文章编号:1000-5404(2006)20-2027-03

论著

# 大鼠压力超负荷心肌糖蛋白 130 表达及贝那普利干预研究

金 丰,李隆贵,耿召华,郑宏庭 (第三军医大学新桥医院全军心血管内科中心,重庆 400037)

**提 要:目的** 研究糖蛋白 130(GP130)在腹主动脉缩窄所致大鼠压力超负荷性心肌肥大模型中的表达变化与心肌肥大的关系,以及贝那普利(Benazepril,Ben)对 GP130 蛋白表达及心肌肥大的影响。**方法** 用腹主动脉缩窄术建立大鼠压力超负荷性心肌肥厚模型,随机分为左室肥厚组(LVH,$n=7$)、贝那普利干预组($n=7$,贝那普利 1 mg·kg$^{-1}$·d$^{-1}$,灌胃 3 周),另设一假手术组($n=7$)为对照。干预 3 周后测定血流动力学指标、左心室质量指数,应用放射免疫分析法测定心肌血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)水平,免疫组化法检测心肌中 GP130 蛋白水平表达。**结果** 与假手术组比较,左室肥厚组动物的血压与左心室质量指数显著升高($P<0.05$);心肌组织 AngⅡ含量($P<0.01$)和 GP130 蛋白表达水平明显增加($P<0.05$)。贝那普利干预可显著降低血压和左心室质量指数($P<0.05$),同时降低肥厚心肌组织 AngⅡ浓度($P<0.01$)与 GP130 蛋白表达水平($P<0.05$)。**结论** GP130 蛋白的过度表达参与了压力超负荷性大鼠心肌肥大的发病过程;贝那普利对 GP130 蛋白表达及心肌肥大有抑制作用。

**关键词**:心肌肥大;糖蛋白 130;心肌营养素-1;贝那普利
**中图法分类号**:R341;R542.2;R972 **文献标识码**:A

# GP130 expression during cardiac hypertrophy induced by pressure overload in rats and its response to intervention of Benazepril

JIN Feng, LI Long-gui, GEN Zhao-hua, ZHENG Hong-ting (Cardiovascular Disease Research Center, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

**Abstract: Objective** To investigate the changes of GP130 expression in rats with pressure overload-induced cardiac hypertrophy, and the effect of Benazepril on GP130 expression and the concerned cardiac hypertrophy. **Methods** Two weeks after the Wistar rat model of pressure overload was established by constriction of abdominal aorta, the survived rats were randomly divided into hypertrophy group (LVH, $n=7$) and Benazepril intervention group (Ben, $n=7$, 1 mg·kg$^{-1}$·d$^{-1}$ Benazepril orally for 3 weeks). A sham-operation group (Sham, $n=7$) was set up as control. Blood pressure and left ventricular mass index (LVMI) were investigated at 3th week after model establishment. AngⅡ level in myocardium was measured by radioimmunoassay. The protein level of GP130 in cardiomyocytes was determined by immunohistochemistry. **Results** As compared with the Sham group, blood pressure and LVMI increased significantly ($P<0.05$); the level of AngⅡ ($P<0.01$) and the GP130 expression ($P<0.05$) were enhanced significantly. Benazepril decreased blood pressure, LVMI, AngⅡ level ($P<0.01$) and the GP130 expression ($P<0.05$) significantly as compared to those of LVH group. **Conclusion** The overexpression of GP130 may play an important role in cardiac hypertrophy. Benazepril may decrease the GP130 expression and inhibit cardiac hypertrophy.

**Key words**: cardiac hypertrophy; GP130; cardiotrophin-1; Benazepril

压力超负荷是诱导心肌肥大的独立发病因素,但是目前对于压力超负荷心肌肥大相关基因的表达和调控机制尚不清楚。心肌营养素-1(cardiotrophin, CT-1)属于白细胞介素-6(IL-6)超家族[1]。糖蛋白 130(GP130)作为 CT-1 的受体和信号传感器,是 CT-1 引发细胞肥大、增殖信号通路上的重要一环[2,3]。本研究拟通过建立压力超负荷性心肌肥厚大鼠模型,阐明 GP130 与心肌肥厚的关系以及观察贝那普利对二者的干预影响,并对其作用机制进行初步讨论。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂和药品

AngⅡ放免试剂盒(北京北方生物技术研究所);GP130 免疫组化试剂盒(北京奥科生物工程有限公司);S-P 9001 染色试

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30000071)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30000071)
作者简介:金 丰(1975-),男,湖南省衡阳市人,博士研究生,医师,主要从事心肌病、心力衰竭发病机制方面的研究。电话:13908315698,E-mail: jinf 01@sina.com
通讯作者:李隆贵,电话:(023)68755135
收稿日期:2006-04-10;修回日期:2006-07-12

剂盒(大连宝生物工程有限公司);DAB 显色试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司);贝那普利由北京诺华公司提供(商品名:洛丁新)

### 1.2 实验动物模型的建立及分组

健康雄性 Wistar 大鼠21只,体质量180~220 g,由本院实验动物中心提供。2%戊巴比妥钠(2 ml/kg)腹腔麻醉,左上腹切口,在双肾动脉上方0.2 cm用8号针头与腹主动脉一同结扎,随后抽出针头,形成腹主动脉缩窄病理模型。术后2周将存活大鼠分为左室肥厚组(LVH组)和贝那普利组(Ben组),各组7只。另设假手术组(Sham组)7只。3组中其中之一予以贝那普利灌胃给药(1 mg·kg$^{-1}$·d$^{-1}$),余2组灌等量生理盐水,疗程3周。

### 1.3 血流动力学参数检测

2%戊巴比妥钠(2 ml/kg)腹腔麻醉大鼠,导管内充满肝素,右颈总动脉逆行插管至左心室,另一端接压力换能器输入多媒体生物信号记录仪系统,记录分析后得左室收缩压,舒张压,平均动脉压。

### 1.4 心肌肥大检测和标本留取

将麻醉大鼠迅速开胸取出心脏,冰生理盐水洗净,滤纸吸干,沿房间沟剪掉两心房,剪掉主肺动脉,紧贴室间隔分离左心室(室间隔属左心室),用电子天平称取左心室质量,左心室质量指数(LVWI)=左心室重量/体质量。沿左心室长轴中点处留取0.3 cm×0.3 cm的心肌组织置于4%多聚甲醛(pH=7.4)中固定,制石蜡切块;剩余心肌组织再次用灭菌的生理盐水冲洗,滤纸吸干,用锡铂纸包裹并作好标记,在-70 ℃下保存,用于检测 AngⅡ。

### 1.5 心肌 GP130 蛋白表达测定

将制备的石蜡切块以5 μm厚度切片,采用S-P免疫组化法检测。结果判定:光镜观察,细胞膜或细胞质染为棕黄色为阳性细胞表达,用光密度扫描计算机图像分析结果。

### 1.6 AngⅡ含量采用放射免疫法检测

按说明书操作。

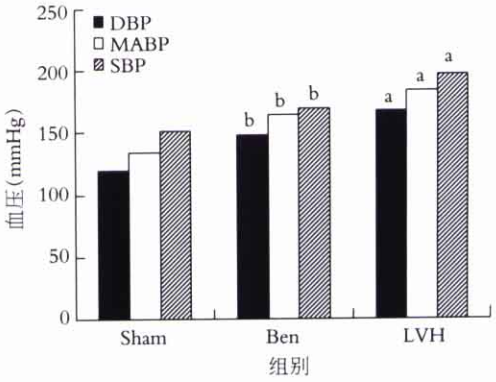
### 1.7 统计学结果

实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,应用SPSS 10.0统计软件进行 $t$ 检验。

## 2 结果

### 2.1 各组血流动力学指标和左心室质量指数

与Sham组比较,LVH组SBP、DBP和MABP显著增加($P<0.05$);LVMI亦显著增高($P<0.05$)。与LVH组比较,Ben组的上述指标显著降低($P<0.05$)。见图1。




a: $P<0.05$, 与Sham组比较; b: $P<0.05$, 与LVH组比较

**图1 各实验组血压的比较($n=7$)**

### 2.2 压力超负荷性心肌肥厚大鼠心肌 AngⅡ含量及贝那普利的干预影响

LVH组心肌AngⅡ含量与Sham组比较明显增加($P<0.01$);与LVH组比较,Ben组的心肌组织中AngⅡ含量显著降低($P<0.01$),但仍与Sham组有显著差异($P<0.01$)。见表1。

### 2.3 压力超负荷性心肌肥厚大鼠心肌 GP130 表达变化及贝那普利的干预影响

与Sham组比较,LVH组GP130蛋白MOD显著升高($P<0.05$)。经贝那普利干预后,与LVH组比较,Ben组GP130MOD显著降低($P<0.05$),但仍与Sham组有显著差异($P<0.05$)。见表1。

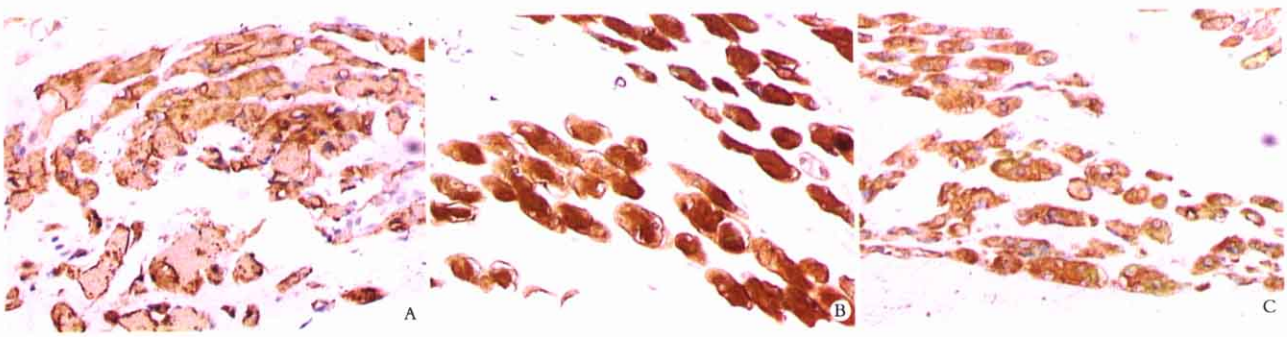
**表1 各实验组大鼠 AngⅡ及 GP130 表达比较($n=7$)**

| 组别 | AngⅡ(pg/mg) | GP130(MOD) |
|---|---|---|
| Sham组 | 750.13±170.28 | 0.074±0.015 |
| LVH组 | 1 512.34±189.76[a] | 0.095±0.03[b] |
| Ben组 | 801.24±126.89[ac] | 0.082±0.032[bd] |

a: $P<0.01$, b: $P<0.05$, 与Sham组比较; c: $P<0.01$, d: $P<0.05$, 与LVH组比较

### 2.4 各实验组心肌免疫组化染色结果

免疫组化染色显示:假手术组心肌细胞的细胞质和细胞膜可见少许浅褐色颗粒表达,染色较弱(图2A);肥厚组在心肌细胞质和细胞膜可见大量深棕褐色颗粒状物表达,GP130表达明显增强(图2B);贝那普利组在细胞质和细胞膜染色呈棕褐色,染色变浅,但未达到假手术组水平(图2C)。




A: 假手术组; B: 肥厚组; C: 贝拉普利组

**图2 各组心肌免疫组化染色结果** (S-P×200)

## 3　讨论

压力负荷增加是临床心肌肥厚发生的主要原因，心肌肥大又是多种心血管疾病的独立危险因素，阐明心肌肥大的发生机制对多种心脏疾病的治疗具有重要意义。早期心肌肥大是心脏维持有效心输出量的一种代偿机制，但持久的心肌肥大会导致心脏进入失代偿阶段，继而发生不可逆转的心肌肥大和扩张，心肌收缩力下降，导致心力衰竭[4]。

本实验采用缩窄腹主动脉制备压力超负荷性心肌肥厚模型。实验结果显示肥厚组 SBP、DBP 和 MABP 明显增高（$P<0.05$）；LVMI 明显增加（$P<0.05$），说明心脏压力超负荷病理模型构建成功。实验观察到肥厚组心肌中 Ang Ⅱ 含量显著增加；贝那普利干预后，LVMI 显著降低伴随心肌的Ang Ⅱ 含量下降。研究表明，肾素-血管紧张素-醛固酮系统（RAAS）的激活在心肌肥大及心室重构过程中发挥了重要作用。Ang Ⅱ 作为 RAAS 的重要效应肽是一种非常重要的致心肌细胞肥大因子，在压力负荷升高时表达增加[5]。Ang Ⅱ 在与 AT1R 结合后，激活磷脂酶产生多种磷脂来源的第二信使，使心肌细胞内 $Ca^{2+}$ 浓度增加，使多种信号途径被启动，通过原癌基因的高度表达，引起心肌细胞肥大和间质增生，导致心室重构[6]。经贝那普利干预能有效地阻断 Ang Ⅱ 的生成以及其介导的心肌肥大效应，从而逆转心室重构。

心肌营养素-1（cardiotrophin，CT-1）在与 GP130/白血病抑制因子（LIFR）复合物结合后，通过 Janus 络氨酸蛋白激酶/信号转导和转录激活因子（STAT）、MAPK 细胞外信号调节激酶（ERK）的激酶（MEK）-ERK，以及磷脂酰肌醇 3 激酶（PI3K）和 AKT（蛋白激酶 B）等信号通路引发心肌肥大[7]。GP130 是一种酪氨酸蛋白激酶受体，分子质量为 $130\times10^3$。生理条件下，对心肌细胞的生长、发育、增殖、分化有重要作用[8]；病理条件下，细胞因子如 CT-1 可激活 GP130，被活化的 GP130 从细胞质转位于细胞膜，与细胞因子作用，激活 Janus 络氨酸蛋白激酶/信号转导和转录激活因子（STAT）信号通路导致心肌肥厚[9]。最近研究表明 Ang Ⅱ 和 CT-1 均能通过 JAK/STAT 信号途径促进心肌细胞肥大。本研究显示肥厚组 GP130 蛋白表达明显增加，表明在压力超负荷性心肌肥厚中存在 GP130 蛋白过度表达，且与 RAAS 激活密切相关。可以推测，GP130 在心室重构的发生发展过程中可能具有重要作用。

本研究表明，经药物干预后的贝那普利组，随 LVMI 的减轻和 Ang Ⅱ 的降低，GP130 蛋白表达明显下调。贝那普利可能是通过阻断 Ang Ⅱ 的生成，从而有效地抑制了由 Ang Ⅱ 介导的细胞因子如 CT-1 基因的过度表达，间接引起 GP130 蛋白表达的下调。这可能是贝那普利在 RAAS 系统以外的对心肌肥厚干预作用的又一途径。这说明 CT-1 与血管紧张素系统关系密切，以及心肌细胞肥大的调节机制由多种细胞因子参与其中，它们相互联系及其制约，从而构成了一个极其复杂的网络。GP130 在心室重构过程中的确切作用以及能被贝那普利下调的确切机制仍有待进一步研究。

## 参考文献：


[1] PENNICA D, KING K L, SHAW K J, *et al*. Expression cloning of cardiotrophin 1, a cytokine that induces cardiac myocyte hypertrophy [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995, 92(4): 1142-1146.

[2] AOYAMA T, TAKIMOTO Y, PENNICA D, *et al*. Augmented expression of cardiotrophin-1 and its receptor component, gp130, in both left and right ventricles after myocardial infarction in the rat[J]. J Mol Cell Cardiol, 2000, 32(10): 1821-1830.

[3] PAN J, FUKUDA K, KODAMA H, *et al*. Involvement of gp130-mediated signaling in pressure overload-induced activation of the JAK/STAT pathway in rodent heart[J]. Heart Vessels, 1998, 13(4): 199-208.

[4] GUPTA S, PURCELL N H, LIN A, *et al*. Activation of nuclear factor-kappaB is necessary for myotrophin-induced cardiac hypertrophy[J]. J Cell Boil, 2002, 159(6): 1019-1028.

[5] KALLEN K J. The role of transsignalling via the agonistic soluble IL-6 receptor in human diseases? [J]. Biochim Biophys Acta, 2002, 1592(3): 323-343.

[6] DOSTAL D E, HUNT R A, KULE C E, *et al*. Molecular mechanisms of Angiotensin II in modulating cardiac function: intracardiac effects and signal transduction pathways[J]. J Mol Cell Cardiol, 1997, 29(11): 2893-3902.

[7] TAKAHASHI N, SAITO Y, KUWAHARA K, *et al*. Hypertrophic responses to cardiotrophin-1 are not mediated by STAT3, but *via* a MEK5-ERK5 pathway in cultured cardiomyocytes[J]. J Mol Cell Cardiol, 2005, 38(1): 185-192.

[8] FREED D H, BOROWIEC A M, ANGELOVSKA T, *et al*. Induction of protein synthesis in cardiac fibroblasts by cardiotrophin-1: integration of multiple signaling pathways[J]. Cardiovasc Res, 2003, 60(2): 365-375.

[9] TOH R, KAWASHIMA S, KAWAI M, *et al*. Transplantation of cardiotrophin-1-expressing myoblasts to the left ventricular wall alleviates the transition from compensatory hypertrophy to congestive heart failure in Dahl salt-sensitive hypertensive rats[J]. J Am Coll Cardiol, 2004, 43(12): 2337-2347.


（编辑　栾　嘉）