

与之结合,实现运输小泡向卸载)同时调控胰岛素刺激下的 GLUT4 细胞膜转位和脂联素分泌^[12]。GLUT4 囊泡和脂联素分泌泡从高尔基体运输到内涵体并最终转位到细胞膜或者分泌到细胞外的过程均需要马达蛋白 KIF5B 的参与^[13]。这一系列研究结果表明脂肪细胞极有可能采取类似的调控机制,甚至是相同的胞内运输途径和分子机制来同时调控 GLUT4 细胞膜转位和脂联素分泌,从而最大效应地响应细胞外胰岛素信号。

参考文献

- 1 Assimacopoulos - Jeannet F, Cusin I, Greco - Perotto RM, *et al.* Glucose transporters: structure, function, and regulation [J]. *Biochimie*, 1991, 73 (1):67 - 70
- 2 Abel ED, Peroni O, Kim JK, *et al.* Adipose - selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver [J]. *Nature*, 2001, 409 (6821):729 - 733
- 3 Scherer PE, Williams S, Fogliano, *et al.* A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270 (45):26746 - 26749
- 4 Arita Y, Kihara S, Ouchi N, *et al.* Paradoxical decrease of an adipose - specific protein, adiponectin, in obesity [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 257 (1):79 - 83
- 5 Pajvani UB, Scherer PE. Adiponectin: systemic contributor to insulin sensitivity [J]. *Curr Diab Rep*, 2003, 3 (3):207 - 213

- 6 Bogan JS, Lodish HF. Two compartments for insulin - stimulated exocytosis in 3T3 - L1 adipocytes defined by endogenous ACRP30 and GLUT4 [J]. *J Cell Biol*, 1999, 146 (3):609 - 620
- 7 Rea S, James DE. Moving GLUT4: the biogenesis and trafficking of GLUT4 storage vesicles [J]. *Diabetes*, 1997, 46 (11):1667 - 1677
- 8 Watson RT, Khan AH, Furukawa M, *et al.* Entry of newly synthesized GLUT4 into the insulin - responsive storage compartment is GGA dependent [J]. *EMBO J*, 2004, 23 (10):2059 - 2070
- 9 Xie L, Boyle D, Sanford D, *et al.* Intracellular trafficking and secretion of adiponectin is dependent on GGA - coated vesicles [J]. *J Bio Chem*, 2006, 281 (11):7253 - 7259
- 10 Xie L, O'Reilly CP, Chapes SK, *et al.* Adiponectin and leptin are secreted through distinct trafficking pathways in adipocytes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1782 (2):99 - 108
- 11 Bryant NJ, Govers R, James DE. Regulated transport of the glucose transporter GLUT4 [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3 (4):267 - 277
- 12 Bose A, Guilherme A, Huang S. The v - SNARE Vti1a regulates insulin - stimulated glucose transport and Acrp30 secretion in 3T3 - L1 adipocytes [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280 (44):36946 - 36951
- 13 Cui J, Pang J, Lin YJ, *et al.* Conventional kinesin KIF5B mediates adiponectin secretion in 3T3 - L1 adipocytes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 476 (4):620 - 626

(收稿日期:2016 - 07 - 14)

(修回日期:2016 - 07 - 14)

心肌线粒体改变对 1 型糖尿病小鼠心脏结构与功能的影响

陈 翠 孟哲颖 郑元义 胡 兵 申 镔

摘 要 目的 探讨心肌线粒体改变对 1 型糖尿病小鼠心脏结构与功能的影响。**方法** 20 只 8 周龄雄性 C57/BL6J 小鼠随机分为对照组 ($n = 10$), 1 型糖尿病组 ($n = 10$)。单次腹腔注射 STZ (150mg/kg) 建立 1 型糖尿病动物模型, 实验到达终点时采用小动物用高分辨超声仪观察小鼠心脏结构, 测量心脏功能; 光镜下观察心肌细胞形态改变, 透射电镜下观察心肌细胞线粒体变化, Western blot 法检测线粒体相关蛋白 TFAM 及 PGC - 1 α 。原代培养 C57BL/6J 乳鼠心肌细胞, 观察在不同糖浓度 (5mmol/L、33mmol/L) 中培养 48h 后心肌细胞的形态学变化, 透射电镜下观察心肌细胞线粒体的改变, Western blot 法检测线粒体相关蛋白 TFAM 及 PGC - 1 α 。**结果** 与正常组小鼠相比, 1 型糖尿病组小鼠心肌线粒体排列不规则, 肿胀, 脊脱落溶解, 线粒体相关蛋白 TFAM 及 PGC - 1 α 表达减低 ($P < 0.05$), 1 型糖尿病小鼠心脏肥大, 室壁增厚, 心功能减低。与正常糖浓度培养组相比, 高糖培养组线粒体肿胀、脊断裂溶解, 线粒体相关蛋白 TFAM 及 PGC - 1 α 表达减低 ($P < 0.05$), 心肌细胞肥大显著, 形态欠规则。**结论** 心肌线粒体结构与功能的改变与 1 型糖尿病小鼠心脏结构与功能改变有关。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (面上项目) (81270208)

作者单位: 200233 上海交通大学附属第六人民医院超声医学科 (陈翠、孟哲颖、郑元义、胡兵); 200233 上海超声医学研究所 (胡兵、申镔); 200336 上海交通大学附属同仁医院 (申镔)

通讯作者: 申镔, 电子信箱: shenel26@126.com

关键词 1 型糖尿病 心脏功能 心脏结构 心肌线粒体

中图分类号 R3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.03.007

Myocardial Mitochondria on Heart Structure and Function of Type I Diabetic Mice. Chen Cui, Meng Zheyang, Zheng Yuanyi, et al.
Department of Ultrasound in Medicine, Shanghai Jiaotong University Affiliated No. 6 Hospital, Shanghai 200233, China

Abstract Objective To investigate the effect of mitochondrial changes on cardiac structure and function in type 1 diabetic mice.

Methods ① Mice experiment: twenty 8 weeks old female C57/BL6J mice were randomly divided into two groups. Ten mice received STZ treatment to induce type 1 diabetes, and the other ten untreated mice served as control group. Cardiac function was analyzed by echocardiography, Cardiomyocyte morphological changes were observed by HE staining. Mitochondrial changes were examined by transmission electron microscope. The expression of TFAM, PGC-1 α of myocardium were detected by Western blot. ② Cell experiment: neonatal mice cardiomyocytes were cultured with glucose in different concentrations (5mmol/L, 33mmol/L) for 48h. Cardiomyocyte morphological changes were observed by HE staining. Mitochondrial changes were examined by transmission electron microscope. The expression of TFAM, PGC-1 α of myocardium were detected by Western blot. **Results** ① Cardiac function of Type I DM mice decreased while LVHW/BW, IVSD, LVPWD increased. Mitochondria swelled with ruptured cristae. Expression of TFAM, PGC-1 α of myocardium decreased. ② High glucose cultured cardiomyocytes showed hypertrophy and swollen mitochondria with ruptured cristae, expression of TFAM, PGC-1 α of myocardium decreased. **Conclusion** Changes of Myocardial mitochondria relate to heart structure and function of type I diabetic mice.

Key words Type I diabetes; Cardiac function; Cardiac structure; Mitochondria

糖尿病是主要的慢性疾病之一,据 2011 年 1 项研究表明,预计到 2030 年中国成年人患糖尿病人数将达到约 1.3 亿,以约 208 万每年的速率递增^[1]。糖尿病患者的主要致死及致残的原因是心血管疾病^[2]。心脏线粒体在多个重要的生理病理功能起重要作用,例如产生能量,维持细胞内钙稳态,调节细胞及线粒体凋亡,产生 ROS,调节细胞内氧化应激,体温,自噬及细胞内信号转导^[3]。心脏线粒体异常/功能失调参与糖尿病心肌病病理过程的证据逐渐增加^[4]。本研究在动物水平用 STZ 诱导小鼠形成 1 型糖尿病模型,继而观察小鼠心脏功能与结构,心肌线粒体的功能与结构;在细胞水平用高糖培养小鼠心肌细胞,观察心肌细胞形态变化,线粒体形态及功能变化。

材料与方法

1. 实验材料:(1)动物:SPF 级 C57BL/6J 雄鼠 20 只,鼠龄 5~6 周,体重 18~20g,SPF 级 C57BL/6J 乳鼠(24h 内)10 只,由中国科学院上海实验动物中心提供,实验动物生产许可证号:SCXK(沪)2007-0005,实验动物使用许可证号:SYXK(沪)2006-0010。(2)试剂与仪器:Onetouch II 血糖仪(美国强生公司);链脲佐菌素(Streptozotocin,STZ,美国 Sigma 公司);倒置显微镜(日本 Olympus 公司);CO₂ 细胞培养箱(美国 Thermo 公司);超低温冰箱(中国青岛海尔公司);-80℃冰箱(日本三洋公司);HH·W21·600S 电热恒温水箱(美国 Corning 公司);微量移液器(美国 Eppendorf 公司);透射电镜(日本

1200Ex 公司),小动物用高分辨超声仪(Vevo2100,加拿大 VisualSonics 公司);TFAM 抗体及 PGC-1 α 抗体(Cell signaling),BCA 蛋白浓度测定试剂盒(中国碧云天公司),生物素标记的 II 抗、ECL 化学发光试剂盒(上海钰森公司)。

2. 实验分组:(1)随机将小鼠分为对照组和链脲佐菌素(STZ)诱导组,每组 10 只。8 周时以 150mg/kg 的剂量一次性腹腔注射 STZ 诱导形成 1 型糖尿病小鼠模型,48h 后经鼠尾静脉采血,血糖>16.7mmol/L 为成模。(2)用碘伏浸泡乳鼠 5min 后移入超净台,酒精消毒,迅速取心脏剪成约 0.5mm×0.5mm×0.5mm 的组织块,经预冷的 PBS 冲洗 3 遍后转移入 50ml 试管中,加入约 30ml 0.05% 的胶原酶 II 和 0.125% 的胰蛋白酶,37℃ 水浴,吸管吹打消化 5min,重复该过程 3 次,收集每次消化后的上清液,加入与上清液体积相等的含 5% 新生牛血清的 DMEM/F-12 培养基。123×g 离心 10min,移除上清液,用含 20% 的完全培养基吹打沉淀细胞,预接种于培养皿,在 37℃、5% CO₂ 饱和湿度下培养 85min,将培养基转移至经明胶处理过的 12 孔板,培养于 CO₂ 培养箱中。原代培养后的细胞分两组不同浓度葡萄糖中培养 48h,对照组为 5mmol/L,高剂量组为 33mmol/L。

3. 超声心动图测量心脏功能:STZ 诱导 1 型糖尿病成模后 8 周,使用小动物高分辨率超声仪检测小鼠心脏功能:以 0.1ml/20g 的剂量腹腔注射 1.5% 戊巴比妥钠,固定小鼠于 37℃ 的恒温垫上,将小鼠四肢末端用 4 个电极连接。获取胸骨旁长轴切面 M 型超声

图像,测量室间隔舒张期厚度(IVSD),左心室后壁舒张期厚度(LVPWD),左心室舒张末期内径(LVIDD),左心室收缩末期内径(LVIDS),将3个持续心动周期的平均值保留为原始数据,软件自动测算左心室射血分数(ejection fraction, EF),左心室短轴缩短率(fractional shortening, Fs)。

4. 光镜下观察小鼠心肌细胞:小鼠左心室心肌组织用10%中性甲醛固定液固定,经脱水、清洗、石蜡包埋后制成切片,HE染色后于光镜下进行观测、摄片。体外细胞模型:将培养的细胞用胰酶消化后,取心肌细胞涂片,用95%乙醇固定,常规HE染色,光镜下观察细胞形态。

5. 透射电镜下观察小鼠心肌细胞:将左心室心肌组织切成大小约1mm³的组织块,放入3%戊二醛固定液中固定2h,1%锇酸固定2h,逐级乙醇、丙酮脱水,环氧树脂包埋,超薄切片,铀铅双重染色后在透射电镜下观察心肌超微结构。体外细胞模型:吸去培养基后以2.5%戊二醛4℃固定15min,离心(2000r/min,10min)收集细胞,2.5%戊二醛、1%锇酸固定。常规脱水、包埋,超薄切片,铀铅双染后于透射电镜下观察并摄片。

6. 抽提心肌组织总蛋白:用BCA蛋白检测试剂盒检测蛋白浓度并将蛋白样品标化,上样量为30μg总蛋白/泳道,10%SDS-PAGE电泳,湿转至PVDF膜,0.1%TBS-T洗膜后用5%脱脂奶粉封闭。分别加入单克隆兔抗TFAM I抗和PGC-1α I抗(浓度为1:1000)4℃摇床孵育过夜。洗膜后加入羊抗兔II抗(浓度1:5000)。按ECL增强发光试剂盒说明书曝

光,胶片扫描结合图像分析软件测量蛋白印记灰度值。

7. 统计学方法:应用SPSS 21.0统计软件包完成数据处理,并采用GraphPad Prism 6绘图软件绘制图形。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用t检验。以P<0.05为差异有统计学意义。

结 果

1. 小鼠实验结果:(1)各组小鼠体重及血糖变化:STZ注射48h后正常对照组与1型糖尿病组小鼠血糖差异有统计学意义(P<0.05),表明1型糖尿病小鼠造模成功,1型糖尿病组小鼠到达实验终点血糖升高,与成模时血糖差异有统计学意义(P<0.05,表1);实验终点DM组小鼠体重较实验终点正常对照组以及成模时正常对照组明显下降。EF、FS是反映心脏收缩功能变化的重要参数,1型糖尿病组小鼠EF及FS明显降低;与正常组小鼠相比,1型糖尿病组小鼠LVHW/BW、IVSD、LVPWD增高,差异有统计学意义(P<0.05),反映1型糖尿病组小鼠左心室质量增加,室壁增厚(表2、图1)。(2)小鼠心肌细胞HE染色显示:与对照组相比,1型糖尿病小鼠心肌细胞肥大,排列不整齐,细胞核增大、深染(图2)。(3)小鼠心肌线粒体改变:电镜结果显示正常对照组呈现线粒体呈圆形或椭圆形,基质浓密、嵴丰富完整;1型DM小鼠心肌线粒体排列聚集紊乱,形态异常,线粒体肿胀,嵴溶解或消失(图3)。(4)小鼠心肌细胞线粒体相关蛋白表达:与正常对照组比较,DM组小鼠心肌细胞TFAM及PGC-1α表达量下降,差异有统计学意义(图4)。

表 1 各组小鼠体重及血糖变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	STZ 注射 48h		实验终点	
	体重(g)	血糖(mmol/L)	体重(g)	血糖(mmol/L)
正常对照组	22.60 ± 0.98	9.10 ± 1.35 *	28.57 ± 1.85 #	9.77 ± 0.55
1 型糖尿病组	23.73 ± 3.01 #	20.1 ± 2.20	21.40 ± 0.82	24.17 ± 4.73 *

与 STZ 注射 48h 1 型糖尿病组相比, * P < 0.05; 与实验终点 1 型糖尿病组相比, # P < 0.05

表 2 小鼠左心室重量指数、舒张期室间隔厚度、舒张期左心室后壁厚度及心脏功能变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	正常对照组	1 型糖尿病组
心率(r/min)	487 ± 51	435 ± 32
IVSD(mm)	0.75 ± 0.08	1.04 ± 0.04 *
LVPWD(mm)	0.77 ± 0.08	1.14 ± 0.17 *
LVHW/BW(mg/g)	3.71 ± 0.06	4.76 ± 0.15 *
EF(%)	91.64 ± 2.02	57.53 ± 4.13 *
FS(%)	63.97 ± 5.58	41.74 ± 2.76 *

与正常对照组相比, * P < 0.05

2. 细胞实验结果:(1)心肌细胞形态改变:正常糖浓度培养组心肌细胞形态规则,呈多角形或梭形,细胞伪足相互接触,高糖培养组细胞体积增大,形态欠规则,细胞核增大(图5)。(2)心肌细胞线粒体形态改变:正常对照组心肌细胞线粒体排列规则,呈圆形或椭圆形,基质浓密、嵴丰富完整。高糖组心肌细胞线粒体排列聚集紊乱,肿胀,形态欠规则,脊脱落溶解或消失,部分见空泡(图6)。(3)心肌细胞线粒体

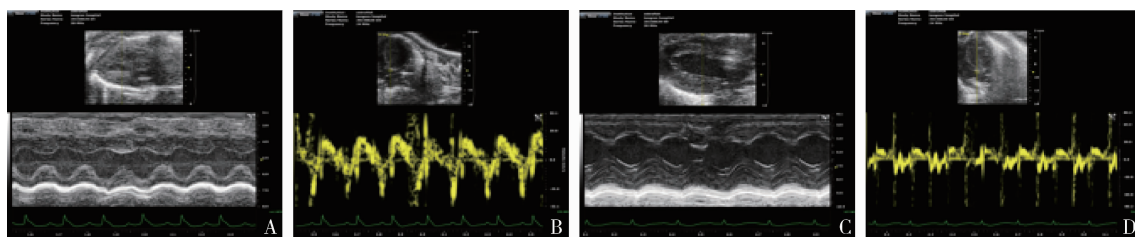


图 1 小鼠心脏超声表现

A. 正常对照组 M 型超声心动图; B. 正常对照组频谱多普勒; C. 1 型糖尿病组 M 型超声心动图; D. 1 型糖尿病组频谱多普勒

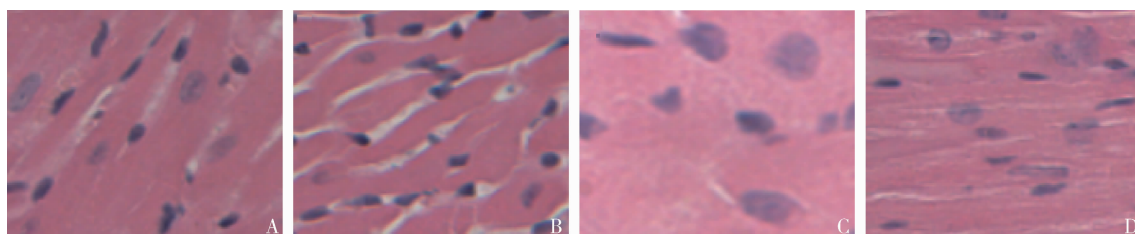


图 2 小鼠心肌细胞 HE 染色 (×400)

A、B. 正常对照组; C、D. 1 型糖尿病组

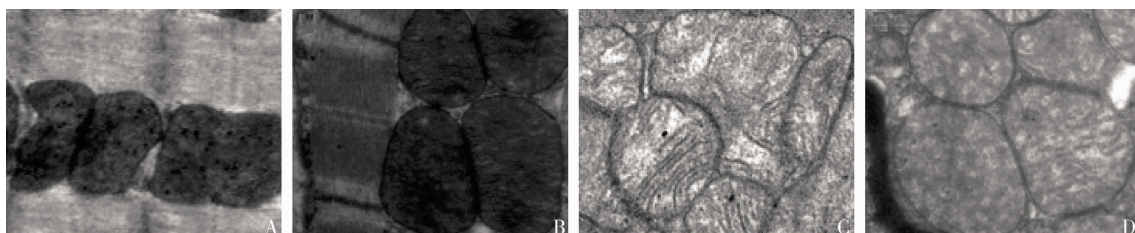


图 3 小鼠心肌细胞超微结构表现 (×17500)

A、B. 正常对照组; C、D. 1 型糖尿病组

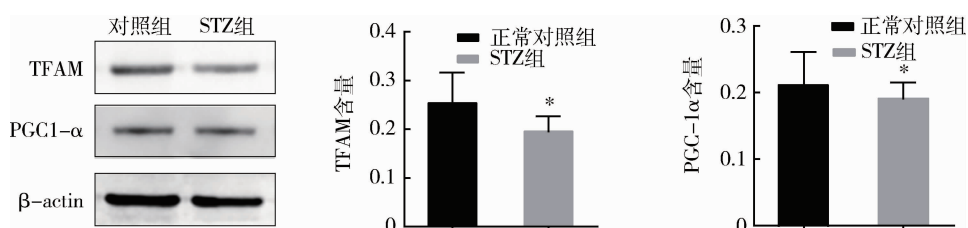


图 4 小鼠线粒体相关蛋白 TFAM, PGC-1α 表达

与正常对照组相比, * $P < 0.05$

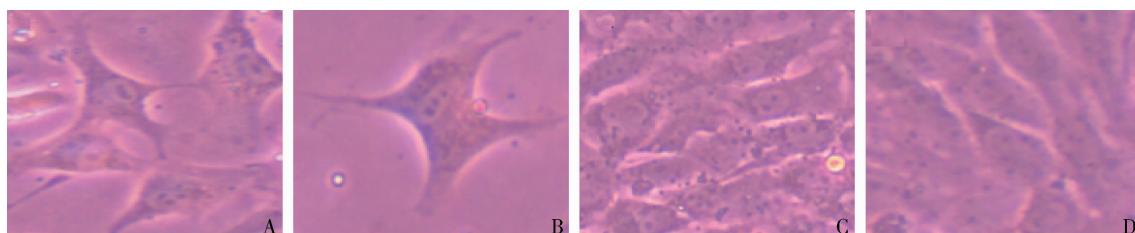


图 5 小鼠心肌细胞 HE 染色 (×400)

A、B. 正常对照组; C、D. 高糖培养组

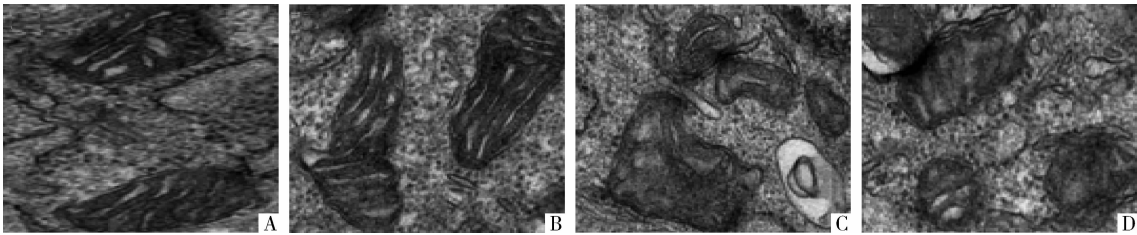


图 6 小鼠心肌细胞线粒体结构表现 (×30000)
A、B. 正常对照组;C、D. 高糖培养组

相关蛋白表达:与正常对照组比较,DM 组小鼠心肌细胞 TFAM 及 PGC-1α 表达量下降,差异有统计学

意义($P < 0.05$) (图 7)。

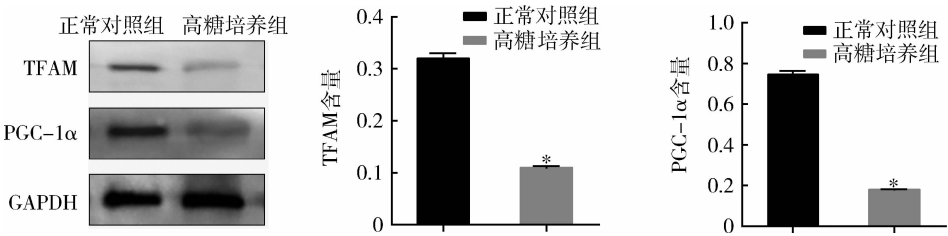


图 7 小鼠线粒体相关蛋白 TFAM,PGC-1α 表达
与正常对照组相比,* $P < 0.05$

讨 论

糖尿病心肌病是 Rubler 等由提出,是独立于心外膜心血管疾病,高血压,明显的瓣膜性疾病之外的心肌功能及结构异常,早期左心室松弛缓慢,僵硬增加,引起舒张功能障碍,收缩功能储备下降,晚期主要表现为收缩功能不全^[5,6]。线粒体是细胞能量代谢的加工厂,其主要功能就是将糖、脂肪、蛋白质等三大物质在代谢过程脱下的氢通过线粒体呼吸链的电子传递,并经氧化一磷酸化生成 ATP,为机体提供能量;细胞中 90% ATP 来源于线粒体。心脏是机体能量消耗较大的组织之一,持续稳定的能量(ATP)产生是维持心脏正常功能的物质基础^[7]。TFAM 是核基因编码的线粒体核心转录调控因子,是线粒体呼吸链编码基因转录及复制过程中的重要调控子。TFAM 是目前研究较深入、功能较明确的调控线粒体基因复制、转录与表达的因子之一,通过与 mtDNA (mitochondrial DNA,线粒体 DNA)上特定的序列识别并结合,可促进 mtDNA 复制及其编码基因转录,对保证线粒体呼吸链功能完整性、损伤修复、自我复制及抗氧化应激等具有重要作用^[8]。

PGC-1α 含有 798 个氨基酸,是能与核受体过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARγ) 共同作用的蛋白分子^[9]。PGC-1α 可能是线粒体生成的关键调

控因子,直接调控生物刺激调控线粒体的合成和表达^[10,11]。乳鼠高表达 PGC-1α 引起线粒体数量及体积明显增加,在成年鼠则引起线粒体增殖紊乱,干扰线粒体超微结构,引发心肌疾病^[12]。为了解线粒体改变对心脏结构及功能的影响,本研究观察了 STZ 诱导的 1 型糖尿病小鼠的心脏功能与结构,心肌细胞形态改变,线粒体超微结构改变及线粒体相关蛋白表达,结果显示:与正常组小鼠比较,1 型糖尿病小鼠的心脏功能减低,心脏肥厚,重量增加,心肌细胞肥大,线粒体排列紊乱,肿胀,脊断裂、溶解、脱落,线粒体相关蛋白 TFAM 及 PGC-1α 表达量降低。表明线粒体结构及功能改变与心脏结构与功能有相关性,为验证该结论,我们进一步在细胞水平观察了正常组及高糖培养的心肌细胞形态表现,线粒体超微结构及线粒体相关蛋白表达,结果显示,正常葡萄糖浓度培养组细胞相比,高糖培养心肌细胞形态欠规则、肥大、细胞核增大、线粒体排列聚集紊乱、肿胀、形态欠规则、脊脱落溶解或消失,部分见空泡,线粒体相关蛋白 TFAM 及 PGC-1α 表达量降低,该结果与在小鼠实验中的观察结果一致。

心肌细胞较其他肌细胞的线粒体含量更丰富,约占 40% 心肌细胞总体积,心肌细胞中线粒体数量及其功能结构的多少对于运动心脏的代谢和功能至关

重要^[12,13]。本研究结合动物水平及细胞水平的观察结果,表明1型糖尿病小鼠线粒体改变对心脏结构及功能产生影响,线粒体结构紊乱,线粒体相关蛋白表达量降低会引起心脏肥大,室壁增厚,心功能减低。

参考文献

- Whiting DR, Guariguata L, Weil C, *et al.* IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030[J]. *Diabetes Res Clin Prac*, 2011, 94(3):311-321
- Beckman JA, Creager MA, Libby P. Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management[J]. *JAMA* 2002;287(19):2570-2581
- Yilmaz S, Canpolat U, Aydogdu S, *et al.* Diabetic cardiomyopathy; summary of 41 years[J]. *Korean Circ J*, 2015, 45(4):266-272
- Dobrin JS, Lebeche D. Diabetic cardiomyopathy: signaling defects and therapeutic approaches[J]. *Exp Revi Cardiovas Ther*, 2010, 8(3):373-391
- Rubler S, Dlugash J, Yuceoglu YZ, *et al.* New type of cardiomyopathy associated with diabetic glomerulosclerosis[J]. *Am J Cardiol*, 1972, 30(6):595-602
- Patel SK, Wai B, Macisaac RJ, *et al.* The CTGF gene - 945 G/C

- polymorphism is not associated with cardiac or kidney complications in subjects with type 2 diabetes[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2012, 11:42
- 熊燕, 方伟进. 线粒体功能障碍在糖尿病及其心肌病中的作用[J]. *中国医师杂志*, 2014, 16(10):1297-1302
- Kang D, Kim SH, Hamasaki N. Mitochondrial transcription factor A (TFAM): roles in maintenance of mtDNA and cellular functions[J]. *Mitochondrion*, 2007, 7(1-2):39-44
- Lin J, Handschin C, Spiegelman BM. Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators[J]. *Cell Metab*, 2005, 1(6):361-370
- Sebastiani M, Giordano C, Nediani C, *et al.* Induction of mitochondrial biogenesis is a maladaptive mechanism in mitochondrial cardiomyopathies[J]. *J Am College Cardiol*, 2007, 50(14):1362-1369
- Brown DA, O'Rourke B. Cardiac mitochondria and arrhythmias[J]. *Cardiovas Res*, 2010, 88(2):241-249
- 郭茜, 郭家彬, 李梨, 等. PGC-1 α 与线粒体生成调控在心血管疾病中的作用[J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(1):1-5
- 王莹, 常芸. 力竭运动后不同时相大鼠心肌线粒体转录因子A的变化[J]. *中国运动医学杂志*, 2009, 28(1):32-35

(收稿日期:2016-09-03)

(修回日期:2016-09-19)

KDM3A 加重高胰岛素诱导的血管平滑肌细胞损伤

张博方 郭鑫 陈静 江洪

摘要 目的 探究组蛋白去甲基化酶 KDM3A 对高胰岛素条件下平滑肌细胞增殖、迁移功能以及炎症状态的影响。方法从 SD 大鼠胸主动脉分离原代血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs), 之后将 VSMCs 随机分为 3 组: ① 正常培养基 + 对照组干扰 siRNA 组; ② 高胰岛素刺激 + KDM3A 特异 siRNA 组; ③ 高胰岛素刺激 + 对照组干扰 siRNA 组。分别用 CCK-8、Transwell 检测细胞的增殖和迁移。RT-PCR 检测白介素 6 (IL-6)、单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) 的 mRNA 的表达水平。蛋白免疫印记法检测 KDM3A 的表达。**结果** 高胰岛素刺激可以显著促进 VSMCs 的增殖和迁移, 同时上调 KDM3A 的表达, 并提高 IL-6 及 MCP-1 的 mRNA 水平。然而, 使用 siRNA 下调 KDM3A 的表达可以显著减少高胰岛素诱导的 VSMCs 的增殖、迁移及炎症因子的表达。**结论** KDM3A 加重高胰岛素诱导的血管平滑肌细胞的损伤。

关键词 KDM3A 平滑肌细胞 胰岛素

中图分类号 R541.4

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.03.008

Histone Demethylase KDM3A Aggravates Proliferation, Migration and the Expression of Inflammatory Cytokine of Vascular Smooth Muscle Cells Induced by High Concentrate Insulin. Zhang Bofang, Guo Xin, Chen Jing, *et al.* Department of Cardiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei 430060, China

Abstract Objective To explore the effect of KDM3A on the proliferation, migration and inflammation state of VSMCs under the circumstance of high concentrate insulin. **Methods** Primary VSMCs were isolated from thoracic aorta of Sprague-Dawley rats. VSMCs

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81570331)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院心内科、武汉大学心血管病研究所、心血管病湖北省重点实验室

通讯作者: 江洪, 电子信箱: hong-jiang@whu.edu.cn