

## 论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.23.002

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20221108.1512.004.html>(2022-11-09)

## 恩格列净通过调控成纤维细胞分化改善心脏重构的研究\*

周桂全,王 颖,潘文旭,胡美玲,晋 军<sup>△</sup>

(陆军军医大学第二附属医院心血管内科,重庆 400037)

**[摘要]** 目的 观察钠葡萄糖共转运蛋白 2(SGLT2)抑制剂恩格列净对心脏重构的影响,并探索其潜在机制。方法 采用血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)和苯肾上腺素(PE)联合诱导小鼠心脏重构模型,予以恩格列净(EMPA  $10 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )或二甲基亚砜(DMSO)连续每天口服灌胃 4 周。采用超声心动图监测心脏功能变化,麦胚凝集素染色测量心肌细胞横截面积(CSA),天狼星红染色评估心肌纤维化,用转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )处理原发性心脏成纤维细胞(CFs),实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)测量纤维化相关因子 mRNA 的表达。结果 EMPA 治疗较 DMSO 增加了 AngⅡ/PE 小鼠左心室短轴收缩率,减少了舒张末期左心室后壁厚度、CSA 及纤维化面积,而不影响血压。EMPA 抑制了 TGF- $\beta$  处理的 CFs 中骨膜素、 $\alpha$ -肌动蛋白 2、结缔组织生长因子 mRNA 的表达。结论 EMPA 可能通过调控心脏 CFs 向心脏肌成纤维细胞(MFs)过度分化,改善 AngⅡ/PE 诱导的心脏重构。

**[关键词]** 钠葡萄糖共转运蛋白 2 抑制剂;恩格列净;心脏重构;成纤维细胞分化**[中图分类号]** R541.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)23-3966-05Study on empagliflozin for improving cardiac remodeling  
by regulating fibroblast differentiation\*ZHOU Guiquan, WANG Ying, PAN Wenxun, HU Meiling, JIN Jun<sup>△</sup>(Department of Cardiology, Second Affiliated Hospital of Army Military  
Medical University, Chongqing 400037, China)

**[Abstract]** **Objective** To observe the effect of sodium-glucose cotransporter-2 (SGLT2) inhibitor empagliflozin on the cardiac remodeling, and to explore its potential mechanism. **Methods** Angiotensin Ⅱ (Ang Ⅱ) and phenylephrine (PE) were combined to induce the cardiac remodeling model in mice. Empagliflozin (EMPA,  $10 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) or dimethyl sulfoxide (DMSO) was administered daily by oral gavage for 4 weeks. Echocardiography was employed to monitor the changes of cardiac function. The cross-sectional area (CSA) of cardiomyocytes was measured by WGA staining, and the sirius red staining was used to evaluate cardiac fibrosis. Primary cardiac fibroblasts were treated with transforming growth factor (TGF- $\beta$ ), and the mRNA expression of fibrosis-related factors was measured by qPCR. **Results** The EMPA treatment increased the left ventricular fractional shortening (LVFS) in Ang Ⅱ/PE mice and decreased the left ventricular posterior wall dimension (LVPWd), CSA and fibrosis area without affecting blood pressure. EMPA inhibited the mRNA expression of Postn, Acta2 and Ctgf in TGF- $\beta$ -treated cardiac fibroblasts (CFs). **Conclusion** EMPA may improve the Ang Ⅱ/PE-induced cardiac remodeling by regulating excessive differentiation of CFs into myofibroblasts (MFs).

**[Key words]** SGLT2 inhibitor; empagliflozin; cardiac remodeling; fibroblast differentiation

心力衰竭(简称心衰)是多种心血管疾病的终末阶段,患者 5 年内死亡率高达 40%~50%<sup>[1]</sup>。尽管药物治疗不断优化,但心衰发病率仍持续上升,居高不下的住院率给医疗卫生资源带来沉重负担<sup>[2]</sup>。因此,正确认识心衰发病机制、寻找新的治疗策略对心衰防

治极为重要。病理性心脏重构是心衰发生、发展的病理基础,心肌纤维化是其主要表现,决定着心血管病患者的预后。细胞外基质(ECM)过度沉积和胶原纤维增多是心肌纤维化的基本特征,过度的 ECM 沉积会导致心脏僵硬增加、顺应性下降,加速心衰发

\* 基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(82100288);重庆市留学回国人员创新支持计划项目(cx2020010);重庆市科技局博士直通车项目(CSTB2022BSXM-JCX0023);重庆市医学英才计划项目(CQYC201903087);“十三五”军队重点院校和重点学科专业建设项目“学员创新项目”(310928SZXK)。作者简介:周桂全(1995—),住院医师,在读硕士研究生,主要从事心力衰竭的基础和临床研究。<sup>△</sup> 通信作者, E-mail:jjxqyy@163.com。

展<sup>[3]</sup>。成纤维细胞(CFs)是非心肌细胞中的主要成分,能通过更新 ECM 维持正常心脏的结构和功能<sup>[4]</sup>,当受到机械拉伸、缺氧、激素等刺激时心脏中静止的 CFs 会被激活并向肌成纤维细胞(MFs)分化,大量分泌 ECM 和  $\alpha$  平滑肌肌动蛋白,也称为  $\alpha$ -肌动蛋白 2 (Acta2)蛋白,是 MFs 的关键特征,主要分泌的 ECM 为胶原蛋白 I、III<sup>[5]</sup>。早期这种生理反应能代偿心脏功能,有助于心肌细胞修复,当刺激因素持续存在时会诱导 CFs 向 MFs 过度分化,促进 ECM 大量沉积,导致心脏发生病理性重构,最终发生心衰<sup>[6]</sup>。钠葡萄糖共转运蛋白 2 (SGLT2)抑制剂是一种新型降糖药物,能通过促进尿糖排泄而降低血糖,多项大型临床研究均表明,SGLT2 抑制剂不仅可降低血糖,还能显著降低心衰患者住院率及死亡风险,并与血糖状态无关<sup>[7]</sup>。据文献报道,SGLT2 抑制剂中的恩格列净 (EMPA)可显著抑制糖尿病小鼠心室重构,并改善舒张功能障碍<sup>[8]</sup>。然而在非糖尿病心衰模型中关于 SGLT2 抑制剂对心脏纤维化重构的研究较少见,其潜在机制尚不明确。因此,本研究构建了血管紧张素 II (Ang II)和苯肾上腺素(PE)联合诱导的小鼠心脏重构模型,观察 EMPA 对心脏重构的影响并探讨其可能的机制,现报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验动物

选取 8 周龄、无特定病原体 (SPF) 级雄性野生型 C57BL/6J 小鼠,体重 22~24 g,由重庆腾鑫生物技术有限公司提供[许可证号:SCXK(渝)20170002]。予以随机化分笼,常规食水饲养,环境温度控制在 22℃ 左右,湿度维持为 60%~70%,每 12 小时进行一次昼夜循环。相关动物实验均已获得中国人民解放军陆军军医大学实验动物福利伦理审查委员会批准(伦理批号:AMUWEC20212174)。

#### 1.1.2 试剂及材料

Ang II 购自美国 MCE 公司,PE 购自美国 MCE 公司,EMPA 购自美国 MCE 公司,2004 model 胶囊渗透泵购自美国 Alzet 公司,杜氏改良 Eagle 培养基 (DMEM)培养基购自美国 Gibco 公司,胎牛血清购自美国 Hyclone 公司,二甲基亚砜 (DMSO) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司,麦胚凝集素 (WGA) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司,青霉素、链霉素均购自美国 Sigma-Aldrich 公司, RNA Extraction Kit 购自日本 Takara 公司, PrimeScript™ RT reagent Kit 购自日本 Takara 公司, TB Green® Premix Ex Taq™ II 购自日本 Takara 公司,天狼星红染色试剂盒购自中国 Saimike 公司,乙二醇四乙酸抗原修复液购自中国 Beyotime 公司,聚合酶链反应 (PCR) 引物由上海生工合成。

#### 1.1.3 仪器

Vevo 2100 小动物超声成像系统购自美国 VisualSonics 公司,气体麻醉装置购自英国 ASA 公司,激光扫描共聚焦显微镜购自德国 Zeiss 公司,7500 实时

荧光定量 PCR 系统购自美国 ABI 公司,VS200 全玻片扫描系统购自日本 Olympus 公司,Nanodrop 2000 超微量分光光度计购自美国 Life 公司,BP-98 无创尾套血压计购自中国 Softron 公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 建立 Ang II /PE 心脏重构模型

在麻醉箱中用 5% 异氟烷快速麻醉小鼠,取俯卧位固定小鼠,用 2% 异氟烷连接嘴部并维持麻醉,消毒小鼠背部皮肤并用组织剪剪开,组织镊钝性扩开皮下筋膜,持无菌镊将经 37℃ 孵箱孵育后的 Ang II /PE 渗透泵植入皮下,用皮肤缝合钉快速闭合切口。撤去麻醉装置,等待小鼠苏醒后放回笼位继续饲养。Ang II 泵入量为  $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,PE 泵入量为  $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。对照小鼠予以同样的泵植入操作,但为等体积的生理盐水(NS),持续灌注 4 周。4 周后取心脏组织进行石蜡包埋及切片。

#### 1.2.2 药物干预及分组

EMPA 给药剂量为  $10 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,DMSO 作为储存溶液,用 NS 稀释。术前 3 d 开始以口服灌胃方式给予 EMPA 药物混悬液,对照小鼠予以等量 DMSO,每天 1 次,持续 4 周。分为 NS+DMSO 组、NS+EMPA 组、Ang II /PE+DMSO 组和 Ang II /PE+EMPA 组,每组 6~7 只。

#### 1.2.3 细胞培养及处理

原代心脏 CFs 取自野生型 C57BL/6J 小鼠左心室组织,在 DMEM 培养基(含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素/链霉素)中于 37℃ 孵箱(含 5% 二氧化碳)培养 1 周。随机分组,实验组予以转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ,  $10 \text{ ng/mL}$ ) 刺激 96 h,并予以 EMPA ( $100 \mu\text{m}$ ) 或 DMSO 共处理,空白对照组仅予以 EMPA 或赋形剂处理而不添加 TGF- $\beta$ ,分为 DMSO 组、EMPA 组、TGF- $\beta$ +DMSO 组和 TGF- $\beta$ +EMPA 组,每组 4 只。

#### 1.2.4 心脏功能监测

在泵植入前使用超声评估心脏功能,术后每周监测。用 1% 异氟烷吸入麻醉,采集并记录左心室超声图像及参数,包括左心室短轴收缩率(LVFS)、舒张末期左心室后壁厚度(LVPWd)等。

#### 1.2.5 血压测量

灌胃 3 周后使用尾压法测量小鼠血压。小鼠尾部预加热 5 min (37℃),将传感器置于小鼠尾部前 1/3 处,心率维持在 500 次左右时记录血压(收缩压、舒张压和平均动脉压),重复 3~5 次,计算平均值。

#### 1.2.6 WGA 染色

将  $4 \mu\text{m}$  厚的心脏石蜡切片梯度乙醇脱蜡,于 100℃ 装有枸橼酸缓冲液高压锅中进行抗原修复,用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗后使用 Alexa Fluor Cy3-WGA 进行染色,室温避光孵育 30 min,抗荧光淬灭剂封片,激光共聚焦显微镜( $200\times$ )收集 WGA 染色图像,每个视野内随机选择 10~20 个类圆形心肌细胞,于对应 ZEN 分析软件(版本 3.3.89.0000)计算心肌细胞横截面积(CSA)及纤维化面积。

### 1.2.7 天狼星红染色

将 6  $\mu\text{m}$  厚的心脏组织切片梯度乙醇脱蜡, PBS 清洗后于新鲜制备的染色缓冲液(含 1.2%/w 苦味酸水溶液、0.1%/w Fast Green FCF 和 0.1%/w Direct Red 80 溶于 PBS)中浸泡 1 h(室温), 流水冲洗并干燥。中性树脂密封后使用全自动玻片扫描仪采集天狼星红染色图像, 随机选择 5 个 100 倍放大视野, 通过 Image J 软件分析纤维化面积。

### 1.2.8 实时荧光定量 PCR

吸去上清液并用预冷 PBS 中止反应, 按 RNA Extraction Kit 使用说明书提取总 RNA, 并测定浓度及纯度, 1  $\mu\text{g}$  的 mRNA 反转录为 cDNA。以 cDNA 为模板, 引物为起始位点, 在 TB Green<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> II 作用下使用 ABI 7500 快速实时荧光 PCR 系统进行 PCR 扩增。反应条件为 95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 30 s; 95  $^{\circ}\text{C}$  变性 5 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  退火, 延伸 34 s, 40 个循环。以 36b4 为内参基因, 读取循环数值, 使用  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  方法计算目的基因表达水平。引物序列见表 1。

表 1 引物列表

| 基因             | 引物序列                           |                                |
|----------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 骨膜素(Postn)     | F: 5'-AAGCTGCGGCAAGACAAG-3'    | R: 5'-TCAAATCTGCAGCTTCAAGG-3'  |
| Acta2          | F: 5'-ACTCTCTTCCAGCATCTTTCA-3' | R: 5'-ATAGGTGGTTTCGTGGATGC-3'  |
| 结缔组织生长因子(Ctgf) | F: 5'-GGGCCTCTTCTGCGATTTC-3'   | R: 5'-ATCCAGGCAAGTGCATTGGTA-3' |
| 36b4           | F: 5'-GCTCCAAGCAGATGCAGCA-3'   | R: 5'-CCGGATGTGAGGCAGCAG-3'    |

F: 正向; R: 反向。

### 1.3 统计学处理

运用 GraphPad Prism 8.4.2 软件进行分析, 对计量资料进行正态性和方差齐性检验, 符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用双因素方差分析(two-way ANOVA)。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 心脏功能

与 NS+DMSO 组比较, Ang II/PE+DMSO 组小鼠术后 4 周 LVFS 显著降低, LVPWD 明显增加, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); 与 Ang II/PE+DMSO 组比较, Ang II/PE+EMPA 组术后 4 周 LVFS 显著增加, LVPWD 显著减少, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 各组小鼠术后 4 周心脏功能比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别               | <i>n</i> | LVFS(%)                       | LVPWD(mm)                    |
|------------------|----------|-------------------------------|------------------------------|
| NS+DMSO 组        | 7        | 42.80 $\pm$ 2.80              | 0.71 $\pm$ 0.04              |
| NS+EMPA 组        | 7        | 42.74 $\pm$ 2.51              | 0.71 $\pm$ 0.01              |
| Ang II/PE+DMSO 组 | 6        | 36.55 $\pm$ 4.28 <sup>a</sup> | 1.25 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup> |
| Ang II/PE+EMPA 组 | 6        | 42.64 $\pm$ 3.75 <sup>b</sup> | 1.04 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup> |

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与 NS+DMSO 组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与 Ang II/PE+DMSO 组比较。

### 2.2 血压

与 NS+DMSO 组比较, Ang II/PE+DMSO 组小鼠收缩压、舒张压、平均动脉压均明显增加, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); Ang II/PE+EMPA 组小鼠收缩压、舒张压、平均动脉压与 Ang II/PE+DMSO 组小鼠比较, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见表 3。

### 2.3 CSA

与 NS+DMSO 组比较, Ang II/PE+DMSO 小鼠 CSA 明显增加, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 与 Ang II/PE+DMSO 组比较, Ang II/PE+EMPA 组小鼠 CSA 明显减少, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

见表 4、图 2。

表 3 各组小鼠血压比较( $\bar{x} \pm s$ , mm Hg)

| 组别               | <i>n</i> | 收缩压                             | 舒张压                             | 平均动脉压                           |
|------------------|----------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| NS+DMSO 组        | 7        | 116.80 $\pm$ 14.04              | 81.94 $\pm$ 8.74                | 93.54 $\pm$ 9.76                |
| NS+EMPA 组        | 7        | 94.66 $\pm$ 9.00                | 51.94 $\pm$ 7.71                | 66.14 $\pm$ 6.44                |
| Ang II/PE+DMSO 组 | 6        | 180.00 $\pm$ 52.09 <sup>a</sup> | 118.80 $\pm$ 21.19 <sup>a</sup> | 139.10 $\pm$ 30.98 <sup>a</sup> |
| Ang II/PE+EMPA 组 | 6        | 148.60 $\pm$ 27.72              | 106.30 $\pm$ 19.13              | 120.70 $\pm$ 21.00              |

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与 NS+DMSO 组比较。

表 4 各组小鼠 CSA 比较( $\bar{x} \pm s$ ,  $\mu\text{m}^2$ )

| 组别               | <i>n</i> | CSA                           |
|------------------|----------|-------------------------------|
| NS+DMSO 组        | 7        | 175.1 $\pm$ 8.3               |
| NS+EMPA 组        | 7        | 206.2 $\pm$ 14.9              |
| Ang II/PE+DMSO 组 | 6        | 255.3 $\pm$ 38.3 <sup>a</sup> |
| Ang II/PE+EMPA 组 | 6        | 219.6 $\pm$ 12.9 <sup>b</sup> |

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与 NS+DMSO 组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与 Ang II/PE+DMSO 组比较。

### 2.4 纤维化面积

与 NS+DMSO 组比较, Ang II/PE+DMSO 小鼠纤维化面积明显增多, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); Ang II/PE+EMPA 组小鼠纤维化面积较 Ang II/PE+DMSO 组明显降低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 5、图 3。

表 5 各组小鼠纤维化面积比较( $\bar{x} \pm s$ , %)

| 组别               | <i>n</i> | 纤维化面积                          |
|------------------|----------|--------------------------------|
| NS+DMSO 组        | 7        | 1.002 $\pm$ 0.269              |
| NS+EMPA 组        | 7        | 1.542 $\pm$ 0.287              |
| Ang II/PE+DMSO 组 | 6        | 6.349 $\pm$ 1.705 <sup>a</sup> |
| Ang II/PE+EMPA 组 | 6        | 3.268 $\pm$ 0.757 <sup>b</sup> |

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与 NS+DMSO 组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与 Ang II/PE+DMSO 组比较。



2.5 CFs 中 Postn、Acta2、Ctgf mRNA 水平

与 DMSO 组比较, TGF-β + DMSO 组 CFs 中 Postn、Acta2、Ctgf mRNA 表达水平均明显增高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与 TGF-β + DMSO 组

比较, TGF-β + EMPA 组 CFs 中 Postn、Acta2、Ctgf mRNA 表达水平均明显降低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 6。

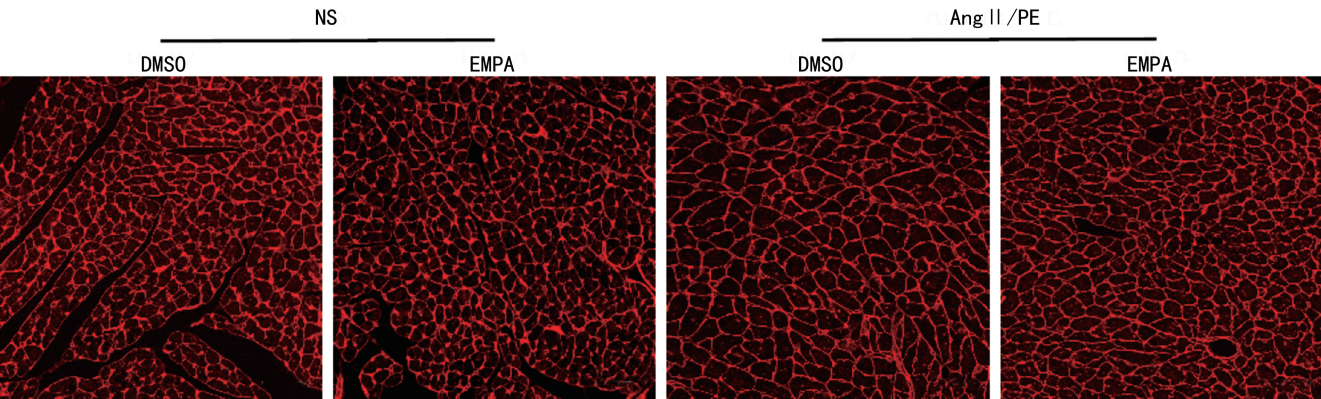


图 2 各组小鼠 CSA 比较 (WGA 染色, 200×)

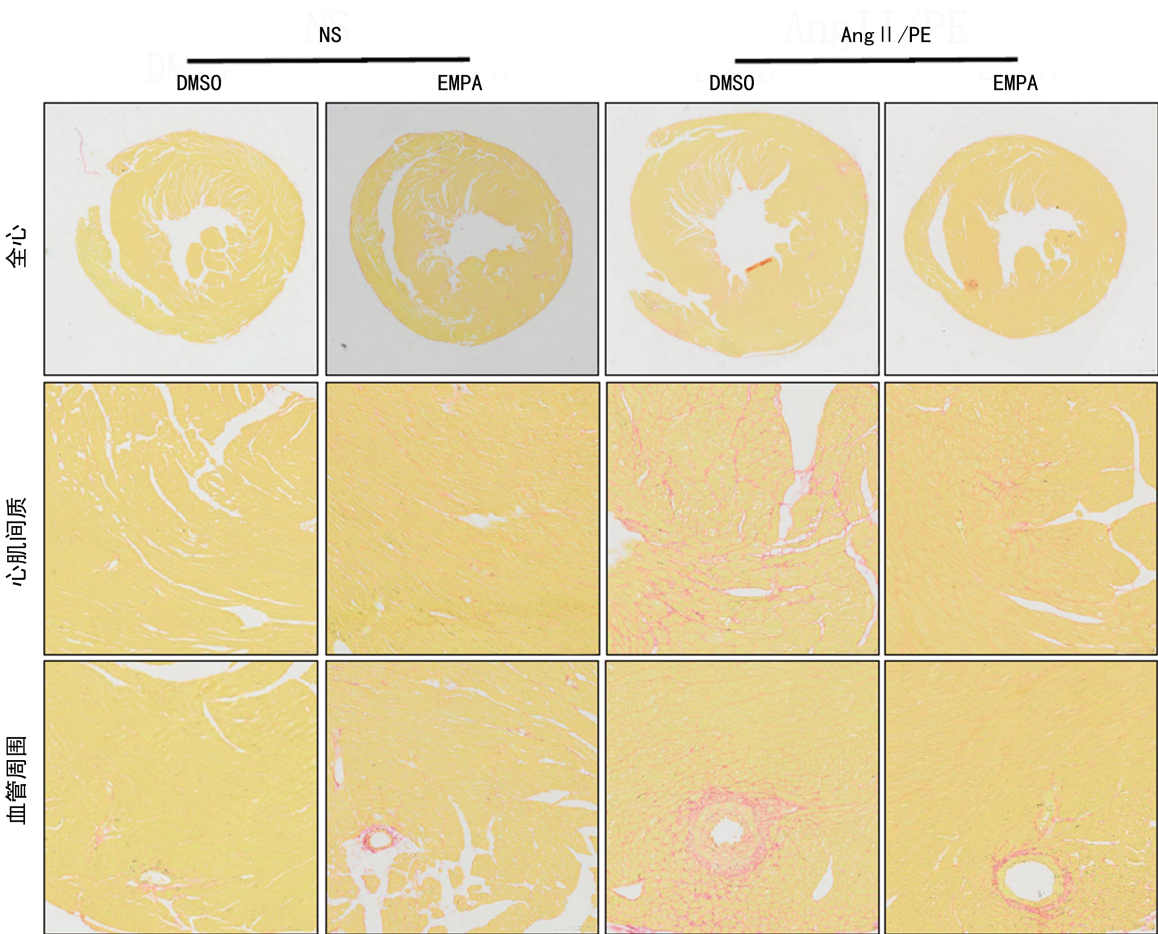


图 3 各组小鼠纤维化面积比较 (WGA 染色, 100×)

表 6 各组 CFs 中 Postn、Acta2、Ctgf mRNA 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别           | <i>n</i> | Postn                        | Acta2                        | Ctgf                         |
|--------------|----------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| DMSO 组       | 4        | 1.050 0±0.344 7              | 1.025 0±0.246 5              | 1.096 0±0.520 8              |
| EMPA 组       | 4        | 0.252 8±0.108 4              | 0.320 7±0.328 4              | 0.083 6±0.047 2              |
| TGF-β+DMSO 组 | 4        | 2.633 0±1.316 0 <sup>a</sup> | 2.092 0±0.468 0 <sup>a</sup> | 6.138 0±4.892 0              |
| TGF-β+EMPA 组 | 4        | 0.752 8±0.347 4 <sup>b</sup> | 0.654 7±0.394 1 <sup>b</sup> | 1.081 0±0.577 9 <sup>b</sup> |

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与 DMSO 组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与 TGF-β + DMSO 组比较。



### 3 讨 论

心脏重构被认为是一个动态的病理生理过程,涉及多种复杂因素的协同作用,CFs 向 MFs 过度分化会加剧 ECM 沉积,导致病理性心脏重构<sup>[9]</sup>。EMPA 是一种高选择性 SGLT2 抑制剂。PACKER 等<sup>[10]</sup>近期进行的 EMPERO-REDUCED 随机对照研究结果显示,与安慰剂组比较,接受 EMPA 治疗患者心血管死亡风险和心衰住院率降低了 25%,且与血糖状态无关。然而由于 SGLT2 在心肌中几乎不表达,多种机制学说尚不能完全解释其心血管保护作用,其潜在机制有待于进一步研究<sup>[11]</sup>。因此,本研究分析了 EMPA 对 Ang II/PE 模型小鼠心脏重构的影响,并探索了其可能的潜在机制。

Ang II/PE 长期慢性输注能模拟神经体液激活后的慢性高血压,引起心脏后负荷增加,刺激心肌肥大和心肌纤维化,是一种常用的心脏重构模型<sup>[12]</sup>。本研究结果显示,与 Ang II/PE+DMSO 组比较,经 EMPA 连续干预 4 周后 Ang II/PE 小鼠 LVFS 显著增加,心肌纤维化水平、CSA、LVPWd 显著降低,而血压无显著变化,与先前的研究结果一致,提示 EMPA 可改善 Ang II/PE 诱导的心脏重构,可能与 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路有关<sup>[13]</sup>。

TGF- $\beta$  是一种多功能细胞因子,具有多种亚型,心脏组织中主要为 TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1 及其调控的下游 smad 信号传导对促进 CFs 分化和 ECM 生成具有重要作用<sup>[14]</sup>。当压力负荷过重时 TGF- $\beta$  级联反应可被激活,早期有助于形成保护型 ECM,阻止有害的促 ECM 片段产生。然而持续过度活跃的 TGF- $\beta$  信号传导可诱导 CFs 激活,发生病理性增生,并向以表达 Acta2 为特征的 MFs 分化<sup>[15]</sup>。MFs 因产生 ECM 的能力远大于 CFs,是导致心肌纤维化过程中 ECM 过量沉积的重要细胞<sup>[16]</sup>。并且 MFs 具备较强的迁移和增殖能力,有助于 ECM 间交联,促进胶原过度沉积,导致心肌纤维化和心功能障碍,甚至心脏传导异常<sup>[17]</sup>。在体外使用 TGF- $\beta$  刺激 CFs,EMPA 共处理可显著降低 Postn、ACTA2、Ctgf mRNA 表达,尤其是 Acta2, ACTA2 蛋白是区别 CFs 和 MFs 的关键因素,也是 MFs 收缩力的主要来源<sup>[18]</sup>。此外,Postn 基因调控、CTGF 皆是 ECM 重要的组成成分,Postn 可直接与胶原蛋白 I 相互作用并调节原纤维直径;CTGF 能精细调节 ECM 微环境,过量表达可诱导胶原蛋白合成增加,加剧 ECM 沉积<sup>[19-20]</sup>。提示 EMPA 能抑制 TGF- $\beta$  诱导的 CFs 向 MFs 分化,减少 ECM 沉积。

综上所述,EMPA 可能通过调控 TGF- $\beta$  诱导的心脏 CFs 向 MFs 过度分化,减少 ECM 沉积和心肌纤维化,进而改善 Ang II/PE 诱导的心脏重构,为 SGLT2 抑制剂改善心衰预后提供理论依据,对心衰防治具有积极影响;但 EMPA 对 CFs 分化的具体调控机制尚不清楚,有待于进一步研究。

### 参考文献

- [1] MCMURRAY J J, PFEFFER M A. Heart failure[J]. Lancet, 2005, 365(9474): 1877-1889.
- [2] HAO G, WANG X, CHEN Z, et al. Prevalence of heart failure and left ventricular dysfunction in China: the China Hypertension Survey, 2012 — 2015 [J]. Eur J Heart Fail, 2019, 21(11): 1329-1337.
- [3] TRAVERS J G, KAMAL F A, ROBBINS J, et al. Cardiac fibrosis: the fibroblast awakens[J]. Circ Res, 2016, 118(6): 1021-1040.
- [4] DWECK M R, JOSHI S, MURIGU T, et al. Mid-wall fibrosis is an independent predictor of mortality in patients with aortic stenosis [J]. J Am Coll Cardiol, 2011, 58(12): 1271-1279.
- [5] MCDOWELL K S, AREVALO H J, MALECK AR M M, et al. Susceptibility to arrhythmia in the infarcted heart depends on myofibroblast density[J]. Biophys J, 2011, 101(6): 1307-1315.
- [6] FRANGOIANNIS N G. Cardiac fibrosis[J]. Cardiovasc Res, 2021, 117(6): 1450-1488.
- [7] COWIE M R, FISHER M. SGLT2 inhibitors: mechanisms of cardiovascular benefit beyond glycaemic control[J]. Nat Rev Cardiol, 2020, 17(12): 761-772.
- [8] HABIBI J, AROOR A R, SOWERS J R, et al. Sodium glucose transporter 2 (SGLT2) inhibition with empagliflozin improves cardiac diastolic function in a female rodent model of diabetes[J]. Cardiovasc Diabetol, 2017, 16(1): 9.
- [9] GIBB A A, LAZAROPOULOS M P, ELROD J W. Myofibroblasts and fibrosis: mitochondrial and metabolic control of cellular differentiation [J]. Circ Res, 2020, 127(3): 427-447.
- [10] PACKER M, ANKER S D, BUTLER J, et al. Cardiovascular and renal outcomes with empagliflozin in heart failure [J]. N Engl J Med, 2020, 383(15): 1413-1424.
- [11] COWIE M R, FISHER M. SGLT2 inhibitors: mechanisms of cardiovascular benefit beyond glycaemic control[J]. Nat Rev Cardiol, 2020, 17(12): 761-772.
- [12] BRANCACCIO M, FRATTA L, NOTTE A, et al. Melusin, a muscle-specific integrin  $\beta$ 1-interacting protein, is required to prevent cardiac failure in response to chronic pressure overload [J]. Nat Med, 2003, 9(1): 68-75. (下转第 3975 页)

- therapies for reprogramming cells[J]. *Nano-medicine*, 2018, 13(16):2083-2098.
- [17] MOCANU C A, FUIOR E V, VOICU G, et al. P-selectin targeted RAGE-shRNA lipoplexes alleviate atherosclerosis-associated inflammation[J]. *J Control Release*, 2021, 338:754-772.
- [18] KIKUCHI S, PIRAINO G, O'CONNOR M, et al. Hepatocyte-specific deletion of AMPK $\alpha$ 1 results in worse outcomes in mice subjected to sepsis in a sex-specific manner[J]. *Front Immunol*, 2020, 11:210.
- [19] LUO M, MENG J, YAN J, et al. Role of the nucleotide-binding domain-like receptor protein 3 inflammasome in the endothelial dysfunction of early sepsis[J]. *Inflammation*, 2020, 43(4):1561-1571.
- [20] GURUSAMY M, NASSERI S, RAMPA D R, et al. Inhibition of microsomal prostaglandin E synthase-1 ameliorates acute lung injury in mice[J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1):340.
- [21] CUI N, LIANG Y, WANG J, et al. Minocycline attenuates oxidative and inflammatory injury in a intestinal perforation induced septic lung injury model via down-regulating lncRNA MAL-AT1 expression [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 100:108115.
- [22] KOTHARI N, BOGRA J, ABBAS H, et al. Tumor necrosis factor gene polymorphism results in high TNF level in sepsis and septic shock[J]. *Cytokine*, 2013, 61(2):676-681.
- [23] KHOWAILED A, YOUNAN S M, ASHOUR H, et al. Effects of ghrelin on sepsis-induced acute kidney injury: one step forward[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2015, 19(3):419-426.
- [24] JEONG J, KIM J, SEOK S H, et al. Indium oxide (In<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) nanoparticles induce progressive lung injury distinct from lung injuries by copper oxide (CuO) and nickel oxide (NiO) nanoparticles[J]. *Arch Toxicol*, 2016, 90(4):817 - 828.
- [25] TANG D, KANG R, ZEH H J, et al. High-mobility group box 1, oxidative stress, and disease[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14(7):1315-1335.
- [26] CHEN H, LI N, ZHAN X, et al. Capsaicin protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury through the HMGB1/NF- $\kappa$ B and PI3K/AKT/mTOR pathways [J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14:5291-5304.

(收稿日期:2022-01-18 修回日期:2022-05-08)

(上接第 3970 页)

- [13] ZHANG Y, LIN X, CHU Y, et al. Dapagliflozin: a sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor, attenuates angiotensin II-induced cardiac fibrotic remodeling by regulating TGF- $\beta$ 1/Smad signaling[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2021, 20(1):121.
- [14] CHO N, RAZIPOUR S E, MCCAIN M L. Featured article: TGF-beta1 dominates extracellular matrix rigidity for inducing differentiation of human cardiac fibroblasts to myofibroblasts [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2018, 243(7):601-612.
- [15] FRANGOIANNIS N G. Transforming growth factor-beta in myocardial disease[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2022, 19(7):435-455.
- [16] FRANGOIANNIS N G. The extracellular matrix in ischemic and nonischemic heart failure[J]. *Circ Res*, 2019, 125(1):117-146.
- [17] 马金, 丁春华. 心脏成纤维细胞与心肌纤维化[J]. *中华心血管病杂志*, 2014, 42(3):269-272.
- [18] SHINDE A V, HUMERES C, FRANGOIANNIS N G. The role of alpha-smooth muscle actin in fibroblast-mediated matrix contraction and remodeling[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(1):298-309.
- [19] SNIDER P, STANDLEY K N, WANG J, et al. Origin of cardiac fibroblasts and the role of periostin[J]. *Circ Res*, 2009, 105(10):934-947.
- [20] DANIELS A, VAN BILSEN M, GOLDSCHMEDING R, et al. Connective tissue growth factor and cardiac fibrosis [J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2009, 195(3):321-338.

(收稿日期:2022-09-06 修回日期:2022-10-22)