

本文引用: 满志, 秦小江, 郑志发, 等. 高盐上调 TMEM16A 致小鼠冠状动脉重构的机制[J]. 中国动脉硬化杂志, 2026, 34(2): 103-110. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2026.02.002.

[文章编号] 1007-3949(2026)34-02-0103-08

· 实验研究 ·

高盐上调 TMEM16A 致小鼠冠状动脉重构的机制

满志¹, 秦小江^{1,2}, 郑志发³, 方梦薇⁴, 孟欣¹, 郭苏⁴, 张学凤⁵, 杨灵波³, 施熠炜⁶, 张明升⁴, 侯晓敏⁴

1. 山西医科大学医学科学院, 2. 山西医科大学公共卫生学院, 3. 山西白求恩医院心脏大血管外科, 4. 山西医科大学基础医学院, 5. 山西白求恩医院医疗保险办公室, 6. 山西医科大学第一医院呼吸与危重症医学科, 山西省太原市 030001

[摘要] [目的] 探讨高盐摄入上调跨膜蛋白 16A(TMEM16A)致小鼠冠状动脉重构的机制。[方法] 36 只 8 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠随机分为 3 组: 对照组(饮食中未额外添加 NaCl)、10 g/L NaCl 组(1 L 纯水中含 10 g NaCl)和 20 g/L NaCl 组(1 L 纯水中含 20 g NaCl), 喂养 8 周。每周测量小鼠体重和收缩压(SBP); 8 周后, 收集血清测量小鼠血清 Na⁺ 浓度; 测量小鼠左心室质量指数(LVMI)以评估高盐对小鼠心脏的影响; Langendorff 逆行恒压灌注法测定小鼠冠状动脉流量(CF); HE 染色评估小鼠冠状动脉形态学改变, 并计算管壁厚度百分比及管壁面积百分比; 微血管张力记录仪检测小鼠离体冠状动脉收缩性变化, 以冠状动脉血管环面积标化其张力; Western blot 检测小鼠冠状动脉中 TMEM16A 蛋白表达; 免疫荧光双染检测小鼠冠状动脉中 TMEM16A 和 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)表达。[结果] 8 周后, 10 g/L NaCl 组和 20 g/L NaCl 组小鼠体重变化率均低于对照组, SBP 均显著高于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与对照组相比, 10 g/L NaCl 组和 20 g/L NaCl 组小鼠血清 Na⁺ 浓度均增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 高盐摄入可增加小鼠 LVMI, 降低小鼠 CF, 且均以 20 g/L NaCl 组小鼠最显著($P < 0.01$); 10 g/L NaCl 组和 20 g/L NaCl 组小鼠冠状动脉的管壁厚度百分比和管壁面积百分比均显著增加(均 $P < 0.01$); 10 g/L NaCl 组和 20 g/L NaCl 组小鼠冠状动脉对 60 mmol/L KCl 和 0.03 μ mol/L 内皮素 1 的收缩反应均显著增强($P < 0.01$); 20 g/L NaCl 组小鼠冠状动脉中 TMEM16A 蛋白表达显著增加($P < 0.01$), 10 g/L NaCl 组和 20 g/L NaCl 组小鼠冠状动脉中 TMEM16A 和 α -SMA 荧光表达均显著增加(均 $P < 0.01$), 且 TMEM16A 与 α -SMA 在冠状动脉中存在显著共定位。[结论] 高盐摄入可致小鼠冠状动脉重构, 其机制可能与上调冠状动脉 TMEM16A 的表达有关。[关键词] 高盐摄入; 跨膜蛋白 16A; 冠状动脉; 血管重构 [中图分类号] R5; R363 [文献标识码] A

Mechanism of high salt-induced coronary artery remodeling in mice by upregulating TMEM16A

MAN Zhi¹, QIN Xiaojiang^{1,2}, ZHENG Zhifa³, FANG Mengwei⁴, MENG Xin¹, GUO Su⁴, ZHANG Xuefeng⁵, YANG Lingbo³, SHI Yiwei⁶, ZHANG Mingsheng⁴, HOU Xiaomin⁴

1. Medical Science Academy, Shanxi Medical University, 2. School of Public Health, Shanxi Medical University, 3. Department of Cardiovascular Surgery, Shanxi Bethune Hospital, 4. Basic Medical College, Shanxi Medical University, 5. Medical Insurance Office, Shanxi Bethune Hospital, 6. Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the mechanism by which high-salt intake upregulates transmembrane protein 16A (TMEM16A) and induces coronary artery remodeling in mice. **Methods** Thirty-six 8-week-old male C57BL/6J mice were randomly divided into three groups: control group (no additional NaCl in the diet), 10 g/L NaCl group (1 L of pure water contains 10 g of NaCl), and 20 g/L NaCl group (1 L of pure water contains 20 g of NaCl). Mice were fed for 8

[收稿日期] 2025-09-30

[修回日期] 2025-12-22

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(82204042); 国家自然科学基金面上项目(82373622); 山西省科技创新人才团队(青年)项目(202304051001038); 山西省科技合作交流专项项目(区域合作项目)(202204041101022); 国家卫生健康委员会尘肺病重点实验室开放课题(NHC202307); 山西省高等教育“百亿工程”科技引导专项项目(BYJL067); 山西白求恩医院临床重点专科项目; 山西省科技厅自由探索类青年项目(202203021222345)

[作者简介] 满志, 硕士研究生, 研究方向为微血管病变及防治机制, E-mail: 2454258705@qq.com。通信作者侯晓敏, 博士, 副教授, 研究方向为微血管病变及防治机制, E-mail: xiaominhou@sxmu.edu.cn。

weeks. Mouse body weight and systolic blood pressure (SBP) were measured weekly. After 8 weeks, serum was collected to measure serum Na^+ concentrations in mice; left ventricular mass index (LVMI) was measured to assess the effects of high-salt intake on the mouse heart; coronary flow (CF) was determined using the Langendorff retrograde constant-pressure perfusion method; HE staining was used to assess morphological changes in the coronary arteries, and calculate wall thickness (WT) percentage and wall area (WA) percentage. Microvascular tension recording instruments were employed to measure contractile changes in isolated coronary arteries from each group, standardizing coronary artery tension based on the area of the vascular ring. Western blot was used to detect TMEM16A protein expression in mouse coronary arteries. Dual immunofluorescence staining was used to detect TMEM16A and α -SMA expression in mouse coronary arteries.

Results After 8 weeks, mice in the 10 g/L NaCl group and 20 g/L NaCl group showed a lower body weight change rate than control group, and SBP was significantly higher in both salt groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with control mice, serum Na^+ concentration was increased in the 10 g/L NaCl group and 20 g/L NaCl group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). High-salt intake elevated LVMI and reduced CF, with the 20 g/L NaCl group exhibiting the most pronounced changes ($P < 0.01$). Percent wall thickness and percent wall area of coronary arteries were significantly greater in both salt groups (all $P < 0.01$). Contractile responses to 60 mmol/L KCl and 0.03 $\mu\text{mol/L}$ endothelin-1 in coronary arteries were significantly enhanced in the 10 g/L and 20 g/L NaCl groups ($P < 0.01$). TMEM16A protein expression in coronary arteries was markedly up-regulated in the 20 g/L NaCl group ($P < 0.01$), and immunofluorescence revealed significantly increased TMEM16A and α -SMA signals in both salt groups (all $P < 0.01$). In addition, there was an obvious co-localization between TMEM16A and α -SMA. **Conclusion** High-salt intake causes coronary artery remodeling in mice, and its mechanism may be related to increasing TMEM16A expression.

[**KEY WORDS**] high-salt intake; transmembrane protein 16A; coronary artery; vascular remodeling

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是心血管疾病(cardiovascular diseases, CVD)的主要病理学基础^[1]。研究表明,长期高盐饮食不仅会导致血压升高,还可使冠状动脉管壁增厚,引发脂质沉着与斑块形成,进而造成冠状动脉狭窄,加速冠状动脉 As 的进程,诱发血管重构,是导致心血管损伤的主要危险因素之一^[2-5]。但目前高盐引发冠状动脉重构的具体分子机制仍不明确,因此,深入探究高盐导致冠状动脉重构的机制,对于有效预防和治疗相关 CVD 至关重要。

血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)的表型改变、过度迁移或异常增殖可促进 As 的形成,是血管重构的主要原因之一^[6]。跨膜蛋白 16A(transmembrane protein 16A, TMEM16A)是钙激活氯离子通道的结构基础^[7],主要表达于各类平滑肌细胞中,可通过调节血管异常收缩、VSMC 过度增殖与迁移,诱发血管重构^[8]。TMEM16A 在冠状动脉及 VSMC 中呈丰富表达,研究发现其在高血压大鼠冠状动脉中的表达水平显著升高,而这种上调会进一步增强冠状动脉的收缩性^[9-10],提示高盐诱导的 C57BL/6J 小鼠冠状动脉重构可能与 TMEM16A 的上调有关。因此,本研究将围绕 TMEM16A,探讨高盐对小鼠冠状动脉重构的影响及其潜在机制。

1 材料和方法

1.1 主要试剂与仪器

钠含量(酶法)检测试剂盒(格锐思生物科技有限公司);KCl(上海生工生物工程股份有限公司);内皮素 1(endothelin-1, ET-1)(Ambeed 公司);TMEM16A 抗体(Abcam 公司), α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)抗体、异硫氰酸荧光素标记的山羊抗小鼠抗体、Alexa Fluor 594 标记的山羊抗兔抗体(北京博奥森生物技术有限公司)。智能无创血压仪(BP-2010A,北京 Softron);Langendorff 离体心脏灌流系统(GL-2,成都泰盟有限公司);病理切片扫描仪(C13140-01,日本滨松公司);体视立体显微镜(SMZ745,日本 Nikon 公司);微血管张力记录仪(Multi Myograph System-610M,丹麦 DMT 公司);LabChart 信号采集分析软件(PowerLab 4/25,澳大利亚埃德仪器国际贸易有限公司);冷冻切片机(FS800,深圳瑞沃德生命科技股份有限公司);荧光显微镜(Ts2-FL,日本 Nikon 公司)。

1.2 实验动物及分组

8 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠,体重 18 ~ 22 g,购于山西医科大学实验动物中心,动物许可证号:SYXK(晋)2019-0008。饲养于温度(22 ± 3) $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 50% ~ 60%、通风良好的动物房中,12 h 光照/12 h 黑暗循环周期。所有实验动物操作流程均已

通过山西医科大学动物伦理委员会批准。将 36 只小鼠随机分为 3 组:对照组(饮食中未额外添加 NaCl)、10 g/L NaCl 组(1 L 纯水中含 10 g NaCl)和 20 g/L NaCl 组(1 L 纯水中含 20 g NaCl)^[11-12],每周测量小鼠体重。模型制备时间为 8 周。

1.3 小鼠的收缩压测定

每周固定在 8:00—14:00 期间,使用小鼠智能无创血压仪测量小鼠的收缩压(systolic blood pressure, SBP)^[13],测量过程中需保持周围环境安静。测量时,将小鼠前半身用鼠网固定后放入保温桶内,再用鼠袋包裹,同时设置好软件参数。随后,将鼠尾置于血压检测传感器中,待小鼠安定后开始测量血压。每只小鼠重复测量 3 次,取 3 次结果的平均值作为最终血压值。

1.4 血清 Na⁺ 浓度测定

小鼠麻醉后,摘除眼球取血,将血液收集至 1.5 mL 离心管中,常温静置 2 h 后离心,取上清液。随后按照钠含量(酶法)检测试剂盒说明书的操作步骤,检测血清中的 Na⁺ 浓度。

1.5 小鼠冠状动脉流量测定

小鼠麻醉后,取其心脏及主动脉,经主动脉逆行插管,将心脏固定于 Langendorff 插管上。随后以 37 °C K-H 液对小鼠心脏进行 65 mmHg 恒压灌流,同时在肺动脉剪一小口收集滴出液,计算 1 min 内的冠状动脉流量(coronary flow, CF)。

1.6 小鼠左心室质量指数测量^[14]

称取小鼠体重(W_1)后,将其麻醉,取出心脏,分离出左心室并称重(W_2),计算左心室质量指数(left ventricular mass index, LVMI), $LVMI = W_2 / W_1$ 。

1.7 HE 染色观察小鼠冠状动脉形态学变化

小鼠麻醉后,剖开其胸腹腔,迅速切断肾动脉放血,自左心室进针依次灌注生理盐水溶液与 4% 多聚甲醛溶液以完成固定。随后快速取出心脏,置于 4% 多聚甲醛溶液中,48 h 后依次进行乙醇梯度脱水、垂直于包埋盒的石蜡包埋、从心脏底部沿垂直冠状动脉方向切片等操作,最后进行 HE 染色及中性树胶封片。病理切片经扫描仪扫描后,使用 Image J 软件计算管壁厚度(wall thickness, WT)百分比和管壁面积(wall area, WA)百分比,以此分析各组小鼠冠状动脉的形态学变化。 $WT = 2 \times (\text{血管壁厚度} / \text{血管外径}) \times 100\%$, $WA = (\text{血管总面积} - \text{血管管腔面积}) / \text{血管总面积} \times 100\%$ ^[15]。

1.8 小鼠离体冠状动脉收缩反应测定

小鼠麻醉后,迅速取出心脏,置于 4 °C 预冷的

HEPES 溶液中,随后快速分离冠状动脉,并剪成长度为 2 mm 的血管环。将血管环用两根直径 25 μm 的钨丝固定于微血管张力记录仪的浴槽内,浴槽中预先加入 5 mL K-H 缓冲液,且持续通入 95% O₂ 与 5% CO₂ 的混合气体,同时维持温度在 37 °C。首先用 60 mmol/L KCl 检测离体冠状动脉的活性,随后分别测定其对 60 mmol/L KCl 和 0.03 $\mu\text{mol/L}$ ET-1 的收缩反应,通过 LabChart 信号采集分析系统记录血管张力,比较各组冠状动脉的收缩差异。

1.9 Western blot 检测小鼠冠状动脉中 TMEM16A 蛋白表达

将小鼠冠状动脉剪碎后,加入裂解液研磨,置于冰上裂解 5 min,离心后取上清液。使用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度,取等量蛋白上样,依次进行 8% SDS-PAGE 电泳分离蛋白、转膜及封闭处理;随后分别加入 1:1 000 稀释的 TMEM16A 抗体和 1:10 000 稀释的 GAPDH 抗体,于 4 °C 孵育过夜;经 1 \times TBST 洗膜后,加入 1:10 000 稀释的二抗,室温孵育 1 h 后进行显色,最后利用 Image J 软件分析条带灰度值。

1.10 免疫荧光检测小鼠冠状动脉中 TMEM16A 和 α -SMA 表达

小鼠麻醉后,依次用生理盐水溶液和 4% 多聚甲醛溶液进行灌流,随后迅速取出心脏并分离冠状动脉,将其垂直包埋于 OCT 中,经冷冻切片机切成 6 μm 厚的切片,置于载玻片上。接着用甲醛与丙酮体积比 1:1 的混合液固定,再用 10% 山羊血清封闭,之后加入稀释比为 1:200 的一抗(TMEM16A 抗体和 α -SMA 抗体),于 4 °C 条件下孵育过夜。滴加荧光二抗(1:500),室温避光孵育 1 h。加入 DAPI,避光孵育 10 min 后,滴加抗荧光淬灭剂封片,于荧光显微镜下观察并拍照,使用 Image J 软件分析其平均荧光强度(mean fluorescence intensity, MFI)。

1.11 统计学分析

实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 GraphPad Prism 10.1.2 软件对所得数据进行统计分析并作图,多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 高盐摄入对小鼠体重和 SBP 的影响

三组小鼠的体重均随着喂养时间的延长而增加,至第 8 周时,对照组、10 g/L NaCl 组和 20 g/L NaCl 组小鼠的体重变化率分别为 132.7%、117.6%

和 105.9%。与对照组相比,10 g/L NaCl 组和 20 g/L NaCl 组小鼠的体重变化率均显著降低,且 20 g/L NaCl 组小鼠的体重变化率显著低于 10 g/L NaCl 组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$; 图 1A)。第 8 周时,对照组、10 g/L NaCl 组和 20 g/L NaCl 组小鼠的 SBP 分别为 99.8 ± 2.1 mmHg、 110.6 ± 1.4 mmHg 和 $123.8 \pm$

2.4 mmHg,与第 0 周比较,分别增加 3.3%、10.8% 和 22.2%;与对照组相比,10 g/L NaCl 组和 20 g/L NaCl 组小鼠的 SBP 显著升高(均 $P < 0.01$),且 20 g/L NaCl 组小鼠的 SBP 显著高于 10 g/L NaCl 组 ($P < 0.01$; 图 1B)。

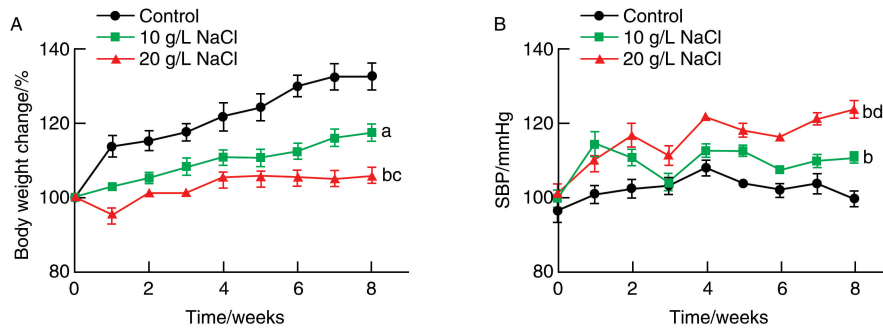


图 1. 高盐摄入对小鼠体重和 SBP 的影响

A 为 3 组小鼠的体重变化率比较, B 为 3 组小鼠的 SBP 变化。n=12。a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 10 g/L NaCl 组比较; d 为 $P < 0.01$, 与 10 g/L NaCl 组比较。

Figure 1. Effects of high-salt intake on body weight and SBP in mice

2.2 高盐对小鼠血清 Na^+ 浓度、LVMI 和 CF 的影响

造模结束后,随着高盐摄入浓度的增加,小鼠血清 Na^+ 浓度逐渐增加。与对照组相比,10 g/L NaCl 组和 20 g/L NaCl 组小鼠血清 Na^+ 浓度分别增加了 4.2% 和 9.1%,且 20 g/L NaCl 组小鼠血清 Na^+ 浓度显著高于 10 g/L NaCl 组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。此外,高盐摄入可增加小鼠 LVMI,降低小鼠 CF。与对照组相比,10 g/L NaCl 组小鼠 LVMI 增加了 28.4%,20 g/L NaCl 组小鼠 LVMI 增加了 66.0%,且 20 g/L NaCl 组小鼠 LVMI 显著高于 10 g/L NaCl 组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。10 g/L NaCl 组和 20 g/L NaCl 组小鼠 CF 分别降低了 16.3% 和 54.1%,且 20 g/L NaCl 组小鼠 CF 显著低于对照组和 10 g/L NaCl 组 (均 $P < 0.01$; 表 1)。

表 1. 高盐摄入对小鼠血清 Na^+ 浓度、LVMI 和 CF 的影响

Table 1. Effects of high-salt intake on serum Na^+ concentration, LVMI and CF in mice

分组	n	Na^+ / (mmol/L)	LVMI/ (mg/g)	CF/ (mL/min)
对照组	6	133.8 ± 1.1	2.2 ± 0.1	5.6 ± 0.2
10 g/L NaCl 组	6	139.5 ± 1.4^a	2.8 ± 0.3	5.1 ± 0.4
20 g/L NaCl 组	6	146.8 ± 1.7^{bd}	3.7 ± 0.2^{bc}	3.9 ± 0.1^{bd}

注:a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; c 为 $P < 0.05$, d 为 $P < 0.01$, 与 10 g/L NaCl 组比较。

2.3 高盐对小鼠冠状动脉形态学的影响

小鼠摄入不同浓度的高盐后,其冠状动脉的形态发生改变,管壁逐渐增厚(图 2A)。HE 染色显示,与对照组相比,10 g/L NaCl 组小鼠的冠状动脉管壁厚度百分比和管壁面积百分比分别增加 37.6% 和 43.69%,20 g/L NaCl 组则分别增加 112.4% 和 73.4% (均 $P < 0.01$),且 20 g/L NaCl 组小鼠的冠状动脉管壁厚度百分比和管壁面积百分比均显著高于 10 g/L NaCl 组 (均 $P < 0.01$; 图 2B 和图 2C)。

2.4 高盐对小鼠冠状动脉收缩反应的影响

利用微血管张力记录仪检测血管张力,结果显示,与对照组相比,10 g/L NaCl 组和 20 g/L NaCl 组小鼠对 60 mmol/L KCl 引起的血管单位面积张力分别增加了 58.8% 和 145.5% (均 $P < 0.01$),对 0.03 $\mu\text{mol/L}$ ET-1 引起的血管单位面积张力分别增加了 53.0% 和 154.8% (均 $P < 0.01$),且与 10 g/L NaCl 组相比,20 g/L NaCl 组小鼠对 60 mmol/L KCl 和 0.03 $\mu\text{mol/L}$ ET-1 引起的血管单位面积张力增加更显著(均 $P < 0.01$; 图 3)。提示高盐可致小鼠冠状动脉收缩异常。

2.5 高盐对小鼠冠状动脉 TMEM16A 蛋白表达的影响

Western blot 结果显示,与对照组相比,10 g/L NaCl 组小鼠冠状动脉中 TMEM16A 蛋白表达增加了 39.3%,20 g/L NaCl 组增加了 116.4%。20 g/L

NaCl 组小鼠冠状动脉中 TMEM16A 蛋白表达量均显著高于对照组和 10 g/L NaCl 组(均 $P < 0.01$; 图 4)。

2.6 高盐对小鼠冠状动脉 TMEM16A 及 α -SMA 荧光表达的影响

免疫荧光结果显示, TMEM16A 与 α -SMA 在小鼠的冠状动脉中存在显著共定位(图 5A)。高盐可增强小鼠冠状动脉中 TMEM16A 及 α -SMA 的荧光

表达。与对照组相比, 10 g/L NaCl 组和 20 g/L NaCl 组小鼠冠状动脉中 TMEM16A 的平均荧光强度分别增加了 71.6% 和 144.1% (均 $P < 0.01$), α -SMA 的平均荧光强度分别增加了 30.2% 和 72.8% (均 $P < 0.01$), 且 20 g/L NaCl 组小鼠冠状动脉中 TMEM16A 和 α -SMA 的平均荧光强度均高于 10 g/L NaCl 组 (均 $P < 0.01$; 图 5B 和图 5C)。

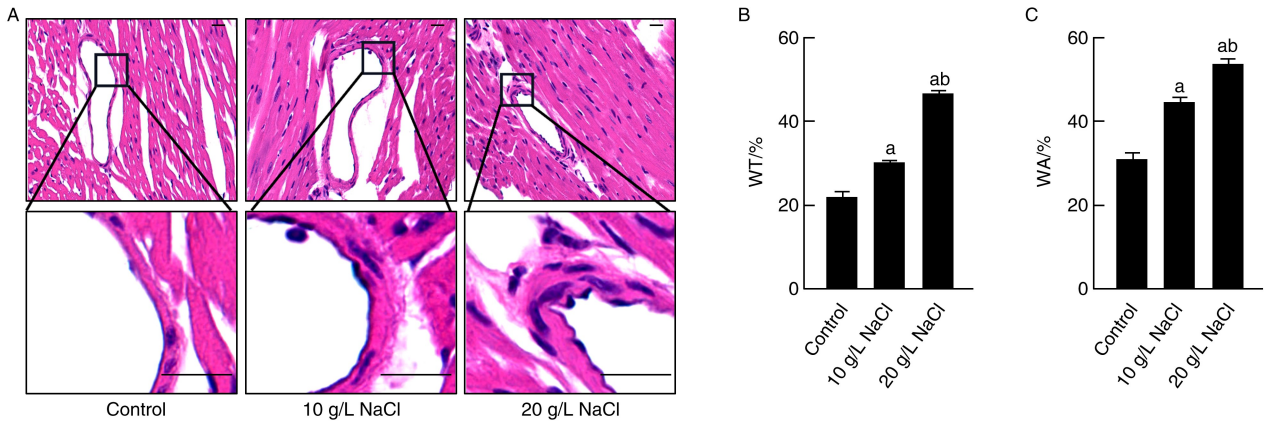


图 2. 高盐摄入小鼠的冠状动脉 HE 染色

A 为小鼠冠状动脉 HE 染色结果图, B 为小鼠冠状动脉管壁厚度百分比统计图(比例尺 = 20 μ m), C 为小鼠冠状动脉管壁面积百分比统计图。
 $n = 6$ 。a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 10 g/L NaCl 组比较。

Figure 2. HE staining of coronary arteries in mice with high-salt intake

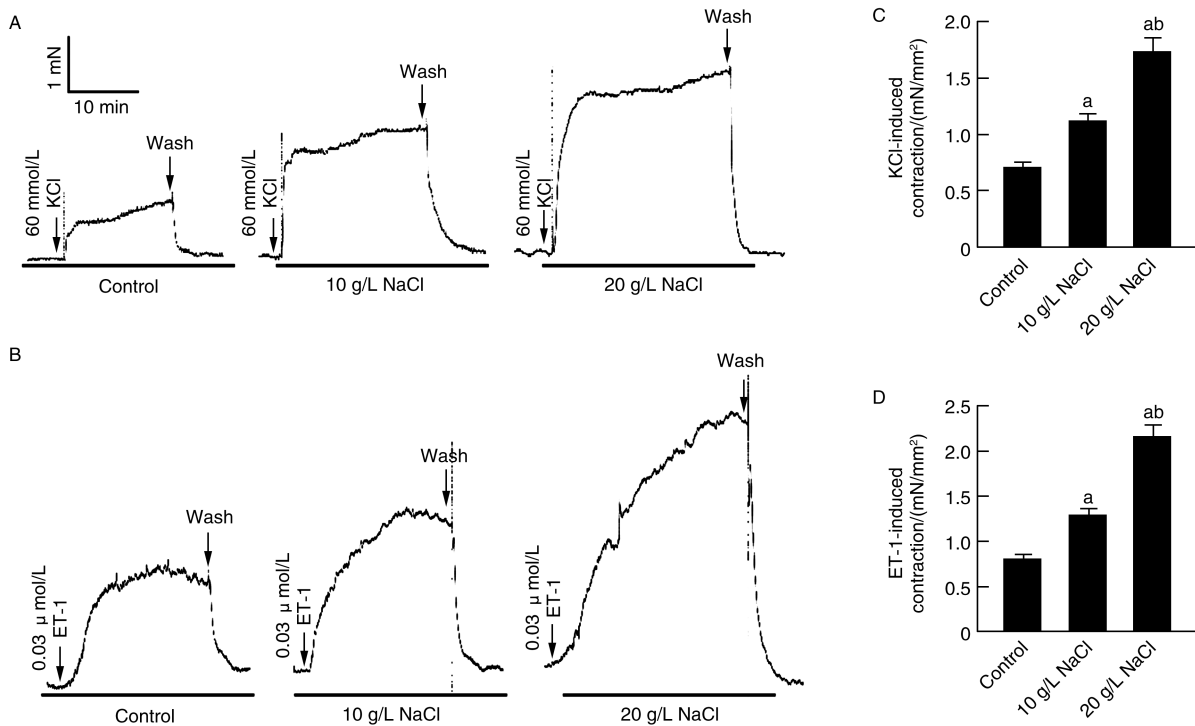


图 3. 高盐摄入小鼠的冠状动脉对 KCl 或 ET-1 的收缩反应

A, C 为小鼠冠状动脉对 60 mmol/L KCl 的收缩反应及血管单位面积张力统计图, B, D 为小鼠冠状动脉对 0.03 μ mol/L ET-1 的收缩反应及血管单位面积张力统计图。 $n = 6$ 。a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 10 g/L NaCl 组比较。

Figure 3. Coronary artery contractile response to KCl or ET-1 in mice with high-salt intake

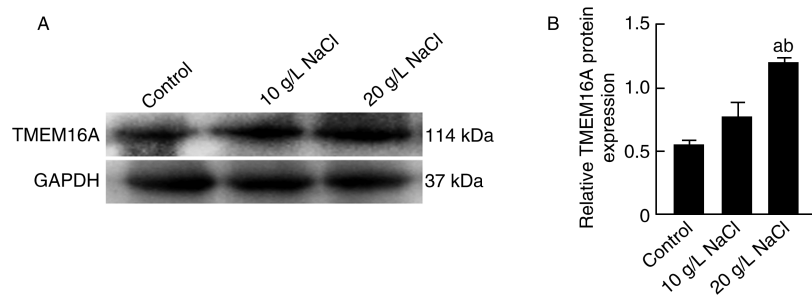


图4. 高盐摄入小鼠的冠状动脉中 TMEM16A 蛋白的表达

A、B 为 Western blot 检测小鼠冠状动脉中 TMEM16A 蛋白表达及统计分析图。n=3。

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 10 g/L NaCl 组比较。

Figure 4. Expression of TMEM16A protein in coronary arteries of mice with high-salt intake

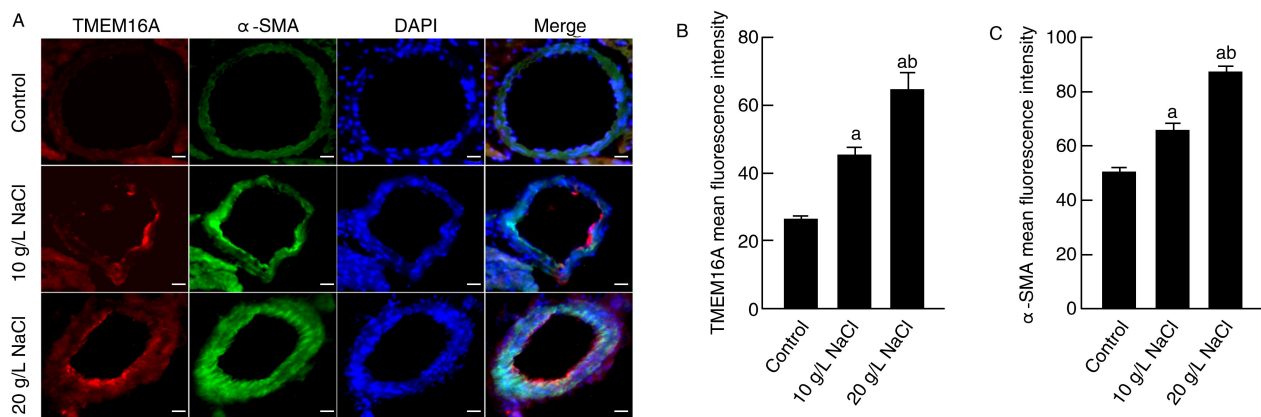


图5. 高盐摄入小鼠的冠状动脉中 TMEM16A 和 α -SMA 免疫荧光染色

A 为小鼠冠状动脉 TMEM16A 和 α -SMA 免疫荧光双染图(比例尺=10 μ m), B 为小鼠冠状动脉 TMEM16A 免疫荧光染色统计分析图,

C 为小鼠冠状动脉 α -SMA 免疫荧光染色统计分析图。n=6。a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 10 g/L NaCl 组比较。

Figure 5. Immunofluorescence staining of TMEM16A and α -SMA in the coronary arteries of mice with high-salt intake

3 讨论

随着经济快速发展和人群生活方式的转变, CVD 的发病率持续攀升, 对人类健康构成了严重威胁^[16]。高盐饮食作为不健康饮食习惯的一种, 已成为 As 等相关 CVD 的潜在危险因素^[17]。世界卫生组织建议每日膳食盐摄入量应低于 5 g, 然而目前大多数国家人口的每日平均膳食盐摄入量远高于这一标准^[18]。本研究采用 10 g/L 和 20 g/L 的 NaCl 溶液对小鼠进行干预。依据美国食品药品监督管理局发布的“基于体表面积换算的人体等效剂量”方法^[19], 以体重 25 g 的 C57BL/6J 小鼠为换算对象, 10 g/L 和 20 g/L NaCl 溶液对应的人体等效剂量均超过 5 g。

研究表明, 高盐饮食在升高血压的同时, 不仅会引发心脏功能障碍, 还可能诱发 As, 导致血管重构, 进而增加相关 CVD 的发生率与死亡率^[20-22]。本

研究发现, 高盐摄入的小鼠生长缓慢; 随着 NaCl 浓度的升高, 小鼠的 SBP 显著上升, 血清 Na^+ 浓度增加, LVMI 升高, 冠状动脉血流量降低, 且冠状动脉形态学改变显著, 管壁呈现逐渐增厚的趋势。为进一步探究高盐对小鼠冠状动脉功能的影响, 本研究通过离体血管环张力实验检测其收缩特性。结果显示, 高盐可使小鼠冠状动脉收缩显著增强。以上研究提示, 不同盐浓度干预可使 C57BL/6J 小鼠的心脏及冠状动脉形态与功能发生不同程度的重构。然而, 目前高盐导致冠状动脉重构的具体机制仍不明确, 因此, 深入探讨高盐饮食引发冠状动脉重构的机制, 对于有效预防和治疗相关心血管疾病具有至关重要的意义。

TMEM16A 是一种钙激活氯离子通道, 可参与调节血管收缩、VSMC 动作电位形成等重要生理过程, 是血管平滑肌中关键的离子通道^[23]。在 VSMC 中, 钙激活氯离子通道开放后, 氯离子顺电化学梯

度外流,使细胞膜发生去极化,进而激活电压依赖性钙通道,导致细胞内钙离子浓度升高,最终促进平滑肌收缩^[24]。研究发现,高血压可通过上调 TMEM16A 的表达水平,促进 VSMC 增殖,并增加钙离子内流,进而引发血管异常收缩与重构;而抑制 TMEM16A 的表达后,则能够有效抑制血管平滑肌收缩,从而降低血压^[25-26]。因此, TMEM16A 已成为相关 CVD 的潜在治疗靶点。现有研究表明,高盐可导致小鼠 VSMC 中 TMEM16A 的表达增加^[27],但 TMEM16A 在高盐诱导的小鼠冠状动脉重构过程中的具体作用尚不明确。本研究采用高盐饮食诱导小鼠冠状动脉重构模型,在验证高盐可导致冠状动脉管壁增厚与收缩性增强的基础上,进一步探究 TMEM16A 在高盐摄入小鼠冠状动脉重构中的关键作用。结果显示,随着盐摄入量的增加,小鼠冠状动脉中 TMEM16A 的蛋白表达及荧光强度逐渐上升,同时 VSMC 的标志性蛋白 α -SMA 的荧光强度也呈递增趋势。免疫荧光双染结果表明, TMEM16A 与 α -SMA 在小鼠冠状动脉中存在显著共定位,提示 TMEM16A 表达于小鼠冠状动脉的 VSMC 中。综上所述推测,高盐可能通过上调 TMEM16A 的表达,增强其介导的氯离子外流与钙离子内流,进而导致血管收缩性增强、血管平滑肌层增厚,最终引发小鼠冠状动脉重构。

综上所述,高盐摄入可导致 C57BL/6J 小鼠血压升高及冠状动脉重构。本研究初步证实,高盐诱导的小鼠冠状动脉重构与 VSMC 中 TMEM16A 的表达上调相关。该结果可能为防治长期高盐饮食所致冠状动脉重构及 As 诱发的 CVD 提供理论依据。

[参考文献]

- [1] 李超超, 黄会紫, 张璟怡, 等. PIAS3 缺失促进雌性 ApoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化发展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2025, 33(8): 665-672.
LI C C, HUANG H Z, ZHANG J Y, et al. PIAS3 deficiency exacerbates the development of atherosclerosis in female ApoE knock-out mice[J]. Chin J Arterioscler, 2025, 33(8): 665-672.
- [2] LIANG W, CHEN L, HU T, et al. Global, regional and national ischemic heart disease burden attributable to a high-sodium diet in 204 countries, 1990-2019: a systematic analysis for the global burden of disease study[J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2025, 35(8): 104016.
- [3] SUKUMARAN V, TSUCHIMOCHI H, SONOBE T, et al. Liraglutide treatment improves the coronary microcirculation in insulin resistant zucker obese rats on a high salt diet[J]. Cardiovasc Diabetol, 2020, 19(1): 24.
- [4] WUOPIO J, LING Y T, ORHO-MELANDER M, et al. The association between sodium intake and coronary and carotid atherosclerosis in the general Swedish population[J]. Eur Heart J Open, 2023, 3(2): oead024.
- [5] 李恒, 任明. 盐、肠道微生物群及其代谢产物和血压水平的关系研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(11): 1007-1012.
LI H, REN M. Advance in the study on the relationship among salt, intestinal microbiota and its metabolites, and blood pressure[J]. Chin J Arterioscler, 2023, 31(11): 1007-1012.
- [6] GROOTAERT M O J, BENNETT M R. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis: time for a re-assessment[J]. Cardiovasc Res, 2021, 117(11): 2326-2339.
- [7] 葛未未, 单美玲, 陈渝, 等. 有氧运动抑制高血压大鼠肠系膜动脉 CaCCs 通道蛋白 TMEM16A 表达上调[J]. 中国动脉硬化杂志, 2020, 28(2): 99-106.
GE W W, SHAN M L, CHEN Y, et al. Aerobic exercise suppresses the upregulation of CaCCs channel protein TMEM16A expression in mesenteric artery of hypertensive rats[J]. Chin J Arterioscler, 2020, 28(2): 99-106.
- [8] LIU Y, LIU Z, WANG K. The Ca²⁺-activated chloride channel ANO1/TMEM16A: an emerging therapeutic target for epithelium-originated diseases? [J]. Acta Pharm Sin B, 2021, 11(6): 1412-1433.
- [9] GUO P, LIU Y, XU X, et al. Coronary hypercontractility to acidosis owes to the greater activity of TMEM16A/ANO1 in the arterial smooth muscle cells[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 139: 111615.
- [10] ASKEW PAGE H R, DALSGAARD T, BALDWIN S N, et al. TMEM16A is implicated in the regulation of coronary flow and is altered in hypertension[J]. Br J Pharmacol, 2019, 176(11): 1635-1648.
- [11] BERTORELLO A M, PIRES N, IGREJA B, et al. Increased arterial blood pressure and vascular remodeling in mice lacking salt-inducible kinase 1 (SIK1) [J]. Circ Res, 2015, 116(4): 642-652.
- [12] GOMES P M, BATISTA J S, SÁ R W M, et al. Short exposure to high salt in drinking solution leads to a cardiovascular phenotype of hypertension without changes in the blood volume of rats[J]. Exp Physiol, 2023, 108(3): 361-370.
- [13] WU Y, TANG L, HUANG H, et al. Phosphoglycerate dehydrogenase activates PKM2 to phosphorylate histone H3T11 and attenuate cellular senescence[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 1323.
- [14] 叶海峰, 曹旭丹. 苦参素注射液改善阿霉素所致慢性心力衰竭大鼠心功能和心室重构的作用及机制[J].

- 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(9): 762-770.
- YE H F, CAO X D. Effect and mechanism of oxymatrine injection improves cardiac function and ventricular remodeling in adriamycin induced chronic heart failure rats [J]. *Chin J Arterioscler*, 2023, 31(9): 762-770.
- [15] 陈婷婷, 杨占婷, 华玉美多, 等. 亚高原地区野百合碱诱导大鼠肺动脉高压模型的剂量研究[J]. *中国现代应用药学*, 2021, 38(21): 2625-2631.
- CHEN T T, YANG Z T, HUA Y M D, et al. Dose research of monocrotaline induced pulmonary arterial hypertension in rats at moderate altitude[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2021, 38(21): 2625-2631.
- [16] 刘明波, 何新叶, 杨晓红, 等. 《中国心血管健康与疾病报告 2023》概要[J]. *中国介入心脏病学杂志*, 2024, 32(10): 541-550.
- LIU M B, HE X Y, YANG X H, et al. Interpretation of report on cardiovascular health and diseases in China 2023 [J]. *Chin J Interv Cardiol*, 2024, 32(10): 541-550.
- [17] DMITRIEVA N I, BURG M B. Elevated sodium and dehydration stimulate inflammatory signaling in endothelial cells and promote atherosclerosis[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0128870.
- [18] THOUT S R, SANTOS J A, MCKENZIE B, et al. The science of salt: updating the evidence on global estimates of salt intake[J]. *J Clin Hypertens (Greenwich)*, 2019, 21(6): 710-721.
- [19] REAGAN-SHAW S, NIHAL M, AHMAD N. Dose translation from animal to human studies revisited[J]. *FASEB J*, 2008, 22(3): 659-661.
- [20] JIA Z, WU J, LIU F, et al. Arachidonic acid is involved in high-salt diet-induced coronary remodeling through stimulation of the IRE1 α /XBP1s/RUNX2/OPN signaling cascade[J]. *Lipids Health Dis*, 2025, 24(1): 44.
- [21] GAO P, YOU M, LI L, et al. Salt-induced hepatic inflammatory memory contributes to cardiovascular damage through epigenetic modulation of SIRT3[J]. *Circulation*, 2022, 145(5): 375-391.
- [22] CHEN X, WU H, HUANG S. Excessive sodium intake leads to cardiovascular disease by promoting sex-specific dysfunction of murine heart [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 830738.
- [23] AL-HOSNI R, AGOSTINELLI E, ILKAN Z, et al. Pharmacological profiling of small molecule modulators of the TMEM16A channel and their implications for the control of artery and capillary function [J]. *Br J Pharmacol*, 2025, 182(8): 1719-1740.
- [24] LIANG P, WAN Y C S, YU K, et al. Niclosamide potentiates TMEM16A and induces vasoconstriction[J]. *J Gen Physiol*, 2024, 156(7): e202313460.
- [25] CIL O, CHEN X, ASKEW PAGE H R, et al. A small molecule inhibitor of the chloride channel TMEM16A blocks vascular smooth muscle contraction and lowers blood pressure in spontaneously hypertensive rats [J]. *Kidney Int*, 2021, 100(2): 311-320.
- [26] WANG B, LI C, HUAI R, et al. Overexpression of ANO1/TMEM16A, an arterial Ca²⁺-activated Cl-channel, contributes to spontaneous hypertension [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 82: 22-32.
- [27] ZENG M, XIE Z, ZHANG J, et al. Arctigenin attenuates vascular inflammation induced by high salt through TMEM16A/ESM1/VCAM-1 pathway [J]. *Biomedicines*, 2022, 10(11): 2760.
- (此文编辑 文玉珊)