

凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体-1 与酒精性心肌病 细胞模型的关系研究*

郭明燕¹ 刘东¹ 周娜² 王鑫² 袁博² 冯占斌² 张一凡²

(1. 西安医学院研究生工作部, 陕西 西安 710021; 2. 西安市第九医院心血管病院, 陕西 西安 710054)

【摘要】 目的 探讨酒精性心肌病(ACM)细胞模型中凝集素样氧化低密度脂蛋白受体-1(LOX-1)对细胞凋亡有关蛋白 Bcl-2 相关蛋白(Bax)、含半胱氨酸的天冬氨酸水解酶 3(Cleaved Caspase-3)表达量变化的影响。方法 选用若干取对数生长期的细胞,随机分为以下 6 组:正常对照组(Blank 组)、酒精性心肌病组(ACM 组)、ACM+sh-NC 抑制表达对照组(ACM+sh-NC 组)、ACM+sh-LOX-1 组、ACM+OE-LOX-1 过表达组(ACM+OE-LOX-1 组)、ACM+OE-LOX-1+si-NC 组。除 Blank 组外,其余各组细胞均用 200 mmol/L 酒精孵育 1 d,体外诱发 ACM 细胞模型。应用 Western blot、实时定量 PCR 技术分别在蛋白质及基因水平检测细胞中的 LOX-1、Bax、Cleaved Caspase-3 的表达量并采用 Pearson 积矩相关系数检验分析其相关性。结果 与 Blank 组相比,ACM 组心肌组织中 LOX-1、Bax、Cleaved Caspase-3 的 mRNA 表达量显著增加($P<0.01$),蛋白表达量同样显著增加($P<0.05$);对 LOX-1 表达进行干预处理后与 ACM 组及 ACM+sh-NC 组比较,ACM+sh-LOX-1 组心肌组织中 Bax、Cleaved Caspase-3 的表达量显著减少($P<0.01$);与 ACM 组相比较,ACM+OE-LOX-1 组心肌组织中 Bax、Cleaved Caspase-3 的表达量显著升高($P<0.01$);相关性分析提示 LOX-1 的表达量与 Bax、Cleaved Caspase-3 的表达量呈正相关($r=0.663, P<0.05$; $r=0.604, P<0.05$)。结论 LOX-1 在 ACM 细胞模型中的表达量升高,且与心肌细胞凋亡蛋白 Bax、Cleaved Caspase-3 表达呈正相关,并通过干预 Bax、Cleaved Caspase-3 表达参与酒精诱导心肌细胞凋亡的过程。

【关键词】 酒精性心肌病;细胞凋亡;凝集素样氧化低密度脂蛋白受体-1;Bax;Cleaved Caspase-3;细胞模型

【中图分类号】 R542.2 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2024.11.005

Relationship between lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 and a cellular model of alcoholic cardiomyopathy

GUO Mingyan¹, LIU Dong¹, ZHOU Na², WANG Xin², YUAN Bo², FENG Zhanbin², ZHANG Yifan²

(1. Graduate School of Medicine, Xi'an Medical University, Xi'an 710021, China;

2. Cardiovascular Hospital, Xi'an Ninth Hospital, Xi'an 710054, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1) on the expression of apoptosis-related proteins in an alcohol cardiomyopathy (ACM) cell model. **Methods** A number of cells of logarithmic growth phase were selected and randomly divided into the following six groups: normal control group (Blank group), alcoholic cardiomyopathy group (ACM group), ACM+sh-NC inhibition control group (ACM+sh-NC group), ACM+sh-LOX-1 group, ACM+OE-LOX-1 overexpression group (ACM+OE-LOX-1 group), ACM+OE-LOX-1+si-NC group. Except for the blank group, all groups of cells were incubated with 200 mmol/L alcohol for 1 d to induce alcoholic cardiomyopathy cell model in vitro. The expression levels of LOX-1, Bax, Cleaved Caspase-3 were detected at the protein and gene levels by Western blot and real-time quantitative PCR, respectively, and the correlation was analyzed by Pearson product moment correlation coefficient. **Results** The expression of LOX-1, Bax and Cleaved Caspase-3 in myocardial tissue was significantly increased in the ACM group compared with the Blank group ($P<0.01$);

基金项目:西安市创新能力强基计划-医学研究项目(21YXYJ0066)

通讯作者:张一凡, E-mail:meibanfa12@163.com

引用本文:郭明燕,刘东,周娜,等.凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体-1与酒精性心肌病细胞模型的关系研究[J].西部医学,2024,36(11):

1582-1587. DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2024.11.005

the protein expression was also significantly increased ($P < 0.05$). After intervening with LOX-1 expression, the expression of Bax and Cleaved Caspase-3 in myocardial tissue was significantly decreased in the ACM+sh-LOX-1 group compared with the ACM and ACM+sh-NC groups ($P < 0.01$). (The expression of Bax and Cleaved Caspase-3 in myocardial tissues was significantly increased in the ACM+OE-LOX-1 group compared with the ACM group ($P < 0.01$); correlation analysis suggested that the expression of LOX-1 was positively correlated with the expression of Bax and Cleaved Caspase-3 ($r < 0.01$). Expression was positively correlated with the expression of Bax and Cleaved Caspase-3 ($r = 0.663$, $P < 0.05$; $r = 0.604$, $P < 0.05$). **Conclusion** The expression of LOX-1 is increased in the alcoholic cardiomyopathy cell model, and is positively correlated with the expression of cardiomyocyte apoptosis proteins Bax and CleavedCaspase-3, and participates in the alcohol-induced apoptosis of cardiomyocytes by interfering with the expression of Bax and Cleaved-Caspase-3.

【Key words】 Alcoholic cardiomyopathy; Apoptosis; Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1; Bax; Cleaved Caspase-3; Cell model

无论是急性还是慢性长期食用乙醇,都会对人体器官造成不同程度的影响,其中心血管系统是受乙醇毒性影响最大的第二大系统^[1]。过量的乙醇消耗引起心脏舒张与收缩功能障碍,引发明显的心脏毒性,从而导致进行性心肌损伤,心肌细胞变性,表现为心脏扩大与心功能不全,即酒精性心肌病(Alcoholic cardiomyopathy, ACM)的发生^[2]。在 ACM 的发病机制中乙醇诱导的细胞凋亡起着关键作用,在相关动物模型中,可检测到参与凋亡的蛋白含半胱氨酸的天冬氨酸水解酶 3 (Cleaved cysteinyl aspartate specific proteinase-3, Cleaved-caspase-3) 和 Bcl-2 相关蛋白 (Bcl-2 associated xprotein, Bax) 的增加,进而激活诱导线粒体依赖的凋亡途径^[3]。Cleaved caspase-3 作为核心执行蛋白参与线粒体途径介导的凋亡过程,其活化后可快速参与细胞凋亡,是凋亡的关键中介^[4];而 Bax 是被公认为细胞死亡的关键调节因子,线粒体调节细胞死亡执行蛋白,有明确的促凋亡作用^[5]。凝集素样氧化低密度脂蛋白受体-1 (Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1, LOX-1) 作为一种 II 型膜蛋白,广泛表达于血管内皮细胞,同时也通过介导氧化应激诱导内皮细胞功能障碍和凋亡,与动脉粥样硬化的发生、发展过程密切相关^[6]。其在心肌细胞中被发现,与心脏纤维化和心肌细胞凋亡的发展有关。心肌缺血损伤后,LOX-1 表达明显增加,最终导致局部炎症反应的加重,心肌细胞凋亡,继而心肌纤维化^[7]。LOX-1 在 ACM 中的表达情况以及是否可促进细胞凋亡的相关报道目前国内外相关较少。先前本研究组已经在成功建立的 ACM 大鼠模型中证明了 LOX-1 与酒精诱导心肌细胞凋亡的关系^[8],此次研究计划进一步创建 ACM 细胞模型,并通过干预 LOX-1 表达,观察细胞凋亡有关蛋白 Bax、Cleaved Caspase-3 与 LOX-1 的表达量变化情况,旨在探讨 LOX-1 与酒精诱导心肌细胞凋亡的相关关系,为 ACM 的防治提

供新的探讨思路和潜在干预靶点。

1 材料与方法

1.1 实验主要材料与仪器 ①实验所需细胞及部分试剂(蛋白提取液、蛋白酶抑制剂、BCA 蛋白浓度测定 kit、SDS-PAGE 预制胶套装 kit 等)购于北京思科生物医学技术有限公司(MDL)。②WB 实验所需试剂与仪器:蛋白提取液(来源:MDL,型号:MDL91201);蛋白酶抑制剂(MDL,MD912893);BCA 蛋白浓度测定 kit(MDL,MD913053);SDS-PAGE 预制胶套装 kit (MDL,MD911919);中等蛋白分子量 marker (Thermo,26617);微量加样器(Gilson 公司,法国);电热恒温水浴槽(上海一恒恒温设备厂,HWS-24);NC 膜 ($0.22 \mu\text{m}$)(Millipore,美国,ISEQ00010);3MM 滤纸 (Whatman,英国,3030861);脱色摇床(海门其林贝尔仪器制造公司,TS-100);电泳仪(北京百晶生物技术有限公司,BG-subMIDI);低温离心机(Sigma,德国,3-30K);SDS-PAGE 电泳系统(Biorad,美国,Mini-PROTEAN® Tetra Cell with Mini Trans-Blot® Module And PowerPac™ Universal Power Supply);凝胶成像系统(UVP,美国,GelDoc-It310);ChemiDoc MP 化学发光成像系统(biorad,美国,170-8280)。③PCR 技术所需试剂与仪器:TRIZOL 试剂(品牌:Invitrogen,美国,型号:10296028);无水乙醇(国药,10009218);异丙醇(国药,40064360);DEPC (MDL,MD911875);UltraPure Agarose (ABI-Invitrogen,16500100);SuperScript III RT 逆转录 kit (ABI-Invitrogen,美国,11752050);Sybr qpcr mix (ABI-Invitrogen,4472920);台式高速冷冻离心机 (THERMO,LEGEND MICRO 21R);分光光度计 (THERMO,Nanodrop lite);移液器(Eppendorf);荧光定量 PCR 仪 (Applied biosystems,美国,StepOne Software);NanoQuant 酶标仪 (TECAN,瑞士);电泳仪 (biorad,美国,EPS 300);凝胶成像仪 (biorad,2500)。

本研究获西安市第九医院生物医学伦理委员会审批(审批号:2021.28)。

1.2 实验细胞转染及分组 选用若干取对数生长期的细胞,将 H9C2 心肌细胞按说明在 96 孔培养板上孵化培养过夜,将细胞随机分为 6 组:正常对照组(Blank 组)、酒精性心肌病组(ACM 组)、ACM+sh-NC 抑表达对照组(ACM+sh-NC 组)、ACM+sh-LOX-1 组、ACM+OE-LOX-1 过表达组(ACM+OE-LOX-1 组)、ACM+OE-LOX-1+si-NC 组。除 Blank 组外,各组细胞在分析前用 200 mmol/L 酒精孵育 1 d,在体外引发 ACM,其中采用质粒转染 shRNA 的方法使细胞达到 LOX-1 低表达的效果,构建 LOX-1 低表达组;采用质粒转染 LOX-1 的方法使细胞达到 LOX-1 高表达的效果,构建 LOX-1 高表达组,并建立低表达组与过表达组、正常对照组,质粒转染完成后进行酒精培养。RT-qPCR 测定各组 LOX-1、Bax、Cleaved Caspase-3 表达水平,分析各组指标表达差异,在细胞水平对 LOX-1 的表达量与凋亡相关因子(Bax、Cleaved Caspase-3)之间的关系进行分析。实验重复 3 次,取平均值。

1.3 Real time PCR 检测 使用 TRIzol 试剂从所收集的细胞中分离总 RNA。提取总 RAN 后,使用核酸浓度测定仪测定 RNA 浓度和纯度,琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性;NanoQuant 酶标仪检测 RNA 浓度与纯度,RNA 浓度计算公式为: $A_{260} \times 40 \text{ ng}/\mu\text{L}$ RNA 纯度 = A_{260}/A_{280} ,该比值一般在 1.8~2.1 之间。根据 SuperScript III RT 逆转录试剂盒说明分别制备 10 μL 反应体系 1 与 12 μL 反应体系 2,最后实时荧光反应体系建立,反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s,58 $^{\circ}\text{C}$ 20 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 20 s,40 个循环。各因子引物见表 1,使用荧光定量 PCR 仪制备反应体系及 Real time PCR 检测 LOX-1、Bax、Cleaved Caspase-3 表达量。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法计算相对表达量。

表 1 各因子引物序列
Table 1 Primers for each factor

检测指标	引物序列
Actin	F:5'-CTGAACGTGAAATTGTCCGAGA-3'
	R:5'-TTGCCAATGGTGATGACCTG-3'
Bax	F:5'-AGGGTTTCATCCAGGATCGAGCA-3'
	R:5'-AGTTCATCGCCAATTCGCCTGAG-3'
Caspase-3	F:5'-GCCTGAATGATGAAGAG-3'
	R:5'-GCCTGAATGATGAAGAG-3'
LOX-1	F:5'-AGAGGGACTGAAGGAACAG-3'
	R:5'-ACACTTGCGAAGTCTCCTCA-3'

1.4 Western blot 检测 收集细胞,用 PBS 在冰浴中以最大功率超声破碎分离细胞(3×10 s),使其在

4 $^{\circ}\text{C}$ 下 12 000 rpm 离心 15 min 后收集上清液,采用 BCA 蛋白定量法测定蛋白浓度,离心物的等分物在 SDS-PAGE 聚丙烯酰胺凝胶上电泳,然后将分离的蛋白质移至到 NC 膜转模,随后使用 LOX-1 (1:1 000, ab60178)、Bax (1:1 000, ab32503)、Cleaved Caspase-3 (1:1 000, ab184787)、Actin (1:1 000, # AF7018) (Abcam, 美国)的一抗封闭液,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下处理 12 h。用 TBST 冲洗后,加入二抗反应的工作液中,孵育 1 h。之后在 TBST 洗涤游离二抗后,按 1:1(v/v)混合 ECL 试剂盒中两种液体,随后将上述混合液均匀铺在 NC 膜表面,室温作用 4 min 后抖掉膜上液体,将其放入 ChemiDoc MP 化学发光成像系统成像。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 25.0 软件进行数据统计分析。数据均采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。使用 Graphpad Prism 8.3.0 (Graphpad LLC, 美国)进行分析和绘图,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析。相关性分析采用 Pearson 积矩相关系数检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组间 LOX-1 及凋亡有关蛋白 Bax、Cleaved Caspase-3 mRNA 表达量对比 通过采用 qRT-PCR 检测各组 mRNA 表达情况的结果显示,ACM 组 LOX-1、Bax、Cleaved Caspase-3 mRNA 表达量显著高于 Blank 组($P < 0.01$);对 LOX-1 表达进行干预处理后,在 ACM+sh-LOX-1 组 LOX-1 表达低于 ACM 组,且 Bax、Cleaved Caspase-3 表达量同样显著低于 ACM 组($P < 0.01$);在 ACM+OE-LOX-1 组中 LOX-1、Bax、Cleaved Caspase-3 的表达量显著高于 ACM 组($P < 0.01$),见图 1。

2.2 各组间 LOX-1 及凋亡相关蛋白 Bax、Cleaved Caspase-3 的蛋白表达量对比 通过 Western blot 检测各组心肌细胞凋亡蛋白的表达情况显示,ACM 组 LOX-1、Bax、Cleaved Caspase-3 蛋白表达量显著高于 Blank 组($P < 0.05$);对 LOX-1 表达进行干预处理后,ACM+sh-LOX-1 组 LOX-1、Bax、Cleaved Caspase-3 表达量显著低于 ACM 组($P < 0.05$);ACM+OE-LOX-1 组心肌组织中 Bax、Cleaved caspase-3、LOX-1 的表达量显著高于 ACM 组($P < 0.05$),上述数据表明蛋白检测结果与 mRNA 检测结果趋势相同,见图 2。

2.3 LOX-1 与凋亡有关蛋白 Bax、Cleaved Caspase-3 相关性分析 使用 Pearson 检验对 LOX-1 与凋亡有关蛋白 Bax、Cleaved Caspase-3 蛋白表达量进行相关性分析结果表明,在 ACM 细胞模型中 LOX-1 与心肌凋亡有关蛋白 Bax、Cleaved Caspase-3 呈正相关($r =$

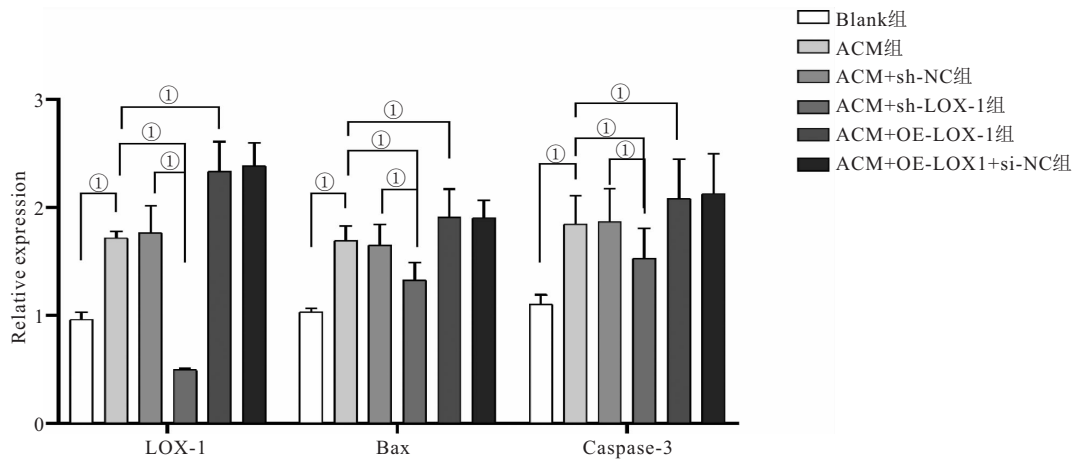


图 1 各组细胞 LOX-1、Bax、Cleaved Caspase-3 mRNA 表达量对比

Figure 1 mRNA expression of LOX-1, Bax, Cleaved Caspase-3 in each group

注: Blank 组:正常对照组;ACM 组:酒精性心肌病组;ACM+sh-NC 组:抑表达阴性对照组;ACM+sh-LOX-1 组:抑制 LOX-1 表达的酒精性心肌病组;ACM+OE-LOX-1 组:LOX-1 过表达的酒精性心肌病组;ACM+OE-LOX-1+si-NC 组:过表达阳性对照组。两组比较,① $P < 0.01$ 。

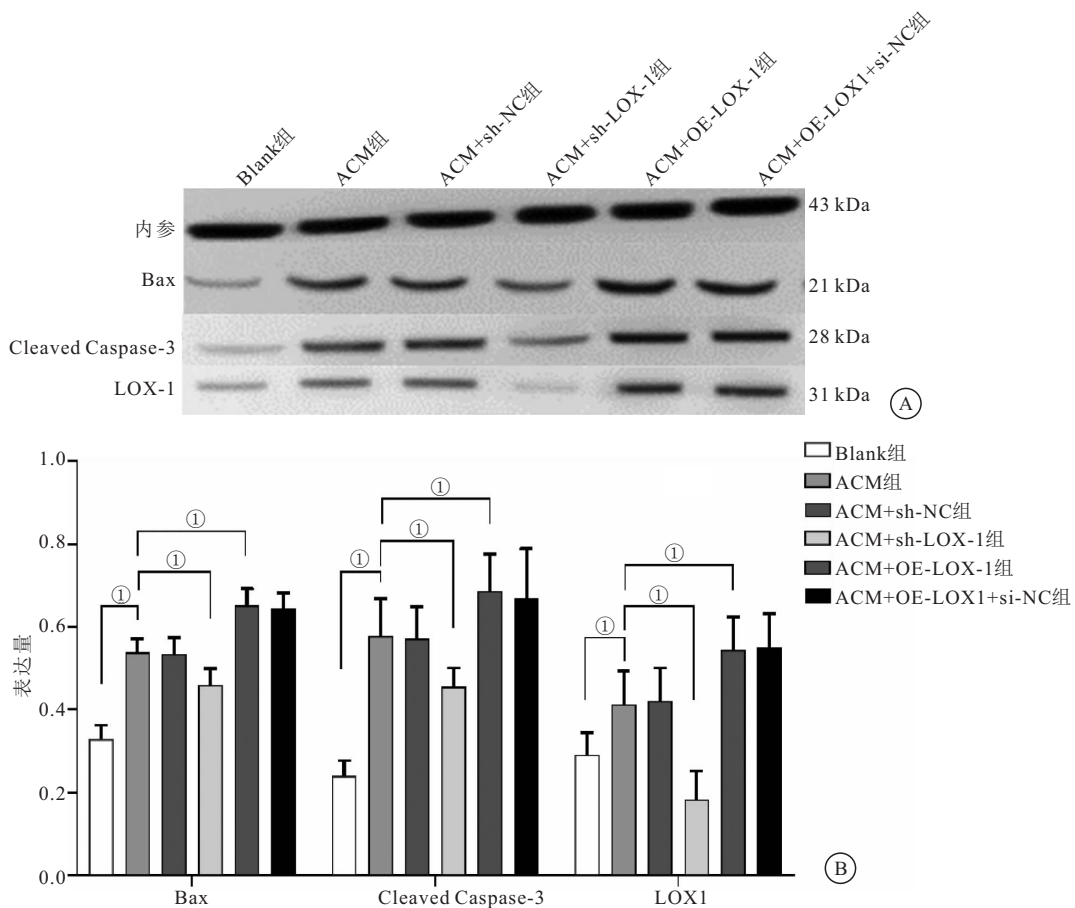


图 2 各组细胞 LOX-1、Bax、Cleaved Caspase-3 的蛋白表达量对比

Figure 2 Comparison of protein expression levels of LOX-1, Bax, Cleaved Caspase-3 in each group

注:A. 各组细胞 Western blot 蛋白印迹图;B. 各组细胞 LOX-1、Bax、Cleaved Caspase-3 的蛋白表达量对比图。Blank 组:空白对照组;ACM 组:酒精性心肌病组;ACM+sh-NC 组:抑表达阴性对照组;ACM+sh-LOX-1 组:抑制 LOX-1 表达的酒精性心肌病组;ACM+OE-LOX-1 组:LOX-1 过表达的酒精性心肌病组;ACM+OE-LOX-1+si-NC 组:过表达阳性对照组。两组比较,① $P < 0.05$ 。

0.663, $P < 0.05$; $r = 0.604$, $P < 0.05$); mRNA 表达量分析显示 LOX-1 与心肌凋亡有关蛋白 Cleaved

Caspase-3、Bax 呈正相关 ($r = 0.192$, $P = 0.385$; $r = 0.180$, $P = 0.402$), 见图 3。

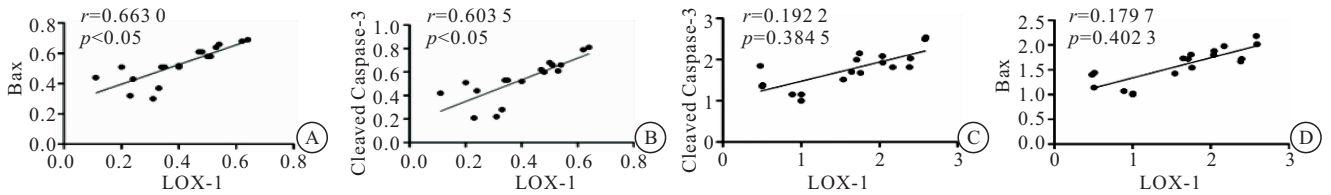


图 3 LOX-1 与凋亡相关蛋白 Bax、Cleaved Caspase-3 相关性分析

Figure 3 Correlation analysis of LOX-1 with apoptosis-associated protein Bax and Cleaved Caspase-3

注: A. 蛋白表达量中 LOX-1 与 Bax 的相关性分析; B. 蛋白表达量中 LOX-1 与 Cleaved Caspase-3 的相关性分析; C. mRNA 表达量中 LOX-1 与 Cleaved Caspase-3 的相关性分析; D. mRNA 表达量中 LOX-1 与 Bax 的相关性分析。

3 讨论

随着社会经济的发展,酒精的高消耗与滥用增加,ACM的发病率也随之增高。先前的一些以 ACM 小鼠为模型的研究中可以得知,长期饮酒会导致心肌细胞的结构发生紊乱,左心室扩张,心功能下降^[9]。酒精对人体心脏的不良影响也体现在许多方面,酒精摄入过量不但会使心脏收缩功能下降导致心脏衰竭外,还会引起各种心律失常,增加心源性的猝死风险^[10-11]。目前,关于 ACM 的发病机制主要有以下几个观点:兴奋-收缩耦合障碍、氧化应激增加、心肌细胞凋亡和心脏代谢的影响,以及乙醇代谢物的毒性反应^[12-13]。乙醇对心脏影响的关键因素主要是其代谢产物乙醛。乙醛可以参与结构蛋白和收缩蛋白合成的变化,降低结构蛋白合成和心脏收缩力,增加氧化和代谢损伤,还能够与蛋白质相互作用,引起额外的炎症和免疫性心脏损伤,诱导细胞凋亡,从而导致了心肌细胞纤维化和包括心排量降低、左室扩张、前负荷增加和正常肌细胞肥大等一系列病理生理的改变^[14-15]。

细胞凋亡是细胞程序性死亡的过程,依赖于蛋白水解 caspase 级联的激活,在 ACM 的发病机制中起着至关重要的作用,酒精的摄入可以引起相关凋亡标志物的升高,例如促凋亡蛋白半胱天冬酶 3(caspase 3)和 B 淋巴细胞瘤-2 基因蛋白(Bcl-2)家族的一种凋亡蛋白标志物 Bax^[16]。其中 Caspase 3 是参与凋亡的关键中介,在多种凋亡途径的交界处均有其存在,是细胞凋亡的关键酶原,同时被视为广谱的凋亡标志物^[4]。细胞凋亡主要包括内源性(线粒体)与外源性两种主要途径,前者激活后可进一步激活促凋亡蛋白 Bax 使其发挥作用;后者则是通过介导 Fas 配体激活对应的死亡受体,与外源性受体结合的配体可激活下游的 caspase 3 即成为 Cleaved Caspase-3。两种途径共同诱导了细胞凋亡^[17-19]。关于乙醇诱导心肌细胞凋亡的具体分子机制的研究中提到了 MicroRNA-186 在乙醇诱导的心肌细胞中高度表达,从而调节包括 caspase 3、Bcl-2 相关促凋亡蛋白,并通过靶基因 XI-

AP(抗凋亡蛋白)调控细胞凋亡^[20]。

LOX-1 作为一种清除受体,在多类细胞中均有表达,其中就包括心肌细胞。它不仅可摄取氧化低密度脂蛋白(ox-LDL),从而诱导促动脉粥样硬化斑块的形成,加速内皮功能障碍与凋亡^[21];此外,ox-LDL 可使 LOX-1 上调,此效应通过介导促凋亡蛋白如 Bax 的表达,抑制抗凋亡蛋白的表达,从而引起了平滑肌细胞的凋亡^[22]。其在免疫中也有广泛的作用,可识别凋亡细胞,促进包括 caspase-3 在内的促凋亡信号通路,对抗凋亡蛋白[如 Bcl-2 和 c-IAP(抑制性凋亡蛋白)]表达的抑制作用,进一步促进了凋亡信号通路的形成^[23]。

前期本课题组通过构建 ACM 大鼠模型得出了 LOX-1 可能通过上调心肌细胞相关凋亡蛋白 Bax、Cleaved Caspase-3 的表达参与酒精诱导心肌细胞凋亡的过程的相关结论。在此基础上,本研究通过构建 ACM 细胞模型,并通过质粒转染的方式构建 LOX-1 抑表达及过表达细胞模型,从基因和蛋白水平检测凋亡有关蛋白 Bax、Cleaved Caspase-3 的表达量,结果显示,与 Blank 组相比,ACM 组凋亡有关蛋白 Bax、Cleaved Caspase-3 表达量显著升高,提示 ACM 细胞模型中存在心肌细胞凋亡情况;本研究进一步通过抑表达 LOX-1 表达即构建 LOX-1 抑表达组(ACM+sh-LOX-1);LOX-1 在 ACM+sh-LOX-1 组表达降低,而在 Real time PCR 检测结果中,凋亡有关蛋白 Bax、Cleaved Caspase-3 也出现相同现象;同样的,过量表达 LOX-1 即构建 LOX-1 过表达组(ACM+OE-LOX-1),LOX-1 在 ACM+OE-LOX-1 组显著增加,而在 Real time PCR 检测结果中,凋亡有关蛋白 Bax、Cleaved Caspase-3 出现相同升高现象,从而进一步提示了 LOX-1 可能通过正向调节凋亡有关蛋白 Bax、Cleaved Caspase-3 的表达参与酒精诱导心肌细胞凋亡的过程。Pearson 检验结果提示,自变量 LOX-1 与相关变量 Bax、Cleaved Caspase-3 存在正相关关系,提示通过干预 LOX-1 的表达能抑制凋亡相关蛋白的表达。先前已有心肌梗死的相关动物研究表明,过度表

达 caspase-3 可增加缺血损伤后细胞的梗死面积,促进细胞凋亡,而下调 caspase-3 可减小梗死面积,降低心肌细胞凋亡指数,改善心功能^[24]。本研究结果强调,ACM 是可逆性心肌疾患,在细胞模型中,用合成的 LOX-1 抑制剂进行实验性治疗可以改善心脏恢复,提示可以通过干预 LOX-1 从而影响凋亡有关蛋白的表达,从而减少心肌细胞凋亡,使 LOX-1 成为有前途的心血管疾病潜在治疗靶点。

4 结论

LOX-1 在 ACM 细胞模型中的表达量升高,且与心肌细胞凋亡有关蛋白 Bax、Cleaved Caspase-3 的表达呈正相关,并通过干预 Bax、Cleaved Caspase-3 表达参与酒精诱导心肌细胞凋亡的发展过程。目前其具体机制尚未完全明确,仍需大量研究验证。在细胞模型中,用合成的 LOX-1 抑制剂进行实验性治疗可以改善心脏恢复,使 LOX-1 成为有前途的心血管疾病治疗靶点,为往后临床上 ACM 的预防及治疗提供了新的探讨思路和理论依据。

【参考文献】

- [1] HENDRIKS H F J. Alcohol and Human Health: What Is the Evidence? [J]. *Annu Rev Food Sci Technol*, 2020, 11: 1-21.
- [2] FERNÁNDEZ-SOLÀ J. The Effects of Ethanol on the Heart: Alcoholic Cardiomyopathy [J]. *Nutrients*, 2020, 12(2): 572.
- [3] FAN W, ZHANG B, WU C, *et al*. *Plantago asiatica* L. seeds extract protects against cardiomyocyte injury in isoproterenol-induced cardiac hypertrophy by inhibiting excessive autophagy and apoptosis in mice [J]. *Phytomedicine*, 2021, 91: 153681.
- [4] ASADI M, TAGHIZADEH S, KAVIANI E, *et al*. Caspase-3: Structure, function, and biotechnological aspects [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2022, 69(4): 1633-1645.
- [5] SPITZ A Z, GAVATHIOTIS E. Physiological and pharmacological modulation of BAX [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43(3): 206-220.
- [6] PEI Y, LUI Y, CAI S, *et al*. A Novel Peptide Isolated from Microalgae *Isochrysis zhanjiangensis* Exhibits Anti-apoptosis and Anti-inflammation in Ox-LDL Induced HUVEC to Improve Atherosclerosis [J]. *Plant Foods Hum Nutr*, 2022, 77(2): 181-189.
- [7] BARRETO J, KARATHANASIS S K, REMALEY A, *et al*. Role of LOX-1 (Lectin-Like Oxidized Low-Density Lipoprotein Receptor 1) as a Cardiovascular Risk Predictor: Mechanistic Insight and Potential Clinical Use [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41(1): 153-166.
- [8] 芦兰,王鑫,张瑞琦,等.酒精性心肌病大鼠模型中凝集素样氧化低密度脂蛋白受体-1 的表达与细胞凋亡相关蛋白 Bax、Cleaved Caspase-3 表达关系研究 [J]. *陕西医学杂志*, 2022, 51(10): 1201-1205.
- [9] CAO Z, WANG T, XIA W, *et al*. A Pilot Metabolomic Study on Myocardial Injury Caused by Chronic Alcohol Consumption- Alcoholic Cardiomyopathy [J]. *Molecules*, 2021, 26(8): 2177.
- [10] ROERECKE M. Alcohol's Impact on the Cardiovascular System [J]. *Nutrients*, 2021, 13(10): 3419.
- [11] MOSTOFISKY E, CHAHAL H S, MUKAMAL K J, *et al*. Alcohol and Immediate Risk of Cardiovascular Events: A Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis [J]. *Circulation*, 2016, 133(10): 979-987.
- [12] MUSTROPH J, LEBEK S, MAIER L S, *et al*. Mechanisms of cardiac ethanol toxicity and novel treatment options [J]. *Pharmacol Ther*, 2019, 197: 1-10.
- [13] WU L, ZHANG Y, REN J. Epigenetic modification in alcohol use disorder and alcoholic cardiomyopathy: From pathophysiology to therapeutic opportunities [J]. *Metabolism*, 2021, 125: 154909.
- [14] FERNÁNDEZ SOLÀ J. Reversibility of Alcohol Dilated Cardiomyopathy [J]. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*, 2018, 71(8): 603-605.
- [15] MIRIJELLO A, TARLI C, VASSALLO G A, *et al*. Alcoholic cardiomyopathy: What is known and what is not known [J]. *Eur J Intern Med*, 2017, 43: 1-5.
- [16] YE X, LI Y, LV B, *et al*. Endogenous Hydrogen Sulfide Persulfidates Caspase-3 at Cysteine 163 to Inhibit Doxorubicin-Induced Cardiomyocyte Apoptosis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 6153772.
- [17] LI M, GAO P, ZHANG J. Crosstalk between Autophagy and Apoptosis: Potential and Emerging Therapeutic Targets for Cardiac Diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(3): 332.
- [18] LIN X, OUYANG S, ZHI C, *et al*. Focus on ferroptosis, pyroptosis, apoptosis and autophagy of vascular endothelial cells to the strategic targets for the treatment of atherosclerosis [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2022, 715: 109098.
- [19] LI P, DONG X R, ZHANG B, *et al*. Molecular mechanism and therapeutic targeting of necrosis, apoptosis, pyroptosis, and autophagy in cardiovascular disease [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2021, 134(22): 2647-2655.
- [20] LIU Y, YU B. MicroRNA-186-5p is expressed highly in ethanol-induced cardiomyocytes and regulates apoptosis via the target gene XIAP [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(4): 3179-3189.
- [21] DING Y, FENG Y, ZHU W, *et al*. [Gly14]-Humanin Prevents Lipid Deposition and Endothelial Cell Apoptosis in a Lectin-like Oxidized Low-density Lipoprotein Receptor-1-Dependent Manner [J]. *Lipids*, 2019, 54(11-12): 697-705.
- [22] KATTOOR A J, KANURI S H, MEHTA J L. Role of Ox-LDL and LOX-1 in Atherogenesis [J]. *Curr Med Chem*, 2019, 26(9): 1693-1700.
- [23] AKHMEDOV A, SAWAMURA T, CHEN C H, *et al*. Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1): a crucial driver of atherosclerotic cardiovascular disease [J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(18): 1797-1807.
- [24] OGLAKCI-ILHAN A, KUSAT-OL K, UZUNER K, *et al*. Effect of chronic alcohol consumption on myocardial apoptosis in the rat model of isoproterenol-induced myocardial injury and investigation on the cardioprotective role of calpain inhibitor 1 [J]. *Drug Chem Toxicol*, 2021, 45(6): 2727-2738.

(收稿日期:2023-05-29;修回日期:2024-09-03;编辑:刘灵敏)