

丝氨酸通过甘氨酸受体缓解血管紧张素 II 诱导的心肌纤维化

陈世超, 储鑫, 蒋云龙, 周文颖, 袁越, 杨青, 李晓宇*, 陈琪*

(南京医科大学病理生理学系, 江苏 南京 211166)

[摘要] **目的:** 探索丝氨酸是否对心肌纤维化具有保护作用及其可能的机制。**方法:** 通过微渗透泵持续给予血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 28 d 建立小鼠心肌纤维化模型, 观察丝氨酸对小鼠心肌纤维化的效应。乳大鼠原代心脏成纤维细胞单独培养或与原代心肌细胞共培养, 分别用 Ang II 和丝氨酸处理, 检测心脏成纤维细胞胶原 I 和胶原 III 的表达; 并检测丝氨酸对 Ang II 诱导的原代心肌细胞炎症因子表达有无影响。应用 siRNA 技术干扰心肌细胞甘氨酸受体(glycine receptor, GlyR), 并检测丝氨酸抑制心肌纤维化是否依赖 GlyR。**结果:** Masson 染色提示, 预防性使用丝氨酸可以减轻小鼠心肌纤维化; 定量 PCR 结果提示丝氨酸可以抑制受损心脏组织中胶原 I 和 III 增多。虽然丝氨酸能直接抑制受损心肌细胞转化生长因子 β 和内皮素-1 释放, 但它并不能直接抑制心脏成纤维细胞合成胶原增多, 只有与心肌细胞共培养时, 丝氨酸才能抑制心脏成纤维细胞的胶原 I 和 III 产生增多。此外, 当心肌细胞的 GlyR 表达降低后, 丝氨酸抑制胶原生成的保护效应随之消失。**结论:** 丝氨酸可通过激活心肌细胞甘氨酸受体, 减少心肌细胞炎症反应, 间接抑制心脏成纤维细胞产生胶原, 进而改善心肌纤维化。

[关键词] 丝氨酸; Ang II; 甘氨酸受体; 心肌纤维化

[中图分类号] R542.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2017)07-792-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20170702

Serine ameliorates myocardial fibrosis induced by Ang II through glycine receptor

Chen Shichao, Chu Xin, Jiang Yunlong, Zhou Wenying, Yuan Yue, Yang Qing, Li Xiaoyu*, Chen Qi*

(Department of Pathophysiology, NJMU, Nanjing 211166, China)

[Abstract] **Objectives:** To explore whether serine can protect myocardial fibrosis as a ligand of glycine receptor (GlyR). **Methods:** Serine or saline were injected intraperitoneally to mice a week before angiotensin II (Ang II) administrated by using an osmotic pump, and the myocardial fibrotic status in mice was detected 28 days later. The expression levels of inflammatory markers in cardiomyocytes response to angiotensin II (Ang II) were detected with or without serine *in vitro*. Primary cardiac fibroblast cells were isolated from neonatal rat and treated with Ang II or serine, respectively, and then the expression levels of collagen I and collagen III were checked by quantitative PCR. The expression levels of collagen I collagen III were checked in both cardiac fibroblasts and cardiomyocytes co-cultured system. mRNA levels of collagen I and III were checked after GlyR knocked down by siRNA transfection in cardiomyocyte. **Results:** In the presence of cardiomyocyte, production of collagen I and collagen III was enhanced in cardiac fibroblasts after Ang II treatment, however, the enhancement is inhibited by serine. Importantly, the protective of serine on cardiac fibrosis was abolished by GlyR knockdown. **Conclusion:** Serine could blunt myocardial fibrosis through GlyR in cardiomyocyte.

[Key words] serine; angiotensin II; GlyR; myocardial fibrosis

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(07):792-798]

纤维化被定义为细胞外基质的过度沉积, 进而导致组织瘢痕形成和器官功能障碍^[1]。在心脏中, 纤维化分成修复性和反应性两种, 前者是以梗死后的

结构性瘢痕来替代心肌细胞损伤区域, 后者是在持久的压力负荷下出现的间质中细胞外基质沉积^[2]。纤维化可导致心脏电传导的破坏, 引起心律失常, 并可限制心肌细胞的氧气供应, 从而加重心肌缺血, 进而影响心力衰竭患者的临床病程和转归。纤维化广泛参与多种心血管疾病的心室重构发生发展过程, 如高血压、肥厚性心肌病、风湿性心脏病、心肌炎、心肌梗死等。心肌纤维化既是病理性心肌肥大的一个

[基金项目] 国家自然科学基金(81230070, 91339202, 81670263); 江苏省高校自然科学研究重大项目(15KJA310001); 江苏省大学生创新创业训练计划基金资助项目(2014103120212)

* 通信作者 (Corresponding author), E-mail: xyli@njmu.edu.cn; qichen@njmu.edu.cn

重要病理特征,也是导致心力衰竭的重要病理过程之一。临床数据提示,纤维化严重程度与心脏疾病尤其是心衰患者死亡率的高低呈正相关^[3]。因此,目前监测、预防和逆转心肌纤维化已经成为改善心力衰竭的重要靶点^[4-5]。虽然近几年对心肌纤维化的研究已取得较多成果,但目前仍未发现可逆转或延缓心肌纤维化的有效且经济的药物。

丝氨酸虽是一种非必需氨基酸,但它参与嘌呤和嘧啶合成、脂肪酸代谢、肌肉生长、抗体和免疫球蛋白合成,对维持正常的细胞代谢起着不可或缺的作用。它也是一种神经营养因子,对中枢神经系统和大脑功能的正常运转发挥着重要作用。丝氨酸生物合成是糖酵解途径的一个组成部分。丝氨酸还是体内一碳单位的主要来源,哺乳动物组织中丝氨酸代谢的调节对于控制甲基转移至关重要^[6]。最近的功能基因组学研究揭示某些特定类型的乳腺癌依赖于磷酸甘油酸脱氢酶过表达所致的丝氨酸合成途径通量上升^[7]。研究指出,丝氨酸可以用于治疗精神分裂症、帕金森综合征、抑郁症和慢性疲劳综合征,预防头小畸形、精神运动性发育迟缓和罕见先天性丝氨酸合成缺陷^[8]。也有研究指出丝氨酸可以通过调节内脏血管阻力来降低自发性高血压大鼠的平均动脉压^[9],或通过引起血管舒张来调节高血压^[10]。本实验室前期研究证实甘氨酸能显著减弱压力负荷诱导的心肌肥大,且这种心脏保护效应是通过甘氨酸受体 $\alpha 2$ 实现的^[11],而丝氨酸也是甘氨酸受体的一种内源性激动剂,是否对心脏疾病具有保护意义尚不清楚。

本研究采用血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 诱导小鼠心肌纤维化模型,发现预防性使用丝氨酸可以减轻心肌纤维化。进而在离体模型上观察到丝氨酸通过激活甘氨酸受体(glycine receptor, GlyR),降低心肌细胞转化生长因子 β 和内皮素-1 的释放,从而减轻心脏成纤维细胞中胶原的过度产生。该发现为心肌纤维化的预防和治疗提供了新思路。

1 材料和方法

1.1 材料

出生 1~3 d 的乳鼠和 8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠由南京医科大学动物实验中心提供,已获得南京医科大学动物保护委员会批准。所有实验操作符合 Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH 颁布, No.85-23) 要求。

磷酸酶抑制剂(Roche 公司,德国),BCA Protein

assay Reagent Kit(Pierce 公司,美国),Electrochemi Luminescence(ECL)(Amersham Biosciences 公司,美国);实验用胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(杭州四季清生物公司),RNA 提取试剂(TaKaRa 公司,日本),血管紧张素 II (Sigma 公司,美国),胰酶(Gibco 公司,美国),青霉素、链霉素双抗(青霉素 100 mg/L,链霉素 100 mg/L)(Gibco 公司,美国),细胞培养基 DMEM (Gibco 公司,美国),RNA 逆转录试剂盒(TaKaRa 公司,日本),RT-PCR 引物(Invitrogen 公司,美国),定量 PCR Kit(Roche 公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 Ang II 泵植入

8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠随机分为生理盐水组(Sham-Veh)、Ang II 模型组(Ang II -Veh)、丝氨酸组(Sham-Ser)和丝氨酸处理的 Ang II 造模组(Ang II -Ser),每组 10 只。以 100 mg/kg 氯胺酮与 10 mg/kg 甲苯噻嗪混合麻醉小鼠,仰卧位固定在 37 °C 恒温手术台上,除去背部毛发后消毒并剪开皮肤,植入含有血管紧张素 II [1.44 mg/(kg·d)] 或生理盐水的微渗透压泵,缝合后用碘伏消毒皮肤。在植入微渗透压泵之前 1 周开始每天予以丝氨酸(350 mg/kg)腹腔注射。术后 4 周,小鼠安乐死后取出心脏,一部分经液氮速冻后,转至 -80 °C 低温保存。一部分全心标本置于 4% 多聚甲醛溶液固定后进行石蜡切片。

1.2.2 体外乳大鼠心肌细胞及心脏成纤维细胞培养

无菌条件下,取出生 1~3 d 的 SD 乳大鼠,开胸取出心脏后 PBS 冲洗 3 次,将心脏剪成 1 mm³ 小的碎块,加入 0.08% 胰酶消化液消化细胞,37 °C 快速震 5 min(重复 5~6 次),取消化液上清,加入含 15% 胎牛血清及 1% 双抗液的 DMEM 培养液,吹打均匀后种于培养皿,于二氧化碳孵箱中培养。2 h 后吸取上清液中细胞种板,48 h 后换液,此时贴壁细胞则为心肌细胞,而原板中贴壁细胞为心脏成纤维细胞。将心肌细胞和成纤维细胞分别分成对照组、Ang II 模型组、丝氨酸组、丝氨酸处理的 Ang II 模型组 4 组。Ang II 模型组和丝氨酸组分别使用 5 mmol/L 丝氨酸或 1 μ mol/L Ang II 处理 24 h,对照组加入生理盐水。丝氨酸处理的 Ang II 损伤组采用丝氨酸(5 mmol/L)预处理 30 min,再加入 Ang II (1 μ mol/L) 共孵育 24 h。

1.2.3 Masson 染色

石蜡切片脱蜡,自来水和蒸馏水依次冲洗,用 Masson 复合染色液染核 5 min。充分水洗,用丽春红酸性复红液染 5 min。以 2% 冰醋酸水溶液浸洗片

刻,之后1%磷钼酸水溶液分化5 min。用苯胺蓝染5 min,以0.2%冰醋酸水溶液浸洗片刻。95%酒精、无水酒精脱水,二甲苯透明,中性树脂胶封片。

1.2.4 Western blot

将培养液心肌细胞除去,PBS洗涤1次,加入适量含磷酸化酶抑制剂的细胞裂解液,冰上裂解30 min。离心,上清即为胞浆蛋白,用BCA法测定蛋白浓度。配置聚丙烯酰胺凝胶,取40 μ g蛋白上样,电泳。采用湿转法,将蛋白条带转移至PVDF膜。然后用含5% BSA的TBST溶液封闭90 min。一抗孵育,4 $^{\circ}$ C振摇过夜。次日用1 \times TBST洗膜,10 min 3

次。再将膜与相应二抗室温孵育2 h,TBST洗膜10 min 3次,高敏荧光成像系统观察结果并拍照。用Image J软件分析目的条带光密度值。

1.2.5 实时定量PCR (real-time PCR)

首先用TRIzol法提取细胞总RNA,紫外分光光度计鉴定 $D(260\text{ nm})/D(280\text{ nm})$ 比值高于1.8。然后取1 μ g总RNA逆转录成cDNA,-4 $^{\circ}$ C冰箱保存备用。使用Quantstudio™ Real-Time PCR Software系统进行目的基因定量PCR。引物由Invitrogen公司合成,序列详见表1,所有结果以18S为内参计算相对值。

表1 RT-PCR相关引物序列
Table 1 Primer sequences for RT-PCR

基因	上游序列(5'→3')	下游序列(5'→3')
TGF- β 1	ACTACACGGGAAGGCACAGC	CTGCTCCTTCTTGTCTCCCGA
ET-1	CCG CAGGTCCAAGCGTTGCT	GTCCATACGGGACGACGCGC
TNF- α	TCGTAGCAAACCACCAAG	CTGACGGTGTGGGTGA
18S	AGTCCCTGCCCTTTGTACACA	CGATCCGAGGGCCTCACTA
Collagen I	AGGGTCATCGTGGCTTCT	CAGGCTCTGAGGGTAGTGT
Collagen III	AGCGGAGAATACTGGGTTGA	GATGTAATGTTCTGGGAGGC

1.2.6 siRNA 转染

将密度在90%~95%的原代心肌细胞饥饿2 h备用。取2 μ L脂质体Lipofectamine 2000与5 μ L(30 nmol/L) siRNA分别溶于100 μ L无血清Opti-MEM低血清培养基中,5 min内将2种液体轻柔混匀,静置20 min。再将siRNA与之前配置的脂质体混合物共200 μ L轻柔地加至每孔中,摇匀。将细胞置于二氧化碳孵箱中,次日换新鲜的含血清培养液继续培养。转染72 h后,再与成纤维细胞共培养。siRNA-GlyR的上游引物:5'-GAGACAGCAGUGGACGAUTT-3',下游引物:5'-AUCGUUCCACUGCUGUCUCTT-3',由上海吉玛制药公司合成。使用无关序列siRNA作为阴性对照。

1.3 统计学方法

各组计量资料以均数 \pm 标准误($\bar{x}\pm s_x$)表示。用Graphpad Prism 5统计软件分析数据,ANOVA方法进行组间变异度分析,两两比较采用SNK法检验。 $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 丝氨酸可以减轻Ang II诱导的心肌纤维化

在本研究中,采用持续灌注Ang II诱导心肌纤维化的模型。取生理盐水组、Ang II组、丝氨酸组及丝氨酸处理的Ang II造模组小鼠心脏组织,Masson

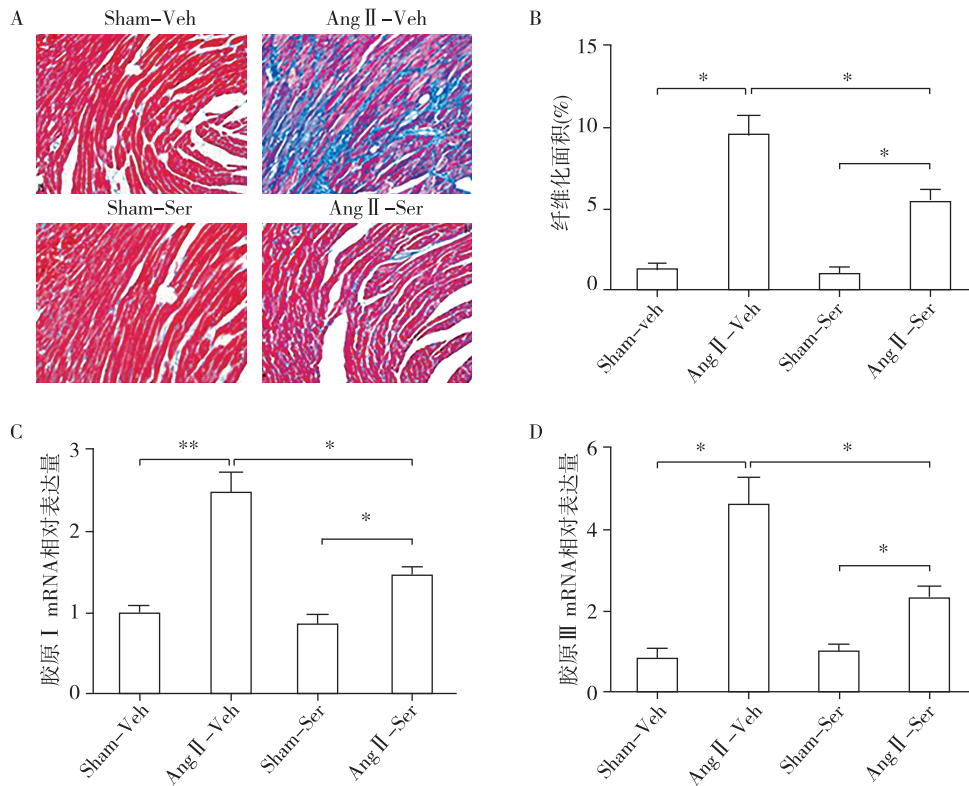
染色显示胶原纤维呈现蓝色。图1A提示与生理盐水组相比,Ang II组心肌纤维化明显增多;丝氨酸处理后Ang II造模组纤维化程度明显改善。图1B为图1A的统计结果。如图1C、D所示,Ang II处理组心脏组织中胶原I和III明显增多,说明预防性使用丝氨酸可以明显减轻心脏组织中的胶原I和III生成。

2.2 丝氨酸不能缓解Ang II刺激心脏成纤维细胞引起的胶原I和III增多

心脏成纤维细胞具有较强的分裂能力,可以合成基质蛋白、胶原I和胶原III,因此心脏成纤维细胞在心肌纤维化中具有重要意义。在体实验提示丝氨酸能缓解Ang II诱发的心肌纤维化,但丝氨酸是否直接作用于心脏成纤维细胞并不清楚。我们采用体外培养原代心脏成纤维细胞,分别用Ang II、丝氨酸、Ang II和丝氨酸刺激细胞,然后检测心脏成纤维细胞中胶原I和胶原III的表达水平。定量PCR检测发现,心脏成纤维细胞在Ang II处理后,胶原I和胶原III的表达明显增多;而丝氨酸并不能减轻Ang II对心脏成纤维细胞的刺激(图2)。

2.3 与心肌细胞共培养时,丝氨酸显著改善Ang II诱导的心脏成纤维细胞中胶原I与胶原III合成

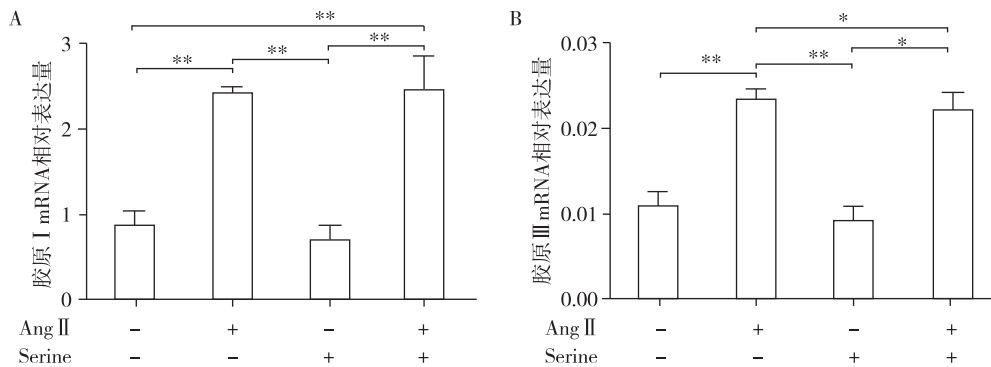
在体实验提示丝氨酸能缓解Ang II引起的心肌纤维化,而离体实验却不支持丝氨酸直接抑制Ang II诱导的促心脏成纤维细胞胶原生成效应。为



A: 心脏组织 Masson 染色图; B: Image J 统计心肌纤维化面积百分比; C: RT-PCR 检测心脏组织中胶原 I 的 mRNA 水平; D: RT-PCR 检测心脏组织中胶原 III 的 mRNA 水平。Sham-Veh 组为生理盐水对照组, Ang II -Veh 为 Ang II 造模组, Sham-Ser 组为丝氨酸处理组, Ang II -Ser 组为丝氨酸处理的 Ang II 模型组。 $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$ ($n=7$)。

图 1 丝氨酸缓解 Ang II 诱导的小鼠心肌纤维化

Figure 1 Ang II induced myocardial fibrosis was blunted by serine in mice



A: 丝氨酸对 Ang II 刺激引起的胶原 I 增多无作用; B: 丝氨酸对 Ang II 刺激引起的胶原 III 增多无作用。 $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$ ($n=5$)。

图 2 丝氨酸对 Ang II 引起的心脏成纤维细胞产生胶原 I 及胶原 III 表达增高无缓解作用

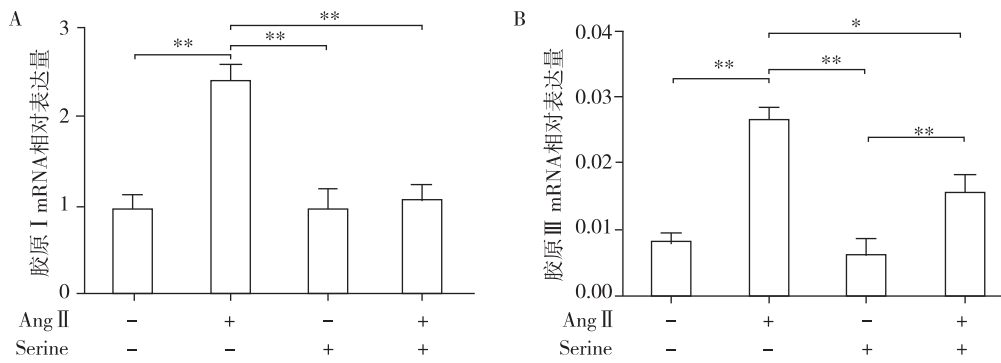
Figure 2 Serine has no effects on the expression of collagen I and collagen III induced by Ang II

更好地模拟在体条件, 采用心肌细胞和心脏成纤维细胞共培养体系来进一步验证丝氨酸的抗心肌纤维化功能。结果发现与心肌细胞共培养条件下, 丝氨酸明显缓解 Ang II 引发的胶原 I 和胶原 III 增多(图 3)。前期研究结果提示大鼠心脏中的 GlyR α 2 表达于心肌细胞而非心脏成纤维细胞, 丝氨酸是甘氨酸受体内源性激动剂之一。以上结果提示在心肌细胞存在的条件下, 丝氨酸可能通过激活心肌细胞上的

甘氨酸受体来缓解心肌纤维化。

2.4 丝氨酸对 Ang II 刺激后乳大鼠心肌细胞中 TGF- β 、ET-1、TNF- α 的 mRNA 增多有抑制效果

丝氨酸抑制心脏成纤维细胞分泌胶原 I 和胶原 III 从而缓解心肌纤维化必须有心肌细胞的参与。研究表明心脏受损后心肌细胞中 TGF- β 、ET-1 和 TNF- α 等细胞因子增多, 从而使得心脏成纤维细胞的胶原表达增多, 加速心脏纤维化^[11]。因此, 丝氨酸



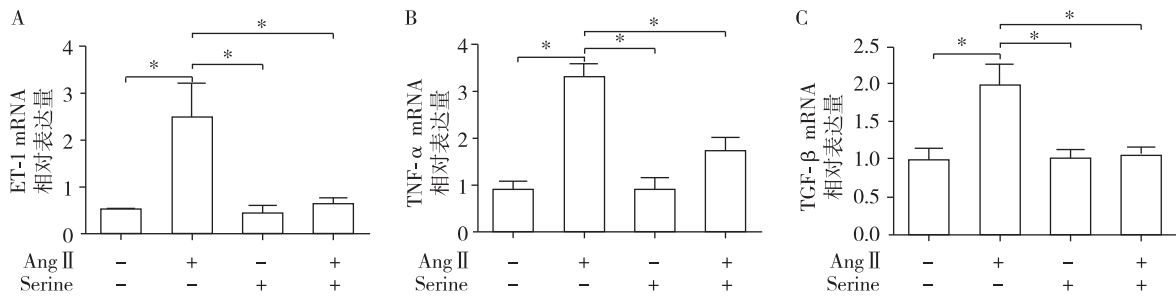
A:心肌细胞存在时,丝氨酸缓解 Ang II 引起的胶原 I 升高;B:心肌细胞存在时,丝氨酸缓解 Ang II 引起的胶原 III 升高。*P<0.05; **P<0.01(n=5)。

图3 与心肌细胞共培养时,丝氨酸可减缓心脏成纤维细胞胶原 I 及胶原 III 增多

Figure 3 The effect of serine on the increase of collagen I and collagen III expression induced by Ang II depends on cardiomyocyte

是否通过调节心肌细胞的旁分泌来间接影响心肌纤维化?为此,本研究分别检测了原代心肌细胞在接受 Ang II 及丝氨酸刺激后这些细胞因子的表达情况。结果发现,给予 Ang II 处理使得心肌细胞中这

些细胞因子表达明显上调,但是同时给予丝氨酸处理可明显缓解这些因子的上调(图4)。提示丝氨酸可能通过调节心肌细胞的旁分泌机制来拮抗心肌纤维化。



A:丝氨酸对 Ang II 刺激离体心肌细胞后 ET-1 mRNA 表达的影响;B:丝氨酸对 Ang II 刺激离体心肌细胞后 TNF-α mRNA 表达的影响;C:丝氨酸对 Ang II 刺激离体心肌细胞后 TGF-β mRNA 表达的影响。*P<0.05; **P<0.01(n=5)。

图4 丝氨酸拮抗 Ang II 诱导的心肌细胞炎症因子增高

Figure 4 Serine inhibits cytokines induced by Ang II in myocardial cell

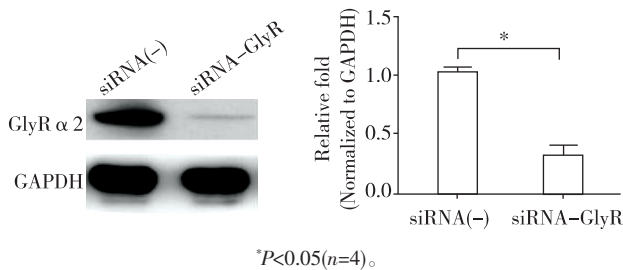
2.5 丝氨酸抑制心脏成纤维细胞胶原形成依赖 GlyR

本实验室前期研究证实了甘氨酸的心肌保护作用是通过 GlyRa2 介导的^[12],那么丝氨酸缓解心肌纤维化是否也依赖甘氨酸受体?本研究提取乳大鼠的心肌细胞,然后用 siRNA 干扰法下调甘氨酸受体备用(图5)。结果提示随着心肌细胞中 GlyR 表达水平的降低,丝氨酸不能减轻 Ang II 刺激后增加的胶

原 I (图6A)和胶原 III (图6B)合成。说明丝氨酸的抗心肌纤维化效应依赖心肌细胞中 GlyR 的表达。

3 讨论

心室重塑是慢性心力衰竭的基本过程,而心肌纤维化是其中重要的病理变化。缺血性心肌病时梗死部位远端广泛的显微瘢痕引起人们注意,说明纤维不断修补坏死组织,而纤维化的胶原侵入心肌细胞引起心肌细胞萎缩^[14]。在发达国家,纤维化是导致疾病和死亡的首要原因^[15]。心肌纤维化时,一方面激活的心脏成纤维细胞产生过多的胶原,增加心肌的硬度,妨碍了心肌细胞正常的收缩和舒张功能;另一方面,心肌纤维化影响心肌细胞的电生理活动,不利于营养物质的吸收,易导致心律失常,所以心肌纤维化是影响心血管疾病预后的重要因素之一。因此,抑



*P<0.05(n=4)。

图5 Western blot 检测心肌细胞 GlyR 表达水平

Figure 5 Expression of GlyR detected by Western blot

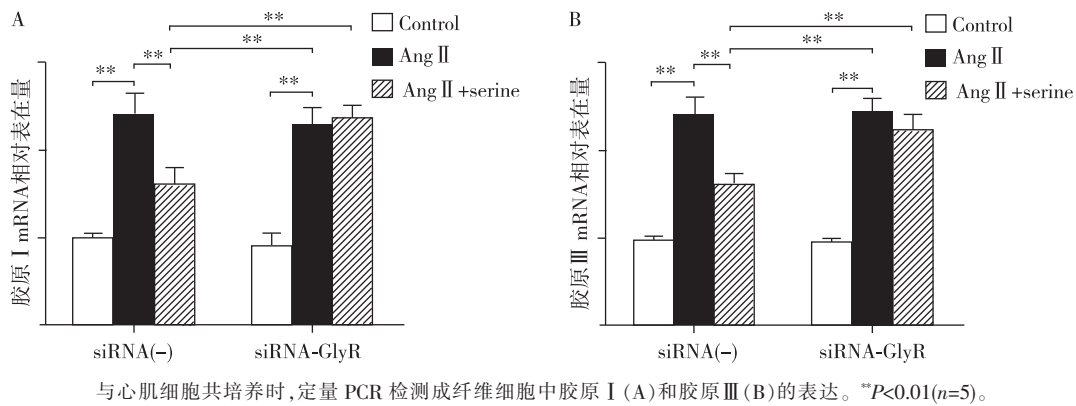


图 6 丝氨酸抑制心脏成纤维细胞胶原形成依赖 GlyR
Figure 6 Serine inhibits collagen I or III through GlyR

制和逆转纤维化已被确定为心脏疾病临床干预和治疗的重要靶点, 这些干预措施可以通过逆转重构使心肌收缩功能局部恢复从而延缓心衰进程。目前治疗与纤维化相关的心脏疾病耗资甚巨, 所以探索与成纤维细胞相关的有效又经济的途径来延缓心脏疾病发展显得尤为重要^[16]。心肌纤维化的发生过程涉及肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (renin angiotensin aldosterone system, RAAS)、免疫系统和多种细胞因子的参与, 发生机制与趋化因子、生长因子、蛋白酶、激素和活性氧的产生失衡密切相关, 但其具体机制并不明确。Ang II 是 RAAS 主要效应因子, 具有生长因子样作用, 是刺激心肌肥大的重要因素之一, 并可刺激心脏成纤维细胞增殖。研究发现, Ang II 引起心肌细胞纤维化主要是通过血管紧张素 II 1 型 (angiotensin II type 1, AT1) 受体介导的。Ang II 与 AT1 受体结合后激活丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK)、胎盘生长因子、 β 1 型转化生长因子等促进胶原合成、抑制胶原降解及增加炎症反应诱导心肌纤维化^[17-20]。因此, 目前临床上常使用干扰 RAAS 和肾上腺素神经系统的药物作为缓解心肌纤维化的一种策略, 但并没有取得较好的疗效。

心脏组织由心肌细胞和非心肌细胞组成, 而非心肌细胞包括成纤维细胞、血管细胞和炎症细胞^[21]。心肌细胞与非心肌细胞之间的联系可以直接或间接地调控心肌细胞反应。心肌成纤维细胞分泌大部分细胞外基质、蛋白, 如胶原、层粘连蛋白、纤连蛋白和蛋白聚糖, 在纤维化中发挥主要作用。在正常心脏和压力超负荷的心脏中心肌成纤维细胞对邻近心肌细胞会产生不同的效应。从压力超负荷的大鼠心脏中分离出成纤维细胞的培养基可以增加心肌细胞的体积, 但是这种效应可以被 TGF- β 1 型受体拮抗^[22]。说明心肌成纤维细胞与心肌细胞之间的效应可以通

过旁分泌连接。在心肌肥大时, Ang II 信号通过与心肌成纤维细胞上 AT1 受体结合, 使 Ca^{2+} 数量增加, 钙通道发生变化, 通过旁分泌作用引起心肌细胞的氧化应激和肌细胞去分化^[14]。近来有文献报道, 减轻牵拉刺激的心脏成纤维细胞的旁分泌效应可以抑制压力负荷诱导的心肌肥大^[23]。而促炎因子淀粉样 β 多肽和脂多糖 (LPS) 可以刺激小胶质细胞表达消旋酶并释放 D-丝氨酸引起神经毒性作用^[24], L-丝氨酸在大脑缺血再灌注损伤中可以减少 TNF- α 和 IL-6 的水平^[25]。这些结果提示丝氨酸与炎症反应相关。在本研究中, 丝氨酸不仅直接抑制心肌细胞受损时炎症因子的分泌, 还在与心肌细胞共培养条件下间接抑制受损的成纤维细胞产生胶原增多, 那么丝氨酸可能是通过抑制炎症因子旁分泌的作用抑制心肌成纤维细胞中胶原的产生从而起到缓解心肌纤维化的作用。

GlyR 是氯离子门控通道受体, 当甘氨酸与氯离子结合后引起氯离子通道开放, 从而使细胞超极化, 最终产生各种生理学效应。已知 GlyR 在脑和脊髓中是一种抑制性神经递质受体, 对运动协调和呼吸频率具有重要作用。在神经系统中, GlyR α 2 在胚胎及新生阶段高表达, 但在后期被 GlyR α 1 亚型逐步替代^[26]。作为 GlyR 内源性配体之一的丝氨酸, 对中枢神经系统的生长发育及功能维持起着重要的作用, 但对其在心脑血管疾病中的作用研究甚少^[27]。实验室前期实验结果证明心脏成纤维细胞并不表达 GlyR, 而心肌细胞上却存在 GlyR α 2^[11]。本研究中, 与心肌细胞共培养条件下, 丝氨酸可以减少 Ang II 诱导的成纤维细胞分泌的胶原 I 和胶原 III, 进一步提示丝氨酸的心肌保护作用依赖心肌细胞上的 GlyR。

综上所述, 丝氨酸可能激活 GlyR 而减少心肌细胞炎症因子的产生, 并间接抑制心脏成纤维细胞

合成胶原,从而缓解心肌纤维化。而针对心肌纤维化这一全球重大健康问题,目前尚缺乏有效的防治手段。本研究结果为心肌纤维化及慢性心力衰竭的靶向治疗提供了新的思路和理论依据。

[参考文献]

- [1] Rockey DC, Bell PD, Hill JA. Fibrosis—a common pathway to organ injury and failure[J]. *New Engl Med*, 2015, 372(12):1138–1149
- [2] Stratton MS, McKinsey TA. Epigenetic regulation of cardiac fibrosis[J]. *Mol Cell Cardiol*, 2016, 92:206–213
- [3] Azevedo CF, Nigri M, Higuchi ML, et al. Prognostic significance of myocardial fibrosis quantification by histopathology and magnetic resonance imaging in patients with severe aortic valve disease[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 56(4):278–287
- [4] Gonzalez A, Ravassa S, Beaumont J, et al. New targets to treat the structural remodeling of the myocardium[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 58(18):1833–1843
- [5] Schelbert EB, Fonarow GC, Bonow RO, et al. Therapeutic targets in heart failure: refocusing on the myocardial interstitium[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 63(21):2188–2198
- [6] Kalhan SC, Hanson RW. Resurgence of serine: an often neglected but indispensable amino acid[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(24):19786–19791
- [7] Possemato R, Marks KM, Shaul YD, et al. Functional genomics reveal that the serine synthesis pathway is essential in breast cancer[J]. *Nature*, 2011, 476(7360):346–350
- [8] de Koning TJ, Klomp LW. Serine-deficiency syndromes[J]. *Curr Opin Neurol*, 2004, 17(2):197–204
- [9] Mishra RC, Tripathy S, Gandhi JD, et al. Decreases in splanchnic vascular resistance contribute to hypotensive effects of L-serine in hypertensive rats[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 298(6):H1789–1796
- [10] Milman G, Maor Y, Abu-Lafi S, et al. N-arachidonoyl L-serine, an endocannabinoid-like brain constituent with vasodilatory properties[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(7):2428–33.
- [11] Lu Y, Zhu X, Li J, et al. Glycine prevents pressure overload induced cardiac hypertrophy mediated by glycine receptor[J]. *Biochem Pharmacol*, 2017, 123(1):40–51
- [12] Porter KE, Turner NA. Cardiac fibroblasts: at the heart of myocardial remodeling[J]. *Pharmacol Therap*, 2009, 123(2):255–278
- [13] Pan C, Bai X, Fan L, et al. Cytoprotection by glycine against ATP-depletion-induced injury is mediated by glycine receptor in renal cells[J]. *Biochem*, 2005, 390(Pt 2):447–453
- [14] Bomb R, Heckle MR, Sun Y, et al. Myofibroblast secretome and its auto-/paracrine signaling[J]. *Exp Rev Cardiovasc Ther*, 2016, 14(5):591–598
- [15] Gourdie RG, Dimmeler S, Kohl P. Novel therapeutic strategies targeting fibroblasts and fibrosis in heart disease[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15(9):620–638
- [16] Gyongyosi M, Winkler J, Ramos I, et al. Myocardial fibrosis: biomedical research from bench to bedside[J]. *Eur Heart Fail*, 2017, 19(2):177–191
- [17] Li L, Fan D, Wang C, et al. Angiotensin II increases periostin expression via Ras/p38 MAPK/CREB and ERK1/2/TGF-beta1 pathways in cardiac fibroblasts[J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 91(1):80–89
- [18] Izumi Y, Kim S, Zhan Y, et al. Important role of angiotensin II-mediated c-Jun NH (2)-terminal kinase activation in cardiac hypertrophy in hypertensive rats[J]. *Hypertension*, 2000, 36(4):511–516
- [19] Dostal DE, Hunt RA, Kule CE, 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):2893–2902
- [20] Alvarez D, Briassouli P, Clancy RM, et al. A novel role of endothelin-1 in linking Toll-like receptor 7-mediated inflammation to fibrosis in congenital heart block[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(35):30444–30454
- [21] Kamo T, Akazawa H, Komuro I. Cardiac nonmyocytes in the hub of cardiac hypertrophy[J]. *Circ Res*, 2015, 117(1):89–98
- [22] Cartledge JE, Kane C, Dias P, et al. Functional crosstalk between cardiac fibroblasts and adult cardiomyocytes by soluble mediators[J]. *Cardiovasc Res*, 2015, 105(3):260–270
- [23] Fan M, Song J, He Y, et al. The TIR/BB-loop mimetic AS-1 attenuates mechanical stress-induced cardiac fibroblast activation and paracrine secretion via modulation of large tumor suppressor kinase 1[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1862(6):1191–1202
- [24] Wu SZ, Bodles AM, Porter MM, et al. Induction of serine racemase expression and D-serine release from microglia by amyloid beta-peptide[J]. *J Neuroinflammation*, 2004, 1(1):2
- [25] Wang GH, Jiang ZL, Zhang XG, et al. Experimental study of therapeutic time window of L-serine against focal cerebral ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Chin J Appl Physiol*, 2010, 26(1):72–76
- [26] Dutertre S, Becker CM, Betz H. Inhibitory glycine receptors: an update[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(48):40216–40223
- [27] Montesinos Guevara C, Mani AR. The role of D-serine in peripheral tissues[J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 780(5):216–223

[收稿日期] 2017-03-03