

Popdc2 在心脏肥大中的表达及其对病理性心脏肥大的影响*

魏飞宇¹ 吕丽² 张进¹ 王礼琳¹ 丁立群¹ 李颖¹ 范洁¹

[摘要] 目的:探讨心脏胚胎基因——Popdc2 在小鼠心脏肥大中的差异表达,研究 Popdc2 对病理性心脏肥大的保护作用。方法:通过游泳锻炼构建小鼠生理性心脏肥大模型,主动脉缩窄术建立病理性心脏肥大模型,采用异丙肾上腺素(PE)诱导心肌细胞病理性肥大,qRT-PCR 和 Western blot 检测 Popdc2 及相关基因 mRNA 和蛋白表达水平,TUNEL 实验检测各组心肌细胞凋亡比例。结果:成功构建生理性及病理性心脏肥大模型。和对照组相比,生理性心脏肥大中 Popdc2 mRNA(3.64±0.29 : 1.08±0.44, P<0.01)和蛋白(0.52±0.04 : 0.29±0.03, P<0.01)表达升高,而在病理性心脏肥大中 Popdc2 mRNA(0.60±0.05 : 1.05±0.13, P<0.05)和蛋白(0.03±0.01 : 0.07±0.01, P<0.01)表达下降。心肌细胞病理性肥大的过程中 Popdc2 mRNA(0.47±0.05 : 1.04±0.08, P<0.01)和蛋白(0.53±0.11 : 1.22±0.11, P<0.01)表达也下降。过表达 Popdc2 可减少病理性心脏肥大过程中的细胞凋亡(0.95±0.07 : 1.63±0.11, P<0.01)、病理性标志基因心房利钠肽、B 型利钠肽和纤维化蛋白 Collagen I、Collagen II 的 mRNA 表达。结论:Popdc2 在生理性和病理性心脏肥大中呈现出不一致的变化趋势,且 Popdc2 可改善心肌细胞的病理性肥大,可能成为区别 2 种不同心脏肥大分子标志物及成为拮抗病理性心脏肥大、心力衰竭的作用靶点。

[关键词] 心脏肥大;主动脉缩窄术;Popdc2;凋亡
doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2018.03.022
[中图分类号] R542.2 **[文献标志码]** A

The expression of Popdc2 in cardiac hypertrophy and its effects on pathological hypertrophy

WEI Feiyu¹ LV Li² ZHANG Jin¹ WANG Lilin¹ DING Liquan¹ LI Ying¹ FAN Jie¹

* 基金项目:国家自然科学基金(No:81260038,81360039)
¹ 云南省第一人民医院 昆明理工大学附属医院心内科(昆明,650032)
² 昆明医科大学第二附属医院肿瘤科
通信作者:范洁, E-mail:fanj905@163.com

[5] Na H, Wu Z, Li L, et al. MiR-338-3p inhibits epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer cells by targeting ZEB2 and MACC1/Met/Akt signaling [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(17):15222-15234.

[6] Sun J, Feng X, Gao S, et al. microRNA-338-3p functions as a tumor suppressor in human non-small-cell lung carcinoma and targets Ras-related protein 14[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(2):1400-1406.

[7] Xing Z, Lan Y, Xian L, et al. Anticancer bioactive peptide-3 inhibits human gastric cancer growth by targeting miR-338-5p[J]. *Cell Biosci*, 2016, 6(1):53.

[8] Leonard WJ, O'Shea JJ. Jaks and STATs: biological implications[J]. *Annu Rev Immunol*, 1998, 16(16):293-322.

[9] Mishra J, Karanki SS, Kumar N. Identification of molecular switch regulating interactions of Janus kinase 3 with cytoskeletal proteins[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(49):41386-41391.

[10] Mishra J, Waters CM, Kumar N. Molecular mechanism of interleukin-2-induced mucosal homeostasis[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2012, 302(5):735-747.

[11] Kumar N, Mishra J, Narang VS, et al. Janus kinase 3 regulates interleukin 2-induced mucosal wound repair through tyrosine phosphorylation of villin[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(42):30341-30345.

[12] Johnston JA, Kawamura M, Kirken RA, et al. Phosphorylation and activation of the Jak-3 Janus kinase in response to interleukin-2 [J]. *Nature*, 1994, 370(6485):151-153.

[13] Fujimoto M, Naka T, Nakagawa R, et al. Defective thymocyte development and perturbed homeostasis of T cells in STAT-induced STAT inhibitor-1/suppressors of cytokine signaling-1 transgenic mice[J]. *J Immunol*, 2000, 165(4):1799-1806.

[14] Degryse S, de Bock CE, Cox L, et al. JAK3 mutants transform hematopoietic cells through JAK1 activation, causing T-cell acute lymphoblastic leukemia in a mouse model [J]. *Blood*, 2014, 124(20):3092-3100.

[15] Henkels KM, Frondorf K, Gonzalezmeija ME, et al. IL-8-induced neutrophil chemotaxis is mediated by janus kinase 3 (jak3)[J]. *FEBS Lett*, 2011, 585(1):159-166.

(收稿日期:2017-07-19)

(¹Department of Cardiology, the First People's Hospital of Yunnan Province, the affiliated Hospital of Kunming University of Science and Technology, Kunming, 650032, China; ²Department of Medical Oncology, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University)

Corresponding author: FAN Jie, E-mail: fanj905@163.com

Abstract Objective: To explore the expression of Popdc2 in cardiac hypertrophy in mice, and to study the effect of Popdc2 on pathological cardiomyocytes hypertrophy. **Method:** Physiological cardiac hypertrophy models were established by swimming training and pathological cardiac hypertrophy models were established by transverse aortic coarctation. Pathological cardiac hypertrophy was induced by isoproterenol (PE) in vitro. Cells apoptosis were detected with TUNEL experiments. The mRNA and protein of ANP, BNP, Popdc2 collagen I and II (Collagen I and Collagen II) expression was determined by qRT-PCR and western blot. **Result:** Physiological and pathological cardiac hypertrophy models were successfully constructed. The expression of Popdc2 mRNA (3.64 ± 0.29 vs 1.08 ± 0.44 , $P < 0.01$) and protein (0.52 ± 0.04 vs 0.29 ± 0.03 , $P < 0.01$) was increased in physiological cardiac hypertrophy, and the expression of Popdc2 mRNA (0.60 ± 0.05 vs 1.05 ± 0.13 , $P < 0.05$) and protein (0.03 ± 0.01 vs 0.07 ± 0.01 , $P < 0.01$) was decreased in pathological cardiac hypertrophy in vivo. The expression of Popdc2 mRNA (0.47 ± 0.05 vs 1.04 ± 0.08 , $P < 0.01$) and protein (0.53 ± 0.11 vs 1.22 ± 0.11 , $P < 0.01$) was decreased in pathological cardiomyocytes hypertrophy in vitro. The cell apoptosis rate (0.95 ± 0.07 vs 1.63 ± 0.11 , $P < 0.01$) was reduced and the expression of ANP, BNP, Collagen I and II mRNA was decreased in over-expression of Ad-Popdc2 group than that in control group. **Conclusion:** The expression of Popdc2 is not consistent in physiological and pathological cardiac hypertrophy, and overexpression of Popdc2 ameliorate the pathological cardiac hypertrophy. Popdc2 maybe as a molecular marker between two different cardiac hypertrophy model and become the target of antagonistic pathological cardiac hypertrophy and heart failure.

Key words cardiac hypertrophy; transverse aortic coarctation; Popdc2; apoptosis

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)是指任何原因引起心脏结构或功能变化, 心室充盈或射血障碍导致的一组复杂临床综合征^[1]。目前我国心力衰竭(心衰)患者已高达 400 万, 每年约有 60 万人死亡, 被认为是当今世界致残与致死的主要原因^[2-3]。有研究报道, 心肌肥大是心血管疾病的独立危险因素^[4]。尽管目前 β 受体阻滞剂、血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)等改善病理性心脏肥大和心室重构药物广泛应用, 但 CHF 的发病率仍居高不下^[5]。因此, 病理性心脏肥大发生与发展的分子机制, 可能为临床拮抗病理性心室重构、心衰提供治疗靶点。

目前运动锻炼已被推荐为心血管疾病预防和治疗的辅助干预措施。运动可促进生理性心脏肥大, 包括心肌细胞变大和心肌细胞再生, 但是由于其再生能力有限, 目前应用仍受限^[6]。此外, 运动诱导生理性心脏肥大可改善病理性心脏肥大并保护心脏在病理刺激下的心功能, 但其机制有待进一步探讨^[7]。因此, 明确运动诱导生理性心脏肥大对病理性心脏肥大保护作用及其信号通路, 不仅可以增加心肌细胞增殖的潜能, 而且可以改善心脏在病理性情况下的心功能, 可成为未来治疗心衰的新策略。

研究报道显示, 病理性心脏肥大的病理过程主要包括心肌细胞肥大、细胞凋亡及纤维化, 涉及一系列基因激活及失落^[8-9]。Popdc2 属于心脏胚胎基因 Popdc 家族成员, 是一组高表达于心脏和发育相关结构蛋白, 是心肌细胞分化的一个标志基因^[10]。Popdc2 通过调节转录因子 TBX20 表达及

Akt 蛋白磷酸化促进新生大鼠心肌细胞增殖, 下调 Popdc2 表达会导致斑马鱼胚胎心肌细胞和心脏传导系统发育异常^[11-12]。且 Popdc 在终末期心衰患者心肌组织中表达低于正常人心肌组织^[13]。但目前未见关于 Popdc2 在生理性心脏肥大和病理性心脏肥大中的表达情况, 及其是否可改善病理性心脏肥大进而延缓心衰发生的报道。本研究先通过运动锻炼构建生理性心脏肥大和主动脉缩窄术建立病理性心脏肥大模型, 检测 Popdc2 在不同心脏肥大中的表达情况, 同时探讨过表达 Popdc2 在心肌细胞病理性肥大过程中对心肌细胞凋亡及纤维化的作用, 为寻求拮抗病理性心脏肥大的治疗提供新的作用靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

雄性 C57/BL6 小鼠购于中国科学院昆明动物研究所, 并饲养于云南省第一人民医院动物实验中心, 平衡饮食 1 周后, 将小鼠随机生理性肥大模型组和病理性肥大组, 每组 24 只。所有实验动物使用符合美国国家卫生研究院发表的生物医学研究条例, 实验方案经云南省第一人民医院实验动物伦理委员会批准。

1.2 建立生理性心脏肥大模型

取 8 周龄的小鼠 24 只用以建立生理性心脏肥大模型, 随机将小鼠分为对照组和游泳组, 每组 12 只。游泳组第 1 天游泳 2 次, 10 min/次, 之后每天的游泳时间增加 10 min, 直至达到 90 min/d, 共 3 周(21 d); 对照组正常饲养^[14]。

1.3 建立病理性心脏肥大模型

将病理性心脏肥大组的 24 只小鼠随机分为假手术组和主动脉缩窄(TAC)手术组,每组 12 只。TAC 手术组通过横向 TAC 手术建立病理性心脏肥大模型,将小鼠经腹腔注射氯胺酮(8 mg/100 g)、甲苯噻嗪(2 mg/100 g)和阿托品(0.06 mg/100 g)混合麻醉剂后,气管插管连接呼吸机控制呼吸,潮气量 2~3 ml,呼吸频率 90~110 次/min。清洁手术区域,取胸前正中切口开胸至第 2 肋,分离胸腺,暴露主动脉弓。根据主动脉弓的直径(1.0~1.1 mm)选择针头垫孔,用 26~27 G 垫孔针头(直径 0.4~0.6 mm)垫孔。用 5 号丝线在右颈总动脉分出后 0.3 cm 处,对主动脉进行缩窄,结扎牢固后抽出垫孔针,逐层关闭纵膈,待小鼠自主呼吸恢复后,拔出气管插管,转笼常规饲养。假手术组不进行主动脉弓结扎,余过程同手术组。

1.4 心肌细胞分离及建立病理性心肌细胞肥大模型

取出生 0~2 d 的 C57/BL6 小鼠,将左心室剪成 1 mm³ 的小碎块,用 0.06% 胰酶(Sigma, p1750, 美国),0.04% 胶原酶 II (Worthington, LS004176, 美国)消化 30 min,胎牛血清中和后离心收集细胞沉淀,重复上述步骤直至全部消化完成,细胞置于 37℃、5% CO₂ 的培养箱中差速贴壁 30 min,参照 percoll 分层液(Sigma, p1644, 美国)说明书纯化心肌细胞,贴壁培养 24 h。随机分为对照 2 组和实验组,对照 2 组加入生理盐水,实验组加 10 μmol/L 异丙肾上腺素(PE)诱导心肌细胞肥大,建立病理性心肌细胞肥大模型。

1.5 免疫荧光检测

细胞经前期处理后,4% 多聚甲醛固定 20 min,0.2% triton100 破膜 20 min,10% 山羊血清封闭 1 h,根据需要加入一抗 α-actinin(A7811, Sigma)标记心肌细胞,4℃ 孵育过夜,次日 PBS 洗 3 遍,根据一抗加相应二抗室温孵育 1 h,DAPI 染细胞核 10 min,日本 nikon 荧光倒置显微镜观察细胞。

1.6 RNA 提取及 qRT-PCR 检测

按照说明书,采用试剂盒(Qigen, 74134, 德国)提取组织和细胞总 RNA,然后反向转录成 cDNA(A360, Takara),以 cDNA 为模板,采用 SYBR 法在 realtime-PCR 7900 仪上行定量 PCR 扩增,反应体系:cDNA 1 μl,上游引物 0.5 μl,下游引物 0.5 μl,SYBR 5 μl,水 3 μl,反应条件:95℃ 1 min→ 95℃ 15 s→ 60℃ 60 s→ 95℃ 15 s→ 60℃ 15 s→ 95℃ 15 s,第 2~4 步 35~40 个循环。本研究引物如下(正向引物和反向引物):Popdc2: AGGAGCTGGAAACCGGATGTA 和 GACGATGTCTAGTCCACAAGC;心房利钠肽(ANP): AGCCGTTTCGAGAAGCTTGCTT 和 CAGGTTATGCCACTTAGGTTCA; B 型利钠肽

(BNP): GAGGTCCTCTATCCTCTGG 和 GC-CATTCCTCCGACTTTTCTC; Collagen I, ATCG-GATACTCCTTCCTCATGC 和 CCAGGGGAGAC-TA-GGGACTG; Collagen II: GGAATGCCGGGT-TCAAGG 和 AGTCCTCTTAATCCTCGTGGG-3'; GAPDH: TGGATTGGACGCATTGGTC 和 TTT-GCACTGGTACGTGTTGAT。以 GAPDH 为内参,利用 2^{-ΔΔCt} 方法计算 mRNA 相对表达量。

1.7 蛋白提取及 Western blot

采用 cocktail 蛋白裂解液(蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂、PMSF)提取总蛋白,BCA 法测蛋白浓度。取相同量总蛋白行 SDS-PAGE 电泳,80 V 电压 20~30 min,120 V 电压约 90 min。300 mA 湿转印 120 min,将蛋白转印到 PVDF 膜,用 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h,根据需要加入一抗,4℃ 孵育过夜,次日 TBST 洗膜 3 次,根据一抗加入相应的二抗,TBST 洗膜 3 次,ECL 发光液在 ChemiDoc™ XRS+ System(BIO-RAD)显影,用 Image 软件曝光加灰度值分析。

1.8 腺病毒载体系统构建及转染

在 Genebank 中找到 β-MHC 基因启动子序列片段,通过引入酶切位点将 β-MHC 启动子序列和 Popdc2 基因的 cDNA 同时转入质粒,再转化大肠杆菌进行扩增,筛选出阳性菌落,经测试证实目的基因正确转入。再将含 Popdc2 和 β-MHC 转入质粒进行扩增,采取 Lipofectamine2000 转染至 293 细胞,经扩增制备高表达的重组腺病毒载体 β-MHC-Popdc2(Ad-Popdc2)。以复感染指数(MOI)值 10,加入感染培养基(基础培养 5 mg/L polybrene)和病毒,加入心肌细胞。37℃、5% CO₂ 培养 12 h,更换新鲜基础培养基,72 h 后荧光显微镜观察感染率。

1.9 统计学处理

所有结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间的比较用非配对 *t* 检验,多组比较用单因素方差分析,所有数据采用 GraphPad Prism 6.0 进行分析和作图,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

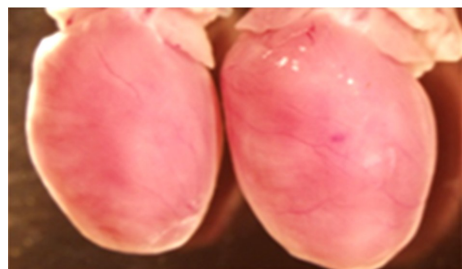
2 结果

2.1 Popdc2 在生理性心脏肥大中的表达变化

经过 21 d 的持续游泳锻炼后,游泳组小鼠心脏体积较对照组表现为肉眼可见的增大(图 1);统计结果表明,游泳组小鼠的心脏质量参数(心质量/体质量比、心质量/胫骨长)显著增大,证明小鼠在游泳后出现心脏肥大。对游泳后小鼠的心脏病理性肥大相关指标——ANP、BNP 进行检测,发现其 ANP、BNP 的 mRNA 表达与对照组相比并未增高,提示其为生理性肥大。见表 1。

游泳组心脏组织中 Popdc2 mRNA (3.64 ± 0.29 : 1.08 ± 0.44)及蛋白的表达(0.52 ± 0.04 :

0.29±0.03)均高于对照组,2组比较差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。为确定 Popdc2 升高是否为心脏组织特异性,对2组骨骼肌中 Popdc2 表达的检测,结果显示2组 Popdc2 mRNA 表达(1.07±0.08 : 1.03±0.18)并无统计学差异。



对照组

游泳组

图1 对照组和游泳组小鼠心脏大体观

Figure 1 General view of the rat heart

2.2 Popdc2 在病理性心脏肥大中的表达变化

与假手术组比较,TAC手术组小鼠心质量/体质量比增大,心脏二维超声显示左室射血分数(LVEF)减少。qRT-PCR结果显示TAC手术组病理性心肌细胞肥大标志基因 ANP、BNP mRNA 的表达明显高于假手术组。TAC手术组心脏组织 Popdc2 mRNA 及蛋白表达量均低于假手术组(均

$P<0.01$)。见表2。

2.3 过表达 Popdc2 对病理性心肌细胞肥大的影响

为了探讨过表达 Popdc2 对病理性心肌细胞肥大的影响,笔者分离小鼠心肌细胞,通过 PE 诱导体外病理性心肌细胞肥大,使腺病毒载体(Ad-Popdc2、Ad-null)转染心肌细胞致 Popdc2 表达上调,然后分为4组:对照组、PE组、PE+Ad-null组和PE+Ad-Popdc2组。qRT-PCR和western blot显示在PE诱导的病理性心肌细胞肥大中,Popdc2 mRNA(0.47±0.05 : 1.04±0.08, $P<0.01$)和蛋白(0.53±0.11 : 1.22±0.11, $P<0.01$)表达水平均下降。与Ad-null+PE组相比,Ad-Popdc2+PE组的病理性心肌细胞肥大标志基因 ANP、BNP 和纤维化指标胶原纤维 I 和 II 型的表达减少,见表3。TUNEL染色显示过表达 Popdc2 可减少病理性心肌细胞肥大过程中的细胞凋亡(0.95±0.07 : 1.63±0.11, $P<0.01$),见图2。

3 讨论

尽管目前有证据支持运动使心血管疾病患者获益,可成为治疗 CHF 的辅助治疗措施,但对其确切作用机制尤其是在运动改善心衰心功能的作用机制方面仍然知之甚少^[15]。有报道显示,运动

表1 对照组与游泳组心脏质量参数及 ANP、BNP mRNA 表达

Table 1 Cardiac weight parameters and expressions of ANP and BNP mRNA

组别	心质量/体质量 /(mg·g ⁻¹)	心质量/胫骨长 /(mg·cm ⁻¹)	ANP mRNA	BNP mRNA	Popdc2 mRNA	Popdc2 蛋白
对照组(12只)	4.33±0.20	45.01±2.89	0.95±0.10	0.93±0.09	1.08±0.44	0.29±0.03
游泳组(12只)	6.60±0.16 ¹⁾	65.23±3.26 ¹⁾	1.10±0.07 ¹⁾	1.01±0.15 ¹⁾	3.64±0.29 ¹⁾	0.52±0.04 ¹⁾

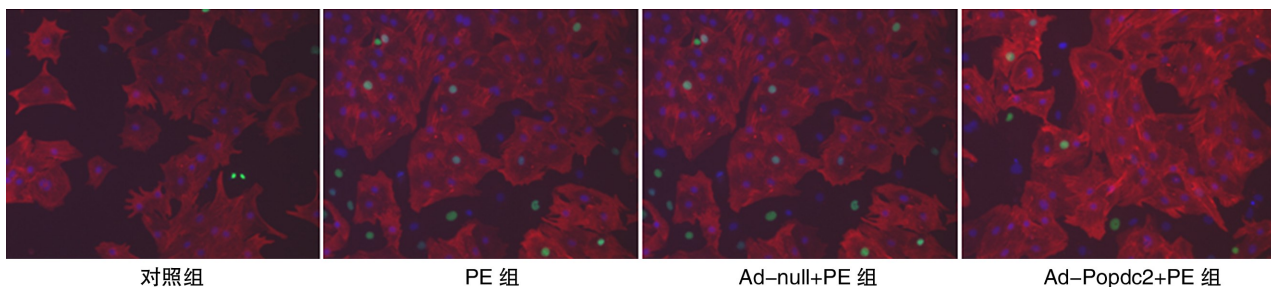
与对照组比较,¹⁾ $P<0.01$ 。

表2 假手术组与 TAC 手术组心脏质量参数、LVEF 及 ANP、BNP mRNA 表达

Table 2 Cardiac weight parameters, LVEF and expressions of ANP and BNP mRNA

组别	心质量/体质量 /(mg·g ⁻¹)	LVEF/%	ANP mRNA	BNP mRNA	Popdc2 mRNA	Popdc2 蛋白
假手术组(12只)	5.37±0.45	64.73±2.58	0.98±0.20	0.99±0.19	1.05±0.13 ¹⁾	0.07±0.01 ¹⁾
TAC手术组(12只)	9.47±0.59 ¹⁾	52.93±3.37 ¹⁾	6.14±0.49 ¹⁾	6.52±0.65 ¹⁾	0.60±0.05 ¹⁾	0.03±0.01 ¹⁾

与假手术组比较,¹⁾ $P<0.01$ 。



对照组

PE组

Ad-null+PE组

Ad-Popdc2+PE组

图2 TUNEL 阳性细胞

Figure 2 TUNEL positive cells

表 3 各组 ANP、BNP mRNA 水平及胶原纤维 I 和 II 的表达
Table 3 Expression levels of ANP, BNP mRNA and collagen I, II

组别	ANP mRNA	BNP mRNA	胶原纤维 I	胶原纤维 II
对照组	0.93±0.17	0.91±0.21	0.93±0.87	1.36±0.47
PE 组	7.25±0.49 ¹⁾	5.34±0.33 ¹⁾	5.57±0.49 ¹⁾	3.67±0.35 ¹⁾
Ad-null+PE 组	7.66±0.84	6.05±0.57	5.61±0.37	3.73±0.37
Ad-Popdc2+PE 组	4.62±0.73 ²⁾	3.08±0.35 ²⁾	3.24±0.17 ²⁾	2.14±0.17 ²⁾

¹⁾ 与对照组比较, $P < 0.01$; ²⁾ 与 Ad-null+PE 组比较, $P < 0.01$ 。

锻炼诱导生理性心脏肥大过程有胚胎基因激活,通过促进心肌变大和心肌细胞增殖,保护心脏在病理情况下的心功能和改善心脏病理性肥大^[8,16]。但是目前有关生理性心脏肥大调控信号的研究甚少,特别是运动诱导生理性心脏肥大对病理性心脏肥大保护作用机制方面。本研究首先通过游泳训练建立生理性心脏肥大模型,筛选差异表达基因,发现胚胎发育相关基因 Popdc2 在生理性心脏肥大中表达上调。其次通过 TAC 术建立小鼠病理性心脏肥大模型,检测 Popdc2 表达,发现 Popdc2 在病理性心脏肥大过程中的表达下降,提示 Popdc2 可能参与运动诱导生理性心脏肥大对心衰起保护作用。进一步通过分离小鼠心肌细胞和体外诱导病理性心肌肥大,结果显示过表达 Popdc2 可减少病理性心肌细胞肥大过程中的细胞凋亡,纤维化标志蛋白胶原纤维 I 和 II 表达减少,提示 Popdc2 可改善病理性心肌细胞肥大。

心脏生理性肥大是心脏的一种适应性肥大,与病理性肥大心室重构和纤维化形成有着本质上的不同,不仅不会进展为疾病状态,还可以保护病理性心脏肥大和改善心功能^[17]。然而心脏生理性肥大和病理性肥大的早期具有相似的形态学变化,而后续相关调控因子的不同导致了其不同的进展状态^[18]。研究报道生理性心脏肥大和病理性心脏肥大过程中有不同信号通路参与,如 IGF-1-PI3K (p110 α)-Akt 信号通路是生理性心脏肥大调控的必要通路,而 G α q 通路主要参与病理性心脏肥大^[19-20]。最近多个研究报道,Neuregulin1/ErbB4 和 miR-222 等在生理性心脏肥大和病理性心脏肥大中的表达呈现相反趋势,Neuregulin1/ErbB4 和 miR-222 参与生理性心脏肥大,且过表达后可改善心衰后的心室重构和心功能^[21-22]。前期报道显示,Popdc2 在大鼠出生后表达升高并促进心肌细胞增殖,而出生后心肌细胞特性由胚胎时期增殖为主转化为心肌细胞肥大为主,且发现 Popdc2 在 CHF 心肌中表达下降^[11-12]。但目前没有关于 Popdc2 在生理性和病理性心脏肥大中的作用报道,本研究对其深入探讨,发现 Popdc2 在生理性心脏肥大中表达升高,而在病理性心脏肥大中表达下降。提示 Popdc2 可能成为生理性心脏肥大和病理性心脏肥大调

控桥梁,可能作为预测生理性和病理性心脏肥大的分子标志物,并可能作为病理性心脏肥大的潜在治疗靶点。

病理性心脏肥大的一个重要标志就是细胞坏死和凋亡导致心肌细胞减少,进而纤维化形成后导致心脏功能下降^[23-24]。运动锻炼被证明可以减少心肌细胞凋亡,通过增加心肌细胞的更新使心衰患者获益。研究发现 Popdc2 可能参与细胞凋亡调控,下调 Popdc2 表达可促进细胞凋亡从而抑制心脏发育^[25]。本研究结果发现 Popdc2 在 PE 诱导的病理性心肌细胞肥大过程中表达下降,且过表达 Popdc2 可减少病理性心肌细胞肥大过程中的细胞凋亡和纤维化形成,提示 Popdc2 可通过抑制心肌细胞凋亡和减少纤维化改善病理性心脏肥大,为运动锻炼促进生理性心脏肥大使心血管疾病患者获益提供理论基础,但需要体内进一步研究证实。

病理性心脏肥大是心血管疾病的独立危险因素,在心衰发生、发展中起着重要作用,ANP、BNP 在心房、心室受牵拉分泌增多,分泌时间较早,在心肌细胞肥大和心衰早期即出现,是病理性心脏肥大标志物蛋白,特别是 BNP,与心衰的关系密切,目前已成为临床早期心衰诊断和预后随访的标志物^[26]。本研究发现 ANP、BNP mRNA 在游泳锻炼的小鼠生理性心脏肥大中升高不明显,而在病理性心脏肥大明显升高,过表达 Popdc2 可减少病理性心肌细胞肥大过程中 ANP、BNP 和纤维化相关蛋白 collagen I 和 collagen II 蛋白表达,说明 Popdc2 可改善病理性心肌细胞肥大和心肌纤维化,可能延缓心衰发生及发展,提示 Popdc2 可能成为病理性心脏肥大的潜在治疗靶点。

综上所述,Popdc2 在生理性心脏肥大中表达上升,而在病理性心脏肥大中表达下降,呈现出不同的变化趋势,过表达 Popdc2 可减少病理性心肌细胞肥大过程细胞凋亡和心肌纤维化,改善病理性心脏肥大,提示 Popdc2 可能作为区别 2 种不同心脏肥大的分子标志物,并成为拮抗病理性心脏肥大的新的作用靶点。

参考文献

- [1] Mudd JO, Kass DA. Tackling heart failure in the twenty-first century[J]. Nature, 2008, 451 (7181):

- 919—928.
- [2] Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, et al. Heart disease and stroke statistics 2015 update: A report from the American heart association[J]. *Circulation*, 2015, 131(4):e29—322.
- [3] Veronique L, Roger Susan A, Weston MS, et al. Trends in Heart Failure Incidence and Survival in a Community-Based Population[J]. *JAMA*, 2004, 292(3):344—350.
- [4] Johnson FL. Pathophysiology and etiology of heart failure[J]. *Cardiol Clin*, 2014, 32(1):9—19.
- [5] 黄炯华,戴文军,林育辉,等. 肾脏去神经联合美托洛尔对自发性高血压大鼠的血压和心脏肥厚的作用[J]. *临床心血管病杂志*, 2016, 32(11):1159—1163.
- [6] Fleg JL, Cooper LS, Borlaug BA, et al. Exercise training as therapy for heart failure: current status and future directions[J]. *Circ Heart Fail*, 2015, 8(1):209—220.
- [7] Bostrom P, Mann N, Wu J, et al. C/EBPbeta controls exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling[J]. *Cell*, 2010, 143(7):1072—1083.
- [8] McMullen JR, Jennings GL. Differences between pathological and physiological cardiac hypertrophy: Novel therapeutic strategies to treat heart failure[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2007, 34(4):255—262.
- [9] Chakraborty S, Sengupta A, Yutzey KE. Tbx20 promotes cardiomyocyte proliferation and persistence of fetal characteristics in adult mouse hearts[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2013, 62:203—213.
- [10] Andrée B, Hillemann T, Kessler-Icekson G, et al. Isolation and characterization of the novel popeye gene family expressed in skeletal muscle and heart[J]. *Dev Bio*, 2000, 223(2): 371—382.
- [11] Kirchmaier BC, Poon KL, Schwerte T, et al. The popeye domain containing 2 (popdc2) gene in zebrafish is required for heart and skeletal muscle development [J]. *Dev Bio*, 2012, 363(2):438—450.
- [12] 魏飞宇,吕丽,马方方,等. Popdc2 表达下调通过 Akt 磷酸化促进新生大鼠心肌细胞增殖[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2015, 35(7):938—944.
- [13] Gingold-Belfer R, Bergman M, Alcalay Y, et al. Popeye domain-containing 1 is down-regulated in failing human hearts [J]. *Int J Mol Med*, 2011, 27(1):25—31.
- [14] Taniike M, Yamaguchi O, Tsujimoto I, et al. Apoptosis signal regulating kinase 1/p38 signaling pathway negatively regulates physiological hypertrophy [J]. *Circulation*, 2008, 117(4): 545—552.
- [15] Achttien RJ, Staal JB, van der Voort S, et al. Exercise-based cardiac rehabilitation in patients with chronic heart failure: a Dutch practice guideline[J]. *Neth Heart J*, 2015, 23(1): 6—17.
- [16] Bostrom P, Mann N, Wu J, et al. C/EBPbeta controls exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling [J]. *Cell*, 2010, 143(7):1072—1083.
- [17] Ellison GM, Waring CD, Vicinanza C, et al. Physiological cardiac remodelling in response to endurance exercise training: cellular and molecular mechanisms [J]. *Heart*, 2012, 98(1):5—10.
- [18] Maillet M, van Berlo JH, Molkenin JD. Molecular basis of physiological heart growth: fundamental concepts and new players[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14(1): 38—48.
- [19] McMullen JR, Shioi T, Zhang L, et al. Phosphoinositide 3-kinase(p110alpha) plays a critical role for the induction of physiological, but not pathological, cardiac hypertrophy [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(21):12355—12360.
- [20] Bernardo BC, Weeks KL, Pretorius L, et al. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: experimental findings and therapeutic strategies[J]. *Pharmacol Ther*, 2010, 128(1): 191—227.
- [21] Liu X, Xiao J, Zhu H, et al. miR-222 is necessary for exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling [J]. *Cell Metab*, 2015, 21(4):584—595.
- [22] Bersell K, Arab S, Haring B, et al. Neuregulin1/ErbB4 signaling induces cardiomyocyte proliferation and repair of heart injury[J]. *Cell*, 2009, 138(2):257—270.
- [23] Xiao J, Chen P, Qu Y, et al. Telocytes in exercise-induced cardiac growth[J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(5):973—979.
- [24] 夏盼盼,居维竹,漆润娣,等. 高血压与年龄对大鼠左心室纤维化影响的研究[J]. *临床心血管病杂志*, 2016, 32(7):731—734.
- [25] Kirchmaier BC, Poon KL, Schwerte T, et al. The popeye domain containing 2 (popdc2) gene in zebrafish is required for heart and skeletal muscle development [J]. *Dev Bio*, 2012, 363(2):438—450.
- [26] Nishikimi T, Kuwahara K, Nakao K. Current biochemistry, molecular biology, and clinical relevance of natriuretic peptides[J]. *J Cardiol*, 2011, 57(2): 131—140.

(收稿日期:2017-08-23)