硫化氢对心肌成纤维细胞增殖的抑制作用及机制研究Δ

刘露露[1,2*]，秦　燕[1,2]，孟国梁[2]，顾锦华[1,2]，张　琳[1]，包小燕[3#]（1.南通大学附属妇幼保健院/南通市儿童医院药学部，江苏 南通　226007；2.南通大学药学院，江苏 南通　226001；3.南通大学附属妇幼保健院/南通市儿童医院心电图室，江苏 南通　226007）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）04-0438-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.04.11

摘　要　目的　研究硫化氢（H_2S）对心肌成纤维细胞增殖的抑制作用及机制。**方法**　取新生SD雄性大鼠心脏，采用差速离心法分离心肌成纤维细胞。以硫氢化钠作为H_2S的供体，检测H_2S对血管紧张素Ⅱ（Ang Ⅱ）诱导心肌成纤维细胞增殖、羟脯氨酸含量以及去乙酰化酶3（SIRT3）蛋白表达的影响。用干扰RNA技术下调SIRT3表达后，观察H_2S对Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞增殖、羟脯氨酸的含量以及Ⅰ型胶原（Col Ⅰ）、Ⅲ型胶原（Col Ⅲ）和视神经萎缩蛋白1（OPA1）表达的影响。**结果**　H_2S可抑制Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞增殖，降低羟脯氨酸含量，增强SIRT3蛋白表达（$P<0.05$）。用干扰RNA技术下调SIRT3表达后，H_2S对Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞增殖抑制作用、羟脯氨酸含量降低作用均被抑制，且H_2S降低Col Ⅰ、Col Ⅲ表达的作用和增强OPA1表达的作用也明显减弱。**结论**　H_2S依赖增加SIRT3表达来抑制Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞增殖。

关键词　硫化氢；心肌成纤维细胞；血管紧张素Ⅱ；去乙酰化酶3

Study on inhibitory effect and mechanism of hydrogen sulfide on the proliferation of cardiac fibroblasts

LIU Lulu[1,2], QIN Yan[1,2], MENG Guoliang[2], GU Jinhua[1,2], ZHANG Lin[1], BAO Xiaoyan[3]（1. Dept. of Pharmacy, the Affiliated Maternity & Child Health Care Hospital of Nantong University/Nantong Children's Hospital, Jiangsu Nantong 226007, China; 2. School of Pharmacy, Nantong University, Jiangsu Nantong 226001, China; 3. Electrocardiographic Room, the Affiliated Maternity & Child Health Care Hospital of Nantong University/Nantong Children's Hospital, Jiangsu Nantong 226007, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the inhibitory effect and the possible mechanism of hydrogen sulfide（H_2S）on the proliferation of cardiac fibroblasts. **METHODS** The heart of neonatal SD rats was collected, and cardiac fibroblasts were separated with differential centrifugation. Using sodium hydrosulfide as the donor of H_2S, the effects of H_2S on the proliferation of cardiac fibroblasts induced by angiotensin Ⅱ（Ang Ⅱ）, hydroxyproline content and the expression of sirtuin 3（SIRT3）protein were detected. After SIRT3 knockdown with siRNA technology, the effects of H_2S on the proliferation of cardiac fibroblasts induced by Ang Ⅱ, hydroxyproline content, the expressions of collagen Ⅰ（Col Ⅰ）, collagen Ⅲ（Col Ⅲ）and optic atrophy protein 1（OPA1）were detected. **RESULTS** H_2S could inhibit the proliferation of Ang Ⅱ-induced cardiac fibroblasts, reduce the content of hydroxyproline and increase the expression of SIRT3（$P<0.05$）. After down-regulating the expression of SIRT3 with siRNA technology, the inhibition of H_2S on the proliferation of Ang Ⅱ-induced cardiac fibroblasts and the reduction of hydroxyproline content were both inhibited, and the effect of H_2S on reducing the expression of Col Ⅰ and Col Ⅲ and enhancing the expression of OPA1 was also significantly weakened. **CONCLUSIONS** H_2S inhibits the proliferation of Ang Ⅱ-induced cardiac fibroblasts through increasing the expression of SIRT3.

KEYWORDS　hydrogen sulfide; cardiac fibroblasts; angiotensin Ⅱ; sirtuin 3

心肌纤维化是一种以心肌成纤维细胞基质蛋白沉积为主要特征的心肌病理改变[1]。当心肌缺血缺氧时，心肌成纤维细胞可过度激活，进而造成心脏损伤[2]。虽然心肌成纤维细胞是心脏中数目最多的细胞，但在研究心脏生理功能和疾病机制过程中，对心肌成纤维细胞研

Δ**基金项目**　江苏省333高层次人才培养工程[No.（2022）3-16-670号]；南通市科技计划（指导性）项目（No.JCZ20167）；南通市卫生健康委员会科研课题（No.QA2020034）

＊**第一作者**　主管药师，硕士。研究方向：临床药学、药理学。E-mail：guiqulaixi214@163.com

\# **通信作者**　主治医师。研究方向：心血管疾病的临床治疗。E-mail：lulu920317@163.com

究却相对较少。硫化氢（hydrogen sulfide，H_2S）是一种气体信号分子[3]，在调节细胞信号传导、抗炎、抗氧化等病理生理学过程中发挥着重要作用[4]。去乙酰化酶3（sirtuin 3，SIRT3）是组蛋白去乙酰化酶Ⅲ的成员之一，可参与感知细胞能量代谢，进而维持氧化还原状态的平衡[5]。H_2S是一种具有抗氧化作用的气体分子，SIRT3与线粒体功能和氧化应激密切相关。既往研究证实，H_2S可通过增强SIRT3的表达来改善血管紧张素Ⅱ（angiotensin Ⅱ，Ang Ⅱ）诱导的心肌肥大[6]。由于Ang Ⅱ会诱导心肌纤维化[7]，且既往研究发现H_2S可以减轻阿霉素诱导的心肌纤维化[8]，但是目前尚不清楚SIRT3是否也在H_2S抗Ang Ⅱ诱导的心肌纤维化中起关键作用。因此，本研究拟采用硫氢化钠（sodium hydrosulfide，NaHS）作为H_2S供体，观察SIRT3在H_2S抗Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞增殖中的变化，揭示H_2S抗心肌纤维化的新靶点，从而为临床防治心肌纤维化相关疾病提供理论依据和实验基础。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有AE-100型电子天平（美国Millipore公司）、SYNERGY H1型全自动酶标仪（美国BioTek公司）、TCS SP8型激光共聚焦显微镜（德国Leica公司）、Chemidoc Tonch型化学发光显影仪（美国Bio-Rad公司）、MVS-83型压力蒸汽灭菌器（日本Panasonic产业株式会社公司）、5424 R型高速台式离心机（德国Eppendorf公司）等。

1.2 主要药品与试剂

青霉素-链霉素溶液（批号C0222）、胰蛋白酶（批号C0201）、CCK-8试剂盒（批号C0038）、4′，6-二脒基-2-苯基吲哚（4′，6-diamidino-2-phenylindole，DAPI，批号C1005）、Alexa Fluor 488标记山羊抗兔IgG二抗（批号A0423）和Cy3标记山羊抗兔IgG二抗（批号A0516）均购自上海碧云天生物技术有限公司；DMEM（批号SH30021.01）购自美国Cytiva公司；胎牛血清（批号10099141C）购自美国Gibco公司；NaHS（批号16721-80-5）购自瑞士Admas公司；Ang Ⅱ（批号A9525，纯度100%）购自美国Sigma-Aldrich公司；羟脯氨酸测定试剂盒（批号A030-1-1）购自南京建成生物工程研究所有限公司；脂质体2000（批号11668-019）购自美国Invitrogen公司；兔源SIRT3、视神经萎缩蛋白1（optic atrophy protein 1，OPA1）多克隆抗体均购自美国Santa Cruz Biotechnology公司，货号分别为sc-365175、sc-393296；兔源Ⅰ型胶原（collagen Ⅰ，Col Ⅰ）、Ⅲ型胶原（collagen Ⅲ，Col Ⅲ）多克隆抗体均购自武汉博士德生物工程有限公司，货号分别为BA2023、M00788；甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phos-phate dehydrogenase，GAPDH）抗体（货号GB12002）购自武汉赛维尔生物科技有限公司；SIRT3干扰RNA（SIRT3 siRNA，批号20180312-1）、阴性对照干扰RNA（negative control siRNA，NC siRNA；批号20180312-2）均购自上海吉玛制药技术有限公司。

1.3 实验动物

1～3 d龄的SD雄性大鼠（体质量为5～8 g）由南通大学实验动物中心提供，使用许可证号为SYXK（苏）2017-0046，生产许可证号为SCXK（苏）2019-0001。所有大鼠饲养于无菌环境中，温度约为27 ℃，相对湿度约为55%，自由饮水、进食。

2 方法

2.1 心肌成纤维细胞的培养

取1～3 d新生SD雄性大鼠心脏，并用胰蛋白酶水浴消化，取出细胞悬液，留取沉淀（即细胞）于细胞培养箱中培养。根据差速离心法分离心肌成纤维细胞。待细胞生长密度达到80%后传代，采用第3代心肌成纤维细胞进行实验。

2.2 心肌成纤维细胞的分组、给药与造模

将心肌成纤维细胞按每孔1 mL（密度为2×10^5个/mL）接种于6孔板中，待心肌成纤维细胞生长密度约60%时，将含10%胎牛血清的培养液换成含0.5%胎牛血清的培养液饥饿细胞24 h后，将细胞分为空白组、Ang Ⅱ组、Ang Ⅱ+NaHS组、NaHS组，每组6个复孔。Ang Ⅱ+NaHS组以及NaHS组中加入NaHS溶液（50 μmol/L）预处理4 h，Ang Ⅱ组以及Ang Ⅱ+NaHS组加入Ang Ⅱ溶液（100 nmol/L）刺激细胞24 h从而诱导产生心肌成纤维细胞增殖模型，观察NaHS给药后对心肌成纤维细胞增殖的影响。给药剂量按参考相关文献[6]设置。

2.3 心肌成纤维细胞增殖的检测

细胞分组和处理同“2.2”项下，按照CCK-8试剂盒说明书方法进行操作，检测各组细胞的光密度（optical density，OD）值。

2.4 心肌成纤维细胞中羟脯氨酸含量的检测

细胞分组和处理同“2.2”项下，按照羟脯氨酸测定试剂盒说明书方法进行操作，利用试剂盒提供的羟脯氨酸标准品，按公式（羟脯氨酸含量＝各组样品吸光度/标准品吸光度×标准品浓度）计算各组心肌成纤维细胞中羟脯氨酸含量。

2.5 心肌成纤维细胞中SIRT3蛋白表达水平的检测

采用Western blot法进行检测。细胞分组和处理同“2.2”项下，用细胞裂解液裂解细胞40 min，提取细胞总蛋白。将转膜盒置于4 ℃环境中260 mA通电90 min，将转好的膜于5%牛奶中封闭2 h，加入SIRT3（稀释比为1∶2 000）及GAPDH（稀释比为1∶5 000）一抗于4 ℃摇床

孵育过夜后用TBST洗膜，加入Alexa Fluor 488标记山羊抗兔IgG二抗室温孵育2 h。采用ECL化学发光法曝光，Image J软件分析各条带的灰度值，各条带的灰度值与内参蛋白GAPDH灰度值的比值表示蛋白表达水平。

2.6 转染NC siRNA或SIRT3 siRNA后心肌成纤维细胞中SIRT3蛋白表达水平的检测

采用Western blot法进行检测。取稀释过的脂质体2000分别和NC siRNA或SIRT3 siRNA（稀释比均为1∶1 000）混合，加入到心肌成纤维细胞培养皿中，分为NC siRNA组及SIRT3 siRNA组。待细胞转染4 h后，弃除转染复合物，用0.1 mol/L的磷酸盐缓冲液（PBS）冲洗细胞后更换成含10%胎牛血清的培养液培养48 h后进行检测。每个样本平行检测6次。

2.7 心肌成纤维细胞转染后的分组、给药与造模

心肌成纤维细胞转染NC siRNA或SIRT3 siRNA后，将细胞分为NC siRNA组、NC siRNA+Ang Ⅱ组、NC siRNA+Ang Ⅱ+NaHS组或SIRT3 siRNA组、SIRT3 siRNA+Ang Ⅱ组、SIRT3 siRNA+Ang Ⅱ+NaHS组。NC siRNA+Ang Ⅱ+NaHS组、SIRT3 siRNA+Ang Ⅱ+NaHS组中加入NaHS溶液（50 μmol/L）预处理4 h，NC siRNA+Ang Ⅱ组、NC siRNA+Ang Ⅱ+NaHS组、SIRT3 siRNA+Ang Ⅱ组、SIRT3 siRNA+Ang Ⅱ+NaHS组中加入Ang Ⅱ溶液（100 nmol/L）刺激细胞24 h从而诱导产生心肌成纤维细胞增殖模型，观察NaHS对心肌成纤维细胞增殖的影响，每组6个复孔。

2.8 心肌成纤维细胞转染后增殖及羟脯氨酸含量的检测

细胞分组和处理同“2.7”项下。按照CCK-8试剂盒、羟脯氨酸测定试剂盒说明书方法进行检测。

2.9 心肌成纤维细胞转染后Col Ⅰ、Col Ⅲ、OPA1蛋白表达水平的检测

采用免疫荧光法进行检测。细胞分组和处理同“2.7”项下，用PBS清洗细胞，固定细胞20 min后弃掉固定液，再用PBS清洗细胞，封闭细胞1 h后弃掉封闭液，加入Col Ⅰ、Col Ⅲ、OPA1一抗（稀释比均为1∶50），4 ℃过夜后用PBS洗涤细胞，按1∶100的稀释比加入Alexa Fluor 488标记山羊抗兔IgG二抗（用于Col Ⅰ）和Cy3标记山羊抗兔IgG二抗（用于Col Ⅲ、OPA1），室温避光放置2 h。用DAPI染细胞核，将载玻片置于荧光显微镜上拍片，用Image J软件测定荧光强度，荧光强弱间接反映Col Ⅰ、Col Ⅲ、OPA1蛋白表达水平。

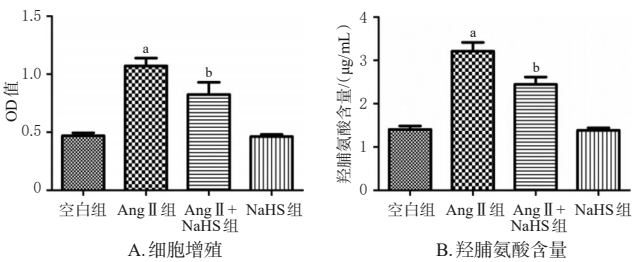
2.10 统计学分析

采用SPSS 25.0软件进行处理，实验数据以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较用SNK检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 H_2S对Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞增殖和羟脯氨酸含量的影响

与空白组相比，Ang Ⅱ组细胞OD值和羟脯氨酸含量均显著升高（$P<0.05$）；与Ang Ⅱ组相比，Ang Ⅱ+NaHS组细胞OD值和羟脯氨酸含量均显著降低（$P<0.05$）。实验结果表明，H_2S可以显著抑制Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞增殖，降低羟脯氨酸含量。结果见图1。

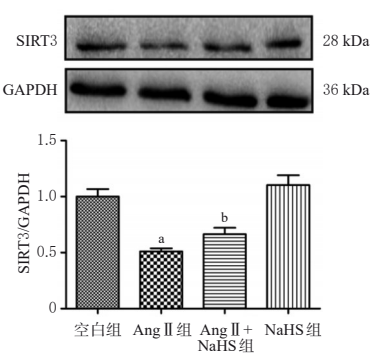


a：与空白组相比，$P<0.05$；b：与Ang Ⅱ组相比，$P<0.05$

图1 H_2S对Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞增殖及羟脯氨酸含量的影响（$n=6$）

3.2 H_2S对Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞中SIRT3蛋白表达的影响

与空白组相比，Ang Ⅱ组细胞中SIRT3蛋白表达水平显著降低（$P<0.05$）；与Ang Ⅱ组相比，Ang Ⅱ+NaHS组细胞中SIRT3蛋白表达水平显著升高（$P<0.05$）。实验结果表明，H_2S可以显著提高Ang Ⅱ刺激后心肌成纤维细胞中SIRT3蛋白表达。结果见图2。

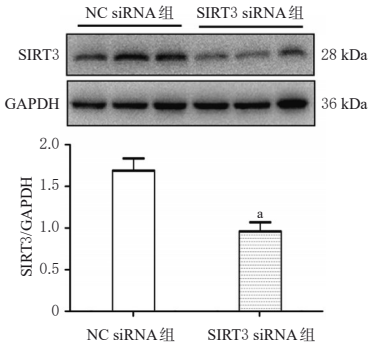


a：与空白组相比，$P<0.05$；b：与Ang Ⅱ组相比，$P<0.05$

图2 H_2S对Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞中SIRT3蛋白表达的影响

3.3 转染NC siRNA或SIRT3 siRNA后对心肌成纤维细胞中SIRT3蛋白表达的影响

与NC siRNA组相比，SIRT3 siRNA组细胞中SIRT3蛋白表达水平显著降低（$P<0.05$）。实验结果表明，用干扰RNA技术成功下调细胞中SIRT3蛋白表达。结果见图3。

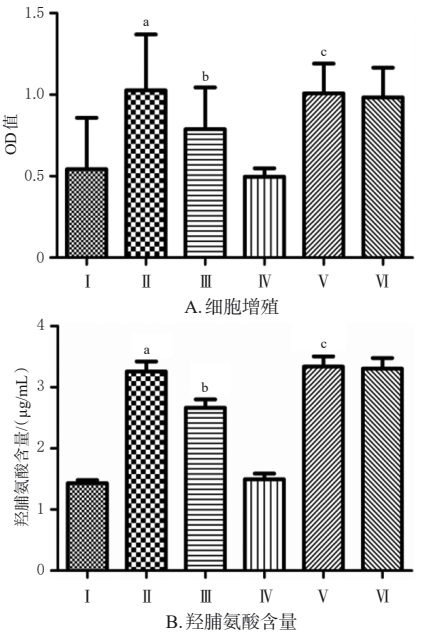


a：与NC siRNA组相比，$P<0.05$

图3　转染NC siRNA或SIRT3 siRNA后的心肌成纤维细胞中SIRT3蛋白表达水平（$n=6$）

3.4　转染SIRT3对H_2S抑制心肌成纤维细胞增殖和降低羟脯氨酸含量的影响

与NC siRNA组相比，NC siRNA+AngⅡ组细胞OD值及羟脯氨酸含量均显著升高（$P<0.05$）；与NC siRNA+AngⅡ组相比，NC siRNA+Ang Ⅱ+NaHS组细胞OD值及羟脯氨酸含量均显著降低（$P<0.05$）。下调SIRT3表达后，与SIRT3 siRNA组相比，SIRT3 siRNA+Ang Ⅱ组细胞OD值及羟脯氨酸含量均显著升高（$P<0.05$）；与SIRT3 siRNA+Ang Ⅱ组相比，SIRT3 siRNA+Ang Ⅱ+NaHS组细胞OD值及羟脯氨酸含量均无显著变化（$P>0.05$）。实验结果表明，H_2S依赖SIRT3抑制Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞增殖并且依赖SIRT3降低羟脯氨酸含量。结果见图4。



Ⅰ：NC siRNA组；Ⅱ：NC siRNA+AngⅡ组；Ⅲ：NC siRNA+AngⅡ+NaHS组；Ⅳ：SIRT3 siRNA组；Ⅴ：SIRT3 siRNA+AngⅡ组；Ⅵ：SIRT3 siRNA+Ang Ⅱ+NaHS组；a：与NC siRNA组相比，$P<0.05$；b：与NC siRNA+Ang Ⅱ组相比，$P<0.05$；c：与SIRT3 siRNA组相比，$P<0.05$

图4　转染SIRT3对H_2S抑制心肌成纤维细胞增殖和降低羟脯氨酸含量的影响

3.5　转染SIRT3对H_2S抑制心肌成纤维细胞中Col Ⅰ和Col Ⅲ蛋白表达的影响

如图5所示，H_2S可显著抑制Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞中Col Ⅰ和Col Ⅲ蛋白表达升高；而在下调SIRT3表达之后，H_2S对Col Ⅰ、Col Ⅲ表达的抑制作用明显减弱。

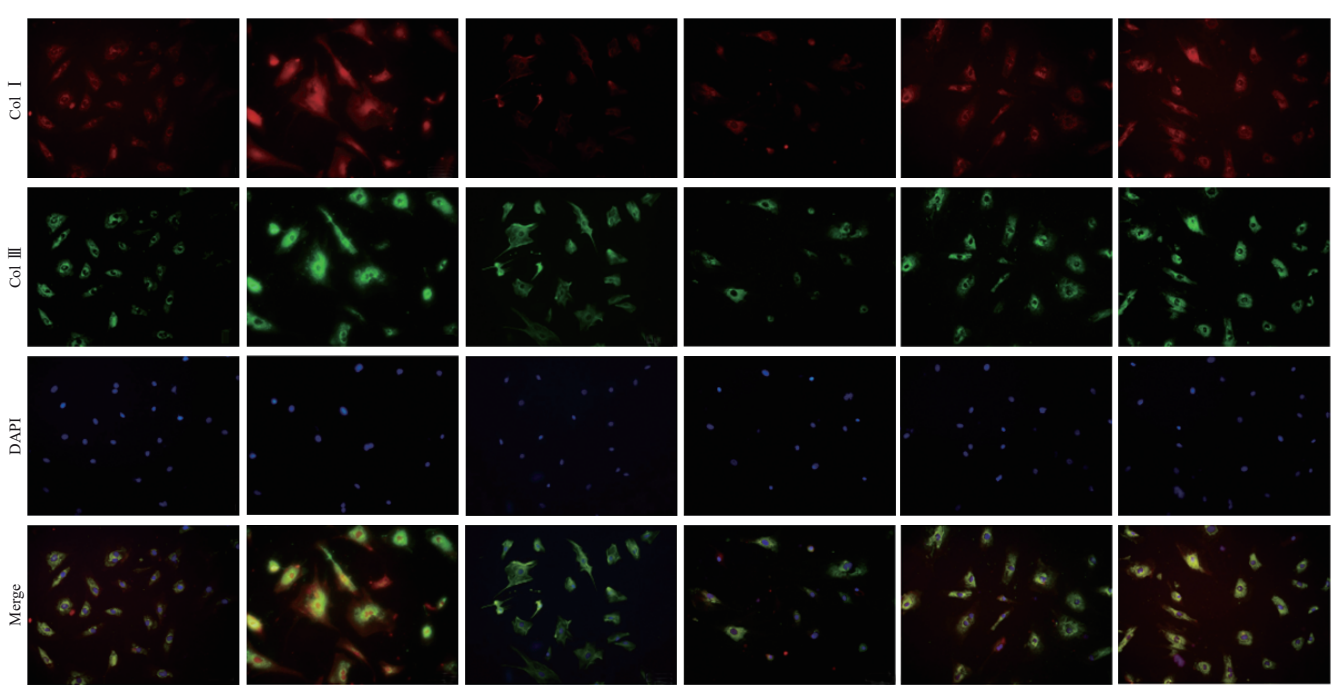


图5　转染SIRT3对H_2S抑制心肌成纤维细胞中Col Ⅰ和Col Ⅲ蛋白表达的影响（×200）

3.6 转染SIRT3对H_2S逆转心肌成纤维细胞中OPA1蛋白表达的影响

如图6所示，H_2S能显著逆转Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞中OPA1蛋白表达降低；而下调SIRT3表达之后，H_2S的逆转作用被抑制。实验结果表明，H_2S对Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞中OPA1表达降低的逆转作用依赖于SIRT3。

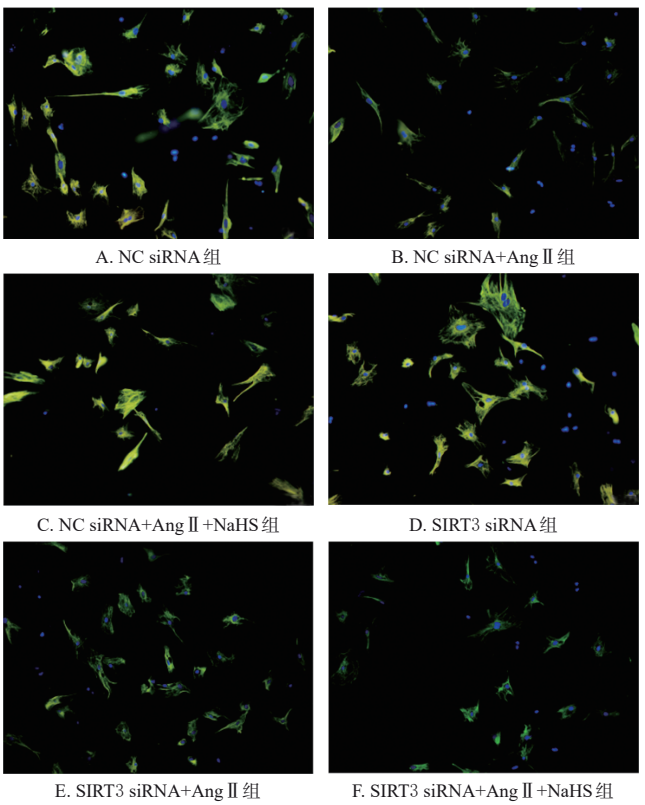


图6 转染SIRT3对H_2S增强心肌成纤维细胞中OPA1蛋白表达的免疫荧光图（×200）

4 讨论

心肌纤维化是细胞外基质重塑的病理过程，可明显增加心肌壁僵硬度，恶化心功能，甚至产生心力衰竭以及心源性猝死[9]。心肌纤维化常见于缺血性心脏疾病，包括高血压[10]、心脏瓣膜病[11]、糖尿病心肌病[12]、肥厚型心肌病和特发性扩张型心肌病[13]等。此外，由于心肌梗死的局部区域细胞外基质的改变易导致炎症的产生，因此心肌梗死发生纤维化的情况最为普遍[9]。

长期以来，H_2S被认为是一种有毒的气体。然而，目前越来越多的研究发现H_2S可参与多种纤维化疾病的发生与发展。有研究证实，内源性和外源性H_2S可以延缓肺、肝脏和肾脏等纤维化进展[14]。此外，多种心脏疾病也与H_2S的生成紊乱密切相关，如H_2S可抑制慢性心力衰竭机体心肌纤维化及心肌凋亡，其具体机制与减少氧化应激有关[15]。最近的研究表明，SIRT3可以通过调节靶蛋白的乙酰化水平，改善线粒体功能，延长机体寿命[16]；相反，缺乏SIRT3后OPA1减少，心脏损伤加重，机体寿命显著缩短[17]。值得注意的是，H_2S对多种细胞具有保护作用[18]。本实验以NaHS作为H_2S的供体，探讨H_2S对Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞中SIRT3蛋白表达的影响。

本实验通过CCK-8检测心肌成纤维细胞增殖发现，H_2S可以显著抑制Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞增殖。羟脯氨酸是胶原蛋白特有的氨基酸，占氨基酸总量的13%，因此根据羟脯氨酸含量可以明确胶原水平，而成纤维细胞是产生胶原的主要细胞之一，测定羟脯氨酸的含量可间接反映成纤维细胞增殖情况[19]。通过检测心肌成纤维细胞羟脯氨酸含量发现，H_2S可以显著抑制Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞羟脯氨酸的生成；通过Western blot法检测SIRT3蛋白表达发现，H_2S可以显著增强Ang Ⅱ刺激后心肌成纤维细胞中SIRT3蛋白表达。下调SIRT3表达后，H_2S不能抑制Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞增殖及羟脯氨酸的生成。胶原的生成与心肌纤维化密切相关，SIRT3缺乏会加重Ang Ⅱ诱导的小鼠心肌成纤维细胞间质纤维化[20]。研究发现，木犀草素通过调节SIRT3/ROS/MAPK信号通路从而抑制胶原表达以达到减少皮肤老化的效果[21]，线粒体融合相关蛋白OPA1通过促进线粒体吞噬来保护心肌成纤维细胞[22]。通过免疫荧光检测心肌成纤维细胞Col Ⅰ、Col Ⅲ、OPA1发现，H_2S可以显著降低Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞的胶原生成，增强心肌成纤维细胞的OPA1表达。下调SIRT3表达后，H_2S降低Col Ⅰ及Col Ⅲ表达、增强OPA1表达的作用明显减弱。上述结果表明，H_2S可通过上调SIRT3表达，进而调节线粒体融合相关蛋白OPA1的表达，改变线粒体的结构和功能，减轻Ang Ⅱ刺激下氧化应激，最终抑制心肌成纤维细胞增殖。

综上所述，H_2S依赖增加SIRT3表达来抑制Ang Ⅱ诱导的心肌成纤维细胞增殖。

参考文献

[1] YANG R, JIA Q, MA S F, et al. Exogenous H_2S mitigates myocardial fibrosis in diabetic rats through suppression of the canonical Wnt pathway[J]. Int J Mol Med, 2019, 44(2): 549-558.

[2] XIE L P, FENG H H, LI S, et al. SIRT3 mediates the antioxidant effect of hydrogen sulfide in endothelial cells[J]. Antioxid Redox Signal, 2016, 24(6): 329-343.

[3] KANG S C, SOHN E H, LEE S R. Hydrogen sulfide as a potential alternative for the treatment of myocardial fibrosis[J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 4105382.

[4] CASTELBLANCO M, NASI S, PASCH A, et al. The role

of the gasotransmitter hydrogen sulfide in pathological calcification[J]. Br J Pharmacol，2020，177(4)：778-792.

[5] KABZINSKI J，WALCZAK A，MAJSTEREK I. SIRT3 regulates response to oxidative stress by interacting with BER proteins in colorectal cancer[J]. Genet Res(Camb)，2022，2022：7299555.

[6] MENG G L，LIU J Q，LIU S M，et al. Hydrogen sulfide pretreatment improves mitochondrial function in myocardial hypertrophy via a SIRT3-dependent manner[J]. Br J Pharmacol，2018，175(8)：1126-1145.

[7] ZHANG Y Z，LIN X Y，CHU Y，et al. Dapagliflozin：a sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor，attenuates angiotensin Ⅱ-induced cardiac fibrotic remodeling by regulating TGFβ1/Smad signaling[J]. Cardiovasc Diabetol，2021，20(1)：121.

[8] NIE L G，LIU M J，CHEN J，et al. Hydrogen sulfide ameliorates doxorubicin-induced myocardial fibrosis in rats via the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. Mol Med Rep，2021，23(4)：299.

[9] GONZÁLEZ A，LÓPEZ B，RAVASSA S，et al. Reprint of "the complex dynamics of myocardial interstitial fibrosis in heart failure. Focus on collagen cross-linking"[J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res，2020，1867(3)：118521.

[10] BURKE R M，LIGHTHOUSE J K，MICKELSEN D M，et al. Sacubitril/valsartan decreases cardiac fibrosis in left ventricle pressure overload by restoring PKG signaling in cardiac fibroblasts[J]. Circ Heart Fail，2019，12(4)：e005565.

[11] PODLESNIKAR T，DELGADO V，BAX J J. Cardiovascular magnetic resonance imaging to assess myocardial fibrosis in valvular heart disease[J]. Int J Cardiovasc Imaging，2018，34(1)：97-112.

[12] ZHANG M，SUI W H，XING Y Q，et al. Angiotensin Ⅳ attenuates diabetic cardiomyopathy via suppressing FoxO1-induced excessive autophagy，apoptosis and fibrosis[J]. Theranostics，2021，11(18)：8624-8639.

[13] KAR S，KAMBIS T N，MISHRA P K. Hydrogen sulfide-mediated regulation of cell death signaling ameliorates adverse cardiac remodeling and diabetic cardiomyopathy[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol，2019，316(6)：H1237-H1252.

[14] CASIN K M，CALVERT J W. Harnessing the benefits of endogenous hydrogen sulfide to reduce cardiovascular disease[J]. Antioxidants(Basel)，2021，10(3)：383.

[15] GUO J M，XING H J，CAI J Z，et al. H_2S exposure-induced oxidative stress promotes LPS-mediated hepatocyte autophagy through the PI3K/AKT/TOR pathway[J]. Ecotoxicol Environ Saf，2021，209：111801.

[16] KOENTGES C，PFEIL K，MEYER-STEENBUCK M，et al. Preserved recovery of cardiac function following ischemia-reperfusion in mice lacking SIRT3[J]. Can J Physiol Pharmacol，2016，94(1)：72-80.

[17] BENIGNI A，CASSIS P，CONTI S，et al. SIRT3 deficiency shortens life span and impairs cardiac mitochondrial function rescued by OPA1 gene transfer[J]. Antioxid Redox Signal，2019，31(17)：1255-1271.

[18] LI Y L，CHANDRA T P，SONG X，et al. H_2S improves doxorubicin-induced myocardial fibrosis by inhibiting oxidative stress and apoptosis via Keap1-Nrf2[J]. Technol Health Care，2021，29(S1)：195-209.

[19] SRIVASTAVA A K，KHARE P，NAGAR H K，et al. Hydroxyproline：a potential biochemical marker and its role in the pathogenesis of different diseases[J]. Curr Protein Pept Sci，2016，17(6)：596-602.

[20] GUO X B，YAN F Y，SHAN X L，et al. SIRT3 inhibits Ang Ⅱ-induced transdifferentiation of cardiac fibroblasts through β-catenin/PPAR-γ signaling[J]. Life Sci，2017，186：111-117.

[21] MU J，MA H S，CHEN H，et al. Luteolin prevents UVB-induced skin photoaging damage by modulating SIRT3/ROS/MAPK signaling：an *in vitro* and *in vivo* studies[J]. Front Pharmacol，2021，12：728261.

[22] JANG S，JAVADOV S. OPA1 regulates respiratory super complexes assembly：the role of mitochondrial swelling [J]. Mitochondrion，2020，51：30-39.

（收稿日期：2022-09-07　修回日期：2022-12-19）

（编辑：曾海蓉）