

鸢尾素通过整合素 $\alpha V/\beta 5$ 受体调控 Nrf2/GPX4 途径对脓毒症心肌铁死亡的作用

侯园园 姜锐 林爱琴

(郑州铁路职业技术学院)

【摘要】脓毒症是机体对感染反应失调而导致的危及生命的器官功能障碍。目前,脓毒症心肌损伤的发病机制还不很明确。研究证明铁死亡在心血管疾病中发挥着重要作用。铁死亡信号通路参与了脓毒症相关的心肌损伤的发生发展。整合素 $\alpha V/\beta 5$ 是位于细胞膜上的鸢尾素特异性受体。鸢尾素可激活整合素 $\alpha V/\beta 5$ 继而激活其下游的信号通路。鸢尾素可以由 Nrf2 介导发挥心肌保护效应。本文拟观察鸢尾素通过整合素 $\alpha V/\beta 5$ 受体调控 Nrf2/GPX4 途径对脓毒症心肌铁死亡的作用,来探讨脓毒症心肌损伤铁死亡的机制,以及鸢尾素的作用,为脓毒症心肌保护提供新的干预靶点和策略。

【关键词】鸢尾素, 脓毒症, 铁死亡, 心肌损伤

Irisin regulates the Nrf 2 / GPX 4 pathway via the integrin $\alpha V / \beta 5$ receptor Role on myocardial iron death in sepsis

Hou Yuanyuan Jiang Rui Lin Aiqin

(Zhengzhou Railway Vocational and Technical College)

[Abstract] Sepsis is a life-threatening organ dysfunction caused by the body response to infection. At present, the pathogenesis of myocardial injury in sepsis is not well defined. Studies have demonstrated that iron death plays an important role in cardiovascular disease. Iron death signaling pathway is involved in the development and development of sepsis-related myocardial injury. Integrin $\alpha V / \beta 5$ is the irisin-specific receptor located on the cell membrane. Irisin can activate integrin $\alpha V / \beta 5$ and then activate its downstream signaling pathway. Irisin can be mediated by Nrf 2 to exert a myocardial protective effect. In this paper, we plan to observe the role of irisin in regulating the Nrf 2 / GPX 4 pathway in myocardial iron death in sepsis, to explore the mechanism of iron death in septic myocardial injury and the role of irisin, to provide new intervention targets and strategies for myocardial protection in sepsis.

[Key words] Irisin, sepsis, iron death, myocardial injury

脓毒症是机体对感染的炎症反应失调而导致的危及生命的器官功能障碍。根据世界卫生组织报告,每年每 10 万人中约有 535 人患有脓毒症且人数持续增加,脓毒症住院患者的死亡率约为 25-30%。在美国,美 1000 人中约有 3 人患脓毒症,每年约有超过 20 万人死于严重的脓毒症并发症。脓毒症患者心肌损伤发生率高,并且明显影响预后。统计表明,伴有严重心功能障碍时,脓毒症患者病死率升高约 50%[1]。虽然有较多研究探讨脓毒症心肌损伤的机制,然而,脓毒症心肌损伤的发病机制仍不是十分明确。因此,阐明脓毒症心肌损伤的发病机制,并以此为靶点,寻找具有潜在临床价值的治疗方式,将会显著提高脓毒症心肌损伤治疗的临床效果,改善脓毒症心肌损伤患者的长期预后。

一、鸢尾素对心肌损伤的改善作用

鸢尾素是 2012 年发现的一种主要表达于心脏、骨骼肌及脂肪组织的分子量大约 12KDa 的新型激素样多肽,既往的研究证实鸢尾素可通过其抗氧化、抗炎和抗凋亡功能发挥心血管保护作用。

近年来有研究及本课题组预实验显示,鸢尾素 (irisin) 对心肌损伤、心衰具有明显改善作用。核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 和谷胱甘肽过氧化物酶 4 (GPX4) 是铁死亡 (ferroptosis) 的关键调节因子。研究证明铁死亡在心血管疾

病中发挥着重要作用。铁死亡信号通路参与了脓毒症相关的心肌损伤的发生发展。整合素 $\alpha V/\beta 5$ 是位于细胞膜上的鸢尾素特异性受体。鸢尾素可激活整合素 $\alpha V/\beta 5$ 继而激活其下游的信号通路。鸢尾素可以由 Nrf2 介导发挥心肌保护效应。本研究拟观察鸢尾素通过整合素 $\alpha V/\beta 5$ 受体调控 Nrf2/GPX4 途径对脓毒症心肌铁死亡的作用,来探讨脓毒症心肌损伤铁死亡的机制,以及鸢尾素的作用,为脓毒症心肌保护提供新的干预靶点和策略。

近年来有研究显示,鸢尾素 (irisin) 对多种细胞功能具有调节作用,特别是对心肌损伤、心衰具有明显改善作用[2, 3]。虽然鸢尾素对于心脏的保护作用及改善心功能的作用非常明确,但信号通路和作用机制尚不明确。研究发现,铁死亡 (ferroptosis) 在心脏疾病中发挥了重要作用,鸢尾素对缺血再灌注心肌铁死亡有抑制作用[4, 5]。然而,目前研究主要集中在心肌梗死、缺血再灌注损伤和抗肿瘤药物所致心脏损伤等方面。在脓毒症心肌损伤方面研究较少。所以,进一步探讨铁死亡在脓毒症心肌损伤的变化,以及鸢尾素的作用机制,具有重要意义,也是本研究的创新点。

二、铁死亡在脓毒症心肌损伤中的作用

2.1 铁死亡的定义及主要调控机制

铁死亡是 Dixon 等[6]在 2012 年首次描述的一种新型细

胞死亡形式,主要是细胞内脂质活性氧生成与降解的平衡失调所致。其主要表现为细胞内铁离子堆积、脂质过氧化、线粒体体积缩小、线粒体膜密度增加和嵴缺失。是区别于凋亡、自噬和坏死的一种铁离子依赖性的程序性细胞死亡方式。

脓毒症时铁代谢发生严重紊乱,包括铁的转运、吸收以及外排,这可导致细胞内大量铁的蓄积;铁大量蓄积一方面可以激活含铁脂氧合酶,另一方面又可以催化芬顿反应(Fenton reaction)产生大量活性氧簇。大量研究表明铁蓄积不仅可以作为脓毒症患者病情严重程度的有效评价指标,还可以预测脓毒症病人的预后情况。铁死亡可以被多种化合物所诱导,虽然其发生的信号通路不同,但是上游通路最终都是通过直接或间接影响谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPXs)的活性,降低细胞抗氧化能力,致使脂质过氧化反应增加,脂质活性氧增多,引起铁死亡的发生。

2.2 Nrf2/GPX4 途径铁死亡与脓毒症心肌损伤

核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 和谷胱甘肽过氧化物酶 4 (GPX4) 是铁死亡的关键调节因子。Nrf2 是一种转录调节因子,到目前为止,几乎所有与铁死亡相关的基因都直接或间接接受到 Nrf2 的转录调控。谷胱甘肽(GSH)和 GPX4 介导的氧化还原平衡紊乱是铁死亡的一个独有的特征。在铁死亡中,GPX4 是一种重要的抗氧化酶,其利用谷胱甘肽作为底物来减少和防止脂质活性氧(ROS)的积累,从而保护细胞免受氧化应激和脂质过氧化。谷胱甘肽(GSH)由谷氨酸、半胱氨酸及甘氨酸组成。抑制谷胱甘肽合成或直接抑制 GPX4 均会导致铁介导的脂质过氧化产物的形成和积累,引起铁死亡[7]。(详见图 1)。

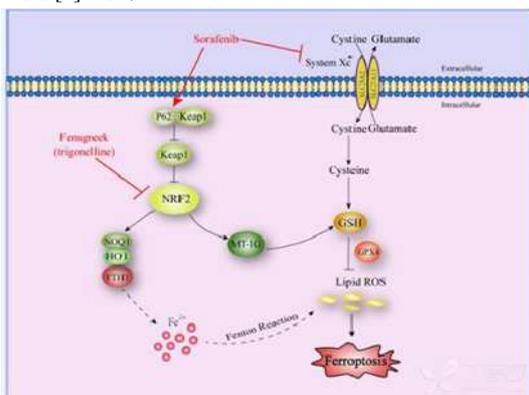


图 1 Nrf2/GPX4/铁死亡示意图

研究证明铁死亡在心血管疾病中发挥着重要作用。心肌细胞作为一种高度分化的终末细胞,不能分裂增殖,其死亡将导致心肌细胞数量的减少,从而导致心脏结构和功能的改变。因此,抑制心肌细胞死亡是保护心肌和改善心功能的关键。

临床研究显示,心肌梗死患者经皮再灌注治疗后的磁共振成像显示梗死区铁含量升高,且梗死区的心肌铁是心肌梗死后左心室重构的危险因素。这成为研究心脏中铁死亡的一个强有力的理论基础。蛋白质组定量分析提示,GPX4 在小鼠心肌梗死过程中的早期和中期明显下调,通过 RNA-seq 和 qRT-PCR 分析表明 GPX4 的下调发生在转录水平。通过使用去铁胺和抑制谷氨酰胺代谢进而抑制铁死亡[8, 9]。

脓毒症发生机制复杂,涉及诸多方面。研究显示铁死亡信号通路参与了脓毒症相关的心肌损伤、肝脏及脑病等的发生发展。采用盲肠结扎穿孔法制备小鼠脓毒症模型,于造模后 24 h 时透射电镜下观察超微结构,采用比色法测定活性氧和还原型谷胱甘肽(GSH)含量,Western blot 法检测谷胱甘肽过氧化物酶(GPX4)、胱氨酸/谷氨酸反向转运体(xCT)的表达。结果显示 GSH 含量降低,GPX4 和 xCT 表达下调[10]。

给小鼠注射脂多糖(LPS) 10mg/kg,制备脓毒症模型。给予铁死亡抑制剂(ferrostatin-1, Fer-1)用于抑制铁死亡。结果 LPS 增加了心肌中铁死亡标志物,即前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)、丙二醛(MDA)和 ROS 的水平,并导致明显的线粒体损伤。Fer-1 可减轻这些损伤。研究表明铁死亡是脓毒症诱导的心脏损伤的关键机制之一[11]。

三、鸢尾素、整合素 $\alpha V/\beta 5$ 受体与心肌保护

鸢尾素(Irisin)是一种运动后肌肉分泌的蛋白,能诱导白色脂肪棕色化,并刺激解偶联蛋白 1 表达,改善代谢性疾病。运动可上调骨骼肌 III 型纤连蛋白组件包含蛋白 5 (FNDC5) 基因表达,其表达产物经剪切和修饰,转变为鸢尾素并以内分泌的方式释放至血液[12]。鸢尾素对维持正常的心功能有重要作用,在多种心脏疾病中鸢尾素表现出对心脏的保护作用。在压力负荷动物模型中,过表达的 Irisin 可以减少心肌细胞的凋亡,减轻心脏肥厚。该项研究表明在心肌损伤中,Irisin 诱导的保护性自噬作用、以及减缓凋亡信号通路的作用可以有效减少心肌细胞的凋亡[13]。

整合素(integrin)受体是存在于心肌细胞和成纤维细胞膜上的单次跨膜糖蛋白,对维持心肌组织的结构和心脏内的机械传导非常重要。整合素受体由 α 和 β 亚单位构成异二聚体。通过定量蛋白质组学和蛋白亲和力实验,证实 Irisin 可与多种 integrin 结合,其中 $\alpha V/\beta 5$ 亲和力最高。对雄性大鼠进行短暂的左冠状动脉阻断 20 min 后再灌注处理,结果发现心肌梗死后整合素 $\alpha V/\beta 5$ 表达上调,在 1-3 周达到峰值,直至再灌注后 6 个月仍可检测到[14]。整合素 $\alpha V/\beta 5$ 是位于细胞膜上的鸢尾素特异性受体,它参与多种关键的细胞过程。鸢尾素可激活整合素 $\alpha V/\beta 5$ 继而激活其下游的信号通路,发挥心肌保护效应。

四、鸢尾素、Nrf2 和铁死亡与脓毒症

鸢尾素可以抑制心肌氧化应激,且这种作用可能是由 Nrf2 介导的[15]。鸢尾素对脓毒症相关肠损伤有保护作用,采用脂多糖(LPS)腹腔注射进行脓毒症肠损伤造模,以尾静脉注射 1ug/kg 外源性重组鸢尾素,分别通过 Western blot 及免疫荧光检测肠道鸢尾素/FNDC5 的表达及分布。结果表明鸢尾素能改善脓毒症小鼠肠损伤,降低脓毒症死亡率[16]。以盲肠结扎穿孔法(CLP)建立大鼠脓毒症模型,在头端延髓腹外侧区注射鸢尾素,信号记录分析仪记录大鼠的血压和

心率。结果脓毒症大鼠鸢尾素表达明显降低。单侧微量注射鸢尾素后血压升高、心率加快等心血管效应,表明鸢尾素在中枢的水平变化与脓毒症病理过程相关[17]。

比较 60 名脓毒症患者和 29 名健康受试者,发现健康人体内鸢尾素水平高。脓毒症患者血清中鸢尾素水平与 APACHE II 评分存在相关性。与临床结果一致,盲肠结扎穿孔刺法 (CLP) 术后 24 小时小鼠肝脏 GPX4 水平明显降低。而鸢尾素治疗后 CLP 小鼠肝脏中 GPX4 表达明显升高。结果表明,脓毒症小鼠肝脏铁死亡增多,而鸢尾素处理降低了脓毒症小鼠的铁死亡。除肝脏外,鸢尾素还能抑制 CLP 小鼠肺内铁死亡。

RSL3 是一种诱导铁死亡的 GPX4 特异性抑制剂。RSL3、

LPS 和鸢尾素处理 24 小时后,ROS 的产生显著增加,GPX4 蛋白表达明显下调。为了确定鸢尾素是否会影响铁死亡,鸢尾素受体的抑制剂(精氨酸肽和 Echistatin)在 LPS 和鸢尾素存在的条件下处理细胞,结果 GPX4 蛋白表达显著降低。这些研究提示抑制鸢尾素的作用,促进了鸢尾素和脂多糖处理的细胞的铁死亡。铁死亡的增强消除了鸢尾素对脓毒症的保护作用[18]。

综上所述,观察鸢尾素通过整合素 $\alpha V/\beta 5$ 受体调控 Nrf2/GPX4 途径对脓毒症心肌铁死亡的作用,从而探讨脓毒症心肌损伤铁死亡的机制,以及鸢尾素的作用,为脓毒症心肌保护提供新的干预靶点和策略。

参考文献:

- [1]Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, et al. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For theThird International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315 (8): 762-774.
 - [2]Liu X, Mujahid H, Rong B, et al. Irisin inhibits high glucose-induced endothelial-to-mesenchymal transition and exerts a dose-dependent bidirectional effect on diabetic cardiomyopathy[J]. J Cell Mol Med, 2018, 22 (2): 808-822.
 - [3]孙柳, 张瑶. Irisin (鸢尾素) 在心衰治疗中作用的研究进展[J].心血管康复医学杂志, 2021, 30 (03): 329-332.
 - [4]Su L, Jiang X, Yang C, et al. Pannexin 1 mediates ferroptosis that contributes to renal reperfusion injury[J]. J Biol Chem, 2019, 294 (50): 19395-19404.
 - [5]李丽, 于昊祯, 王一石, 等. 鸢尾素对缺血再灌注心肌铁死亡的抑制作用[J].心脏杂志, 2021, (05): 465-471+477.
 - [6]Dixon S J, Lemberg K M, Lamprecht M R, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. Cell, 2012, 149 (5): 1060-1072.
 - [7]Dodson M, Castroportuguez R, Zhang D D. NRF2 plays a critical role in mitigating lipid peroxidation and ferroptosis [J]. Redox Biology, 2019, 23: 101-107.
 - [8]Fang X, Wang H, Han D, et al. Ferroptosis as a target for protection against cardio-myopathy[J]. PNAS, 2019, 116 (7): 2672-2680.
 - [9]金星, 刘根, 王贇, 等.铁死亡在心脏病中作用研究进展[J].中华实用诊断与治疗杂志, 2021, 35 (05): 520-522.
 - [10]储靖, 蒋毅, 于泳浩, 等.对乙酰氨基酚对小鼠脓毒症相关性脑病的影响及其与铁死亡的关系[J].中华麻醉学杂志, 2021, 41 (03): 335-338.
 - [11]Li N, Wang W, Zhou H, et al. Ferritinophagy-mediated ferroptosis is involved in sepsis-induced cardiac injury[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2020, 16.
 - [12]Bostrom P, Wu J, Jedrychoeski, et al. A PGC1 α -dependent myokine that drives browning of white fat and thermogenesis. Nature. 2012; 481 (7382): 463-468.
 - [13]Li R, Wang X, Wu S, et al.Irisin ameliorates angiotensinII-induced cardiomyocyte apoptosis through autophagy [J]. J Cell Physiol, 2019, 234 (10): 17578-17588.
 - [14]Kim H, Wrann CD, Jedrychowski M, et al. Irisin mediates effects on bone and fat via alpha v integrin receptors[J]. Cell, 2019, 178 (2): 507-508.
 - [15]Chen RR, Fan XH, Chen G, et al. Irisin attenuates angiotensin IIinduced cardiac fibrosis via Nrf2 mediated inhibition of ROS/TGF β 1/Smad2/3 signaling axis. Chem Biol Interact. 2019; 302: 11-21.
 - [16]杨灵. 鸢尾素对脓毒症小鼠肠损伤的保护作用及其肠道菌群的研究[D].西南医科大学, 2020.
 - [17]赫曼, 杜杰, 杨磊, 等.鸢尾素在脓毒症大鼠头端延髓腹外侧区的心血管效应[J].医学研究杂志, 2021, 50(03): 100-104.
 - [18]Wei Shasha, Bi Jianbin, Yang Lifei, et al. Serum irisin levels are decreased in patients with sepsis, and exogenous irisin suppresses ferroptosis in the liver of septic mice[J]. Clinical and Translational Medicine, 2020, 10 (5) .
- 基金项目: 河南省科技厅重点研发与推广专项 (222102310572, 212102310609); 河南省高等学校重点科研项目 (21A320073)