS 洗涤细胞,离心后弃上清,加入结合缓冲液、Annexin V-FITC 溶液、PI 溶液 5 μL ,于室温下结合反应。再加入结合缓冲液混合后,用流式细胞仪检测心肌细胞凋亡变化。

1.6 MTT 法检测细胞活性

收集细胞接种于 96 孔板中,根据实验分组处理细胞后加入 10 μL 的 MTT,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 4 h,弃上清,加入甲醇,在高通量多功能微板测试系统波长 570 nm 下测定每孔的吸光度。

1.7 活性氧含量测定

DCFH-DA 染色法测定活性氧(reactive oxygen species,ROS)的生成。细胞中加入 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 DCFH-DA 避光孵育 30 min,PBS 洗涤 3 次,测定荧光强度表示活性氧含量。

1.8 统计学方法

使用 SPSS 21.0 统计软件,计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表

示,组间比较采用 *t* 检验和方差分析, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SIRT6 在心肌细胞中的作用

不同浓度梯度(0.5、1、2 $\mu\text{mol/L}$)的 Ang II 分别作用于心肌细胞 48 h,与 0 $\mu\text{mol/L}$ 组相比,细胞活性分别降低了 16.57%、46.69%、74.80%,SIRT6 表达分别降低了 47.16%、67.58%、84.12% (均 $P<0.01$,图 1A)。1 $\mu\text{mol/L}$ 的 Ang II 分别作用心肌细胞 24、48 和 72 h,与 0 h 组相比,细胞活性分别降低了 20.57%、44.69%、81.76%,SIRT6 表达分别降低了 27.73%、68.24%、76.64% (均 $P<0.01$,图 1B)。

在 Ang II 组心肌细胞中,细胞活性、SIRT6 的蛋白及 mRNA 表达水平较对照组分别降低 48.77%、75.76%、69.42% (均 $P<0.01$);Ang II +SIRT6 组的细胞活性、SIRT6 的蛋白及 mRNA 表达水平较 Ang II +EV 组分别增加 0.71 倍、4.42 倍、7.62 倍 (均 $P<0.01$,图 1C、D)。结果提示 SIRT6 参与调节 Ang II 诱导的心肌细胞活性降低。

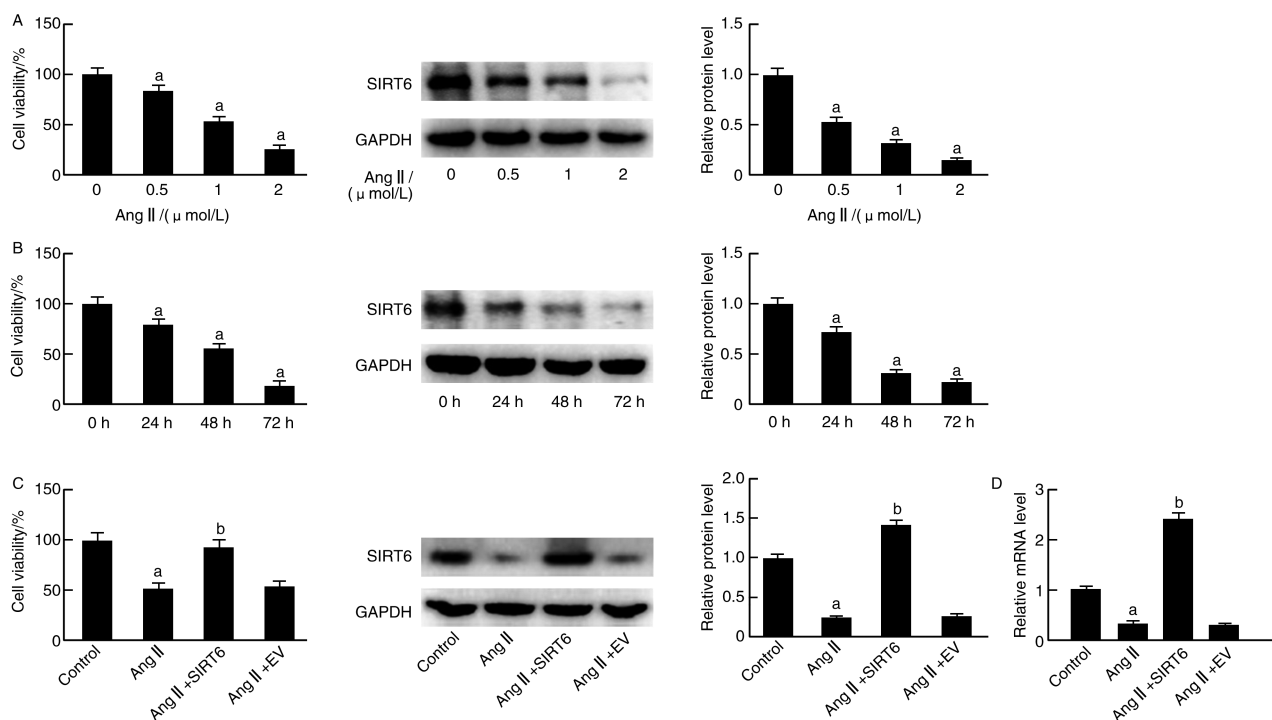


图 1. Ang II 对心肌细胞活性的影响及 SIRT6 的作用 ($n=6$)

A 为不同浓度梯度(0.5、1、2 $\mu\text{mol/L}$)的 Ang II 作用心肌细胞 48 h 细胞活性及 SIRT6 蛋白表达情况;B 为 1 $\mu\text{mol/L}$ 的 Ang II 作用心肌细胞不同时间(24、48 和 72 h)后细胞活性及 SIRT6 蛋白表达情况;C 为 SIRT6 过表达对心肌细胞活性的影响及不同组间 SIRT6 的蛋白表达情况;D 为不同组间 SIRT6 的 mRNA 表达情况。a 为 $P<0.01$,与对照组比较;b 为 $P<0.01$,与 Ang II +EV 组比较。

Figure 1. Effects of Ang II on cardiomyocyte activity and the role of SIRT6 ($n=6$)

2.2 SIRT6 在心肌细胞凋亡中的调控作用

流式细胞术检测结果显示, Ang II 组细胞凋亡率较对照组增加 2.24 倍, Ang II +SIRT6 组细胞凋亡率较 Ang II +EV 组降低 59.30% ($P < 0.01$, 图 2A)。通过 Western blot 检测凋亡相关蛋白的表达, 结果显示 Ang II 组凋亡蛋白 Bax、cleaved Caspase-3 的表达较对照组分别升高 5.58 倍、3.30 倍, 凋亡抑制蛋白

Bcl-2 的表达降低 71.90% (均 $P < 0.01$); Ang II + SIRT6 组 Bax、cleaved Caspase-3 的表达较 Ang II +EV 组分别降低了 40.31%、29.33%, Bcl-2 的表达升高 1.40 倍 (均 $P < 0.01$, 图 2B)。这些结果表明, SIRT6 的过表达可减弱 Ang II 诱导的心肌细胞凋亡。

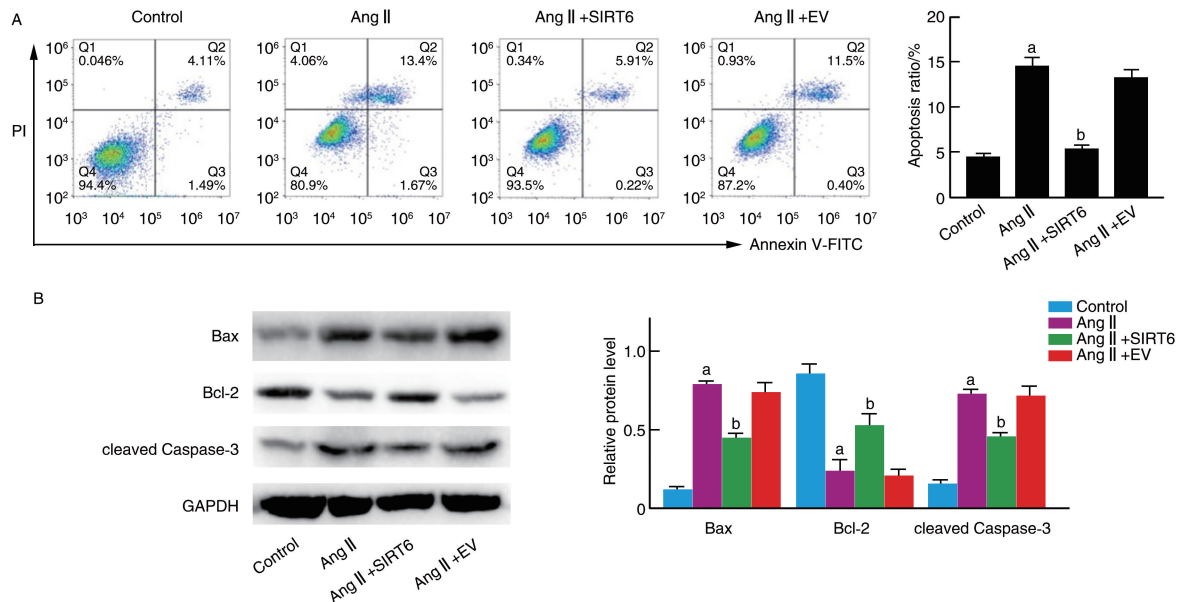


图 2. SIRT6 过表达对 Ang II 诱导的心肌细胞凋亡的影响 ($n = 6$)

A 为流式细胞术检测 SIRT6 过表达后心肌细胞的凋亡情况; B 为 Western blot 检测 SIRT6 过表达对凋亡蛋白 Bax、cleaved Caspase-3 及凋亡抑制蛋白 Bcl-2 的影响。a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 Ang II +EV 组比较。

Figure 2. Effect of SIRT6 overexpression on apoptosis of cardiomyocytes induced by Ang II ($n = 6$)

2.3 SIRT6 通过调控 AMPK/Nrf2/HO-1 信号通路抑制氧化应激反应和 DNA 损伤

Ang II 诱导的心肌细胞凋亡可能与氧化应激导致的 DNA 损伤有关, 我们通过检测不同组别心肌细胞中磷酸化组蛋白 H2AX (histone H2AX phosphorylation, γ -H2AX)、磷酸化 ATM (phospho-ATM, p-ATM) 的蛋白表达评估 DNA 的损伤情况。与对照组相比, Ang II 组 γ -H2AX、p-ATM 蛋白表达分别升高 6.25 倍、8.22 倍, 与 Ang II +EV 组比较, Ang II +SIRT6 组 γ -H2AX、p-ATM 蛋白表达分别降低 70.00%、45.68% (均 $P < 0.01$, 图 3A)。这些结果表明 Ang II 诱导心肌细胞凋亡与 DNA 损伤有关, SIRT6 可能通过抑制 DNA 损伤抑制细胞凋亡, 而 SIRT6 作用的靶点并不清楚。因此本文进一步探索了 AMPK/Nrf2/HO-1 信号通路是否参与氧化应激导致的 DNA 损伤和细胞凋亡。结果发现, 与对照组

相比, Ang II 组 p-AMPK、Nrf2、HO-1 蛋白表达分别降低 70.97%、68.18%、73.42%, ROS 的活性增高 4.8 倍 (均 $P < 0.01$); 而 SIRT6 过表达明显升高 p-AMPK、Nrf2、HO-1 的蛋白水平, 与 Ang II +EV 组相比, Ang II +SIRT6 组 p-AMPK、Nrf2、HO-1 蛋白表达分别升高 1.56 倍、1.92 倍、1.84 倍, ROS 的活性降低 56.96% (均 $P < 0.01$, 图 3B、C)。

为进一步验证 SIRT6 是否通过 AMPK 信号通路调控 Ang-II 诱导的心肌细胞凋亡, 本研究使用 AMPK 抑制剂 CC 干预细胞。结果显示, Ang II +SIRT6+CC 组细胞凋亡比例较 Ang II +SIRT6 组升高 1.18 倍 ($P < 0.01$, 图 4), 说明 CC 可以逆转 SIRT6 对 Ang II 诱导的心肌细胞凋亡的抑制作用, 提示 SIRT6 通过 AMPK/Nrf2/HO-1 信号通路参与调节氧化应激导致的 DNA 损伤从而抑制细胞凋亡。

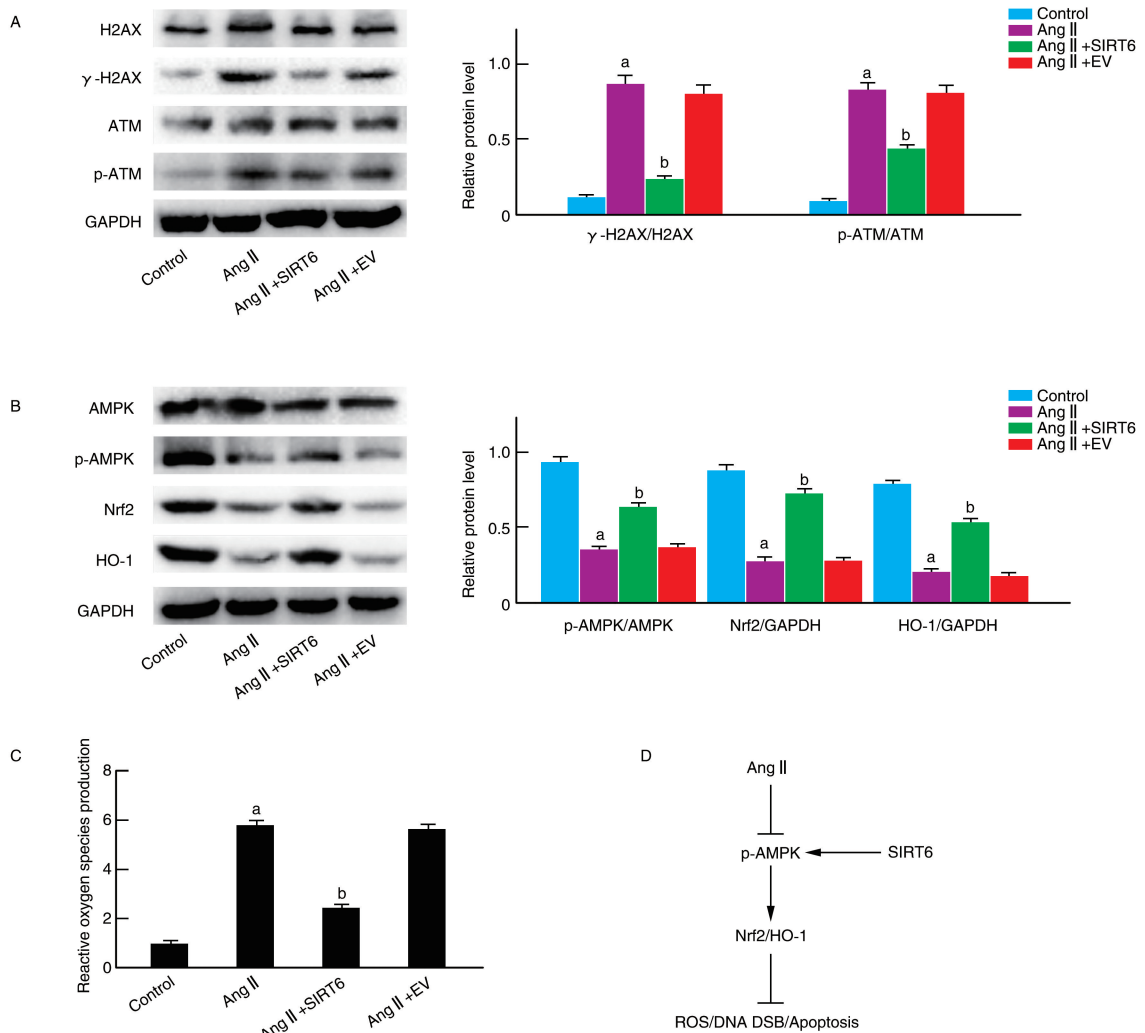


图 3. SIRT6 过表达对 Ang II 诱导的心肌细胞 DNA 损伤及 AMPK/Nrf2/HO-1 信号通路的影响 (n=6)

A 为 SIRT6 过表达对心肌细胞 DNA 损伤的影响; B 为 SIRT6 过表达对心肌细胞 AMPK/Nrf2/HO-1 信号通路的影响; C 为 DCFH-DA 法测定 ROS 生成; D 为 SIRT6 通过 AMPK/Nrf2/HO-1 调控氧化应激抑制 DNA 损伤/细胞凋亡信号通路图, DSB 表示双链 DNA 断裂。a 为 P<0.01, 与对照组比较; b 为 P<0.01, 与 Ang II +EV 组比较。

Figure 3. Effect of SIRT6 overexpression on DNA damage in cardiomyocytes induced by Ang II and AMPK/Nrf2 /HO-1 signaling pathway (n=6)

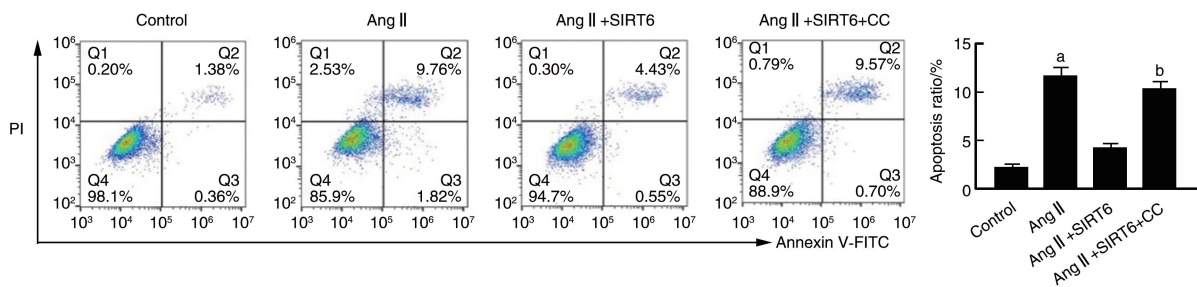


图 4. AMPK 抑制剂 CC 对 SIRT6 抑制 Ang II 诱导的心肌细胞凋亡的影响 (n=3)

a 为 P<0.01, 与对照组比较; b 为 P<0.01, 与 Ang II +SIRT6 组比较。

Figure 4. The effect of AMPK inhibitor compound C on SIRT6 inhibition of Ang II-induced cardiomyocyte apoptosis (n=3)

3 讨论

SIRT6 被认为是 DNA 损伤的传感器,并参与 DNA 修复,它被发现参与调节各种细胞中的 DNA 损伤。SIRT6 在保护软骨细胞免受 DNA 损伤方面起重要作用,SIRT6 的耗竭导致病灶 γ -H2AX 的积累^[9]。同样,SIRT6 过表达阻止了 HT42 小鼠海马神经元中 A β 42 诱导的 DNA 损伤^[10]。Grootaert 等^[11]证明,血管平滑肌细胞中 SIRT6 可减少 DNA 氧化损伤并抑制动脉粥样硬化的形成。然而,SIRT6 是否参与调节 Ang II 诱导的心肌细胞 DNA 损伤尚无研究报道。本研究中,Ang II 组 SIRT6 表达降低的同时,细胞凋亡率明显增高,凋亡蛋白 Bax、cleaved Caspase-3 表达增加,凋亡抑制蛋白 Bcl-2 表达显著降低,DNA 损伤标志物 γ -H2AX、p-ATM 蛋白表达显著升高。而 SIRT6 过表达可减轻 DNA 损伤,并改善细胞凋亡,由此我们猜测,SIRT6 抑制心肌细胞凋亡可能是通过维持细胞 DNA 稳定或促进 DNA 损伤修复来完成的,但其中的具体分子机制尚不明确。

氧化应激是 DNA 损伤的主要原因之一^[12],氧化应激水平失衡后 ROS 增多,过量的 ROS 积累可诱导线粒体损伤和功能障碍。ROS 的产生在基因表达和 DNA 过氧化的调节中起着重要作用。在我们的研究中,Ang II 诱导的心肌细胞中 ROS 活性增加,SIRT6 过表达可改善心肌细胞氧化应激反应。Nrf2/HO-1 信号通路是重要的内源性氧化应激通路,与细胞的抗氧化、抗炎和细胞凋亡等密切相关^[13-14]。Nrf2 是调节细胞氧化应激的关键调节因子,在静息状态下,Nrf2 与 Keap1 结合处于失活状态。当氧化应激发生时,Nrf2 从复合物中释放并转运到细胞核中,并通过激活一系列抗氧化酶 HO-1、NAD(P)H-醌氧化还原酶 1 [NAD(P)H-quinone oxidoreductase 1, NQO1]、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 等相关基因起到抗氧化作用^[15-16]。SIRT6 是 Nrf2 信号的正向调节因子,在我们的研究中,SIRT6 过表达导致 Nrf2、HO-1 表达增加,减轻 Ang II 诱导的心肌细胞凋亡和氧化应激。

研究发现^[17],SIRT6 可通过激活 AMPK 抑制氧化应激,从而保护心脏缺血再灌注损伤。此外,Nrf2 可被 AMPK 激活^[18],可见 Nrf2 是 AMPK 的潜在下游靶点。我们的研究中 SIRT6 过表达时 p-AMPK 与 Nrf2、HO-1 同步增加并抑制 Ang II 诱导的氧化应激反应,证实了这一结论。Nrf2 积累和激活可能是心肌细胞对 Ang II 诱导的抗氧化损伤的一种自我保护

机制,而这一过程的完成由 SIRT6 通过 AMPK 参与调控。AMPK 抑制剂 CC 干预后,与 Ang II + SIRT6 组相比,细胞凋亡率显著升高,说明 AMPK 抑制剂可以逆转 SIRT6 对 Ang II 诱导的心肌细胞凋亡的抑制作用,进一步验证了 SIRT6 通过 AMPK 信号通路抑制 Ang II 诱导的心肌细胞凋亡作用。因此得出结论,SIRT6 通过 AMPK 激活 Nrf2/HO-1 通路抑制氧化应激,参与对心肌细胞的保护作用。

综上,Ang II 诱导 ROS 的生成,激活氧化应激使心肌细胞 DNA 损伤,最终导致心肌细胞凋亡,而这个过程可被 SIRT6 阻断。本研究中,SIRT6 通过促进 AMPK/Nrf2/HO-1 表达抑制氧化应激,在保护心肌细胞中起重要作用。SIRT6 可作为抑制氧化应激、保护心肌细胞免受 DNA 损伤的关键因子,可能是心血管疾病治疗的新靶点。它在心血管疾病中的作用有待进一步阐明。

[参考文献]

- [1] LI Y M, MENG X D, WANG W G, et al. Cardioprotective effects of SIRT6 in a mouse model of transverse aortic constriction-induced heart failure[J]. *Front Physiol*, 2017, 8: 394.
- [2] MOSTOSLAVSKY R, CHUA K F, LOMBARD D B, et al. Genomic instability and aging-like phenotype in the absence of mammalian SIRT6[J]. *Cell*, 2006, 124(2): 315-329.
- [3] CASPER E. The potential role of SIRT6 in regulating the crosstalk between Nrf2 and NF- κ B pathways in cardiovascular diseases[J]. *Pharmacol Res*, 2022, 182: 106300.
- [4] SUNDARESAN N R, VASUDEVAN P, ZHONG L, et al. The sirtuin SIRT6 blocks IGF-Akt signaling and development of cardiac hypertrophy by targeting c-Jun[J]. *Nat Med*, 2012, 18(11): 1643-1650.
- [5] PILLAI V B, SAMANT S, HUND S, et al. The nuclear sirtuin SIRT6 protects the heart from developing aging-associated myocyte senescence and cardiac hypertrophy[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(9): 12334-12358.
- [6] ZHOU H J, LIU S H, ZHANG N Y, et al. Downregulation of SIRT6 by CD38 promotes cell senescence and aging[J]. *Aging (Albany NY)*, 2022, 14(23): 9730-9757.
- [7] HONG Y X, WU W Y, SONG F, et al. Cardiac senescence is alleviated by the natural flavone acacetin via enhancing mitophagy[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(12): 16381-16403.
- [8] 蔡少艾, 赵甘剑, 黄尹, 等. 血管紧张素(1-7)抑制异丙肾上腺素诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(5): 438-444.
CAI S A, ZHAO G J, HUANG Y, et al. Angiotensin(1-7) inhibits isoproterenol induced apoptosis in H9c2 cells[J]. *Chin J Arterioscler*, 2018, 26(5): 438-444.
- [9] NAGAI K, MATSUSHITA T, MATSUZAKI T, et al. Depletion of SIRT6 causes cellular senescence, DNA damage, and telomere dysfunction in human chondrocytes[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015, 23(8): 1412-1420.

(下转第 676 页)

- [10] CHEN J Q, YU L, ZHANG S W, et al. Network analysis-based approach for exploring the potential diagnostic biomarkers of acute myocardial infarction[J]. *Front Physiol*, 2016, 7: 615.
- [11] NG S S, DE LABASTIDA RIVERA F, YAN J M, et al. The NK cell granule protein NKG7 regulates cytotoxic granule exocytosis and inflammation[J]. *Nat Immunol*, 2020, 21(10): 1205-1218.
- [12] HUANG Q, DENG G X, WEI R G, et al. Comprehensive identification of key genes involved in development of diabetes mellitus-related atherogenesis using weighted gene correlation network analysis[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2020, 7: 580573.
- [13] AYBAY E, RYU J, FU Z R, et al. Extended cleavage specificities of human granzymes A and K, two closely related enzymes with conserved but still poorly defined functions in T and NK cell-mediated immunity[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1211295.
- [14] GARZÓN-TITUAÑA M, ARIAS M A, SIERRA-MONZÓN J L, et al. The multifaceted function of granzymes in sepsis: Some facts and a lot to discover[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1054.
- [15] ZEGLINSKI M R, GRANVILLE D J. Granzymes in cardiovascular injury and disease[J]. *Cell Signal*, 2020, 76: 109804.
- [16] YANG H, SU J J, MENG W X, et al. MiR-518a-5p targets GZMB to extenuate vascular endothelial cell injury induced by hypoxia-reoxygenation and thereby improves myocardial ischemia[J]. *Int Heart J*, 2021, 62(3): 658-665.
- [17] XU H C, WEI Z X, CHEN B X, et al. Granzyme B PET imaging inflammation and remodeling in myocardial infarction[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2024, 51(4): 991-1001.
- [18] ZENG Z, LAN T X, WEI Y Q, et al. CCL5/CCR5 axis in human diseases and related treatments[J]. *Genes Dis*, 2022, 9(1): 12-27.
- [19] 肖素军, 赵明. 动脉粥样硬化与免疫[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2022, 30(4): 277-286.
- XIAO S J, ZHAO M. Atherosclerosis and immunity[J]. *Chin J Arterioscler*, 2022, 30(4): 277-286.
- [20] KOPER-LENKIEWICZ O M, KAMIŃSKA J, LISOWSKA A, et al. Factors associated with RANTES concentration in cardiovascular disease patients[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 3026453.
- [21] JONGSTRA-BILEN J, TAI K, ALTHAGAFI M G, et al. Role of myeloid-derived chemokine CCL5/RANTES at an early stage of atherosclerosis[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2021, 156: 69-78.
- (此文编辑 文玉珊)

(上接第 668 页)

- [10] JUNG E S, CHOI H, SONG H, et al. p53-dependent SIRT6 expression protects Aβ42-induced DNA damage[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 25628.
- [11] GROOTAERT M O J, FINIGAN A, FIGG N L, et al. SIRT6 protects smooth muscle cells from senescence and reduces atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2021, 128(4): 474-491.
- [12] FAN Y Q, CHENG J, YANG Q, et al. SIRT6-mediated Nrf2/HO-1 activation alleviates angiotensin II-induced DNA DSBs and apoptosis in podocytes[J]. *Food Funct*, 2021, 12(17): 7867-7882.
- [13] MORSY M A, EL-DALY M, KAMEL B A, et al. Pregnenolone protects the liver against doxorubicin-induced cellular injury by anti-inflammatory, antioxidant, and antiapoptotic mechanisms: role of Keap1/Nrf2/HO-1 and P-glycoprotein[J]. *Eur Rev Med PharmacolSci*, 2023, 27(10): 4718-4734.
- [14] 黄勇, 李蔚华, 尹虹, 等. 氧化槐定碱通过 Nrf2/HO-1 通路抑制大鼠急性心肌梗死后心肌细胞凋亡[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(3): 207-212.
- HUANG Y, LI W H, YIN H, et al. Study on oxysophoridine inhibiting cardiomyocyte apoptosis after acute myocardial infarction via Nrf2/HO-1 pathway in rats[J]. *Chin J Arterioscler*, 2020, 28(3): 207-212.
- [15] VASCONCELOS A R, DOS SANTOS N B, SCAVONE C, et al. Nrf2/ARE pathway modulation by dietary energy regulation in neurological disorders[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 33.
- [16] YANG Y J, TIAN T, WANG Y P, et al. SIRT6 protects vascular endothelial cells from angiotensin II-induced apoptosis and oxidative stress by promoting the activation of Nrf2/ARE signaling[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 859: 172516.
- [17] WU K H, WANG Y Q, LIU R M, et al. The role of mammalian Sirtuin 6 in cardiovascular diseases and diabetes mellitus[J]. *Front Physiol*, 2023, 14: 1207133.
- [18] JI R, JIA F Y, CHEN X, et al. Salidroside alleviates oxidative stress and apoptosis via AMPK/Nrf2 pathway in DHT-induced human granulosa cell line KGN[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2022, 715: 109094.
- (此文编辑 许雪梅)