

激活的肺动脉成纤维细胞 Piezo1 通道通过活化 p38-MAPK 促进 IL-6 分泌诱发肺动脉高压的研究^{*}

谢秋兰 王蕾 张英

(北京航天总医院干部医疗科, 北京 100076)

【摘要】 目的 利用大鼠肺动脉成纤维细胞探讨机械敏感 Piezo1 通道与 IL-6 分泌的关系, 分析 Piezo1 通道在肺动脉高压(PAH)发展过程中的作用机制。方法 利用组织块法获取成年 SD 大鼠肺动脉组织并分离培养肺动脉成纤维细胞; 将细胞分为对照组和流体剪切力组, 用流体剪切力系统在 12 dyn/cm² 条件下培养流体剪切力组细胞 24 h, 对照组不做额外处理; 利用 Western blot 和 PCR 技术分别检测对照组和流体剪切力组细胞 Piezo1 蛋白和 mRNA 水平; 将肺动脉成纤维细胞分为 PBS 组、Yoda1 组和 Yoda1+Dooku1 组并分别加入 10 μM PBS、Yoda1 和 Yoda1+Dooku1 培养 24 h, 24 h 后利用检测各组细胞 IL-6 蛋白和 mRNA 水平; 取 Yoda1 组细胞分为 PBS 组、ERK 抑制剂组、JNK 抑制剂组和 p38MAPK 抑制剂组分别加入 PBS、ERK 抑制剂(PD98059, 10 μM)、JNK 抑制剂(SP600125, 10 μM)和 p38 MAPK 抑制剂(SB203580, 5 μM), 培养 24 h 后检测 IL-6 mRNA 水平; 在 PBS 组、Yoda1 组和 Yoda1+Dooku1 组细胞进行对应处理 10 min 后检测磷酸化 p38 MAPK 蛋白水平。结果 成功分离培养大鼠肺动脉成纤维细胞; 12 dyn/cm² 流体剪切力环境培养 24 h 后, 相较于对照组, 流体剪切力组细胞中 Piezo1 蛋白和 mRNA 水平均显著升高($P < 0.05$)。PBS 组、Yoda1 组和 Yoda1+Dooku1 组细胞培养 24 h 后, 相较于 PBS 组和 Yoda1+Dooku1 组, Yoda1 组细胞 IL-6 蛋白和 mRNA 水平均显著增高($P < 0.05$), 相较于 PBS 组, Yoda1+Dooku1 组细胞 IL-6 蛋白和 mRNA 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。相较于 PBS 组、ERK 抑制剂组和 JNK 抑制剂组, p38 MAPK 抑制剂组 IL-6 mRNA 水平受到抑制而显著降低($P < 0.05$), 但 PBS 组、ERK 抑制剂组和 JNK 抑制剂组 IL-6 mRNA 水平两两相比差异均无统计学意义($P > 0.05$)。PBS 组、Yoda1 组和 Yoda1+Dooku1 组细胞培养 10 min 后各组磷酸化 p38 MAPK 水平显示, 相较于 PBS 组, Yoda1 组磷酸化 p38 水平显著升高($P < 0.05$), 而 Yoda1+Dooku1 组磷酸化 p38 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 血管内流体剪切力改变可上调并激活肺动脉成纤维细胞 Piezo1 的表达, 介导 Ca²⁺ 内流活化 p38 MAPK 通路促进 IL-6 的分泌, 进一步导致血管重塑, 加快 PAH 进程。

【关键词】 肺动脉高压; 血管重塑; 成纤维细胞; Piezo1; 白细胞介素-6

【中图分类号】 R544.1+6 **【文献标志码】** A **DOI:** 10.3969/j.issn.1672-3511.2024.06.006

The activated pulmonary artery fibroblast Piezo1 induce pulmonary arterial hypertension by activating p38-MAPK and promote IL-6 secretion

XIE Qiulan, WANG Lei, ZHANG Ying

(Cadre Medical Department, Beijing Aerospace General Hospital, Beijing 100076, China)

【Abstract】 **Objective** To explore the relationship between Piezo1 and IL-6 secretion in rat pulmonary artery fibroblasts and clarify the mechanism of Piezo1 channel in the development of pulmonary arterial hypertension. **Methods** Pulmonary artery tissue of adult SD rats was obtained and pulmonary artery fibroblasts were isolated and cultured through tissue block method. The cells were divided into control group and fluid shear force group. The fluid shear force system was used to culture the fluid shear force group cells for 24h under the condition of 12dyn/cm², and no additional treatment was done in the control group. The levels of Piezo1 protein and mRNA in the control group and the fluid shear force

基金项目: 吴阶平医学基金会临床科研专项资助基金课题(320.6750.2021-03-17)

通讯作者: 张英, 主任医师, E-mail: paoch00@163.com

引用本文: 谢秋兰, 王蕾, 张英. 激活的肺动脉成纤维细胞 Piezo1 通道通过活化 p38-MAPK 促进 IL-6 分泌诱发肺动脉高压的研究[J]. 西部医学, 2024, 36(6): 814-819. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3511.2024.06.006

group were detected by Western blot and PCR. Pulmonary artery fibroblasts was divided into the PBS group, Yoda1 and Yoda1+Dooku1 group, and add 10 μ M PBS, Yoda1 and Yoda1+Dooku1 respectively. After 24 hours of cultivation, the IL-6 protein and mRNA level in each group was measured; Yoda1 group cell was divided into four groups and PBS (10 μ l), ERK inhibitor (PD98059, 10 μ M), JNK inhibitor (SP600125, 10 μ M) and p38 MAPK inhibitor (SB203580, 5 M), and the IL-6 mRNA level was measured 24h after the treatment. The level of p-p38 MAPK protein was detected in PBS group, Yoda1 group and Yoda1+Dooku1 group 10min after the treatment. **Results** Pulmonary artery fibroblasts were isolated and cultured successfully. After a 24h culture in 12dyn/cm² fluid shear force condition, both Piezo1 protein and mRNA levels were significantly increased in the fluid shear force group compared with the control group ($P < 0.05$). After a 24h cell culture in PBS group, Yoda1 group and Yoda1+Dooku1 group, IL-6 protein and mRNA levels in Yoda1 group were significantly increased compared with PBS group and Yoda1+Dooku1 group ($P < 0.05$). However, there were no significant differences in IL-6 protein and mRNA levels in Yoda1+Dooku1 group compared with PBS group ($P > 0.05$). PBS, ERK inhibitor, JNK inhibitor and p38 MAPK inhibitor were added into Yoda1 group and cultured for 24h. Compared with PBS, ERK inhibitor and JNK inhibitor groups, IL-6 mRNA level in the p38 MAPK inhibitor group was inhibited and significantly decreased ($P < 0.05$). However, there was no significant difference in IL-6 mRNA level between PBS group, ERK inhibitor group and JNK inhibitor group ($P > 0.05$). Phosphorylated p38 MAPK level in PBS group, Yoda1 group and Yoda1+Dooku1 group showed that compared with the PBS group, the phosphorylated p38 level in Yoda1 group was significantly higher than that in PBS group ($P < 0.05$), and there was no significant difference in phosphorylated p38 in Yoda1+Dooku1 group ($P > 0.05$). **Conclusion** The expression of Piezo1 can be up-regulated and activated in pulmonary artery fibroblasts, bring a Ca²⁺ flow and activating the p38 MAPK pathway, to promote IL-6 secretion. It leads to vascular remodeling and accelerate the process of pulmonary hypertension.

【Key words】 Pulmonary arterial hypertension; Vascular remodeling; Fibroblast; Piezo1; IL-6

肺动脉高压 (Pulmonary arterial hypertension, PAH) 是一种危及生命的疾病,其特征是肺血管阻力增强并导致平均肺动脉压升高 (> 25 mmHg)^[1-2]。随着肺动脉压的持续升高,肺动脉内皮细胞和平滑肌细胞会发生异常增殖,引起血管壁增厚、管腔狭窄,发生血管重塑进一步加重 PAH^[3]。血管压力升高带来的是血流剪切应力的改变,其可以通过作用于血管平滑肌细胞和外膜的成纤维细胞,在脉管系统的收缩和重塑中发挥重要作用^[4]。Piezo1 是一种机械敏感、非选择性阳离子通道蛋白,可由局部血流中的流体剪切应力和细胞膜拉伸而激活,进而引发一系列细胞内外反应。据报道^[5-6],Piezo1 在肺动脉高压进程中发挥着重要作用。但目前关于 Piezo1 在 PAH 血管重塑过程中的作用机制尚不明确,尤其 Piezo1 对肺动脉成纤维细胞的影响仍有待进一步研究。Blythe 等^[7]在探究心脏重塑过程中发现心脏成纤维细胞 Piezo1 通道的激活可以促进成纤维细胞合成和分泌 IL-6。需要注意的是,IL-6 作为一种多功能促炎细胞因子已被证实在 PAH 中发挥着重要作用,是影响 PAH 患者预后的重要风险因素,且降低 IL-6 水平可预防肺动脉高压的发生^[8-12]。

因此课题组认为,肺动脉内改变的流体剪切力可以通过激活肺动脉成纤维细胞 Piezo1 通道促进 IL-6 的合成和分泌,引起血管重塑、肺血管阻力增加,最终导致患者 PAH 的发生。本研究旨在探究 Piezo1、肺

动脉成纤维细胞和 IL-6 之间的关系,为临床预防和治疗 PAH 发现新的发病机制和提供新的药物治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选择成年 SPF 级 SD 雄性大鼠 (250~300 g) 作为肺动脉成纤维细胞分离获取来源,实验动物购自中国医学科学院医学实验动物研究所 [许可证号: SCXK(京)2019-0011], 饲养于 SPF 级动物房,保持温度 (23 ± 1) °C, 给予充足食物和水,光照和黑暗循环各 12 h。本研究获得医院伦理委员会审核通过。

1.2 主要试剂及仪器 澳洲胎牛血清、DMEM 培养基和 0.25% 胰蛋白酶 (Gibco, 美国); 二喹啉甲酸 (BCA) 试剂盒 (远慕生物, 中国); 大鼠 Piezo1 ELISA 检测试剂盒 (江莱生物, 中国); Piezo1 激动剂 Yoda1 (MCE, 美国); Piezo1 拮抗剂 Dooku1 (MCE, 美国); 大鼠 IL-6 ELISA 试剂盒 (Abcam, 英国); Phospho-p38 MAPK antibody (Cell Signaling Technology, 美国); p38 α MAPK antibody (Cell Signaling Technology, 美国); 抗 GAPDH 抗体 (博士的生物有限公司, 中国); 聚合酶链式反应 SYBR 和逆转录试剂盒 (TaKaRa, 日本); ERK1/2 抑制剂 PD98059 (MCE, 美国); JNK 抑制剂 SP600125 (MCE, 美国); P38-MAPK 抑制剂 SB 203580 (MCE, 美国); 流体剪切力系统 (Naturethink, 中国)。

1.3 大鼠肺动脉成纤维细胞分离培养 利用组织块

法分离大鼠肺动脉成纤维细胞。大鼠安乐死后取大鼠肺组织用含 100 U/mL 青链霉素的 PBS 反复冲洗去除肺动脉的周围肺组织、血液、脂肪和结缔组织等。然后用组织剪剪碎组织并间隔放置于无菌培养皿中。用含 10% FBS 和 1% 双抗的 DMEM 培养基对组织进行培养, 48 h 换液 1 次。4~5 d 后可见大量肺动脉成纤维细胞爬出附着于壁上, 去除组织块后继续培养待长满 80%~90% 后用 0.25% 胰蛋白酶消化并传代培养。取第 3~5 代细胞用于实验。

1.4 肺动脉成纤维细胞分组及处理 将肺动脉成纤维细胞分为对照组 ($n=5$) 和流体剪切力组 ($n=5$), 两组细胞玻片分别置于流体剪切力加载装置中, 并加入适量培养基, 对照组细胞无特殊处理培养 24 h, 流体剪切力组细胞在 12 dyn/cm^2 条件下启动装置培养 24 h (流体剪切力通过 Piezo1 调控 MG-63 骨肉瘤细胞的凋亡)。将肺动脉成纤维细胞分为 PBS 组 ($n=5$)、Yoda1 组 ($n=5$) 和 Yoda1+Dooku1 组 ($n=5$)。分别在 3 组细胞培养过程中加入 10 M PBS、Yoda1 和 Yoda1+Dooku1, 培养箱中培养 24 h^[7]。

1.5 Western blot 检测 使用适量 PBS 稀释目标细胞悬液使其浓度为 10^6 个/mL 左右, 使用 RIPA 裂解液裂解细胞, 溶液离心 20 min 后收集上清。BCA 试剂盒测定蛋白浓度。取 50 g 蛋白上样, 以 10% SDS-PAGE 凝胶分离并转印至 PVDF 膜并进行封闭 1 h, 以 GAPDH 及目标蛋白一抗 4°C 孵育过夜。次日用 PBST 清洗 3 次后继续用二抗孵育 1 h, 随后使用发光试剂盒进行曝光显影。以 GAPDH 条带作为参照, 使用 Image J (美国国立卫生研究院) 对不同条带密度进行统计分析。使用大鼠 Piezo1 ELISA 检测试剂盒检测对照组和流体剪切力组细胞中 Piezo1 蛋白水平。使用大鼠 IL-6 ELISA 试剂盒检测 PBS 组、Yoda1 组和 Yoda1+Dooku1 组细胞中 IL-6 蛋白水平。

1.6 定时定量聚合酶链式反应 (RT-PCR) 检测 使用 PBS 清洗目标细胞 3 次后加入 1 mL Trizol, 提取总 RNA 并测定浓度。利用 TaKaRa 逆转录试剂盒将其反转录为 cDNA。PCR 反应体系为 $12.5 \mu\text{L}$ SYBR, $10 \mu\text{L}$ 双蒸水, 正反引物 ($10 \mu\text{mol/L}$) 各 $1.0 \mu\text{L}$, cDNA 模板 $0.5 \mu\text{L}$ 。PCR 程序严格按照标准流程进行。实时荧光定量 PCR 反应采用 $\Delta\Delta\text{Ct}$ 计算目的基因 mRNA 的相对表达量, 以 GAPDH 作为参照, 每次实验重复至少 3 次。利用 RT-PCR 分别检测对照组、流体剪切力组细胞中 Piezo1 mRNA 水平和 PBS 组、Yoda1 组、Yoda1+Dooku1 组细胞中 IL-6 mRNA 水平。引物序列信息 (见表 1), 由生工生物工程公司合成。

表 1 引物序列表

Table 1 List of primer sequence

基因	引物序列
Piezo1	5'-CATCTTGGTGGTCTCCTCTGTCT-3' 5'-CTGGCATCCACATCCCTCTCATC-3'
IL-6	5'-AAGCCAGAGCTGTGCAGATGAGTA-3' 5'-TGTCTGCAGCCACTGGTTC-3'
GAPDH	5-ACAGCAACAGGGTGGTGGAC-3 5-TTTGAGGGTGCAGCGAACTT-3

1.7 信号通路抑制剂对 IL-6 表达的影响 取 Yoda1 组细胞分为 PBS 组、ERK 抑制剂组、JNK 抑制剂组和 p38MAPK 抑制剂组分别加入 PD98059 ($10 \mu\text{M}$)、SP600125 ($10 \mu\text{M}$)、SB203580 ($5 \mu\text{M}$) 抑制 ERK、JNK 和 p38 MAPK 通路, 同时设置对照组加入 PBS $10 \mu\text{L}$ 。培养 24 h 后利用 PCR 检测各组细胞 IL-6 mRNA 水平。使用磷酸化 p38 MAPK 抗体检测 PBS 组、Yoda1 组、Yoda1+Dooku1 组、细胞处理 10 min 后的 p-p38 MAPK 水平, 使用 p38 α MAPK 抗体检测各组总 p38 α 蛋白水平^[7]。

1.8 统计学分析 所有统计分析均由 Graphpad-Prism 8.0 软件执行。定量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较用 t 检验; 多组间比较用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠肺动脉成纤维细胞镜下形态 大鼠肺组织块培养后观察到肺动脉成纤维细胞爬出肺动脉组织碎片并贴壁生长。肺动脉成纤维细胞在光镜下呈现为长条形或梭形细胞, 细胞质较丰富, 细胞核大且圆形或椭圆形, 核浆明显, 染色质分散均匀。见图 1。

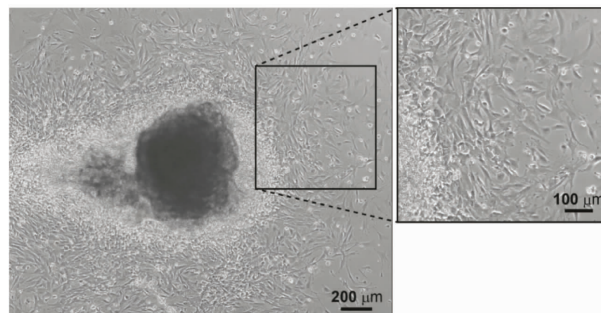


图 1 大鼠肺动脉成纤维细胞镜下形态

Figure 1 Pulmonary arterial fibroblasts climb out from the pulmonary tissue fragments under the microscope

2.2 流体剪切力上调肺动脉成纤维细胞中 Piezo1 的表达 为探究流体剪切力对肺动脉成纤维细胞 Piezo1 表达的影响, 课题组将细胞放置于 12 dyn/cm^2 条件下的流体剪切力环境中培养 24 h, 培养结束后 Western blot 和 PCR 结果显示, 相比于对照组, 流体剪切力组

的肺动脉成纤维细胞 Piezo1 蛋白和 mRNA 水平均显著上调,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 2。

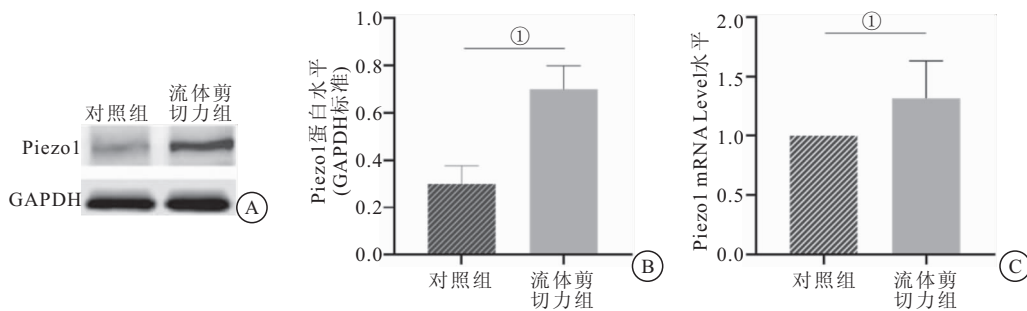


图 2 对照组和流体剪切力组肺动脉成纤维细胞中 Piezo1 表达情况

Figure 2 Expression of Piezo1 in pulmonary artery fibroblasts in control group and fluid shear force group

注:A、B. 对照组和流体剪切力组肺动脉成纤维细胞中 Piezo1 蛋白水平情况;C. 对照组和流体剪切力组肺动脉成纤维细胞中 Piezo1 mRNA 水平情况。组间比较,① $P < 0.05$ 。

2.3 Yoda1 通过激活 Piezo1 上调细胞 IL-6 的表达
利用 Piezo1 特异性激活剂 Yoda1 和拮抗剂 Dooku1 对肺动脉成纤维细胞进行分组处理,处理培养后的 Western blot 和 PCR 结果显示,相较于 PBS 组和 Yo-

dal+Dooku1 组,Yoda1 组肺动脉成纤维细胞 IL-6 蛋白和 mRNA 水平显著上调($P < 0.05$);但 PBS 组和 Yoda1+ Dooku1 组在 IL-6 表达方面差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 3。

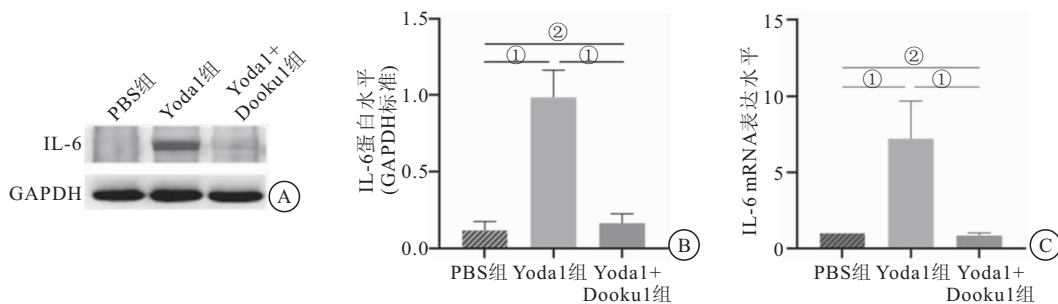


图 3 PBS 组、Yoda1 组和 Yoda1+Dooku1 组肺动脉成纤维细胞 IL-6 表达情况

Figure 3 The expression of IL-6 in pulmonary artery fibroblasts in PBS group, Yoda1 group and Yoda1+Dooku1 group

注:A、B. PBS 组、Yoda1 组、Yoda1+Dooku1 组肺动脉成纤维细胞 IL-6 蛋白水平情况;C. PBS 组、Yoda1 组、Yoda1+Dooku1 组肺动脉成纤维细胞 IL-6 mRNA 水平情况。组间比较,① $P < 0.05$,② $P > 0.05$ 。

2.4 Piezo1 通过 p38-MAPK 途径调控 IL-6 表达分泌
向 Yoda1 组细胞中加入 ERK、JNK 和 p38 MAPK 抑制剂并培养 24 h 后发现,相较于 ERK 和 JNK 抑制剂,加入 p38 MAPK 抑制剂的 Yoda1 组肺动脉成纤维细胞 IL-6 mRNA 水平显著降低($P < 0.05$)。课题组进一步在 PBS 组、Yoda1 组和 Yoda1+Dooku1 组肺动脉成纤维细胞施加处理 10 min 时进行 Western blot 检测磷酸化 p38 MAPK 蛋白水平,结果发现相较于 PBS 组和 Yoda1+Dooku1 组,Yoda1 组肺动脉成纤维细胞在处理 10 min 时磷酸化 p38-MAPK 水平显著上调($P < 0.05$)。而 PBS 组和 Yoda1+Dooku1 组之间磷酸化 p38-MAPK 水平较低,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 4。

3 讨论

Piezo1 通道在血管重塑和 PAH 发展过程发挥着重要作用,Piezo1 可通过调节细胞内 Ca^{2+} 水平和细胞

形态来影响血管重塑和肺动脉高压。在血管重塑中,Piezo1 的激活可以促进内皮细胞增殖和迁移,导致血管内皮细胞屏障的破坏和血管增生。在 PAH 中,Piezo1 的激活可以导致平滑肌细胞收缩和增殖,引发肺动脉阻力的增加和肺动脉血管壁增厚^[5-6]。但是,先前研究主要将关注点放于 Piezo1 对血管平滑肌细胞的作用上,并未对肺动脉成纤维细胞进行深入研究。成纤维细胞使血管外膜最主要的细胞组成,其可通过旁分泌释放多种生长或炎性因子并表现出更强的增值和分化倾向。因此,当血管内剪切应力发生改变时,成纤维细胞在血管重塑中可能扮演着比平滑肌细胞更加重要的作用。因此,本研究分离出大鼠肺动脉成纤维细胞,并开展了 Piezo1 相关细胞实验。本研究主要研究成果有 3 个方面:①血管中流体剪切力的改变可上调肺动脉成纤维细胞 Piezo1 的表达。②激活的 Piezo1 可以通过 p38 MAPK 途径促进炎性因子



图 4 激活的 Piezo1 通过 p38-MAPK 途径调控 IL-6 表达分泌

Figure 4 The activated Piezo1 regulates the level of IL-6 through p38-MAPK pathway

注:A. Piezo1 通道激活情况下加入 ERK, JNK 和 p38 MAPK 抑制剂后 IL-6 mRNA 水平比较情况;B,C. PBS 组、Yoda1 组和 Yoda1+Dooku1 组肺动脉成纤维细胞处理 10min 后 p38-MAPK 水平比较情况。组间比较,① $P < 0.05$,② $P > 0.05$ 。

IL-6 的分泌。③肺动脉成纤维细胞中 Piezo1 的激活在 PAH 进程中发挥着重要作用。

研究^[13-14]表明, Piezo1 通道参与人体成纤维细胞的活化、新肌成纤维细胞的募集和 ECM 的过度产生。He 等^[13-14]发现增生性瘢痕中的机械条件会上调 Piezo1 的表达并增强真皮成纤维细胞的机械信号敏感性和传导力,从而导致真皮成纤维细胞的生物学特性变化,加重瘢痕增生。而使用 Piezo1 阻断剂 GsMTx4 治疗时增生性瘢痕可被改善。在心脏中, Piezo1 可在心肌损伤后受机械应力和炎症刺激的心脏成纤维细胞中表达上调,并引起纤维化进展的正反馈回路,加快心脏重塑过程; Piezo1 介导的钙内流促进胞内应力纤维生成,诱导成纤维细胞分化为活化的肌成纤维细胞;此外, Piezo1 的激活也可促进成纤维细胞产生 ECM 和细胞因子^[14]。因此, Piezo1 是成纤维细胞表面重要的机械敏感离子通道,其在本研究肺动脉成纤维细胞中的上调也引发了后续一系列细胞内外变化。

Piezo1 除直接影响成纤维细胞增值分化外,还可向下游重要介质发出信号生成众多细胞因子,例如 IL-6、p38 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、脑利钠肽 (BNP)、tenascin C (TNC) 和转化生长因子 $\beta 1$ 等,引发一系列心脏炎症级联反应,加速心肌重塑进程^[7,15-17]。Blythe 等^[7]发现使用 Yoda1 激活心脏成纤维细胞 Piezo1 通道引起的 Ca^{2+} 内流可通过磷酸化 p38-MAPK 促进 IL-6 的分泌。值得注意的是,肺纤维化期间 Piezo1 介导的机械信号易诱发自身局部炎症反应,这提示 Piezo1 可能也有促进肺成纤维细胞分泌炎症因子的作用^[18]。而本研究证实了肺动脉成纤维细胞上激活的 Piezo1 通道可以通过活化 p38 MAPK 显著促进 IL-6 的合成分泌。此外, Piezo1 通道的激活也被发现可以刺激骨骼肌细胞释放 IL-6 等肌细胞因子对邻近

器官产生影响^[19]。但 Piezo1 和 IL-6 的偶联关系在不同研究中呈现出不同的趋势。研究^[20]发现在小胶质细胞中, Piezo1 通道介导的 Ca^{2+} 内流可以抑制 NF- κB 信号通路,下调 TNF- α 和 IL-6 的产生,维持中枢神经系统的稳态,缓解神经炎症。骨骼肌中 Piezo1 通道的急性破坏也可以诱导 Klf15 和 IL-6 的表达以及肌肉萎缩^[21]。这表明 Piezo1 通道对 IL-6 分泌的影响具有多样性且作用范围局限,这可能也是大多数 PAH 患者血清 IL-6 水平无明显升高的原因之一^[22]。因此,研究人员在研究 Piezo1 靶向制剂时应格外注意这一特点。

IL-6 是一种多功能促炎细胞因子,与许多自身免疫性疾病有关。在特发性 PAH 患者中血清 IL-6 水平上升且与预后密切相关^[23]。在动物实验中,肺特异性 IL-6 转基因小鼠在正常缺氧条件下发生自发性 PAH,而 IL-6 缺陷小鼠较少出现缺氧诱导性 PAH^[9]。血管稳态有利于预防和缓解 PAH 进程,其依赖于血管相关细胞凋亡和增殖之间的动态平衡,而 IL-6 可通过抗凋亡机制改变血管稳态。Tamura 等^[24]的研究表明 IL-6 可以诱导 MCL-1 和 BCL2 等抗凋亡基因过表达,导致肺动脉平滑肌细胞的增值,导致血管重塑。而 IL-6 敲除小鼠在低氧条件下肺动脉周围免疫细胞浸润和动脉肌化减少,也再次表明 IL-6 在调节肺血管炎症和 PAH 血管重塑方面的重要作用^[25]。

本研究初步探究了 Piezo1 通道、肺动脉成纤维细胞和 IL-6 之间的关系,但主要基于肺动脉成纤维细胞开展细胞实验,具有一定局限性,不利于准确反应它们在机体环境中的相互关系。因此,后续课题组将开展相关动物和临床研究,进一步探究 Piezo1 通道在 PAH 中的作用机制,为 PAH 治疗药物的研发提供新角度新思路。

4 结论

本研究结果提示,血管内流体剪切力改变可以上调并激活肺动脉成纤维细胞 Piezo1 的表达,介导 Ca^{2+} 内流活化 p38 MAPK 通路促进 IL-6 的分泌,进一步导致血管重塑,加快 PAH 进程。

【参考文献】

- [1] GELZINIS T A. Pulmonary Hypertension in 2021: Part I-Definition, Classification, Pathophysiology, and Presentation[J]. J Cardiothorac Vasc Anesth, 2022,36(6):1552-1564.
- [2] 杨红,金家贵,吴奇.非药物治疗肺动脉高压研究进展[J].西部医学,2021,33(12):1867-1872.
- [3] LUO Y, TENG X, ZHANG L, *et al.* CD146-HIF-1 α hypoxic reprogramming drives vascular remodeling and pulmonary arterial hypertension[J]. Nat Commun, 2019,10(1):3551.
- [4] HUMPHREY J D. Mechanisms of Vascular Remodeling in Hypertension[J]. Am J Hypertens, 2021,34(5):432-441.
- [5] WANG Z, CHEN J, BABICHEVA A, *et al.* Endothelial upregulation of mechanosensitive channel Piezo1 in pulmonary hypertension[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2021, 321(6):1010-1027.
- [6] CHEN J, MIAO J, ZHOU D, *et al.* Upregulation of mechanosensitive channel Piezo1 involved in high shear stress-induced pulmonary hypertension[J]. Thromb Res, 2022,218:52-63.
- [7] BLYTHE N M, MURAKI K, LUDLOW M J, *et al.* Mechanically activated Piezo1 channels of cardiac fibroblasts stimulate p38 mitogen-activated protein kinase activity and interleukin-6 secretion[J]. J Biol Chem, 2019,294(46):17395-17408.
- [8] YAKU A, INAGAKI T, ASANO R, *et al.* Regnase-1 Prevents Pulmonary Arterial Hypertension Through mRNA Degradation of Interleukin-6 and Platelet-Derived Growth Factor in Alveolar Macrophages[J]. Circulation, 2022,146(13):1006-1022.
- [9] HASHIMOTO-KATAOKA T, HOSEN N, SONOBE T, *et al.* Interleukin-6/interleukin-21 signaling axis is critical in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015,112(20):2677-2686.
- [10] TOSHNER M, CHURCH C, HARBAUM L, *et al.* Mendelian randomisation and experimental medicine approaches to interleukin-6 as a drug target in pulmonary arterial hypertension[J]. Eur Respir J, 2022,59(3):2002463.
- [11] DURHAM G A, PALMER T M. Is there a role for prostanoid-mediated inhibition of IL-6 trans-signalling in the management of pulmonary arterial hypertension? [J]. Biochem Soc Trans, 2019,47(4):1143-1156.
- [12] CARDONEANU A, BURLUI A M, MACOVEI L A, *et al.* Targeting Systemic Sclerosis from Pathogenic Mechanisms to Clinical Manifestations: Why IL-6? [J]. Biomedicines, 2022,10(2):318.
- [13] HE J, FANG B, SHAN S, *et al.* Mechanical stretch promotes hypertrophic scar formation through mechanically activated cation channel Piezo1[J]. Cell Death Dis, 2021,12(3):226.
- [14] BRAIDOTTI N, CHEN S N, LONG C S, *et al.* Piezo1 Channel as a Potential Target for Hindering Cardiac Fibrotic Remodeling [J]. Int J Mol Sci, 2022,23(15):8065.
- [15] EMIG R, KNODT W, KRUSSIG M J, *et al.* Piezo1 Channels Contribute to the Regulation of Human Atrial Fibroblast Mechanical Properties and Matrix Stiffness Sensing[J]. Cells, 2021,10(3):663.
- [16] PLOEG M C, MUNTSC C, PRINZEN F W, *et al.* Piezo1 Mechanosensitive Ion Channel Mediates Stretch-Induced Nppb Expression in Adult Rat Cardiac Fibroblasts[J]. Cells, 2021,10(7):1745.
- [17] JAKOB D, KLESEN A, ALLEGRINI B, *et al.* Piezo1 and BK (Ca) channels in human atrial fibroblasts: Interplay and remodeling in atrial fibrillation[J]. J Mol Cell Cardiol, 2021,158:49-62.
- [18] SOLIS A G, BIELECKI P, STEACH H R, *et al.* Mechanosensation of cyclical force by PIEZO1 is essential for innate immunity[J]. Nature, 2019,573(7772):69-74.
- [19] SCIANCALEPORE M, MASSARIA G, TRAMER F, *et al.* A preliminary study on the role of Piezo1 channels in myokine release from cultured mouse myotubes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2022,623:148-153.
- [20] MALKO P, JIA X, WOOD I, *et al.* Piezo1 channel-mediated Ca^{2+} signaling inhibits lipopolysaccharide-induced activation of the NF- κ B inflammatory signaling pathway and generation of TNF- α and IL-6 in microglial cells[J]. Glia, 2023,71(4):848-865.
- [21] HIRATA Y, NOMURA K, KATO D, *et al.* A Piezo1/KLF15/IL-6 axis mediates immobilization-induced muscle atrophy[J]. J Clin Invest, 2022,132(10):1-13.
- [22] SOON E, HOLMES A M, TREACY C M, *et al.* Elevated levels of inflammatory cytokines predict survival in idiopathic and familial pulmonary arterial hypertension[J]. Circulation, 2010,122(9):920-927.
- [23] TOBAL R, POTJEWIJD J, VAN EMPEL V, *et al.* Vascular Remodeling in Pulmonary Arterial Hypertension: The Potential Involvement of Innate and Adaptive Immunity[J]. Front Med (Lausanne), 2021,8:806899.
- [24] TAMURA Y, PHAN C, TU L, *et al.* Ectopic upregulation of membrane-bound IL6R drives vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension[J]. J Clin Invest, 2018, 128(5):1956-1970.
- [25] SAVALE L, TU L, RIDEAU D, *et al.* Impact of interleukin-6 on hypoxia-induced pulmonary hypertension and lung inflammation in mice[J]. Respir Res, 2009,10(1):6.

(收稿日期:2023-08-07;修回日期:2023-12-09;编辑:王小菊)