

虫草素对老年大鼠心脏功能的保护作用及其机制

何佛容 陈 驰 潘媛媛 邓胜男 施 勇 陶雪飞

摘要 目的 探讨虫草素(Cor)对老年大鼠心脏功能的保护作用及其机制。方法 将老年大鼠分为老年模型组、Cor给药组(Cor 5、10、20 mg/kg),另设青年大鼠作为对照组。超声心动图检测心率(HR)、左心室射血分数(LVEF)、短轴收缩率(FS)水平;ELISA法检测肌酸激酶同工酶(CK-Mb)、肌红蛋白(Mb)、肌钙蛋白I(cTnI)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、乳酸脱氢酶(LDH)水平;HE染色观察心脏组织病理形态;TUNEL染色观察心肌细胞凋亡;Western blot检测半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶9(Caspase 9)、裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶9(cleaved Caspase 9)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3(Caspase 3)、裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3(cleaved Caspase 3)、核因子E2相关因子2(Nrf2)、磷酸化核因子E2相关因子2(p-Nrf2)、醌氧化还原酶1(NQO1)、血红素加氧酶1(HO-1)蛋白表达。结果 与老年模型组相比,Cor各剂量组HR、LVEF、FS升高,CK-Mb、Mb、cTnI水平降低,MDA、LDH含量降低,SOD活性升高,cleaved Caspase 9/Caspase 9、cleaved Caspase 3/Caspase 3表达降低,Nrf2、NQO1、HO-1表达升高,Cor各剂量组心脏组织病理形态有所改善且心肌细胞凋亡状态有所缓解。结论 Cor能够改善老年大鼠心脏功能,缓解氧化应激反应,抑制心肌细胞凋亡,对大鼠心脏组织损伤具有一定的保护作用,其机制可能与促进Nrf2/HO-1通路相关蛋白表达有关。

关键词 虫草素;心脏功能;Nrf2/HO-1通路;醌氧化还原酶1

中图分类号 R 363

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2022)04-0523-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.04.004

衰老是心血管疾病的危险因素之一^[1]。心脏衰老的主要特征是舒张功能障碍、收缩力下降、脂质积聚、氧化应激、成纤维细胞的分泌异常、自噬减少和蛋白激酶途径信号的改变^[2]。此外,衰老引起心房、心室、心肌等结构改变,导致心脏传导系统、血管系统的功能障碍^[3],严重威胁人们的健康。随着世

界老年人口的增加,寻找缓解心脏老化、保护心脏功能的方法具有重要意义。

虫草素(cordycepin, Cor)是德国科学家 Cunningham et al^[4]从蛹虫草中提取的核苷类抗生素,具有抗氧化、抗衰老、抗菌、抗炎、抗癌等广泛药理活性^[5]。Cor在营养保健和临床治疗方面具有巨大的潜力及研究价值。其中,Cor通过激活Akt/GSK-3 β /p70S6K信号通路和HO-1表达,缓解大鼠心脏缺血/再灌注损伤^[6],但未见Cor在心脏衰老方面的报道。该研究探讨Cor对老年大鼠心脏功能的保护作用及其机制,以期为临床治疗提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物 50只雄性SPF级SD大鼠,其中10只3月龄大鼠作为青年对照组,体质量(280 \pm 35.3)g,40只20~22月龄大鼠作为老年组,体质量(685 \pm 52.6)g,适应性饲养1周后,随机分组。所有大鼠购自北京维通利华实验动物有限公司,生产许可证号:SCXK(京)2016-0011。动物实验遵循3R原则,给予动物人道关怀。

1.2 药物与试剂 Cor购自上海源叶生物(货号B20196);肌钙蛋白I(cardiac troponin I, cTnI)、肌酸激酶同工酶(creatine kinase MB, CK-MB)、肌红蛋白(myohemoglobin, Mb)试剂盒购自上海晶抗生物工程有限公司(货号:JLC6968、JLC662、JLC6960);超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司(货号:ml076328、ml077384、ml076593);TUNEL细胞凋亡检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司(货号:T2190);裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶9(cleaved cysteine aspartic protease 9, cleaved Caspase 9)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶9(cysteine aspartic protease 9, Caspase-9)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3(cysteine aspartic protease 3, Caspase-3)等相关抗体购自上海艾博抗贸易有限公司;核因子E2相关因子2(nuclear factor E2 related factor 2, Nrf2)、醌氧化还原酶1(quinone oxidoreductase 1, NQO1)、血红素

2022-03-08 接收

基金项目:四川省科技厅重点研发项目(编号:2018SZ0059)

作者单位:四川省医学科学院,四川省人民医院老年医学科,成都 610072

作者简介:何佛容,女,本科;

陶雪飞,女,博士,主治医师,责任作者, E-mail: xuefei_tao@126.com

加氧酶 1 (heme oxygenase 1, HO-1) 等相关抗体以及辣根过氧化物酶标记的二抗购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司; RIPA 裂解液购自北京普利莱基因技术有限公司(货号: C1053-500); 二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA) 蛋白定量检测试剂盒购自上海炎熙生物科技有限公司(货号: PD-BCA-500); 4% 多聚甲醛、二甲苯、乙醇、苏木精-伊红溶液购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司(货号: C104190、X139941、E111994、E196384)。

1.3 主要仪器 SA703 小动物雾化给药仪购自江苏赛昂斯生物科技有限公司; MR-96T 酶标仪购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司; EG1150 石蜡包埋机购自德国莱卡 Leica 公司; S700A 旋转式石蜡切片机购自深圳瑞沃德生命技术有限公司; ZX-S24 恒温水浴锅购自上海知信实验仪器技术有限公司; XSP-8CA 显微镜购自上海光学仪器厂; P6-VET 实验动物超声诊断仪购自江苏大为医疗有限公司。

1.4 方法

1.4.1 动物分组与造模 参考文献^[7], 适应性饲养 1 周后, 将 10 只青年大鼠作为青年对照组; 将 40 只老年大鼠随机均分成 4 组, 分别为老年模型组、Cor 低剂量组、Cor 中剂量组、Cor 高剂量组。各给药组分别灌胃 5、10、20 mg/kg Cor, 老年组与青年组灌胃等量的生理盐水 1 次/d, 共 4 周。各组大鼠室温饲养, 正常自由饮水进食。末次给药后麻醉, 进行超声心动图检测, 腹主动脉取血后处死, 解剖取心脏, 冷的生理盐水清洗后, 取部分用 4% 多聚甲醛固定, 剩余组织制备匀浆待用。

1.4.2 超声心动图检测大鼠心脏功能 各组大鼠吸入异氟烷雾化气体麻醉后, 对左前胸区域脱毛处理, 仰卧位固定于加热板上, 设置温度为 37 °C, 腹部朝上, 稍微向左倾斜, 实时监测心电图, 并进行超声检查。大鼠胸部涂耦合剂, 将超声诊断仪的探头放置在心脏胸骨左缘并移至乳头肌水平, 分别运用二维 B 型超声及 M 型超声, 显示并记录左室短轴切面及左心室运动曲线, 获得大鼠的心率 (heart rate, HR)、左心室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF)、短轴收缩率 (fractional shortening, FS) 指标数据。

1.4.3 ELISA 法检测血清中心脏功能损伤标志物水平和氧化应激标志物水平 取血后, 离心收集上清液。按照 cTnI、CK-MB、Mb、SOD、MDA、LDH 试剂盒说明书进行操作。将样品放入反应孔孵育 45 min 后洗涤。加入生物素标记的抗体反应 30 min, 显色

剂 15 min。加入终止液, 采用酶标仪进行检测。

1.4.4 HE 染色观察心脏组织病理形态 取出固定的组织, 修剪后进行脱水透明处理, 用梯度乙醇从低浓度到高浓度浸洗, 随后浸入二甲苯中, 10 min 后浸入蜡中。采用石蜡包埋机对浸蜡后的标本做进一步包埋, 冷却 1 h 后进行切片, 并平铺于 35 ~ 38 °C 的水面上, 使蜡片自然展平, 取出蜡片置于载玻片上, 用滤纸吸收多余的水分, 移至恒温箱中烘烤 15 ~ 20 min 进行脱蜡处理, 最后使用苏木精-伊红溶液进行染色, 使用显微镜观察并拍照分析。

1.4.5 TUNEL 染色观察心肌细胞凋亡情况 制作石蜡切片后进行脱蜡、水合、透明处理, 在标本上分别加入 TUNEL 反应混合液, 加入盖玻片反应 1 h, 随后用 PBS 溶液漂洗 3 次, 加入 DAB 底物反应 10 min 后漂洗 3 次。用显微镜观察凋亡细胞形态。

1.4.6 Western blot 检测心肌细胞中凋亡相关蛋白的表达 取制备的心脏组织匀浆液, 加入 RIPA 裂解液, 冰浴、离心后用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度, 煮沸变性后获取上样样本, 经 SDS-PAGE 分离、转膜、封闭后, 采用 cleaved Caspase 9、cleaved Caspase 3、Caspase 3、Nrf2、NQO1、HO-1 等相关一抗进行孵育, 4 °C 过夜, TBST 溶液洗涤 3 次后采用相关二抗进行孵育, 1.5 h 后加入发光液, 显色处理, 并统计灰度值, 计算相应蛋白表达量, 实验重复 3 次。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 20.0 软件进行数据分析, 多组间连续变量采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 检验比较, 数据结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Cor 对老年大鼠心脏功能的影响 与青年对照组相比, 老年模型组 HR、LVEF、FS 的水平降低 ($P < 0.05$), 与老年模型组相比, Cor 中、高剂量组 HR、LVEF、FS 的水平升高 ($P < 0.05$), 见表 1。提示 Cor 能够缓解心脏功能指标的降低, 在一定程度上改善心脏收缩、舒张功能。

2.2 Cor 对老年大鼠心脏功能损伤标志物水平的影响 cTnI、CK-MB、Mb 是心脏功能损伤标志物。与青年对照组相比, 老年模型组 CK-Mb、Mb、cTnI 的水平升高 ($P < 0.05$), 与老年模型组相比, Cor 中、高剂量组 CK-Mb、Mb、cTnI 的水平降低 ($P < 0.05$), 见表 2。提示 Cor 能够降低心脏功能损伤标志物水平。

2.3 Cor 对老年大鼠心脏组织病理学的影响 青



图1 Cor对老年大鼠心脏组织病理学的影响 ×400

A: 青年对照组; B: 老年模型组; C: Cor低剂量组; D: Cor中剂量组; E: Cor高剂量组

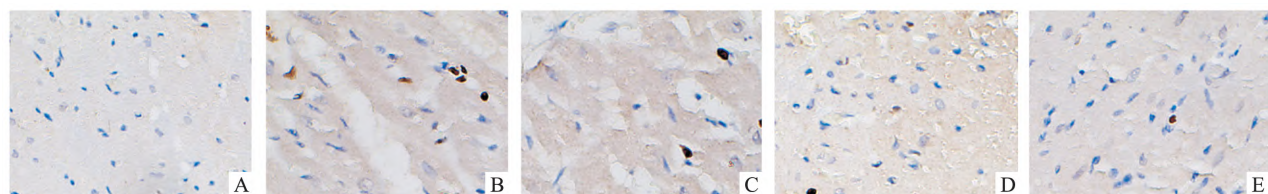


图2 Cor对老年大鼠心肌细胞凋亡的影响 ×200

A: 青年对照组; B: 老年模型组; C: Cor低剂量组; D: Cor中剂量组; E: Cor高剂量组

表1 Cor对老年大鼠心脏功能的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (mg/kg)	HR (beat/min)	LVEF (%)	FS (%)
青年对照	-	432.76 ± 25.54	59.37 ± 9.24	29.49 ± 4.22
老年模型	-	211.34 ± 32.54*	22.54 ± 5.65*	7.35 ± 1.87*
Cor低剂量	5	214.65 ± 29.66	23.67 ± 6.38	7.62 ± 2.63
Cor中剂量	10	286.21 ± 33.12 [#]	34.19 ± 8.41 [#]	16.46 ± 4.73 [#]
Cor高剂量	20	368.43 ± 37.04 [#]	45.14 ± 7.46 [#]	23.28 ± 3.17 [#]
F值		93.19	42.26	77.65
P值		<0.0001	<0.0001	<0.0001

与青年对照组比较: * $P < 0.05$; 与老年模型组比较: [#] $P < 0.05$

表2 Cor对老年大鼠心脏功能损伤标志物水平的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (mg/kg)	CK-Mb (U/L)	Mb (ng/ml)	cTnI (ng/ml)
青年对照	-	24.43 ± 4.12	26.18 ± 8.62	0.14 ± 0.03
老年模型	-	117.24 ± 18.63*	141.44 ± 14.36*	0.69 ± 0.05*
Cor低剂量	5	115.74 ± 21.18	139.61 ± 18.58	0.68 ± 0.09
Cor中剂量	10	86.48 ± 13.23 [#]	93.23 ± 11.73 [#]	0.44 ± 0.07 [#]
Cor高剂量	20	37.52 ± 8.27 [#]	47.94 ± 5.86 [#]	0.19 ± 0.06 [#]
F值		89.12	171.70	169.90
P值		<0.0001	<0.0001	<0.0001

与青年对照组比较: * $P < 0.05$; 与老年模型组比较: [#] $P < 0.05$

青年对照组大鼠心肌细胞排列整齐,结构清晰,细胞无肿胀、变性坏死;老年模型组心肌细胞排列疏松紊乱,有空泡样变性,部分心肌溶解坏死,肌纤维肥大断裂;Cor各给药组与老年模型组相比,细胞排列紊乱、肿胀、坏死,肌纤维自溶、断裂的现象减轻,见图1。提示Cor能够缓解组织结构的紊乱和病变,改善心肌细胞损伤。

2.4 Cor对老年大鼠心脏组织氧化应激指标的影响

与青年对照组相比,老年模型组MDA、LDH的含量升高,SOD的活性降低($P < 0.05$);与老年模型组相比,除Cor低剂量组差异无统计学意义外,Cor中、高剂量组MDA、LDH的含量降低,SOD的活性升高($P < 0.05$),见表3。提示Cor能够缓解心脏组织氧化应激反应。

表3 Cor对老年大鼠心脏组织氧化应激指标的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (mg/kg)	MDA (mmol/ml)	SOD (U/ml)	LDH (U/L)
青年对照	-	2.08 ± 0.38	5.34 ± 0.56	813.43 ± 137.58
老年模型	-	5.15 ± 0.53*	2.13 ± 0.41*	2254.21 ± 244.33*
Cor低剂量	5	5.08 ± 0.47	2.24 ± 0.28	2238.49 ± 212.66
Cor中剂量	10	3.87 ± 0.41 [#]	3.69 ± 0.32 [#]	1732.76 ± 165.66 [#]
Cor高剂量	20	2.54 ± 0.27 [#]	4.38 ± 0.49 [#]	1264.69 ± 152.35 [#]
F值		112.70	105.90	112.20
P值		<0.0001	<0.0001	<0.0001

与青年对照组比较: * $P < 0.05$; 与老年模型组比较: [#] $P < 0.05$

2.5 Cor对老年大鼠心肌细胞凋亡的影响

青年对照组正常心肌细胞核呈淡蓝色;老年模型组心肌细胞核偏褐色,染色质积聚成致密的团块,胞质有部分黄染,提示有大量凋亡细胞;与老年模型组相比,Cor各给药组细胞凋亡减少,见图2。提示Cor缓解老年大鼠心肌细胞的凋亡。

2.6 Cor对老年大鼠心肌细胞中凋亡相关蛋白表达的影响

与青年对照组相比,老年模型组cleaved Caspase 9/Caspase 9、cleaved Caspase 3/Caspase 3的表达升高($P < 0.05$);与老年模型组相比,除Cor低剂量组差异无统计学意义外,Cor中、高剂量组

cleaved Caspase 9/Caspase 9、cleaved Caspase 3/Caspase 3 的表达降低 ($P < 0.05$) ,见图 3。提示 Cor 能够抑制老年大鼠心肌细胞凋亡,缓解心脏功能损伤,与 2.5 项结果一致。

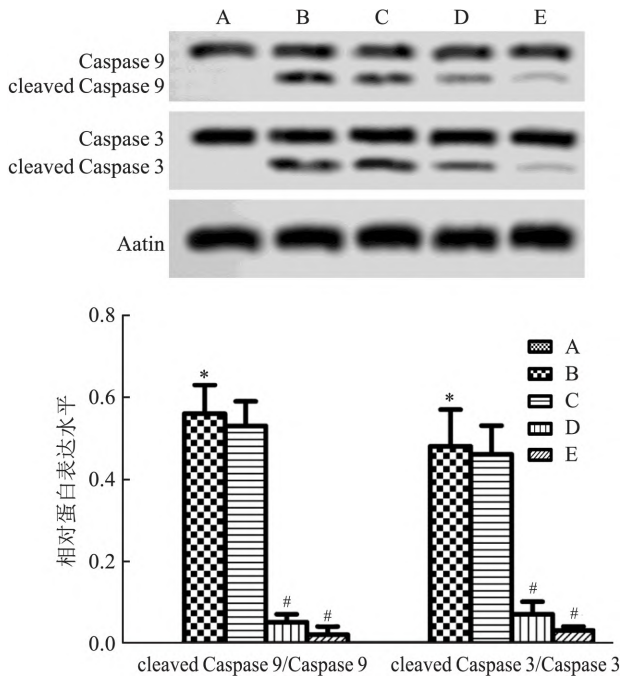


图 3 Cor 对老年大鼠心肌细胞凋亡相关蛋白表达的影响

A: 青年对照组; B: 老年模型组; C: Cor 低剂量组; D: Cor 中剂量组; E: Cor 高剂量组; 与青年对照组比较: * $P < 0.05$; 与老年模型组比较: # $P < 0.05$

2.7 Cor 对老年大鼠心肌细胞中 Nrf2/HO-1 通路相关蛋白表达的影响 与青年对照组相比,老年模型组 p-Nrf2/Nrf2、NQO1、HO-1 的表达降低 ($P < 0.05$) ;与老年模型组相比,Cor 中、高剂量组 p-Nrf2/Nrf2、NQO1、HO-1 的表达升高 ($P < 0.05$) ,见图 4。提示 Cor 对老年大鼠心脏功能具有保护作用,其机制可能与促进 Nrf2/HO-1 通路相关蛋白表达有关。

3 讨论

Cor 在治疗人类疾病中具有良好的药用潜力。其中,Cao et al^[8] 的研究显示,Cor 通过体内外自噬诱导对糖尿病肾病有良好的治疗效果; Han et al^[9] 的报道表明,Cor 通过调节炎症、凋亡和氧化应激作用缓解肾脏缺血损伤; Wang et al^[10] 的研究指出,Cor 通过激活 AMPK α 通路改善心肌肥厚程度。本研究结果显示,Cor 干预治疗后 HR、LVEF、FS 的水平升高;细胞排列紊乱、肿胀、坏死,肌纤维自溶、断裂的现象减轻; CK-Mb、Mb、cTnI 的水平降低。实验提

示,Cor 能够缓解心脏功能指标的降低,在一定程度上改善心脏收缩、舒张功能;能够降低心脏功能损伤标记物水平;能够缓解组织结构的紊乱和病变,改善心肌细胞损伤。

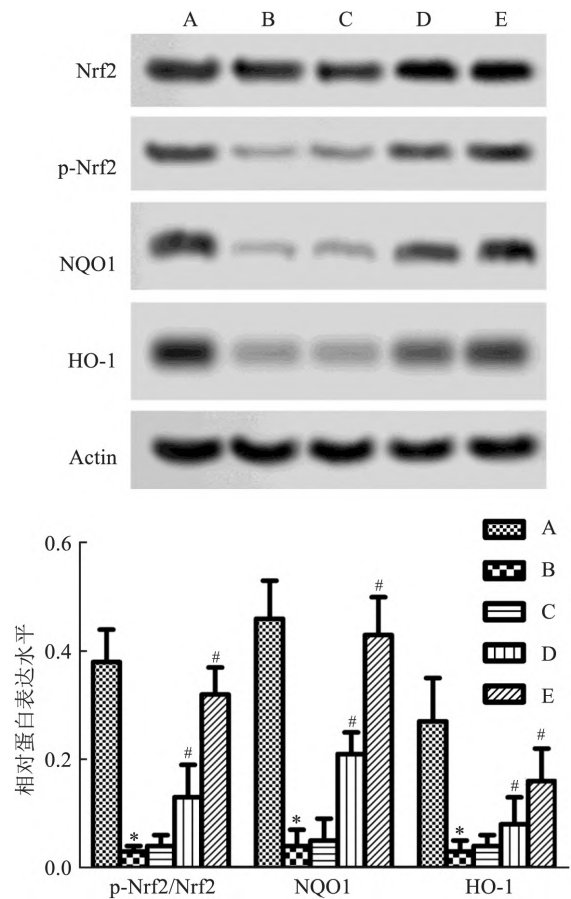


图 4 Cor 对老年大鼠心肌细胞 Nrf2/HO-1 通路相关蛋白表达的影响

A: 青年对照组; B: 老年模型组; C: Cor 低剂量组; D: Cor 中剂量组; E: Cor 高剂量组; 与青年对照组比较: * $P < 0.05$; 与老年模型组比较: # $P < 0.05$

细胞氧化应激会引起蛋白质损伤、脂质紊乱、DNA 突变等有害的生化反应。其中,SOD 在保护细胞免受氧自由基的毒害中发挥着重要作用,但随着年龄的增长,体内 SOD 的含量呈下降趋势,增长的自由基会破坏机体的平衡,使机体产生各种疾病^[11]。MDA 是脂质过氧化的产物,其含量反映组织过氧化的程度^[12]。LDH 主要存在于胞质内,不能通过细胞膜,当细胞受损或凋亡时才被释放,因此,LDH 水平与细胞凋亡程度成正相关。本研究结果显示,Cor 干预治疗后 MDA、LDH 的含量降低,SOD 的活性升高,提示 Cor 能够缓解心脏组织氧化应激反应。

细胞凋亡具有调控细胞衰老和程序性死亡的效

应,可及时清除机体内多余和受损伤的细胞,维持组织器官的稳定性。细胞凋亡主要由 Caspase 蛋白酶家族所调控,当细胞接收到刺激信息,促进凋亡小体的生成,通过自我剪切方式活化 Caspase 9, Caspase 9 进一步对下游 Caspase 3 进行活化。活化的 Caspase 3 可促使相关蛋白表达,cleaved Caspase 3 进一步破坏细胞骨架及管家基因的功能,影响正常细胞信号的传递、周期的调控,使细胞出现核凝结、核裂解等凋亡形态学上的改变。本研究结果显示,Cor 干预治疗后 cleaved Caspase 9/Caspase 9、cleaved Caspase 3/Caspase 3 的表达降低,提示 Cor 能够抑制老年大鼠心肌细胞凋亡,缓解心脏功能损伤。

Nrf2 是一种抗氧化转录因子,当机体受到不利刺激时,启动下游 HO-1、NQO1 及 SOD 等抗氧化基因的转录。HO-1 在体内具有抗氧化、细胞保护作用,可清除氧自由基,阻止脂质过氧化。Cor 通过 Nrf2/HO-1 途径缓解脂多糖诱导的急性肺损伤^[13];通过 Nrf2 和 AMPK 抑制细胞衰老,进而达到预防辐射溃疡的作用^[14];通过 Nrf2/HO-1/NF- κ B 通路发挥抗肝癌的作用^[15]。本研究结果显示,Cor 干预治疗后 p-Nrf2/Nrf2、NQO1、HO-1 的表达升高,提示 Cor 对老年大鼠心脏功能具有保护作用,其机制可能与促进 Nrf2/HO-1 通路相关蛋白表达有关。

综上所述,Cor 能够改善老年大鼠心脏功能,缓解氧化应激反应,抑制心肌细胞凋亡,对大鼠心脏组织损伤具有一定的保护作用,其机制可能与促进 Nrf2/HO-1 通路相关蛋白表达有关。

参考文献

- [1] Vidal R, Wagner J U G, Braeuning C, et al. Transcriptional heterogeneity of fibroblasts is a hallmark of the aging heart [J]. *JCI Insight*, 2019, 4(22): e131092.
- [2] Wen D T, Zheng L, Li J X, et al. The activation of cardiac *dSir2*-related pathways mediates physical exercise resistance to heart aging in old *Drosophila* [J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(17): 7274-93.
- [3] Obas V, Vasan R S. The aging heart [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2018, 132(13): 1367-82.
- [4] Cunningham K G, Manson W, Spring F S, et al. Cordycepin, a metabolic product isolated from cultures of *Cordyceps militaris* (linn.) link [J]. *Nature*, 1950, 166(4231): 949.
- [5] 朱兰省,王艳玲,刘爱群,等.虫草素抑制 pi3k 通路的活化诱导口腔鳞状细胞癌 scc9 细胞自噬性死亡 [J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(2): 221-7.
- [6] Park E S, Kang D H, Yang M K, et al. Cordycepin, 3'-deoxyadenosine, prevents rat hearts from ischemia/reperfusion injury via activation of Akt/GSK-3 β /p70S6K signaling pathway and HO-1 expression [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2014, 14(1): 1-9.
- [7] 张庆峰,吕霄芳.盐酸小檗碱对老年大鼠心肌细胞抗氧化及相关凋亡蛋白表达的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40(17): 3759-62.
- [8] Cao T, Xu R, Xu Y, et al. The protective effect of cordycepin on diabetic nephropathy through autophagy induction *in vivo* and *in vitro* [J]. *Int Urol Nephrol*, 2019, 51(10): 1883-92.
- [9] Han F, Dou M, Wang Y, et al. Cordycepin protects renal ischemia/reperfusion injury through regulating inflammation, apoptosis, and oxidative stress [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2020, 52(2): 125-32.
- [10] Wang H B, Duan M X, Xu M, et al. Cordycepin ameliorates cardiac hypertrophy via activating the AMPK α pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(8): 5715-27.
- [11] 崔勤涛,王俊华,刘晓晨,等.大黄素激活 nrf2/are/ho-1 信号通路对心肌缺血再灌注损伤大鼠心功能保护作用 [J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(6): 894-900.
- [12] 高迎春,孟盼盼,郭建魁,等.急性减压缺氧对大鼠氧化应激损伤的研究 [J]. *解放军医药杂志*, 2020, 32(4): 19-23.
- [13] Qing R, Huang Z, Tang Y, et al. Cordycepin alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via Nrf2/HO-1 pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 60: 18-25.
- [14] Wang Z, Chen Z, Jiang Z, et al. Cordycepin prevents radiation ulcer by inhibiting cell senescence via NRF2 and AMPK in rodents [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2538.
- [15] Zeng Y, Lian S, Li D, et al. Anti-hepatocarcinoma effect of cordycepin against n-dea-induced hepatocellular carcinomas via the PI3K/Akt/mTOR and Nrf2/HO-1/NF- κ B pathway in mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 95: 1868-75.

Protective effect of cordycepin on cardiac function in aged rats and its mechanism

He Forong, Chen Chi, Pan Yuanyuan, Deng Shengnan, Shi Yong, Tao Xuefei

(Dept of Geriatrics, Sichuan Academy of Medical Sciences, Sichuan People's Hospital, Chengdu 610072)

Abstract Objective To investigate the protective effect of cordycepin (Cor) on cardiac function in aged rats and its mechanism. **Methods** The aged rats were divided into Model group, Cor administration group (Cor 5, 10, 20

基于 TCGA 数据库构建肺腺癌自噬相关基因预后风险模型

王雪芹^{1,2}, 刘亚锋^{1,2}, 吴静^{2,3}, 周家伟^{1,2}, 邢应如^{1,4}, 张鑫^{1,2}, 李丹婷^{1,2}, 谢军⁴, 丁选胜², 胡东^{2,3}

摘要 目的 基于 TCGA 数据库结合人类自噬数据库构建预测肺腺癌患者预后的风险模型,探讨自噬相关基因预后风险模型对肺腺癌患者预后的预测性能及与免疫微环境的相关性。方法 从癌症基因组图谱数据库下载肺腺癌患者临床信息和转录组数据,结合人类自噬数据库筛选出 232 个自噬相关基因。通过 Cox 回归分析筛选出 4 个独立与预后相关的自噬基因,并采用风险评分构建肺腺癌预后预测模型,用 ROC 曲线评价预测模型性能。使用 ESTIMATE 和 CIBERSORT 在线网站(<https://cibersort.stanford.edu/>)探索风险评分与肿瘤免疫微环境之间的关系。结果 肺腺癌中

有 30 个差异表达的自噬相关基因,其中 4 个自噬基因(*BIRC5*、*ERO1A*、*ITGB4*、*NLR4*)具有预测患者预后的功能。依据风险评分进行分组,Kaplan-Meier 分析表明高风险组生存率低于低风险组($P < 0.0001$)。ROC 曲线表明风险评分模型判断肺腺癌预后的准确性($AUC = 0.757$)。ESTIMATE 和 CIBERSORT 分析提示风险评分模型与肿瘤微环境中的多个免疫细胞亚群浸润相关。结论 自噬相关基因预后风险模型较临床数据能更好地预测肺腺癌患者预后。在高风险组中,CD4⁺记忆静止细胞可改善肺腺癌患者预后。

关键词 肺腺癌;自噬;免疫细胞;免疫浸润;生存预后
中图分类号 R 734.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2022)04-0528-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.04.005

2021-07-19 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81971483);安徽省高校拔尖人才项目(编号:gxhjZD12);安徽理工大学研究生创新基金(编号:2020CX2083)

作者单位:¹安徽理工大学医学院免疫教研室,淮南 232000

²安徽省职业健康安全工程实验室,淮南 232000

³安徽理工大学工业粉尘防控与职业安全健康教育重点实验室,淮南 232000

⁴安徽理工大学附属肿瘤医院,淮南 232000

作者简介:王雪芹,女,硕士研究生;

邢应如,男,副教授,硕士生导师,责任作者,E-mail: austxingyr@126.com;

胡东,男,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: austhudong@126.com

自噬是维持哺乳动物体内稳态及细胞应激适应性反应的关键组成部分。在饥饿环境中,自噬捕获并降解溶酶体中的细胞器和蛋白质从而保护生物体免受疾病侵害,主要包括心脏病、感染和神经变性^[1]。但有研究^[2]表明,黑素瘤和乳腺癌在内的癌症会诱导自噬并依赖自噬生存。自噬介导的循环维持能量稳态和线粒体功能可以促进肿瘤细胞的生长和增殖。因此,抑制自噬功能可能对癌症治疗产生有益效果。

mg/kg), and young rats were used as Control group (Control). The levels of heart rate (HR), left ventricular ejection fraction (LVEF) and fractional shortening (FS) were detected by echocardiography. The levels of creatine kinase MB (CK-MB), myohemoglobin (Mb), cardiac troponin I (cTnI), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and lactate dehydrogenase (LDH) were detected by ELISA. The pathological morphology of heart tissue was observed by HE staining. The apoptosis of myocardial cells was observed by TUNEL staining. Western blot detected the protein expression of cysteine aspartic protease 9 (Caspase 9), cleaved cysteine aspartic protease 9 (cleaved Caspase 9), cysteine aspartic protease 3 (Caspase 3), cleaved cysteine aspartic protease 3 (cleaved Caspase 3), nuclear factor E2 related factor 2 (Nrf2), phosphorylation nuclear factor E2 related factor 2 (p-Nrf2), quinone oxidoreductase 1 (NQO1), heme oxygenase 1 (HO-1). **Results** Compared with the elderly model group, HR, LVEF, FS increased, CK-MB, Mb, cTnI levels decreased, MDA, LDH content decreased, SOD activity increased, cleaved Caspase 9/Caspase 9, cleaved Caspase 3/Caspase 3 expression decreased, The expressions of Nrf2, NQO1 and HO-1 were increased, and the pathological morphology of cardiac tissue and myocardial apoptosis were improved in Cor groups. **Conclusion** Cor can improve cardiac function of elderly rats, relieve oxidative stress response, inhibit myocardial cell apoptosis and have a certain protective effect on cardiac tissue injury in rats, and the mechanism may be related to the promotion of Nrf2/HO-1 pathway related protein expression.

Key words cordycepin; heart function; Nrf2/HO-1 pathway; NQO1