

Exendin-4 对苯肾上腺素诱导的心肌肥厚的影响及作用机制

周越¹, 何昕³, 黄艺仪², 陈艺莉¹, 何建桂¹

(中山大学 1, 2. 附属第一医院 心内科¹; 急诊科²; 3. 中山医学院, 广东 广州 510080)

摘要: 【目的】探讨胰高血糖素样肽-1 类似物 exendin-4 对苯肾上腺素诱导的心肌肥厚的影响及作用机制。【方法】用 exendin-4、exendin9-39 及 Compound C 预处理无血清饥饿状态的原代心肌细胞 30min 后, 予以苯肾上腺素共培养 24h, 再以 Q-PCR 检测心肌细胞内肥厚标志物 ANP, BNP, β -MHC 的 mRNA 水平, Image-Pro Plus 软件测量心肌细胞表面积, 免疫荧光技术观察心肌细胞形态的变化及 Western-Blotting 检测相关信号通路分子的变化。【结果】exendin-4 处理能够显著减轻苯肾上腺素诱导的心肌细胞肥厚标志物的表达及心肌细胞面积的增大 ($P < 0.05$), GLP-1R 受体特异性拮抗剂能抑制 exendin-4 的抗心肌肥厚作用 ($P < 0.05$)。exendin-4 处理能明显上调 AMPK 的蛋白磷酸化水平及下调 Erk1/2 蛋白磷酸化水平 ($P < 0.05$), 但不能改变 p38 蛋白磷酸化水平。使用 AMPK 抑制剂 Compound C 能明显抑制 exendin-4 处理的效应 ($P < 0.05$), 且能抑制 mTOR 及 p70S6K 蛋白磷酸化 ($P < 0.05$)。【结论】exendin-4 通过与 GLP-1R 相互作用发挥其抗心肌肥厚作用, 且 Erk1/2 信号分子及 AMPK/mTOR/p70S6K 信号通路参与 exendin-4 抗心肌肥厚过程。

关键词: exendin-4; 心肌肥厚; GLP-1R 受体; Erk1/2; AMPK; Compound C

中图分类号: Q2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-3554(2016)01-0040-08

Effect of Treatment with Exendin-4 on Cardiac Hypertrophy Induced by Phenylephrine

ZHOU Yue¹, HE Xin³, HUANG Yi-yi², CHEN Yi-li¹, HE Jian-gui¹

(1. Department of Cardiology, 2. Department of Emergency, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, 3. Zhongshan Medical College of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, China)

Corresponding to: HE Jian-gui, E-mail: hejiangui1964@yeah.net

Abstract: 【Objective】The purpose of this study was to investigate the in vitro effect of exendin-4 on cardiomyocytes hypertrophy induced by phenylephrine (PE) and to clarify the mechanism underlying this process. 【Methods】Serum-starved neonatal rat ventricular cardiomyocytes (NRVCs) were pretreated with exendin-4, exendin9-39 or Compound C, then which was co-incubated with phenylephrine 24h. The mRNA expression level of cardiac hypertrophic markers (ANP, BNP, and β -MHC) was analyzed by Q-PCR. The surface area of cardiomyocytes was measured by Image-Pro Plus software and the morphology of cardiomyocytes treated with exendin-4 was exhibited by immunofluorescence staining. The involvement of signaling pathways underlying the process was determined by Western blotting. 【Result】Our data showed that exendin-4 treatment notably decreased the mRNA expression level of cardiac hypertrophic markers induced by PE and the enlargement of cell surface area ($P < 0.05$), which could be reversed by glucagon-like peptide-1 receptor (GLP-1R) antagonist exendin9-39 ($P < 0.05$). Exendin-4 treatment also upregulated the phosphorylation level of AMPK and downregulated the phosphorylation level of Erk1/2 ($P < 0.05$), but not p38. Furthermore, pretreatment with AMPK inhibitor Compound C could significantly eliminated the anti-hypertrophic effect of exendin-4 ($P < 0.05$) and upregulated the phosphorylation level of mTOR and p70S6K ($P < 0.05$). 【Conclusion】Exendin-4 could attenuate cardiac hypertrophy induced by phenylephrine via GLP-1 receptor. Both Erk1/2 and AMPK/mTOR/p70S6K signal pathways were involved in the anti-hypertrophic effect of exendin-4.

Key words: exendin-4; cardiac hypertrophy; GLP-1 receptor; Erk1/2; AMPK; Compound C

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2016, 37(1):40-47]

收稿日期: 2015-09-24

基金项目: 广东省科技计划项目(2012B031800386); 广东省自然科学基金(2014A030313019)

作者简介: 周越, 硕士研究生, 研究方向: 心脏内分泌与心肌肥厚, E-mail: zhouyuehua91@126.com; 何建桂, 通信作者, E-mail: hejiangui1964@yeah.net

心肌肥厚(cardiac hypertrophy)是心脏对其容量及压力超负荷和损伤的一种适应性不良的代偿反应,表现为心肌细胞大小和质量的增加,是各种生理及病理因素(例如,运动、高血压和瓣膜病)导致的血流动力学改变的主要代偿机制,也是心血管疾病发病率和死亡率主要的危险因素之一^[1-2]。短时间这种代偿是有益及可逆的,但长时间的心肌肥厚容易进展为心力衰竭(heart failure, HF)^[3]。多种危险因素及信号通路(例如 p-38MAPK、Erk1/2 及 AMPK/mTOR 通路等)参与生理及病理因素诱导的心肌肥厚的发生发展,但是其准确的分子机制及进展为心力衰竭的分子机制还未完全阐明。胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide 1, GLP-1)是一种含有 30 个氨基酸残基的肠降血糖素,由血糖依赖的小肠 L 型细胞分泌的,能抑制糖原的合成和胃的排空,因而能降低餐后血糖^[4]。GLP-1 及其类似物作为一种新型糖尿病治疗药物已用于临床。大量的临床及基础研究表明, GLP-1 除了具有调节血糖稳态的功能外,还具有多种独立的心血管保护作用^[5-9],然而 GLP-1 对正常血糖环境下的心肌肥厚是否具保护作用及其具体机制还未见报道。本研究旨在正常血糖背景下建立苯肾上腺素诱导的原代心肌肥厚模型,给予 GLP-1 类似物 exendin-4 处理心肌细胞,通过检测心肌肥厚标志物和测量心肌表面积来观察经过 exendin-4 处理的心肌细胞能否减轻 PE 诱导的心肌肥厚并检测心肌细胞内相关信号通路的激活情况,同时给予相关信号通路分子的抑制剂明确 exendin-4 作用的具体机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级 Sprague Dawley(SD)大鼠购于中山大学实验动物中心,1~3 天龄,雌雄不限。许可证号:SCXK(粤)2004-2011。实验动物使用方案经过中山大学附属第一医院医学伦理委员会审核通过[2014(056)]。

1.2 主要试剂

新生牛血清(Gibco);DMEM-F12 培养基(Gibco);苯肾上腺素(Sigma);GLP-1 受体激动剂 exendin-4 (Sigma);GLP-1 受体抑制剂 exendin9-39 (Sigma);AMPK 通路抑制剂 Compound C

(Sigma);RNA 提取试剂盒:Trizol reagent (Sigma);cDNA 逆转录试剂盒 RevertAid (Fermentas);5×SYBG(Roche);普通 PCR 试剂盒 DreamTap Green PCR Master Mix (Fermentas);蛋白提取试剂:Lysis Buffer (Cell Signaling Technology);蛋白 BCA 定量试剂盒(Thermo Scientific);大鼠 GLP-1 受体抗体(Abcam);大鼠 ERK1/2、p38、AMPK、mTOR 及 p70S6K 磷酸化及非磷酸化抗体 (Cell Signaling Technology);大鼠 GAPDH 抗体及 HPR 标记的二抗(Proteintech);Troponin I 抗体(Santa Cruz);Cy3 标记的荧光二抗(Proteintech);其他生化试剂均为进口分装或者国产分析纯。

1.3 主要仪器

PCR 仪(MT-Reserch);Q-PCR 仪(Rohe480);超微量紫外分光光度计 NanoDrop2000 (Thermo Scientific);荧光显微镜(BX51, Olympus);图像处理分析系统(Image-Pro Plus);酶标仪(Sunrise);蛋白电泳及转印系统:Mini-PROTEAN (Bio-Rad)。

1.4 实验方法

1.4.1 乳鼠心肌细胞原代培养 参照本实验室已成熟的原代心肌细胞提取的方法,无菌条件下剪开 SD 乳鼠(1~3 d)胸腔取出心脏,剪开心脏去除残留的血液和心房,留下心室剪碎至 1~3 mm³ 大小,以 1.25 g/L 的胰蛋白酶消化 5 min 后冲洗 3 次,再以 0.5 g/L 的无菌 I 型胶原酶 37℃水浴摇床上消化 150 min,使用含 10%(V/V)新生牛血清的培养基终止消化,反复使用 D'hanks 液体吹打至心肌团块至完全消失。600 rpm($r = 30$ cm)离心 5 min 后将细胞沉淀以培养液悬浮,悬液收集于 50 mL 培养瓶中,差速贴壁 60 min 后,吸取未贴壁细胞按照 10⁶/孔的密度接种至六孔细胞培养板中,培养于含 10%新生牛血清的 DMEM-F12 培养基中,并在培养基中加入 0.1 mmol/L 的 5-BrdU 抑制非心肌细胞的生长。心肌细胞置于体积分数 5%(V/V) CO₂、37℃细胞培养箱中培养 36 h 后可以观察到超过 90%的心肌细胞出现一致性跳动,反映心肌细胞的纯度及活力良好。

1.4.2 Exendin-4 及相应通路抑制剂处理 PE 诱导的肥厚心肌细胞 心肌细胞种板 36 h 后,更换不含血清的 DMEM-F12 培养基饥饿 24 h 后给予不同浓度(10 nmol/L 和 100 nmol/L)的 exendin-4 预处理细胞 30 min,再予以 PE(10 μmol/L)处理 24 h。Exendin9-39(100 nmol/L)作为 GLP-1 受体抑

制剂,视实验目的与 exendin-4 共刺激细胞,单纯 PE 处理组作为阳性对照。阻滞 AMPK 信号通路时,视实验目的分别在给予 exendin-4 和 PE 处理细胞前预先加入 Compound C (10 μ mol/L)处理细胞 30 min。

1.4.3 Q-PCR 检测心肌肥厚标志物的表达 Trizol 法提取细胞总 RNA,经超微量紫外分光光度计测定核酸浓度及纯度。按照说明书利用随机引物进行 cDNA 合成,取一定量的 cDNA 和特异性的引物使用 Q-PCR 仪(Roche)进行目的基因扩增。引物序列:ANP:Forward 5'-AGGAGAAGATGCCGG TAGAAG-3',Reverse 5'-AGAGCCCTCAGTTTC CTTTTTC-3';BNP:Forward 5'-CAGCTCTCAAAGG ACCAAGG-3',Reverse 5'-TAAAACAACCTCAG CCCGTC-3'; β -MHC:Forward 5'-CACTCCAGAA GAGAAGAACTCCA-3',Reverse 5'-ATACTCGTT GCCCACTTTGACT-3';GAPDH:Forward 5'-ACA GCAACAGGGTGCTGAC-3';Reverse 5'-TTTGA GGGTGCAGCGAACTT-3'。

扩增条件:首次循环 95 $^{\circ}$ C 5 min,其后 45 个循环:95 $^{\circ}$ C 10 s,60 $^{\circ}$ C 10 s 和 72 $^{\circ}$ C 20 s。结果以 GAPDH 为内参,基因表达倍数的改变表示。

1.4.3 心肌细胞表面积测量 Exendin-4 及 PE 处理 24 h 后,使用 PBS 冲洗三次后加入 4%(W/V)多聚甲醛室温下固定 30 min。使用 Image-Pro Plus 系统软件测量细胞面积,每个组随机选取 50 个视野测量。

1.4.4 免疫荧光法展示细胞形态学 原代培养的心肌细胞以 0.2×10^6 /孔的密度种于预先置有载玻片的 12 孔板中。药物处理完细胞后,以 PBS 冲洗三次,而后使用 40 g/L 多聚甲醛溶液固定 30 min。PBS 清洗 3 次后使用 0.25%的 Triton X-100 处理 10 min。PBS 清洗 3 次后以 10%BSA 封闭 30 min 后使用大鼠的 Troponin I 特异性一抗(1:50)4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。孵育过夜后使用 PBS 清洗 3 次加入 Cy3 标记的荧光二抗(1:100)室温避光孵育 1h 后,再次使用 PBS 清洗 3 次,接着使用 DAPI 染核(1:1000)10 min,最后 PBS 清洗 1 次后取出玻片至于载玻片上在荧光显微镜下观察。使用 Image-Pro Plus 系统软件处理图像结果。

1.4.5 Western blotting 检测相应通道蛋白磷酸化水平测定 相应通道蛋白磷酸化水平时,药物处理细胞 30 min。取药物处理 30 min 的心肌细胞,冰

上裂解细胞并提取蛋白。提取出的蛋白样本利用 BCA 试剂盒测定其浓度。取 10~20 μ g 蛋白,在 6%~12%的 SDS-PAGE 进行凝胶电泳,然后以恒流 250 mA,150 min 转印至 PVDF 膜,再使用 5%(M/V)的 BSA 室温下封闭 1h,接着按目标的分子量大小将封闭好的 PVDF 膜切开,孵育以相应的抗体 4 $^{\circ}$ C 过夜(GAPDH 1:10000;GLP-1R,p-p38/t-p38,p-Erk1/2/t-Erk1/2,p-AMPK α /t-AMPK α ,p-mTOR/t-mTOR,p-p70S6K/t-p70S6K 1:1000)。孵育过夜后以 0.1%TBST 洗膜,而后加入相应 HRP 标记二抗于室温孵育 1h,再次使用 TBST 洗膜,使用 ECL 试剂发光并使用 X 线胶片记录。结果以 GAPDH 为内参,使用 Quantity One(Bio-rad)软件分析。

1.5 统计学处理

全部实验均独立重复至少 3 次,实验数据使用 SPSS13.0 进行统计分析,数据以均数 $\pm$ 标准差表示($\bar{x} \pm s$),多组间均数差异性检验采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),组间比较采用 LSD 法,定义 $P < 0.05$ 有统计学意义。

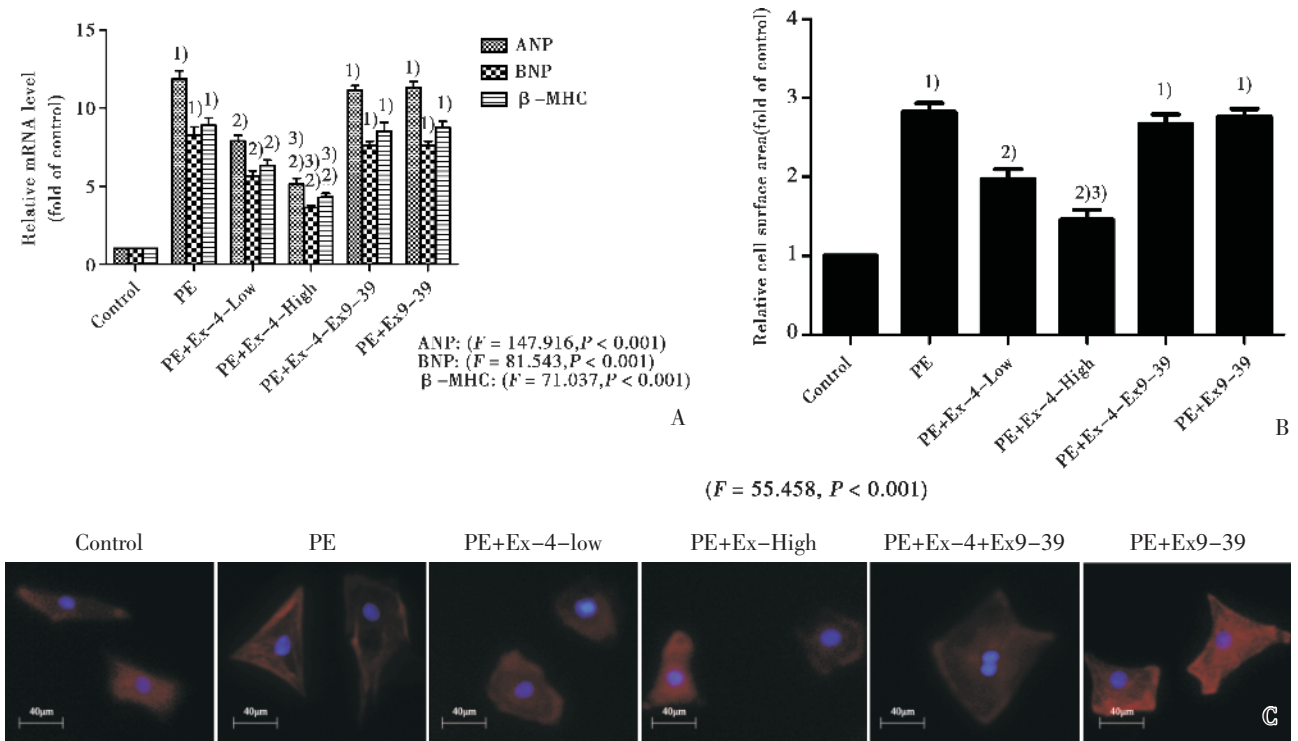
2 结 果

2.1 Exendin-4 处理减轻苯肾上腺素诱导的心肌肥厚

与空白对照组相比,阳性对照组中心肌肥厚标志物及心肌细胞表面积明显增加($P < 0.05$)。与阳性对照组相比,24 h 的 exendin-4 处理明显减轻 PE 诱导的乳鼠心肌细胞肥厚标志物 ANP,BNP, β -MHC 的表达水平(图 1A, $P < 0.05$)和心肌细胞面积的改变(图 1B、C, $P < 0.05$),且这种保护作用呈浓度依赖性,高浓度(100 nmol/L)较低浓度(10 nmol/L)更加明显($P < 0.05$)。此外,exendin-4 对 PE 诱导的心肌肥厚的保护作用能被 GLP-1 受体特异性抑制剂 exendin9-39 完全抑制($P < 0.05$),提示 exendin-4 的这种保护作用是通过 GLP-1 受体起作用。

2.2 Exendin-4 处理对心肌细胞内肥厚相关通路的影响

为了探索 exendin-4 减轻苯肾上腺素诱导的心肌肥厚的具体机制,我们检测了各实验处理组 p-38MAPK、Erk1/2 及 AMPK 信号分子的激活情况。与空白对照组相比,PE 组明显上调 p38、Erk1/2



A: Q-PCR analysis of the mRNA expression level of cardiac hypertrophic markers (ANP, BNP, β-MHC). B: The cell surface area of cardiomyocytes treated with or without exendin-4 was determined by Image-Pro Plus. Value are presented as mean ± SD, 1) $P < 0.05$ vs control group; 2) $P < 0.05$ vs PE group; 3) $P < 0.05$ vs the low dose of exendin-4 treatment group. C: The morphology of cardiomyocytes treated with or without exendin-4 was showed by immunofluorescence staining, Bar = 40 μm, $n = 3$.

图1 Exendin-4 对 PE 诱导的心肌肥厚的作用

Fig.1 Effect of exendin-4 treatment on PE-induced cardiomyocytes hypertrophy

蛋白磷酸化水平而下调 AMPKα 蛋白磷酸化水平 (图 2A-C, $P < 0.05$)。与阳性对照组相比, exendin-4 处理组明显下调 ERK1/2 磷酸化水平 (图 2A, $P < 0.05$) 和上调 AMPKα 磷酸化水平 (图 2C, $P < 0.05$)。但对 p38 蛋白磷酸化水平 (图 2B, $P < 0.05$)。与低浓度处理组相比较, 高浓度 exendin-4 处理组对信号通路分子的影响更强, 但高低浓度处理组之间在信号通路分子蛋白磷酸化水平上没有统计学差异。Exendin9-39 预处理能明显逆转 exendin-4 对信号通路分子磷酸化水平的影响 ($P < 0.05$)。

2.3 Compound C 逆转 exendin-4 对苯肾上腺素诱导的心肌肥厚的保护作用

为了探索 AMPK 信号通路分子在 exendin-4 减轻心肌肥厚中的作用, 我们使用 AMPK 抑制剂 Compound C 预处理, 观察其能否逆转 exendin-4 的这种保护作用。与 exendin-4 处理组相比, Compound C 处理组明显逆转了 exendin-4 处理对心肌肥厚标志物 (图 3A, $P < 0.05$) 和心肌细胞表

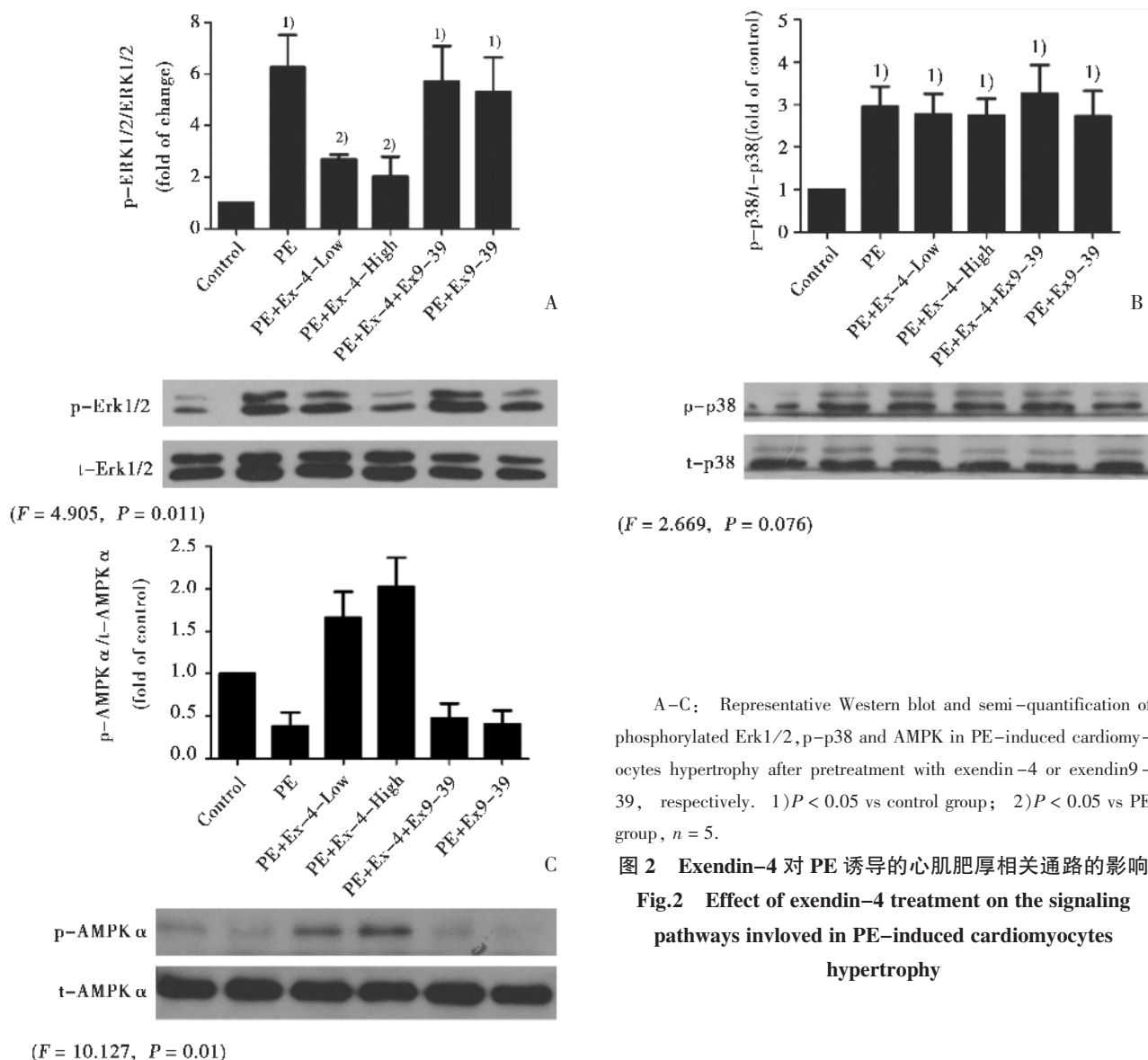
面积的改变 (图 3B、C, $P < 0.05$)。与对照组相比, DMSO (10 nmol/L) 溶剂对照组对心肌细胞肥厚标志物及心肌细胞表面积无影响 ($P > 0.05$)。

2.4 Compound C 对 mTOR/p70S6K 信号通路分子的影响

为明确 AMPK 抑制剂 Compound C 对 AMPK 信号通路下游 mTOR/p70S6K 信号分子的影响, 我们检测其下游信号分子 mTOR 及 p70S6K 的磷酸化水平。与对照组相比, PE 处理组明显上调 mTOR 及 p70S6K 分子磷酸化水平 (图 4A-C, $P < 0.05$)。与阳性对照组相比, exendin-4 处理组减轻了 mTOR 及 p70S6K 分子的磷酸化水平 (图 4A-C, $P < 0.05$)。而这种趋势为 Compound C 所逆转 (图 4A-C, $P < 0.05$)。与对照组相比, DMSO 溶剂对照组对心肌细胞 AMPK 下游信号通路分子无影响 ($P > 0.05$)。

3 讨论

虽然大量的临床及基础研究表明, 胰高血



A-C: Representative Western blot and semi-quantification of phosphorylated Erk1/2, p-p38 and AMPK in PE-induced cardiomyocytes hypertrophy after pretreatment with exendin-4 or exendin9-39, respectively. 1) $P < 0.05$ vs control group; 2) $P < 0.05$ vs PE group, $n = 5$.

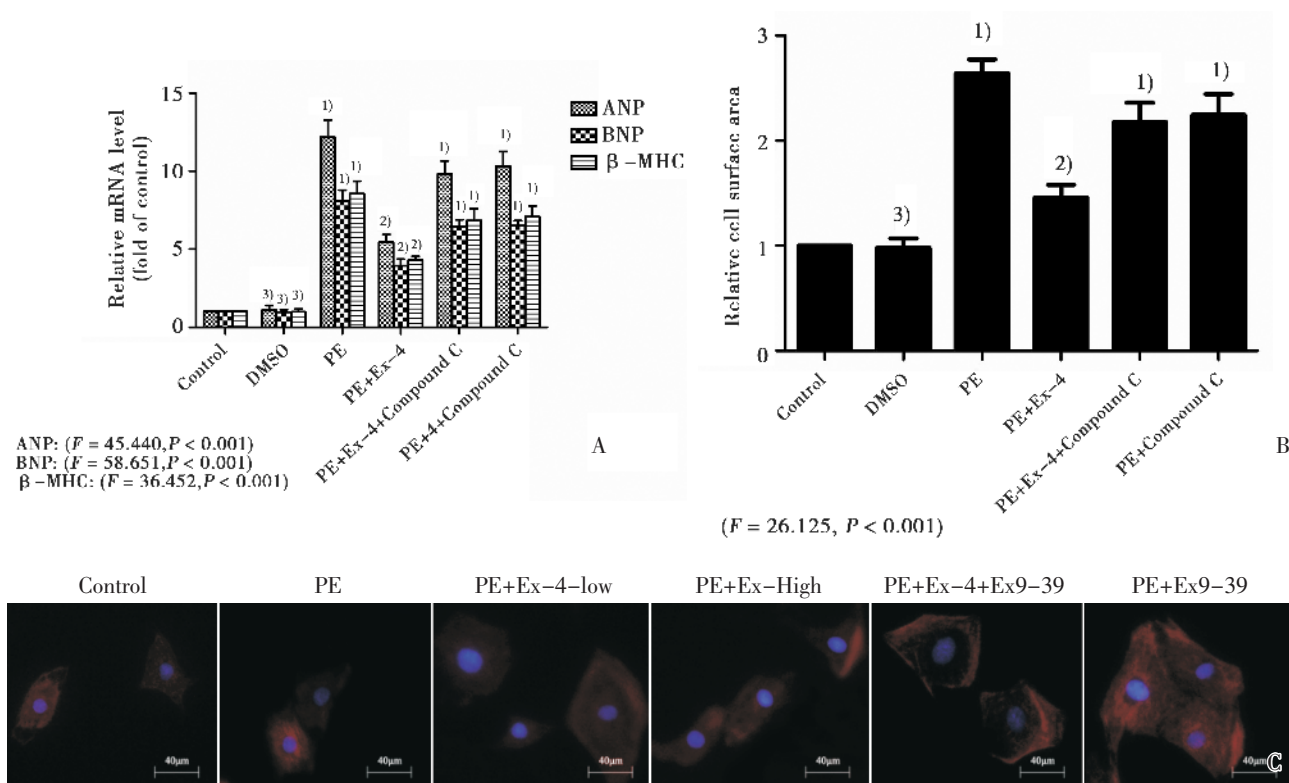
图2 Exendin-4 对 PE 诱导的心肌肥厚相关通路的影响
Fig.2 Effect of exendin-4 treatment on the signaling pathways involved in PE-induced cardiomyocytes hypertrophy

糖素样肽-1 及其类似物具有独特的减少心肌梗面积^[8],减轻缺血-再灌注损伤^[6],改善心功能^[9]及血管内皮功能障碍^[7]等多种心血管保护作用^[5]且这种作用不依赖于其对血糖稳态的调控,但是其对血糖正常环境下病理性心肌肥厚的影响及具体作用机制还未见文献报道。本研究通过建立苯肾上腺素诱导的乳鼠心肌细胞肥厚模型来阐明胰高血糖素样肽-1 类似物 exendin-4 对心肌肥厚的影响及作用机制。我们的研究结果发现 exendin-4 能明显减轻苯肾上腺素诱导的心肌细胞肥厚标志物的表达及细胞面积的增大。Exendin-4 的这种心肌保护作用是通过 GLP-1 受体起作用的,Erk1/2 及 AMPK/mTOR/p70S6K 信号通路参与这一心肌保

护过程。本实验仅在体外培养的原代乳鼠心肌细胞肥厚模型上完成,未在活体动物上证实,这是本实验最大的局限性,需要后续进一步的动物实验验证。

我们在实验中发现,exendin-4 能减轻苯肾上腺素诱导的乳鼠心肌细胞肥厚但这种保护作用为 GLP-1 受体特异性阻滞剂 exendin9-39 所逆转。与前人研究一致,有学者^[10]研究发现基因敲除小鼠 GLP-1 受体导致其心室壁增厚和心脏收缩及舒张功能不全。因此,我们推测胰高血糖素样肽-1 及其类似物通过 GLP-1R 受体发挥抗心肌肥厚作用。

大量的研究已经证实 Erk1/2 和 p38MAPK 蛋



A: Q-PCR analysis of the mRNA expression level of cardiac hypertrophic markers (ANP, BNP, β-MHC). B: The cell surface area of cardiomyocytes pretreated with or without Compound C was determined by Image-Pro Plus. Value are presented as mean±SD, 1) $P < 0.05$ vs control group; 2) $P < 0.05$ vs PE group; 3) $P > 0.05$ vs control group. C: The morphology of cardiomyocytes pretreated with or without Compound C was showed by immunofluorescence staining, Bar = 40 μm, $n = 3$.

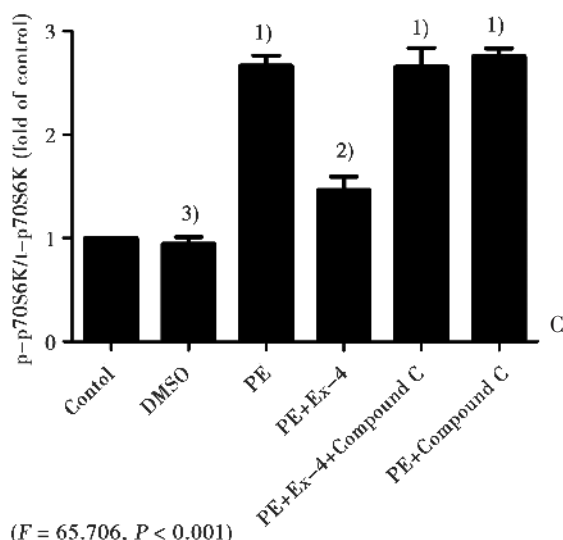
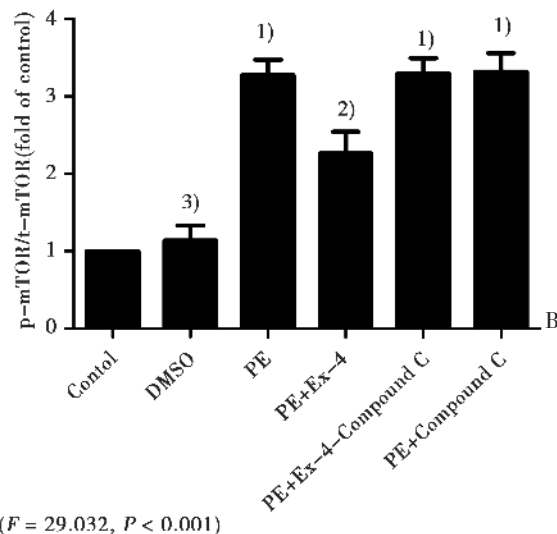
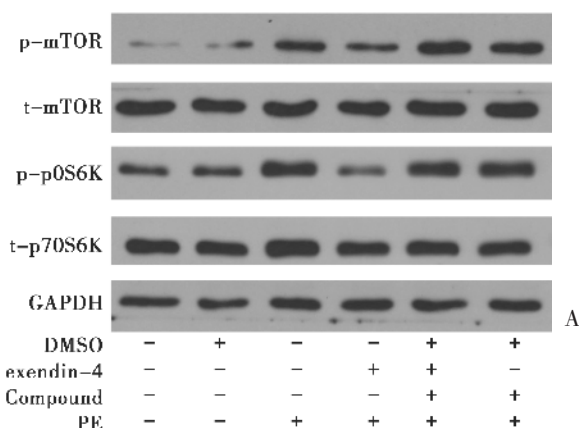
图 3 AMPK 抑制剂 Compound C 对 PE 诱导的心肌肥厚的作用

Fig.3 Effect of AMPK inhibitor Compound C treatment on PE-induced cardiomyocytes hypertrophy

白磷酸化水平上调参与心肌肥厚的过程^[11]。我们的研究发现, 苯肾上腺素能明显上调 Erk1/2 和 p38MAPK 蛋白磷酸化水平, exendin-4 能明显抑制 Erk1/2 蛋白的激活, 但对 p38 蛋白没有影响, 且 exendin9-39 能逆转 exendin-4 对心肌细胞信号通道的作用。已研究报道 exendin-4 能抑制高糖诱导的 Erk1/2 的激活^[12], 但 Liang 等人^[13]在研究使用艾塞那肽(exenatide)处理胰岛素抵抗的巨噬细胞时, 却发现其能上调 Erk1/2 的激活。这其中的差异可能归因与实验模型、细胞类型及胰高血糖素样肽-1 类似物类型等的不同。在扩张型心肌病的狗模型中, GLP-1(7-36)治疗能导致其心肌中 p38 分子的激活^[14], 与我们的实验结果不一致, 可能归因于模型的不同及 p38 分子在心肌肥厚中模型的作用还未完全明确。在我们的实验中未进一步使用 Erk1/2 分子抑制剂研究其下游通路分子的激活情况。因此, 我们的实验结果表明, exendin-4 对

心肌的保护作用可能部分是通过抑制 Erk1/2 分子的激活实现。

AMPK (Adenosine monophosphate (AMP) - activated protein kinase) 是一种细胞能量代谢调节分子, 参与多种心血管疾病的病理生理过程^[15]。多项研究表明, AMPK 分子及 AMPK/mTOR/p70S6K 信号通路的激活能减轻心肌肥厚^[16-17]。mTOR (The protein kinase mammalian or mechanistic target of rapamycin) 蛋白作为一种高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶参与蛋白质合成、细胞生长及增值和细胞凋亡等多种生命过程, p70S6K 作为其下游分子参与 mTOR 分子介导蛋白质的合成^[18]。在多种模型中, 发现 exendin-4 能激活 AMPK 信号分子及 AMPK/mTOR/p70S6K 信号通路^[19]。与前人研究一致, 在我们的实验中, exendin-4 也能激活 AMPK 分子及 AMPK/mTOR/p70S6K 信号通路。Exendin9-39 能明显抑制 exendin-4 对 AMPK 的激



A: Representative Western blot showing pretreatment with or without Compound C downregulates the phosphorylation level of mTOR and p70S6K in cardiomyocytes co-incubated with PE and exendin-4. B-C: Semi-quantification of mTOR and p70S6K phosphorylation level after pretreatment with or without Compound C, 1) $P > 0.05$ vs control group, as described in Fig. 4A caption. 2) $P < 0.05$ vs control group; 3) $P < 0.05$ vs PE group, $n = 4$.

图 4 AMPK 抑制剂 Compound C 对 mTOR/p70S6K 信号通路分子的作用

Fig.4 Effect of AMPK inhibitor Compound C treatment on the mTOR/p70S6K signaling pathway

活且 AMPK 分子抑制剂 Compound C 也能明显逆转 exendin-4 对心肌细胞的保护作用及 mTOR/p70S6K 信号通路的激活。我们的实验结果表明, exendin-4 减轻肾上腺素诱导的心肌肥厚部分是通过 AMPK 分子及 AMPK/mTOR/p70S6K 信号通路的激活来实现。

综上所述,我们的研究发现胰高血糖素样肽-1 及其类似物能通过与 GLP-1 受体作用抑制 Erk1/2 分子和激活 AMPK/mTOR/p70S6K 信号通路发挥不依赖其血糖调节的抗心肌肥厚作用。糖尿病心肌病(diabetic cardiomyopathy)不同于糖尿病对高血压和冠脉病变影响,是以心肌结构和功能异常为主要表现的疾病。糖尿病心肌病常表现为心室舒张早期的心室功能不全,早期常伴有心肌肥厚^[20-21]。因此我们的研究也为治疗糖尿病心肌病和心肌肥厚提供新的治疗靶点和潜在的治疗方法,也为胰高血糖素样肽-1 及其类似物独立

于血糖控制的心血管保护作用进一步提供理论依据。

参考文献

- [1] BAUML MA, UNDERWOOD DA. Left ventricular hypertrophy: an overlooked cardiovascular risk factor [J]. Cleve Clin J Med, 2010, 77(6):381-387.
- [2] FREY N, OLSON EN. Cardiac hypertrophy: the good, the bad, and the ugly [J]. Annu Rev Physiol, 2003, 65:45-79.
- [3] BARRY SP, TOWNSEND PA. What causes a broken heart -molecular insights into heart failure [J]. International Review of Cell and Molecular Biology, 2010, 284:113-179.
- [4] USSHER JR, DRUCKER DJ. Cardiovascular biology of the incretin system [J]. Endocr Rev, 2012, 33 (2): 187-215.
- [5] ARAKAWA M, MITA T, AZUMA K, et al. Inhibition

- of monocyte adhesion to endothelial cells and attenuation of atherosclerotic lesion by a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, exendin-4 [J]. *Diabetes*, 2010, 59 (4):1030-1037.
- [6] BOSE AK, MOCANU MM, CARR RD, et al. Glucagon-like peptide 1 can directly protect the heart against ischemia/reperfusion injury [J]. *Diabetes*, 2005, 54(1):146-151.
- [7] HAN L, YU Y, SUN X, et al. Exendin-4 directly improves endothelial dysfunction in isolated aortas from obese rats through the cAMP or AMPK-eNOS pathways [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2012, 97(3):453-460.
- [8] LONBORG J, VEJLSTRUP N, KELBAEK H, et al. Exenatide reduces reperfusion injury in patients with ST-segment elevation myocardial infarction [J]. *Eur Heart J*, 2012, 33(12):1491-1499.
- [9] NIKOLAIDIS LA, ELAHI D, HENTOSZ T, et al. Recombinant glucagon-like peptide-1 increases myocardial glucose uptake and improves left ventricular performance in conscious dogs with pacing-induced dilated cardiomyopathy [J]. *Circulation*, 2004, 110(8):955-961.
- [10] GROS R, YOU X, BAGGIO LL, et al. Cardiac function in mice lacking the glucagon-like peptide-1 receptor [J]. *Endocrinology*, 2003, 144(6):2242-2252.
- [11] ROSE BA, FORCE T, WANG Y. Mitogen-activated protein kinase signaling in the heart: angels versus demons in a heart-breaking tale [J]. *Physiol Rev*, 2010, 90(4):1507-1546.
- [12] MIMA A, HIRAOKA-YAMOMOTO J, LI Q, et al. Protective effects of GLP-1 on glomerular endothelium and its inhibition by PKC β activation in diabetes [J]. *Diabetes*, 2012, 61(11):2967-2979.
- [13] LIANG CP, HAN S, LI G, et al. Impaired MEK signaling and SERCA expression promote ER stress and apoptosis in insulin-resistant macrophages and are reversed by exenatide treatment [J]. *Diabetes*, 2012, 61 (10):2609-2620.
- [14] BHASHYAM S, FIELDS AV, PATTERSON B, et al. Glucagon-like peptide-1 increases myocardial glucose uptake via p38 α MAP kinase-mediated, nitric oxide-dependent mechanisms in conscious dogs with dilated cardiomyopathy [J]. *Circ Heart Fail*, 2010, 3 (4):512-521.
- [15] WONG AK, HOWIE J, PETRIE JR, et al. AMP-activated protein kinase pathway: a potential therapeutic target in cardiometabolic disease [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2009, 116(8):607-620.
- [16] KANG S, CHEMALY ER, HAJJAR RJ, et al. Resistin promotes cardiac hypertrophy via the AMP-activated protein kinase/mammalian target of rapamycin (AMPK/mTOR) and c-Jun N-terminal kinase/insulin receptor substrate 1 (JNK/IRS1) pathways [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(21):18465-18473.
- [17] CHAN AY, SOLTYS CL, YOUNG M, et al. Activation of AMP-activated protein kinase inhibits protein synthesis associated with hypertrophy in the cardiac myocyte [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(31):32771-32779.
- [18] SCIARRETTA S, VOLPE M, SADOHIMA J. Mammalian target of rapamycin signaling in cardiac physiology and disease [J]. *Circ Res*, 2014, 114(3):549-564.
- [19] MIAO XY, GU ZY, LIU P, et al. The human glucagon-like peptide-1 analogue liraglutide regulates pancreatic beta-cell proliferation and apoptosis via an AMPK/mTOR/P70S6K signaling pathway [J]. *Peptides*, 2013, 39:71-79.
- [20] BOUDINA S, ABEL ED. Diabetic cardiomyopathy revisited [J]. *Circulation*, 2007, 115, 3213-3223.
- [21] HUYNH K, BERNARDO BC, MCMULLEN JR, et al. Diabetic cardiomyopathy: mechanisms and new treatment strategies targeting antioxidant signaling pathways [J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 142(3):375-415.

(编辑 孙慧兰)