



安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

## 《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目: 信号素 3A 促进病理性心肌肥厚的实验研究  
作者: 武栗妃, 张姣姣, 张星, 李东航, 王宏波, 曹济民  
收稿日期: 2026-03-10  
网络首发日期: 2026-05-15  
引用格式: 武栗妃, 张姣姣, 张星, 李东航, 王宏波, 曹济民. 信号素 3A 促进病理性心肌肥厚的实验研究[J/OL]. 安徽医科大学学报.  
<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20260515.1130.002>



**网络首发:** 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认:** 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

## 信号素 3A 促进病理性心肌肥厚的实验研究

武栗妃<sup>1,2</sup>, 张姣姣<sup>1,3</sup>, 张 星<sup>1,3</sup>, 李东航<sup>1,2</sup>, 王宏波<sup>1,2</sup>, 曹济民<sup>1,3</sup>

(山西医科大学<sup>1</sup>细胞生理学教育部重点实验室、<sup>2</sup>基础医学院病理生理学教研室、  
<sup>3</sup>生理学系, 晋中 030606)

2026-03-10 接收

基金项目：国家自然科学基金项目（编号：82170523）；山西省教育厅“1331 工程”提质增效建设计划项目（编号：1331KFC）；山西省基础研究计划资助项目（编号：20210302124412、202503021211154）

作者简介：武栗妃，女，讲师；

曹济民，男，教授，博士生导师，通信作者，E-mail: caojimin@sxmu.edu.cn

**摘要** **目的** 探讨信号素 3A (Sema3A) 对病理性心肌肥厚进展的影响。**方法** 使用野生型 C57BL6J 小鼠、Sema3A 全身性过表达 (Sema3A/Cre-ER<sup>TM</sup>) 小鼠及同窝对照 (Cre-ER<sup>TM</sup>) 小鼠，每组 6 只。采用主动脉弓缩窄术 (TAC) 建立心肌肥厚模型，并设假手术组 (Sham) 作为对照。通过大体表型、心重/体质量比 (HW/BW)、心重/胫骨长度比 (HW/HL) 和心重/肺重比 (HW/PW) 评估心脏肥厚程度。通过小动物超声检测射血分数 (EF) 和短轴缩短率 (FS) 评价心功能。心脏组织分别通过 RT-qPCR 检测心房钠尿肽 (ANP) 和 Sema3A mRNA 的表达，Western blot 检测 Sema3A 蛋白水平，苏木精-伊红染色观察形态结构，马松染色分析纤维化程度，免疫组化检测 CD31 以评估血管新生。离体实验采用大鼠 H9C2 以血管紧张素 II (Ang II) 诱导肥大，对照组以 PBS 处理。48 h 后通过 RT-qPCR 检测 ANP、B 型钠尿肽 (BNP) 及 Sema3A mRNA 表达，Western blot 检测 Sema3A 蛋白水平。**结果** 在动物整体水平，与 Sham 组相比，野生型 C57 BL 6J 小鼠在 TAC 术后其心脏组织 ANP 的 mRNA 水平显著升高，Sema3A 的 mRNA 和 Sema3A 蛋白水平也明显升高 (均  $P < 0.05$ )；与 Cre-ER<sup>TM</sup> + TAC 组小鼠相比，Sema3A/Cre-ER<sup>TM</sup> + TAC 组小鼠心脏肥大、HW/BW、HW/HL 和 HW/PW 及心室壁增厚均更为显著，EF 及 FS 降低更为明显，心脏纤维化程度更为严重，心脏 CD31 的表达水平显著减少 (均  $P < 0.05$ )。在细胞水平，与对照组相比，H9C2 细胞给予 Ang II 处理后其 ANP 和 BNP 的 mRNA 水平显著升高，Sema3A 的 mRNA 和 Sema3A 蛋白水平也明显

升高 (均  $P < 0.05$ )。 **结论** *Sema3A* 可通过抑制血管新生而促进压力负荷性心肌肥厚的进展。

**关键词** 心肌肥厚; 信号素 3A; 心肌细胞; 血管新生; 血管紧张素; 心脏纤维化; 主动脉弓缩窄术

中图分类号 R543.1+6

文献标志码 A 文章编号 1000-1492

### **Semaphorin 3A promotes pathological cardiac hypertrophy: an experimental study**

Wu Lifei<sup>1,2</sup>, Zhang Jiaojiao<sup>1,3</sup>, Zhang Xing<sup>1,3</sup>, Li Donghang<sup>1,2</sup>, Wang Hongbo<sup>1,2</sup>, Cao Jimin<sup>1,3</sup>

(<sup>1</sup>Key Laboratory of Cellular Physiology, Ministry of Education, <sup>2</sup>Department of Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, <sup>3</sup>Department of Physiology, School of Basic Medical Sciences, Shanxi Medical University, Jinzhong 030606)

**Abstract Objective** To investigate the effect of Semaphorin 3A (*Sema3A*) on the progression of pathological cardiac hypertrophy. **Methods** Wild-type C57BL 6J mice, *Sema3A* global overexpressing (*Sema3A*/Cre-ER<sup>TM</sup>) mice, and their littermate controls (Cre-ER<sup>TM</sup>) were used, with 6 mice per group. A pressure-overload induced cardiac hypertrophy model was established via transverse aortic constriction (TAC), with a sham-operated group (Sham) as the control. Cardiac hypertrophy was assessed by gross morphology, heart weight/body weight ratio (HW/BW), heart weight/tibia length ratio (HW/HL), and heart weight/lung weight ratio (HW/PW). Cardiac function was evaluated by measuring ejection fraction (EF) and fractional shortening (FS) via echocardiography. In heart tissues, the mRNA level of atrial natriuretic peptide (*ANP*) and *Sema3A* were detected by RT-qPCR, *Sema3A* protein level was detected by western blot, morphological structure was detected by hematoxylin and eosin (HE) staining, level of fibrosis was detected by Masson's trichrome staining, and angiogenesis was detected by immunohistochemical detection of CD31. **For in vitro** experiments, rat H9C2 cardiomyocytes were treated with angiotensin II (Ang II) to induce hypertrophy, with PBS-treated cells as the control. After 48 hours, the mRNA expression of *ANP*, B-type natriuretic peptide (*BNP*) and *Sema3A* were measured by RT-qPCR, and *Sema3A* protein level was assessed by western blot. **Results** At the animal level, compared with the sham group, mice subjected to TAC showed significantly increased mRNA levels of *ANP* in cardiac tissue, as well as markedly elevated mRNA and protein levels of *Sema3A* ( $P < 0.05$ ). Compared with the Cre-ER<sup>TM</sup> + TAC group, the *Sema3A*/Cre-ER<sup>TM</sup> + TAC group exhibited more pronounced cardiac hypertrophy, greater ventricular wall thickening,

higher HW/BW, HW/HL, and HW/PW ratios, more significant reductions in EF and FS, more severe cardiac fibrosis, and a significant decrease in cardiac CD31 expression levels ( $P<0.05$ ). At the cellular level, compared with the control group, H9C2 cells treated with Ang II displayed significantly increased mRNA levels of ANP and BNP, along with markedly elevated mRNA and protein levels of Sema3A ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Sema3A promotes the progression of pressure overload-induced cardiac hypertrophy by inhibiting angiogenesis.

**Keywords** cardiac hypertrophy; Semaphorin 3A; cardiomyocytes; angiogenesis; Angiotensin II; cardiac fibrosis; transverse aortic constriction

**Fund programs** National Natural Science Foundation of China (No. 82170523), “1331” Quality and Efficiency Improvement Project of Shanxi Provincial Education Department (No. 1331KFC), Fundamental Research Program of Shanxi Province (Nos. 20210302124412, 202503021211154).

**Corresponding author** Cao Jimin, E-mail: caojimin@sxmu.edu.cn

心肌肥厚是心肌在多种病理性刺激（特别是压力负荷）作用下的一种适应性反应，也是心力衰竭发生发展过程中的一种常见的病理改变<sup>[1]</sup>。在心肌肥厚的发生过程中，促血管新生因子和抗血管新生因子失调，导致肥厚的心肌血管新生不足，进一步加重心室的不良重塑<sup>[2]</sup>。因此研究调控心肌血管新生的机制可能为心肌肥厚或心力衰竭的治疗提供新的策略。

信号素 3A（Semaphorin 3A, Sema3A）是神经轴突引导蛋白家族成员之一，是一种分泌蛋白。最早被认为是一种交感神经生长的抑制因子<sup>[3]</sup>，在心肌梗死、心律失常等疾病中被广泛研究<sup>[4]</sup>。Sema3A 可表达于血管平滑肌细胞、内皮细胞等固有细胞，也可表达于分化中的巨噬细胞、B 细胞等多种免疫细胞<sup>[5]</sup>。Sema3A 通过与其受体 A 类神经丛蛋白和神经纤毛蛋白-1 结合进行信号传导，在调控炎症反应、抑制病理性血管新生等过程中具有重要作用<sup>[6-7]</sup>。研究<sup>[8]</sup>证实，Sema3A 参与自身免疫性疾病、哮喘、视网膜病变及肿瘤等多种疾病的进展。该课题组的前期研究<sup>[9]</sup>显示，Sema3A 可通过抑制胸主动脉壁血管新生而抑制胸主动脉瘤的进展。然而，Sema3A 在心肌肥厚发生发展中的作用目前尚未完全明确。该研究利用 Sema3A 全身性过表达小鼠，采用主动脉弓缩窄术（transverse aortic constriction, TAC）复制小鼠心肌肥厚的模型，观察 Sema3A 对心肌肥厚的作用及对心肌血管新生的作用，并在离体实验中，将用血管紧张素 II（angiotensin II, Ang II）诱导 H9C2 心肌细胞肥大，观察心肌细胞 Sema3A 的表达水平，通过体内外实验明确 Sema3A 对心肌肥厚调控的作用。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 主要抗体与试剂

抗 Sema3A 抗体和抗 CD31 抗体（货号：ab199475、ab281583，美国 Abcam 公司）；Ang II（货号：A9525，美国 Sigma 公司）；TRIzol（货号：AM9738，美国 Ambion 公司）；RNA 反转录试剂盒和荧光定量试剂盒（货号：RR047A、RR820A，日本 Takara 公司）；超敏二步法试剂盒及二氨基联苯胺显色试剂盒（货号：PV9001、ZLI-9019，北京中杉金桥生物技术有限公司）；BCA 蛋白质浓度测定试剂盒（货号：AR0197，博士德生物工程有限公司）；苏木精-伊红（hematoxylin and eosin, HE）染色试剂盒和马松（Masson）三色染色试剂盒（货号：G1125、G1340，北京索莱宝生物技术开发有限公司）；结晶紫染色液（货号：C0121，上海碧云天生物技术有限公司）。

### 1.2 实验动物

C57 BL 6J 小鼠购自山西医科大学实验动物中心。Sema3A 基因敲入小鼠和 UBC-CreER（全身 Cre）小鼠均购自南方模式生物科技有限公司。将 Sema3A 基因敲入小鼠和 UBC-CreER 小鼠进行杂交，获得 Sema3A 全身性过表达（Sema3A/Cre-ER<sup>TM</sup>）小鼠。上述小鼠于山西医科大学细胞生理学教育部重点实验室动物中心 SPF 级环境中进行饲养和繁殖。动物实验方案已获得山西医科大学动物伦理委员会的批准（批准号：SYDL2024001）。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 小鼠分组与心肌肥厚模型的建立

C57 BL 6J 小鼠、Sema3A/Cre-ER<sup>TM</sup> 和同窝对照（Cre-ER<sup>TM</sup>）小鼠，每组 6 只，按照文献报道的方法<sup>[10]</sup>，行 TAC 术，建立心肌肥厚的模型，对照组（Sham 组）给予假手术处理。具体分组如下：① WT + Sham；② WT + TAC；③ Cre-ER<sup>TM</sup> + TAC；④ Sema3A/Cre-ER<sup>TM</sup> + TAC。

#### 1.3.2 小鼠心脏超声检测

Sema3A/Cre-ER<sup>TM</sup> 和同窝对照（Cre-ER<sup>TM</sup>）小鼠，行 TAC 术复制心肌肥厚模型，每组 6 只。术后 6 周，小鼠采用 3% 异氟烷吸入麻醉，使用 450 MHz 的高分辨率微型超声系统（型号：Vevo LAB，日本 Visual Isonics 公司）检测小鼠的心功能。

### 1.3.3 小鼠心脏取材

造模 6 周后，用 3% 异氟烷吸入麻醉小鼠，用剪刀剪开胸壁，用 0.9% 氯化钠溶液经心尖灌注心脏，随后取下心脏并立即置于液氮中保存；部分心肌标本用 10% 甲醛固定，用于病理染色。

### 1.3.4 HE 染色

将心肌组织脱水、固定、包埋、切片（厚度 5 $\mu$ m）；在 65 $^{\circ}$ C 烘箱中烤片 2 h；切片在二甲苯中脱蜡，继之用梯度乙醇（100%、90%、80%）脱水。按照 HE 染色试剂盒的实验步骤进行染色，在显微镜（型号：ECLIPSE Ti2，日本尼康公司）下观察心肌微观结构并采集图片。

### 1.3.5 Masson 三色染色

心肌切片的前期处理同 HE 染色。按照 Masson 三色染色试剂盒的实验步骤进行染色、显微镜下观察及图片采集。

### 1.3.6 免疫组化染色

心肌切片的前期处理同 HE 染色。切片用蒸馏水洗 3 次，继之于 100 $^{\circ}$ C 水浴锅中用柠檬酸缓冲液（pH 6.0）行抗原修复 20 min，于室温冷却后用 PBS 洗 3 次。使用超敏二步法进行免疫组化染色。用抗 CD31 抗体（1：200）于 4 $^{\circ}$ C 孵育切片过夜。次日将切片与二抗孵育 1 h，PBS 冲洗，然后用二氨基联苯胺染色。细胞核用苏木精进行复染。在显微镜下观察并采集图片。

### 1.3.7 细胞培养

胚胎大鼠心肌细胞系（H9C2）购自上海细胞库。用含有 10% 胎牛血清及 100mg/mL 青-链霉素的高糖 DMEM 培养基培养细胞。

### 1.3.8 组织和细胞的总 RNA 提取

于小鼠心肌组织中加入 1mL 的 TRIzol，随后加入磁珠，在低温冷冻研磨机中于 60Hz 研磨 45 s，重复 1 次；研磨后取出磁珠，加入 200 $\mu$ L 氯仿，上下剧烈颠倒混匀 20 s，静置 10 min 后于 4  $^{\circ}$ C 离心机中 12000 r/min 离心 15 min；离心后小心吸取最上层液并置于新的无酶离心管中，加入等体积的异丙醇轻微混匀，静置 10 min 后在 4  $^{\circ}$ C 离心机中 12000 r/min 离心 15 min。去除上清液，用含有 75% 的焦碳酸二乙酯的乙醇洗涤液洗 2 次；弃掉乙醇，

于通风厨中晾干，加入 10 $\mu$ L 的焦碳酸二乙酯水溶解，获得总 RNA。用 Nanodrop ONE 分光光度计测定 RNA 浓度。将 H9C2 细胞培养于 6 孔板中，给予 Ang II 处理，对照组给予 PBS 处理。48 h 后弃去细胞培养基，用预冷的 PBS 洗 3 次，每孔加入 1mL 的 TRIzol，用移液枪反复吹打后吸取液体置新的无酶离心管中。之后与组织 RNA 提取的步骤一致。

### 1.3.9 反转录及实时荧光定量聚合酶链式反应 (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)

采用反转录试剂盒按照说明书将提取的 RNA 反转为 cDNA。采用 RT-qPCR 试剂盒按照说明书进行实验。引物序列见表 1。

表 1 RT-qPCR 引物序列

Tab.1 Primer sequences for RT-qPCR

Primer	Forward primer(5'-3')	Reverse primer(5'-3')
Mouse <i>Sema3A</i>	GGCTGGTTCACCTGGGATTG	CCGTTTGCATAGTTTGCTCTGG
Mouse <i>ANP</i>	CCTAAGCCCTTGTGGTGTGT	CAGAGTGGGAGAGGCAAGAC
Mouse <i>BNP</i>	TATCTGTCACCGCTGGGAGG	TTGTGAGGCCTTGGTCCTTC
Rat <i>ANP</i>	ACCTGGAGGAGAAGATGCCG	TGTTGCAGCCTAGTCCGCTC
Rat <i>BNP</i>	TGGCACCGTGGACTACAATA	TACAGGTGCATCAGCTCCAG
Rat <i>GAPDH</i>	GCACAGTCAAGGCCGAGAAT	GCCTTCTCCATGGTGGTGAA
Mouse <i>GAPDH</i>	GTGAAGGTCGGTGTGAACG	TCGTTGATGGCAACAATCTC

### 1.3.10 组织和细胞的蛋白质提取

将小鼠心肌组织称重，按照每 100mg 组织加入 500 $\mu$ L 蛋白裂解液（含有 100 $\times$ 蛋白酶抑制剂和 100 $\times$ 磷酸酶抑制剂），随后加入磁珠，在低温冷冻研磨机中于 60Hz 研磨 45 s，重复 1 次。研磨后取出磁珠，于 4  $^{\circ}$ C 离心机中 12 000 r/min 离心 20 min。离心后吸取上清液为提取的蛋白质。将 H9C2 细胞培养于 6 孔板中，给予 Ang II 处理，对照组给予 PBS 处理。48 h 后弃去细胞培养基，用预冷的 PBS 洗 3 次，每孔加入 50 $\mu$ L 的蛋白裂解液，用移液枪反复吹

打后吸取液体置新的离心管中，涡旋器振荡 10 s，冰上 10 min，重复 3 次，4 °C、12 000 r/min 离心 20 min，吸取上清液即为蛋白质。

### 1.3.11 蛋白质的浓度测定

采用 BCA 蛋白质浓度测定试剂盒，按照说明书测定蛋白质的浓度。用 5×的上样缓冲液制样，组织上样量为 50μg，细胞的上样量为 15μg。

### 1.3.12 蛋白质免疫印迹（Western blot）实验

配置 10%聚丙烯酰胺凝胶，上样后 80V 电压进行电泳，电泳结束后于 300mA 电流转膜 1 h。转膜结束后取出聚偏氟乙烯膜，5%牛奶室温孵育 1 h，抗 Sema3A 一抗 4 °C 孵育过夜。次日用含吐温 20 的三羟甲基氨基甲烷缓冲盐溶液洗膜 3 次，每次 10 min。随后室温孵育二抗 30 min，含吐温 20 的三羟甲基氨基甲烷缓冲盐溶液洗膜 3 次，每次 10 min。采用增强化学发光试剂盒化学发光试剂盒于 Bio-Rad 化学发光成像系统采集图像。

## 1.4 统计学处理

所有的数据采用统计软件 Graphpad prism9.5.1 进行统计分析。数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示，采用 Shapiro-Wilk 检验评估数据是否呈正态分布。对于符合正态分布的数据，采用非配对 *t* 检验分析两组间的差异。对于不符合正态分布的数据，两组之间的比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。 $P < 0.05$  示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 心肌肥厚模型小鼠心肌 Sema3A 的表达情况

采用 TAC 术复制野生型 C57 BL6J 小鼠心肌肥厚模型。造模 6 周后，取小鼠的心脏组织，提取总 RNA 和蛋白质。RT-qPCR 结果显示，与 Sham 组相比，TAC 组小鼠心肌 ANP 的 mRNA 水平显著升高（ $t=4.115$ ， $P = 0.0184$ ）表明造模成功，见图 1 A。与 Sham 组相比，TAC 组小鼠心肌 Sema3A 的 mRNA 水平显著升高（ $t= 2.951$ ， $P = 0.0063$ ），见图 1 B。Western blot 结果显示，与 Sham 组相比，TAC 组小鼠心肌的 Sema3A 蛋白水平也显著升高（ $t= 3.265$ ， $P = 0.0085$ ），见图 1 C，1D。以上结果提示，Sema3A 可能参与心肌肥厚的病理过程。

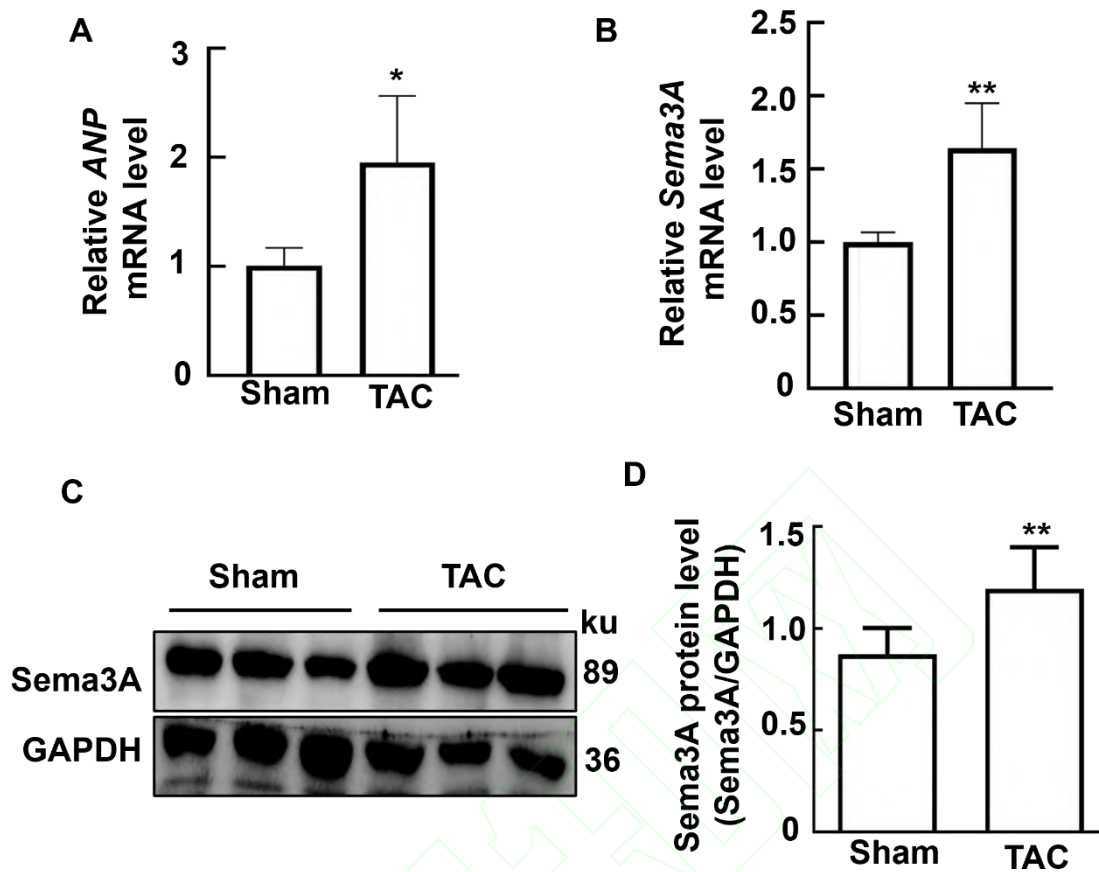


图 1 小鼠心肌组织 *Sema3A* 的转录和 *Sema3A* 蛋白水平变化 ( $n=6$ )

Fig.1 Changes in *Sema3A* transcription and *Sema3A* protein levels in mouse myocardial tissue ( $n=6$ )

注: A: Myocardial ANP mRNA levels in mice in Sham group and TAC group; B: Myocardial *Sema3A* mRNA levels in mice in Sham group and TAC group; C, D: Myocardial *Sema3A* protein levels in mice in Sham group and TAC group; \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  vs Sham group.

## 2.2 Ang II 处理的心肌细胞的 *Sema3A* 表达情况

体外培养 H9C2 细胞并用 Ang II 处理, Control 组给予 PBS 处理, 48 h 后提取细胞的总 RNA 和蛋白质。RT-qPCR 结果显示, 与 Control 组相比, Ang II 处理的 H9C2 细胞其 ANP 和 BNP 均显著升高 (ANP:  $t=3.875$ ,  $P=0.0179$ ; BNP:  $t=2.949$ ,  $P=0.0420$ ), 提示心肌细胞发生肥大, 见图 2A, 2B。同时, 经 Ang II 处理的 H9C2 细胞的 *Sema3A* mRNA 水平也升高 ( $t=2.562$ ,  $P=0.0428$ ), 见图 2C。Western blot 结果显示, 与 Control 组相比, 经 Ang

II 处理的 H9C2 细胞其 *Sema3A* 的蛋白水平显著升高 ( $t = 9.747, P = 0.0023$ ), 此结果与动物实验结果一致, 见图 2D、2E。

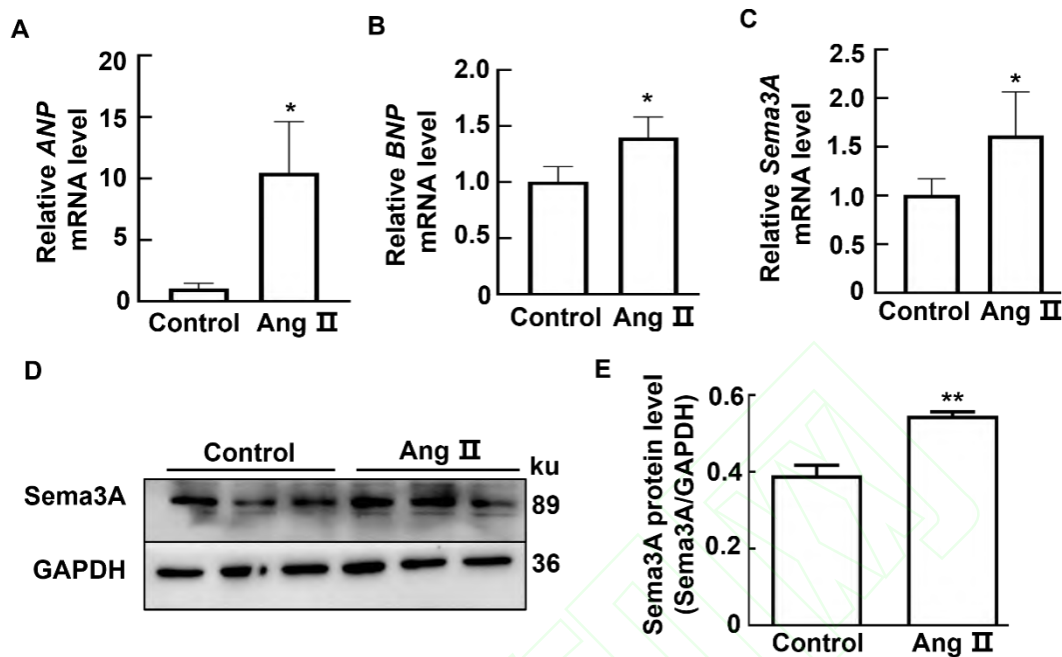


图 2 经 Ang II 处理的 H9C2 细胞的 *Sema3A* mRNA 和 *Sema3A* 蛋白水平的变化 ( $n=3$ )

Fig.2 Changes of *Sema3A* mRNA and *Sema3A* protein levels in Ang II-treated H9C2 cells ( $n=3$ )

注: A: Cellular *ANP* mRNA levels in Control group and Ang II group; B: Cellular *BNP* mRNA levels in Control group and Ang II group; C: Cellular *Sema3A* mRNA levels in Control group and Ang II group; D, E: Cellular *Sema3A* protein levels in Control group and Ang II group; \* $P < 0.05$  vs Control group.

### 2.3 *Sema3A* 过表达对心肌肥厚的影响

为了明确 *Sema3A* 是否参与心肌肥厚的病理过程, 对 *Sema3A* 全身性过表达小鼠 (*Sema3A*/Cre-ER<sup>TM</sup>) 施加 TAC 术诱发心肌肥厚, 以同窝小鼠 (Cre-ER<sup>TM</sup>) TAC 模型作为对照小鼠。术后 6 周, 取小鼠心脏组织。心脏大体观可见, 与对照组相比, *Sema3A* 过表达小鼠心脏体积进一步增大 (图 3A), HW/BW、HW/PW 及 HW/HL 均显著升高 (均  $P < 0.05$ ) (图 3B-3D)。RT-qPCR 结果显示, 与对照组相比, *Sema3A* 过表达小鼠心肌的 *ANP* 和 *BNP* mRNA 水平均升高 (*ANP*:  $t = 2.846, P = 0.0360$ ; *BNP*:  $t = 2.846, P = 0.0009$ ), 见图 3E、3F。小动物超声心动图检测小鼠的心功能, 结果显示, 与对照组相比, *Sema3A* 过表达小鼠

EF 和 FS 均显著减低 (EF:  $t = 6.001$ ,  $P = 0.0039$ ; FS:  $t = 9.577$ ,  $P = 0.0007$ ), 见图 3G-3I。与对照组相比, *Sema3A* 过表达小鼠的舒张期室间隔厚度 (interventricular septum in diastole, IVSd) 及舒张期左室后壁厚度 (left ventricular posterior wall thickness in diastole, LVPWd) 显著增高 (图 3J, 均  $P < 0.01$ ), 而舒张期左室内径 (left ventricular internal diameter in diastole, LVIDd) 无显著变化 (图 3J)。综合上述结果提示, *Sema3A* 过表达可加重心肌肥厚。

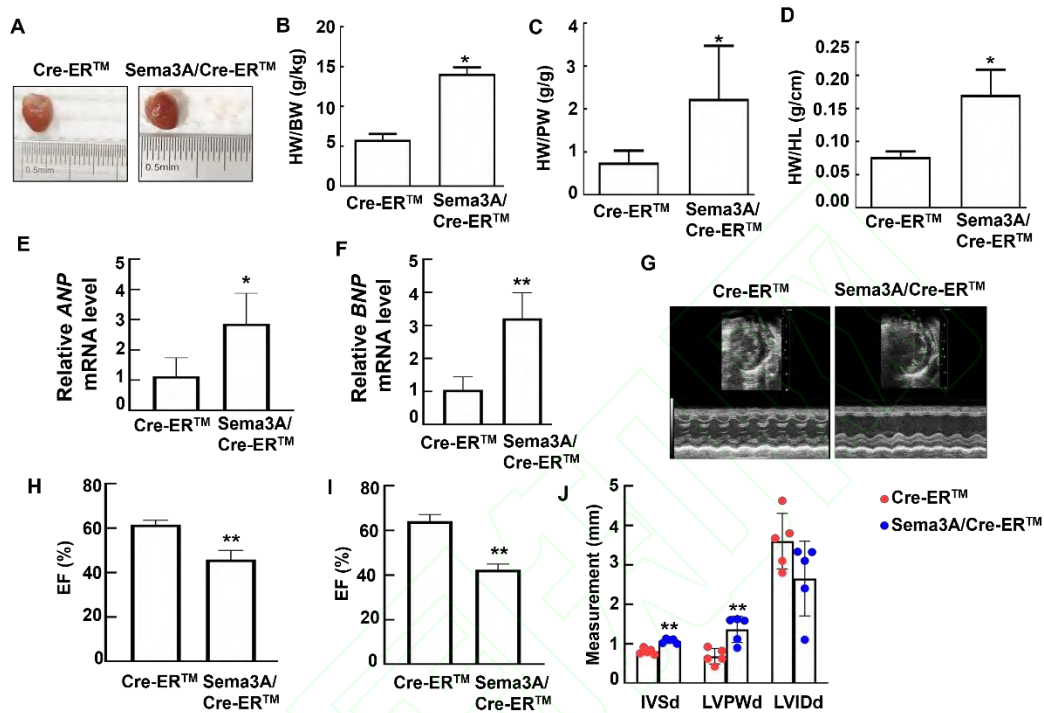


图 3 *Sema3A* 过表达对心肌肥厚的影响 ( $n=6$ )

Fig.3 The effects of overexpression of *Sema3A* on cardiac hypertrophy ( $n=6$ )

注: A: Representative gross images of hearts from mice in Cre-ER<sup>TM</sup> group and *Sema3A*/Cre-ER<sup>TM</sup> group after TAC surgery; B: HW/BW of mice in Cre-ER<sup>TM</sup> group and *Sema3A*/Cre-ER<sup>TM</sup> group after TAC surgery; C: HW/PW of mice in Cre-ER<sup>TM</sup> group and *Sema3A*/Cre-ER<sup>TM</sup> group after TAC surgery; D: HW/HL of mice in Cre-ER<sup>TM</sup> group and *Sema3A*/Cre-ER<sup>TM</sup> group after TAC surgery; E: Myocardial *ANP* mRNA levels in mice in Cre-ER<sup>TM</sup> group and *Sema3A*/Cre-ER<sup>TM</sup> group after TAC surgery; F: Myocardial *BNP* mRNA levels in mice in Cre-ER<sup>TM</sup> group and *Sema3A*/Cre-ER<sup>TM</sup> group after TAC surgery; G: Representative images of cardiac function in mice in Cre-ER<sup>TM</sup> group and *Sema3A*/Cre-ER<sup>TM</sup> group after TAC surgery; H, I: EF and FS of mice in Cre-ER<sup>TM</sup> group and *Sema3A*/Cre-ER<sup>TM</sup> group after TAC surgery; J: IVSd, LVPWd, and LVIDd of mice in Cre-ER<sup>TM</sup> group and *Sema3A*/Cre-ER<sup>TM</sup> group after TAC surgery; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs Cre-ER<sup>TM</sup> group.

## 2.4 Sema3A 过表达对肥大心肌的纤维化及心肌内血管新生的影响

为了进一步明确 Sema3A 对小鼠心肌肥厚病理过程的影响,本研究对心肌微观结构进行了分析。全心脏切片 HE 染色显示,与对照组相比, Sema3A 过表达小鼠心室壁显著增厚,心室腔明显缩小; Masson 染色可见对照组小鼠心肌血管周围有轻微的纤维化,而 Sema3A 过表达小鼠的心肌血管周围及心肌间质均出现大量纤维化。见图 4 A。免疫组化染色结果显示,与对照组相比, Sema3A 过表达小鼠心肌内 CD31 的表达显著降低 ( $P < 0.05$ ),见图 4B、4C。上述结果提示, Sema3A 过表达促进心肌纤维化并抑制血管新生。

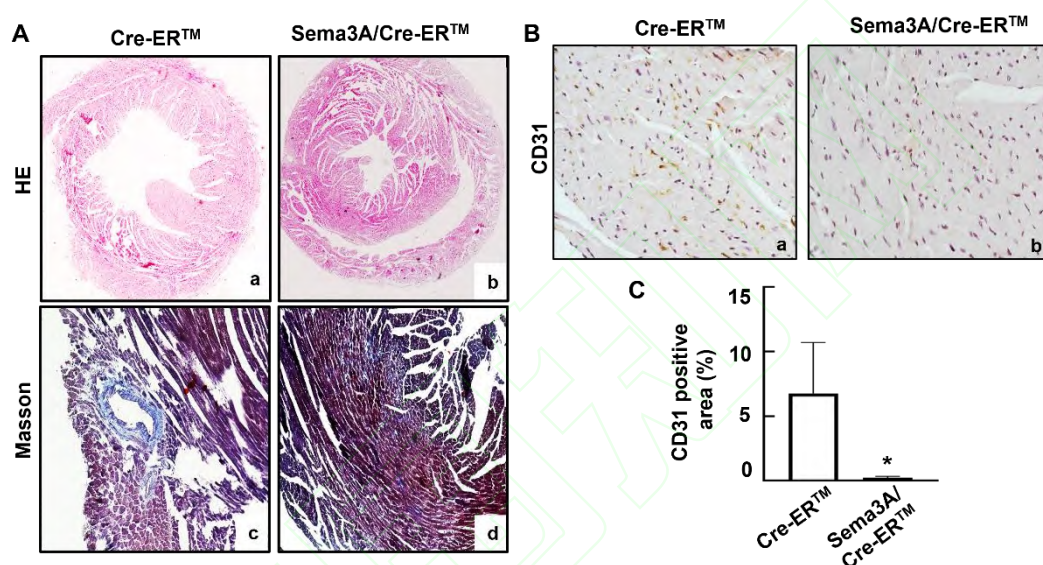


图 4 Sema3A 过表达加重心肌肥厚和纤维化并抑制心肌血管新生

Fig.4 Overexpression of Sema3A exacerbated cardiac hypertrophy and fibrosis and inhibited myocardial angiogenesis

注: A: Representative images of H&E staining (a and b, SP $\times$ 100) and Masson staining (c and d, SP $\times$ 400) in myocardial tissue of mice in Cre-ER<sup>TM</sup> group and Sema3A/Cre-ER<sup>TM</sup> group after TAC surgery; B: Representative images of CD31 immunohistochemical staining in myocardial tissue of mice in Cre-ER<sup>TM</sup> group and Sema3A/Cre-ER<sup>TM</sup> group after TAC surgery (SP $\times$ 400); C: Quantification of the results shown in B; \* $P < 0.05$  vs Cre-ER<sup>TM</sup> group.

## 3 讨论

病理性心肌肥厚的机制复杂,目前仍未完全阐明。已知刺激心肌内的血管新生对于维持

肥厚或衰竭心肌的功能具有重要意义<sup>[11]</sup>。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 是最重要的促血管新生因子, 靶向 VEGF 的药物已用于肿瘤的治疗<sup>[12]</sup>。然而, 这些药物对心血管系统有严重的副作用, 尤其可引起高血压, 而后者又是引起心力衰竭最常见的因素<sup>[13]</sup>。由此可见, 靶向 VEGF 的疗法在心血管疾病治疗中有局限性, 亟需寻找新的调控血管新生的因子。

课题组最近的系列研究<sup>[14]</sup>显示, 在小鼠模型中, 神经生长因子/Sema3A 失衡, 尤其是主动脉壁 Sema3A 水平降低, 会加剧胸主动脉瘤的进展。此外, Sema3A 过表达通过抑制血管新生阻止胸主动脉瘤夹层的形成<sup>[9]</sup>。已有研究<sup>[15]</sup>报道 Sema3A 具有促进心梗后炎症消退、降低心梗后室性心动过速的易感性而在心梗中具有保护作用。Sun et al<sup>[16]</sup>体外实验通过异丙肾上腺素刺激 H9C2 细胞 24 h 诱导心肌细胞肥大的模型, 发现 Sema3A 可以通过调节细胞自噬缓解异丙肾上腺素引起的心肌细胞肥大, 但未进行在体动物实验研究。心脏由心肌细胞、心肌成纤维细胞及内皮细胞等组成, 这些细胞可能均通过不同的机制参与在心肌肥厚发生发展过程中。仅在体外细胞模型中发现 Sema3A 对心肌细胞的影响并不足以明确其对心肌肥厚疾病进展的作用。本研究通过全身性过表达 Sema3A 小鼠实验, 发现过表达 Sema3A 可加重 TAC 术后 6 周小鼠的心肌肥厚。葛均波院士团队也发现 Sema3A 是一种关键的致病因子, 因其可损害心肌微血管内皮细胞的血管生成潜能, 从而导致压力超负荷诱发的心肌肥厚中心脏微血管稀疏<sup>[17]</sup>。此外, 本研究通过 Ang II 处理心肌细胞 48 h, 检测 Sema3A 的水平, 而 Sun et al<sup>[16]</sup>的研究采用异丙肾上腺素处理 24 h, 由于刺激肥厚的药物不同且处理的时间也不一样, 是否代表心肌细胞肥大的不同阶段尚需要证明。因此, Sema3A 是否在心肌肥厚的不同阶段其表达水平及对心肌肥厚的作用也存在差异还有待于进一步验证。

综上所述, 本研究发现 Sema3A 在压力负荷及 Ang II 诱导的小鼠心肌肥厚和心肌细胞肥大模型中均显著上调, 小鼠过表达 Sema3A 进一步加重由 TAC 引起的心肌肥厚和心肌纤维化, 并抑制心肌血管新生。因此, Sema3A 可能通过抑制血管新生而促进病理性心肌肥厚。本研究为靶向 Sema3A 干预心肌重塑提供了实验依据。

## 参考文献

[1] Tham Y K, Bernardo B C, Ooi J Y, et al. Pathophysiology of cardiac hypertrophy and heart failure: signaling pathways and novel therapeutic targets[J]. Arch Toxicol, 2015, 89(9): 1401-38. doi:10.1007/s00204-015-1477-x.

[2] Yang X, Cheng K, Wang LY, et al. The role of endothelial cell in cardiac hypertrophy:

Focusing on angiogenesis and intercellular crosstalk[J]. *Biomed Pharmacother*,2023, 163:114799.doi:10.1016/j.biopha.2023.114799.

[3] Oleari R, Lettieri A, Paganoni A, et al. Semaphorin signaling in GnRH neurons: from development to disease[J]. *Neuroendocrinology*, 2019, 109(3): 193-9. doi:10.1159/000495916.

[4] Koppel C J, De Henau C M S, Vreeken D, et al. The role of the axonal guidance cue semaphorin 3A in innervation of the postnatal heart in health and disease[J]. *Can J Cardiol*, 2025, 41(5): 899-910. doi:10.1016/j.cjca.2024.12.030.

[5] Liu L N, Li X M, Ye D Q, et al. Emerging role of semaphorin-3A in autoimmune diseases[J]. *Inflammopharmacology*, 2018, 26(3): 655-65. doi:10.1007/s10787-018-0484-y.

[6] Serini G, Valdembri D, Zanivan S, et al. Class 3 semaphorins control vascular morphogenesis by inhibiting integrin function[J]. *Nature*, 2003, 424(6947): 391-7. doi:10.1038/nature01784.

[7] Vadasz Z, Toubi E. Semaphorin3A: a potential therapeutic tool in immune-mediated diseases[J]. *Eur J Rheumatol*, 2018, 5(1): 58-61. doi:10.5152/eurjrheum.2017.17076.

[8] Jiao B, Liu S, Tan X, et al. Class-3 semaphorins: potent multifunctional modulators for angiogenesis-associated diseases[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 137: 111329. doi:10.1016/j.biopha.2021.111329.

[9] Wu L F, Zhang J J, Zhang X, et al. Semaphorin 3A protects against thoracic aortic aneurysm dissection by suppressing aortic angiogenesis[J]. *Angiogenesis*, 2025, 28(3): 39. doi:10.1007/s10456-025-09992-6.

[10] 张晓东, 张艳涛, 张 磊, 等. 金丝桃苷在主动脉弓缩窄所致心肌肥厚中的作用[J]. *安徽医科大学学报*, 2023, 58(12): 2058-63. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.12.011.

[10] Zhang X D, Zhang Y T, Zhang L, et al. Effect of hyperoside on transverse aortic constriction-induced cardiac hypertrophy[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2023, 58(12): 2058-63. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.12.011.

[11] Nakamura M, Sadoshima J. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2018, 15(7): 387-407. doi:10.1038/s41569-018-0007-y.

[12] Fallah A, Sadeghinia A, Kahroba H, et al. Therapeutic targeting of angiogenesis molecular pathways in angiogenesis-dependent diseases[J]. *Biomedecine Pharmacother*, 2019, 110: 775-85. doi:10.1016/j.biopha.2018.12.022.

[13] Patel S, Dushenkov A, Jungsuwadee P, et al. Team-based approach to management of

hypertension associated with angiogenesis inhibitors[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2020, 13(3): 463-77. doi:10.1007/s12265-020-10024-5.

[14] Wu L F, Zhou Y, Wang D P, et al. Nerve growth factor (Ngf) gene-driven semaphorin 3a (Sema3a) expression exacerbates thoracic aortic aneurysm dissection in mice[J]. *J Hypertens*, 2024, 42(5): 816-27. doi:10.1097/HJH.0000000000003647.

[15] Rienks M, Carai P, Bitsch N, et al. Sema3A promotes the resolution of cardiac inflammation after myocardial infarction[J]. *Basic Res Cardiol*, 2017, 112(4): 42. doi:10.1007/s00395-017-0630-5.

[16] Sun Y, Dong J, Chai X, et al. Semaphorin-3A alleviates cardiac hypertrophy by regulating autophagy[J]. *Exp Ther Med*, 2024, 27(1): 38. doi:10.3892/etm.2023.12326.

[17] Li C, Zhao Y, Li F, et al. Semaphorin3A exacerbates cardiac microvascular rarefaction in pressure overload-induced heart disease[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, 10(21): e2206801. doi:10.1002/advs.202206801.