

· 基础研究 ·

瘦素激活 PI3K/AKT 信号促进小鼠心肌细胞衰老的初步研究

彭明玉, 刘倩颖, 沈丹丹, 吕宏祥*

南京医科大学附属江宁医院检验科, 江苏 南京 211100

[摘要] 目的: 探讨瘦素在小鼠心肌细胞(mouse cardiomyocyte, MCM)衰老中的作用及调控机制。方法: qPCR 检查瘦素刺激后 MCM 中衰老相关指标 p16、p21 和衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)的 mRNA 表达量; Western blot 检测 p16、p21、 γ -H2AX、PI3K、AKT、p-PI3K 和 p-AKT 的蛋白表达量; β -半乳糖苷酶染色检测 MCM 衰老。PI3K 抑制剂(LY294002)预处理 2 h 后再给予瘦素刺激, qPCR 和 Western blot 检测 p16 和 p21 的 mRNA 和蛋白表达水平; qPCR 检查 SASP 的 mRNA 表达水平; β -半乳糖苷酶染色检测 MCM 衰老。结果: 瘦素刺激 MCM 后, p16 和 p21 的 mRNA 及蛋白表达增加, 同时 γ -H2AX 的蛋白水平也显著上升, SASP[白介素(interleukin, IL)-1 β 、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、IL-6 和单核细胞趋化蛋白(monocyte chemoattractant protein, MCP)-1]的 mRNA 水平上调, PI3K/AKT 信号通路的蛋白磷酸化水平升高, β -半乳糖苷酶染色显示 MCM 发生衰老。PI3K 抑制剂预处理 2 h 后, p16 和 p21 的 mRNA 和蛋白水平明显降低, 同时 γ -H2AX 的蛋白水平也显著下调; SASP mRNA 水平降低; β -半乳糖苷酶染色显示 MCM 衰老缓解。结论: 瘦素通过活化 PI3K/AKT 信号通路分泌 SASP(IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 和 MCP-1)调控 MCM 衰老的发展进程。

[关键词] 瘦素; 心肌细胞; 细胞衰老

[中图分类号] R329.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2024)10-1337-07

doi: 10.7655/NYDXBNSN240432

Activation of PI3K/AKT signaling pathway by leptin promotes MCM senescence of mouse cardiomyocytes

PENG Mingyu, LIU Qianying, SHEN Dandan, LÜ Hongxiang*

Department of Laboratory Medicine, Jiangning Hospital Affiliated to Nanjing Nanjing Medical University, Nanjing 211100, China

[Abstract] **Objective:** To explore the role and regulation mechanism of leptin in senescence of mouse cardiomyocytes (MCM). **Methods:** The mRNA expression levels of senescence related indicators p16, p21, and senescence-associated secretory phenotype (SASP) in leptin stimulated MCM were examined by qPCR; the protein expressions of p16, p21, γ -H2AX, PI3K, AKT, p-PI3K, and p-AKT were detected by Western blot; the senescence of MCM was detected by β -galactosidase staining. PI3K inhibitor (LY294002) was pretreated for 2 h and then stimulated with leptin, the mRNA and protein levels of p16 and p21 were detected by qPCR and Western blot; the mRNA levels of SASP were examined by qPCR; MCM senescence was detected by β -galactosidase staining. **Results:** In MCM stimulated by leptin, the mRNA and protein levels of p16 and p21, as well as the protein level of γ -H2AX increased, the mRNA levels of SASP[interleukin, IL)-1 β , tumor necrosis factor(TNF)- α , IL-6, monocyte chemoattractant protein(MCP)-1] were up-regulated, the phosphorylation levels of proteins in PI3K/AKT signaling pathway increased; and β -galactosidase staining showed the senescence of MCM. When pretreated with PI3K inhibitor for 2 h, the mRNA and protein levels of p16 and p21, as well as the protein level of γ -H2AX were down-regulated, and the expressions of SASP mRNA were down-regulated, the senescence of MCM was alleviated. **Conclusion:** Leptin regulates the progression of MCM senescence by activating PI3K/AKT signaling pathway and promoting SASP(IL-1 β , TNF- α , IL-6 and MCP-1) secretion.

[Key words] leptin; cardiomyocyte; cellular senescence

[J Nanjing Med Univ, 2024, 44(10): 1337-1343]

[基金项目] 江苏卫生健康职业学院院级科研项目(JKC2021077); 南京医科大学附属江宁医院医学科研项目(JNYYZXKY202304); 国家自然科学基金(82101851)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: hero_0620@163.com

细胞衰老是细胞周期停滞的一种永久性状态,可促进发育期间和损伤后的组织重塑,但也可导致组织再生潜能和功能下降、炎症和衰老生物体内的肿瘤发生^[1-2]。衰老细胞产生衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP),通过分泌促炎性细胞因子、趋化因子、生长因子和细胞外基质降解蛋白,影响组织微环境和周围细胞。血管内皮细胞、血管平滑肌细胞、心肌细胞和祖细胞等心血管相关衰老细胞的积累是血管老化、动脉粥样硬化斑块形成、心肌梗死和心室重构等心血管疾病的重要危险因素^[3]。心血管疾病,包括心肌病、心力衰竭、高血压和动脉粥样硬化,已经成为全球范围内的主要死亡原因^[4]。衰老现在被认为是心血管疾病发展的核心和独立危险因素^[5],它会在生物组织的多个层面上造成损伤的积累,并诱导器官功能的普遍和破坏性下降导致不可避免的死亡。

越来越多的证据表明,心脏衰老对心肌结构和功能的直接影响可能促进了老年人心力衰竭的发生^[6]。有研究报道,心力衰竭是65岁以上患者住院的最常见原因^[7]。已有研究发现,衰老的心肌细胞有一些共同的生物学特性,如DNA损伤、内质网应激、线粒体功能障碍、收缩功能障碍、肥厚性生长和产生SASP等^[8],损害了其功能和结构的完整性,导致能够发挥正常功能的心肌细胞数目减少,对心脏功能产生消极影响。心肌细胞衰老是引起心功能下降,并导致心肌肥厚及心力衰竭等心血管疾病发生发展的关键因素^[9-11]。

瘦素,1994年在小鼠体内首次发现的一种约16 kDa的蛋白,是一种I型细胞因子,也是长链螺旋细胞因子家族的成员^[12-13],主要由白色脂肪组织合成和分泌,随循环系统运输到全身。此外,瘦素也是一种肥胖基因,通过抑制摄食作用于下丘脑中枢神经系统,调节机体能量平衡,也可以通过与瘦素受体直接结合作用于特定细胞,从而影响细胞代谢^[14]。近年来研究表明瘦素水平升高与感染和炎症过程密切相关^[15-17],而瘦素被认为是一种具有炎症功能的细胞因子样激素,具有调节免疫应答的多向性作用^[18]。目前已有文献报道瘦素能够调控心肌微环境中巨噬细胞的衰老^[19],另有学者发现,瘦素可能通过激活FAK/Src通路,导致急性心肌梗死大鼠心功能障碍,促进大鼠心肌炎症反应及心室重构^[20]。关于瘦素是否能够调控小鼠心肌细胞衰老及炎症的研究尚未见报道,故本课题旨在探讨瘦素

在心肌细胞衰老进程中的作用及可能参与的调控机制,为进一步研究瘦素调控心肌细胞衰老在心肌微环境损伤与修复中的作用提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

本研究所用实验细胞为小鼠心肌细胞(HL-1细胞,目录号GNM46,购自中国科学院细胞库),后由本实验室保存。

DMEM培养基、胎牛血清(Gibco公司,美国),RNA抽提试剂盒、 β -半乳糖苷酶(β -galactosidases, β -Gal)染色试剂盒(上海碧云天生物科技有限公司),逆转录试剂盒、SYBR Green PCR试剂盒、 γ -H2AX抗体(武汉Abclonal公司),实时荧光定量PCR仪(ABI公司,美国),PCR引物(上海生工生物),重组瘦素蛋白(深圳达科为生物),SDS-PAGE凝胶配制试剂盒(上海雅酶),t-AKT、p-AKT抗体(Santa Cruz公司,美国),t-PI3K、p-PI3K抗体(CST公司,美国),PI3K抑制剂(MCE公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

HL-1细胞在含10%胎牛血清的DMEM培养基中培养,并置于37℃5%CO₂恒温培养箱中,每2~3d进行1次传代培养,实验一以 5×10^4 个/孔接种于24孔板中,分为对照组(Control)和瘦素刺激组(Leptin),培养12h后行瘦素(10 μ g/mL)刺激,再根据不同实验所需时间收集细胞。实验二将HL-1细胞接种于24孔板中(1×10^5 个/孔),分为对照组(Control)、瘦素刺激组(Leptin)和Leptin+LY294002组,培养18h,用PI3K抑制剂(100 μ mol/L)预处理2h后,再给予瘦素刺激12h后收样,提取蛋白或RNA用于后续实验。

1.2.2 实时荧光定量PCR(qPCR)检测mRNA表达

收集各处理组HL-1细胞于1.5 mL EP管中,12 000 r/min离心5 min,弃上清后根据RNA抽提试剂盒步骤抽提总RNA,随后参照逆转录试剂盒实验步骤(每20 μ L体系含1 μ g RNA和4 μ L 5 \times ABScript II RT Mix)逆转录成cDNA,反应条件为:55℃15 min,85℃5 min,cDNA产物保存于-20℃。qPCR测定p16、p21、IL-1 β 和TNF- α 的表达,内参为 β -actin,qPCR扩增条件为:95℃预变性15 s、95℃变性10 s、60℃退火30 s、72℃延伸15 s,共40个循环。p16、p21、IL-1 β 和TNF- α 的mRNA相对表达量用2^{- $\Delta\Delta$ Ct}方法计算。引物序列见表1。

表1 qPCR引物序列

Gene	Primer Sequence(5'→3')
p16	Forward: CAATCACGGGAGGGAGCAGAG
	Reverse: TCAGTTTCTCATGCCATTCTTTCC
p21	Forward: CAATCACGGGAGGGAGCAGAG
	Reverse: TCAGTTTCTCATGCCATTCTTTCC
IL-1 β	Forward: AATGCCACCTTTTGACAGTGATG
	Reverse: GGAAGGTCCACGGGAAAGAC
TNF- α	Forward: CAGCCGATGGGTTGTACCTT
	Reverse: ATAGCAAATCGGCTGACGGT
β -actin	Forward: GGTGGGAATGGGTCAGAAGG
	Reverse: GGGTACTTCAGGGTCAGGA

1.2.3 Western blot 检测蛋白表达

瘦素刺激 HL-1 细胞后行 Western blot, 检测衰老相关指标 p16、p21 的表达及 PI3K/AKT 的磷酸化水平。收集各处理组中的 HL-1 细胞于 1.5 mL EP 管中, 用 PBS 洗涤细胞 1 次, 12 000 r/min 离心 5 min, 留取细胞沉淀, 并加入 100 μ L 含 1 mmol/L PMSF 的细胞裂解液 RIPA 于 EP 管中, 枪头轻轻吹打, 充分重悬细胞, 并涡旋振荡 3 次, 每次间隔 5 min, 充分裂解细胞, 12 000 r/min 离心 5 min, 收集上清后加入 25 μ L 的 5 \times loading buffer, 于 100 $^{\circ}$ C 金属浴 8 min。各组目的蛋白经 12.5% SDS-PAGE 凝胶电泳后转移至 PVDF 膜上, 用 1% 的牛血清白蛋白室温封闭 1 h, 根据抗体说明书比例用一抗稀释液稀释抗体, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜后用 TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min, 用 HRP 标记的羊抗鼠(或兔)二抗室温孵育 1 h 后, TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min。最后涂抹发光液并置于曝光仪中放射自显影显像, 扫描所得条带灰度值进行半定量统计。

1.2.4 β -Gal 染色检测细胞衰老情况

瘦素刺激 HL-1 细胞 12 h 后, 弃去 24 孔板内的培养基, 用 PBS 洗涤 1 次, 根据 β -Gal 染色试剂盒实验步骤, 每孔加入 300 μ L 染色固定液, 静置 15 min 后, 用 PBS 洗涤 3 次, 每次 3 min, 随后每孔加入 300 μ L 染色工作液, 37 $^{\circ}$ C 水浴箱孵育过夜, 显微镜下拍照观察。

1.3 统计学方法

采用 GraphPad Prism 6.0 统计软件进行统计学分析, 每组实验数据重复 3 次后取平均值进行统计分析。各组计量结果以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两独立样本间比较采用 *t* 检验, 多组间比较先进行方差分析后采用 SNK 检验进行两两比较, $P < 0.05$ 为

差异有统计学意义。

2 结果

2.1 瘦素促进小鼠心肌细胞衰老

瘦素刺激小鼠心肌细胞 6 h 和 12 h 后检测衰老相关指标 p16、p21 和 DNA 双链损伤标志物 γ H2AX 及炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 、MCP-1 和 IL-6 的表达水平, 结果显示, 与对照组相比, 瘦素处理后 p16 和 p21 的 mRNA 和蛋白表达增加, γ -H2AX 的蛋白水平亦升高($P < 0.05$, $P < 0.01$, 图 1A、B); 炎症因子 mRNA 水平明显升高($P < 0.01$, 图 1C); β -Gal 染色显示瘦素诱导后小鼠心肌细胞衰老增多($P < 0.01$, 图 1D)。

2.2 瘦素激活小鼠心肌细胞 PI3K/AKT 信号通路

瘦素刺激小鼠心肌细胞后行 Western blot 实验检测 PI3K/AKT 信号通路, 小鼠心肌细胞经瘦素刺激 30 min 后 p-PI3K 和 p-AKT 水平明显增加($P < 0.01$, 图 2)。

2.3 瘦素通过 PI3K/AKT 信号通路调控小鼠心肌细胞衰老

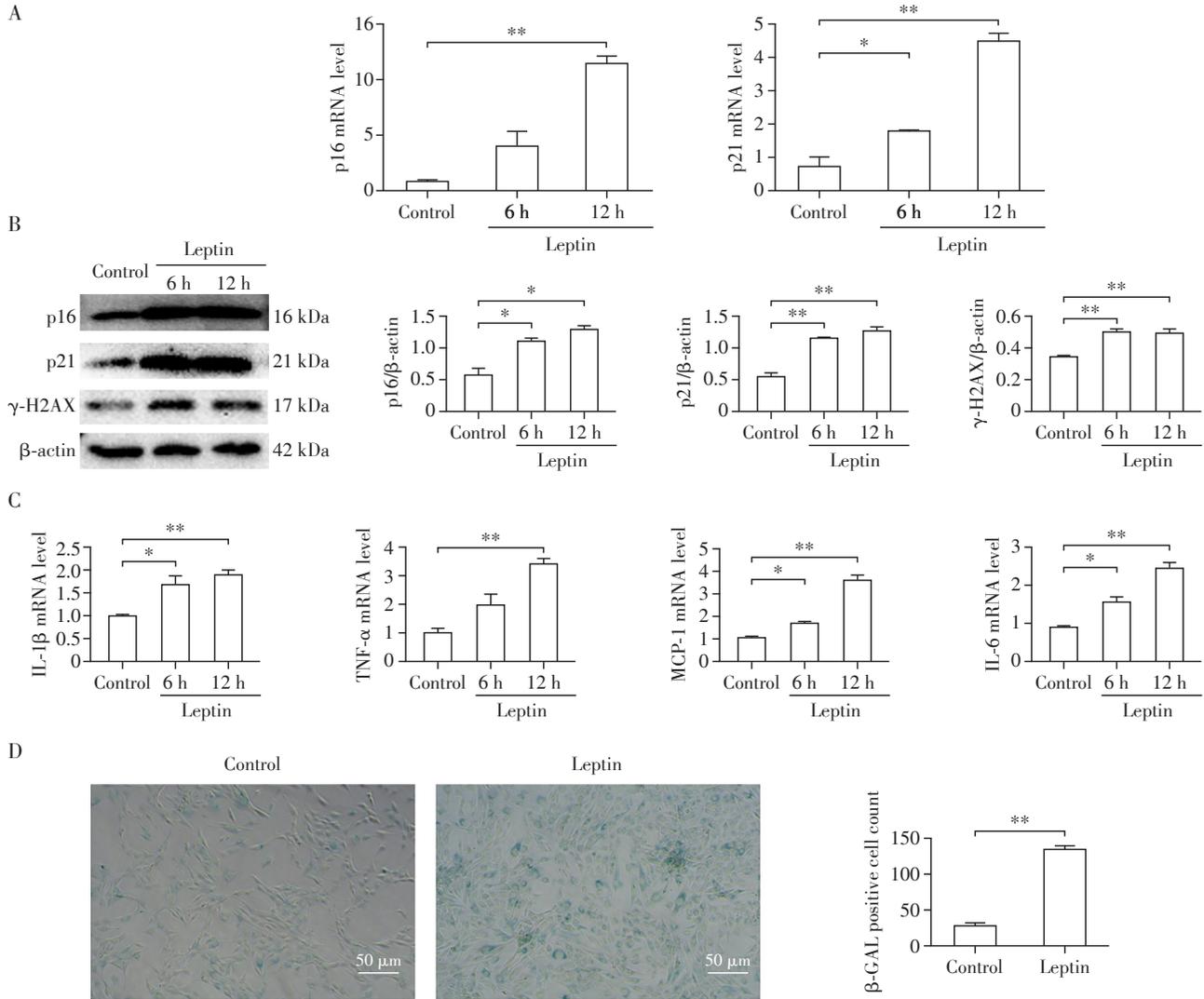
为了进一步验证 PI3K/AKT 信号通路在调控小鼠心肌细胞衰老中的作用, 引入 PI3K 抑制剂 (LY294002), 如图 3A、B 所示, PI3K 抑制剂预处理后 p16、p21 的 mRNA 和蛋白表达较瘦素刺激组减少, γ -H2AX 的蛋白水平下调, β -Gal 染色结果也显示抑制 PI3K 磷酸化后小鼠心肌细胞衰老现象缓解($P < 0.01$, 图 3C)。

2.4 瘦素促进小鼠心肌细胞分泌 SASP 调控自身衰老

通过 qPCR 检测 PI3K/AKT 信号通路对 SASP 分泌的影响, 结果显示, IL-1 β 、TNF- α 、MCP-1 和 IL-6 在瘦素处理后表达量增加($P < 0.01$), 而加入 LY294002 预处理后, 其表达水平降低($P < 0.05$, $P < 0.01$, 图 4)。

3 讨论

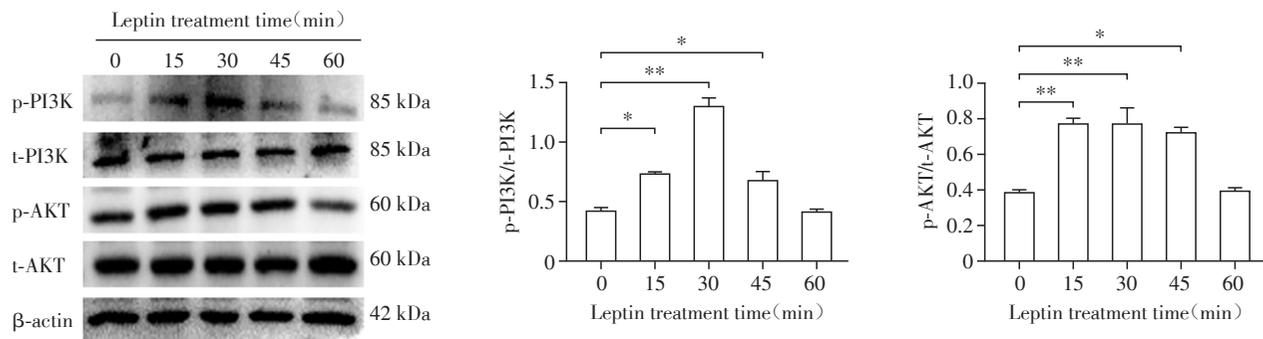
衰老是阻止肿瘤发生、限制组织损伤和促进胚胎发育的重要生物学过程。然而, 衰老细胞一旦在组织中积累, 就会促进衰老相关疾病的发展^[21]。细胞衰老是一种生存程序, 可由一系列破坏性应激(如放疗、化疗、复制应激和致癌信号)诱导。衰老细胞的特征是稳定和不可逆的细胞周期停滞, 同时保持代谢活性和活力, 另外衰老细胞可激活 SASP, 促进大量生物活性分子(如炎症介质、生长因子、细胞外基质蛋白)的合成和分泌。衰老细胞参与了重要的生理过程, 如胚胎发育、免疫调节、组织再生、



A: The mRNA levels of p16 and p21 in leptin stimulated MCM. B: The protein expression of p16, p21, and γ -H2AX in leptin stimulated MCM. C: The mRNA levels of IL-1 β , TNF- α , MCP-1, and IL-6 in leptin stimulated MCM. D: Analysis of MCM senescence by β -Gal. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ($n=3$).

图1 瘦素促进小鼠心肌细胞衰老

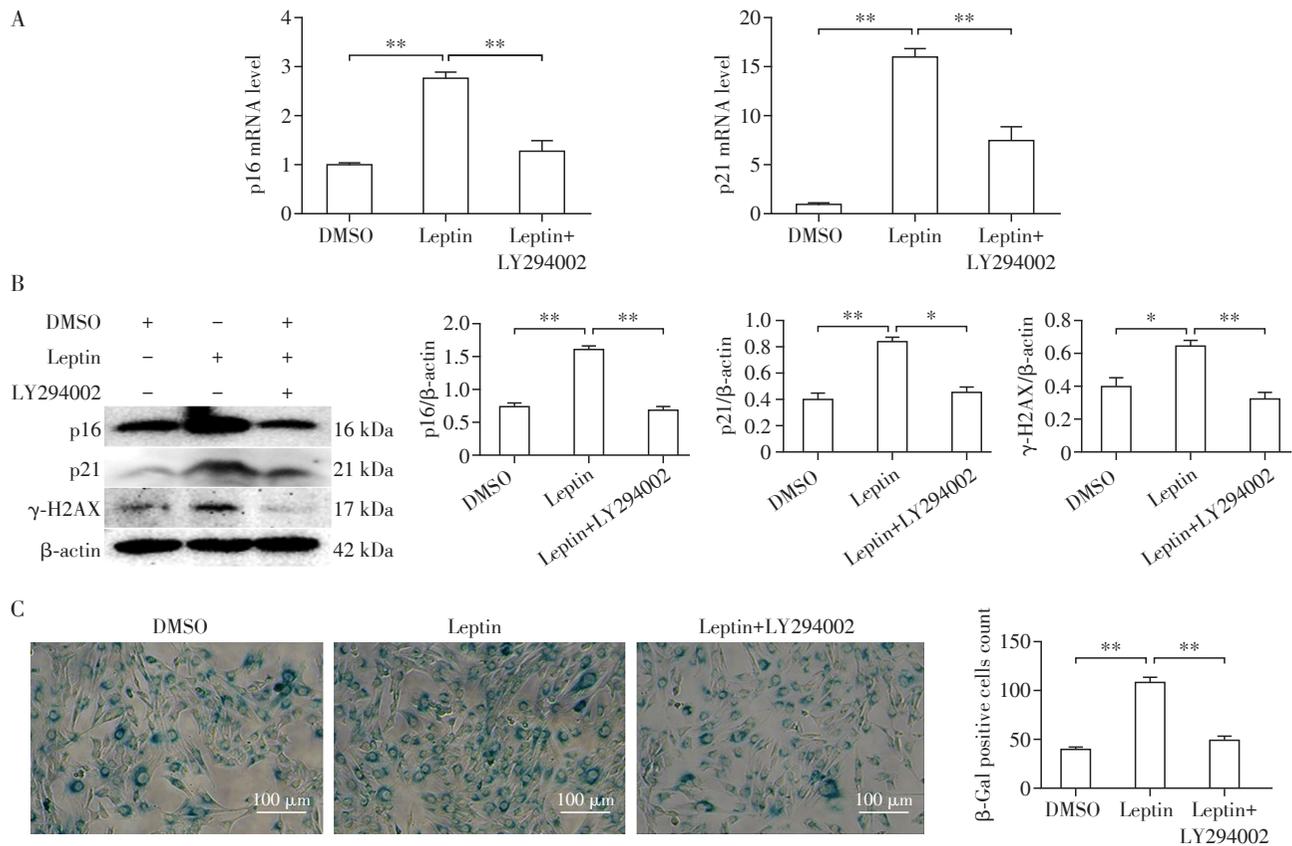
Figure 1 Leptin promoted MCM senescence



The phospholation levels of PI3K and AKT in leptin stimulated MCM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ($n=3$).

图2 瘦素激活小鼠心肌细胞PI3K/AKT信号通路

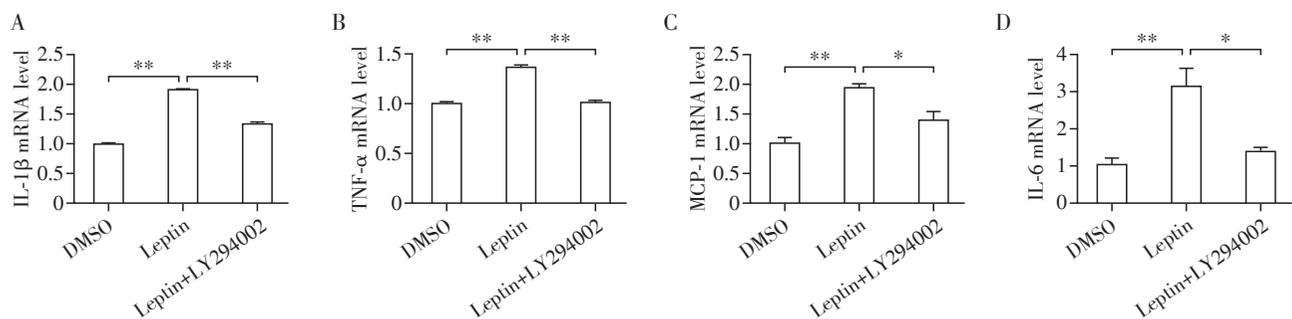
Figure 2 Leptin activated PI3K/AKT signaling pathway in MCM



A: After LY294002 treatment of MCM cells, mRNA levels of p16 and p21 were examined by qPCR. B: The protein expression of p16, p21, and γ -H2AX was examined after LY294002 pretreated MCM. C: The effect of LY294002 on MCM senescence was observed by β -Gal staining. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ($n=3$).

图3 瘦素通过PI3K/AKT信号通路调控小鼠心肌细胞衰老

Figure 3 Leptin regulated the process of MCM cells senescence via PI3K/AKT signaling pathway



The mRNA levels of senescence related SASP (A: IL-1 β ; B: TNF- α ; C: MCP-1; D: IL-6) in MCM treated with leptin and LY294002 were examined by qPCR. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ($n=3$).

图4 瘦素促进小鼠心肌细胞分泌SASP

Figure 4 Leptin promoted MCM cells to secrete SASP

细胞可塑性和重编程^[22]。

瘦素是一种含167个氨基酸的肽激素,主要由脂肪细胞产生,亦可由胃、骨骼组织和胎盘少量产生,其主要作用是通过中枢神经系统刺激能量消耗,降低食欲。瘦素分泌量及其循环水平主要受胰岛素、糖皮质激素和儿茶酚胺的调节^[23]。瘦素受体

分布广泛,主要分布在下丘脑、胰岛细胞、肝、肾、肺、骨骼肌和骨髓中,与其受体结合可诱导不同信号通路的激活,包括Janus激酶(Janus kinase, JAK)/信号转导及转录激活因子(signal transduction and activator of transcription, STAT)通路、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和

细胞因子信号转导抑制因子(suppressor of cytokine signaling 3, SOCS3)通路。有研究发现瘦素可通过激活 JAK2/STAT3、ERK1/2 和 PI3K 通路诱导乳腺癌细胞生长,并可通过诱导血管内皮生长因子的表达介导血管生成^[24]。另有文献报道,SLE 患者外周循环高水平的瘦素通过 PI3K/AKT 通路诱导间充质干细胞的衰老^[25]。此外,大鼠心外膜脂肪组织来源的瘦素激活 PKC/NADPH 氧化酶/ROS 通路后,一方面促进线粒体氧化应激和功能障碍诱导线粒体通路凋亡,另一方面促进激活蛋白 1 核易位刺激炎症,从而诱导代谢综合征相关心肌损伤^[26]。综合上述研究背景,将瘦素是否可以通过 PI3K/AKT 信号通路调控 SASP 分泌参与小鼠心肌细胞衰老作为本研究的重点。

心肌细胞占心脏细胞总数的 30%~40%,总体积的 80%,会在衰老的过程中发生明显的形态与功能变化^[27]。心肌细胞属于终末分化细胞,由于其可再生性较差,在衰老过程中,心肌细胞的细胞器功能、胞内大分子以及离子稳态等均会累积损伤,进而损害心肌细胞的收缩、舒张以及电传导功能,引起与心肌衰老相关的心脏功能障碍,最终导致各种心血管疾病的发生^[28]。心肌细胞内的代谢不仅对维持心脏的泵功能至关重要,而且对维持心肌细胞的功能稳态和参与心肌细胞的衰老也至关重要^[8]。

本研究发现体外瘦素能够诱导小鼠心肌细胞发生衰老,并且激活 PI3K/AKT 信号通路;PI3K 抑制剂预处理后,瘦素诱导小鼠心肌细胞衰老现象明显缓解,衰老细胞分泌的 SASP 水平显著降低。以上结果初步表明瘦素通过激活 PI3K/AKT 信号通路促进 SASP 分泌进而参与小鼠心肌细胞衰老进程,但是,由于体外细胞水平研究条件和实验方法限制,本研究需要进一步行体内实验加以验证,因此,接下来将着重探究在机体内瘦素是否通过这一机制调控心肌细胞衰老,为机体心肌衰老相关研究提供新思路。

[参考文献]

- [1] HERNANDEZ-SEGURA A, NEHME J, DEMARIA M. Hallmarks of cellular senescence[J]. Trends Cell Biol, 2018, 28(6): 436-453
- [2] 彭丹丹,李言. MicroRNA-190 调控衰老相关的脂肪能量代谢稳态[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2021, 41(12): 1728-1734
- [3] YAN C, XU Z M, HUANG W Q. Cellular senescence affects cardiac regeneration and repair in ischemic heart disease[J]. Aging Dis, 2021, 12(2): 552-569
- [4] MIRANDA J J, BARRIENTOS-GUTIÉRREZ T, CORVALAN C, et al. Understanding the rise of cardiometabolic diseases in low- and middle- income countries [J]. Nat Med, 2019, 25(11): 1667-1679
- [5] DING Y N, TANG X Q, CHEN H Z, et al. Epigenetic regulation of vascular aging and age-related vascular diseases[J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1086: 55-75
- [6] 高伟,鲁翔. 线粒体功能障碍与心脏衰老[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2020, 40(12): 1747-1749
- [7] BIERNACKA A, FRANGOIANNIS N G. Aging and cardiac fibrosis[J]. Aging Dis, 2011, 2(2): 158-173
- [8] TANG X Q, LI P H, CHEN H Z. Cardiomyocyte senescence and cellular communications within myocardial microenvironments[J]. Front Endocrinol, 2020, 11: 280
- [9] PICCA A, MANKOWSKI R T, BURMAN J L, et al. Mitochondrial quality control mechanisms as molecular targets in cardiac ageing[J]. Nat Rev Cardiol, 2018, 15(9): 543-554
- [10] ROH J, RHEE J, CHAUDHARI V, et al. The role of exercise in cardiac aging: from physiology to molecular mechanisms[J]. Circ Res, 2016, 118(2): 279-295
- [11] GUDE N A, BROUGHTON K M, FIROUZI F, et al. Cardiac ageing: extrinsic and intrinsic factors in cellular renewal and senescence[J]. Nat Rev Cardiol, 2018, 15(9): 523-542
- [12] DIETRICH M O, SPUCH C, ANTEQUERA D, et al. Megalin mediates the transport of leptin across the blood-CSF barrier[J]. Neurobiol Aging, 2008, 29(6): 902-912
- [13] 李明科,周景昕,吴延虎. 瘦素对主动脉瓣膜间质细胞表型转化的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2017, 37(8): 976-979
- [14] LIU Y X, LI Y Z, LIANG J T, et al. Leptin: an entry point for the treatment of peripheral tissue fibrosis and related diseases[J]. Int Immunopharmacol, 2022, 106: 108608
- [15] HEISS C N, MANNERÅS-HOLM L, LEE Y S, et al. The gut microbiota regulates hypothalamic inflammation and leptin sensitivity in western diet-fed mice via a GLP-1R-dependent mechanism [J]. Cell Rep, 2021, 35(8): 109163
- [16] GUO Z Y, YANG H Q, ZHANG J R, et al. Leptin receptor signaling sustains metabolic fitness of alveolar macrophages to attenuate pulmonary inflammation[J]. Sci Adv, 2022, 8(28): eabo3064
- [17] PETRESCU A D, GRANT S, WILLIAMS E, et al. Leptin enhances hepatic fibrosis and inflammation in a mouse model of cholestasis [J]. Am J Pathol, 2022, 192(3):

- 484-502
- [18] ABELLA V, SCOTECE M, CONDE J, et al. Leptin in the interplay of inflammation, metabolism and immune system disorders[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2017, 13(2): 100-109
- [19] 叶梦滢, 吕宏祥. Leptin 激活 JAK2/STAT3 信号通路分泌 SASP 促进小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 衰老[J]. *免疫学杂志*, 2022, 8(10): 896-900
- [20] 黄宇翔, 苟志平, 张丽丽, 等. 瘦素通过 FAK/Src 途径对心肌梗死大鼠心功能及心室重构的作用研究[J]. *实用药物与临床*, 2022, 8(8): 678-684
- [21] SHMULEVICH R, KRIZHANOVSKY V. Cell senescence, DNA damage, and metabolism[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2021, 34(4): 324-334
- [22] CARRENO G, GUIHO R, MARTINEZ-BARBERA J P. Cell senescence in neuropathology: a focus on neurodegeneration and tumours[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2021, 47(3): 359-378
- [23] ZHANG Y Y, CHUA S R. Leptin function and regulation[J]. *Compr Physiol*, 2017, 8(1): 351-369
- [24] CIRILLO D, RACHIGLIO A M, LA MONTAGNA R, et al. Leptin signaling in breast cancer: an overview[J]. *J Cell Biochem*, 2008, 105(4): 956-964
- [25] 陈海凤. SLE 患者循环 leptin 和 NAP2 对 MSCs 衰老的作用及机制研究[D]. 南京: 南京大学, 2014
- [26] CHEN H, LIU L, LI M, et al. Epicardial adipose tissue-derived leptin promotes myocardial injury in metabolic syndrome rats through PKC/NADPH oxidase/ROS pathway[J]. *J Am Heart Assoc*, 2023, 12(15): e029415
- [27] PINTO A R, ILINYKH A, IVEY M J, et al. Revisiting cardiac cellular composition[J]. *Circ Res*, 2016, 118(3): 400-409
- [28] HU C, ZHANG X, TENG T, et al. Cellular senescence in cardiovascular diseases: asystematic review [J]. *Aging Dis*, 2022, 13(1): 103-128

[收稿日期] 2024-04-29

(本文编辑: 蒋 莉)

本刊现已启用网上稿件管理系统, 作者登陆
<http://jnmn.njmu.edu.cn/>即可在线投稿并查询
稿件审理情况。