

# PNU282987对小鼠心脏重塑的改善作用及对JAK2/STAT3信号通路的影响<sup>△</sup>

方欢乐<sup>1\*</sup>, 李晓明<sup>1</sup>, 倪敏崑<sup>1</sup>, 赵玉文<sup>1</sup>, 杨永华<sup>2#</sup>(1. 西安培华学院医学院, 西安 710125; 2. 西安交通大学第一附属医院儿科, 西安 710061)

中图分类号 R542.2;R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)10-1246-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.10.15

**摘要** 目的:研究 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体激动剂PNU282987对小鼠心脏重塑的改善作用及对Janus激酶2/信号转导及转录激活因子3(JAK2/STAT3)信号通路的影响。方法:将雄性昆明种小鼠随机分为正常对照组、模型组、普萘洛尔组(阳性对照,灌胃40 mg/kg)和PNU282987低、中、高剂量组(腹腔注射0.5、1.0、3.0 mg/kg),每组10只。除正常对照组外,其余各组小鼠皮下注射异丙肾上腺素(ISO, 30 mg/kg)7天以复制心脏重塑模型;各给药组小鼠均于ISO注射30 min后给予相应药液,每天1次,连续7天。末次给药12 h后,检测各组小鼠左室射血分数(EF)和左室短轴缩短率(FS),计算全心质量指数(HMI),观察其心肌组织形态学特征,测定血清中乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素6(IL-6)含量和细胞间黏附分子1(ICAM-1)、血管细胞黏附分子1(VCAM-1)蛋白表达水平,检测心肌组织中磷酸化JAK2(p-JAK2)/JAK2、磷酸化STAT3(p-STAT3)/STAT3比值。结果:与正常对照组比较,模型组小鼠EF、FS均显著降低,HMI、LDH、CK、TNF- $\alpha$ 、IL-6含量,ICAM-1、VCAM-1蛋白表达水平和p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3比值均显著升高( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),心肌间质蓝色胶原沉积明显,纤维化程度较重。与模型组比较,PNU282987中、高剂量组和普萘洛尔组小鼠EF、FS均显著升高,HMI(PNU282987中剂量组除外),LDH(PNU282987中剂量组除外)、CK、TNF- $\alpha$ 、IL-6含量,ICAM-1、VCAM-1蛋白表达水平和p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3比值均显著降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),心肌间质蓝色胶原沉积明显减少,心肌纤维化程度明显降低;而PNU282987低剂量组小鼠上述指标变比较差异无明显变化( $P > 0.05$ )。结论:PNU282987可改善小鼠的心脏重塑,其机制可能与抑制JAK2/STAT3信号通路有关。

**关键词** PNU282987;异丙肾上腺素;心脏重塑;抗炎作用;Janus激酶2/信号转导及转录激活因子3信号通路;小鼠

## Effects of PNU282987 on Improving Cardiac Remodeling and JAK2/STAT3 Signaling Pathway

FANG Huanle<sup>1</sup>, LI Xiaoming<sup>1</sup>, NI Minmin<sup>1</sup>, ZHAO Yuwen<sup>1</sup>, YANG Yonghua<sup>2</sup>(1. Medical College, Xi'an Peihua University, Xi'an 710125, China; 2. Dept. of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To study the effects of  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor agonists (PNU282987) on improving cardiac remodeling of mice and Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 (JAK2/STAT3) signaling pathway. **METHODS:** Male Kunming mice were randomly divided into normal control group, model group, propranolol group (positive control, i.g. 40 mg/kg) and PNU282987 low-dose, medium-dose and high-dose groups (intraperitoneal injection of 0.5, 1.0, 3.0 mg/kg), with 10 mice in each group. Except for the normal control group, mice in the other groups were given isoproterenol (ISO, 30 mg/kg) subcutaneously for 7 days to induce the cardiac remodeling model. After 30 minutes of ISO injection, administration groups were given relevant liquid, once a day, for 7 consecutive days. Twelve hours after last administration, the left ventricular ejection fraction (EF) and left ventricular short axis shortening rate (FS) of mice in each group were measured, and the whole heart mass index (HMI) was calculated; the pathological changes of myocardium were observed. The serum contents of lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase (CK), tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin 6 (IL-6), the protein expression of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) and adhesion molecule 1 (VCAM-1) were also determined. The ratios of p-JAK2/JAK2, p-STAT3/STAT3 in myocardial tissue were detected. **RESULTS:** Compared with normal control group, EF and FS of model group were significantly reduced, HMI, the contents of LDH, CK, TNF- $\alpha$  and IL-6, the protein expression of ICAM-1 and VCAM-1, the ratio of p-JAK2/JAK2 and p-STAT3/STAT3 were increased significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ); blue collagen deposition in the interstitium of myocardium was obvious, and the degree of fibrosis was severe. Compared with model group, the EF and FS of the mice in the PNU282987 medium-dose and high-dose groups were increased significantly, HMI (except for PNU282987

<sup>△</sup> 基金项目:陕西省重点研发计划项目(No.2021SF-362);西安培华学院校级重点课题(No.PHKT19010);西安培华学院大学生创新创业项目(No.PHDC2020045)

\* 副教授, 硕士。研究方向:心血管药理学。电话:029-85680271。E-mail:43599079@qq.com

# 通信作者:副主任医师, 博士。研究方向:心血管药理学。电话:029-85323820。E-mail:yyhflower@126.com

medium-dose group), the contents of LDH (except for PNU282987 medium-dose group), CK, TNF- $\alpha$  and IL-6, the protein expression of ICAM-1 and VCAM-1, the ratio of p-JAK2/JAK2 and p-STAT3/STAT3 were decreased significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ); blue collagen deposition in the myocardial interstitium was significantly reduced, and the degree of myocardial fibrosis was significantly reduced. There was no significant difference in the comparison of the above indicators in PNU282987 low-dose group ( $P > 0.05$ ). CONCLUSIONS: PNU282987 can improve cardiac remodeling of mice, the mechanism of which may be associated with inhibiting JAK2/STAT3 signaling pathway.

**KEYWORDS** PNU282987; Isoproterenol; Cardiac remodeling; Anti-inflammatory effect; JAK2/STAT3 signaling pathway; Mice

常见的心血管疾病包括高血压、冠心病等,其发展为心力衰竭的重要原因是发生了心脏重塑<sup>[1]</sup>。因此,减缓或者逆转患者心脏重塑是临床治疗心血管疾病的重点<sup>[2]</sup>。心脏重塑的发生涉及心脏多种病理改变,如心脏指数增加、心肌肥厚及纤维化、心肌细胞凋亡等<sup>[3]</sup>。目前,靶向心脏重塑的治疗虽可延缓心血管疾病患者出现心力衰竭,但是在多数情况下,其病情仍在持续进展,故迫切需要寻找一种创新的治疗方法<sup>[4]</sup>。可见,深入探究心脏重塑的分子机制、寻求新的治疗靶点对于有效改善心血管患者病情具有重要意义。

已有研究发现,激活各种炎症因子[肿瘤坏死因子 $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素6(IL-6)等]和炎症反应信号通路可导致持续性心脏损伤,引发心脏重塑和心力衰竭,由此推测拮抗炎症受体、信号通路和下游炎症因子可能具有抑制心脏重塑的作用<sup>[5-6]</sup>。Janus激酶2/信号转导及转录激活因子3(JAK2/STAT3)信号通路是炎症反应中的经典通路,而 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体( $\alpha 7$ nAChR)是炎症反应的重要调节因子,可通过调节JAK2/STAT3信号通路抑制炎症因子而发挥抗炎作用<sup>[7-9]</sup>。已有研究表明, $\alpha 7$ nAChR的激活可对多种疾病产生保护作用,包括败血症、关节炎等<sup>[10]</sup>。PNU282987是一种特异性 $\alpha 7$ nAChR激动剂,其可通过激活死亡受体信号通路来减少炎症细胞凋亡,抑制内毒素血症、脓毒血症及心肌缺血再灌注损伤等炎症反应<sup>[11]</sup>。但其抗炎作用是否与抑制JAK2/STAT3抗炎通路有关尚不清楚。基于此,本研究探讨了PNU282987对小鼠心脏重塑的改善作用及对JAK2/STAT3信号通路的影响,旨在为探索改善心脏重塑的新方法提供参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括Vivid E9型心动超声仪(美国GE公司)、Power Pac Basic型电泳仪(配套蛋白凝胶转印模块)、iMark型全自动酶标仪和Biorad Chemi-Doc MP凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司)、XSP-9Z型数码相机型生物显微镜(上海测维光电技术有限公司)、TG16-WS型离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司)等。

### 1.2 主要药品和试剂

PNU282987水合物(货号P6499,纯度 $\geq 98\%$ )和异

丙肾上腺素原料药(ISO,批号I5627,纯度99%)均购自美国Sigma公司;盐酸普萘洛尔片(批号20170916,规格10 mg)购自天津力生制药股份有限公司;氯化钠注射液(批号20180116,规格100 mL:0.9 g;作生理盐水用)购自山东康宁药业有限公司;水合氯醛(批号20181021)购自国药集团上海有限公司;Masson染色液(批号20191125)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)试剂盒(批号分别为20191215、20191216)、IL-6、TNF- $\alpha$ 、细胞间黏附分子1(ICAM-1)和血管细胞黏附分子1(VCAM-1)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号分别为20191212、20191217、20200712、20200715)和BCA蛋白定量试剂盒(批号20200621)均购自南京建成生物工程研究所;RIPA裂解液、苯甲基磺酰氟(PMSF)蛋白酶抑制剂(批号分别为G2002-100、G2008-01D)均购自武汉赛维尔生物技术有限公司;ECL增强化学发光试剂(批号P90720)购自美国Millipore公司;预染蛋白Marker(批号ab116027,片段长度10~170 kDa)以及兔源JAK2、磷酸化JAK2(p-JAK2)、STAT3、磷酸化STAT3(p-STAT3)多克隆抗体和小鼠源甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)多克隆抗体(批号分别为ab32101、ab200339、ab32101、ab76315、ab82633)均购自美国Abcam公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记的免疫球蛋白G(IgG)二抗(批号141987)购自武汉三鹰生物技术有限公司;其余试剂均为国产分析纯,水为纯化水。

### 1.3 动物

昆明种雄性小鼠,8~10周龄,体质量25~30 g,由西安交通大学实验动物中心提供,动物使用许可证号为SYXK(陕)2018-001。所有小鼠均饲养在温度(22 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C、相对湿度(55 $\pm$ 15)%、12 h/12 h交替暗/光循环的动物房内,并自由摄食、饮水。

## 2 方法

### 2.1 分组、建模与给药

所有小鼠适应性喂养1周后,将其随机分为正常对照组、模型组、普萘洛尔组(阳性对照,灌胃40 mg/kg,以生理盐水为溶剂<sup>[12]</sup>)和PNU282987低、中、高剂量组(腹腔注射0.5、1.0、3.0 mg/kg,以生理盐水为溶剂<sup>[13]</sup>),每组10只。除正常对照组外,其余各组小鼠采用皮下注射ISO(30 mg/kg,以生理盐水为溶剂,给药体积为0.01 mL/g)7天的方法复制心脏重塑模型。正常对照组小鼠每天腹

腔注射等体积生理盐水,连续7天。于皮下注射 ISO 30 min后,普萘洛尔组小鼠灌胃相应药液,PNU282987各剂量组小鼠腹腔注射相应药液,模型组小鼠腹腔注射等体积生理盐水,给药体积均为0.01 mL/g,每天1次,持续7天。

## 2.2 小鼠心功能检测

末次给药12 h后,经鼻饲异氟烷(诱导浓度2%~3%)麻醉各组小鼠,经心动超声仪检测各组小鼠的左室射血分数(EF)和左室短轴缩短率(FS),每组原始数据取连续4个心动周期的平均值作为结果。

## 2.3 小鼠全心质量指数检测

心功能检测结束并待小鼠苏醒后,称定各组小鼠体重(BW);腹腔注射10%水合氯醛溶液(0.01 mL/g)进行麻醉,于腹主动脉取血1 mL后,处死,迅速取出心脏,用磷酸盐缓冲液(PBS,pH 7.4)清洗残血,滤纸吸干后称定质量记作全心质量(HM),计算全心质量指数(HMI): $HMI=HW(mg)/BW(g)$ 。

## 2.4 小鼠心肌组织形态学观察

取各组小鼠心脏近心尖处一半的心肌组织,用10%甲醛溶液迅速固定24 h后,常规石蜡包埋,制成厚约5  $\mu$ m的切片,进行Masson染色后,使用生物显微镜观察其心肌组织形态学变化。

## 2.5 小鼠血清指标检测

取“2.3”项下各组小鼠腹主动脉血适量,以3 500 r/min离心20 min后,分离血清,采用生化法以全自动酶标仪测定各组小鼠血清中LDH、CK含量,采用ELISA法以全自动酶标仪测定血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6含量和ICAM-1、VCAM-1蛋白表达水平,严格按照相应试剂盒说明书方法操作。

## 2.6 小鼠心脏组织中JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3蛋白表达检测

采用Western blot法进行检测。称取各组小鼠心脏组织0.5 mg,加入RIPA裂解液后研磨,于4  $^{\circ}$ C下以12 000 r/min离心15 min,取少量上清蛋白,采用BCA法测定蛋白含量,剩余蛋白加入Loading buffer并在100  $^{\circ}$ C下变性10 min,分装,于-80  $^{\circ}$ C保存,备用。取变性蛋白适量,经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,以湿法转移至PVDF膜上,用5%脱脂牛奶室温封闭后,加入JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3、GAPDH一抗(JAK2和STAT3的稀释比例为1:200,p-JAK2和p-STAT3的稀释比例为1:500,GAPDH的稀释比例为1:5 000),室温孵育1~2 h后,于4  $^{\circ}$ C过夜;用TBST溶液洗膜后,加入HRP标记的IgG二抗(稀释比例为1:5 000),室温孵育1 h;用TBST溶液洗膜后,用ECL试剂显色,置于凝胶成像系统成像。使用Gel-Pro Analyzer 4.0软件进行分析,以目标蛋白与内参GAPDH灰度值的比值评价目标蛋白表达水平,以

p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 比值表示 JAK2、STAT3 磷酸化水平。实验重复3次。

## 2.7 统计学方法

采用SPSS 16.0软件对数据进行统计分析。计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 PNU282987对心脏重塑模型小鼠心功能和HMI的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠EF、FS均显著降低,HMI显著升高( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。与模型组比较,PNU282987中、高剂量组和普萘洛尔组小鼠EF、FS均显著升高,PNU282987高剂量组和普萘洛尔组小鼠HMI均显著降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),而PNU282987低剂量组上述指标均无明显变化( $P > 0.05$ ),详见表1。

表1 PNU282987对心脏重塑模型小鼠心功能和HMI的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Tab 1 Effects of PNU282987 on cardiac function and HMI in cardiac remodeling model mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	EF, %	FS, %	HMI, mg/g
正常对照组	71.60 $\pm$ 6.60	36.00 $\pm$ 4.42	4.48 $\pm$ 0.45
模型组	60.93 $\pm$ 2.89 <sup>*</sup>	29.95 $\pm$ 4.41 <sup>*</sup>	5.27 $\pm$ 0.63 <sup>**</sup>
PNU282987低剂量组	66.43 $\pm$ 6.78	33.28 $\pm$ 3.25	5.14 $\pm$ 0.35
PNU282987中剂量组	68.47 $\pm$ 7.01 <sup>#</sup>	35.58 $\pm$ 5.34 <sup>#</sup>	4.99 $\pm$ 0.53
PNU282987高剂量组	72.77 $\pm$ 6.14 <sup>##</sup>	38.18 $\pm$ 7.37 <sup>##</sup>	4.40 $\pm$ 0.80 <sup>#</sup>
普萘洛尔组	72.63 $\pm$ 5.25 <sup>##</sup>	37.85 $\pm$ 5.80 <sup>##</sup>	4.16 $\pm$ 0.67 <sup>##</sup>

注:与正常对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ; vs. model group,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$

### 3.2 PNU282987对心脏重塑模型小鼠心肌组织形态学的影响

正常对照组小鼠心肌纤维均匀致密、排列整齐,心肌间质蓝色胶原沉积少。模型组小鼠肌束纤维排列紊乱,心肌间质蓝色胶原沉积明显,纤维化程度较重。与模型组比较,PNU282987低、中、高剂量组和普萘洛尔组小鼠心肌间质蓝色胶原沉积均有所减少,心肌纤维化程度均有所降低,其中PNU282987高剂量组和普萘洛尔组改善更为明显,详见图1。

### 3.3 PNU282987对心脏重塑模型小鼠血清中LDH、CK含量的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠血清中LDH、CK含量均显著升高( $P < 0.01$ )。与模型组比较,PNU282987高剂量组和普萘洛尔组小鼠血清中LDH以及PNU282987中、高剂量组和普萘洛尔组小鼠血清中CK含量均显著降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),而PNU282987低剂量组上述指标均无明显变化( $P > 0.05$ ),详见表2。

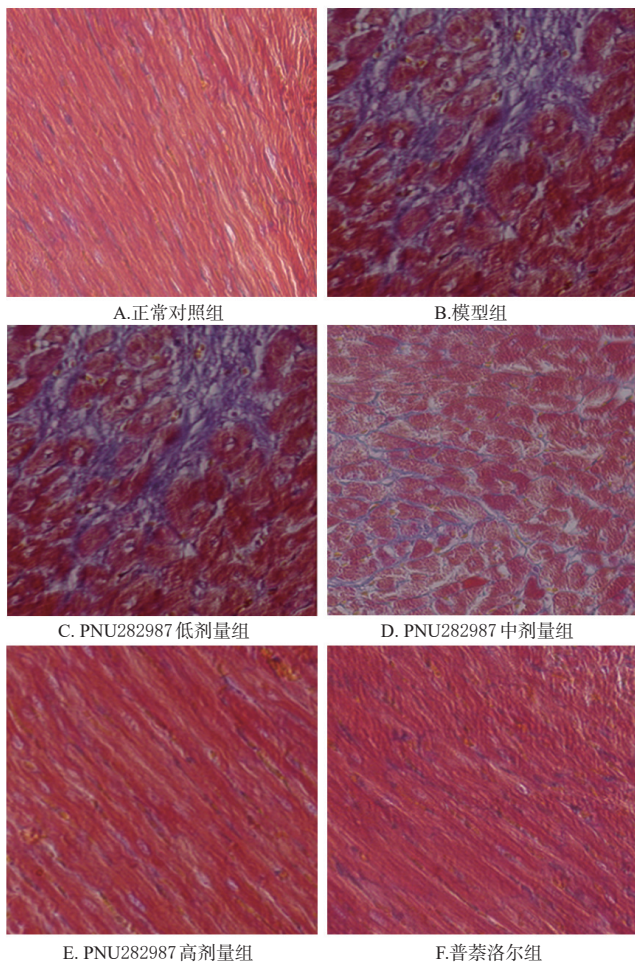


图1 PNU282987对心脏重塑模型小鼠心肌组织形态学影响的显微图(Masson染色,×400)

Fig 1 Micrographs of the effects of PNU282987 on pathological changes of cardiac tissue of cardiac remodeling model mice (Masson staining,×400)

表2 PNU282987对心脏重塑模型小鼠血清中LDH、CK含量的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Tab 2 Effects of PNU282987 on the serum contents of LDH and CK in cardiac remodeling model mice( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	LDH,U/L	CK,U/L
正常对照组	401.13±136.95	1 275.61±371.33
模型组	619.06±116.61**	2 059.31±768.36**
PNU282987低剂量组	502.11±279.41	1788.28±746.07
PNU282987中剂量组	461.75±179.38	1 468.28±379.60 <sup>#</sup>
PNU282987高剂量组	409.25±99.39 <sup>##</sup>	1 316.92±380.42 <sup>#</sup>
普萘洛尔	399.04±93.74 <sup>##</sup>	1 289.85±278.07 <sup>##</sup>

注:与正常对照组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ,<sup>##</sup> $P<0.01$

Note: vs. normal control group, \*\* $P<0.01$ ; vs. model group, <sup>#</sup> $P<0.05$ , <sup>##</sup> $P<0.01$

### 3.4 PNU282987对心脏重塑模型小鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6含量和ICAM-1、VCAM-1蛋白表达水平的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6

含量和ICAM-1、VCAM-1蛋白表达水平均显著升高( $P<0.01$ )。与模型组比较,PNU282987中、高剂量组和普萘洛尔组小鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6含量和ICAM-1、VCAM-1蛋白表达水平均显著降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),而PNU282987低剂量组上述指标均无明显变化( $P>0.05$ ),详见表3。

表3 PNU282987对心脏重塑模型小鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6含量和ICAM-1、VCAM-1蛋白表达水平的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Tab 3 Effects of PNU282987 on the serum contents of TNF- $\alpha$  and IL-6, the protein expression of ICAM-1 and VCAM-1 in cardiac remodeling model mice( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	TNF- $\alpha$ ,ng/L	IL-6,ng/L	ICAM-1, $\mu$ g/L	VCAM-1, $\mu$ g/L
正常对照组	19.97±2.61	48.63±6.80	5.09±0.75	2.46±1.02
模型组	43.01±3.09**	79.00±7.41**	9.43±1.43**	5.54±2.03**
PNU282987低剂量组	37.51±5.99	77.00±5.59	7.54±2.17	4.08±2.61
PNU282987中剂量组	26.31±5.65 <sup>##</sup>	54.88±11.84 <sup>##</sup>	5.01±0.95 <sup>##</sup>	3.61±1.54 <sup>#</sup>
PNU282987高剂量组	20.61±2.93 <sup>##</sup>	50.13±5.91 <sup>##</sup>	4.86±1.09 <sup>##</sup>	3.24±0.84 <sup>##</sup>
普萘洛尔	20.81±4.20 <sup>##</sup>	44.88±11.60 <sup>##</sup>	5.23±1.46 <sup>##</sup>	3.70±1.11 <sup>#</sup>

注:与正常对照组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ,<sup>##</sup> $P<0.01$

Note: vs. normal control group, \*\* $P<0.01$ ; vs. model group, <sup>#</sup> $P<0.05$ , <sup>##</sup> $P<0.01$

### 3.5 PNU282987对心脏重塑模型小鼠心肌组织中p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3比值的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠心肌组织中p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3比值均显著升高( $P<0.01$ )。与模型组比较,PNU282987中、高剂量组和普萘洛尔组小鼠心肌组织中p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3比值均显著降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),而PNU282987低剂量组上述指标均无明显变化( $P>0.05$ ),详见图2、图3。

## 4 讨论

近年来,我国心血管疾病患病率逐年增加<sup>[14]</sup>。心脏肥厚和功能的改变,是导致心血管疾病发病的关键,也是心脏重塑不同阶段的重要表现,心脏重塑的机制对心血管疾病的防治具有重要意义<sup>[15]</sup>。ISO是一种 $\beta$ -肾上腺素能受体激动剂,能够直接和间接地作用于心肌组织,引起心肌肥厚、梗死,甚至引发心力衰竭等<sup>[16]</sup>。结合已有文献[12]和临床实践,发现普萘洛尔具有很好的改善心肌肥厚的作用,故将其作为阳性对照药。普萘洛尔改善心肌肥厚一般为口服用药,而PNU282987作为实验研究药物,目前主要采用注射给药方式。虽然两药采取不同给药方式,但是通过与模型组比较观察其对心脏重塑的改善作用,发现给药方式差异并未给结果造成明显影响。本研究应用ISO诱导小鼠心脏重塑,实验结果显示,与正常对照组比较,模型组小鼠EF、FS均显著降低,HMI显著升高,心肌组织纤维化明显,血清中心肌酶指

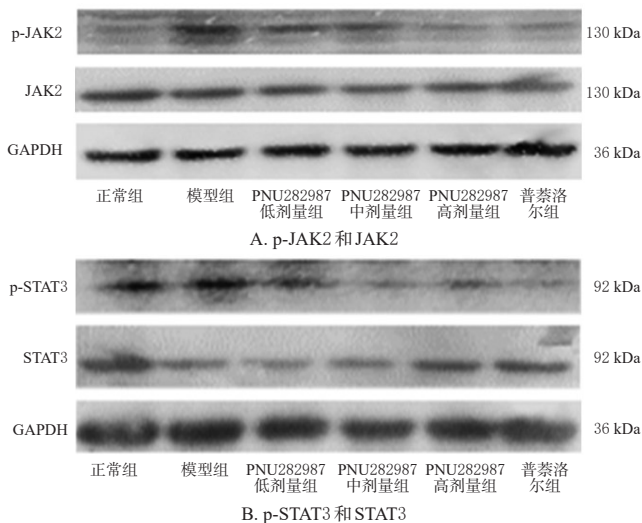


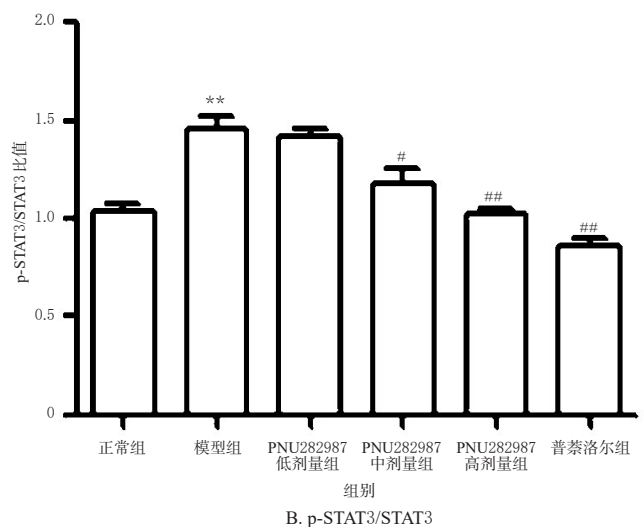
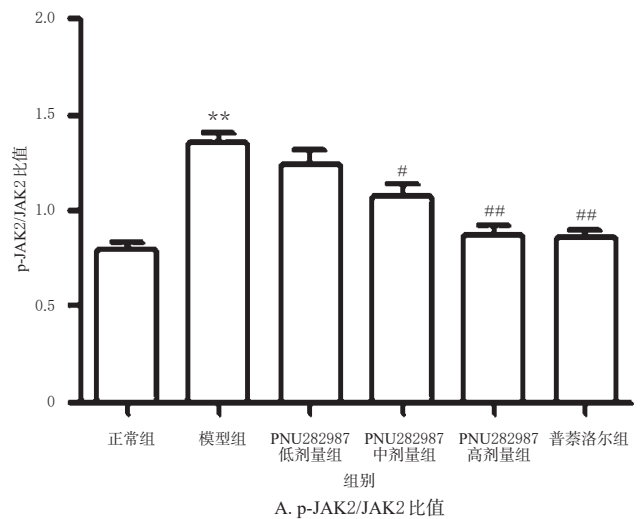
图2 PNU282987对心脏重塑模型小鼠心肌组织中p-JAK2、JAK2、p-STAT3、STAT3蛋白表达影响的电泳图

Fig 2 Electrophoretograms of the effects of PNU282987 on protein expression of p-JAK2, JAK2, p-STAT3 and STAT3 in myocardial tissue of cardiac remodeling model mice

标LDH和CK含量均显著升高,表明模型小鼠心脏肥大、心脏功能降低,发生了心室重塑现象。与模型组比较,PNU282987中、高剂量组和普萘洛尔组小鼠上述指标(中剂量组HMI、LDH除外)均有显著改善,表明PNU282987和普萘洛尔均可改善小鼠的心脏重塑现象。

已有研究表明,多种机制参与了心脏重塑的发生与发展,包括神经内分泌、炎症因子激活、细胞内信号通路活化等<sup>[17]</sup>。其中,炎症因子(TNF- $\alpha$ 和IL-6)含量在心脏重塑过程中明显升高,并参与心肌细胞肥大、纤维化以及心肌细胞凋亡等过程<sup>[18]</sup>。可见,以炎症为靶点的治疗方法可以抑制心脏重塑。本研究发现,与正常对照组比较,模型组小鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6含量均显著升高;与模型组比较,PNU282987中、高剂量组和普萘洛尔组小鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6含量均显著降低,表明PNU282987和普萘洛尔均具有一定的抗炎作用。

ICAM-1和VCAM-1为炎症反应的主要黏附分子,主要在内皮细胞、心肌细胞等细胞上表达。在正常的生理情况下,ICAM-1和VCAM-1主要呈低水平表达<sup>[19]</sup>;但在炎症状态下,炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-6可以诱导ICAM-1和VCAM-1表达的上调<sup>[20]</sup>。本研究发现,与正常对照组比较,模型组小鼠血清中ICAM-1、VCAM-1蛋白表达水平均显著升高;与模型组比较,PNU282987中、高剂量组和普萘洛尔组小鼠血清中ICAM-1、VCAM-1蛋白表达水平均显著降低,提示PNU282987和普萘洛尔均具有一定的抗炎作用。



注:与正常对照组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,# $P < 0.05$ ,## $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, \*\* $P < 0.01$ ; vs. model group, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$

图3 PNU282987对心脏重塑模型小鼠心肌组织中p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3比值的影响( $n = 10$ )

Fig 3 Effects of PNU282987 on the ratio of p-JAK2/JAK2 and p-STAT3/STAT3 in cardiac tissue of remodeling model mice ( $n = 10$ )

JAK2/STAT3信号通路与多种心血管疾病导致的心功能障碍都密切相关,其在心脏疾病的发生中具有重要作用<sup>[21]</sup>。有研究指出,IL-6可以和IL-6受体结合后激活JAK2和STAT3,而抑制JAK2/STAT3通路可减少细胞黏附分子ICAM-1、VCAM-1编码基因的转录<sup>[22-23]</sup>。此外,提高迷走神经活性可激活胆碱能抗炎通路,有助于改善心脏重塑<sup>[24]</sup>。迷走神经通过释放乙酰胆碱激活 $\alpha 7nAChR$ 而抑制JAK2/STAT3通路,减少炎症因子的产生和释放,从而发挥抗炎作用<sup>[25]</sup>。但 $\alpha 7nAChR$ 激动剂PNU282987对于心脏重塑的作用机制目前尚不清楚。本研究发现,

与正常对照组比较,模型组小鼠心肌组织中 JAK2 磷酸化和 STAT3 磷酸化水平均显著升高;与模型组比较, PNU282987 中、高剂量组和普萘洛尔组小鼠心肌组织中 JAK2 磷酸化和 STAT3 磷酸化水平均显著降低,表明 PNU282987 和普萘洛尔均可通过抑制 JAK2/STAT3 信号通路而发挥抗炎作用,以对抗心脏重塑。

综上所述, PNU282987 可改善小鼠心脏重塑,其机制可能与抑制 JAK2/STAT3 信号通路有关。

## 参考文献

[1] 许嘉旻,孙懿,赵欣,等.丹参粉针剂对异丙肾上腺素致心肌纤维化的影响[J].中国新药杂志,2015,24(17):2010-2017.

[2] MOZAFFARIAN D, BENJAMIN E J, GO A S, et al. Heart disease and stroke statistics: 2015 update: a report from the American Heart Association[J]. Circulation, 2015, 131(4):319-322.

[3] XIE M, BURCHFIELD J S, HILL J A. Pathological ventricular remodeling: therapies: part 2 of 2[J]. Circulation, 2013, 128(9):1021-1030.

[4] 冀建伟,邢玲,吴干斌,等.腺苷 A1 受体激活通过 TGF- $\beta$ /Smad3 通路对异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌肥厚的抑制作用[J].中国药理学杂志,2019,54(15):1252-1256.

[5] 鲁美丽,王洪新,杨娟,等. NF- $\kappa$ B 通路在人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 抑制异丙肾上腺素诱导心肌肥厚中的作用[J].中药药理与临床,2014,30(1):20-23.

[6] 侯玉玲,王凤月,赵发利,等.异丙肾上腺素诱导心肌损伤机制的研究进展[J].中华实用诊断与治疗杂志,2016,30(4):322-324.

[7] 王婷,于远望.心力衰竭相关信号通路研究进展[J].新乡医学院学报,2019,36(10):986-989.

[8] 孙晓娟,冯武龙,侯娜. JAK2/STAT3 信号通路在运动适应抗心肌细胞凋亡中的作用[J].中国应用生理学杂志,2017,33(5):393-397.

[9] 覃斐章,黄媛恒,陈兆霓,等. JAK2/STAT3 信号通路介导玉郎伞查尔酮后处理对大鼠离体心脏的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(24):153-158.

[10] 蒋永莹,李霖,沈卫星,等.乙酰胆碱通过作用于  $\alpha$ 7 烟碱型乙酰胆碱受体抑制大鼠小胶质细胞炎症反应[J].生理学报,2018,70(1):33-39.

[11] PARADA E, EGEA J, BUENDIA I, et al. The microglial  $\alpha$ 7-acetylcholine nicotinic receptor is a key element in promoting neuro-protection by inducing heme oxygenase-1 via nuclear factor erythroid-2-related factor 2[J]. Antioxid Redox Signal, 2013, 19(11):1135-1148.

[12] 贺欣,陶贵周.丹参多酚酸盐通过 TGF- $\beta$ /Smad 通路预防

大鼠心肌纤维化的发展[J].中药药理与临床,2016,32(6):85-89.

[13] 王晓玲,邓于新,董阳婷,等.  $\alpha$ 7 神经型尼古丁受体激动剂 PNU282987 对小鼠海马组织突触相关蛋白的影响[J].中国老年学杂志,2018,38(2):257-259.

[14] 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2017》概要[J].中国循环杂志,2018,33(1):1-8.

[15] 袁勇华,郑雪明,何学华,等.腹腔注射异丙肾上腺素诱导 FVB/N 小鼠心脏重塑模型[J].中国当代儿科杂志,2018,20(6):508-513.

[16] 梁娟,刘越,尹新华,等.异丙肾上腺素所致心肌损伤动物模型的研究进展[J].中国实验动物学报,2019,27(1):109-112.

[17] OPIE L H, COMMERFORD P J, GERSH B J, et al. Controversies in ventricular remodelling[J]. Lancet, 2006, 367(507):356-367.

[18] 蔡安平,麦伟颀.他汀类药物的多效性及其改善干细胞治疗心肌梗死疗效的潜能[J].新医学,2010,41(4):278-280.

[19] 马怀芬,方欢乐,师西兰,等.黄精多糖对心脏重塑小鼠心脏组织中 ICAM-1、VCAM-1 蛋白表达的影响[J].环球中医药,2018,11(1):25-29.

[20] 耿驰,陶梦醒,刘莹.血管细胞黏附分子-1 在心血管疾病中的研究进展[J].心血管病学进展,2019,40(2):222-226.

[21] 黄培元,李新明. JAK-STAT 信号通路与心脏疾病研究进展[J].中国现代药物应用,2010,4(22):246-247.

[22] 吴娟,金曼,黎笔熙.胆碱能抗炎通路的作用机制及其器官保护作用[J].华南国防医学杂志,2019,33(8):580-581.

[23] LU Y, LIU J J, BI X Y, et al. Pyridostigmine ameliorates cardiac remodeling induced by myocardial infarction via inhibition of the transforming growth factor- $\beta$ /TGF- $\beta$ -activated kinase pathway[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2014, 63(5):412-420.

[24] 喻大军,顾康生,钱军.胆碱能抗炎通路对胃癌癌前病变炎症反应的调节作用[J].安徽医科大学学报,2014,49(8):1128-1131.

[25] YANG Y H, LI D L, BI X Y, et al. Acetylcholine inhibits LPS-induced MMP-9 production and cell migration via the  $\alpha$ 7nAChR-JAK2/STAT3 pathway in RAW264.7 cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 36(5):2025-2038.

(收稿日期:2020-08-13 修回日期:2021-04-01)

(编辑:邹丽娟)