

## 基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002954

# 神经纤毛蛋白-1过表达对异丙肾上腺素诱导心衰大鼠的保护作用研究

蒋芳萍<sup>1</sup>, 赵玲<sup>1</sup>, 吴校伟<sup>1</sup>, 李 焜<sup>2</sup>, 赵天华<sup>1</sup>, 谢金洲<sup>1</sup>

(1. 三六三医院心血管内科, 成都 610041; 2. 成都市第六人民医院心血管内科, 成都 610051)

**【摘要】目的:**探究神经纤毛蛋白-1(neuropilin-1)过表达对异丙肾上腺素(isoproterenol, ISO)诱导的心衰大鼠心脏功能及心肌组织损伤的保护作用。**方法:**构建 neuropilin-1 过表达的腺病毒载体(Ad-neuropilin-1), 采用逆转录聚合酶链反应(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)结合 Western blot 检测过表达效率; 选取 60 只 SD 大鼠, 随机分为对照(control)组、ISO 组、ISO+Ad(阴性对照)组和 ISO+Ad-neuropilin-1 组, 除 control 组外各组采用皮下注射 ISO 制成心衰大鼠模型, 检测各组大鼠心脏功能, 采用 RT-PCR 和酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测各组大鼠心损标记物、炎症因子水平, HE 染色、缺口末端标记法(TdT-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL)染色观察心肌细胞凋亡情况, Western blot 检测增殖细胞相关抗原 Ki-67 和半胱天冬酶(cysteine aspartase-3, Cas3)的表达。**结果:**相比 control 组, ISO+Ad-neuropilin-1 组 neuropilin-1 mRNA 和蛋白表达均升高( $P<0.05$ ); 相比 control 组, ISO 组大鼠心率(heart rate, HR)、左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、左室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening, LVFS)、neuropilin-1、Ki-67 蛋白表达水平均明显降低, 血清心肌肌钙蛋白(cardiac troponin, cTnI)、肌酸激酶(creatine kinase, CK)、肌酸激酶同工酶(creatine kinase-MB, CK-MB)、一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)和白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)mRNA 水平、心肌细胞凋亡率、cleaved caspase-3/Cas3 水平明显升高( $P<0.05$ ); 相比 ISO 组, ISO+Ad-neuropilin-1 组 HR、LVFS、LVEF、neuropilin-1、Ki-67 蛋白相对表达明显升高, cTnI、CK、CK-Mb、iNOS、IL-10 mRNA 及外周血含量、心肌细胞凋亡率、cleaved caspase-3/Cas3 水平均明显降低( $P<0.05$ )。**结论:**neuropilin-1 过表达可抑制 ISO 诱导的心衰大鼠心肌细胞凋亡及炎症反应, 改善其心脏功能。

**【关键词】**心衰; 神经纤毛蛋白-1; 免疫失调; 异丙肾上腺素; 心脏功能**【中图分类号】**R542.2**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2020-06-08

## Protective effect of neuropilin-1 overexpression on isoproterenol-induced heart failure in rats

Jiang Fangping<sup>1</sup>, Zhao Ling<sup>1</sup>, Wu Xiaowei<sup>1</sup>, Li Yun<sup>2</sup>, Zhao Tianhua<sup>1</sup>, Xie Jinzhou<sup>1</sup>

(1. Department of Cardiovascular Medicine, The 363th Hospital; 2. Department of Cardiovascular Medicine, Chengdu Sixth People's Hospital)

**【Abstract】Objective:** To explore the protective effect of neuropilin-1 overexpression on cardiac function and against myocardial tissue injury in rats with isoproterenol(ISO) induced heart failure(HF). **Methods:** The adenovirus vector of neuropilin-1 overexpression(Ad-neuropilin-1) was constructed. The overexpression efficiency was detected by reverse transcription polymerase chain reaction(RT-PCR) and Western blot. Sixty SD rats were enrolled and randomly divided into control group, ISO group, ISO+Ad group(negative control group) and ISO+Ad-neuropilin-1 group. Except control group, subcutaneous injection of ISO was conducted to prepare HF rats models. The cardiac function in each group was detected. The levels of myocardial damage markers and inflammatory factors in each group were detected by RT-PCR and enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). The apoptosis of myocardial cells was observed by HE staining and TdT-mediated dUTP nick end labeling(TUNEL) staining. The expression of proliferation cells related antigen Ki-67 and cysteine aspartase-3(Cas3) was detected by Western blot. **Results:** Compared with control group, neuropilin-1 mRNA and protein in ISO+Ad-neuropilin-1 group were increased( $P<0.05$ ). Compared with control group, heart rate(HR), left ventricular ejection fraction(LVEF), left ventricular fractional shortening(LVFS), and expression levels of neuropilin-1 and Ki-67 proteins were significantly decreased in ISO group, while levels of serum cardiac troponin(cTnI), creatine kinase(CK), creatine kinase-MB(CK-MB), inducible nitric oxide synthase(iNOS) and interleukin-10(IL-10) mRNA, apoptosis rate of myocardial cells

作者介绍: 蒋芳萍, Email: jfp363@126.com,

研究方向: 心血管内科。

基金项目: 四川省卫计委科研资助项目(编号: 17PJ1183)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20211221.1314.004.html>

(2021-12-23)

and level of cleaved caspase-3/Cas3 were significantly increased( $P<0.05$ ). Compared with ISO group, HR, LVFS, LVEF, and relative expression of neuropilin-1 and Ki-67 proteins in ISO+Ad-neuropilin-1 group were significantly increased, while cTnI, CK, CK-Mb, iNOS, content of peripheral blood IL-10 mRNA,

apoptosis rate of myocardial cells, and level of cleaved caspase-3/Cas3 were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Neuropilin-1 overexpression can inhibit cardiomyocytes apoptosis and inflammation response in rats with ISO-induced HF, and improve their cardiac function.

**[Key words]** heart failure; neuropilin-1; immune disorder; isoproterenol; cardiac function

心力衰竭(heart failure, HF)是各种心血管疾病的终末阶段,同时也是死亡的最主要原因<sup>[1]</sup>。HF 是一个复杂、连锁、动态的过程,这个病理生理过程涉及多种神经激素和细胞因子的共同作用,上述分子能对心脏和循环产生直接毒害作用,心肌损伤后细胞因子的连锁激动能对心脏血流动力学及后期的心室重塑产生重要影响<sup>[2-3]</sup>。患者发生心衰时,机体内免疫会出现失调、炎症反应、心肌细胞凋亡等现象<sup>[4]</sup>。神经纤毛蛋白-1(neuropilin-1)是目前研究较多的一种蛋白,研究显示,小 RNA-124-3p 可靶向 neuropilin-1,调节胶质母细胞瘤的增殖和凋亡,并在血管生成中有重要作用<sup>[5]</sup>。还有研究发现,neuropilin-1 可通过 Toll 样受体 4-核因子  $\kappa$ B 通路,调控白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)等炎症因子水平,参与脓毒症的发生发展<sup>[6]</sup>。由此推测,在大鼠心肌损伤中,neuropilin-1 可以通过介导炎症因子保护大鼠心肌细胞。目前关于 neuropilin-1 在 HF 中的研究较少。本文观察了 neuropilin-1 过表达对异丙肾上腺素(isoproterenol, ISO)诱导的心衰大鼠心脏功能及心肌组织损伤的影响,以期为心肌损伤的治疗提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物 SPF 级 3 周龄 SD 大鼠 60 只,购自广东医学院实验动物中心,粤监证字 2018A029 号,本实验经过动物伦理委员会批准同意。

1.1.2 主要试剂 腺病毒空载体(Ad vector)和 neuropilin-1 过表达的腺病毒载体(Ad-neuropilin-1)由上海汉恒生物科技有限公司提供,一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)试剂盒购自上海纪宁酶联科技有限公司;肌酸激酶(creatine kinase, MB)、心肌肌钙蛋白(cardiac troponin, cTnI)试剂盒购自上海基免实业有限公司;iNOS、肌酸激酶同工酶(creatine kinase-MB, CK-MB)试剂盒购自安徽大千生物;neuropilin-1、增殖细胞相关抗原 Ki-67、切割后半胱天冬酶 3/半胱天冬酶 3(cleaved caspase-3/Cas3)单克隆抗体均购于美国 Santa Cruz 公司;HRP 羊抗兔 IgG 等二抗购自美国 Thermo 公司。

1.1.3 仪器 小动物 Medlab 生物信号采集系统购自南京美

易公司;彩色多普勒超声仪(型号:DW-T6)购自江苏大为医疗有限公司;全自动生化分析仪(型号:Sysmex-chemix-180)购自日本 Furuno Electric 公司;凝胶成像系统购于以色列 DNR 公司。

### 1.2 方法

1.2.1 建模、分组及处理 60 只大鼠适应性喂养 1 周,随机分为对照(control)组、ISO 组、ISO+Ad(阴性对照)组和 ISO+Ad-neuropilin-1 组,每组 15 只;除 control 组外,各组采用皮下注射 ISO 诱导制成心衰大鼠模型,注射剂量为 5 mg/kg,连续注射 7 d,连接小动物 Medlab 生物信号采集系统检测左室内压,当左室内压最大上升速率和左室内压最大下降速率降到正常值的 2/3 以下并维持 5 min 以上,且无上升倾向,可认定制作心衰模型成功,control 组注射等量生理盐水。ISO+Ad(阴性对照)组和 ISO+Ad-neuropilin-1 组建模前 24 h 于心肌表面选取 5 个注射点,分别注射 Ad vector 和 Ad-neuropilin-1,每个点注射 10  $\mu$ L,共 50  $\mu$ L,健康组和模型组注射等量生理盐水。

1.2.2 逆转录聚合酶链反应(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)检测 neuropilin-1 水平 取各组细胞总 RNA,测定 RNA 浓度和纯度后,反转录合成 cDNA 后 PCR 仪进行扩增,采用  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  法计算 RNA 的相对表达量,本实验以 GAPDH 为内参。取引物各 1  $\mu$ L。94 $^{\circ}$ C 变性 5 min,循环扩增 94 $^{\circ}$ C 20 s,退火 60 $^{\circ}$ C 20 s,延伸 72 $^{\circ}$ C 20 s,循环 35 次。GAPDH:上游引物:5'-CTCAGACACCATGGGAGGTGA-3',下游引物:5'-ATGATCTTGAGGCTGTGTCATA-3'。IL-10:上游引物:5'-CAATGGCATGGATCTCAAAG-3',下游引物:5'-CAGAGCAATGACTCCAAAGT-3'。neuropilin-1:上游引物:5'-TGTGTCCGTCGTGGATCTGA-3',下游引物:5'-TTGC-TGTTGAAGTCGCAGGAG-3'。

1.2.3 心脏功能检测 完成药物干预后 24 h,使用 DW-T6 彩色多普勒超声仪连接小动物 Medlab 生物信号采集系统检测各组大鼠心率(heart rate, HR)、左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)和左室短轴缩短率(left ventricular fraction shortening, LVFS)。

1.2.4 酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测各组大鼠心损标记物和炎症因子含量 完成大鼠心脏功能检测后从颈总动脉插管取血 0.5 mL,按照 ELISA 试剂盒操作说明书检测大鼠外周血 CK-MB、cTnI、MB、iNOS 及 IL-10 含量。

1.2.5 病理染色观察心肌组织损伤情况 完成大鼠心损标记物检测后断颈法处死大鼠,取大鼠心肌组织,常规进行 HE 染色和缺口末端标记法(TdT-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL)染色,400 倍镜下观察大鼠心肌细胞损伤和细胞凋亡状态。

1.2.6 Western blot 检测蛋白表达水平 取上述大鼠心肌组织提取总蛋白,使用 10%SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,半干法将蛋白转移到 PVDF 膜,置于 5%脱脂奶粉室温封闭 2 h 后加入各需要检测蛋白的一抗、二抗孵育 2 h,以 GADPH 为内参蛋白,采用显色液显色后行吸光度分析,计算各蛋白相对表达量。

### 1.3 统计学处理

采用 Sigma 3.5 软件。数据采用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。多组间比较使用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 法。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 RT-PCR 结合 Western blot 检测过表达效率结果

相比 control 组,ISO+Ad-neuropilin-1 组 neuropilin-1 mRNA 及蛋白相对表达明显升高(mRNA: $t=47.361, P<0.001$ ; 蛋白: $t=28.561, P<0.001$ );但 control 组和 ISO+Ad 组上述指标的比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表 1)。

表 1 RT-PCR 结合 Western blot 检测过表达效率结果 ( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

| 组别                    | neuropilin-1 mRNA            | neuropilin-1 蛋白              |
|-----------------------|------------------------------|------------------------------|
| control组              | 1.00 $\pm$ 0.00              | 0.20 $\pm$ 0.01              |
| ISO+Ad组               | 0.99 $\pm$ 0.10              | 0.02 $\pm$ 0.01              |
| ISO+Ad-neuropilin-1 组 | 4.60 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup> | 0.63 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup> |
| <i>F</i> 值            | 749.775                      | 866.765                      |
| <i>P</i> 值            | <0.001                       | <0.001                       |

注:a,与 control 组相比, $P<0.05$

### 2.2 大鼠心脏功能检测结果

相比 control 组,ISO 组大鼠 HR、LVFS 和 LVEF 水平均明显降低(HR: $t_0=7.717, P<0.001$ ; LVFS: $t_0=11.180, P<0.001$ ; LVEF: $t=16.194, P<0.001$ );相比 ISO 组,ISO+Ad-neuropilin-1

组大鼠 HR、LVFS 和 LVEF 水平均明显升高(HR: $t_0=5.898, P<0.001$ ; LVFS: $t_0=8.199, P<0.001$ ; LVEF: $t_0=11.211, P<0.001$ ),但 ISO+Ad 组上述指标无明显改变( $P>0.05$ )(表 2)。

### 2.3 心损标记物检测结果

相比 control 组,ISO 组大鼠 neuropilin-1 蛋白相对表达明显降低( $t_0=18.475, P=0.005$ ),cTnI、CK、CK-Mb 水平均明显升高(cTnI: $t_0=16.432, P<0.001$ ; CK: $t_0=17.100, P<0.001$ ; CK-Mb: $t=14.707, P<0.001$ );相比 ISO 组,ISO+Ad-neuropilin-1 组大鼠 neuropilin-1 蛋白相对表达明显升高( $t_0=10.970, P<0.001$ ),cTnI、CK、CK-Mb 水平均明显降低(cTnI: $t_0=10.954, P<0.001$ ; CK: $t_0=13.317, P<0.001$ ; CK-Mb: $t_0=7.930, P<0.001$ ),但 ISO+Ad 组上述指标均无明显改变( $P>0.05$ )(表 3)。

### 2.4 外周血炎症因子检测结果

相比 control 组,ISO 组大鼠 iNOS 和 IL-10 mRNA(iNOS: $t_0=30.341, P<0.001$ ; IL-10: $t_0=6.607, P<0.001$ )及外周血含量水平均明显升高(iNOS: $t_0=9.478, P<0.001$ ; IL-10: $t=3.880, P<0.001$ );相比 ISO 组,ISO+Ad-neuropilin-1 组大鼠 ISO 组大鼠 iNOS 和 IL-10 mRNA(iNOS: $t_0=22.756, P<0.001$ ; IL-10: $t_0=17.619, P<0.001$ )及外周血含量水平均明显降低(iNOS: $t_0=5.986, P<0.001$ ; IL-10: $t_0=12.609, P<0.001$ ),而 ISO+Ad 组上述指标均无明显改变( $P>0.05$ )(表 4)。

### 2.5 大鼠心肌组织损伤情况观察

HE 染色显示,control 组大鼠心肌组织、肌外膜、心肌纤维均正常且完整;ISO 组心肌纤维弯曲,肌红蛋白溶解,同时心肌肌细胞核固缩、溶解,肌束膜破裂;ISO+Ad-neuropilin-1 组大鼠心肌组织少量肌纤维断裂溶解弯曲(图 1)。相比 control 组,ISO 组大鼠心肌细胞凋亡率( $t_0=16.196, P<0.001$ ),cleaved caspase-3/Cas3 水平明显升高( $t_0=18.373, P<0.001$ ),Ki-67 蛋白相对表达水平明显降低( $t_0=29.418, P<0.001$ );相比 ISO 组,ISO+Ad-neuropilin-1 组大鼠心肌细胞凋亡率( $t_0=14.084, P<0.001$ )和 cleaved caspase-3/Cas3 水平明显降低( $t_0=16.077, P<0.001$ ),Ki-67 蛋白相对表达水平明显升高( $t_0=22.732, P<0.001$ ),但 ISO+Ad 组上述指标均无明显改变( $P>0.05$ )(表 5)。

表 2 大鼠心脏功能检测结果 ( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

| 组别                   | HR/(beat·min <sup>-1</sup> )    | LVFS/%                        | LVEF/%                        |
|----------------------|---------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| control组             | 343.21 $\pm$ 27.00              | 22.00 $\pm$ 4.00              | 55.00 $\pm$ 5.00              |
| ISO组                 | 232.00 $\pm$ 38.00 <sup>a</sup> | 7.00 $\pm$ 2.00 <sup>a</sup>  | 16.00 $\pm$ 7.00 <sup>a</sup> |
| ISO+Ad组              | 236.00 $\pm$ 47.00              | 8.00 $\pm$ 3.00               | 15.00 $\pm$ 6.00              |
| ISO+Ad-neuropilin-1组 | 317.00 $\pm$ 43.00 <sup>b</sup> | 18.00 $\pm$ 5.00 <sup>b</sup> | 43.00 $\pm$ 8.00 <sup>b</sup> |
| <i>F</i> 值           | 30.774                          | 61.019                        | 137.328                       |
| <i>P</i> 值           | <0.001                          | <0.001                        | <0.010                        |

注:a,与 control 组相比, $P<0.05$ ;b:与 ISO+Ad 组相比, $P<0.05$

表 3 心损标记物检测结果 ( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

| 组别                   | neuropilin-1 蛋白              | cTnI/(ng·mL <sup>-1</sup> )  | CK/(ng·mL <sup>-1</sup> )       | CK-Mb/(U·L <sup>-1</sup> )      |
|----------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| control组             | 0.35 $\pm$ 0.06              | 0.11 $\pm$ 0.06              | 33.00 $\pm$ 18.00               | 22.00 $\pm$ 11.00               |
| ISO组                 | 0.03 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup> | 0.56 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup> | 146.00 $\pm$ 21.00 <sup>a</sup> | 124.00 $\pm$ 21.00 <sup>a</sup> |
| ISO+Ad组              | 0.03 $\pm$ 0.02              | 0.55 $\pm$ 0.08              | 143.00 $\pm$ 16.00              | 120.00 $\pm$ 25.00              |
| ISO+Ad-neuropilin-1组 | 0.22 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup> | 0.26 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup> | 58.00 $\pm$ 17.00 <sup>b</sup>  | 69.00 $\pm$ 16.00 <sup>b</sup>  |
| <i>F</i> 值           | 163.278                      | 131.733                      | 154.473                         | 96.532                          |
| <i>P</i> 值           | <0.001                       | <0.001                       | <0.001                          | <0.001                          |

注:a,与 control 组相比, $P<0.05$ ;b:与 ISO+Ad 组相比, $P<0.05$



表 4 外周血炎症因子检测结果 ( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

| 组别                   | iNOS                     |                             | IL-10                    |                             |
|----------------------|--------------------------|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|
|                      | mRNA                     | 血清含量/(pg·mL <sup>-1</sup> ) | mRNA                     | 血清含量/(pg·mL <sup>-1</sup> ) |
| control组             | 1.00 ± 0.00              | 32.00 ± 9.00                | 1.00 ± 0.00              | 4.00 ± 2.00                 |
| ISO组                 | 5.40 ± 0.40 <sup>a</sup> | 127.00 ± 36.00 <sup>a</sup> | 1.60 ± 0.20 <sup>a</sup> | 8.00 ± 1.70 <sup>a</sup>    |
| ISO+Ad组              | 5.50 ± 0.50              | 132.00 ± 31.00              | 1.54 ± 0.15              | 8.30 ± 3.00                 |
| ISO+Ad-neuropilin-1组 | 2.10 ± 0.47 <sup>b</sup> | 67.00 ± 26.00 <sup>b</sup>  | 3.20 ± 0.43 <sup>b</sup> | 21.00 ± 4.00 <sup>b</sup>   |
| F 值                  | 501.506                  | 46.616                      | 218.488                  | 102.520                     |
| P 值                  | <0.001                   | <0.001                      | <0.001                   | <0.001                      |

注:a,与 control 组相比, $P<0.05$ ;b:与 ISO+Ad 组相比, $P<0.05$

表 5 大鼠心肌组织损伤情况观察 ( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

| 组别                   | 细胞凋亡率/%                    | Ki-67/GADPH值             | cleaved caspase-3/GADPH 值 |
|----------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------|
| control组             | 2.00 ± 2.00                | 0.68 ± 0.10              | 0.01 ± 0.01               |
| ISO组                 | 48.00 ± 11.00 <sup>a</sup> | 0.02 ± 0.01 <sup>a</sup> | 0.33 ± 0.05 <sup>a</sup>  |
| ISO+Ad组              | 43.00 ± 9.00               | 0.02 ± 0.01              | 0.28 ± 0.07               |
| ISO+Ad-neuropilin-1组 | 8.00 ± 6.00 <sup>b</sup>   | 0.53 ± 0.07 <sup>b</sup> | 0.05 ± 0.04 <sup>b</sup>  |
| F 值                  | 138.079                    | 468.179                  | 170.714                   |
| P 值                  | <0.001                     | <0.001                   | <0.001                    |

注:a,与 control 组相比, $P<0.05$ ;b:与 ISO+Ad 组相比, $P<0.05$

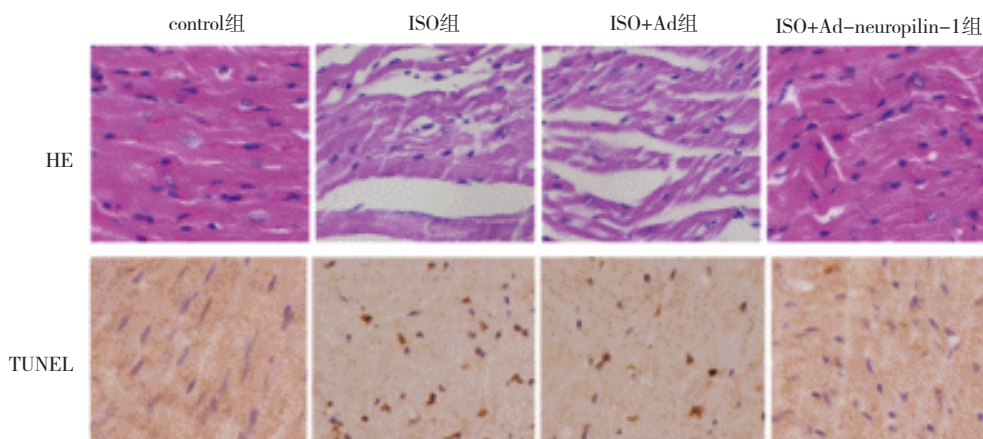


图 1 HE 染色结合 TUNEL 染色观察大鼠心肌组织损伤情况 (400 ×)

### 3 讨论

心肌缺血再灌注损伤会出现心律失常,同时相应血流动力学也会受到影响<sup>[7]</sup>。检测心功能的血流动力学主要指标包括 HR、LVFS、左心室收缩压(left ventricular systolic pressure, LVSP)、LVEF。HR 指心脏每分钟跳动的次数<sup>[8]</sup>。LVFS 是左心室舒张末期的内径减去左心室收缩末期内径与左心室舒张末期内径的百分比,可以有效反映心脏收缩和舒张能力<sup>[9]</sup>。LVEF 是每搏输出量占心室舒张末期容积量的百分比,可以有效反映心脏收缩能力<sup>[10]</sup>。本研究发现,相比 ISO 组,ISO+Ad-neuropilin-1 组大鼠 HR、LVFS

和 LVEF 水平均明显升高,说明 neuropilin-1 过表达可以有效改善大鼠心脏功能。

目前常见的心肌损伤的生物标志物主要包括 Mb、CK-MB、MB 和 cTnI<sup>[11]</sup>。周伟梁等<sup>[12]</sup>、Liebetrau C 等<sup>[13]</sup>的研究显示,当心肌细胞受损时,上述蛋白会通过破裂的细胞迅速释放到细胞外,因此可以作为心肌损伤的生物标志物。cTnI 是一种在心肌细胞中的含量丰富的特殊蛋白质,当心肌受损时,cTnI 则会释放,随后进入血液循环系统,使得外周血中 cTnI 含量水平升高<sup>[14]</sup>。本研究发现,相比 ISO 组,ISO+Ad-neuropilin-1 组大鼠 neuropilin-1 蛋白相对表达明显升高,CK-Mb、cTnI、Mb 水平均明显降低。说明 neuropilin-1 过表达可以有效降低大鼠血清内的心损标

记物,这可能是因为过表达 neuropilin-1 可以有效保护心脏组织,防止心肌细胞破裂,抑制心肌细胞中的心损标记物释放到血液中。蒋鲁生等<sup>[15]</sup>研究表明,当外周血中心损标记物 Mb、CK-MB、MB 和 cTnI 降低,说明心肌损伤明显改善,与本研究结论一致。

患者发生心衰时机体内免疫会出现炎症反应,炎症因子分为促炎因子和抑炎因子<sup>[16]</sup>。目前研究较多的促炎因子由单核细胞和巨噬细胞和非免疫细胞等分泌,包括肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ )、IL-1 $\beta$ 、iNOS 等<sup>[17]</sup>。抑炎因子由主要由 TH2 细胞分泌,主要包括 IL-10、IL-4、IL-13 等<sup>[18]</sup>。Ma YS 等<sup>[19]</sup>研究显示,内皮细胞中 neuropilin-1 可调控促炎因子高迁移率族蛋白 1 的表达,参与血管内皮炎症。本研究发现,相比 ISO 组,ISO+Ad-neuropilin-1 组大鼠 ISO 组大鼠 iNOS 和 IL-10 mRNA 及外周血含量水平均明显降低。说明当大鼠体内 neuropilin-1 过表达有效降低了炎症因子的水平,提高了抑炎因子的水平,大鼠体内的炎症明显改善。

抑制大鼠心衰后心肌细胞的凋亡也可以有效保护大鼠心脏功能。Ki-67 是一种重要的增殖相关蛋白,当 Ki-67 高表达时,细胞有丝分裂加速,细胞增殖加速<sup>[20]</sup>。caspase-3 是 caspase 家族中主要执行凋亡基因,其高表达说明细胞处于凋亡阶段<sup>[21]</sup>。本研究通过 Western blot 发现,相比 ISO 组,ISO+Ad-neuropilin-1 组大鼠心肌细胞凋亡率和 cleaved caspase-3/Cas3 水平明显降低,Ki-67 蛋白相对表达水平明显升高。这一结果说明大鼠体内 neuropilin-1 过表达可以有效增加大鼠体内增殖相关蛋白的表达,抑制凋亡蛋白的表达,使大鼠心肌细胞凋亡受抑制。宋湖平等<sup>[22]</sup>研究表明,neuropilin-1 蛋白可以有效抑制神经细胞凋亡,与本研究结论一致。

综上所述,neuropilin-1 过表达可以抑制异丙肾上腺素诱导的心衰大鼠心肌细胞凋亡及炎症反应,有效改善心脏功能。

## 参 考 文 献

- [1] Lüscher TF. The London PCHF: a new postgraduate course on heart failure[J]. *Cardiol J*, 2019, 26(2): 109–113.
- [2] 杨明明,陈立娟,马根山.  $\beta$  阻滞药治疗射血分数降低心力衰竭合并中重度肾功能不全患者的有效性:BB-meta-HF 荟萃分析解读[J]. *中国介入心脏病学杂志*, 2019, 27(9): 533–536.
- [3] 廖梦阳,袁 璟,廖玉华. 开启心力衰竭治疗的新纪元:3 类神经激素拮抗剂的应用[J]. *临床心血管病杂志*, 2019, 35(7): 583–585.
- [4] 纪焕文,赵 胖,张金盈. 肿瘤坏死因子- $\alpha$  诱导蛋白 8 样分子 2 对慢性心力衰竭大鼠心肌细胞凋亡的影响及其机制[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2019, 33(3): 224–227.

- [5] Zhang GL, Chen LK, Khan AA, et al. miRNA-124-3p/neuropilin-1(NRP-1) axis plays an important role in mediating glioblastoma growth and angiogenesis[J]. *Int J Cancer*, 2018, 143(3): 635–644.
- [6] Dai XY, Okon I, Liu ZY, et al. A novel role for myeloid cell-specific neuropilin 1 in mitigating Sepsis[J]. *FASEB J*, 2017, 31(7): 2881–2892.
- [7] 蔡茜茜,徐旭仲. 度洛西汀对大鼠心肌缺血再灌注心律失常的影响及机制[J]. *医学研究杂志*, 2018, 47(4): 19–23.
- [8] 方英伦,李会芳,吕誉芳,等. 非心肺转流冠状动脉旁路移植术中心脏循环效率变化趋势的分析[J]. *临床麻醉学杂志*, 2018, 34(10): 979–983.
- [9] 王婉婷,冯照强,白静慧. 外源性促红细胞生成素对压力超负荷引起的小鼠左心功能障碍的保护作用[J]. *解剖科学进展*, 2018, 24(2): 177–180.
- [10] 李 燕,黄凌波,付 兵,等. 心脏磁共振 T1 Mapping 技术和 ECV 评估扩张型心肌病心肌纤维化应用分析[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2018, 10(2): 185–189.
- [11] 李 硕,梁 晴,翟秀娟. 急性冠脉综合征患者心肌损伤标志物 cTnI、CK-MB、Fib 表达与意义[J]. *临床输血与检验*, 2018, 20(1): 73–75.
- [12] 周伟梁,曾凡杰,秦伟毅,等. 心肌损伤标志物检测在诊断病毒性心肌炎中的价值[J]. *现代预防医学*, 2015, 42(23): 4406–4408.
- [13] Liebetrau C, Kim WK, Meyer A, et al. Identification of periprocedural myocardial infarction using a high-sensitivity troponin I assay in patients who underwent transcatheter aortic valve implantation[J]. *Am J Cardiol*, 2017, 120(7): 1180–1186.
- [14] 武旖旎,李东丽,余小燕,等. PI3K/Akt 通路介导自噬在七氟烷后处理阿霉素心肌细胞损伤中的研究[J]. *中华全科医学*, 2017, 15(1): 17–19.
- [15] 蒋鲁生,蔡卫东. 心电图联合不同心肌损伤标志物在疑似急性冠脉综合征患者快速诊断中的应用[J]. *山东医药*, 2020, 60(31): 82–85.
- [16] 张淑艳,申 洁,赵文慧. 老年慢性心力衰竭患者肺部感染后血清胆碱酯酶和胱抑素 C 及炎症因子分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(3): 365–368.
- [17] 张跃军,蒋传好,肖鹏程,等. 梅毒螺旋体膜蛋白 Tp0971 激活 MAPKs 和 NF- $\kappa$ B 诱导巨噬细胞分泌 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$ [J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(5): 545–548.
- [18] 金永龙,刘希光,肖文静,等. 普通小麦对 OVA 诱导小鼠过敏反应的抑制作用及机制[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2018, 38(8): 572–581.
- [19] Ma YS, Zhang Z, Chen RT, et al. NRP1 regulates HMGB1 in vascular endothelial cells under high homocysteine condition[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2019, 316(5): H1039–H1046.
- [20] 李小红,魏浩翰,李晟磊,等. Yes 相关蛋白和程序性细胞死亡因子 4 及细胞增殖核抗原 Ki-67 与皮肤鳞状细胞癌的相关性[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2019, 33(1): 22–25.
- [21] 胥 丹,姜淮芜,蒲 羽. 靶向 PDCD5-Caspase-3 融合基因过表达对 HepG2 肝癌细胞增殖与凋亡的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2018, 28(24): 22–26.
- [22] 宋湖平,钟 昕,林 堃. 小干扰 RNA 介导神经纤毛蛋白-1 对西地尼布治疗脑胶质细胞瘤细胞学功能的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2019, 35(10): 1014–1017.

(责任编辑:冉明会)