

苯肾上腺素对腹主动脉缩窄诱导心肌间质纤维化的影响

曹慧, 庞晓, 王硕

(新疆石河子大学医学院第一附属医院心内科, 新疆石河子市 832002)

[关键词] 苯肾上腺素; α_1 -肾上腺素能受体; 心肌纤维化; 信号通路; TGF- β_1 /Smads

[摘要] **目的** 观察苯肾上腺素对腹主动脉缩窄导致心肌纤维化的作用及可能机制。**方法** 雄性昆明(KM)小鼠 42 只, 体重 24~30 g, 其中 28 只采用腹主动脉缩窄术(AAC)建立压力超负荷诱导心肌反应性纤维化的动物模型, 8 周后将模型小鼠随机分为 4 组, AAC 组、苯肾上腺素(PE)组(AAC+PE 组)、哌唑嗪(Praz)组(AAC+Praz 组)和普萘洛尔(Prop)组(AAC+Prop 组), 每组 7 只, 其中 AAC+PE 组给予 PE 0.65 mg/(kg·d) 腹腔注射, AAC+Praz 组予 Praz 5 mg/(kg·d) 灌胃, AAC+Prop 组给予 Prop 10 mg/(kg·d) 灌胃, AAC 组给等量生理盐水灌胃, 连续 4 周; 另设空白对照组及假手术组各 7 只, 其中假手术组只分离腹主动脉而不结扎, 二组均给予等量生理盐水持续灌胃。给药 4 周后处死动物, 取左心室游离壁组织, HE 染色观察组织细胞形态学变化, 胶原容积分数(CVF)、羟脯氨酸(Hyp)含量测定及 I、III 型胶原蛋白免疫组化染色观察心肌胶原, Western blot 方法测定 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)、p-Smad2 和 p-Smad3 蛋白表达。**结果** ACC 术后 12 周小鼠心脏均发生明显纤维化, 与空白对照组相比, CVF、Hyp 含量显著升高($P<0.01$), I、III 型胶原表达增多($P<0.01$), α -SMA、TGF- β_1 、p-Smad2 及 p-Smad3 蛋白表达增加($P<0.01$), 假手术组 CVF、Hyp 含量以及 α -SMA、TGF- β_1 、p-Smad2、p-Smad3 蛋白表达和 I、III 型胶原含量变化不明显。与 AAC 组比较, AAC+PE 组和 AAC+Prop 组左心室 CVF、Hyp 含量及 I、III 型胶原表达均明显减少($P<0.01$), α -SMA、TGF- β_1 、p-Smad2 和 p-Smad3 的蛋白表达水平降低($P<0.05$), 而 AAC+Praz 组上述各指标无明显变化($P>0.05$); AAC+PE 组与 AAC+Prop 组相比, 上述指标均无统计学差异($P>0.05$)。**结论** 苯肾上腺素可能通过 TGF- β_1 /Smads 信号通路改善压力超负荷介导的小鼠心肌间质纤维化, 其作用与普萘洛尔相似。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effect of Phenylephrine on Myocardial Fibrosis Induced by Abdominal Aorta Construction in Mice

CAO Hui, PANG Xiao, and WANG Shuo

(Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of the Medical College of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832002, China)

[KEY WORDS] Phenylephrine; α_1 -adrenergic Receptor; Myocardial Fibrosis; Signaling Pathway; TGF- β_1 /Smads

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effect of phenylephrine (PE, α_1 -adrenergic receptor agonist) on myocardial fibrosis induced by abdominal aorta coarctation (AAC) in mice and to elucidate related mechanism. **Methods** In this study, mice model of myocardial fibrosis were established by abdominal aorta coarctation in 28 mice, and 14 mice were randomly taken as control group and sham group. Eight weeks after surgery, mice were divided into 4 groups: AAC group, AAC+PE group (phenylephrine 0.65 mg/(kg·d) intraperitoneal injection), AAC+ Praz group (prazosin 5 mg/(kg·d) gavage) and AAC+Prop group (propranolol 10 mg/(kg·d) gavage). After administrated therapy for 4 weeks, the morphological changes of cardiac tissue were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining, collagen volume fractions (CVF) of left ventricle were observed by Van-Gieson (VG) staining and hydroxyproline concentration were studied. The protein

[收稿日期] 2016-01-04

[修回日期] 2016-02-03

[基金项目] 国家临床重点专科建设项目

[作者简介] 曹慧, 硕士研究生, 研究方向为心血管疾病基础与临床, E-mail 为 Tuffyaohui@163.com。通讯作者庞晓, 博士, 主任医师, 教授, 研究方向为心血管疾病基础与临床, E-mail 为 px0993@163.com。王硕, 硕士研究生, 研究方向为心血管疾病基础与临床, E-mail 为 ddd456852@126.com。

content of collagen I and collagen III were examined by immunohistochemical analysis. Western blot was used to measure the myocardial protein expression of α -smooth muscle actin (α -SMA), transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1), phosphor-drosophila mothers against decapentaplegic protein 2 (p-Smad2) and phosphor-drosophila mothers against decapentaplegic protein 3 (p-Smad3). **Results** Compared with control group, the heart of AAC group were developed fibrosis obviously. The CVF level and myocardial hydroxyproline concentration was significantly higher in AAC group as the same as protein level of collagen I and collagen III (all $P < 0.01$), and the protein expressions of α -SMA, TGF- β_1 , p-Smad2 and p-Smad3 were also elevated (all $P < 0.01$). PE treatment significantly reduced the CVF, hydroxyproline concentration, decreased expression of collagen I and collagen III and expressions of α -SMA, TGF- β_1 , p-Smad2 and p-Smad3 in myocardial tissue compared with the AAC group (all $P < 0.05$) as the same as propranolol treatment. However, prazosin had no effect on protein levels of α -SMA, TGF- β_1 , and p-Smad3, although a small reduction in p-Smad2 levels was observed. **Conclusion** These data suggest that phenylephrine was as effective as propranolol to attenuate myocardial fibrosis induced by coarctation of abdominal aorta in mice, which may be associated with suppressing the TGF- β_1 /Smads signal pathways.

心肌纤维化(myocardial fibrosis, MF)存在于多种心血管疾病,主要表现为正常的心肌组织结构中胶原纤维过量积聚、胶原浓度显著升高或胶原成分发生改变,是临床引发心律失常、心功能障碍甚至心源性猝死的主导原因,而交感神经系统(sympathetic nervous system, SNS)活性与心肌纤维化、心室重构密切相关,探讨其作用机制,对于心脏病患者制定抗纤维化治疗策略至关重要。以往认为SNS活化引起的儿茶酚胺水平升高通过肾上腺素能受体(包括 α 、 β 两种肾上腺素能受体)启动并促进心脏病理性重构,加快心脏的病理进程^[1-2],但近年研究发现 α_1 -肾上腺素能受体(α -adrenergic receptor, α_1 -AR)能够激活心脏适应性肥厚、抑制心肌细胞凋亡、增强心肌收缩力,具有心脏保护作用^[3-5],但 α_1 -AR兴奋对心肌纤维化是否有调节作用报道较少。本研究采用腹主动脉缩窄术建立小鼠反应性心肌纤维化模型,以心脏胶原容积分数(collagen volume fraction, CVF)、羟脯氨酸(hydroxyproline, Hyp)含量以及I、III型胶原蛋白和 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)的表达为检测指标,观察 α_1 -AR激动剂苯肾上腺素对心肌间质纤维化的影响及可能机制。

1 材料与方法

1.1 动物与主要试剂

5~7周龄,雄性健康昆明小鼠42只,体重24~30g,由新疆医科大学第一附属医院实验动物中心提供(动物合格证号:SCXK(新)2011-0003)。

苯肾上腺素(phenylephrine, PE; 07140501, 上海禾丰), 哌唑嗪(prazosin, Praz; 56140401, 上海信宜), 普萘洛尔(propranolol, Prop; 江苏亚邦), 水合氯醛(XK13-011-00017, 天津巴斯夫)。羟脯氨酸

(Hyp)测定试剂盒(南京建成生物工程公司); BCA蛋白定量分析试剂盒(赛默飞世尔科技); Collagen I兔抗鼠多克隆抗体(bs-0578R)及Collagen III兔抗鼠多克隆抗体(bs-0549R)(北京博奥森), α -SMA多克隆抗体(sc-32251, Santa Cruz), TGF- β 兔抗鼠多克隆抗体(#3711, Cell Signaling Technology), p-Smad2兔抗鼠单克隆抗体(#3108)及p-Smad兔抗鼠单克隆抗体(#9520)(Cell Signaling Technology), GAPDH兔抗鼠多克隆抗体(sc-25778, Santa Cruz), β -actin单克隆抗体(TA-09, 北京中杉)。

1.2 动物模型的建立与分组

昆明小鼠42只适应性喂养1周后随机分为6组,空白对照组(control)、假手术组(sham)、腹主动脉缩窄组(AAC)、苯肾上腺素(α_1 -AR激动剂)组(AAC+PE)、哌唑嗪(α_1 -AR抑制剂)组(AAC+Praz)和普萘洛尔(β -AR抑制剂)组(AAC+Prop), 每组7只。AAC组小鼠10%水合氯醛溶液0.3 mL/100g腹腔注射麻醉后,在左肾动脉分支上方分离小鼠腹主动脉,用5.5号注射针头紧贴腹主动脉结扎,抽出注射器针头,逐层缝合手术切口。假手术组仅分离腹主动脉而不结扎。术后8周, AAC+PE组给予PE 0.65 mg/(kg·d)腹腔注射, AAC+Praz组给予Praz 5 mg/(kg·d)灌胃, AAC+Prop组给予Prop 10 mg/(kg·d)灌胃, AAC组和假手术组给予等量生理盐水灌胃,持续4周。

1.3 心肌组织病理形态学观察及胶原定量分析

处死小鼠取心脏,剪取部分左心室游离壁心肌组织,固定于4%多聚甲醛液中,常规脱水、石蜡包埋,4 μ m厚切片,用苏木素-伊红(HE)染色,观察细胞病理学形态改变;用Van-Gieson(VG)染色法观察胶原变化,光镜下可见:心肌细胞呈黄色,胶原呈红色。然后用Image-Pro5.1图像分析软件行图像处理,测量左心室心肌的胶原容积分数(collagen

volume fraction, CVF), CVF = 左心室胶原面积/所测视野面积。随机取 6 个视野,以均值作为该心脏的 CVF。剩余心肌组织部分冻存于液氮中,待用。

1.4 心肌羟脯氨酸测定

准确称取 20 mg 液氮中心肌组织放入试管中,按试剂盒说明操作,比色法检测样本吸光度,计算左心室心肌组织中羟脯氨酸含量。间质胶原平均包含 13.4% 羟脯氨酸,间质胶原按量等于羟脯氨酸的含量乘以 7.46,结果用 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 表示每毫克心脏组织中胶原的含量。

1.5 免疫组织化学法检测心肌组织 I 型胶原和 III 型胶原的表达

石蜡切片常规脱蜡脱水,3 mL/L 过氧化氢灭活过氧化物酶,热修复抗原后,滴加 I、III 型胶原一抗,4℃ 孵育过夜;滴加生物素标记的二抗,37℃ 孵育 30 min;滴加辣根酶标记的链霉卵白素工作液;DBA 显色,封片。细胞间质中着棕黄色者为阳性表达,细胞间质无棕色或与背景色一致者为阴性。应用 Image-Pro5.1 图像分析软件对 I、III 型胶原蛋白表达进行图像分析,每张切片取 5 个连续阳性表达视野,测定积分光密度值 (IOD),IOD 值越高,则蛋白表达量越多,进行半定量分析。

1.6 Western blot 法检测 α -SMA、TGF- β_1 、p-Smad2 和 p-Smad3 蛋白的表达水平

提取心肌组织蛋白,BCA 试剂盒检测蛋白浓度,按每孔 20 μg 上样,聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 后转 PVDF 膜,脱脂牛奶或牛血清蛋白 (BSA) 室温封膜,加入 α -SMA、TGF- β 、p-Smad2、p-Smad3、 β -actin 抗体,4℃ 过夜。0.5% TBST 洗膜,加入二抗孵育 1 h,洗膜后化学发光法按时曝光拍照,用 Gel-pro32 图像分析软件对结果进行定量分析,目的蛋白表达量以其与内参照条带的灰度比值表示。

1.7 统计学方法

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS17.0 统计软件分析,组间资料比较在方差齐时用单因素方差分析,组间资料两两比较应用 LSD。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 心肌组织病理形态学变化

光学显微镜下,空白对照组及假手术组心肌细胞大小均匀,心肌纤维排列整齐,细胞核居中呈圆形或椭圆形;AAC 组可见心肌细胞横径增大,心肌纤维增粗,排列紊乱,可见大量炎性细胞浸润;与 AAC 组相

比,AAC+PE 组和 AAC+Prop 组细胞肥大及炎性浸润减轻,而 AAC+Praz 组变化不明显 (图 1)。

2.2 心肌组织 VG 染色及胶原容积分数结果

VG 染色镜下观察,空白对照组和假手术组仅在血管周围可见少量红色胶原纤维,黄染的心肌组织分布均匀,呈条索状排列,而 AAC 组、AAC+PE 组、AAC+Praz 组及 AAC+Prop 组心脏组织中均有较多胶原沉积,分布不规则,细胞排列紊乱,其总体胶原容积分数 (CVF) 均明显高于空白对照组 (P 均 < 0.01);与 AAC 组相比,AAC+PE 组和 AAC+Prop 组 CVF 显著降低 (P 均 < 0.01),而 AAC+Praz 组 CVF 无明显变化 ($P > 0.05$);AAC+PE 组和 AAC+Prop 组间 CVF 差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (图 1 和表 1)。

2.3 心肌组织羟脯氨酸含量

根据公式计算,AAC 组、AAC+PE 组、AAC+Praz 组以及 AAC+Prop 组羟脯氨酸含量均显著高于空白对照组 (P 均 < 0.01);与 AAC 组相比,AAC+PE 组和 AAC+Prop 组羟脯氨酸含量降低 ($P < 0.01$),而 AAC+Praz 组羟脯氨酸含量变化无统计学意义 ($P > 0.05$);与 AAC+PE 组相比,AAC+Prop 组羟脯氨酸含量无明显变化 ($P > 0.05$;表 1)。

表 1. 各组小鼠胶原容积分数、羟脯氨酸含量比较 ($n = 7$)

Table 1. Collagen volume fractions and hydroxyproline of KM mice in all groups ($n = 7$)

分 组	CVF	Hyp ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	胶原含量 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)
空白对照组	2.84% \pm 0.39%	0.21 \pm 0.01	1.54 \pm 0.06
假手术组	3.06% \pm 0.57%	0.22 \pm 0.01	1.58 \pm 0.08
AAC 组	19.59% \pm 0.83% ^a	0.58 \pm 0.02 ^a	4.30 \pm 0.11 ^a
AAC+PE 组	13.06% \pm 1.59% ^{ab}	0.28 \pm 0.03 ^{ab}	2.06 \pm 0.25 ^{ab}
AAC+Praz 组	18.32% \pm 0.66% ^a	0.56 \pm 0.02 ^a	4.16 \pm 0.16 ^a
AAC+Prop 组	12.73% \pm 0.29% ^{ab}	0.27 \pm 0.01 ^{ab}	2.00 \pm 0.06 ^{ab}

a 为 $P < 0.01$,与空白对照组比较;b 为 $P < 0.01$,与 AAC 组比较。

2.4 心肌组织 I、III 型胶原蛋白表达

与空白对照组相比,AAC 组、AAC+PE 组、AAC+Praz 组以及 AAC+Prop 组心肌组织中均可见不同程度 I、III 型胶原表达增加,着色变深,其 IOD 值显著升高 (P 均 < 0.01);与 AAC 组相比,AAC+PE 组和 AAC+Prop 组心肌组织中可见 I、III 型胶原表达明显减少,着色变浅,其 IOD 值显著降低 (P 均 < 0.01),而 AAC+Praz 组 I、III 型胶原表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$);AAC+PE 组与 AAC+Prop 组相比 I、III 型胶原表达无明显差异 ($P > 0.05$) (图 2 和表 2)。

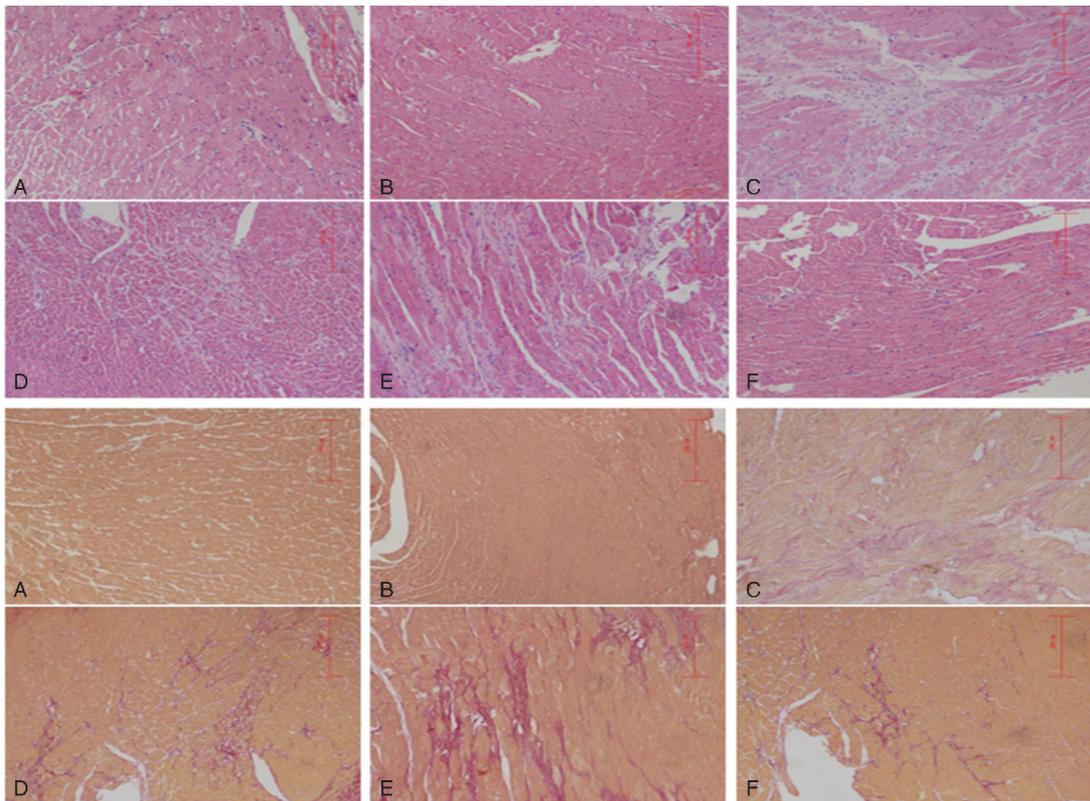


图 1. 各组小鼠 HE 染色及 VG 染色形态学观察 (100×) A 为空白对照组, B 为假手术组, C 为 AAC 组, D 为 AAC+PE 组, E 为 AAC+Praz 组, F 为 AAC+Prop 组。上两行为 HE 染色结果, 下两行为 VG 染色结果。

Figure 1. The morphological observation by HE staining and VG staining (100×)

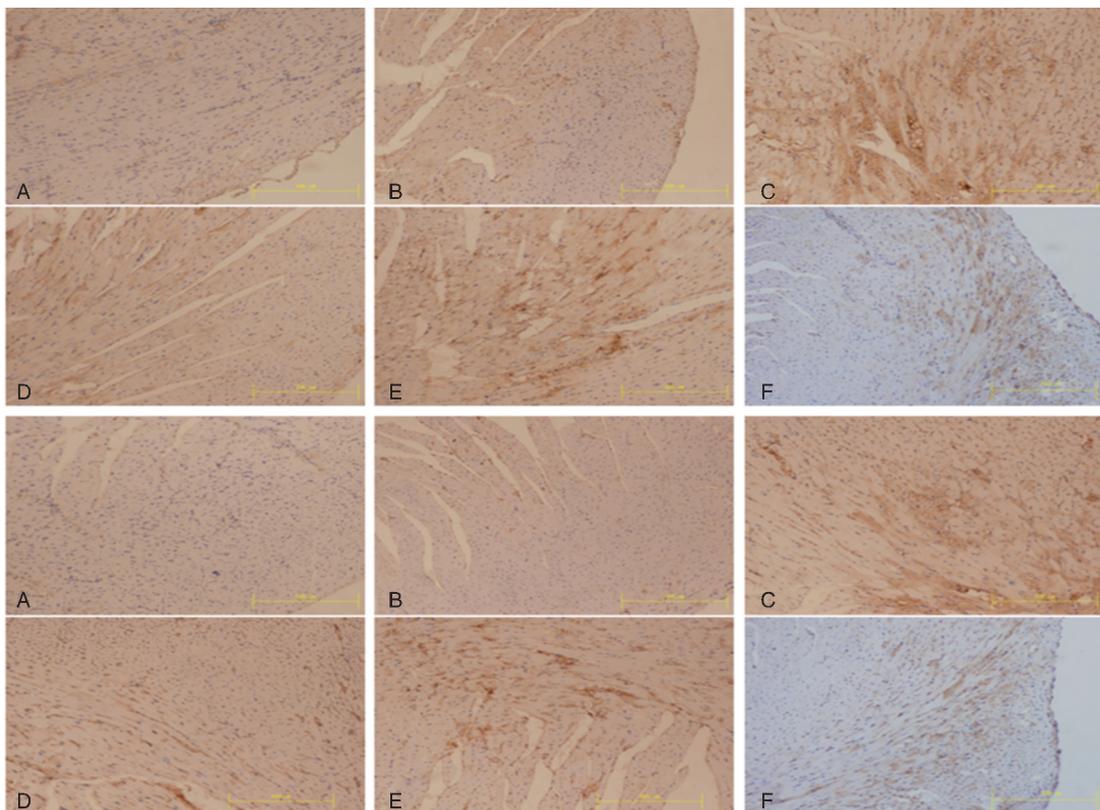


图 2. 免疫组织化学法检测 I、III 型胶原的表达 (100×) A 为空白对照组, B 为假手术组, C 为 AAC 组, D 为 AAC+PE 组, E 为 AAC+Praz 组, F 为 AAC+Prop 组。上两行为 I 型胶原表达, 下两行为 III 型胶原表达。

Figure 2. Immunohistochemical detection on the expression of Collagen I and Collagen III (100×)

表 2. 各组 I、III 型胶原的积分光密度值 ($n=7$)Table 2. The integrated optical density of Collagen I and Collagen III in different groups ($n=7$)

分 组	I 型胶原	III 型胶原
空白对照组	3.67±0.15	3.61±0.15
假手术组	3.74±0.16	3.55±0.23
AAC 组	17.34±0.35 ^a	16.41±0.50 ^a
AAC+PE 组	8.69±0.40 ^{ab}	8.75±0.42 ^{ab}
AAC+Praz 组	16.78±0.45 ^a	15.94±0.27 ^a
AAC+Prop 组	8.17±0.48 ^{ab}	8.40±0.38 ^{ab}

a 为 $P<0.01$, 与空白对照组比较; b 为 $P<0.01$, 与 AAC 组比较。

2.5 心肌组织 α -SMA 蛋白的表达

与空白对照组相比, AAC 组 α -SMA 蛋白表达明显增高 ($P<0.01$), 分别给予 PE 及 Prop 干预后, α -SMA 蛋白表达明显减少 ($P<0.05$ 和 $P<0.01$), 而 AAC+Praz 组与 AAC 组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$); AAC+PE 组与 AAC+Prop 组相比 α -SMA 蛋白表达组间差异无统计学意义 ($P>0.05$) (图 3)。提示 α_1 -AR 兴奋剂 PE 能减少腹主动脉缩窄致心肌 α -SMA 蛋白表达增高, 其作用与 β -AR 抑制剂 Prop 作用相似, 而 α_1 -AR 抑制剂无该作用。

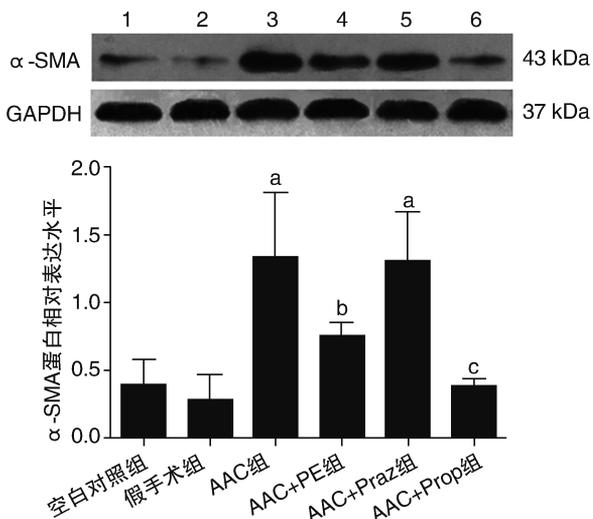


图 3. 各组 α -SMA 蛋白的表达 1 为空白对照组, 2 为假手术组, 3 为 AAC 组, 4 为 AAC+PE 组, 5 为 AAC+Praz 组, 6 为 AAC+Prop 组。a 为 $P<0.01$, 与空白对照组比较; b 为 $P<0.05$, c 为 $P<0.01$, 与 AAC 组比较。

Figure 3. The expression of α -SMA protein in different groups

2.6 心肌组织 TGF- β_1 、p-Smad2、p-Smad3 蛋白的表达

与空白对照组相比, AAC 组 TGF- β_1 、p-Smad2、p-Smad3 蛋白表达均明显增加 (P 均 <0.01); 与 AAC

组相比, 分别给予 PE 及 Prop 治疗后, TGF- β_1 、p-Smad2、p-Smad3 蛋白表达明显降低 ($P<0.05$), 而给予 Praz 后, 与 AAC 组相比, TGF- β_1 、p-Smad3 蛋白表达差异无统计学意义 ($P>0.05$)。与 AAC+PE 组比较, AAC+Praz 组 TGF- β_1 、p-Smad2、p-Smad3 蛋白表达明显增加 (P 均 <0.05), AAC+Prop 组 TGF- β_1 、p-Smad2、p-Smad3 蛋白的表达无明显变化 ($P>0.05$; 图 4)。

3 讨 论

心肌间质的主要成分是胶原蛋白, 其中含量最多的是 I、III 型胶原, 心脏重构时 I、III 型胶原蛋白含量和比值变化, 细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 大量沉积, 导致间质网络重建和心肌纤维化^[6]。大量临床和基础研究证实抑制 β -AR 能够显著改善心肌纤维化 (myocardial fibrosis, MF)^[2], 但不是阻断所有肾上腺素受体信号都是有益的, 其中 α_1 -AR 信号具有一定的心脏保护作用。苯肾上腺素是一种 α_1 -AR 激动剂, 其对 MF 是否具有调节作用以及作用机制如何尚有待探讨。

本研究采用腹主动脉缩窄术成功建立小鼠心肌纤维化模型, 术后心脏发生病理性重构和 MF, 肌纤维增粗、排列紊乱, 心肌组织总胶原及羟脯氨酸含量明显增多, 继续给予外源性 α_1 -AR 兴奋剂苯肾上腺素、 α_1 -AR 抑制剂哌唑嗪和心脏保护作用明确的 β -AR 抑制剂普萘洛尔干预 4 周后, 结果苯肾上腺素及普萘洛尔处理组小鼠心脏总胶原及羟脯氨酸含量明显减少, 间质纤维化程度减轻, 而哌唑嗪组变化不明显, 提示苯肾上腺素与普萘洛尔作用相仿, 均可改善压力超负荷导致的心脏纤维化。这与 O'Connell 等^[3,7] 报道 α_1A 、 α_1B 受体双敲除 (α_1ABKO) 小鼠在行主动脉缩窄术后心肌细胞凋亡及间质纤维化均较野生型小鼠明显加重, 低于升压剂量的 α_1A 特异性兴奋剂, 可以逆转阿霉素诱导的心脏细胞凋亡和病理性重构^[8] 的结果相一致。

心脏成纤维细胞 (cardiac fibroblasts, CF) 是心肌纤维化的重要效应细胞, 在 MF 中, CF 发生增殖和表型转化, 导致胶原分泌增加^[9]。有研究报道, 高浓度的苯肾上腺素处理体外培养的 rat-1 成纤维细胞通过 α_1 -AR 引起抗增殖作用^[10], 心肌梗死后大鼠在给苯肾上腺素干预后, 非梗死区心肌 I、III 型胶原容积分数降低^[11]。本研究中, AAC 组 CF 表型分化标记物 α -SMA 的表达增加, I、III 型胶原蛋

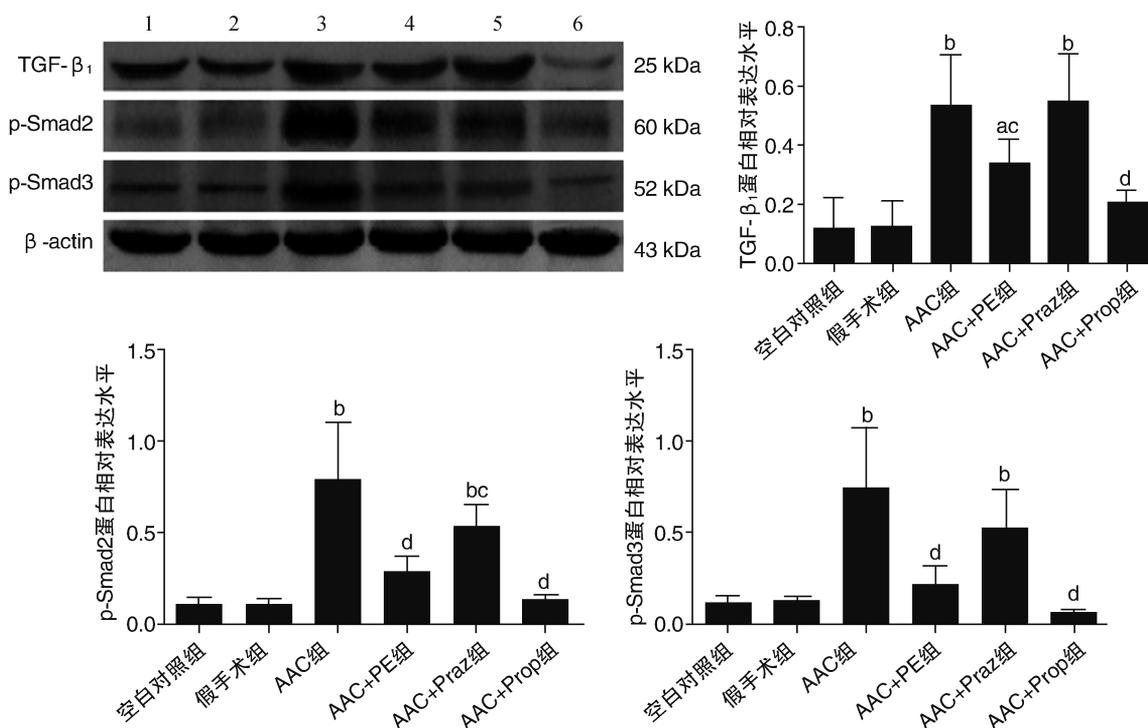


图 4. 各组 TGF- β_1 、p-Smad2 和 p-Smad3 蛋白的表达 1 为空白对照组,2 为假手术组,3 为 AAC 组,4 为 AAC+PE 组,5 为 AAC+Praz 组,6 为 AAC+Prop 组。a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与空白对照组比较; c 为 $P < 0.05$, d 为 $P < 0.01$, 与 AAC 组比较。

Figure 4. The expression of TGF- β_1 , p-Smad2 and p-Smad3 protein in different groups

白含量高于空白对照组及假手术组,与以往报道^[12-13]一致。苯肾上腺素及普萘洛尔干预后, α -SMA 表达和 I、III 型胶原含量均下降且组间差异无统计学意义,而哌唑嗪处理组变化不明显,提示苯肾上腺素与普萘洛尔均可改善压力超负荷导致的 CF 活化和胶原合成。

转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β) 是重要的一种调节纤维化的多肽,在诸多因素所致心肌纤维化过程中,TGF- β 的表达增加是其共同通路。在病理状态下,活化的 TGF- β_1 能使 Smad2/3 磷酸化并进入细胞核,通过诱导心肌成纤维细胞表型分化,或与胞外信号调节激酶 (MAPK) 通路和核因子 κ B (NF- κ B) 通路相互作用,从而产生促进纤维化的作用^[14-15]。本研究结果显示 AAC 组心肌组织 TGF- β_1 、p-Smad2、p-Smad3 蛋白的表达明显高于空白对照组及假手术组,这与多数研究心脏等器官组织纤维化过程中 TGF- β_1 表达增多,促进下游 Smad2、Smad3 信号的结论一致^[13,16]。在 H9C2 心肌母细胞中,TGF- β_1 促进多沙唑嗪诱导的 p38MAPK 蛋白的磷酸化,参与多沙唑嗪诱导的细胞凋亡^[17]。在巨噬细胞调节介质 (MPCM) 诱导的人肾小球系膜细胞纤维化模型中,多沙唑嗪能够显著

减少纤维连接蛋白的表达,但对促纤维化因子 TGF- β 及 MMP-3、MMP-9 无影响^[18]。本研究中,AAC 小鼠在给予哌唑嗪干预后,心肌组织 TGF- β_1 、p-Smad2、p-Smad3 的蛋白表达变化不明显,与上述报道相似;而苯肾上腺素处理组与普萘洛尔处理组 TGF- β_1 、p-Smad2、p-Smad3 的蛋白表达均明显减少,提示苯肾上腺素改善心肌纤维化的作用可能与 α_1 -AR 激活并抑制 TGF- β_1 及其下游 Smads 信号有关。

目前,国内外针对 α_1 -AR 的心脏作用存在较大争议,一些研究认为 α_1 -AR 激活能够导致心脏病理重构和纤维化^[1,6,9,19],也有报道 α_1 -AR 的不同受体亚型和不同细胞定位可能对心脏产生不同的病理生理效应^[7,8,20],研究结果间的差异是否与所用工具药的作用部位和作用机制不同有关尚需进一步探讨。

[参考文献]

- [1] Puhl SL, Kazakov A, Müller A, et al. A1 receptor activation attenuates cardiac hypertrophy and fibrosis in response to α_1 -adrenergic stimulation in vivo [J]. Br J Pharmacol, 2015, [Epub ahead of print].
- [2] Lu H, Tian A, Wu J, et al. Danshensu inhibits β -adrenergic receptors-mediated cardiac fibrosis by ROS/p38 MAPK

- axis[J]. *Biol Pharm Bull*, 2014, 37(6): 961-967.
- [3] O'Connell TD, Swigart PM, Rodrigo MC, et al. Alpha1-adrenergic receptors prevent a maladaptive cardiac response to pressure overload [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116: 1005-015.
- [4] Huang Y, Wright CD, Kobayashi S, et al. GATA4 is a survival factor in adult cardiac myocytes but is not required for α_1 -adrenergic receptor survival signaling[J]. *Am J Physiol*, 2008, 295: H699-H707.
- [5] Cowley PM, Wang G, Chang AN, et al. The α_1 -adrenergic receptor subtype mediates increased contraction of failing right ventricular myocardium[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2015, 309(5): H888- H896.
- [6] 唐燕, 庞晓. 酚妥拉明对心肌重构大鼠心肌细胞外基质的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, (4): 362-366.
- [7] O'Connell TD, Ishizaka S, Nakamura A, et al. The alpha (1A/C)-and alpha(1B)-adrenergic receptors are required for physiological cardiac hyper-trophy in the double-knockout mouse[J]. *J Clin Invest*, 2003, 111: 1783-791.
- [8] Dash R, Chung J, Chan T, et al. A molecular MRI probe to detect treatment of cardiac apoptosis in vivo[J]. *Magn Reson Med*, 2011, 66(4): 1152-162.
- [9] Tian CJ, Pang X. Ca(2+)-calcineurin signaling is involved in norepinephrine- induced cardiac fibroblasts activation [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5): 5210- 216.
- [10] Lei B, Schwinn DA, Morris DP. Stimulation of α_1 adrenergic receptors induces cellular proliferation or antiproliferative hypertrophy dependent solely on agonist concentration[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72430.
- [11] 牟杨, 李刚, 张灿晶, 等. 大鼠非梗死区心肌 C3G 蛋白的表达及苯肾上腺素对其的干预[J]. *基础与实验*, 2010, 25(5): 391-394.
- [12] Yamagami K, Oka T, Wang Q, et al. Pirfenidone exhibits cardioprotective effects by regulating myocardial fibrosis and vascular permeability in pressure-overloaded hearts [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2015, 309(3): H512- H522.
- [13] 赵凌杰, 张蓓蓓, 赵智明, 等. 法舒地尔对压力超负荷大鼠心脏的集成纤维细胞表型分化的影响 [J]. *中国心血管杂志*, 2015, 20(4): 284-289.
- [14] Yuan SM, Jing H. Cardiac pathologies in relation to Smad-dependent pathway[J]. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2010, 11(4): 455-460.
- [15] Lan HY, Chung AC. Transforming growth factor- β and Smad[J]. *Contrib Nephrol*, 2011, 170: 75-82.
- [16] Tran CM, Markova D, Smith HE, et al. Regulation of ccn2/ctgf expression in the nucleus pulposus of the intervertebral disc: role of smad and apsignaling[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(7): 1983-992.
- [17] Yang YF, Wu CC, Chen WP, et al. Transforming growth factor-beta type I receptor/ALK5 contributes to doxazosin-induced apoptosis in H9C2 cells[J]. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 2009, 380(6): 561-567.
- [18] Pawluczyk IZ, Patel SR, Harris KP. The role of the alpha-1 adrenoceptor in modulating human mesangial cell matrix production[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2006, 21(9): 2417-424.
- [19] 田春静, 庞晓. 钙调神经磷酸酶在去甲肾上腺素诱导的心肌成纤维细胞活化中的作用[J]. *临床心血管病杂志*, 2015, 31(7): 779-782.
- [20] Wright CD, Wu SC, Dahl EF, et al. Nuclear localization drives α_1 -adrenergic receptor oligomerization and signaling in cardiac myocytes[J]. *Cell Signal*, 2012, 24: 794-802.
- (此文编辑 许雪梅)