DOI:10.16016/j.1000-5404.202101167

Gsα在肥厚心肌中的表达及敲除后对心脏发育的影响

银 萍[1],赵 奇[1],石毓君[2],苏 立[1] 400014 重庆,重庆医科大学附属第二医院心血管内科[1];610041 成都,四川大学华西医院病理研究室[2]

[摘要] **目的** 通过主动脉缩窄术(transverse aortic constriction,TAC)建立压力超负荷诱导心肌肥厚的小鼠模型,检测肥厚心肌组织中Gsα表达变化,同时构建诱导性心肌特异性Gsα缺失小鼠,观察Gsα缺失对幼鼠心肌发育的影响。**方法** 10只健康雄性C57BL/6小鼠,按随机数字表法分为手术组(TAC组,$n=5$)和假手术组(Sham组,$n=5$),TAC组小鼠行主动脉弓缩窄术,Sham组小鼠仅穿线而不缩窄主动脉。术后4周,采用超声心动图检测小鼠左心功能,运用病理组织染色观察小鼠心肌结构变化,利用RT-qPCR及Western blot检测小鼠心肌组织中Gsα表达;采用Cre-Loxp系统,将$Gs\alpha^{fl/fl}$小鼠与Myh6-MerCreMer小鼠杂交获得诱导性Myh6-MerCreMer$^{+/-}$/$Gs\alpha^{fl/fl}$(MCM/$Gs\alpha^{fl/fl}$)小鼠。哺乳期MCM/$Gs\alpha^{fl/fl}$小鼠予腹腔注射他莫昔芬(tamoxifen, TMX, 20 mg/mL),连续10 d,通过哺乳方式将TMX传递给幼鼠,构建诱导性心肌特异性Gsα缺失幼鼠。记录幼鼠体质量增长以及生存率,利用病理组织染色观察心肌的结构变化。**结果** 术后4周,超声心电图结果显示TAC组小鼠较Sham组小鼠舒张末期左室后壁增厚($P<0.01$)、舒张末期室间隔增厚($P<0.05$)、舒张末期左室内径减小($P<0.05$),提示心肌发生了代偿性肥厚;组织病理学检测提示TAC组小鼠心肌横截面积显著增大($P<0.01$),血管周围纤维化明显增加($P<0.01$);RT-qPCR以及Western blot结果提示Gsα mRNA及蛋白表达水平增加($P<0.05$)。与玉米油诱导对照组相比,TMX诱导Gsα缺失的幼鼠出现生长迟缓、体质量显著降低($P<0.05$);组织学染色提示TMX诱导的幼鼠心脏大小明显减小。**结论** Gsα在压力超负荷诱导心肌肥厚心肌中的表达上调。Gsα敲除后幼鼠生长延迟、心脏发育受阻,提示Gsα可能参与心脏生理发育及后负荷增加所致代偿性心肌肥厚过程。

[关键词] 主动脉弓缩窄;心肌肥厚;心脏发育;Gsα;他莫昔芬;基因敲除
[中图法分类号] R363.21; R394.3; R542.2 [文献标志码] A

Expression of Gsα in mice with cardiac hypertrophy and effects of cardiac-specific Gsα deletion on heart development in young mice

YIN Ping[1], ZHAO Qi[1], SHI Yujun[2], SU Li[1] [1]Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400014; [2]Department of Pathology, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, Sichuan Province, 610041, China

[**Abstract**] **Objective** To detect the expression profile of alpha-subunit of the stimulatory G protein (Gsα) in a mouse model of pressure overload-induced cardiac hypertrophy by transverse aortic constriction (TAC), and investigate the effects of cardiac-specific Gsα deletion on the cardiac development in young mice. **Methods** Ten healthy adult male C57BL/6 mice were randomized equally into model group (TAC) and sham operation (Sham) group. The mice of the TAC group were inflicted with TAC to construct a mouse model of pressure overload induced myocardial hypertrophy. Four weeks after surgery, echocardiography was employed to assess the left cardiac function, histopathological staining was used to observe the myocardial

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81974036)
[通信作者] 苏 立, E-mail: sulicq@163.com

1000-5404/Copyright © 2021, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

structure, and RT-qPCR as well as Western blotting were performed to detect the expression of Gsα in the myocardial tissues of the mice. In addition, a Myh6-MerCreMer$^{+/-}$/Gsα$^{fl/fl}$ (MCM/ Gsα$^{fl/fl}$) mouse model was established by hybridization of Gsα$^{fl/fl}$ mice and Myh6-MerCreMer mice using Cre/Loxp system. Then lactating female MCM/Gsα$^{fl/fl}$ mice were intraperitoneally injected with tamoxifen (TMX, 20 mg/mL) for 10 consecutive days from the delivery day, transferring TMX to the young mice through lactation to construct inductive cardiac-specific Gsα-deficient pups. The body weight and survival rate of the pups were subsequently recorded, and the myocardial structural changes were detected using histological staining. **Results** As compared with the Sham group, the mice in the TAC group showed significantly increased thickness of end-diastolic left ventricular posterior wall (LVPWd) ($P < 0.01$) and end-diastolic interventricular septum (IVSd) ($P<0.05$), while decreased end-diastolic left ventricular internal diameter (LVIDd) ($P<0.05$), suggesting the onset of compensatory cardiac hypertrophy. Histopathological analysis indicated greater cross-sectional area of myocardium and higher perivascular fibrosis progression rate ($P<0.01$), and the mRNA and protein levels of Gsα were significantly increased in the TAC group ($P<0.05$). Compared to the control group, the TMX-induced Gsα-deficient pups showed significant growth retardation and reduction of body weight ($P<0.05$), as well as reduced overall heart size. **Conclusion** The expression of Gsα is up-regulated in cardiac hypertrophy induced by pressure overload. Postnatal cardiac Gsα deletion retards the growth of young mice and inhibits their heart development, indicating that Gsα may be involved in heart physiological development and process of compensatory cardiac hypertrophy.

[**Key words**] transverse aortic constriction; cardiac hypertrophy; heart development; Gsα; tamoxifen; gene deletion

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81974036). Corresponding author: SU Li, E-mail: sulicq@163.com

心肌肥厚是心衰发生、发展的重要生理病理过程,分为生理性/代偿性肥厚以及病理性肥厚[1]。一般认为生理性肥厚可逆转,是心肌对负荷增加的代偿,病理性心肌肥厚会经历代偿性肥厚过程,但最终会发展为失代偿而发生心衰、心律失常,甚至死亡[2]。Gsα 由 GNAS 基因编码,属于激动型 G 蛋白的 α 亚基。Gsα 主要与 G 蛋白偶联受体偶联,通过与 G 蛋白的 β 和 γ 亚基解离后,将胞外信号传递至胞内,进而激活腺苷酸环化酶(adenylate cyclase,AC)产生第二信使环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate,cAMP)最终激活下游的信号通路[3]。心肌组织中与 Gsα 偶联的主要是肾上腺素受体。研究表明肾上腺素受体信号转导通路的脱敏机制在心肌肥厚以及心衰的发生中起着重要的作用[4],由此推测 Gsα 与心肌肥厚的发生、发展有着密切的关系。本研究拟通过主动脉弓缩窄术(transverse aortic constriction,TAC)建立压力超负荷模型小鼠,检测肥厚心肌组织中 Gsα 表达变化;同时拟在诱导性心肌特异性 Gsα 敲除模型中,观察 Gsα 缺失对幼鼠心肌发育的影响,以初步探讨 Gsα 表达与心肌发育及代偿性肥厚之间的关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物

野生型 C57BL/6 小鼠,Myh6-MerCreMer 转基因工具鼠及 Gsα$^{fl/fl}$ 小鼠均由四川大学华西医院病理研究室提供,严格按照 SPF 级饲养条件进行操作。

选取 8~10 周体质量 22~26 g 的健康野生型 C57BL/6 雄性小鼠,用于手术建模;采用 Cre/Loxp 系统,将 Myh6-MerCreMer 小鼠与 Gsα$^{fl/fl}$ 杂交获得 Myh6-MerCreMer$^{+/-}$/Gsα$^{fl/fl}$ 小鼠,将雌性 Myh6-MerCreMer$^{+/-}$/Gsα$^{fl/fl}$ 与雄性 Gsα$^{fl/fl}$ 杂交,选取哺乳期的 Myh6-MerCreMer$^{+/-}$/Gsα$^{fl/fl}$ 母鼠进行实验。

1.2 主要实验试剂

异氟烷购自深圳瑞沃德公司;他莫昔芬购自美国 Sigma 公司;HE 染色试剂盒与天狼猩红染色试剂盒购自中国珠海贝索生物技术有限公司;WGA 荧光抗体购自美国 Life Technology 公司;GNAS 抗体、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG/抗小鼠 IgG 均购自美国 Proteintech 公司,GAPDH 抗体购自中国华安生物公司。

1.3 实验模型建立以及给药方式

1.3.1 TAC 模型制备以及分组 8~10 周雄性 C57BL/6 小鼠按照随机数字表法分为两组,手术组(TAC)和假手术组(Sham),每组各 5 只。使用 3%异氟烷对小鼠进行深度麻醉并按压鼠尾确保反射消失。将小鼠仰卧位固定在 37 ℃加热垫上,1.5%异氟烷维持小鼠的麻醉。手术区域消毒备皮,在小鼠上肢水平连线中点做一横向切口,分离皮下筋膜,在第 2 肋间横

断胸骨,放入胸腔撑开器以扩大视野。钝性分离血管筋膜,拨开胸腺,暴露主动脉弓。使用自制引线器从主动脉弓下方穿一6.0丝线,在主动脉弓旁放置钝性的26G针头(直径0.45 mm),结扎主动脉弓,并缓慢去除钝性针头。确认无出血后,挤压胸腔排气后关闭胸腔并缝合切口。术后,小鼠继续放于加热垫上,等待完全苏醒。Sham组小鼠的手术流程与TAC组小鼠相同,但不结扎主动脉弓。术后4周,利用超声心动图对TAC组以及Sham组的小鼠进行心功能检测(图1)。

1.3.2　构建诱导性心肌特异性转基因小鼠以及给药方式　　选取与雄性 $Gs\alpha^{fl/fl}$ 杂交后的雌性哺乳期 Myh6-MerCreMer$^{+/-}$/$Gs\alpha^{fl/fl}$ 母鼠,按随机数表法分为对照组和实验组。实验组哺乳期母鼠予腹腔注射0.1 mL TMX(20 mg/mL,溶剂为玉米油),而对照组母鼠予腹腔注射玉米油,连续注射10 d,从P0(Postnatal 0 day)开始(图2)。

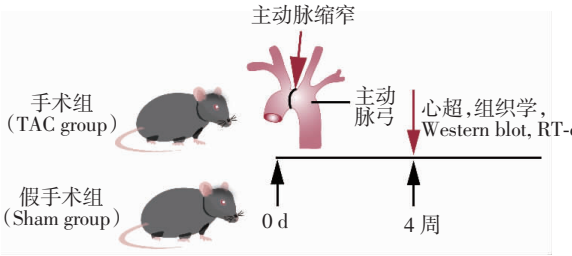


图1　手术建模流程示意图

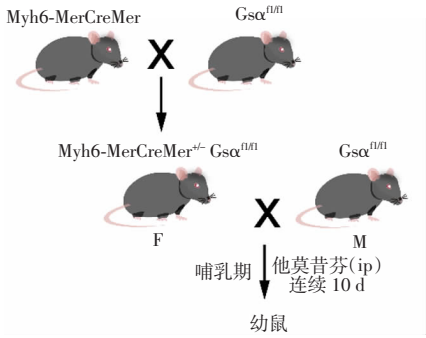


图2　诱导性心肌特异性转基因小鼠(Myh6-MerCreMer$^{+/-}$/$Gs\alpha^{fl/fl}$)的构建示意图

1.4　检测方法

1.4.1　小鼠超声心动图　　主动脉弓缩窄术后4周,利用超声心动图对TAC组及Sham组小鼠进行心功能检测。使用1.5%异氟烷麻醉小鼠,随之将小鼠仰卧位固定于操作台上,并使用13 MHz高频探头在胸锁乳突肌水平短轴切面采集图像,检测反映左心室舒张功能相关指标[舒张末期左心室内径(left ventricle end diastolic dimension,LVEDd)、舒张末期左心室后壁厚度(left ventricular posterior wall diameter,LVPWd)、舒张末期室间隔厚度(interventricular septal wall diameter,IVSd)等]及反映左心室收缩功能相关指标[收缩末期左心室内径(left ventricular internal diameter,LVIDs)、收缩末期左心室后壁厚度(LVPWs)、收缩末期室间隔厚度(IVSs)、左心室射血分数(left ventricle ejection fraction,LVEF)、左心室短轴缩短率(LVFS)等]。超声心动图检测后,将麻醉状态下的小鼠断颈处死,迅速打开胸腔获取心脏。将心肌组织中段泡在10%中性福尔马林固定48 h,剩余心肌组织液氮速冻后放于-80 ℃冰箱保存。

1.4.2　心脏大体观以及心脏质量与体质量比　　称量小鼠体质量,小鼠麻醉状态下颈椎脱臼处死后迅速获取心脏,修剪非心脏组织后拍照并称量。计算全心质量(mg)/体质量(g)。

1.4.3　心脏组织病理学分析　　将固定好的心肌组织进行石蜡包埋,然后进行4 μm连续切片。将脱蜡处理后的切片进行HE染色、天狼星红染色和WGA免疫荧光染色显示细胞膜(抗体浓度1∶100),镜下观察心肌结构、心肌纤维化情况及心肌细胞的横截面积。每个样本镜下随机选择3个视野,各组选择至少3个样本,利用Image J软件定量分析心肌纤维化及心肌横截面积。

1.4.4　RT-qPCR检测　　按照50~100 mg/mL的比例,将TRIzol溶液加入含心肌组织的离心管中,使用组织匀浆机匀浆2 min后,冰上静置10 min,向离心管中加入0.2倍TRIzol体积的氯仿,涡旋振荡后静置,4 ℃、12 000×g离心15 min。吸取上层液于新离心管中,再加入等体积的异丙醇,混匀静置后,4 ℃、12 000×g离心10 min。弃上清,缓慢沿离心管管壁加入1 mL 75%乙醇,震荡悬浮沉淀,再4 ℃、7 500×g离心5 min。倒去乙醇并晾干,加入RNase free water溶解RNA沉淀。提取的RNA使用HiScript RT Super Mix逆转录为cDNA。GNAS的正义链为5′-GGTCTATCCGAGTGTACCCGA-3′,反义链为5′-GGCCTTCTCACTATCTCCGTTAAA-3′;内参RPS11的正义链为5′-AGATGAAGATGCAGAGGACCA-TT-3′,反义链为5′-GACGCTTCTCAAAGCGATTGT-3′。使用实时荧光定量PCR仪进行扩增并采集荧光信号,运用$2^{-\Delta\Delta Ct}$量化Gnas mRNA的表达变化。

1.4.5　Western blot检测　　称取小鼠心肌组织30 mg左右,加入RIPA裂解液后使用组织匀浆机匀浆,置于冰上静置裂解1 h后,4 ℃、12 000×g离心10 min,取上清。BCA蛋白浓度测定试剂盒测定总的蛋白浓度。向剩余上清液中加入1/4上清体积的蛋白上样缓冲液,沸水浴10 min。采用SDS-PAGE配制10%凝胶,并

根据蛋白浓度调整上样体积。使用恒定电压电泳后,随之使用260 mA恒定电流转膜50 min。5%脱脂奶粉在室温封闭条带2 h。使用5% BSA稀释的一抗GNAS(1∶500),GAPDH(1∶1 000)在4 ℃孵育条带过夜。随后使用5%脱脂奶粉稀释的二抗(1∶10 000)室温孵育条带1 h。使用ECL显影液,凝胶成像系统曝光。运用Image J软件分析条带的灰度值以分析蛋白的相对表达水平。

1.5　统计学分析

采用GraphPad Prism 8.0统计软件分析数据,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用配对 t 检验。$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　超声心动图检查

主动脉弓缩窄术后4周,手术组仅有4只存活。对TAC组以及Sham组小鼠进行超声心动图检测,结果显示,与Sham组小鼠相比,TAC组小鼠左心室射血分数(LVEF)和左心室短轴缩短率(LVFS)稍有下降,但差异无统计学意义;TAC组小鼠舒张末期室间隔厚度(IVSd)以及舒张末期左心室后壁厚度(LVPWd)增加,但舒张末期左心室内径(LVIDd)减小,差异均具有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$,表1)。结果提示,主动脉缩窄术后4周,小鼠左心室收缩功能尚未降低,但舒张功能显著降低,小鼠心肌目前仍处于后负荷增加诱发的代偿性心肌肥厚状态。

2.2　小鼠心脏大体观察

与Sham组相比,TAC组小鼠心脏明显增大,小鼠心脏质量与体质量的比值增加,差异具有统计学意义($P<0.05$,图3)。

2.3　小鼠心脏病理学分析

HE染色,天狼星红染色以及麦胚凝集素(WGA)免疫荧光染色结果显示,与Sham组小鼠相比,TAC组小鼠表现为心肌肥厚及心肌纤维化,主要为血管周围纤维化,且心肌横截面积增加(图4)。通过定量分析发现,与Sham组小鼠相比,TAC组小鼠的血管周围纤维化以及心肌横截面积显著增加($P<0.01$,图5)。结果提示,使用26G缩窄针行主动脉弓缩窄术后4周,TAC组小鼠心脏表现为向心性的肥厚。

2.4　TAC与Sham组心肌组织中Gsα的表达

主动脉弓缩窄术后4周,RT-qPCR和Western blot检测两组小鼠心肌组织中Gsα的mRNA和蛋白表达量。结果提示,主动脉缩窄术4周后,与Sham组小鼠相比,TAC组小鼠心肌中Gsα的mRNA及蛋白表达水平均显著增加($P<0.05$,图6)。

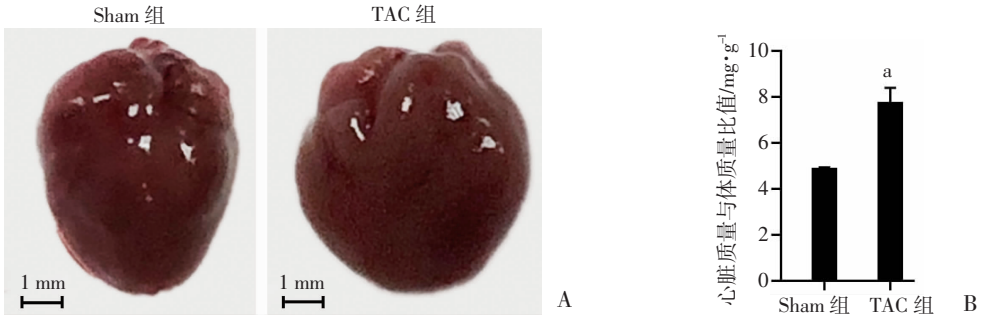
2.5　Myh6-MerCreMer$^{+/-}$Gsα$^{fl/fl}$小鼠构建及TMX诱导的幼鼠一般情况

Myh6-MerCreMer小鼠和Gsα$^{fl/fl}$小鼠杂交,获得诱导性心肌特异性Myh6-MerCreMer$^{+/-}$/Gsα$^{fl/fl}$(MCM/Gsα$^{fl/f}$)小鼠。利用PCR鉴定小鼠基因型,显示MCM/Gsα$^{fl/f}$小鼠构建成功。对哺乳期的MCM/Gsα$^{fl/fl}$母鼠进行连续10 d TMX诱导后,分析幼鼠的体质量以及生存率发现,与玉米油诱导的幼鼠相比,TMX诱导的幼鼠表现出来明显的生长迟缓,体质量减轻,并且于P19 d开始死亡,未能存活到P22 d(图7)。结果提示,Gsα的缺失可能影响了幼鼠心肌以及整体的发育。

表1　主动脉缩窄对各组小鼠心功能影响($n=5,\bar{x}\pm s$)

组别	LVIDd/mm	IVSd/mm	LVPWd/mm	LVEF(%)	LVFS(%)
Sham组	3.947±0.093	0.780 0±0.031 8	0.615 0±0.026 1	79.00±0.20	42.83±0.20
TAC组	3.401±0.131[a]	1.114 0±0.054 3[a]	0.865 0±0.023 5[b]	77.33±0.68	41.33±1.31

a:$P<0.05$, b:$P<0.01$,与Sham组比较



A:各组心脏组织大体观;B:各组心脏质量/体质量比值　a:$P<0.05$,与Sham组比较

图3　主动脉缩窄4周后各组小鼠心脏大体观以及心脏体质量比定量分析

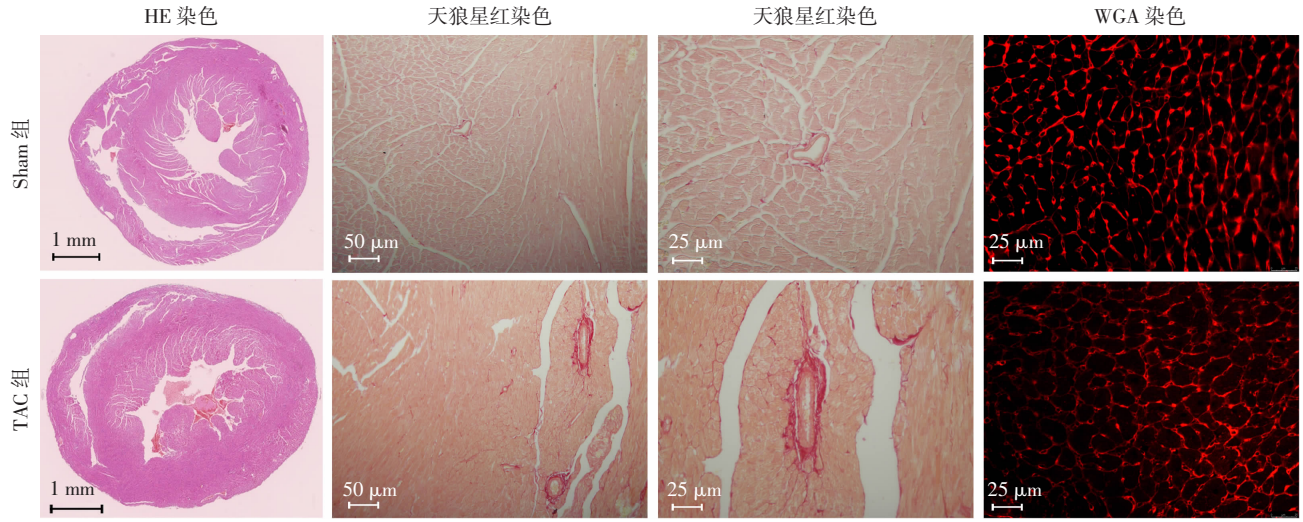
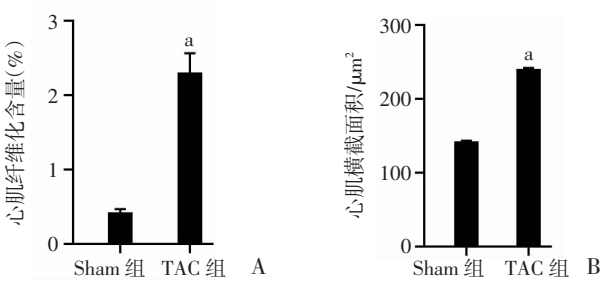
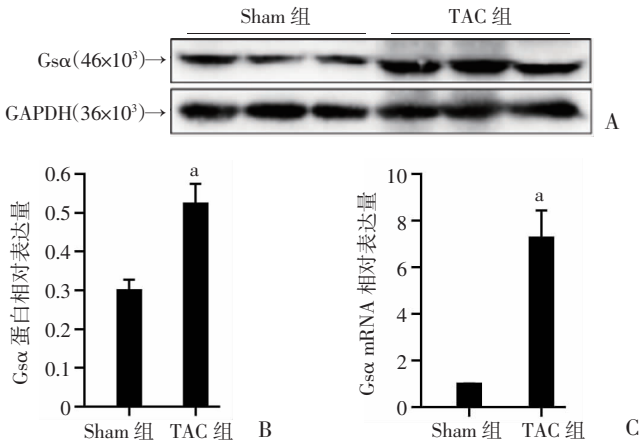


图 4　主动脉缩窄 4 周后各组小鼠心脏病理学染色观察



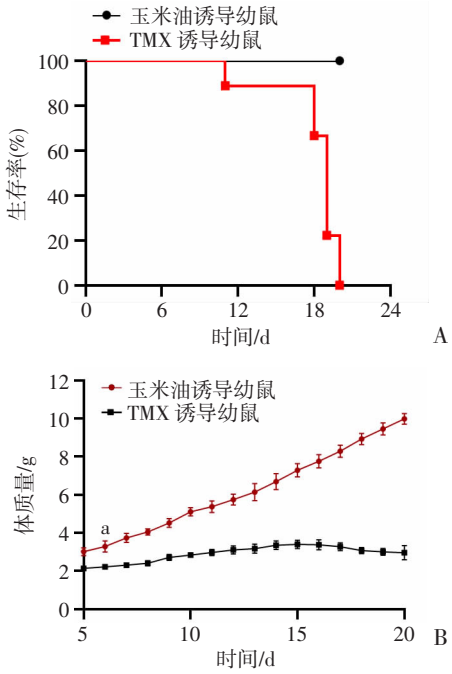
A:各组心肌纤维化含量;B:各组心肌横截面积比较
a:$P<0.01$,与 Sham 组比较

图 5　主动脉缩窄 4 周后各组小鼠心肌纤维化及心肌横截面积定量分析



A、B:Western blot 检测心肌组织中 Gsα 蛋白表达及半定量分析;C:Gsα mRNA 相对表达量　a:$P<0.05$,与 Sham 组比较

图 6　主动脉缩窄术后 4 周小鼠心肌组织中 Gsα 的 mRNA 和蛋白的表达

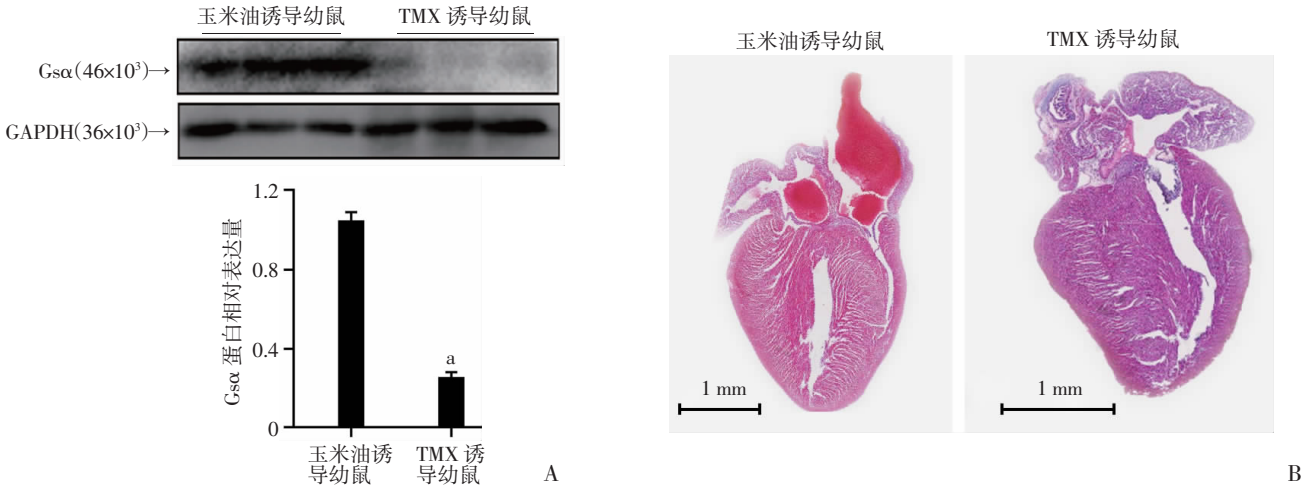


A:TMX 诱导的幼鼠与对照组幼鼠的生存分析;B:TMX 诱导的幼鼠与对照组幼鼠的体质量增长曲线　a:$P<0.01$,与 TMX 诱导的幼鼠比较

图 7　TMX 诱导的幼鼠生存率及体质量增长曲线

2.6　TMX 诱导的幼鼠敲除效率检测及心脏大体情况

Western blot 检测结果显示,TMX 诱导的幼鼠心肌组织中 Gsα 蛋白表达量比玉米油诱导的幼鼠明显降低,表明 Gsα 敲除效率较好。幼鼠的心肌 HE 染色显示,TMX 诱导的幼鼠心脏大小显著小于玉米油诱导的幼鼠(图 8)。



A:Western blot 检测幼鼠心肌组织中 Gsα 的敲除效率　a:$P<0.01$,与玉米油诱导的幼鼠比较;B:幼鼠心肌 HE 染色

图 8　TMX 诱导后幼鼠 Gsα 的敲除效率检测及幼鼠心脏大体观

3　讨论

心肌肥厚是心衰早期发生的病理生理过程。导致心肌肥厚的原因众多,其中压力负荷增加引发心肌首先发生代偿性(向心性)心肌肥厚以维持心脏功能,主要表现为心室壁增厚及心腔缩小,而持续的负荷增加,导致肥厚失代偿,表现为心腔扩张、室壁变薄、心肌收缩力下降,最终导致心力衰竭。调控心肌肥厚的分子机制复杂,研究表明肾上腺素受体信号转导通路的脱敏机制在心肌肥厚以及心衰的发生中起着重要的作用[4]。Gsα 由 GNAS 基因编码,属于激动型 G 蛋白的 α 亚基。Gsα 主要与 G 蛋白偶联受体偶联,通过与 G 蛋白的 β 和 γ 亚基解离后,将胞外信号传递至胞内,激活 AC 产生 cAMP,最终激活下游的信号通路[3]。而心肌组织中与 Gsα 偶联的主要是肾上腺素受体,由此推测 Gsα 与心肌肥厚的发生、发展可能存在一定的关系。

本研究构建的小鼠主动脉缩窄模型,使用 26G 垫针,缩窄程度为中等。术后 4 周,与 Sham 组小鼠相比,TAC 组小鼠的收缩功能指标 LVEF 和 LVFS 差异无统计学意义,但舒张功能指标 IVSd 以及 LVPWd 显著增加,而 LVIDd 显著变小,提示 TAC 组小鼠发生了向心性心肌肥厚,此时收缩功能处于代偿阶段。组织病理学分析提示,TAC 组小鼠心肌纤维化主要聚集在血管周围,而心肌间质尚未见纤维化,与文献[5]报道一致。RT-qPCR 及 Western blot 检测提示,TAC 组小鼠心肌组织中 Gsα mRNA 和蛋白水平出现不同步的增加。二者的不同步可能与 Gsα 存在转录后调控有关[6]。上述结果提示,Gsα 可能参与心肌的代偿性肥厚过程。

据以往研究报道,哺乳动物心脏正常生长发育过程中,心肌会经历由增生性生长转变为一定程度的肥厚性生长的过程[7]。那么,成功敲除 Gsα 基因后,是否会影响这一过程呢?基于此,我们构建了 TMX 诱导心肌特异性 Gsα 敲除幼鼠。研究结果显示,心肌特异性 Gsα 敲除幼鼠出现了发育迟缓,心肌肥厚性生长受到抑制,并未能存活到成年。提示 Gsα 在幼鼠心肌发育的肥厚性生长中亦起着重要的作用。

Gsα 作为 G 蛋白的 α 亚基,广泛表达于组织中,其主要通过与 β 和 γ 亚基的结合或分离,起着分子信号转导开关的作用。已有研究表明,人类 GNAS 基因的突变与多种疾病相关,如奥尔布赖特遗传性骨营养不良、多发性骨纤维发育不良等[3,8]。研究亦发现 Gsα 的异常表达会导致细胞的生长、增殖、凋亡及代谢出现障碍[9],且影响平滑肌细胞的收缩和分化功能[10-11]。有关 Gsα 的表达变化与心血管疾病的关系研究较少,其中一项研究显示在心衰终末期的人心肌组织中,Gsα 的 mRNA 表达水平增加,但其蛋白水平无明显变化[12]。而在本研究中,心室压力超负荷引起的心肌肥厚伴随着 Gsα mRNA 及蛋白表达水平增加。这一差异,是否预示着从代偿性肥厚到失代偿性肥厚转换的过程中,Gsα 在转录后的翻译调控发生了变化?如果存在这种转录后调控的变化,那它是否是使心肌从代偿性肥厚发展为失代偿性肥厚的关键机制?这些问题有待后续的研究予以证实。

本研究另一个值得关注的有趣现象是出生后诱导敲除 Gsα 后,幼鼠出现了生长发育迟缓,心脏总体显著减小。这一结果是否系因母鼠连续进行腹腔注射他

莫昔芬引起母鼠的应激以及情绪变化,从而导致其拒绝哺乳,进而影响了幼鼠的发育?对照组母鼠同样腹腔注射玉米油,而对照组幼鼠的生长发育表现为正常,这在一定程度上排除了上述注射刺激因素。因此,我们认为,Gsα 的敲除可能影响了幼鼠心脏的肥厚性生长,进而同时影响了幼鼠的整体发育。这种出生后心肌特异性敲除 Gsα 是否引发心脏表型改变尚不清楚。但研究表明,Gsα 与 Hippo 通路中 YAP/TAZ 形成闭环通路可以调控施万细胞的增殖与分化[13],而 Hippo 通路与心脏的发育有着密切的关系[14]。我们大胆推测 Gsα 与 Hippo 通路相互作用可能会影响幼鼠心肌的肥厚性生长,但是相关机制亦有待后续研究加以证实。

本研究仅观察了 TAC 诱导出现代偿性肥厚阶段 Gsα mRNA 和蛋白水平变化,关于 Gsα 在失代偿心肌肥厚时的表达变化以及相关机制尚待后续研究。另外,出生后 Gsα 诱导敲除并不是直接在幼鼠体内进行,而是通过母乳传递幼鼠进行诱导敲除,因而存在一定的局限性。

总之,本研究结果显示压力超负荷早期左心室出现代偿性心肌肥厚,同时伴有 Gsα mRNA 和蛋白表达上调,而 TMX 诱导敲除乳鼠心肌 Gsα 后,出现生长迟缓以及出生后心肌肥厚生长受抑制。本研究为后续进一步探索心脏生长发育、心肌肥厚的分子机制和寻找心衰的早期干预靶点奠定了基础。

参考文献:

[1] WU J, DAI F J, LI C, *et al*. Gender differences in cardiac hypertrophy[J]. J Cardiovasc Transl Res, 2020, 13(1): 73-84. DOI: 10.1007/s12265-019-09907-z.

[2] NAKAMURA M, SADOSHIMA J. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy[J]. Nat Rev Cardiol, 2018, 15(7): 387-407. DOI: 10.1038/s41569-018-0007-y.

[3] LIN Y L, MA R, LI Y. The biological basis and function of GNAS mutation in pseudomyxoma peritonei: a review[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2020, 146(9): 2179-2188. DOI: 10.1007/s00432-020-03321-8.

[4] ALI D C, NAVEED M, GORDON A, *et al*. β-adrenergic receptor, an essential target in cardiovascular diseases[J]. Heart Fail Rev, 2020, 25(2): 343-354. DOI: 10.1007/s10741-019-09825-x.

[5] BACMEISTER L, SCHWARZL M, WARNKE S, *et al*. Inflammation and fibrosis in murine models of heart failure[J]. Basic Res Cardiol, 2019, 114(3): 19. DOI: 10.1007/s00395-019-0722-5.

[6] GAUDIN C, ISHIKAWA Y, WIGHT D C, *et al*. Overexpression of Gs alpha protein in the hearts of transgenic mice[J]. J Clin Invest, 1995, 95(4): 1676-1683. DOI: 10.1172/jci117843.

[7] HORTELLS L, VALIENTE-ALANDI I, THOMAS Z M, *et al*. A specialized population of periostin-expressing cardiac fibroblasts contributes to postnatal cardiomyocyte maturation and innervation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 117(35): 21469-21479. DOI: 10.1073/pnas.2009119117.

[8] WEINSTEIN L S, LIU J, SAKAMOTO A, *et al*. GNAS: normal and abnormal functions[J]. Endocrinology, 2004, 145(12): 5459-5464. DOI: 10.1210/en.2004-0865.

[9] LU C, XIA J, ZHOU Y, *et al*. Loss of Gsα impairs liver regeneration through a defect in the crosstalk between cAMP and growth factor signaling[J]. J Hepatol, 2016, 64(2): 342-351. DOI: 10.1016/j.jhep.2015.08.036.

[10] QIN X, LIU S, LU Q, *et al*. Heterotrimeric G stimulatory protein alpha subunit is required for intestinal smooth muscle contraction in mice[J]. Gastroenterology, 2017, 152(5): 1114-1125. DOI: 10.1053/j.gastro.2016.12.017.

[11] QIN X, HE L, TIAN M, *et al*. Smooth muscle-specific Gs alpha deletion exaggerates angiotensin Ⅱ-induced abdominal aortic aneurysm formation in mice *in vivo*[J]. J Mol Cell Cardiol, 2019, 132: 49-59. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2019.05.002.

[12] FELDMAN A M, CATES A E, BRISTOW M R, *et al*. Altered expression of alpha-subunits of G proteins in failing human hearts[J]. J Mol Cell Cardiol, 1989, 21(4): 359-365. DOI: 10.1016/0022-2828(89) 90646-9.

[13] DENG Y Q, WU L M N, BAI S J, *et al*. A reciprocal regulatory loop between TAZ/YAP and G-protein G alpha s regulates Schwann cell proliferation and myelination[J]. Nat Commun, 2017, 8: 15161. DOI: 10.1038/ncomms15161.

[14] CHEN X Q, LI Y L, LUO J D, *et al*. Molecular mechanism of hippo-YAP1/TAZ pathway in heart development, disease, and regeneration[J]. Front Physiol, 2020, 11: 389. DOI: 10.3389/fphys.2020.00389.

(**收稿**:2021-01-20;**修回**:2021-03-23)

(编辑 汪勤俭)