

本文引用:王卓,司澳洋,刘亚坤,等. 抵抗素通过酪氨酸蛋白激酶2/信号转导子和转录激活子3 信号通路诱导心肌细胞肥厚的分子机制研究[J]. 新乡医学院学报,2017,34(4):265-269. DOI:10.7683/xyxyxb.2017.04.005.

【基础研究】

抵抗素通过酪氨酸蛋白激酶 2/信号转导子和转录激活子 3 信号通路诱导心肌细胞肥厚的分子机制研究

王 卓, 司澳洋, 刘亚坤, 尹红磊, 吕风华
(新乡医学院第一附属医院心内一科, 河南 卫辉 453100)

摘要: **目的** 探讨酪氨酸蛋白激酶 2/信号转导子和转录激活子 3 (JAK2/STAT3) 信号通路在抵抗素诱导 H9C2 心肌细胞肥厚中的作用及其可能分子机制。**方法** 取生长同步化的 H9C2 心肌细胞随机分为对照组、抵抗素组、抵抗素 + Ag490 组和 Ag490 组。对照组细胞用低血清培养基培养;抵抗素组细胞用含浓度为 $50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 抵抗素的低血清培养基培养;抵抗素 + Ag490 组细胞先用含 $100 \mu\text{mol}$ Ag490 低血清培养基培养,然后用含抵抗素浓度 $50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的低血清培养基继续培养;Ag490 组细胞先用含 $100 \mu\text{mol}$ Ag490 低血清培养基培养,然后低血清培养;各组细胞均培养 48 h (第 1 部分实验)或 3 h (第 2 部分实验)。应用 Image J 软件测心肌细胞面积像素;二喹啉甲酸 (BCA) 法测蛋白含量;采用 Western blot 检测各组心肌细胞磷酸化酪氨酸蛋白激酶 (P-JAK2)、磷酸化信号转导子和转录激活子 3 (P-STAT3)、 α 肌动蛋白 (α -SMA) 和 C-MYC 蛋白相对表达量。**结果** 抵抗素组心肌细胞表面积像素和单细胞蛋白含量均大于对照组、抵抗素 + Ag490 组和 Ag490 组 ($P < 0.05$);抵抗素 + Ag490 组心肌细胞表面积像素和单细胞蛋白含量大于对照组和 Ag490 组 ($P < 0.05$);对照组和 Ag490 组心肌细胞表面积像素及单细胞蛋白含量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。抵抗素组心肌细胞 α -SMA 蛋白表达量较对照组、抵抗素 + Ag490 组、Ag490 组均显著增加 ($P < 0.05$);其余各组心肌细胞 α -SMA 蛋白表达量比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。抵抗素组心肌细胞 C-MYC 蛋白表达量较对照组、抵抗素 + Ag490 组、Ag490 组均显著增加 ($P < 0.05$);抵抗素 + Ag490 组心肌细胞 C-MYC 蛋白表达量较对照组增加 ($P < 0.05$);其余各组心肌细胞 C-MYC 蛋白表达量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。抵抗素组心肌细胞 P-JAK2、P-STAT3 蛋白表达量较对照组、抵抗素 + Ag490 组、Ag490 组显著增加 ($P < 0.05$);其余各组心肌细胞 P-JAK2、P-STAT3 蛋白表达量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** 抵抗素可诱导 H9C2 心肌细胞肥厚;JAK2/STAT3 信号通路的激活在抵抗素诱导大鼠心肌肥大过程中发挥作用。

关键词: 抗生素;酪氨酸激酶 2/信号转导子和转录激活子 3;心肌肥厚;信号通路;H9C2

中图分类号: R541.6 文献标志码: A 文章编号: 1004-7239(2017)04-0265-05

Mechanisms of resistin induced cardiomyocyte hypertrophy through janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathway

WANG Zhuo, SI Ao-yang, LIU Ya-kun, YIN Hong-lei, LYU Feng-hua

(Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, Henan Province, China)

Abstract: **Objective** To explore the role of janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 (JAK2/STAT3) signaling pathway in resistin induced H9C2 cardiomyocytes hypertrophy and randomly its possible molecular mechanisms. **Methods** The synchronized grow H9C2 myocardial cells were selected and randomly divided into control group, resistin group, resistin + Ag490 group and Ag490 group. The myocardial cells in control group were cultured with low blood serum medium; the myocardial cells in resistin group were cultured with low blood serum medium which contained $50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ resistin; the myocardial cells in resistin + Ag490 group were first cultured with low blood serum medium which contained $100 \mu\text{mol}$ Ag490, then were cultured with low blood serum medium which contained $50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ resistin; the myocardial cells in Ag490 group were cultured with low blood serum medium which contained $100 \mu\text{mol}$ Ag490. After culturing for 48 h (the first part of the experiment) or 3 h (the second part of the experiment), the surface area picture element of myocardial cells were measured by Image J software; the content of protein was measured by bicinchoninic acid (BCA) method; the relative expression levels of

DOI:10.7683/xxxyxb.2017.04.005

收稿日期:2016-12-14

基金项目:河南省高等学校青年骨干教师资助项目(编号:2009GGJS-085)。

作者简介:王卓(1989-),男,河南汤阴人,硕士研究生在读,主要从事心力衰竭相关研究。

通信作者:吕风华(1970-),女,河南驻马店人,博士,教授,研究方向:结构性心脏病及心力衰竭;E-mail:doctorlvfh@163.com。

alpha smooth muscle aorta(α -SMA), C-MYC, phosphorylated janus kinase 2(P-JAK2), phosphorylated transducer and activator of transcription 3(P-STAT3) were measured by Western blot. **Results** The surface area picture element of myocardial cells and protein content of single cell in resistin group were significantly greater than those in the control group, resistin + Ag490 group and Ag490 group($P < 0.05$); the surface area picture element of myocardial cells and protein content of single cell in resistin + Ag490 group were significantly greater than those in the control group and Ag490 group($P < 0.05$); there was no statistic difference in the surface area picture element of myocardial cells and protein content of single cell between the control group and Ag490 group($P > 0.05$). The expression of α -SMA protein in myocardial cells in resistin group was significantly higher than that in the control group, resistin + Ag490 group and Ag490 group($P < 0.05$); there was no statistic difference in the expression of α -SMA protein in myocardial cells among other groups($P > 0.05$). The expression of C-MYC protein in myocardial cells in resistin group was significantly higher than that in the control group, resistin + Ag490 group and Ag490 group($P < 0.05$); the expression of C-MYC protein in myocardial cells in resistin + Ag490 group was significantly higher than that in the control group($P < 0.05$); there was no statistic difference in the expression of C-MYC protein in myocardial cells among other groups($P > 0.05$). The expression of P-JAK2 and P-STAT3 protein in myocardial cells in resistin group was significantly higher than that in the control group, resistin + Ag490 group and Ag490 group($P < 0.05$); there was no statistic difference in the expression of P-JAK2 and P-STAT3 protein in myocardial cells among other groups($P > 0.05$). **Conclusion** Resistin can induce H9C2 cardiomyocytes hypertrophy; JAK2/STAT3 signaling pathways play a role in the process of resistin induced myocardial hypertrophy.

Key words: resistin; janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3; myocardial hypertrophy; signaling pathway; H9C2

心肌肥厚是在压力负荷过重、神经体液因子等多种因素作用下导致心肌细胞出现的适应性反应, 初期的心肌细胞肥大有一定的代偿意义, 但持续的心肌肥厚可导致扩张型心肌病、心力衰竭的发生, 甚至可能出现猝死, 给人类健康带来重大威胁。抵抗素是存在于血浆中的相对分子质量为 12 500 的分泌性多肽, 富含半胱氨酸, 由 114 个氨基酸组成, 属于抵抗素样分子(resistin like molecule, RELM)^[1]。抵抗素与心肌肥厚密切相关, 然而, 关于抵抗素引起的心肌细胞肥厚的分子和细胞信号转导机制仍知之甚少。酪氨酸蛋白激酶/信号转导子和转录激活子(janus kinase/signal transducer and activator of transcription, JAK/STAT)信号通路是肌细胞增殖、分化不可或缺的通路。研究表明, JAK/STAT 信号通路活性的改变与心肌肥厚乃至心力衰竭的发生相关^[2]。本研究旨在探讨 JAK2/STAT3 信号通路在抵抗素诱导 H9C2 心肌细胞肥厚中的作用及其可能的分子机制, 为临床治疗心肌肥厚提供新的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与材料 H9C2 心肌细胞株由中国科学院上海细胞库惠赠; 抵抗素(美国 PeproTech 公司); JAK2 抗体、磷酸化 JAK2(phosphorylated JAK2, P-JAK2)抗体、STAT3 抗体、磷酸化 STAT3(phosphorylated STAT3, P-STAT3)抗体、JAK2 抑制剂(tyrophostin B42, Ag490)、C-MYC 抗体均购于美国 CST

公司; α 肌动蛋白(alpha smooth muscle aorta, α -SMA)抗体(美国 Abcam 公司); 达尔伯克改良伊格尔培养基(Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM)高糖培养基、四季青胎牛血清、胰蛋白酶、青霉素链霉素混合液、放射免疫沉淀法(radio immunoprecipitation assay, RIPA)裂解液(强)、蛋白磷酸酶抑制剂混合物、二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量试剂盒、十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)凝胶制备试剂盒、高灵敏度化学发光检测试剂盒、抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体均购于北京康为世纪生物技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 H9C2 心肌细胞培养 H9C2 心肌细胞在 37 ℃、体积分数 5% CO₂ 条件下用标准培养基(含体积分数 10% 胎牛血清及体积分数 1% 链霉素混合液的 DMEM 高糖培养基)培养, 2 ~ 3 d 更换 1 次培养基, 待细胞在培养皿中融合至 70% ~ 80% 时, 按照 1 : 3 进行传代。实验时, 按 1.5×10^5 个接种于直径为 35 mm 培养皿中, 轻轻吹打使细胞均匀分布, 待细胞基本贴壁生长后, 用低血清培养基(含体积分数 1% 的胎牛血清及体积分数 1% 链霉素混合液的 DMEM 高糖培养基)培养 24 h 使细胞生长同步化。

1.2.2 实验分组及各组干预措施 取生长同步化

的 H9C2 心肌细胞,随机分为对照组、抵抗素组、抵抗素 + Ag490 组和 Ag490 组。实验分 2 部分进行。第 1 部分:对照组细胞用低血清培养基 2 mL 培养 48 h;抵抗素组细胞用含抵抗素浓度为 $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的低血清培养基 2 mL 培养 48 h;抵抗素 + Ag490 组细胞先用含 $100\text{ }\mu\text{mol}$ Ag490 低血清培养基 2 mL 培养 2 h,然后用含抵抗素浓度 $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的低血清培养基 2 mL 继续培养 46 h;Ag490 组细胞先用含 $100\text{ }\mu\text{mol}$ Ag490 低血清培养基 2 mL 培养 2 h,然后低血清培养 46 h。第 2 部分:对照组细胞用低血清培养基 2 mL 培养 3 h;抵抗素组细胞用低血清培养基 2 mL 培养 2 h,然后用含抵抗素浓度为 $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 低血清培养基 2 mL 培养 1 h;抵抗素 + Ag490 组细胞先用含 $100\text{ }\mu\text{mol}$ Ag490 低血清培养基 2 mL 培养 2 h,然后用含抵抗素浓度为 $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 低血清培养基 2 mL 继续培养 1 h;Ag490 组细胞先用含 $100\text{ }\mu\text{mol}$ Ag490 低血清培养基 2 mL 培养 2 h,然后低血清培养基 2 mL 继续培养 1 h。

1.2.3 心肌细胞面积及蛋白含量测定 取实验第 1 部分各组干预 48 h 后的心肌细胞,使用倒置显微镜 100 倍放大观察及成像系统拍照,每组心肌细胞随机拍摄 5 个视野,在每个视野中随机选取 5 个心肌细胞,应用 Image J 软件测定心肌细胞面积像素,应用 Countstar 自动细胞计数仪进行细胞计数,计算每组细胞总数,计数后离心留取细胞沉淀,加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ RIPA 裂解液冰上裂解 20 min,高速离心后取上清并标记体积,BCA 法测蛋白浓度,实验重复 3 次,取其平均值计算各组细胞单细胞总蛋白含量。

1.2.4 Western blot 检测 P-JAK2、P-STAT3、 α -SMA、C-MYC 蛋白相对表达量 取实验第 1 部分各组干预 48 h 后的心肌细胞,提取各组蛋白,应用 Western blot 技术检测 α -SMA、C-MYC 蛋白相对表达量;取实验第 2 部分各组干预 3 h 后的心肌细胞,提取各组蛋白,应用 Western blot 技术检测检测 P-JAK2、P-STAT3 蛋白相对表达量。具体方法如下:取各组在相应条件下处理过的心肌细胞,用预冷的磷酸盐缓冲溶液洗涤 3 次,每个培养皿中加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ RIPA 裂解液,冰面上裂解 20 min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ $12\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液,应用 BCA 法测蛋白浓度后加入上样缓冲液煮沸 5 min 使蛋白充分变性,配制 SDS-PAGE 凝胶,上样前离心,电泳结束后,用硝酸纤维素膜或聚偏二氟乙烯膜半干转膜,脱脂奶粉室温条件下封闭 2 h,三羟甲基氨基甲烷缓冲液 + 吐温 (Tris-buffered saline and Tween 20, TBST) 洗膜 2 次,

$4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育一抗过夜,(JAK2、P-JAK2 稀释比例为 1 : 500,STAT3、P-STAT3 稀释比例为 1 : 1 000, α -SMA 稀释比例为 1 : 20 000,C-MYC 稀释比例为 1 : 1 000;GAPDH 稀释比例为 1 : 1 000),TBST 洗膜 3 次,室温下孵育二抗 1 h,TBST 洗膜 3 次后,膜上加入高灵敏发光剂显影,用化学发光荧光成像系统自动曝光,Image J 软件测定目的蛋白及内参条带灰度值,目的蛋白相对表达量 = 目的蛋白条带值/对应内参值。实验重复 3 次,取平均值作为检测结果。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用 ANOVA 方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组心肌细胞表面积像素及单细胞蛋白含量比较 结果见表 1。抵抗素组心肌细胞表面积像素和单细胞蛋白含量均大于对照组、抵抗素 + Ag490 组和 Ag490 组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);抵抗素 + Ag490 组心肌细胞表面积像素和单细胞蛋白含量大于对照组和 Ag490 组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);对照组和 Ag490 组心肌细胞表面积像素及单细胞蛋白含量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组心肌细胞表面积像素、单细胞蛋白含量比较
Tab.1 Comparion of the surface area picture element of myocardial cells and protein content of single cell in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	细胞表面积像素/pixels	单细胞蛋白含量/ μg
对照组	3	321.95 \pm 60.92 ^{ab}	246.52 \pm 15.23 ^{ab}
抵抗素组	3	573.40 \pm 132.45	358.45 \pm 13.93
抵抗素 + Ag490 组	3	420.70 \pm 77.50 ^a	292.79 \pm 8.46 ^a
Ag490 组	3	315.20 \pm 92.23 ^{ab}	241.62 \pm 14.54 ^{ab}

注:与抵抗素组比较^a $P < 0.05$;与抵抗素 + Ag490 组比较^b $P < 0.05$ 。

2.2 各组心肌细胞肥厚标记物 α -SMA、C-MYC 蛋白表达水平比较 结果见图 1、2,表 2。抵抗素组心肌细胞 α -SMA 蛋白表达量较对照组、抵抗素 + Ag490 组、Ag490 组均显著增加,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);其余各组心肌细胞 α -SMA 蛋白表达量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。抵抗素组心肌细胞 C-MYC 蛋白表达量较对照组、抵抗素 + Ag490 组、Ag490 组均显著增加,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);抵抗素 + Ag490 组心肌细胞 C-MYC 蛋白表达量较对照组增加,差异有统计学意义 ($P < 0.01$);其余各组心肌细胞 C-MYC 蛋白表达量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

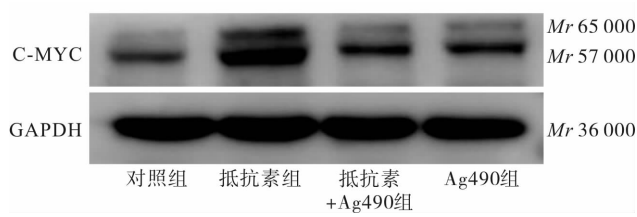


图 1 各组心肌细胞 C-MYC 蛋白表达水平

Fig.1 Expression of C-MYC protein in myocardial cells in each group

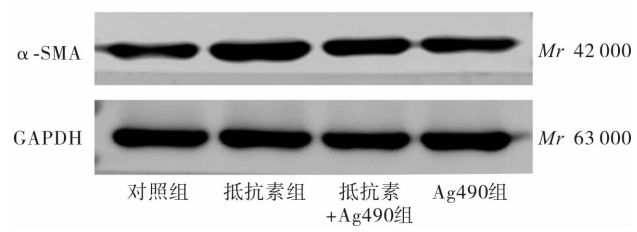


图 2 各组心肌细胞 α-SMA 蛋白表达水平

Fig.2 Expression of α-SMA protein in myocardial cell in each group

表 2 各组心肌细胞 α-SMA、C-MYC 蛋白的相对表达量

Tab.2 Relative expression level of α-SMA and C-MYC protein in myocardial cells in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	α-SMA 相对表达量	C-MYC 相对表达量
对照组	3	0.61 ± 0.04 ^a	0.50 ± 0.03 ^a
抵抗素组	3	0.84 ± 0.07	1.05 ± 0.08
抵抗素 + Ag490 组	3	0.67 ± 0.03 ^a	0.71 ± 0.03 ^{ab}
Ag490 组	3	0.61 ± 0.05 ^a	0.56 ± 0.06 ^a

注：与抵抗素组比较^a $P < 0.01$ ；与对照组比较^b $P < 0.01$ 。

2.3 各组心肌细胞 P-JAK2、P-STAT3 蛋白表达水平比较 结果见图 3、表 3。抵抗素组心肌细胞 P-JAK2、P-STAT3 蛋白表达量较对照组、抵抗素 + Ag490 组、Ag490 组显著增加 ($P < 0.01$)；其余各组心肌细胞 P-JAK2、P-STAT3 蛋白表达量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

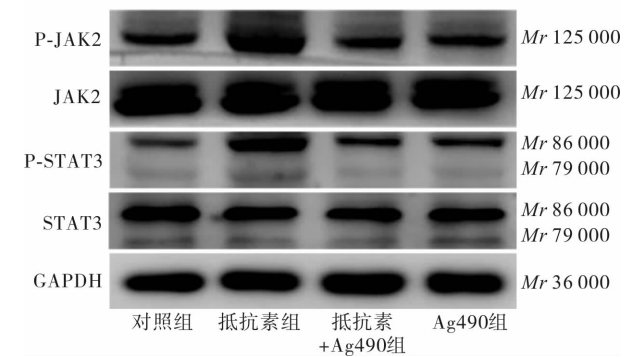


图 3 各组心肌细胞 P-JAK2、P-STAT3 蛋白表达水平

Fig.3 Expression of P-JAK2 and P-STAT3 protein in myocardial cells in each group

表 3 各组心肌细胞 P-JAK2、P-STAT3 蛋白相对表达量

Tab.3 Relative expression level of P-JAK2 and P-STAT3 protein in myocardial cells in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	P-JAK2 相对表达量	P-STAT3 相对表达量
对照组	3	0.62 ± 0.04 ^a	0.50 ± 0.04 ^a
抵抗素组	3	0.90 ± 0.07	0.99 ± 0.15
抵抗素 + Ag490 组	3	0.59 ± 0.03 ^a	0.55 ± 0.05 ^a
Ag490 组	3	0.56 ± 0.05 ^a	0.51 ± 0.03 ^a

注：与抵抗素组比较^a $P < 0.01$ 。

3 讨论

心肌肥厚是一种产生缓慢但较有效的代偿机制,心肌细胞在机械及化学性刺激因素下可通过体积的增大、蛋白合成的增加以及胚胎基因如 C-MYC、C-FOS、C-JUN 再表达使心肌收缩力加强,从而使心脏在较长时间内维持正常的血液循环,然而这种代偿不是无限制的,终将导致心力衰竭的发生。心肌肥厚的发生机制相当复杂,除压力负荷外,血管紧张素 II、肾上腺素、内皮素、甲状腺激素、雄激素也参与了心肌肥厚的发展过程。关于心肌肥厚的分子机制,研究表明,心肌细胞在相应刺激条件下可通过激活 Ca^{2+} 及其依赖的信号途径、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinses, MAPK)、JAK/STAT、蛋白激酶 C (protein kinase, PKC)、磷脂酰肌醇-3 激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、核转录因子-kB (nuclear factor kB, NF-kB)、腺苷酸活化蛋白激酶 (monophosphate activated protein kinase, AMPK) 等信号通路导致心肌肥厚^[3]。抵抗素作为一种分泌性多肽,人体内脂肪细胞、肌细胞、胰腺细胞和单核细胞均可以合成。人抵抗素有一段 108 个氨基酸的前肽,在分泌前被剪切,外周血中的抵抗素是 2 段 92 个氨基酸多肽组成的二聚体,通过二硫键连接。前期研究主要集中于抵抗素通过引起胰岛素抵抗导致糖代谢紊乱,从而导致肥胖及糖尿病的发生。随着研究的深入,发现抵抗素与心肌肥厚、动脉粥样硬化、冠状动脉粥样硬化性心脏病、心力衰竭等心血管疾病也具有相关性^[4]。MUSE 等^[5]通过对无症状患者 7 a 的追踪发现,抵抗素水平的升高是心血管疾病的独立危险因素。KIM 等^[6]发现,高抵抗素血症可导致心肌肥厚的发生,而通过控制糖尿病、减肥等措施降低抵抗素水平可预防心肌肥厚。动物研究同样表明,抵抗素在病理性心肌肥大的组织中的表达明显升高^[7]。这些研究均证实抵抗素与心肌肥厚有较大相关性。关于抵抗素促进心肌肥厚的分子机制研究目前仍较少。在细胞水平,研究发现

抵抗素可通过 LKB1/AMPK 通路诱导 H9C2 心肌细胞肥大^[8-9],在慢性压力负荷所致心肌肥厚过程中抵抗素表达水平升高,揭示抵抗素可促进心肌细胞肥大,并进一步发现,抵抗素促进心肌肥大是通过调节 AMPK/mTOR 及 JNK/IRS1 信号通路实现的^[10]。本研究发现,用抵抗素持续刺激 H9C2 心肌细胞 48 h 后,抵抗素组心肌细胞表面积像素、单细胞蛋白含量较对照组显著增加。在机械及化学性因素刺激心肌肥厚过程中可出现肌动蛋白、肌球蛋白及原癌基因表达量增加,本实验结果表明,抵抗素刺激条件抵抗素组 α -SMA 及 C-MYC 表达量较对照组显著增加。上述结果均揭示抵抗素可促进 H9C2 心肌细胞肥大。Ag490 作为 JAK2 的特异性抑制剂,可抑制 JAK2/STAT3 信号通路激活,在加入抵抗素前用 Ag490 预处理 2 h 后,抵抗素 + Ag490 组心肌细胞表面积像素、单细胞蛋白含量、 α -SMA 及 C-MYC 表达量较抵抗素组显著下降,表明 JAK2/STAT3 信号通路在抵抗素促进心肌细胞肥厚过程中发挥作用。

JAK/STAT 通路主要由 JAKs 蛋白家族和 STATs 蛋白家族组成,其中 JAK 是 STAT 的上游激酶,该通路广泛参与了细胞应激、生长、增殖、分化和凋亡等多种生物学效应。目前认为,JAK/STAT 通路在心脏增大及重构等病理生理过程中广泛参与并增加心脏对于刺激的适应性^[11]。研究表明,白细胞介素-6 可通过 gp130 激活 JAKs,导致其下游 STAT3 磷酸化,从而引起心肌肥厚^[12-13]。为了进一步验证抵抗素促进心肌肥大与 JAK2/STAT3 信号通路激活相关,本实验通过抵抗素刺激大鼠 H9C2 心肌细胞,应用 Western blot 检测技术检测各组心肌细胞 P-JAK2、P-STAT3 表达量,结果显示,抵抗素可使 P-JAK2、P-STAT3 表达量较对照组显著增加,说明抵抗素可激活 JAK2,使其下游 STAT3 磷酸化,在抵抗素刺激心肌细胞前加入 JAK2 特异性抑制剂后,抵抗素 + Ag490 组 P-JAK2、P-STAT3 表达量显著下降,但和对照组比较差异无统计学意义,从而进一步证实了抵抗素促进心肌细胞肥大与 JAK2/STAT3 的激活密切相关。同时在本研究中还发现,抵抗素 + Ag490 组心肌细胞表面积像素、单细胞蛋白含量、C-MYC 表达量大于对照组,提示 JAK2 特异性抑制剂 Ag490 并不能完全抑制抵抗素促进心肌细胞肥大,上述结果揭示抵抗素还可通过其他途径引起大鼠 H9C2 心肌细胞肥厚。

综上所述,抵抗素可诱导 H9C2 心肌细胞肥厚,其部分机制是通过激活 JAK2/STAT3 信号通路实现的。本研究为临床治疗心肌肥厚乃至心力衰竭提供了新的思路及治疗靶点。

参考文献:

[1] FUKUHARA A, MATSUDA M, NISHIZAWA M, *et al.* Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin [J]. *Science*, 2005, 307 (5708) : 426-430.

[2] FUJIO Y, MAEDA M, MOHRI T, *et al.* Glycoprotein 130 cytokine signal as a therapeutic target against cardiovascular diseases [J]. *J Pharmacol Sci*, 2011, 117 (4) : 213-222.

[3] 熊肇军,董吁钢. 心肌肥厚的研究进展 [J]. *中国医学前沿杂志*, 2013, 5 (4) : 17-22.

[4] LEE S E, KIM H S. Human resistin in cardiovascular disease [J]. *J Smooth Muscle Res*, 2012, 48 (1) : 27-35.

[5] MUSE E D, FELDMAN D I, BLAHA M J, *et al.* The association of resistin with cardiovascular disease in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis*, 2015, 239 (1) : 101-108.

[6] KIM M, OH J K, SAKATA S, *et al.* Role of resistin in cardiac contractility and hypertrophy [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2008, 45 (2) : 270-280.

[7] DOBRZYŃ P, PYRKOWSKA A, DUDA M K, *et al.* Expression of lipogenic genes is upregulated in the heart with exercise training-induced but not pressure overload-induced left ventricular hypertrophy [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2013, 304 (12) : 1348-1358.

[8] LIU P, CHENG G, QUNHUI Y E, *et al.* LKB1/AMPK pathway mediates resistin-induced cardiomyocyte hypertrophy in H9C2 embryonic rat cardiomyocytes [J]. *Biomed Rep*, 2016, 4 (3) : 387-391.

[9] 雒建卫. Apelin 抑制抵抗素诱导的 H9C2 心肌细胞肥大 [D]. 太原: 山西医科大学, 2015.

[10] KANG S, CHEMALY E R, HAJJAR R J, *et al.* Resistin promotes cardiac hypertrophy via the AMP-activated protein kinase/mammalian target of rapamycin (AMPK/mTOR) and c-Jun N-terminal kinase/insulin receptor substrate 1 (JNK/IRS1) pathways [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286 (21) : 18465-18473.

[11] SHI J, WEI L. Regulation of JAK/STAT signalling by SOCS in the myocardium [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 96 (3) : 345-347.

[12] ROHINI A, AGRAWAL N, KOYANI C N, *et al.* Molecular targets and regulators of cardiac hypertrophy [J]. *Pharmacol Res*, 2010, 61 (4) : 269-280.

[13] HILFIKER-KLEINER D, SHUKLA P, KLEIN G, *et al.* Continuous glycoprotein-130-mediated signal transducer and activator of transcription-3 activation promotes inflammation, left ventricular rupture, and adverse outcome in subacute myocardial infarction [J]. *Circulation*, 2010, 122 (2) : 145-155.

(本文编辑:孟月 英文编辑:孟月)